

# Tests morphologiques et biochimiques pour la tolérance au stress hydrique chez le blé dur (*triticum durum* desf.)

El Fakhri M.<sup>1</sup>, Nsarellah N.<sup>2</sup>, Mahboub S.<sup>3</sup>, Bidani A.<sup>1</sup> et El Bouhmadi K.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Faculté des Sciences et Technologies Settat.

<sup>2</sup> Institut National de la Recherche Agronomique, INRA Settat. Maroc.

<sup>3</sup> Laboratoire d'Écologie et d'Environnement Faculté des Sciences Ben M'Sik à Casablanca,



## Résumé

*La sécheresse est l'une des causes principales de la faible productivité chez les céréales à petites graines et spécialement le blé dur (*Triticum Durum*, Desf.). La compréhension des mécanismes d'adaptation à une alimentation en eau déficitaire s'avère nécessaire afin de sélectionner des variétés tolérantes au stress hydrique. L'objectif de ce travail consiste à évaluer l'effet du stress hydrique sur différents paramètres physiologiques, biochimiques et morphologiques chez 4 variétés de blé dur connues pour leurs différences en ce qui concerne la réponse au stress hydrique. Ces variétés ont été soumises à une contrainte hydrique provoquée par un arrêt d'irrigation. A l'échelle de la plante entière, la hauteur de la tige et la longueur du col de l'épi ont été mesurées. A l'échelle moléculaire, le taux d'accumulation de certains osmo-régulateurs impliqués dans l'ajustement osmotique ont été mesurés. Ceux-ci sont : la proline, les glucides solubles et les acides aminés libres totaux. Les résultats obtenus montrent que le déficit hydrique a causé une chute de la hauteur de la tige, de la longueur du col de l'épi, une diminution de la teneur en eau, une accumulation de certains solutés compatibles, et par la suite, une variabilité intervariétale a été mise en évidence.*

**Mots clés** : *Blé dur, sécheresse, stress hydrique, résistance, variété, ajustement osmotique.*

## تحديد تأثيرات اضطراب الارتواء، على بعض المتغيرات الفيزيولوجية والبيوكيميائية والمورفولوجية، لدى نبتة القمح الصلب (*Triticum Durum* Desf.)

الفخري منى ، نصر الله ناصر الحق ، محبوب سعيد ، البيداني عزيز والبوحمادي كلثوم

**ملخص**

يشكل الجفاف أحد أهم عوامل ضعف المردودية في زراعة القمح الصلب (*Triticum Durum* Desf.). ويتراوح هذا الانخفاض في الإنتاجية ما بين 10% إلى 80% حسب التساقطات المطرية السنوية.

لذا، فإن فهم آليات تكيف النبتة مع ظروف تغذية مفتقرة إلى الماء، يشكل ضرورة من أجل انتقاء الأصناف النباتية الأكثر مقاومة للجفاف أو الأقل احتياجاً للماء.

وتهدف هذه الدراسة إلى محاولة تحديد تأثيرات اضطراب الارتواء، على مختلف المتغيرات الفيزيولوجية والبيوكيميائية والمورفولوجية، لدى أربعة أصناف من القمح الصلب، أخضعت إلى إكراهات ضعف الارتواء نتيجة حرمانها من السقي. وقد أجريت القياسات على:

✓ مستوى الجهاز النباتي ككل: قياس ارتفاع الساق وطول عنق السنبل،

✓ المستوى الجزيئي: تحديد نسبة تراكم بعض العناصر التنافذية المتدخلة في الضبط الارتشاحي (الأوسموزي)، كالبرولين الحر والسكريات المذابة ومجموع الأحماض الأمينية الحرة.

وتبين النتائج المحصل عليها أن نقص الارتواء يسبب تراجعاً في طول الساق وطول عنق السنبل، وتكدس بعض العناصر التنافذية (الأوسموزية). كما تمت ملاحظة تباينات بين الأصناف، بخصوص المتغيرات المدروسة التي مكنتنا من ترتيب هذه الأصناف حسب قدرتها على مقاومة الجفاف.

**كلمات المفتاح:** القمح الصلب، الجفاف، الاضطراب، الارتواء، مقاومة، الضبط الارتشاحي.

## **Morphological and molecular tests for drought tolerance in durum wheat (*triticum durum* desf.)**

### **Summary**

Water stress is one of the main causes of low cereal crops productivity, especially that of durum wheat (*Triticum durum* Desf.). The Understanding of the adaptive mechanisms to water stress is necessary in order to efficiently select varieties tolerant to water stress. The objective of this study is to evaluate the effect of water stress on various physiological, biochemical and morphological parameters of 4 varieties of durum wheat known for their genetic differences in regard to their response to water stress. These varieties were subjected to a drought constraint by suspending irrigation. At the whole plant level, plant height, and peduncle length were measured. At the molecular level, the rate of accumulation of certain osmo-regulators, implicated in osmotic adjustment - soluble proline and sugars and total free amino acids - were measured. The results obtained show that water deficit caused a reduction in plant height and peduncle length, a reduction in water content, an accumulation of certain solutes, and thereafter, a variability among wheat genotypes was highlighted.

**Keys words:** *Durum wheat, drought, tolerance, variety, osmotic adjustment.*

## Introduction

Les zones céréalières marocaines se caractérisent par la faiblesse des précipitations et par une demande climatique importante (Boutfirass *et al.*, 1994). Ce type de climat se caractérise par des épisodes fréquents de sécheresse et par une variabilité spatiale des rendements (Nicholson et Wigley, 1984). La fréquence soutenue des périodes de stress hydrique d'intensités variables rend la production des céréales modeste et incertaine (Jouve, 1988). Une bonne gestion des systèmes de production dans ces zones ne pourrait se faire sans une connaissance approfondie des corrélations existantes entre les facteurs climatiques (stress hydrique) et leurs effets limitants sur la production végétale d'une part, et d'autre part les différentes stratégies de tolérance adoptées par les plantes dans ces conditions contraignantes. La présente étude a pour objectifs (i) d'étudier l'effet du stress hydrique sur quelques paramètres morphologiques, physiologiques et biochimiques chez le blé dur et (ii) de déterminer les relations existantes entre ces paramètres et la tolérance à la sécheresse.

## Matériel et méthodes

### Matériel végétal

L'étude porte sur quatre variétés de blé dur : Kyperounda (2777), Karim, RGN-0027 et Nassira (INRA-1805). Kyperounda ou INRA-2777, est la moins tolérante à la sécheresse mais avec un potentiel de rendement moyen. Karim est une variété moyennement tolérante à la sécheresse avec un grand potentiel de production. Nassira ou INRA-1805 est une variété tolérante à la sécheresse avec un potentiel de rendement assez important (moins que Karim). La variété RGN0027 est assez tolérante à la sécheresse avec un potentiel de rendement élevé.

### Traitements appliqués

Mode de culture : Quatre répétitions ont été semées sous serre pour chaque variété et pour chaque traitement. Le dispositif expérimental est celui d'un essai factoriel à bloc aléatoire complet. La conduite de l'expérimentation est adaptée à un essai en irrigué sous serre : les plantes ont été arrosées de la même manière pour obtenir une croissance normale. Contraintes hydriques : La contrainte hydrique est appliquée à des plantes de 50 jours – stade de montaison - par un arrêt d'irrigation, de toutes les répétitions de chaque variété, et les répétitions restantes sont irriguées régulièrement, ce seront les témoins. On a réalisé des prélèvements de feuilles et de racines à partir du 50<sup>ème</sup> jour sur un intervalle de temps d'une semaine entre les prélèvements :

- 50<sup>ème</sup> jour, témoins T0.
- Après une semaine, témoins T1 et stressés S1.
- Après deux semaines, témoins T2 et stressés S2.

Les paramètres étudiés sont :

1. Hauteur des tiges et longueur du col de l'épi.
2. Teneur en proline libre dosée par la méthode de TROLL et LINDSLEY (1955).
3. Teneur en glucides solubles totaux, dosées par la méthode de ROE (1955).
4. Teneur en acides aminés totaux libres par la méthode Yemm et Cocking (1955).

### **Analyse statistique**

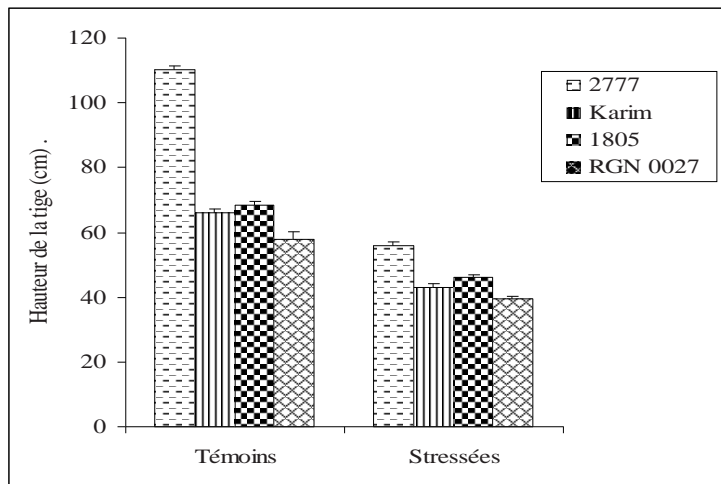
Une analyse de la variance du modèle complètement aléatoire a été effectuée. Les facteurs de variation variété et stress hydrique ainsi que leurs interactions ont été hautement significatifs. La statistique de différenciation entre les moyennes utilisée est le test F de Fisher-Snedecor, qui mesure le rapport de la variance interclasse (variance à l'intérieur d'un groupe) à la variance intra-classe (variance entre les groupes).

## **Résultats et discussion**

### **1- Réponses morphologiques du blé dur à la contrainte hydrique**

#### **Hauteur de la tige**

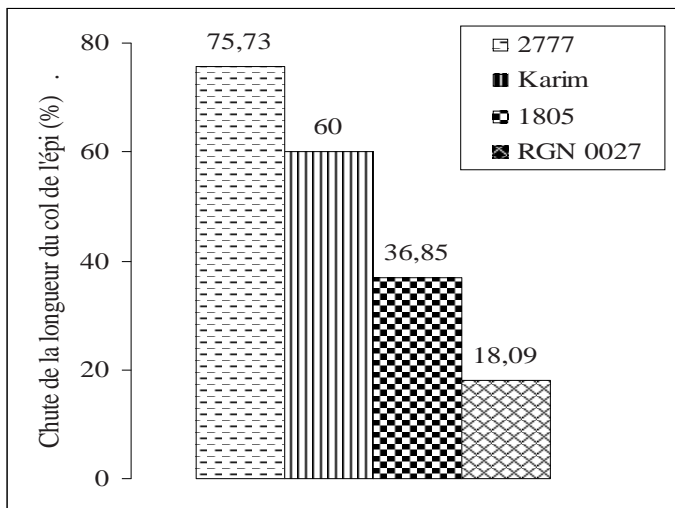
En absence de stress hydrique, la variété 2777 a présenté une supériorité hautement significative par rapport aux autres génotypes. L'influence du stress hydrique (de 15 jours) sur ce paramètre s'est révélée très marquée chez Kyperounda, la hauteur de la tige passe de 110,21 cm à 55,81 cm, équivalent à une différence de 49,42 %. Alors qu'elle est seulement de l'ordre de 34,41% ; 32,37% et 31,25% respectivement chez Karim, Nassira et RGN 0027 (Figure 1).



**Fig. 1** : Effet du régime hydrique (stress de 2 semaines) sur la hauteur des tiges.

### Longueur du col de l'épi

La longueur du col de l'épi s'est révélée différente de manière hautement significative entre les variétés et entre les régimes hydriques. Après un stress hydrique de 15 jours, la longueur du col de l'épi a chuté de 75,73%, 60%, 36,85% et 18,09% respectivement chez Kyperounda, Karim, Nassira et RGN 0027 (figure 2).



**Fig. 2** : Pourcentage de réduction de la longueur du col de l'épi sous l'effet de stress hydrique.



Ces résultats sont en conformité avec les résultats d'autres chercheurs tels que Ben Abdallah et Ben Salem (1993); Samir (1993) ; Gate (1995) ; Heuer et Nadler (1998). Ces auteurs ont pu constater qu'une contrainte hydrique sur différents génotypes de blé dur provoquait des modifications de ces paramètres, et que ces modifications sont plus marquées chez les variétés sensibles au stress hydrique. Un stress encadrant la floraison induit une diminution de la hauteur de l'épi et celle de la tige. Alors qu'au moment de l'initiation de la panicule le manque d'eau peut inhiber la croissance de l'épi ou provoquer un développement de l'épi qui avorte rapidement. Dans une autre perspective, la différence entre les variétés est notable et parallèle au comportement des différentes variétés vis à vis de la sécheresse.

## 2- Réponses métaboliques du blé dur au stress hydrique

### Teneur en proline

La proline foliaire : Chez les variétés Kyperounda et Karim, on observe une augmentation importante de la teneur en proline foliaire. En effet, elle atteint  $48,29 \mu\text{moles.g}^{-1} \text{MS}$  après une semaine de contrainte hydrique chez la variété 2777 et arrive à  $81,05 \mu\text{moles.g}^{-1} \text{MS}$  après 15 jours de stress. Chez Karim, la teneur en proline passe à  $32,74 \mu\text{moles.g}^{-1} \text{MS}$  après une semaine de stress et à  $74,71 \mu\text{moles.g}^{-1} \text{MS}$  après 2 semaines. Alors que chez RGN 0027 et Nassira, le taux se maintient aux environs de  $9 \mu\text{moles.g}^{-1} \text{MS}$  au bout d'une semaine de stress et arrive à  $17 \mu\text{moles.g}^{-1} \text{MS}$  en deuxième semaine (figure 3).

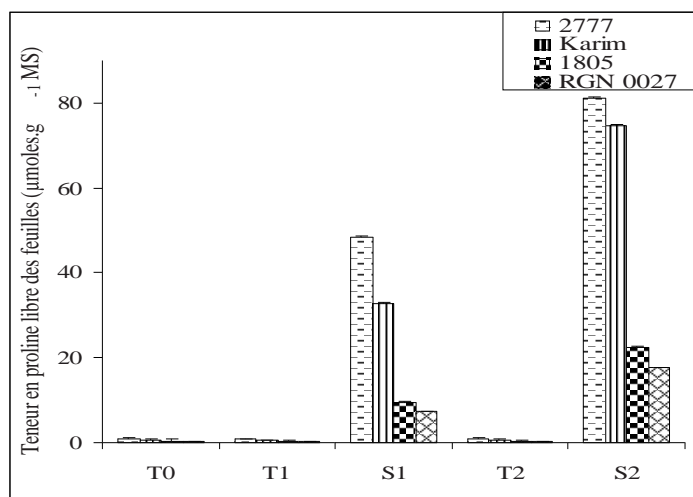
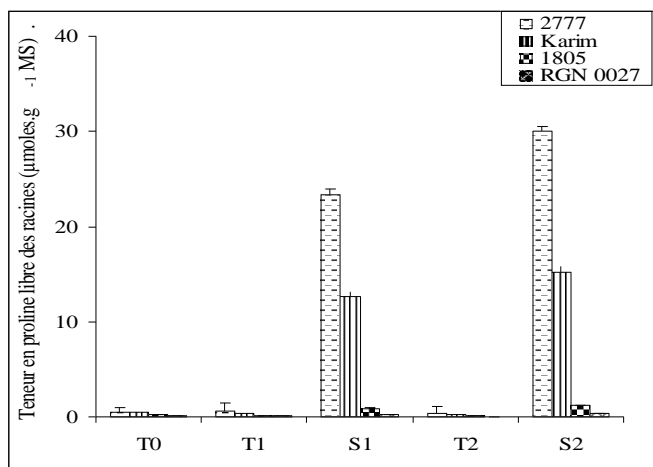


Fig. 3 : Teneur en proline libre des feuilles.

La proline racinaire : Le déficit hydrique a un faible effet sur les variétés RGN 0027 et Nassira. Chez Karim, le contenu racinaire en proline est de 15,2  $\mu\text{moles. g}^{-1}$  MS vers la fin du test (15 jours de stress), alors qu'il est de 23,29  $\mu\text{moles. g}^{-1}$  MS après une semaine de stress et passe à 30  $\mu\text{moles. g}^{-1}$  MS chez Kyperounda après deux semaines de déficit hydrique (figure 4).



**Fig. 4** : Teneur en proline libre des racines.

Si l'on compare l'effet du stress hydrique sur le taux d'accumulation de proline au niveau des feuilles et des racines, on peut noter que la teneur en proline est beaucoup plus importante dans les feuilles arrivant à 81,05  $\mu\text{moles. g}^{-1}$  MS contre 30,07  $\mu\text{moles. g}^{-1}$  MS dans les racines, ceci confirme les résultats de Bajji *et al.* (1999) chez le blé dur.

L'analyse des résultats des teneurs en proline en conditions stressantes permet de mettre en évidence une variabilité inter-variétale hautement significative. Les variétés Kyperounda et Karim se caractérisent par leur forte accumulation de proline en cas de contrainte hydrique. Cette forte accumulation de proline a déjà été étudiée par plusieurs chercheurs et sur plusieurs espèces : Bajji (1999) et Zerrad (2006) chez le blé dur, Leport (1991) et Bensaoud (1992) chez le colza et El Bouhmadi (1994) chez la féverole. L'étude de Bajji *et al.* (1999) suggère que la proline pourrait participer au processus d'ajustement osmotique mis en oeuvre par le blé dur en conditions de stress hydrique. Mais il a été montré que cette accumulation est insuffisante pour rendre compte des baisses des potentiels osmotiques observés. D'autres composés, dont la nature est à déterminer, doivent être impliqués dans l'ajustement osmotique. Wang *et al.* (2003) suggèrent que la proline aurait un rôle de réserve, probablement de réserves azotées. Alors que Hanson *et al.* (1977) affirment que l'accumulation de proline est plutôt une conséquence pathologique du stress. Elle est liée à la sensibilité au stress.

### Teneurs en acides aminés libres totaux (AALT)

L'évolution des teneurs en AALT pour les quatre variétés montre le même profil au niveau des feuilles et des racines. Les plantes témoins ont des contenus en AALT plus ou moins semblables pour les quatre variétés. Les feuilles sont plus riches que les racines en AALT quelque soit le type de régime hydrique (Moulineau, 1993).

Chez Kyperounda et Karim, les résultats présentent une différence hautement significative entre les deux temps de stress et entre les deux variétés (figure 5) (pour  $S_2$  la teneur est multipliée par 7 chez Kyperounda et par 5 chez Karim). Alors que chez Nassira et RGN 0027 la contrainte hydrique n'a pas d'effet significatif sur ce paramètre.

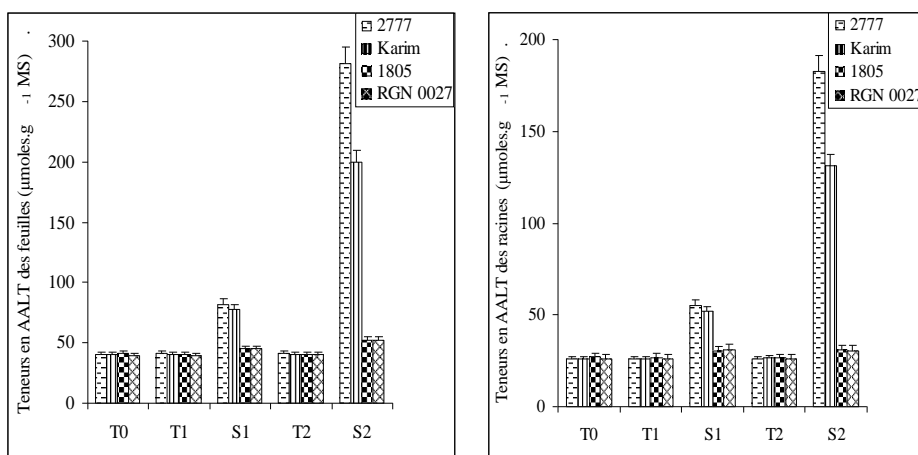
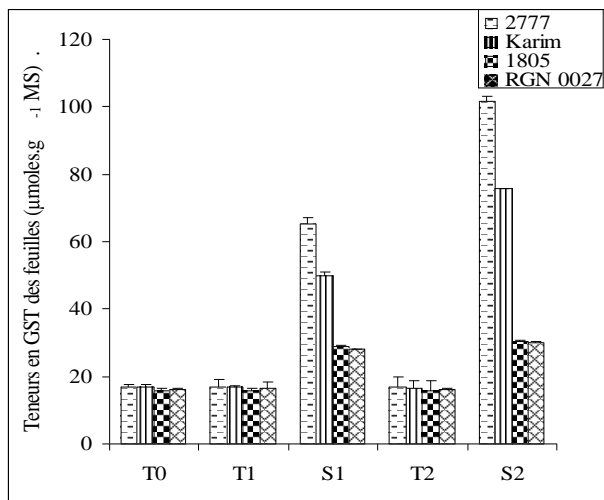


Fig. 5 : Teneurs en acides aminés libres totaux (AALT) des feuilles et des racines.

### Teneurs en glucides solubles totaux (GST)

Teneurs foliaires : Les résultats obtenus révèlent une forte accumulation de GST en conditions de déficit hydrique. Il y a une corrélation positive entre la quantité de GST accumulée et la durée de stress hydrique. Des différences variétales significatives sont mises en évidence pour les deux temps de périodes de stress (figure 6).



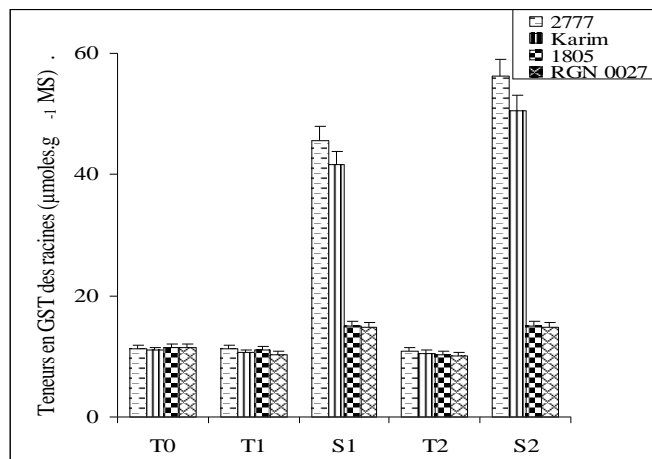
**Fig. 6 :** Teneur en glucides solubles totaux (GST) des feuilles.

Chez Kyperounda et Karim, le contenu en GST a respectivement augmenté de 83,66% et 77,5% au bout de 15 jours de stress. Le maximum chez Kyperounda et Karim est respectivement de 101,66  $\mu\text{moles. g}^{-1}$  MS et 75,56  $\mu\text{moles. g}^{-1}$  MS. Alors que chez Nassira et RGN 0027, le taux de GST est respectivement 30  $\mu\text{moles. g}^{-1}$  MS et 30,54  $\mu\text{moles. g}^{-1}$  MS, ce qui correspond à une augmentation de 43%.

**Teneurs racinaires :** Une accumulation importante de GST est également observée au niveau du système racinaire

avec des différences intervariétales hautement significatives.

L'effet du stress hydrique sur le contenu en GST est faible chez les variétés Nassira et RGN 0027 (figure 7). Par contre, chez Kyperounda et Karim le taux de GST (pour S2) est 5 fois plus important qu'en absence de stress.



**Fig. 7 :** Teneurs en glucides solubles totaux (GST) des racines.

On note également que la teneur en GST est 2 fois plus élevée dans les feuilles (atteignant 101,667  $\mu\text{moles.g}^{-1}$  MS) par rapport aux racines (56,273  $\mu\text{moles.g}^{-1}$ ). Ces résultats sont en accord avec ceux de nombreux chercheurs.

Ben Abdellah et Ben Salem (1993), Zerrad *et al.* (2006), ont également montré que le stress hydrique provoque l'accumulation de GST chez le blé dur. Kameli et Losel (1995) ont relié cette accumulation à la sensibilité du blé à la sécheresse.

Selon Hare *et al.* (1998), Les principaux sucres solubles qui s'accumulent en cas de stress sont le glucose, le fructose et le saccharose. Ces sucres sont impliqués dans le maintien de la turgescence cellulaire.

## Conclusion

D'après les résultats obtenus, on a pu classer les variétés de blé dur étudiées en deux groupes. Un groupe qui comprend Nassira et RGN 0027, qui sont les moins affectées par le stress hydrique. L'autre groupe est formé des variétés Kyperounda et Karim, chez lesquelles la contrainte hydrique a provoqué des modifications exprimées par des différences hautement significatives entre les critères mesurés dans les deux types de régimes hydriques (témoins et stressés) et les deux temps de stress.

En se basant sur les critères morphologiques, on peut conclure que le stress hydrique provoque des modifications morphologiques, qui sont soit un signe de sensibilité (cas de Kyperounda et Karim) ou un signe d'adaptation (cas de Nassira et RGN 0027).

---

Sur le plan de la régulation des voies du métabolisme de stress orienté vers la proline libre, les glucides solubles totaux et les acides aminés libres, les résultats montrent une augmentation importante des taux de ces osmorégulateurs chez les variétés qui ont montrées des signes de sensibilités au stress hydrique (Kyperounda et Karim). Les tests étudiés dans ce travail peuvent donc être utilisés par les améliorateurs pour la sélection de variétés tolérantes. Ces résultats sont soutenus par les données déjà connues sur les performances des variétés utilisées dans les conditions réelles de champs. En effet, les variétés Nassira et RGN 0027 sont connues pour leur stabilité sous stress hydrique, alors que la variété Kyperounda est peu tolérante à la sécheresse et que la variété Karim est plutôt adaptées aux zones à haut potentiel.

## Références

- BAJJI M., LUTTS S. et KINET J.M.** 1999. Physiological changes after exposure to and recovery from polyethylene glycol-induced water deficit in callus cultures issued from durum wheat (*Triticum durum* Desf.) cultivars differing in drought resistance. *J. Plant Physiol.* (sous presse).
- BEN SALEM M. et BEN ABDALLAH N.**, 1993. Paramètres morphologiques de sélection pour la résistance à la sécheresse des céréales. In : MONNEVEUX P. et BEN SALEM M. Eds, Tolérance à la sécheresse des céréales en zone méditerranéenne. Diversité génétique et amélioration variétale. Montpellier, 15-17. INRA. Les Colloques, pp : 173-190.
- BENSAOUD A.**, (1990). Réponses physiologiques et agronomiques du colza (*Brassica Napus L.*) au déficit hydrique : Screening de variétés résistantes à la sécheresse.
- BEWLEY J.D. and BLACK M.**, 1994. Seeds - Physiology of development and germination.; 2nd Edition. *Plenum Press, New York, NY.* 445 p.
- BOUTFIRASS M., KARROU M. et EL MOURID M.** (1994). Irrigation supplémentaire et variétés de blé dans les zones semi-arides du Maroc. Dans : Actes de la Conférence sur les Acquis et Perspectives de la Recherche Agronomique dans les Zones Arides et Semi-arides du Maroc, El Gharous, M., Karrou, M. et El Mourid, M. (éd), Rabat, 24-27 mai 1994.
- EL BOUHADI K.**, 1994. Plasticité métabolique et physiologique chez la Féverole (*Vicia faba L.*), implication dans la tolérance aux contraintes hydriques. Thèse de doctorat d'université.
- GATE P., 1995. Ecophysiologie du Blé, de la Plante à la Culture. Editions TEC et DOC, Lavoisier, Cachan.
- HANSON A.D, NELSEN C.E et EVERSON E.H.**, 1977. Evaluation of free proline accumulation as an index of drought resistance using two barley cultivars. *Crop Sci* ; 17 : 720-6.
- HARE P.D., W.A. CRESS and J. VAN STADEN**, 1998. Proline synthesis and degradation: a model system for elucidating stress related signal transduction. *J. Exp. Bot.* 50:413-434.
- HEUER B. And NADLER A.**, 1998. Physiological response of potato plants to soil salinity and water deficit. *Plant Science* , Vol. 137, No. 1, pp. 43-51.
- JOUVE P.**, 1984. Relation entre déficit hydrique et rendement des céréales (blé tendre et orge) en milieu aride. *Agron. Trop.*, 39: 308-316.
- KAMELI A. et LÖSEL D.M.** 1995. Contribution of carbohydrates and other solutes to osmotic adjustment in wheat leaves under water stress. *J. Plant Physiol.*, 145 : 363-366.
- KARROU M.**, 1992. Physiological and morphological traits associated with nitrogen uptake.
- LEPORT L.**, 1992. Accumulation de proline associées aux contraintes environnementales et à la floraison chez le colza (*Brassica Napus L.*). Thèse de doctorat.

**MOULINEAU C.**, 1993. Variations sous contrainte hydrique de la teneur en Acides aminés libres foliaires du mil. 19 :234-242.

**NICHOLSON S.E. and T.M.L. WIGLEY.**, 1984. Drought in Morocco. I. The general climatology of drought. Report to the Conseil Supérieur de l'Eau. Maroc.

**ROE J.H.**, 1955. The determination of sugar in blood and spinal fluid with anthrone reagent. *J. Biol. Chem.*, 212 : 335-343.

**SAMIR K.**, 1993. Réponses agro-physiologiques de trois variétés de blé dur au stress hydrique en zones semi-arides. Thèse de DES, Faculté des Sciences de Meknès.

**TROLL W. et LINDSLEY J.**, 1955. A photometric method for the determination of proline. *J. Biol. Chem.*, 215 : 655-660.

**WANG W., VINOCUR B. et ALTMAN A.**, 2003. « Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. » *Planta* 218(1): p. 1-14.

**ZERRAD W., HILLALI S., MATAOUI B., EL ANTRI S. et HMYENE A.**, 2006. Etude comparative des mécanismes biochimiques et moléculaires de résistance au stress hydrique de deux variétés de blé dur.