

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA

FACULTE : SCIENCES

DEPARTEMENT : SNV

N° : .....



DOMAINE : SNV

FILIERE : SCIENCES BIOLOGIQUES

OPTION : BIOTECHNOLOGIES VEGETALES

**Mémoire présenté pour l'obtention  
Du diplôme de Master Académique  
En biotechnologie végétale  
Par: REDAOUI Ahlem**

**Intitulé**

**Contribution à la caractérisation cytogénétique de  
quelques variétés de blé dur (*triticum durum* Desf.),  
sous l'effet du stress hydrique**

**Soutenu le 25/06/2018 devant le jury composé de :**

BENDIF Hamdi	MCB,	Université Mohamed Boudiaf, M'sila	<b>Président</b>
YAHIAOUI Merzouk	MCB,	Université Mohamed Boudiaf, M'sila	<b>Promoteur</b>
FRIHA Samira	MAA,	Université Mohamed Boudiaf, M'sila	<b>Examinatrice</b>

**Année universitaire : 2017 /2018**

**Remerciements**

*Avant tout, Je remercie 'ALLAH' le bon dieu le tout puissant, qui nous a aidé et nous a donné la capacité, la volonté et le courage pour terminer nos études du primaire jus qu'à ce jour 'Alhamdolillah'*

*À travers ce mémoire de fin d'étude je rends hommage à toutes les personnes qui ont fait que l'initiation, la réalisation et la finalisation de cette étude soit possible.*

*Mes plus vifs remerciements s'adressent à :*

*Mon promoteur Dr **YAHIAOUI Merzouk**, Maitre de conférences B de l'université de M'Sila. Pour avoir proposé ce thème et m'avoir formée tout au long de ce travail. Lui disons merci pour sa totale disponibilité et sa modestie à mon égard. Je lui exprime mes plus vifs remerciements ainsi que ma profonde gratitude pour avoir orienté et dirigé ce travail et également pour tous ses conseils judicieux dans l'élaboration et la conception de ce mémoire.*

*Dr **BENDIF Hamdi**, Maitre de conférences B de l'université de M'Sila, qui me fait l'honneur d'être le président de ce jury.*

*Dr **FRIHA Samira**, Maitre assistante A de l'université de M'Sila, pour avoir accepté d'être un membre de jury pour examiner ce modeste travail et nous faire part de ses remarques pertinentes.*

*Je tiens également à remercier particulièrement l'étudiante de doctorat M<sup>elle</sup> **MESSAUDI Noura** pour son aide précieuse à la réalisation de ce travail.*

## **Remerciements**

---

*Mes vifs remerciements s'adressent à tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin à la réalisation de ce travail, en particulier les ingénieurs de laboratoire.*

*Enfin, ce travail n'aurait pas été mené à terme sans les concessions et les encouragements de mes parents et mon mari auxquels je dis tout simplement merci.*

.

*Dédicaces*

*Je dédie ce mémoire à :*

*Mes très chers parents : **Bahria** et **Amar** pour leurs amours.*

*Mon mari Saàd pour son soutien.*

*Mes frères : Anewi, riyad, Abdelhalim, Yoness et Wahid*

*Mes soeurs : Nawel et houda.*

*Les femmes et les enfants de mes frères (Mohamed, Zakaria, Seifelissleme, Mohamed Siradj, Doaalaa elrahmen, salsabile, Ranime, koteuf) et les enfants de ma sœur (Aya, Israa et Tamime).*

*Mes chères amies : Amel, Naima, lebna, Meriem, Warda, et Ahlem.*

*Toutes mes amies d'étude: Ahlem, Imane, Sihem, Fatima et Miyada.*

*A tous mes camarades de la promotion Biotechnologie Végétale et Biodiversité végétale.*

*A toute la famille : Redaoui et Berbache*

***Redaoui Ahlem***

<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>1</b>
<b>GENERALITES</b>	
<b>I. LA CULTURE DU BLE DUR.....</b>	<b>3</b>
<b>II. ORIGINE, DESCRIPTION MORPHOLOGIQUE ET CLASSIFICATION</b>	
<b>II.1. Origine géographique .....</b>	<b>3</b>
<b>II.2. Origine génétique.....</b>	<b>4</b>
<b>II.3. Description morphologique.....</b>	<b>5</b>
<b>II.4. Structure histologique du grain de blé dur.....</b>	<b>7</b>
<b>II.5. Classification.....</b>	<b>8</b>
<b>III. LE CYCLE VEGETATIF.....</b>	
<b>III.1. La germination et la levée.....</b>	<b>9</b>
<b>III.2. Le tallage.....</b>	<b>9</b>
<b>III.3. La montaison –gonflement.....</b>	<b>10</b>
<b>III.5. Le remplissage et la maturation du grain.....</b>	<b>10</b>
<b>IV. IMPORTANCE ET PRODUCTION DU BLE .....</b>	
<b>IV.1. En Algérie.....</b>	<b>10</b>
<b>IV.2. Dans le monde.....</b>	<b>11</b>
<b>V. L’EFFET DU STRESS HYDRIQUE SUR LE RENDEMENT DU BLE DUR</b>	
<b>.....</b>	<b>12</b>
<b>VI. LA POLYPLOÏDIE CHEZ LE BLE.....</b>	
<b>VI.1. Définition .....</b>	<b>13</b>
<b>VI.2. Classification des espèces polyploïdes.....</b>	<b>13</b>
<b>VI.3. Origine des trois génomes de blé.....</b>	<b>14</b>
<b>VI.3.1. Le génome A.....</b>	<b>14</b>
<b>VI.3. 2. Le génome B.....</b>	<b>14</b>
<b>VI.3. 3. Le génome D.....</b>	<b>15</b>

<b>VII. LA CYTOGENETIQUE VEGETALE .....</b>	<b>16</b>
<b>VII.1. Les techniques de la cytogénétique.....</b>	<b>17</b>
<b>VII.2. Exemples d'études cytogénétiques relevant l'évolution des caryotypes chez le blé.....</b>	<b>19</b>

**MATERIEL ET METHODES**

<b>I. MATERIEL VEGETAL.....</b>	<b>20</b>
<b>II. LA DEMARCHE EXPERIMENTALE POURSUIVIE.....</b>	<b>20</b>
<b>III. PREPARATION DU MATERIEL VEGETAL.....</b>	<b>21</b>
<b>IV. APPLICATION DU STRESS HYDRIQUE <i>IN VITRO</i>.....</b>	<b>21</b>
<b>V. ANALYSE DE RESULTATS DE GERMINATION.....</b>	<b>22</b>
<b>V.1. Taux de germination.....</b>	<b>22</b>
<b>V.2. Longueur et nombre de racines.....</b>	<b>22</b>
<b>VI. ETABLISSEMENT DE CARYOTYPES PAR LA TECHNIQUE DE CYTOGENETIQUE.....</b>	<b>22</b>
<b>VI.1. Prétraitement.....</b>	<b>23</b>
<b>VI.2. Fixation.....</b>	<b>24</b>
<b>VI.3. Stockage et conservation.....</b>	<b>24</b>
<b>VI.4. Hydrolyse acide.....</b>	<b>24</b>
<b>VI.5. Coloration.....</b>	<b>25</b>
<b>VI.6. Montage et observation.....</b>	<b>25</b>
<b>VI.7. Etablissement du caryotype.....</b>	<b>26</b>

**RESULTATS ET DISCUSSION**

<b>I. Effet du stress hydrique induit par PEG 6000 .....</b>	<b>27</b>
<b>I.1. Effet sur la germination.....</b>	<b>27</b>
<b>I.2. Effet sur la longueur des racines.....</b>	<b>28</b>
<b>I.3. Effet sur le nombre de racines.....</b>	<b>29</b>

<b>II. Etablissement de caryotypes par la technique de cytogénétique.....</b>	<b>31</b>
<b>CONCLUSION.....</b>	<b>34</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	<b>36</b>
<b>ANNEXES</b>	

**LISTE DES TABLEAUX**

<b>Tableau I :</b> Classification des espèces de <i>triticum</i> (Feillet, 2000)	<b>5</b>
<b>Tableau II :</b> Classification botanique du blé (Nedjah, 2015)	<b>9</b>
<b>Tableau III:</b> Origines possibles du génome B (Oudjani, 2009)	<b>15</b>

**LISTE DES FIGURES**

<b>Figure 1 :</b> Aspect morphologique de blé dur ( <i>triticum durum</i> ) (Abecassis, 2015)	<b>7</b>
<b>Figure 2:</b> Anatomie du grain de blé (Magali, 2005)	<b>8</b>
<b>Figure 3:</b> Les trois génomes de blé (Génome polyploïde)( <a href="http://www.biotechcolo.net/polyploidie-haploidie-plantes.html">http://www.biotechcolo.net/polyploidie-haploidie-plantes.html</a> .)	<b>16</b>
<b>Figure 4 :</b> Les graines de quatre lignées du blé étudiées .V8, V9, V11 et V23 respectivement	<b>21</b>
<b>Figure 5 :</b> Les racines des quatre lignées prolongées dans une solution d'hydroxyquinoleine	<b>24</b>
<b>Figure 6 :</b> processus d'hydrolyse acide	<b>25</b>
<b>Figure 7 :</b> Système d'observations composé d'un microscope photonique équipé d'un appareil photographique numérique relié à un ordinateur	<b>25</b>
<b>Figure 8:</b> Les différents types de chromosomes métaphasiques. ( <a href="http://www.webzeest.com/article/1958/cell-biology-and-genetics">http://www.webzeest.com/article/1958/cell-biology-and-genetics</a> )	<b>26</b>
<b>Figure 9 :</b> Taux de germination des lignées testées en présence et en absence du stress hydrique	<b>28</b>
<b>Figure 10 :</b> Moyenne de longueur des racines chez les quatre lignées du blé dur	<b>29</b>
<b>Figure 11 :</b> Moyenne de nombre des racines chez les quatre lignées du blé dur testées	<b>30</b>
<b>Figure 12 :</b> Observation microscopique d'une plaque métaphasique chez la lignée V8	<b>31</b>
<b>Figure 13 :</b> Observation microscopique d'une plaque métaphasique chez la lignée V9	<b>31</b>
<b>Figure 14 :</b> Observation microscopique d'une plaque métaphasique chez la lignée V23	<b>31</b>
<b>Figure 15:</b> Observation microscopique d'une plaque métaphasique chez la lignée V11	<b>31</b>

# *Introduction*

### INTRODUCTION

Les céréales représentent la première famille de plantes cultivées à travers le monde (**Djebali et al., 2014**).

Les céréales notamment le blé dur et le blé tendre constituent l'alimentation de base dans beaucoup de pays en développement, particulièrement dans les pays maghrébins. L'importance économique de ces deux espèces a déclenché des études cytogénétiques et génétiques intenses dans les décennies passées qui ont eu comme conséquence : l'acquisition d'information et d'outils qui ont été employés pour développer des variétés de blé avec rendements importants, l'amélioration de la qualité et l'augmentation de la tolérance biotique et abiotique (**Bellatreche et al., 2016**).

Le manque d'eau ou déficit hydrique représente le stress abiotique le plus sévère auquel la culture du blé dur fait face dans les conditions de productions des zones arides et semi- arides (**Chennafi et al., 2006**). En effet, l'eau joue un rôle essentiel dans la croissance et le développement de la culture du blé dur. Un manque d'eau précoce affecte principalement la croissance des racines, le développement des feuilles et des organes reproducteurs (**Debaeke et al., 1996**).

Les chromosomes sont le support de l'information génétique, ils sont constitués d'une molécule d'ADN associée à de nombreuses protéines. Les chromosomes ne sont visibles que pendant une courte période du cycle cellulaire (métaphase). Toutes les études cytogénétiques visent donc à obtenir un maximum de cellules bloquées à ce stade. Pendant cette période, chaque molécule d'ADN se condense et devient visible au microscope.

C'est en 1924, que fut mise au point la première technique de coloration des chromosomes par Feulgen et Roseback, basée sur l'hydrolyse acide des chromosomes métaphasiques et le traitement des groupements aldéhydes, et enfin sur la coloration (Réactif de Schiff, Carmin acétique ou orceïne) (**Ouafi, 2009**).

Le but de ce travail est de Mettre en évidence l'effet du stress hydrique sur la germination et la croissance de quatre lignées du blé dur(*T durum* Desf.) et la contribution à l'évaluation génétique de ces lignées. Une étude cytogénétique classique par les colorations au Feulgen a été menée pour l'établissement des caryotypes des différentes lignées étudiées.

Outre l'Introduction et la Conclusion, ce travail sera présenté en trois parties :

1. La première partie sera consacrée pour les données bibliographiques sous Forme des Généralités sur l'espèce de blé dur (*Triticum durum* Desf.), l'effet du stress hydrique sur le blé dur et notions de la cytogénétique.
2. La seconde Partie comprend : Matériels et Méthodes étudiées.
3. La dernière partie : les résultats et discussions. On y exposera les différents résultats obtenus avec les explications, interprétations et comparaisons à d'autres travaux.

*Données*  
*bibliographiques*

## I. LA CULTURE DU BLE DUR

Le blé dur (*Triticum durum* Desf.) est une culture de base dans le bassin méditerranéen. Elle a reçu depuis toujours une attention particulière, en raison de son adaptation à des environnements semi-arides, de sa qualité technologique unique, par rapport aux autres céréales, et de sa structure génétique qui varie entre les populations locales, les lignées internationales et les variétés modernes (**Amallah et al., 2016**).

Le blé dur (*Triticum durum* Desf.) est cultivé sur environ 30 millions d'hectares au niveau mondial, ce qui représente seulement 8% de la production totale du blé dans le monde. Plus de 80% de la superficie en blé dur se rencontre en Afrique du Nord et au Moyen Orient. Malgré son importance dans l'alimentation humaine, l'amélioration du blé dur n'a reçue une grande attention qu'en Italie, alors que de très grands progrès ont été faits en la matière sur le blé tendre. Ceci est dû peut être au fait que le blé dur est cultivé en zone moins favorable que le blé tendre (**Bouzerzour et al., 1989**).

Le blé dur est bien adapté aux régions à climat relativement sec, où il fait chaud le jour et frais la nuit durant la période végétative, ce qui est typique des climats méditerranéen et tempéré, la plus grande partie du blé dur produit dans le monde est constituée de blé de printemps ; Toute fois, il existe des variétés de blé dur d'hiver (qui ont besoin de vernalisation pour amorcer la transition de la phase végétative à la phase reproductrice); ces variétés ont été évaluées en vue de la production dans le Sud des États-Unis.

Sur la scène mondiale, l'Union Européenne (principalement l'Italie, l'Espagne et la Grèce) est le plus grand producteur de blé dur, avec une récolte annuelle moyenne de huit millions de tonnes métriques. Le Canada arrive au deuxième rang avec 4,6 millions de tonnes métriques par année, suivi de la Turquie et des États-Unis, avec 4 et 3,5 millions de tonnes métriques respectivement (**Cherfia, 2010**).

## II. ORIGINE, DESCRIPTION MORPHOLOGIQUE ET CLASSIFICATION

### II.1. Origine géographique

La découverte du premier signe des espèces de blé date d'un peu moins de 8000 ans avant Jésus-Christ (J-C) (**Magali, 2005, Bellatreche et al., 2016**). Des restes de blé, diploïdes et tétraploïdes, remontant au VII<sup>ème</sup> millénaire avant J-C ont été découverts sur des sites archéologiques au proche orient.

Le blé atteint l'Ouest de l'Europe 5000 ans environ avant J-C. Dans le même temps, il diffuse vers l'Asie et l'Afrique. Mais, son introduction en Amérique - particulièrement le blé

tendre (*Triticum aestivum* L.) Est très récente. Cette introduction s'est faite en 1529 par les espagnols au Mexique. Alors qu'en Australie elle est faite par les anglais seulement en 1788 à partir des pools génétiques européens (Bellatreche et al., 2016).

### II.2. Origine génétique

Plusieurs espèces de ploïdie différentes sont regroupées dans le genre *Triticum* qui est un exemple classique d'allo polyploïdie, dont les génomes homologues dérivent de l'hybridation inter espèces appartenant à la même famille (Levy et Feldman., 2002) In (Benabdelhafid, 2016).

Trois groupes de *Triticum* sont connus, répartis selon le nombre de leurs chromosomes :

- **Le groupe diploïde** (2x7 chromosomes) : comprend *Triticum monococcum* et *T. spontaneum*, qui font partie des formes les plus anciennement cultivées, caractérisées par des épis grêles où les grains restent enveloppés par les glumelles.
- **Le groupe tétraploïde** (4x7 chromosomes) : comprend *T. dicoccoïdes* (amidonnier sauvage), *T. dicoccum* (amidonnier), *T. turgidum* et *T. durum* (blé dur), à épis denses dont les graines riches en gluten servent à fabriquer les pâtes alimentaires.
- **Le groupe hexaploïde** (6x7 chromosomes) : représenté par *T. vulgare* ou *T. aestivum* (blé tendre) et *T. spelta* (épeautre). Ce groupe comprend la majorité des blés à épis assez larges et à graines riches en amidon nécessaires à la fabrication du pain (Hacini, 2014).

Les deux espèces les plus cultivées sont le blé tendre (*Triticum aestivum*) et le blé dur (*Triticum durum*), mais il existe de nombreuses autres espèces de *Triticum* qui se différencient par leur degré de ploïdie (tableau I) (blés diploïdes : génome AA ; blés tétraploïdes : génomes AA et BB ; blés hexaploïdes : génomes AA, BB et DD) (Feillet, 2000).

On croit que le blé dur provient des territoires actuels de la Turquie, de la Syrie, de l'Iraq et de l'Iran. Le blé dur est allo tétraploïde (deux génomes : AABB), comptant au total 28 chromosomes ( $2n=28$ ), contenant le complément diploïde complet des chromosomes de chacune des espèces souches. Comme telle, chaque paire de chromosomes du génome « A » à une paire de chromosomes homéologues dans le génome « B », à laquelle elle est étroitement apparentée. Toutefois, durant la méiose, l'appariement des chromosomes est limité aux chromosomes homologues par l'activité génétique de gènes inhibiteurs. Les chercheurs ont identifié un certain nombre de gènes inhibiteurs. (Bouatrous, 2013).

L'origine du blé dur est un hybride, résultant du croisement aléatoire et naturel de l'espèce *Triticum monococcum* (sauvage) et une herbe spontanée apparentée au blé nommée *Aegilops speltoides*, toutes deux vraisemblables, puisqu'on les rencontre dans la même aire géographique (Nedjah, 2015).

**Tableau I** : Classification des espèces de *triticum* (Feillet, 2000).

Forme sauvage	Forme cultivée	Nom commun	Nombre de chromosome	Nature du génome
<i>T.boeiticum</i>	<i>T.monococcum</i>	engrain	14	AA
			14	AA
<i>T.dicoccooides</i>	<i>T.dicoccum</i>	Blé poulard	28	AA BB
	<i>T.durum</i>	Blé dur	28	AA BB
	<i>T.polonicum</i>	Blé de Pologne	28	AA BB
	<i>T.turgidum</i>		28	AA BB
	<i>T.araraticum</i>		28	AA BB
<i>T.mon</i> * <i>T.spe</i> * <i>As</i>	<i>T.aestivum</i>	Blé tendre	42	AA BB DD
(hypothétique)	<i>T. spelta</i>	Epeautre	42	AA BB DD
	<i>T. sphaerococcum</i>	Blé indien nain	42	AA BB DD
	<i>T. compactum</i>	Blé club	42	AA BB DD

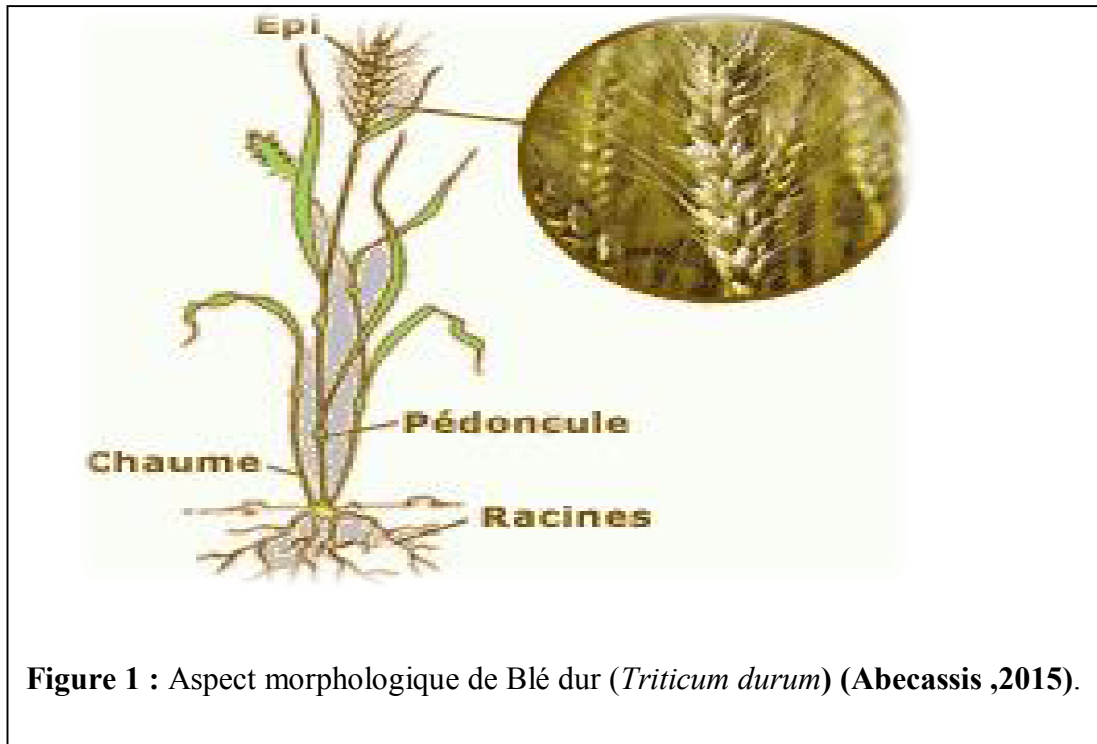
### II.3. Description morphologique

Le blé est une céréale à paille haute de 50 à 150 cm, à inflorescence en épi d'épillets terminal dense (Labbani, 2007), à feuilles alternes, formée d'un chaume creux portant un épi constitué de deux rangées d'épillets sessiles et aplatis (Magali, 2005) cultivée pour ses grains ou caryopses. On distingue le blé tendre ou blé froment et le blé dur (Figure 1). Ce dernier est une plante à taille haute (80 à 150 cm), présentant un faible tallage, à épis barbus et à gros grains (Labbani, 2007).

Il existe des variétés de blé dur semi-naines. Le système racinaire comprend des racines séminales produites par la plantule durant la levée, ainsi que des racines adventives (latérales) qui se forment plus tard à partir des nœuds à la base de la plante et constituent le système racinaire permanent. Le blé dur possède une tige cylindrique, dressé habituellement creuse et subdivisée en entre-nœuds. Certaines variétés possèdent toutefois des tiges pleines. Le chaume (talle) se forme à partir de bourgeons axillaires à nœuds à la base de la tige principale (**Nedjah, 2015**).

Le nombre de brins dépend de la variété, des conditions de croissance et de la densité de plantation. Dans des conditions normales, une plante peut produire trois brins en plus de la tige principale. Comme pour d'autres graminées, les feuilles de blé dur se composent d'une base (gaine) entourant la tige, d'une partie terminale qui s'aligne avec les nervures parallèles et d'une extrémité pointue. Au point d'attache de la gaine de la feuille se trouve une membrane mince et transparente (la ligule), comportant deux petits appendices latéraux, les oreillettes. La tige principale et chaque brin portent une inflorescence en épi terminal. L'inflorescence du blé dur est un épi muni d'un rachis portant des épillets séparés par de courts entre-nœuds. Chaque épillet compte deux glumes (bractées) renfermant de deux à cinq fleurs distiques sur une rachéole (**Nedjah, 2015**).

Chaque fleur parfaite est enfermée dans des structures semblables à des bractées, soit la glumelle inférieure (lemme) et la glumelle supérieure (paléa). Chacune compte trois étamines à anthère biloculaires, ainsi qu'un pistil à deux styles à stigmates plumeux. A maturité, le grain de pollen fusiforme contient habituellement trois noyaux. Chaque fleur peut produire un fruit à une seule graine, soit le caryopse. Chaque graine contient un large endosperme et un embryon aplati situé à l'apex de la graine et à proximité de la base de la fleur (**Nedjah, 2015**).



**Figure 1** : Aspect morphologique de Blé dur (*Triticum durum*) (Abecassis ,2015).

#### II.4. Structure histologique du grain de blé dur

Les grains de blé (**Figure 2**) sont des fruits, appelés caryopses. Ces derniers sont de forme ovoïdes, possèdent sur l'une de leurs faces une cavité longitudinale "le sillon" et à l'extrémité opposée de l'embryon des touffes de poils "la brosse".

Le caryopse est constitué de 03 parties :

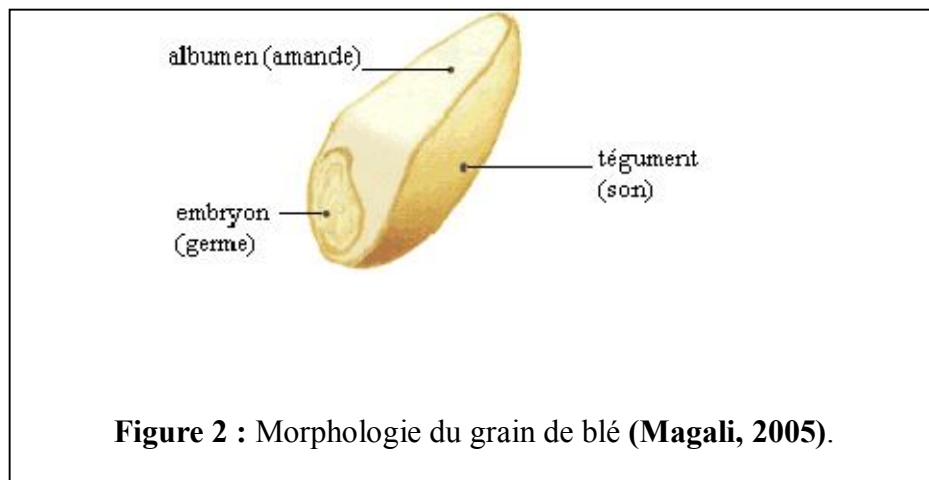
**a) Les enveloppes** : elles sont d'épaisseur variable et sont formées de 3 groupes de téguments soudés :

- Le péricarpe ou tégument du fruit constitué de 3 assises cellulaires :
  - Epicarpe, protégé par la cuticule et les poils,
  - Mésocarpe, formé de cellules transversales,
  - Endocarpe, constitué par des cellules tubulaires.
- Le testa ou tégument de la graine constituée de 2 couches de cellules.
- L'épiderme du nucelle appliqué sur l'albumen sous-jacent.

**b) L'albumen** : principalement amylacé et vitreux chez le blé dur, possède à sa périphérie une couche à aleurone riche en protéines, lipides, pentosanes, hémicelluloses et minéraux.

c) **L'embryon** : comporte

- Le cotylédon unique ou scutellum riche en lipides et protéines.
- La plantule plus ou moins différenciée :
  - La radicule ou racine embryonnaire protégée par le coléorhize.
  - La gemmule comportant un nombre variable de feuilles visibles, enfermées dans un étui protecteur : la coléoptile (**Ait–Slimane-Ait-Kaki, 2008**).



## II.5. Classification

La plupart des céréales, herbacées, annuelles, monocotylédones, appartiennent à la famille des Graminées et/ou Poacées. Ce sont: le blé, l'orge, l'avoine, le seigle, le maïs, le riz, le millet, le sorgho. Les unes appartiennent à la sous-famille des Festucoïdées: blé, orge, avoine, seigle; les autres à la sous-famille des Panicoïdées: maïs, riz, sorgho, millet.

Le blé dur est une céréale autogame appartenant à l'ordre des Graminales et/ou Poales, famille des Graminae et/ou Poaceae. Une classification détaillée est donnée dans le tableau II (**Nedjah, 2015**).

Tableau II : Classification botanique du blé.

<b>Embranchement</b>	Spermaphytes
<b>Sous embranchement</b>	Angiospermes
<b>Classe</b>	Monocotylédones
<b>Ordre</b>	Commélimiflorales
<b>Sous ordre</b>	Poales
<b>Famille</b>	Graminae ou Poaceae
<b>Genre et espèce</b>	<i>Triticum durum</i>

### III. LE CYCLE VEGETATIF

#### III.1. La germination et la levée

Au cours de la germination la coléorhize s'épaissit en une masse blanche et brise le tégument de la graine au niveau du germe, c'est le début de l'émission des racines Primaires, garnis de poils absorbants. En même temps, la coléoptile, gainant la Première vraie feuille, s'allonge vers la surface, où il laisse percer la première feuille, c'est La levée. La deuxième et la troisième feuille suivent bien après (Laala, 2010).

#### III.2. Le tallage

Sitôt émise la troisième feuille émise, le deuxième entre –nœud qui porte le bourgeon terminal s'allonge à l'intérieur de la coléoptile et stoppe sa montée à 2 centimètre sous la surface du sol, pour former le plateau de tallage. A l'aisselle des feuilles (à partir de la quatrième feuille), des bourgeons axillaires entrent alors en activité pour donner de nouvelles talles. La première talle se forme à la base de la première feuille et la deuxième talle à la base de la deuxième feuille. Les bourgeons axillaires à l'aisselle des feuilles des talles donnent naissance à l'émission de talles secondaires (Laala, 2010).

#### III.3. La montaison -gonflement

Elle se distingue par la montée de l'épi sous l'effet de l'élongation des entre-nœuds qui constituent le chaume. Les talles montantes entrent en compétitions pour les facteurs du milieu avec les talles herbacées qui de ce fait n'arrivent pas à monter en épis à leur tour. Ces dernières régressent et meurent. Ce phénomène se manifeste chez les jeunes talles par une diminution de la croissance puis par un arrêt de celle-ci (**Laala, 2010**).

#### **III.4. L'épiaison-floraison**

Une fois l'épi émerge de la gaine de la feuille étendard, c'est le stade épiaison, au cours duquel la formation des organes floraux se termine. La floraison débute 4 à 5 jours plus tard. Durant la floraison, les fleurs demeurent généralement fermées (fleur scléistogames), et les trois anthères éclatent et libèrent le pollen (anthèse). Les fleurs (cléistogames), et les trois anthères éclatent et libèrent le pollen (anthèse). Les fleurs s'ouvrent rarement avant la libération du pollen. La floraison dure de trois à six jours, selon les conditions météorologiques. Elle débute au centre de l'épi, puis se poursuit vers les deux extrêmes de l'épi. La durée de réceptivité du stigmate de blé dépend de la variété et des conditions du milieu, mais se situe entre 3 à 13 jours. Une fois fécondée, l'ovaire grossit rapidement. Au bout de deux semaines après la fécondation, l'embryon est physiologiquement fonctionnel et peut produire une nouvelle plantule (**Laala, 2010**).

#### **III.5. Le remplissage et la maturation du grain**

C'est la dernière phase du cycle végétatif. Elle correspond à l'élaboration de la dernière composante constitutive du rendement qui est le poids du grain, suite à la migration des substances glucidiques produites par la feuille étendard et stockées dans le pédoncule de l'épi. Elle exige la chaleur et un temps sec, elle se fera sitôt en plusieurs étapes, la maturité laiteuse (le grain contient encore 50% d'humidité et le stockage des protéines touche à sa fin), la maturité physiologique (le grain a perdu en humidité et l'amidon a été constitué), la maturité complète (la teneur en humidité atteint environ 20 %), le grain est mûr et prêt à être récolté, c'est alors la période des moissons (**Laala, 2010**).

### **IV. IMPORTANCE ET PRODUCTION DU BLE**

#### **IV.1. En Algérie**

En Algérie, les produits céréaliers occupent une place stratégique dans le système alimentaire et dans l'économie nationale. Cette caractéristique est perçue d'une manière claire à travers toutes les phases de la filière (**Abdelkader, 2009**).

La production céréalière a atteint 3,3 millions de tonnes en 2014 par ailleurs elles constituent l'essentielle de la ration alimentaire quotidienne de la population et occupent une superficie de 2.7 millions d'hectares. Étant donné que la population mondiale va encore fortement augmenter et passer de 7,2 milliards d'hommes en 2013 à 9,6 milliards en 2050, pour satisfaire la demande de l'humanité, selon la FAO, il faut augmenter d'au moins 60 % la quantité des produits agricoles disponibles, entre 2005 et 2050. Actuellement, produire plus de céréales est devenue une question préoccupante pour l'Algérie, dont les besoins, d'une population en pleine croissance, sont estimés à plus 111 million de quintaux vers 2020. Produire plus suppose que le milieu s'y prête et que la technologie suit. En effet, L'amélioration génétique du blé a eu pendant longtemps pour objectif l'augmentation de la productivité. Le succès de cette stratégie est lié à l'existence de conditions environnementales favorables, qui permettent ainsi l'expression des différents facteurs du rendement (**Ghennai et al., 2017**).

En Algérie le blé occupe annuellement plus d'un million d'hectares et la production Algérienne reste instable et faible d'une année à une autre, 5 134 006 tonnes pour la saison 2011- 2012 elle ne couvre que 20 à 25% des besoins du pays (**Benbelkacem, 2012**).

Le blé dur est utilisé uniquement en consommation humaine, pour la confection de pâtes, de semoule et d'autres produits typiques de la culture méditerranéenne (boulgour, baklava, crêpes mille trous, etc) (**Constance, 2014**).

La production de blé en Algérie a été multipliée par deux depuis l'indépendance jusqu'au 2011 qui malheureusement loin de satisfaire la demande nationale croissante. Appartenant au bloc des pays d'Afrique du nord dont l'importation en blé a atteint 23.6 million de tonnes (Mt), l'Algérie en 2011/2012 a été classé au troisième rang au monde des pays importateurs du blé avec 6.3 million de tonnes, Cela est lié essentiellement à la démographique rapide et à l'augmentation du niveau de vie ainsi qu'au régime alimentaire des algériens avec plus de 220 kg/personne et par an en 2011. L'individu en Algérie consomme donc 3.5 fois plus que la moyenne mondiale de consommation annuelle estimée par la FAO à environ 68 kg/personne/an (**Ladjel et al., 2014**).

Cette production a atteint 3,30 millions de tonnes pendant la campagne agricole 2014/15 (**Adoui et al., 2017**).

#### **IV.2. Dans le monde**

Les céréales occupent à l'échelle mondiale une place primordiale dans le système agricole. Les céréales sont considérées comme une principale source de la nutrition humaine et animale (**Ghennai et al., 2017**). Les deux espèces de blé les plus cultivées au monde sont le blé tendre (*Triticum aestivum* L.) qui représente plus de 90% de la production mondiale et le blé dur (*Triticum durum* Desf.) qui constitue 5% de celle-ci et qui est traditionnellement cultivé dans le bassin méditerranéen (**Adoui et al., 2017, Ghennai et al., 2017**). Dans le monde, le blé dur (*Triticum turgidum* L. var. *durum*) est cultivé sur environ 17 millions d'hectares (**Hannachi et al., 2017**).

La production mondiale de blé en 2008 a été de 686.8 millions de tonnes, de 700 millions de tonnes en 2011 (**FAO, 2012**), La production mondiale de blé en 2012, est de 690 millions de tonnes (**Nedjah, 2015**).

Selon les premières prévisions de la FAO, la production mondiale de blé de 2016 s'établirait à 723 millions de tonnes (**Ghennai et al., 2017**).

La production mondiale de blé en 2017 a également été relevée de 2,8 tonnes. À ce niveau, la production mondiale de blé ne perd que 3,7 millions de tonnes par rapport à la récolte record de 2016. L'ajustement à la hausse de ce mois-ci tient en grande partie aux estimations relatives à la production du Canada et de la Fédération de Russie (**FAO, 2018**).

### **V.L'EFFET DU STRESS HYDRIQUE SUR LE RENDEMENT DU BLE DUR**

En zones semi-arides les contraintes climatiques conditionnent fortement la performance de rendement en grain chez le blé dur (**Salmi et al., 2016**).

La variation des rendements en grains du blé dur (*Triticum durum* Desf.) des zones semi-arides d'altitude tire son origine en grande partie des effets des contraintes abiotiques de nature hydrique et calorique (**Fellah et al., 2001**).

Parmi les différents stress environnementaux, la sécheresse est la contrainte environnementale qui cause certainement le plus de dommages dans les productions agricoles. (**Kara et Bellkhiri., 2011**).

Le stress hydrique peut se définir comme le rapport entre la quantité d'eau nécessaire à la croissance de la plante et la quantité d'eau disponible dans son environnement, sachant que la réserve d'eau utile pour la plante est la quantité d'eau du sol accessible par son système racinaire (**Laberche, 2004**). La demande en eau de la plante est quant à elle déterminée par le niveau de transpiration ou évapotranspiration, ce qui inclut les pertes d'eau tant au niveau des feuilles qu'au niveau du sol (**Laberche, 2004**). Le stress hydrique est toute restriction

hydrique qui se traduit par une baisse de potentiel de la plante suite à une perturbation de son activité physiologique provoquée par un déficit de consommation en eau et communément appelé stress hydrique (**Mouhouche et Boulassel, 1997**).

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

Le rendement en grains chez le blé dépend fortement du nombre de grains par épi, du poids de grains par épi et du nombre d'épis par m<sup>2</sup> (**Triboï, 1990**). L'effet du déficit hydrique sur ces composantes et par conséquent sur le rendement, dépend du stade au cours duquel ce déficit survient (**Debaeke et al., 1996**). Ainsi, un déficit hydrique à la montaison se traduit par la chute du nombre d'épis par m<sup>2</sup>, la régression intense des tailles et la baisse du nombre de grains par épi (**Debaeke et al., 1996**). À la fin de la montaison, 10 à 15 Jours avant l'épiaison, la sécheresse réduit le nombre de fleurs fertiles par épillet (**Debaeke et al., 1996**). Le manque d'eau après la floraison, combiné à des températures élevées, entraîne une diminution du poids de 1000 grains par altération de la vitesse de remplissage des grains et de la durée de remplissage (**Triboï, 1990**). Au cours du remplissage des grains, le manque d'eau a pour conséquence une réduction de la taille des grains (échaudage), réduisant par conséquent le rendement (**Gate et al., 1993**). Ainsi, le risque de stress hydrique est-il possible presque durant tout le cycle biologique de la céréale. Par ailleurs et pour bien se développer, la plante doit disposer de mécanismes d'adaptation qui lui permettent de supporter le stress hydrique.

## **VI. POLYPLOÏDIE CHEZ LE BLE**

### **VI.1. Définition**

La polyplœdie se définit chez les eucaryotes comme l'assortiment complet de plus de deux lots de chromosomes dans un même noyau. Ainsi une espèce diploïde possède deux lots de chromosomes (2n avec 14 chromosomes) alors qu'une espèce polyplœdie possède plus de deux lots (triploïde: 2n avec 21 chromosomes, tétraploïdes: 2n avec 28 chromosomes, hexaploïdes: 2n avec 42 chromosomes).

### **VI.2. Classification des espèces polyplœdes**

On distingue généralement les espèces autopolyploïdes et les espèces allopolyploïdes.

Les autopolyploïdes possèdent des lots de chromosomes provenant d'une même espèce parentale alors que les espèces allopolyploïdes dérivent d'un ou de plusieurs événements d'hybridation interspécifique, suivis ou précédés d'un dédoublement chromosomique

(Mestiri, 2010). Cette classification a souvent été sujette à controverse puisque les autopolyploïdes peuvent être issus de croisements entre génotypes divergents de la même espèce. En d'autres termes, plus la divergence entre les espèces progénitrices est faible, plus un allopolyploïde tend vers un autopolyploïde (Mestiri, 2010).

Les espèces allopolyploïdes réunissent dans leur noyau des génomes ayant divergé de leur ancêtre commun à la suite d'un événement de spéciation. Ces génomes sont qualifiés d'homéologues. La polyplôïdie est particulièrement importante chez les espèces de blé (*Triticum* et *Aegilops*) qui constituent, en plus de leur importance économique, un excellent modèle pour étudier les effets de la polyplôïdie et mieux cerner les mécanismes impliqués dans la stabilisation et le succès des espèces polyplôïdes. En effet, en plus de l'existence de différents polyplôïdes à l'état naturel et de la possibilité de néo-synthétiser des polyplôïdes en laboratoire, ce système polyplôïde est le seul pour lequel un locus à effet majeur, empêchant l'appariement entre chromosomes homéologues à la méiose, a pu être caractérisé. Ce locus, *Ph1* (*Pairing homoeologous 1*) présent chez les blés tétraploïdes et hexaploïdes naturels assure un appariement homologue strict, dit comportement de diploïde à la méiose, essentiel à la stabilité de ces espèces allopolyploïdes (Mestiri, 2010).

### VI.3. Origine des trois génomes de blé

Chacun des génomes A, B et D (Figur3) provient d'une espèce diploïde ancestrale différente. Ces trois espèces seraient elles mêmes issues d'un ancêtre diploïde commun.

Cette origine a sans doute conféré au blé cette souplesse d'adaptation d'où sa culture dans de très nombreuses régions dans le monde.

Les génomes A et B contrôlent de manière générale l'architecture, la résistance et la fertilité de l'espèce. Le génome D confère au blé tendre son aptitude à la technologie du pain (Oudjani, 2009).

#### VI.3.1. Le génome A

Les travaux de Kihara (1924) cité par Felix (1966) ont permis d'attribuer l'origine du génome A à *Triticum monococcum* var. *boeoticum* ou var. *urartu*.

Une étude récente basée sur le polymorphisme des séquences répétées a établi que *Triticum urartu* qui est un proche parent de *Triticum boeoticum* mais non inter-fertile est le donneur du génome A pour tous les blés polyplôïdes (Oudjani, 2009).

#### VI.3. 2. Le génome B

De nombreuses hypothèses sont émises quant à l'origine du génome B du blé : Le **tableau III** synthétise ses explications possibles (**Oudjani, 2009**).

D'après ce tableau, l'origine du génome B demeure incertaine (source non identifiée). Il est présent chez la plupart des blés tétraploïdes, il est similaire à *Aegilops speltoides*. Ainsi six espèces ont été données ou proposées en tant que donneuses potentielles et *Aegilops searsii* semble être le donneur le plus probable.

Les génomes A et B contrôlent de manière générale l'architecture, la résistance et la fertilité de l'espèce (**Oudjani, 2009**).

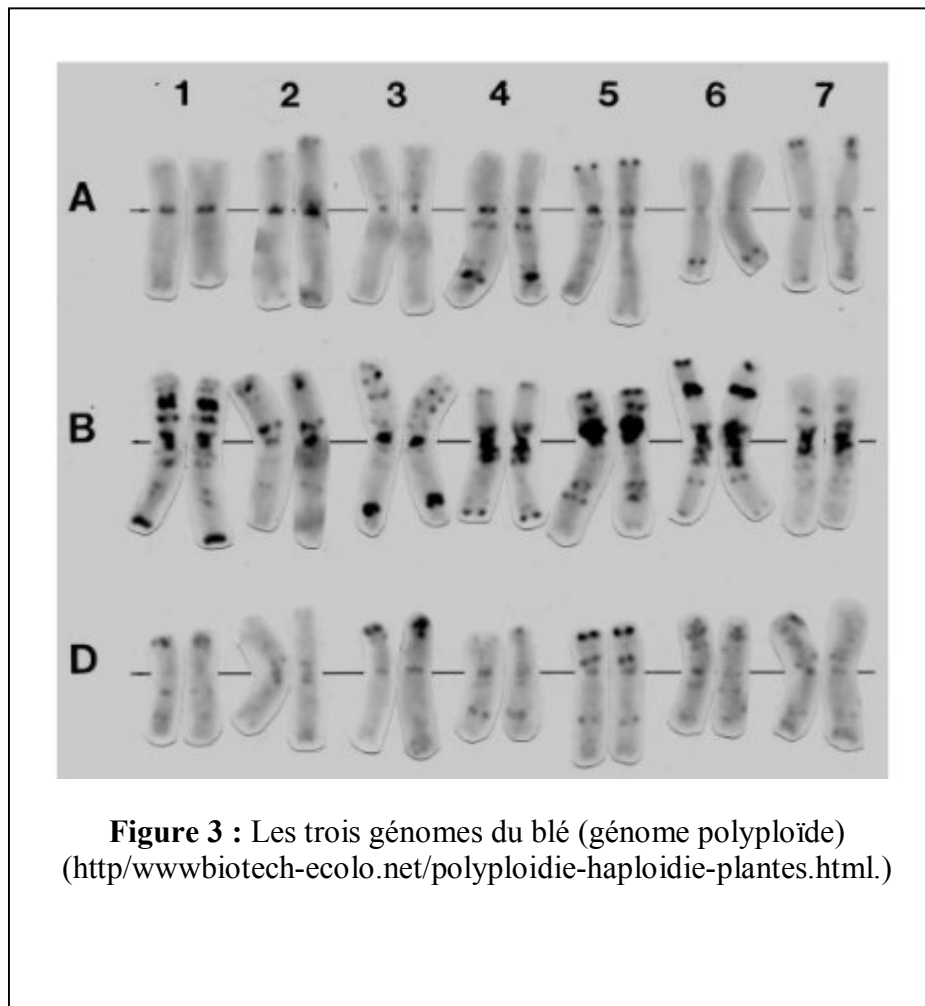
### VI.3. 3. Le génome D

Mc Fadden (1926) a montré que l'espèce *Aegilops taushii* (*Aegilops squarrosa*) est l'origine du génome D chez les blés hexaploïdes, leur conférant une plus grande résistance au froid et certaines caractéristiques morphologiques distinctes.

Cauderon (1979) signale qu'il a fallu près de 30 ans pour connaître l'origine du génome D. Il indique que l'analyse génomique par croisement de 2 blés *T. aestivum* et *T. turgidum* et 3 espèces d'*Aegilops* ; *Aegilops. cylindrica*, *Aegilops. caudata* et *Aegilops. squarrosa* a ramené à la conclusion que l'espèce *Aegilops squarrosa* est l'origine du génome D (**Oudjani, 2009**).

**Tableau III : Origines possibles du génome B chez le blé (Oudjani, 2009).**

Auteur	Année	Origine possible du génome B
Pathak	1940	<i>Aegilops speltoides</i>
Sarkar et Stebbins	1956	<i>Aegilops speltoides</i>
Johnson	1975	<i>Triticum urartu</i>
Konarev et al	1976	<i>Aegilops longissima</i>
Feldman	1978	<i>Aegilops searsii</i>
Kushnir et Halloran	1981, 1983	<i>Aegilops sharonensis</i>
Lange et Balkema boomstra	1988	<i>Aegilops</i> , Viz de la section <i>Sitopsis</i>



**Figure 3 :** Les trois génomes du blé (génome polyploïde)  
(<http://www.biotech-ecolo.net/polyplodie-haploidie-plantes.html>.)

## VII. LA CYTOGENETIQUE VEGETALE

La cytogénétique fait le lien entre la cytologie et la génétique. Les premiers travaux chez les végétaux ont débuté au cours de la seconde moitié du 19<sup>ème</sup> siècle mais c'est surtout à partir de 1920 que la cytogénétique s'est développée et son importance n'a cessé de croître par la suite. Le champ d'action de la cytogénétique est vaste et ses frontières ne sont pas clairement définies. Les méthodologies employées sont nombreuses (**Jahier et al., 1992**).

À partir des années 1930, la cytogénétique végétale a connu de prodigieux développements. C'est à cette époque qu'on a découvert les propriétés de la colchicine, agent permettant de doubler le stock chromosomique de cellules végétales. On a donc pu imaginer faire des « super-plantes, en augmentant le nombre de chromosomes (plantes polyploïdes). On a aussi pu imaginer d'exploiter plus systématiquement les hybrides entre espèces ; en effet, ceux-ci sont normalement stériles pour cause de non-appariement des chromosomes parentaux en méiose ; le doublement de leur nombre, rétablissant une situation disomique pour chacun d'eux, permet une méiose subnormale et restaure dans une certaine mesure la

fertilité. C'est ainsi que l'hybride blé x seigle (en latin : *Triticum x Secale*) donne après traitement à la colchicine une structure amphidiploïde fertile, le triticales. A la même époque, on a émis l'hypothèse que ce même modèle pouvait être à l'origine de nombreuses espèces polyploïdes naturelles, c'est-à-dire d'espèces dont le nombre de chromosomes est multiple du nombre de base caractéristique du genre ou de la tribu : blé tendre ( *Triticum aestivum*,  $2n = 42$ ), blé dur ( $2n = 28$ ), colza (*Brassica napus*,  $2n = 38$ ), coton (*Gossypium hirsutum*,  $2n = 52$ ), tabac (*Nicotina tabacum*,  $2n = 48$ ) (**Bernard et Bernard.,1992**).

### **VII.1. techniques de la cytogénétique**

Le champ d'action de la cytogénétique est vaste et ses frontières ne sont pas clairement définies. Les méthodologies employées sont nombreuses. Elles concernent avant tout, l'étude des chromosomes lors de la mitose et de la méiose par les techniques classiques mais aussi par des techniques plus récentes (banding, hybridation *in situ*).

Les techniques présentées ont pour objectif la réalisation de préparations chromosomiques qui permettent non seulement de dénombrer les chromosomes mais aussi d'étudier leur morphologie pour l'établissement de caryotypes ou pour la mise en évidence de modifications chromosomiques (délétions, réarrangements...).

La cytogénétique repose classiquement sur les techniques de l'analyse et la coloration des chromosomes de l'espèce représentée sous forme d'un caryotype.

Le matériel d'étude est constitué de semences germées, de plantes ou de tissus en culture *in vitro* placés dans des conditions permettant une croissance active. Le prélèvement des tissus a lieu au moment où le pourcentage de cellules en division (index mitotique) est élevé.

A partir du prélèvement, 7 phases principales sont distinguées dans la réalisation des préparations:

#### ➤ **Etape 1 : Le prétraitement**

Il se fait par trempage des tissus en division dans un agent mitoclasique qui a pour effets principaux de :

- bloquer les divisions mitotiques au stade métaphase ;
- contracter les chromosomes.

Les agents utilisés sont : la colchicine, l' $\alpha$ -bromonaphtalène, la 8-hydroxyquinoléine et l'eau froide (0 - 2 °C). L' $\alpha$ -bromonaphtalène est le plus utilisé en raison de sa facilité d'emploi et de son coût.

➤ **Etape 2 : La fixation**

Le fixateur détruit toute vie cellulaire. Il doit avoir une action rapide pour bloquer toute évolution des divisions cellulaires et permettre de conserver l'intégrité structurale des chromosomes.

Les fixateurs utilisables sont très nombreux. Ceux qui sont utilisés dans les techniques décrites sont : l'acide acétique et les « Fluids » I et II proposés par **Carnoy (1886)**.

I = Ethanol acétique (3:1)

II = Ethanol - Chloroforme - Acide acétique (6:3:1)

➤ **Etape 3 : Le stockage**

Il est possible de différer les autres phases. Le matériel peut être conservé pendant plusieurs mois dans l'éthanol, le plus souvent éthanol 70%. Certains fixateurs comme le Carnoy I peuvent également servir de solution de stockage.

➤ **Etape 4 : L'hydrolyse**

Cette étape est généralement nécessaire pour obtenir ultérieurement un bon étalement des cellules et des chromosomes entre lame et lamelle. L'agent le plus fréquemment employé pour le ramollissement des tissus est l'acide chlorhydrique. Son action peut être associée à celle d'enzymes. L'hydrolyse dissout les sels pectiques de la lamelle moyenne et permet l'éclaircissage du cytoplasme. En outre, l'acide chlorhydrique libère les groupements aldéhydiques sur les molécules de sucre de l'ADN par destruction des liaisons entre les bases puriques et le désoxyribose.

➤ **Etape 5 : La coloration**

Le réactif de Chiffé préparé à partir de la fuchsine basique est le colorant le plus utilisé. Il se fixe sur les groupements aldéhydiques libérés lors de l'hydrolyse pour donner une coloration rouge aux chromosomes. Fréquemment, cette technique de coloration est appelée technique « Feulgen » car elle a été décrite pour la première fois par **Feulgen (1926)**.

➤ **Etape 6 : Le montage**

La majorité des techniques présentées concernent les mitoses dans les méristèmes racinaires. Dans ce cas, la zone méristématique hydrolysée et colorée est isolée, déposée sur une lame dans une goutte d'eau acétique ou de carmin acétique et écrasée entre lame et lamelle pour assurer la dissociation des cellules. Cette dissociation est plus difficile si les

tissus ont été préalablement stockés dans l'alcool pendant une longue durée et si la quantité de tissu déposé est importante (**Jahier et al ., 1992**).

➤ **Etape 7 : L'observation des chromosomes**

La caractérisation cytogénétique est un préalable indispensable à la distribution aux améliorateurs. Par l'observation au microscope de métaphases racinaires, il est possible de détecter des aneuploïdes et d'étudier la morphologie des chromosomes à fin de mettre en évidence des modifications comme des délétions ou des réarrangements. Les grains ou plantes sont préalablement placés dans des conditions permettant une croissance active et les racines sont prélevées au moment où l'index mitotique est élevé (**Bertrand, 1996**).

Celui du blé dur montre deux groupes de 7 chromosomes, désignés par les lettres A et B. Dans chaque groupe, chaque chromosome est représenté en deux exemplaires ce qui est habituel (chromosomes homologues) (**Salamé, 2012**).

**VI.2. Exemples d'études cytogénétiques relevant l'évolution des caryotypes chez le blé**

Depuis le début de XIX siècle, les blés ont fait l'objet de nombreuses études cytogénétiques, et l'on sait maintenant qu'ils se classent dans une série polyploïde. Ils diffèrent par leur nombre de chromosomes et par la constitution de leur génome (**Oudjani, 2009**).

**Sakamura** et **Sax** indépendamment, en 1918, ont déterminé le caryotype de plusieurs blés tétraploïdes, ce qui a fait l'objet de nombreuses études. **Kagawa (1929)** a d'abord étudié la morphologie des chromosomes chez *Triticum*, par l'établissement de différents types de chromosomes après l'analyse des métaphases mitotiques. Par la suite, plusieurs chercheurs ont traité des études sur le caryotype dans le blé tétraploïde: **Coutinho (1936)** a analysé trois espèces d'émmer: **Levitsky et al. (1939)** a étudié une lignée de *T. Polonicum*, **Pathak (1939)** et **Kakhidze (1939)** ont analysé respectivement une et deux lignées de *T. Durum*.

**Camara et Coutinho (1939)** et **Camara (1944)** ont analysé de manière approfondie 8 blés tétraploïdes et 10 variétés botaniques de *Triticum durum*. Ces études ont démontré une variation continue de la morphologie des chromosomes entre les espèces et dans les variétés d'une même espèce (**Giorgi et Bozzini., 1969**).

# *Matériel et méthodes*

## **MATERIEL ET METHODES**

Ce travail a été réalisé au niveau de laboratoire des travaux pratiques du département des sciences de la nature et de la vie de l'université Mohamed Boudiaf de M'Sila. Son objectif était de mettre en évidence l'effet du stress hydrique sur la germination et la croissance de quatre lignées du blé dur différentes, ainsi que de caractériser par une technique de cytogénétique classique, la diversité caryotypique et les éventuelles anomalies chromosomiques chez ces lignées.

### **I. MATERIEL VEGETAL**

Les lignées de blé dur (*Triticum durum* Desf.) utilisées dans le présent travail ont été fournies par l'Institut Technique des Grandes Cultures (ITGC) de Sétif.

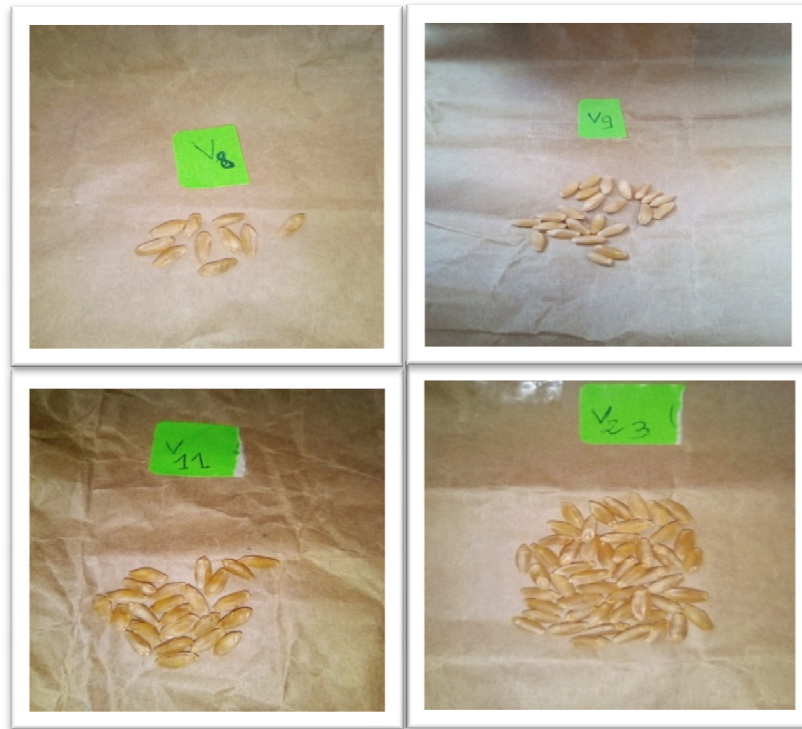
Le matériel végétal utilisé était les graines de quatre lignées V8, V9, V11 et V23 de blé tétraploïde (**Figure 4**).

Les informations concernant la traçabilité et les caractéristiques des quatre lignées du blé objets de cette études nous ont pas été fournit.

### **II. LA DEMARCHE EXPERIMENTALE POURSUIVIE**

Au cours de cette étude, nous nous sommes initiés à la maîtrise de certaines techniques de laboratoire, visant à l'amélioration des cultures végétales, ainsi que de caractériser certaines conditions de germination et de croissance. Pour cela, la démarche expérimentale poursuivie pour réaliser ce travail est articulée comme suivant :

- Réalisation de tests de germination sous l'effet du stress hydrique par PEG6000 pour les 4 Lignées du blé.
- Comparaison statistique des taux de croissance des différentes lignées étudiées.
- Etablissement de caryotypes par une technique de cytogénétique classique, qui consiste en l'isolement des chromosomes en métaphase dans le but de :
  - dénombrer les chromosomes de chaque lignée ;
  - Etudier la morphologie des chromosomes afin de mettre en évidence des éventuelles modifications à savoir les délétions, les réarrangements chromosomiques, les cassures chromosomiques...etc.



**Figure 4 :** Les grains des quatre lignées du blé étudiées.  
V8, V9, V11 et V23 respectivement.

### III. PREPARATION DU MATERIEL VEGETAL

Les graines mises en inhibition dans des boîte de Pétri ont été d'abord incubées au réfrigérateur à 5° pendant 4 heures puis les graines des quatre lignées ont été stérilisées à l'eau de javel à 6%, pendant 15 minutes puis rincées, par trois fois, à l'eau distillée stérile.

Durant tous les tests réalisés, nous avons utilisé 5 à 10 graines par boîte de pétri. Les tests de germination ont été effectués sur papier filtre humecté soit à l'eau distillée ou avec une solution de polyéthylène glycol (PEG 6000) (Bajji et al., 2000) pendant 48h à température ambiante du laboratoire.

### IV. APPLICATION DU STRESS HYDRIQUE *IN VITRO*

Le stress hydrique peut être induit à n'importe quel stade du cycle de la culture des différentes lignées. Le déficit hydrique a été induit par l'introduction d'une solution de polyéthylène glycol (PEG 6000) pendant 09 jours au stade de la germination et la levée (Bajji et al., 2000).

➤ **Germination avec stress hydrique (T1)** : le stress hydrique a été appliqué sur nos cultures par l'ajout de quelques gouttes de PEG6000 à 30% aux graines du blé mises à germer dans des boîtes de Pétri à température ambiante (environ 25°C).

➤ **Germination normal (T0)** : la germination normale (sans stress) des quatre lignées étudiées a été réalisée par l'ajout de quelques gouttes d'eau distillé pour l'imbibition des graines mises à germer dans des boîtes de Pétri à température ambiante de laboratoire (environ 25°C).

Le pourcentage de graines germées est déterminé par le rapport entre le nombre des plantules normales développées sur le nombre total de graines lancées en culture (**Benderradji et al., 2013**).

## **V. ANALYSE DE RESULTATS DE GERMINATION**

Les mesures ont été effectuées sur les plantules du même stade de développement. Les notations portent sur : le taux de germination (paramètre physiologique), longueur et nombre de racines (paramètres de développement).

### **V.1. Taux de germination**

La germination est notée par des mesures effectuées toutes les 24 heures sur les différentes cultures, jusqu'au 10<sup>ème</sup> jour (**Benderradji, 2013**).

Le taux de germination est déterminé, selon la formule suivante (**Benderradji et al., 2016**) :

$$G\% = 100 (NGG / NTG)$$

NGG : Nombre de graines germées.

NTG : Nombre total de graines lancées.

### **V.2. Longueur et nombre de racines**

Les mesures de la longueur des racines ont été effectuées afin de déterminer une moyenne de la longueur pour chaque lignée en culture dans des conditions de stress hydrique induit par le PEG 6000 et sans stress hydrique. Le dénombrement des racines a été effectué dans les mêmes conditions.

## **VI. ETABLISSEMENT DE CARYOTYPES PAR LA TECHNIQUE DE CYTOGENETIQUE**

La cytogénétique regroupe un ensemble de méthodes de laboratoire permettant d'affiner l'étude des chromosomes en mitose et en méiose dans les populations naturelles et expérimentales (**Jahier et al., 1992**).

Différentes méthodes ont été décrites pour l'étude des chromosomes notamment celle de Feulgen décrite en 1926. Elles mettent en jeu l'application d'agents chimiques pour fixer et libérer les chromosomes de cellules en division stoppée en phase de métaphase (**Jahier et al., 1992**). En effet, la métaphase est caractérisée par des chromosomes bien individualisés et bien visibles au microscope. Ceci, facilite leur étude morphologique, permettant ainsi leur classification selon leur taille et position des centromères et également, la mise en évidence d'éventuelles anomalies dues soit à une duplication, des cassures de l'un ou des deux bras et les délétions de certaines portions chromosomiques.

L'emploi d'une bonne technique adéquate doit permettre une bonne séparation des chromosomes avec des détails morphologiques permettant l'établissement correct du caryotype.

### ❖ **Processus analytique en vue de l'obtention d'un caryotype par la technique de Feulgen**

La technique de Feulgen est une technique de coloration classique basé sur la propriété du réactif de Schiff de colorer l'ADN chromosomique en rouge violet. Dans cette étude, nous avons poursuivis les différentes étapes de cette technique, afin d'établir les caryotypes des quatre lignées du blé testées.

#### **VI.1. Prétraitement**

Cette étape consiste à bloquer les divisions mitotiques en métaphase, de contracter les chromosomes et leur individualisation en obtenant un grand nombre de plaques métaphasiques.

Après la germination et lorsque la taille des racines atteint 6 à 12 mm, ces dernières sont prélevées puis plongées dans un agent mitoclasique (dans notre cas c'est la solution d'hydroxyquinoleine) pendant 2h30 à température ambiante (**Figure 5**). Cette solution inhibe la formation du faisceau achromatique et retarde la division du centromère, ce qui entraîne l'éparpillement des chromosomes dans la cellule.



**Figure 5 :** Les racines des quatre lignées prolongées dans une solution d'hydroxyquinoleine.

### **VI.2. Fixation**

Après un rinçage dans l'eau distillée pour l'élimination des substances mitoclasiques, les racines sont ensuite fixées dans de l'alcool acétique (3 :1 soit trois volumes d'éthanol absolu pour un volume d'acide acétique) pendant 48h à température ambiante.

Le but de cette étape est d'empêcher toute activité cellulaire ultérieure et de bloquer les divisions cellulaires en métaphase en conservant l'intégrité des chromosomes en les protégeant de l'agent de prétraitement. De plus, elle améliore le contraste entre les chromosomes et le fond cytoplasmique (**Amirouche et al., 2014, Jahier et al., 1992**).

### **VI.3. Stockage et conservation**

Le matériel végétal est stocké et conservé pendant plusieurs mois dans une solution d'éthanol 70% à 4°C.

### **VI.4. Hydrolyse acide**

Après rinçage à l'eau distillée, les racines sont placées dans du Hcl 1N, puis transférées dans un bain marie à 60°C pendant 12 min (**Figure 6**). L'hydrolyse acide permet d'une part le ramollissement des tissus racinaires pour faciliter leur écrasement. D'autre part, elle est nécessaire pour la libération des groupements aldéhydes de l'ADN chromosomique. C'est sur ces groupements que se fixera la fuchsine basique donnant une coloration rouge violette aux chromosomes lors de l'étape de coloration.



**Figure 6** : processus d'hydrolyse acide

### **VI.5. Coloration**

Afin de mettre en évidence des zones méristématiques, Les racines hydrolysées sont plongées dans la Fuchsine pendant 1h30 à 2h à l'obscurité, jusqu'à coloration intense. Seuls les chromosomes prennent une coloration rouge violacé.

### **VI.6. Montage et observation**

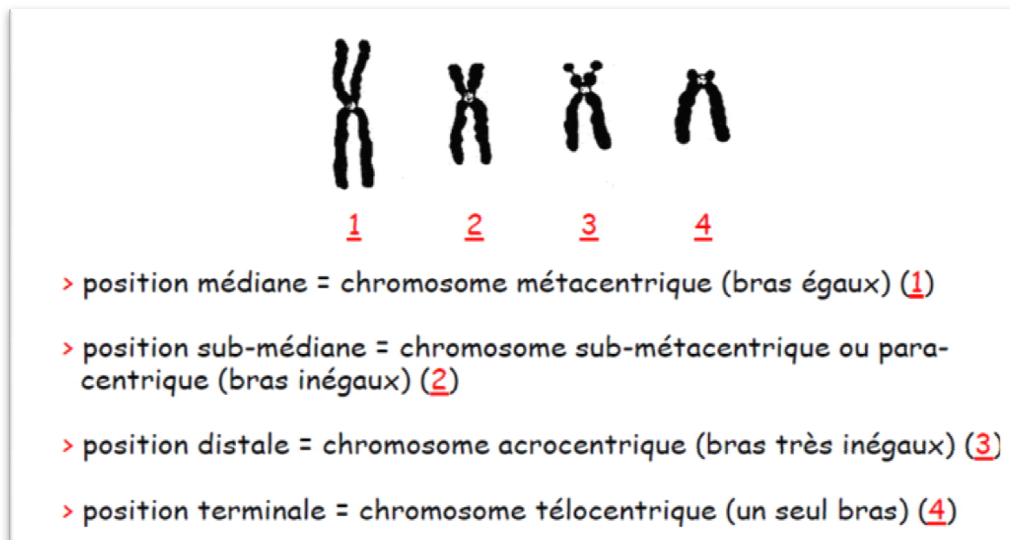
Les pointes racinaires sont écrasées entre lame et lamelle. Les observations sont faites sous microscope photonique équipé d'un appareil photographique numérique relié à un ordinateur pour l'enregistrement des photos (**Figure 7**). Les meilleurs plaques métaphasiques sont sélectionnées et photographiée.



**Figure 7** : Système d'observations composé d'un microscope photonique équipé d'un appareil photographique numérique relié à un ordinateur.

## VI.7. Etablissement du caryotype

Différents paramètres caractérisent un caryotype, tel le nombre chromosomique, la longueur relative de chaque paire chromosomique, la longueur totale des chromosomes, la présence de satellite, les indices centromériques et le degré de symétrie (**Figure 8**).



**Figure 8:** Les différents types de chromosomes métaphasiques.  
(<http://www.webzeest.com/article/1958/cell-biology-and-genetics>).

# *Résultats et Discussion*

## RESULTATS ET DISCUSSION

### I. Effet du stress hydrique induit par PEG 6000

#### I.1. Effet sur la germination

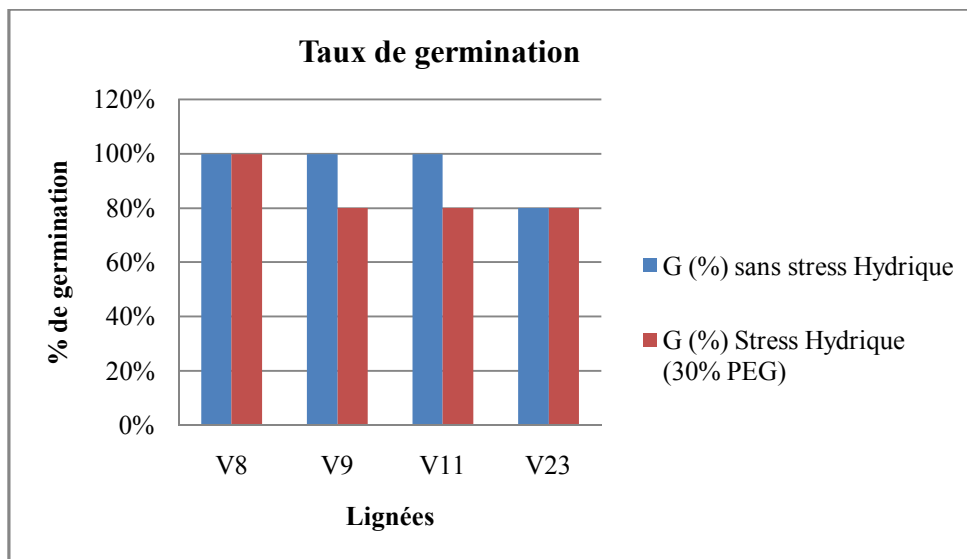
En l'absence du stress hydrique, les quatre lignées V8, V9, V11 et V23 ont montré des taux de germination atteignant les 100% (**Figure 9**).

En présence du stress hydrique induit par l'introduction de PEG 6000 à 30% sur les graines en culture, les résultats ont montré que le taux de germination de la lignée **V8** est maximal (100%) et semblable au taux de germination des lignées (V8, V9 et V11) en l'absence du stress hydrique. Tandis que les trois autres lignées V8, V9 et V23 ont présenté des taux de germinations moins importants avoisinant les 80% (**Figure 9**).

Les résultats obtenus après culture des quatre lignées dans des milieux dépourvus du stress hydrique et parallèlement, dans des milieux additionnés de PEG 6000 à 30%, agent induisant le stress hydrique, ont montré que la germination de ces quatre lignées n'a pas été affectée d'une manière significative par cet agent stressant. Donc, ces lignées sont insensibles au stress hydrique en culture *in vitro*.

En effet, les régulations physiologiques et morphologiques qui permettent aux plantes de s'adapter à une alimentation en eau déficitaire s'opèrent à différentes échelles (**Sakuma et al., 2006**). (**Benderradji et al., 2016**) ont montré que, la diminution des taux de germination des cultures est due à un processus de dormance osmotique développé sous ces conditions de stress.

Cependant, l'introduction des variétés améliorées dans les programmes de croisement dans la zone méditerranéenne avec les variétés locales se caractérisant par une meilleure adaptation et une faible productivité, amènera à une meilleure compréhension du déterminisme génétique et physiologique de la réponse au manque d'eau et par conséquent améliorer la tolérance à la sécheresse chez le blé (**Bousbaa et al., 2013**).



**Figure 9 :** Taux de germination des lignées testées en présence et en absence du stress hydrique

## I.2. Effet sur la longueur des racines

En l'absence du stress hydrique, les résultats de mesure de la longueur des racines chez les quatre lignées du blé dur mise en germination, ont montré que les lignées V8, V9 et V11 ont été caractérisé par une taille des racines importante, comprise entre 4,5 cm et 5 cm. La lignée V23, quant à elle, elle était marquée par la présence de racines plus longues par rapport aux autres lignées testées sous les mêmes conditions. Chez cette lignée, la taille des racines a voisiné 8 cm (**Figure 10**).

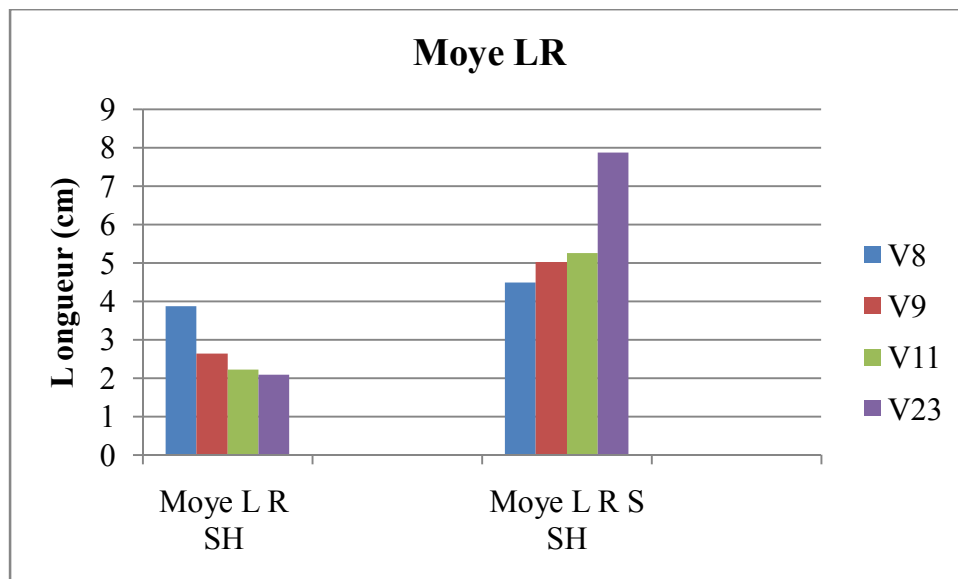
En présence du stress hydrique, induit par PEG 6000 à 30%, les résultats de mesure de la taille des racines obtenus chez les quatre lignées du blé dur testées, ont montré que la Moyenne de longueur des racines était très proche entre les lignées V23, V11 et V9. Cette taille était de 2 cm pré. La lignée **V8** a montré une taille des racines un peu plus élevée par rapport aux trois autres lignées testées, qui était de 3,5 cm (**Figure 10**).

La comparaison des résultats de mesures de la taille des racines, obtenues avec application et sans stress hydrique a montré que : i) la moyenne des tailles des racines obtenues chez les lignées V9, V11 et V23 était significativement plus élevée dans les conditions de culture dépourvues de stress hydrique, comparées à celles obtenues dans les conditions de culture stressées par l'introduction de PEG 6000. ii) la moyenne de la taille des racines qui a caractérisée la lignée V23 en absence du stress hydrique était très significativement élevée par rapport à celle obtenue en présence du stress hydrique, et que cette moyenne était la plus

élevée comparée à celles des trois autres lignées testées. iii) la lignée **V8** a montré une moyenne de la longueur des racines identique dans les conditions de culture sans stress hydrique et avec induction du stress hydrique.

En stress hydrique, la longueur des racines est fortement effectuée. La lignée **V8** présente une meilleure tolérance que les autres Lignées. Dans les conditions de stress hydrique et sans stress hydrique on observe que les lignées de blé dur non stressés sont plus tolérantes par rapport au milieu stressé avec PEG 6000.

La compréhension des mécanismes d'adaptation à une alimentation en eau déficitaire est nécessaire pour orienter la recherche d'espèces ou de variétés cultivées moins exigeantes en eau et pour piloter l'irrigation de la façon la plus économe possible (**Chaves et al., 2009**). Dans ce présent travail, la lignée **V8** s'avère une lignée qui présente une meilleure tolérance vis-à-vis du stress hydrique.

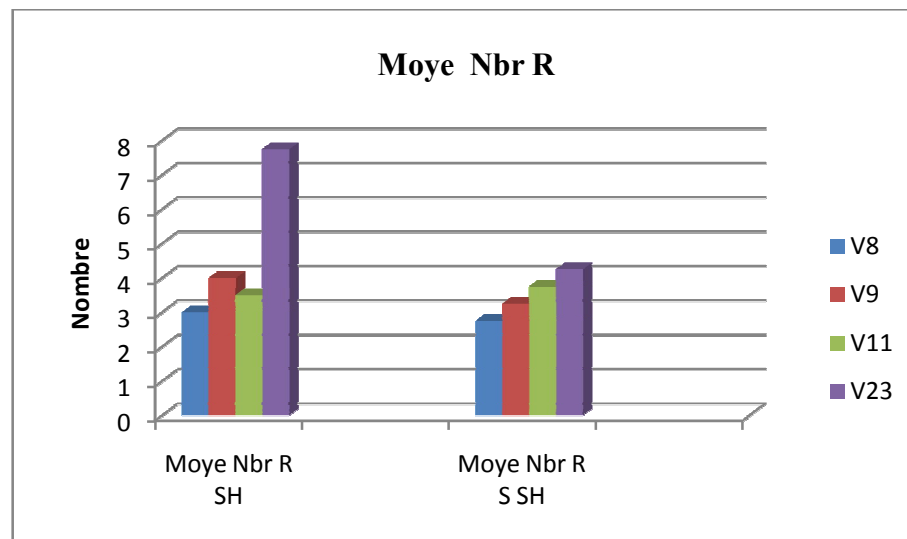


**Figure 10** : Moyenne de longueur des racines chez les quatre lignées du blé dur.

### **I.3. Effet sur le nombre de racines**

L'analyse des résultats de mesure du nombre de racines obtenues après culture des quatre lignées dans les conditions sans stress hydrique et avec stress hydrique ont montré que,

- i) généralement la moyenne de nombre de racines chez les lignées V8, V9 et V11 dans les conditions de culture sans stress hydrique était identique à celle obtenue dans les conditions de culture avec stress hydrique induit par le PEG 6000.
- ii) la lignée **V23** a montré une moyenne du nombre de racine significativement très élevée dans les conditions de culture avec stress hydrique induit par le PEG 6000, comparée à celle obtenue dans les conditions de culture sans stress hydrique.
- iii) La valeur moyenne de nombre de racines de la lignée **V23** dans les conditions de culture avec stress hydrique était significativement très élevée par rapport à celles obtenues chez les trois autres lignées dans ces mêmes conditions de culture (**Figure 11**).



**Figure 11** : Moyenne de nombre des racines chez les quatre lignées du blé dur testées.

En conclusion à cette première partie de ce présent travail, nous pouvons dire que la lignée V8 a montré en présence du stress hydrique induit par l'introduction de PEG 6000 à 30% un taux de germination maximal (100%) et que cette lignée a montré une moyenne de la longueur des racines identique dans les conditions de culture sans stress hydrique et avec induction du stress hydrique. De même, la lignée **V23** a montré une moyenne du nombre de racines significativement très élevée dans les conditions de culture avec stress hydrique induit par le PEG 6000, comparée à celle obtenue dans les conditions de culture sans stress hydrique et que cette moyenne était significativement très élevée par rapport à celles obtenues chez les trois autres lignées testées.

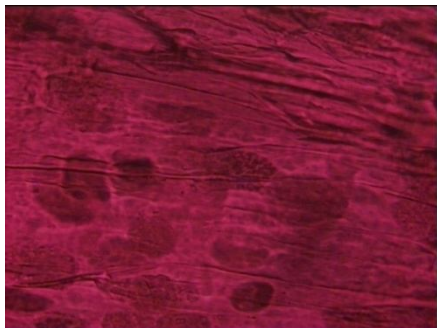
De ce fait, nous pouvons conclure que ces deux lignées V8 et V23 qui présentent une meilleure tolérance au stress hydrique peuvent être des meilleurs candidats pour l'amélioration du blé dur.

## II. Etablissement de caryotypes par la technique de cytogénétique

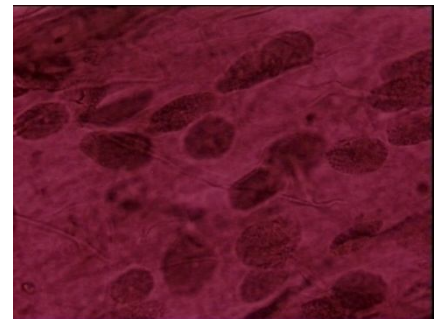
Les essais ont été menés chez les quatre lignées sur des racines d'une longueur de 1Cm obtenues après 48h de culture des graines.

La démarche poursuivie afin d'établir les caryotypes des quatre lignées est basée sur l'application du protocole de **Felgen (1926)**, dont le principe repose sur la coloration par le réactif de Schiff ou la Fuschine basique.

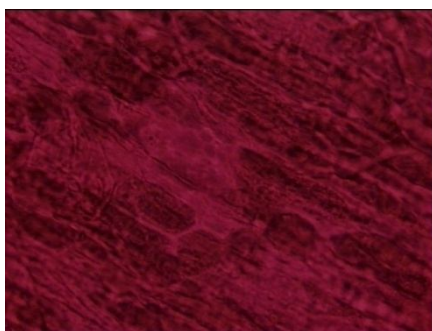
Après une série de manipulations sur les graines germées des 4 lignées (V8, V9, V11 et V23), dont nous avons testé 90 graines par lignée, pour observer une meilleure plaque métaphasique afin de dénombrer les chromosomes et établir leurs caryotypes. Les résultats obtenus ne portent que sur les meilleures plaques métaphasiques (**Figures 12, 13, 14 et 15**).



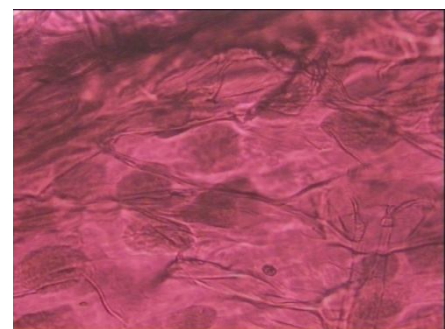
**Figure 12** : Observation microscopique d'une plaque métaphasique chez la lignée V8.



**Figure 13** : Observation microscopique d'une plaque métaphasique chez la lignée V9.



**Figure 14** : Observation microscopique d'une plaque métaphasique chez la lignée V23.



**Figure 15** : Observation microscopique d'une plaque métaphasique chez la lignée V11.

Les travaux de **Giorgi et Bozzini. (1969)** sur les variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf.), ainsi que les travaux de **Maxime et al. (1983)**, **Benbelkacem, (2010)** et **Ouafi, (2009)** ont montré que les extrémités racinaires sont le siège de divisions mitotiques intenses.

Les études caryologiques sont donc aisément pratiquées au niveau de cette zone méristématique. De ce fait, dans ce présent travail, les métaphases mitotiques ont été étudiées dans les extrémités des racines obtenues à partir de graines germées.

**Jahier et al. (1992)** a montré que la cytogénétique fait le lien entre la cytologie et la génétique. C'est d'abord une science d'investigation. Elle a pris une part active à la compréhension des mécanismes héréditaires et du monde végétal dans sa diversité (taxonomie, phylogénie). C'est aussi une des nombreuses disciplines sur lesquelles s'appuie l'amélioration des plantes. Elle se situe avant tout en amont de la sélection. Elle participe à

- i) la connaissance du matériel végétal utilisé sur le plan de polyploïdie, nombre de chromosomes...
- ii) l'établissement de cartes génétiques grâce à la production et l'étude d'aneuploïdes (exemple : lignées monosomiques).
- iii) l'exploitation de la variabilité intraspécifique, interspécifique ou induite.

L'expérience a montré que les outils de la cytogénétique sont indispensables à une exploitation rationnelle des hybrides interspécifiques. Par ailleurs, la cytogénétique a trouvé un nouveau domaine d'application dans l'étude et l'utilisation des produits issus de culture *in vitro* (hybrides somatiques, variants somaclonaux...).

La cytogénétique peut être impliquée au niveau même de la création variétale en participant à l'explication et la résolution de problèmes ponctuels rencontrés par les sélectionneurs, tels, l'instabilité et la stérilité.

Les résultats obtenus dans la deuxième partie de ce présent travail ont permis de mettre en évidence la présence de chromosomes chez les quatre lignées, mais ces derniers n'étaient pas bien individualisés avec une confusion du réactif de Schiff aux autres composants de la cellule, ce qui a rendu difficile l'établissement des caryotypes à partir de telles plaques. De plus, l'obtention de photographie par le système mis à notre disposition était moins fiable.

Pour la raison de temps de réalisation court, l'étape d'optimisation de cette technique a été annulée. En effet, plusieurs paramètres inclus dans les différentes étapes de cette chaîne de réalisation doivent être optimisés pour valider un bon protocole qui, en finalité aboutit à de bonnes plaques, servant à l'établissement de caryotypes clairs et nettes.

Cependant, cette technique de cytogénétique classique, une fois optimisée et validée, permet de mettre en évidence :

- le nombre chromosomique de chaque lignée ;
- la structure et le type de chromosomes de chaque lignée ;
- l'état de ploïdie de chaque lignée (diploïde, tétraploïde, hexaploïde...etc) ;
- les éventuelles aberrations chromosomiques, à savoir, les cassures, les délétions et les duplications.

*Conclusion*

### CONCLUSION

L'amélioration des céréales porte maintenant sur des caractères très complexes, présentant en majorité une distribution continue. La valeur phénotypique d'un individu dépend du génotype (facteurs génétiques), mais aussi des conditions environnementales.

Cette étude a été menée au laboratoire des travaux pratiques du département des sciences de la nature et de la vie de l'université Mohamed Boudiaf de M'Sila. Elle est articulée en deux parties complémentaires, dont l'objectif était de mettre en évidence l'effet du stress hydrique sur la germination et la croissance de quatre lignées du blé dur, ainsi que de caractériser par une technique de cytogénétique classique, la diversité caryotypique et les éventuelles anomalies chromosomiques chez ces lignées.

Les résultats de la première partie de ce travail, qui a porté sur la réponse des quatre lignées de blé dur (*Triticum durum* Desf.) V8, V9, V11 et V23 au stress hydrique par PEG6000 en stade de germination, ont montré une adaptation de ces lignées à ce stress particulièrement la lignée V8 qui a marqué une meilleure adaptation au stress hydrique, démontré par la moyenne de longueur élevée par rapport aux trois autres lignées. De même, la lignée V23 a montré une bonne adaptation sous les mêmes conditions du stress. Ceci s'est traduit par l'augmentation dans la moyenne de nombres des racines. De ce fait, nous pouvons déduire que l'aptitude des graines des quatre lignées à germer sous l'effet du stress hydrique ou en absence du stress hydrique est généralement identique.

Dans la deuxième partie de ce travail, nous nous sommes intéressés à l'établissement de caryotypes des différentes lignées étudiées par une technique de cytogénétique classique. Les résultats obtenus ont permis de mettre en évidence la présence de chromosomes chez les quatre lignées, mais ces derniers n'étaient pas bien individualisés avec une confusion du réactif de Schiff aux autres composants de la cellule, ce qui a rendu difficile l'établissement des caryotypes à partir de telles plaques. De plus, l'obtention de photographie par le système mis à notre disposition était moins fiable.

Pour la raison de temps de réalisation court, l'étape d'optimisation de cette technique a été annulée. En effet, plusieurs paramètres inclus dans les différentes étapes de cette chaîne de réalisation doivent être optimisés pour valider un bon protocole qui, en finalité aboutit à de bonnes plaques, servant à l'établissement de caryotypes clairs et nettes.

Cependant, cette technique de cytogénétique classique, une fois optimisée et validée, permet de mettre en évidence :

- le nombre chromosomique de chaque lignée ;
- la structure et le type de chromosomes de chaque lignée ;
- l'état de ploïdie de chaque lignée (diploïde, tétraploïde, hexaploïde...etc) ;
- les éventuelles aberrations chromosomiques, à savoir, les cassures, les délétions et les duplications.

Dans ce sens, une bonne maîtrise d'analyse et d'interprétation de caryotypes, constituent un des fonds de base en biotechnologies, notamment en biotechnologie végétale. Le choix d'un bon caryotype d'une lignée du blé dur, reflète le bon choix d'une bonne variété candidate, à utiliser pour l'amélioration du blé.

*Références  
bibliographiques*

### Références bibliographique

- **Abdelkader, DJ. (2009)** La production céréalière en Algérie : les principales caractéristiques. *Revue Nature et Technologie*, n° 01 : P45-53.
- **Abecassis, J. (2015)** La Filière Blé dur. *Intra-Umr Iate*, PP : 1-21.
- **Adoui, N., Benderradji, L., Messaoudi, N., Brini, F., Boudour, L. (2017)** Analyse Moléculaire De La Diversité Génétique Des Protéines De Réserves Chez Quatre Variétés De Blé Dur (*Triticum Turgidum* L. Var *Durum*). *European Scientific Journal*, 13 :1857 – 7881.
- **Ait-Slimane-Ait-Kaki, S. (2008)** Contribution à l'étude de l'interaction génotype x milieu, pour la qualité technologiques chez le blé dur en Algérie, Thèse Doctorat en Sciences, Biologie végétale et Amélioration des Plantes, Université Badji Mokhtar Annaba.
- **Amallah, L., Hassikou, R., Rhrib, K., Gaboun, F., Ennadir, J., Bouazza, F., Rochdi, A., A raho, M., Diria, G., Taghouti, M. (2016)** Analyse De La Diversité Génétique D'une Collection De Blé Dur Par Les Marqueurs Agro-Morphologiques Et Biochimiques. *J. Mater. Environ. Sci*, 7 (7) :2435-2444.
- **Bajji, M., Lutts, S et Kinet, J.M. (2000)** La résistance au stress hydrique chez le blé dur: Comparaison des comportements au niveau cellulaire et au niveau de la plante entière, Options Méditerranéennes : Série A. Séminaires Méditerranéens; N 40 : 227-231.
- **Bellatreche, A., Gaouar, S. (2016)** Diversité et comportement de variétés de blé dans la région de tlemcen ,édition Universitaires Européennes, P1.
- **Benbelkacem, A. (2012)** Current stat and trends of wheat production in Algeria, wheat for food security in Africa. *Ministry of agriculture et Rural development*. in Addis Ababa, Ethiopia, 5 p.
- **Benbelkacem, S. (2010)** Contribution A L'étude Cytogénétique De L'espece *Bellevalia Mauritanica* Pomel (Hyacinthaceae) Endémique De L'Afrique Du Nord, Thèse magister en génétique et amélioration des plantes, Université Mentouri Constantine, 55 P.
- **Bernard, M., Bernard, S. (1992)** Développement et applications des techniques de coloration différentielle des chromosomes chez les végétaux : caryotypes et structures chromosomiques, Identification des espèces et relations phylétiques. *Société Française de Génétique*, 8 :1-10.

- **Benderradji, L., Hadji, N., Kellou, K., Benniou, R., Brini, F. (2016)** Effet du NaCl et PEG6000 sur le comportement morpho-Physiologique et biochimique des variétés de blé dur et tendre cultivées in vitro en milieu hydroponique. *Revue Agriculture*. Numéro spécial 1 :278-286.
- **Benderradji, L. (2013)** sélection *in vitro* pour la tolérance aux stress salin et thermique chez le blé tendre (*Triticum aestivum* L.), Thèse doctorat en Sciences en génétique et amélioration des plantes, Université Constantine -1-, 143 P.
- **Bertrand, K. (1996)** Haplodiploidisation D'hybrides Interspécifiques Ou Intergénériques De Blé, Thèse Pour L'obtention Du Grade De Maïae Es Science (M.Sc.). L'université Laval, P19.
- **Bonjean, A. (2001)** Histoire de la culture des céréales et en particulier de celle du blé tendre (*Triticum aestivum* L.). *Dossier de l'environnement de l'INRA*. n°21 : P29-37.
- **Bouatrous, Y. (2013)** Effet Du Stress Salin Et L'haplodiploïdisation Chez Le Blé Dur (*Triticum Durum* Desf.). Thèse de Doctorat en Sciences en Biologie Végétale, Université Mentouri De Constantine, 129 P.
- **Bouayed Abdelmoula, N. (2004)** Apport de la cytogénétique moléculaire au diagnostic des anomalies chromosomiques. *Ann Biol Clin (abc)* .vol(62). Laboratoire d'histologie –embryologie, faculté de médecine, Sfax, P629.
- **Bousbaa, R., Djekoun, A.E., Duraa, S., Ykhlef, N. (2013)** Caractérisation Moléculaire Et Association Marqueur SSR Phénotype Pour La Tolérance Au Stress Hydrique Chez Le Blé Dur (*Triticum Durum* Desf), *European Scientific Journal*, Vol.9, No.12. PP: 1857 – 7881.
- **Bouzerzour, H., Oudina, H. (1989)** Associations de certains caractères, morphologiques Au rendement grain chez le blé dur (*triticum durum* Desf.). En conditions semi arides. *Ann. Inst. Nat. Agron.* El-Harrach, vol(13) :P 158.
- **Chaves, M., Flexas, J., Pinheiro, C. (2009)** photosynthesis under drought I and salt stress regulation mechanisms from whole plant to cell *Ann. Bot* ,103:551-560.
- **Chenafi, H., Aidaoui, A., Bouzerzour, H., Saci. A. (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.
- **Cherfia, R. (2010)** Etude de la variabilité morpho-physiologique et moléculaire d'une collection de blé dur algérien (*Triticum durum* Desf.), Thèse magister en Biotechnologies végétales (Ecole doctorale), Université Mentouri Constantine, P76.

- **Constance, V. (2014)** Rôle des effets épistatiques dans l'évolution d'une population à régime de reproduction mixte, et dans la régulation de l'expression des gènes homéologues chez une espèce autogame allotétraploïde, le blé dur (*Triticum turgidum*), Thèse pour obtenir de grande docteur en Evolution, écologie, ressources génétiques, paléontologie. Centre international d'études supérieures en sciences agronomiques – Montpellier.
- **Debaeke, P., Cabelguenne. M., Casals, M.L., Puech, J. (1996)** Élaboration du rendement du blé d'hiver en conditions de déficit hydrique, II. Mise au point et test d'un modèle de simulation de la culture de blé d'hiver en conditions d'alimentation hydrique et azotée variées. *Epicphase-blé ; Agronomie* 16: 25 - 46.
- **Debaeke, P., Purch, J., Casal, M.L. (1996)** Elaboration du rendement de blé d'hiver en condition de déficit hydrique, I. Etude en Iysimètre ; *Agronomie* 16: 3-23.
- **Djébali, N., Tiyab, N., Gargouri, S., Hessini, K. (2014)** Effet d'osmo -amorçage des grains sur la germination, la croissance et la résistance du blé dur à *Fusarium culmorum*, Journée Nationale sur la valorisation des résultats de la Recherche dans le domaine des Grandes Cultures Tunis, P 11-18
- **FAO. (2018)** Bulletin de la FAO sur l'offre et la demande de céréales.
- **Feillet, P. (2000)** Le grain de blé composition et utilisation , *Editions de Institut National de Recherche Agronomique (INRA)*, Paris, Pp5-17-18.
- **Fellah, A., Bouzerzour, H., Benmahammed, A., Djekoun, A.L. (2001)** Sélection Pour Améliorer La Tolérance Aux Stress Abiotiques Chez Le Blé Dur (*Triticum Durum* Desf.). *Actes Inst. Agron. Vet.*, Vol. 22 (3) :161-168.
- **Gate, P., Bouthier, A., Casabianca, H., Deleens. E. (1993)** Caractères physiologiques décrivant la tolérance à la sécheresse des blés cultivés en France : interprétation des corrélations entre le rendement et la composition isotopique du carbone des grains. Colloque Diversité génétique et amélioration variétale Montpellier (France), *Les colloques(Inra)*, Paris, P 64.
- **Giorgi, B., Bozzini, A. (1969)** Karyotype Analysis in Triticum: Analysis of *Triticum Turgidum* (L.) Thell. And Some Related Tetraploid Wheats, *Caryologia International Journal of Cytology, Cytosystematics and Cytogenetics*, Vol (22) n°3: 250-259.
- **Ghennai, A., Zérafa, Ch., Benlaribi, M. (2017)** Étude de la diversité génétique de quelques variétés de blé tendre (*Triticum aestivum* L.) et de blé dur (*Triticum durum* Desf.) selon la base des caractères de l'U.P.O.V. *Journal of Applied Biosciences* ,113: 11246-11256.

- **Hacini, N. (2014)** Etude de l'interaction Génotype X Environnement et effet de l'origine de quelques cultivars de blé dur (*Triticum durum* Desf.) sur les aptitudes adaptatives et qualitatives, Thèse doctorat en biologie végétale, Université Badji Mokhtar Annaba. 120P.
- **Hannachi,A .,Fellahi,Z.,Rabti,A .,Guendouz,A ., Bouzerzour,H.(2017)** Combining ability and gene action estimates for some yield attributes in durum wheat(*triticum turgidum* l. Var durum).*Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 9(3):1112-9867.
- **<http://www.biotech-ecolo.net/polyploidie-haploidie-plantes.html>.**
- **<http://www.webzeest.com/article/1958/cell-biology-and-genetics>.**
- **Jahier, J .,Chevre, A.M .,Delourme, R .,Eber, F .,Tanguy, A.M ., le groupe de travail INRA (Institut National de la Recherche Agronomique ) « cytologie et cytogénétique » .(1992)**Technique de cytogénétique végétale. Edition INRA, Paris. Pp. 05-9.
- **Jahier, J .,Chevre, A.M .,Delourme, R .,Eber, F .,Tanguy, A.M .(1992)** Technique de cytogénétique végétale .Edition Quae, Paris P44.
- **Kara, Y., Bellkhiri, C.E. (2011)** Etude des caractères d'adaptation au déficit hydrique de Quelques variétés de blé dur et d'espèces sauvages Apparentées: intérêt potentiel de ces variétés pour L'amélioration de la production. *Courrier du Savoir – N°11* :119-126.
- **Laala, Z. (2010)** Analyse en chemin des relations entre le rendement en grains et les composantes chez des populations F3 de blé dur (*Triticum durum* Desf.) Sous conditions semi-arides, Thèse magister en Production et Amélioration des végétaux, Université Ferhat Abbas-Setif Ufas (Algerie), 97 p.
- **Labbani, Z. (2007)** Réorientation androgénétique des microspores de *Triticum turgidum subsp.durum* (Desf) Husn. L'albinisme peut-il être partiellement maîtrisé ? , Thèse Doctorat d'état en biotechnologie végétale, Université Mentouri Constantine. 130P.
- **Laberche, J.C. (2004)** La nutrition de la plante In Biologie Végétale. *Dunod*. 2<sup>ème</sup> Edition, Paris: P154.
- **Ladjal,I., Azouzi,B. (2014)** Etude Du Comportement Variétal De Cinq Variétés De Blé Dur Sous L'effet Des Deux Doses De Semis Différentes En Environnement Semi-Aride De Djelfa. *Sciences & Technologie C – N°40* :36-42.

- **Levy,A.A.,Feldman, M. (2002)** The impact of polyploidy on grass genome Evolution. *Plant physiology*, 130(4) :1587-1593 In **Benabdelhafid, Z. (2016)** Embryogénèse Somatique, Variations Somaclonales et Tolérance à la Salinité chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.).(Analyse Génotypique et Moléculaire), Thèse de Doctorat 3ème cycle en Biotechnologie et Génomique Végétales, Université Frères Mentouri .Constantine, 139 p.
- **Magali, N. (2005)** La biodiversité des espèces cultivées : Analyse dans le cas du blé, Travail réalisé dans le cadre des Projets Personnels. *Boutique des sciences*, Université Paris XI : 2004 -2005.
- **Mestiri, I. (2010)** Changements génétiques et épigénétiques en relation avec le comportement méiotique chez les allopolyploïdes de blé (genres *Aegilops* et *Triticum*), Thèse de Grade Docteur en Biologie cellulaire et moléculaire, Université d'Évry-Val d'Essonne, 27 P.
- **Mouhouche, B., Boulassel, A. (1997)** Gestion rationnelle des irrigations des compléments des cultures de légumineuses alimentaires et céréales. *Recherche agronomique.INRA(1)*:21-31.
- **Nachit, M.,Picard, E., Monneveux, Ph.,Labhilili, M.,Baum, M.,Rivoal, R.(1998)** Présentation d'un programme international d'amélioration du Blé dur pour le bassin méditerranéen. *cahiers agréculture (7)* : 510-515.
- **Nedjah, I. (2015)** Changements physiologiques chez des plantes (Blé dur *Triticum durum* Desf.) exposées à une pollution par un métal lourd (plomb), Thèse doctorat 3<sup>ème</sup> cycle en biologie végétale et environnement, Université Badji Mokhtar - Annaba, 98P .
- **Ouafi, L. (2009)** Caractérisation cytogénétique et comportement vis-à-vis d'un stress hydrique de quelques populations de trois espèces de *Medicago* (*M. ciliaris*, *M. intertexta*, *M.truncatula*), Thèse Magister en Biodiversité Et Biotechnologies Végétales, *Institut National Agronomique (Ina)* El Harrach – Alger ,116 P.
- **Oudjani, W. (2009)** Diversité de 25 génotypes de blé dur (*Triticum durum* Desf.) : étude des caractères de production et d'adaptation,Thèse de magister En Biologie Végétale, Université Mentouri De Constantine,122 P.
- **Salamé, N. (2012)** Hybridation et polyplœidisation : l'exemple du blé, 18 AVR 2012.
- **Salmi, M.,Benmahammed ,A., Bouzerzour ,H., Haddad ,L.(2016)** Analyse De La Variabilité Phénotypique De Quelques Caractères D'adaptation Du Blé Dur

## *Références bibliographique*

---

- (*Triticum Durum* Desf.) Sous Conditions Semi-arides. *Revue Agriculture*, Numéro Spécial 1 : 156-161.
- **Triboï, E. (1990)** Modèle d'élaboration du poids du grain chez le blé tendre. *Agronomie*, 10 : 191- 200.
  - **Ykhlef, N., Kellou, K., Djekoun, A. (2007)** Régénération d'embryons issus de croisement interspécifique blé dur (*triticum durum* desf.) × *Aegilops geniculata* roth. Effet des régulateurs de croissance. *Sciences & Technologie C* – N°25: 44-52.

# *Annexes*

## Annexes I : Préparation des solutions

### 1. Préparation de 8-hydroxyquinoléine

Pour 50ml de 8-hydroxyquinoléine :

- Verser 0.03g de 8-hydroxyquinoléine dans 50ml d'eau distillé ;
- Faites dissoudre sous agitation à 60°C pendant 2h ;
- Laisser refroidir ;
- Stocker dans un flacon sombre (vert fumé).

### 2. Préparation de l'alcool acétique (3 :1)

3 volumes d'alcool avec un volume d'acide acétique

Pour préparer 40ml d'alcool acétique :

- Verser 30 ml d'alcool(ou bien éthanol) dans une bicher de 100ml ;
- Ajouter 10ml d'acide acétique.

### 3. Préparation de solution Hcl (1N)

Pour préparer 100 ml de solution Hcl (1N) :

- Verser 9 ml de Hcl dan un bicher de 100 ml ;
- Ajouter légèrement l'eau distillée jusqu'à le volume de 100 ml.

## Annexes II : Les valeurs statistiques des mesures

**Tableau 1.** Taux de germination des graines germées chez lignées étudiées

	V8	V9	V11	V23
<b>G(%) SH</b>	100	80	80	80
<b>G(%) SSH</b>	100	100	100	100

**G(%)** Taux de germination, **SH** : stress hydrique, **S SH**: sans stress hydrique.

**Tableau 2.** Les valeurs de longueur et des Moyennes de longueur des racines

	V8	V9	V11	V23
<b>L R S SH (Cm)</b>	7	5	3	8.5
	3	4.5	5	7
	5	6.3	7.2	8.5
	3	4.3	5.8	7.5
<b>Moye SSH</b>	4.5	5.025	5.25	7.875

**L** : Longueur, **R** : Racine, **S SH** : sans stress hydrique, **Moye** : Moyenne.

**Tableau 3.** Les valeurs de nombre et moyenne de nombres des racines.

	<b>V8</b>	<b>V9</b>	<b>V11</b>	<b>V23</b>
<b>Nbr R S SH</b>	3	4	4	3
	2	2	3	4
	3	3	4	4
	3	4	4	6
<b>Moye</b>	2,75	3,25	3,75	4,25

**Nbr** : Nombre, **R** : Racine, **S SH** : sans stress hydrique.

**Tableau 4.** Les valeurs de longueur et Moyenne de longueur des racines.

	<b>V8</b>	<b>V9</b>	<b>V11</b>	<b>V23</b>
<b>L R SH</b>	3	2	2	1,8
	4,2	2,4	2,1	2
	4,3	3	2,3	2,3
	4	3,2	2,5	2,3
<b>Moye</b>	3,875	2,65	2,225	2,1

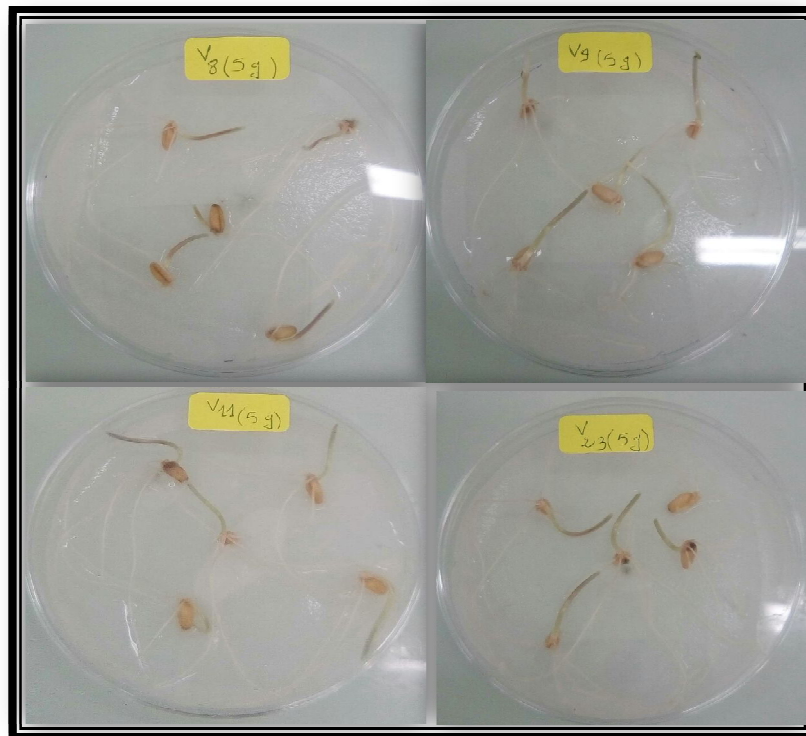
**L** : Longueur, **R** : Racine, **SH** : Stress Hydrique.

**Tableau 5.** Les valeurs de nombre et moyenne de nombre des racines.

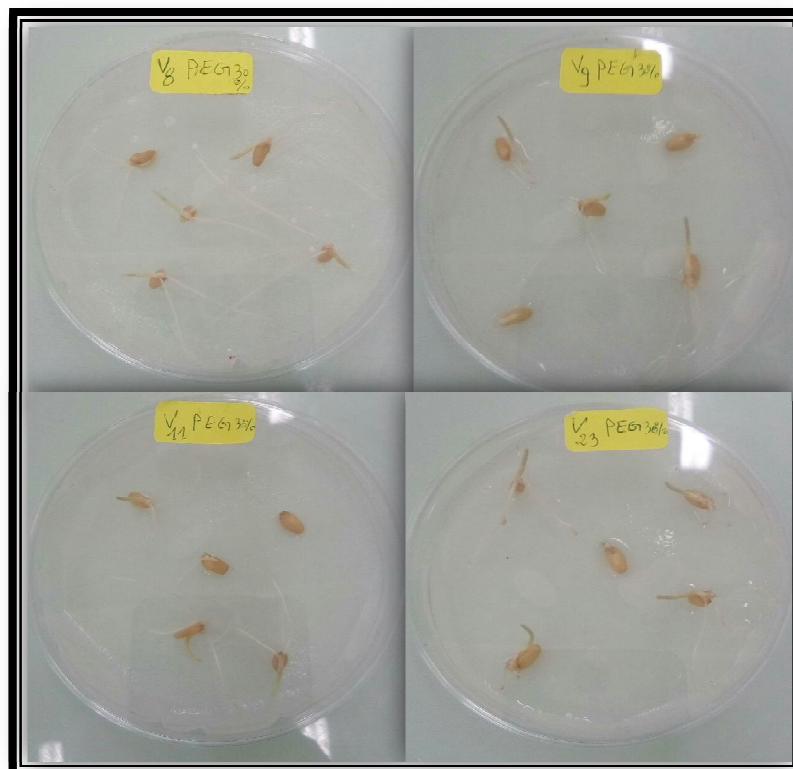
	<b>v8</b>	<b>v9</b>	<b>v11</b>	<b>v23</b>
<b>Nbr R SH</b>	3	4	3	4
	3	4	3	4
	3	4	4	5
	3	4	4	6
<b>Moye</b>	3	4	3,5	4,75

**Nbr** : Nombre, **R** : Racine, **SH** : stress Hydrique.

**Annexes III. Quelques photos de la manipulation**



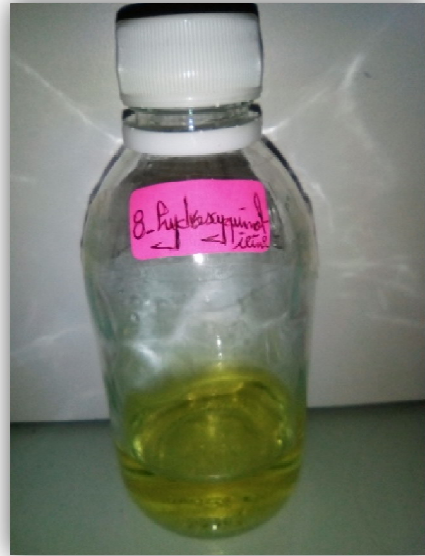
**Figure 1** .Test de germination sans stress hydrique des quartes lignées V8, V9, V11et 23.



**Figure 2**.Test de germination sans stress hydrique des quartes Lignées V8, V9, V11et 23.



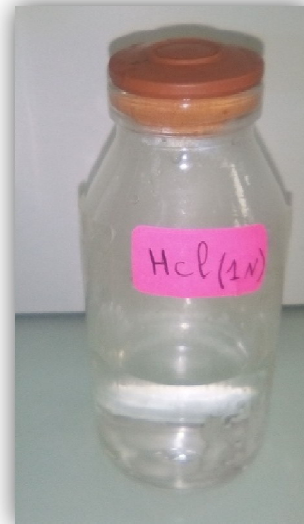
**Figure 3.** 8-hydroxyquinoline



**Figure 4.** Solution de 8- hydroxyquinoline.



**Figure 5.** Solution d'éthanol acétique (3 :1).



**Figure 6.** Solution de HCl (1N).

## Annexes I : Préparation des solutions

### 1. Préparation de 8-hydroxyquinoléine

Pour 50ml de 8-hydroxyquinoléine :

- Verser 0.03g de 8-hydroxyquinoléine dans 50ml d'eau distillé ;
- Faites dissoudre sous agitation à 60°C pendant 2h ;
- Laisser refroidir ;
- Stocker dans un flacon sombre (vert fumé).

### 2. Préparation de l'alcool acétique (3 :1)

3 volumes d'alcool avec un volume d'acide acétique

Pour préparer 40ml d'alcool acétique :

- Verser 30 ml d'alcool(ou bien éthanol) dans une bicher de 100ml ;
- Ajouter 10ml d'acide acétique.

### 3. Préparation de solution Hcl (1N)

Pour préparer 100 ml de solution Hcl (1N) :

- Verser 9 ml de Hcl dan un bicher de 100 ml ;
- Ajouter légèrement l'eau distillée jusqu'à le volume de 100 ml.

## Annexes II : Les valeurs statistiques des mesures

**Tableau 1.** Taux de germination des graines germées chez lignées étudiées

	V8	V9	V11	V23
<b>G(%) SH</b>	100	80	80	80
<b>G(%) SSH</b>	100	100	100	100

**G(%)** Taux de germination, **SH** : stress hydrique, **S SH**: sans stress hydrique.

**Tableau 2.** Les valeurs de longueur et des Moyennes de longueur des racines

	V8	V9	V11	V23
<b>L R S SH (Cm)</b>	7	5	3	8.5
	3	4.5	5	7
	5	6.3	7.2	8.5
	3	4.3	5.8	7.5
<b>Moye SSH</b>	4.5	5.025	5.25	7.875

**L** : Longueur, **R** : Racine, **S SH** : sans stress hydrique, **Moye** : Moyenne.

**Tableau 3.** Les valeurs de nombre et moyenne de nombres des racines.

	<b>V8</b>	<b>V9</b>	<b>V11</b>	<b>V23</b>
<b>Nbr R S SH</b>	3	4	4	3
	2	2	3	4
	3	3	4	4
	3	4	4	6
<b>Moye</b>	2,75	3,25	3,75	4,25

**Nbr** : Nombre, **R** : Racine, **S SH** : sans stress hydrique.

**Tableau 4.** Les valeurs de longueur et Moyenne de longueur des racines.

	<b>V8</b>	<b>V9</b>	<b>V11</b>	<b>V23</b>
<b>L R SH</b>	3	2	2	1,8
	4,2	2,4	2,1	2
	4,3	3	2,3	2,3
	4	3,2	2,5	2,3
<b>Moye</b>	3,875	2,65	2,225	2,1

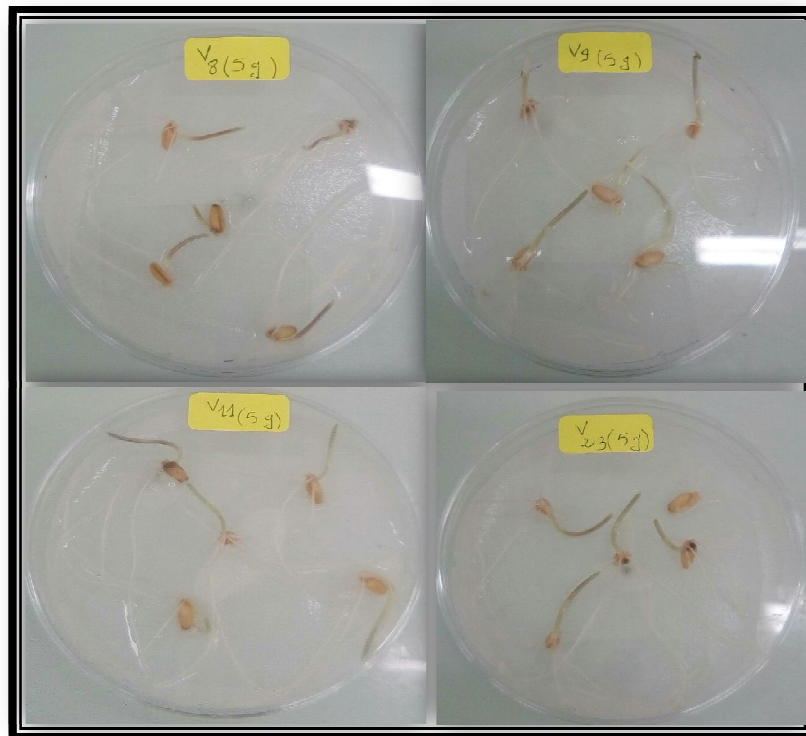
**L** : Longueur, **R** : Racine, **SH** : Stress Hydrique.

**Tableau 5.** Les valeurs de nombre et moyenne de nombre des racines.

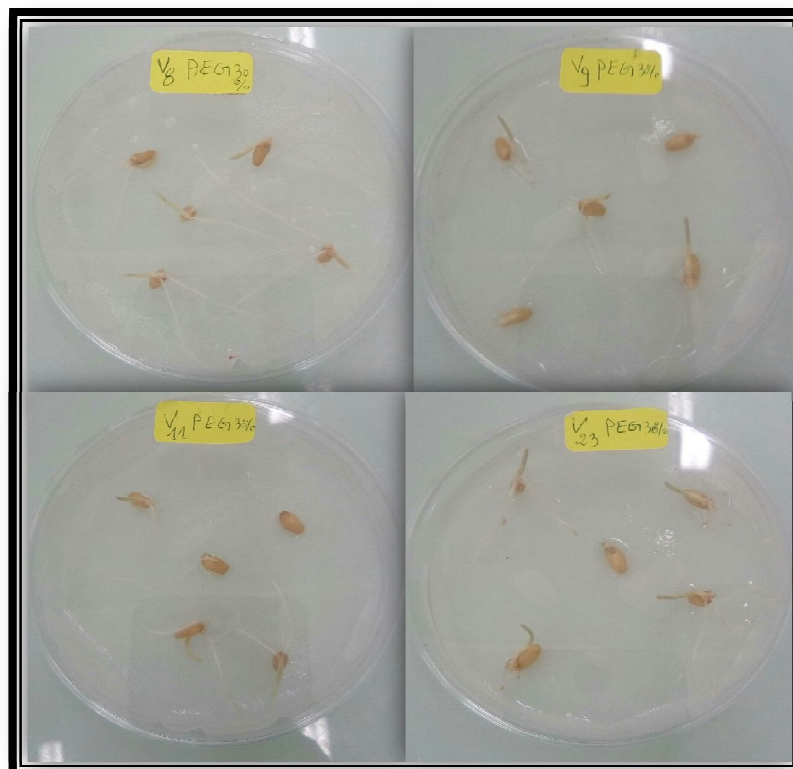
	<b>v8</b>	<b>v9</b>	<b>v11</b>	<b>v23</b>
<b>Nbr R SH</b>	3	4	3	4
	3	4	3	4
	3	4	4	5
	3	4	4	6
<b>Moye</b>	3	4	3,5	4,75

**Nbr** : Nombre, **R** : Racine, **SH** : stress Hydrique.

**Annexes III. Quelques photos de la manipulation**



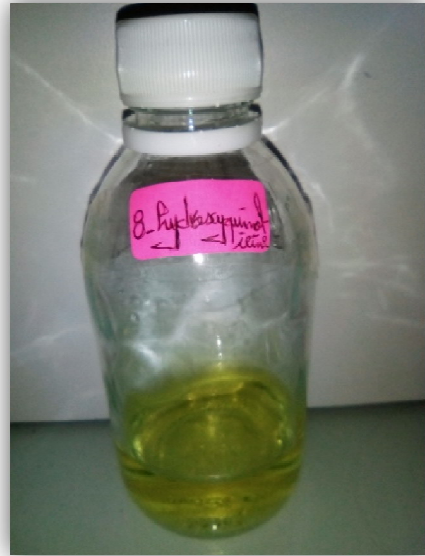
**Figure 1 .**Test de germination sans stress hydrique des quartes lignées V8, V9, V11et 23.



**Figure 2.**Test de germination sans stress hydrique des quartes Lignées V8, V9, V11et 23.



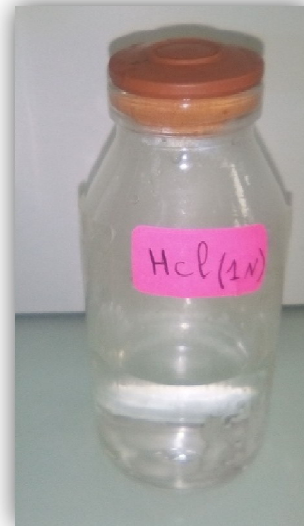
**Figure 3.** 8-hydroxyquinoliene



**Figure 4.** Solution de 8- hydroxyquinolieine.



**Figure 5.** Solution d'éthanol acétique (3 :1).



**Figure 6.** Solution de Hcl (1N).

**Résumé**

Cette étude a porté sur quatre lignées du blé dur (*Triticum durum* Desf.). L'objectif était d'une part, de caractériser l'effet du stress hydrique induit par le polyéthylène glycol 6000 (PEG) à 30% sur la germination de ces lignées ainsi que et la sur le nombre longueur des racines obtenues. D'autre part, d'établir par une technique de cytogénétique classique les caryotypes de ces lignées. Les résultats obtenus ont montré que les quatre lignées ont été tolérantes au stress hydrique. Particulièrement, la lignée V8 qui a marqué une meilleure adaptation qui s'est traduite par un taux de germination maximal (100%) et une moyenne élevée de longueur des racines. De même, la lignée V23 a montré une moyenne du nombre de racines significativement très élevée dans les conditions de culture avec stress hydrique. L'étude cytogénétique a permis de mettre en évidence la présence de chromosomes métaphasiques chez les quatre lignées. Cependant, le protocole poursuivi nécessite une bonne validation sur plusieurs paramètres pour pouvoir obtenir de bonnes plaques métaphasiques, servant à établir de bons caryotypes.

**Mots clés :** *Triticum durum* Desf, stress hydrique, cytogénétique, caryotypes.

**Abstract**

This study focused on four durum wheat varieties (*Triticum durum* Desf.) The aim was, on the one hand, to characterize the effect of water stress induced by polyethylene glycol 6000 at 30% on the germination of these varieties as well as on the number of roots obtained. On the other hand, to establish, by a classical cytogenetic technique, the karyotypes of these varieties. The results obtained showed that the four varieties were tolerant to water stress. In particular, the variety V8 showed a better adaptation resulting in a maximum germination rate (100%) and a high mean root length. Likewise, the variety V23 showed a significantly high average number of roots in the conditions of culture with hydrated stress. The cytogenetic study has demonstrated the presence of metaphase chromosomes in all four varieties. However, the protocol required requires good validation on several parameters to obtain good metaphase plates, used to establish good karyotypes.

**Key Words:** *Triticum durum* Desf, water stress, cytogenetic, karyotypes.

**المخلص :**

اشتملت هذه الدراسة على اربعة سلالات من القمح الصلب *Triticum durum* Desf كان الهدف من ناحية هو تحديد تاثير الاجهاد المائي الناجم عن polyéthylène glycol 6000 (PEG) بنسبة 30 % على انبات هذه السلالات وكذلك على عدد اطوال الجذور التي تم الحصول عليها . من ناحية اخرى استخدام التقنيات الخلوية الكلاسيكية لانشاء الطابع النووي لهذه السلالات.

اظهرت النتائج التي تم الحصول عليها ان السلالات الاربعة كانت مقاومة للاجهاد المائي ، وعلى وجه الخصوص السلالة V8 تكيفا افضل ادى الى معدل انبات 100% ، وارتفاع طول الجذر وبالمثل اظهرت السلالة V23 ارتفاعا ملحوظا في متوسط عدد الجذور في ظروف الاجهاد المائي.

اثبتت الدراسة الخلوية الوراثية وجود كروموزوما تطويرية في جميع السلالات ومع ذلك يتطلب البروتوكول المطلوب التحقق من صحة جيدة على العديد من المعلمات للحصول على لوحات تطويرية جيدة وتستخدم لانشاء انماط caryotypes. جيدة .

**الكلمات المفتاحية :** القمح الصلب .الاجهاد المائي .الدراسة الخلوية الوراثية .لوحه تطويرية