

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DES SCIENCES ET DE LA TECHNOLOGIE
HOUARI BOUMEDIENE

FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES



Mémoire

Présenté pour l'obtention du diplôme de **MAGISTER**
En Sciences Biologiques

Spécialité : **Biologie et Physiologie Cellulaire et
Moléculaire**

Par

Mohamed TOUMI

Sujet

**Effet du déficit hydrique sur la physiologie de la germination et de
la croissance de deux variétés de colza (*Brassica napus*)**

Soutenu publiquement le 11 avril 2012 devant le jury composé de :

Mr R. AMIROUCHE : Prof à l'USTHB

Mme F. AID : Prof à l'USTHB

Mme A. BELKEBIR : Maitre de Conférences A à l'USTHB

A. ABDELGUERFI : Prof à l'ENSA

Président

Promoteur

Examineur

Examineur

Résumé

Les plants de deux variétés de colza (*Brassica napus*), (fantasio et jura), sont soumis à deux stress différents : un stress osmotique au laboratoire induit par différentes concentrations de PEG₆₀₀₀, et un arrêt d'arrosage en serre. L'application des deux stress provoque des réponses aussi bien au niveau de la morphologie que de la physiologie des plants chez les deux variétés.

Dans des conditions favorables, c'est la variété jura qui présente une meilleure croissance en longueur des tiges et un meilleur rendement, alors qu'en conditions de stress induit par arrêt d'arrosage, c'est la variété fantasio qui affiche une meilleure résistance.

La germination des deux variétés n'est pas affectée par des pressions osmotiques inférieures ou égales à -4,48 bars ; à une pression osmotique de -9,40 bars, le pouvoir germinatif est considérablement affecté.

Une diminution de la teneur relative en eau proportionnelle à la concentration de *polyethylene glycol 6000* est observée chez les deux variétés, cette baisse s'accompagne par la fermeture des stomates et une accumulation de chlorophylles *a* et *b* chez les deux variétés. La diminution de la teneur relative en eau est plus importante, et la fermeture des stomates plus rapide chez la variété jura qui présente une plus grande sensibilité.

Une peroxydation des lipides est observée chez les deux variétés. L'augmentation du taux de malondialdéhyde est beaucoup plus importante chez la variété jura, chez qui les dommages sur les membranes sont plus importants.

La variété jura accumule les sucres solubles, alors que chez la variété fantasio c'est l'accumulation de la proline et de la glycine betaine qui est favorisée lors des deux stress.

Mot clés : *polyethylene glycol 6000*, *Brassica napus L*, Teneur relative en eau, stomates, chlorophylles, malondialdéhyde (MDA), sucres solubles, proline, glycine betaine

Table des matières

Introduction 1

Partie I : synthèse bibliographique.....	3
1. rappels bibliographiques.....	3
1.1- Rôle de l'eau dans la plante.....	3
1.2- Situation des grands périmètres irrigués.....	4
1.3- Le stress hydrique.....	5
1.3.1- Effets du stress hydrique.....	6
1.3.1.1- Effets du stress hydrique sur la plante entière.....	7
1.3.1.2- Effets du stress hydrique sur le métabolisme cellulaire.....	7
✓ Effet du stress hydrique sur l'activité photosynthétique.....	7
✓ Effets du stress hydrique sur le métabolisme des protéines.....	8
1.3.1.3- Effets du stress hydrique sur les membranes cellulaires.....	9
1.3.2- Résistance au stress hydrique.....	10
1.3.2.1- L'évitement de la sécheresse par la plante.....	10
1.3.2.2- La tolérance à la sécheresse avec maintien d'un potentiel hydrique élevé.....	11
1.3.2.3- La tolérance à la sécheresse avec une faible teneur en eau.....	11
1.3.3- Ajustement osmotique.....	12
1.3.3.1- Les glucides.....	12
1.3.3.2- La proline.....	14
1.3.3.3- La glycine bêtaïne.....	15
1.4- Brassica napus L. ou Colza.....	17
1.4.1- Origine géographique et aires de répartition.....	17
1.4.2- Place du Colza dans la classification botanique.....	18
1.4.3- Biologie du Colza « <i>Brassica napus</i> L.....	18
1.4.3.1- Description générale de la plante.....	18
1.4.3.2- Cycle de développement et croissance.....	21
1.4.3.3- Composition de la graine et production mondiale de colza.....	22
1.4.3.4- Implantation.....	24
1.4.3.5- Maladies et ravageurs du Colza.....	25
1.4.3.6- Utilisation.....	26
Partie II : Matériels et Méthodes.....	28
1- Matériel végétal.....	28
1.1- Mise en culture.....	28

2- Méthodes utilisées.....	29
2.1- Au niveau du laboratoire.....	29
✓ Statut hydrique des plantules.....	29
✓ Mesure de l'ouverture des stomates.....	30
✓ Extraction et dosage du malonyldialdéhyde (MDA).....	30
✓ Extraction et dosage des pigments foliaires.....	31
✓ Extraction et dosage des sucres solubles et de l'amidon.....	31
✓ Extraction et dosage de la proline.....	33
✓ Extraction et dosage de la glycine bétaine (GB).....	34
2.2- Au niveau de la serre.....	35
✓ Mesures biométriques.....	35
✓ Le rendement.....	36
Partie III : Résultats et discussions.....	37
1- Influence du stress hydrique sur la physiologie du Colza.....	37
1.1- Influence du stress osmotique sur la germination.....	37
1.2- Effets du stress osmotique sur les plants de colza.....	39
1.2.1- Effets du stress osmotique sur la teneur relative en eau (TRE) et sur l'ouverture des stomates.....	39
1.2.1.1- Teneur relative en eau.....	39
1.2.2.1- Effets du stress osmotique sur l'ouverture des stomates.....	40
1.2.1.3- Discussion.....	43
1.2.2- Effet du stress osmotique sur la teneur en chlorophylles <i>a</i> et <i>b</i>	44
1.2.3- Effets du stress osmotique sur l'estimation du stress oxydatif.....	45
1.2.4- Effets du stress osmotique sur les teneurs en osmolytes.....	47
1.2.4.1- Effets du stress osmotique sur les teneurs en sucres solubles et en amidon.....	47
1.2.4.1.1- Les sucres solubles.....	47
1.2.4.1.2- Amidon.....	48
1.2.4.1.3- Discussion.....	49
1.2.4.2- La proline.....	50
1.2.4.3- La glycine bétaine.....	52
1.2.4.4- Discussion.....	53
1.3- Effets du déficit hydrique sur les plants de colza en serre.....	56
1.3.1- Le rendement.....	56
1.3.2- Effets du déficit hydrique sur la croissance.....	56

1.3.2.1- Croissance en longueur de la tige.....	56
1.3.3- Effets du déficit hydrique sur la physiologie des plants de colza.....	59
1.3.3.1- Effets du déficit hydrique sur l'accumulation de proline.....	59
1.3.3.2- Effets du déficit hydrique sur l'accumulation de MDA.....	61
Conclusion.....	63

INTRODUCTION

Le déficit hydrique résultant de l'irrégularité des pluies constitue un des facteurs limitant la production agricole en zone méditerranéenne. Il y a déficit hydrique lorsque les besoins en eau de la plante sont supérieurs aux quantités disponibles (Gay et Bloc., 1992). Linchtenthaler (1996) a décrit le stress comme étant toutes conditions défavorables qui affectent le métabolisme, la croissance et le développement de la plante. Les réponses des plantes à la sécheresse dépendent de l'état du sol, de la vitesse d'évaporation de l'eau, de la durée du déficit hydrique, du stade phénologique de la plante, de l'espèce et aussi de la variété.

La sécheresse est la contrainte environnementale qui cause certainement le plus de dommages aux productions agricoles (Boyer, 1982). En effet, chaque année les surfaces perdues à cause des stress hydrique et salin sont considérables. Un milliard d'ha est menacé dans le monde dont 3,2 millions d'ha en Algérie (Belkhodja et Bidai., 2004).

L'Algérie est un pays essentiellement désertique dont les superficies agricoles n'occupent qu'un faible pourcentage de la superficie totale ; la superficie agricole utile est de l'ordre de 8,1 millions d'ha selon le ministère de l'agriculture. La faiblesse de la superficie ne peut empêcher l'Algérie d'être un pays à vocation agricole.

Le souci fondamental de l'évolution des productions agricoles est de sélectionner et de choisir un matériel végétal résistant à la sécheresse, qui réponde aux besoins de l'agriculture, du consommateur et des industries de transformation.

L'Algérie connaît un important déficit en huiles alimentaires et en tourteaux. La demande est croissante et les importations vont continuer à augmenter et ce, malgré l'accroissement potentiel de la production locale en l'huile d'olive. (Benassi et Labonne., 2004)

En effet, l'importation des huiles d'origine végétale augmente d'année en année ; elle est passée de 200 000 tonnes en 1980, à 320 000 tonnes en 2001. Pour atteindre l'autosuffisance en huile alimentaire ou au moins pour diminuer l'importation, il faut réintroduire les cultures d'oléagineux.

Le colza (*Brassica napus*) est une plante annuelle herbacée de la famille des Brassicacées, famille anciennement nommée Crucifères. Elle est largement cultivée pour la production d'huile alimentaire et de tourteau et plus récemment pour le biocarburant. Avec le tournesol et l'olivier, elle est l'une des principales sources d'huile végétale alimentaire en Algérie. Ces graines contiennent environ 40% d'huile de bonne qualité nutritive et 56% de tourteau. (Anonyme., 2005)

La capacité d'évaluer quantitativement les performances des plantes cultivées subissant un stress hydrique est très importante au niveau des programmes de

recherche qui visent la réhabilitation et l'amélioration de la production agricole en région semi aride (INRA., 2000).

Dans ce contexte, il nous a semblé intéressant d'étudier l'effet d'un stress hydrique provoqué par un arrêt d'arrosage sur des plantules de colza au stade 12 feuilles (levé), cultivés en pots en serre, et par des solutions de PEG sur des plants de colza au stade 4 feuilles en laboratoire. Cette étude a été réalisée sur deux variétés de colza (fantasio et jura).

L'objectif de notre travail est de comparer les réponses de ces deux variétés face au stress lors de deux stades de développement différents et éventuellement connaître la variété qui présente le meilleur profil d'adaptation face à la rareté de l'eau, en nous basant sur :

- ✓ La détermination de la faculté germinative des graines des deux variétés de colza soumises à un stress osmotique provoqué par des solutions de PEG engendrant des pressions osmotiques croissantes
- ✓ L'étude comparative de la croissance, et des réactions physiologiques des deux variétés de colza suite à l'application d'un stress osmotique au laboratoire et en serre suite à un arrêt d'arrosage.

1. Rappels bibliographiques

1.1 - Rôle de l'eau dans la plante

L'eau est un élément vital pour la croissance et le développement des cultures.

La richesse en eau des plantes est variable selon les espèces et les organes. En effet, une salade (*Lactuca sativa* L.), peut contenir 90 à 93% d'eau (Leclerc., 1999). De nombreuses plantes peuvent survivre à une TRE de 70% (stress moyen). Cette valeur peut atteindre 60% (stress important) pour le maïs (*Zea mays*) et 30% (stress sévère) pour la luzerne (*Medicago sativa*) (Morard., 1995).

Les rôles multiples assurés par l'eau au sein des plantes en font un facteur limitant leur fonctionnement. Parmi ces rôles, nous pouvons citer la turgescence cellulaire. Celle-ci donne une certaine rigidité aux tissus végétaux et assure le port dressé des organes dépourvus de tissu de soutien. Aussi, la première manifestation visuelle d'une déshydratation se traduit par la perte de turgescence qui conduit au flétrissement et à l'abandon du port érigé. C'est aussi la turgescence qui, associée au phénomène de croissance, permet la pénétration des racines dans le sol (Kies., 1977).

Au niveau cellulaire, les molécules d'eau participent directement à de nombreuses réactions biochimiques d'hydrolyse ou de condensation.

Au niveau de la plante entière, l'eau est le vecteur de la migration des éléments minéraux absorbés par les racines. C'est aussi en milieu aqueux que sont transportées les substances élaborées par la photosynthèse dans les feuilles, et que sont véhiculés les déchets du catabolisme (Morard., 1995).

L'eau est donc un élément vital pour la croissance et le développement des plantes. Cependant, les végétaux sont caractérisés par une grande capacité à résister à des variations importantes de la teneur en eau de leurs tissus.

1.2 - Situation des grands périmètres irrigués.

Depuis l'indépendance, les nouvelles superficies irriguées, environ 70 000 ha, sont à peine équivalentes à celles qui ont été perdues suite à la désertification et à la construction sur les terres cultivables.

Les 16 périmètres irrigués en exploitation sont gérés par 5 offices de périmètres irrigués régionaux (Etablissements publics à caractère industriel et commercial) et 8 offices de wilaya. Ils totalisent 173 000 ha équipés, mais ils sont dominés par des réseaux d'irrigation plus ou moins vétustes, et moins de 60 % de la surface dispose de réseaux en fonctionnement et peut être considérée comme irrigable.

En matière d'exploitation des périmètres, seulement 40.000 ha (moins de 25 %) en moyenne ont été irrigués au cours des vingt dernières années, soit 40% de la superficie équipée irrigable qui est actuellement de l'ordre de 100.000 ha. Depuis 1989, une stagnation des superficies irriguées autour de 30.000 ha est observée.

Ce décalage important est lié d'une part, à la réduction tendancielle des ressources en eau affectées à l'irrigation, conséquence à la fois de la priorité accordée à l'alimentation en eau potable et industrielle et à la sécheresse et d'autre part, à l'état de vétusté des infrastructures des anciens périmètres équipés en réseaux gravitaires il y a plus d'un demi siècle (Habra, Sig, Chelif, Hamiz). La dotation de campagne d'irrigation à partir des grands barrages n'a atteint en moyenne que 270 millions de m³ sur la période allant de 1983 à 2002, soit un taux de satisfaction de 43% par rapport à des besoins estimés à 630 millions de m³. Ce déficit en eau a touché l'ensemble des périmètres et plus particulièrement les périmètres anciens de l'Ouest et les périmètres nouveaux du centre et de l'Est du pays.

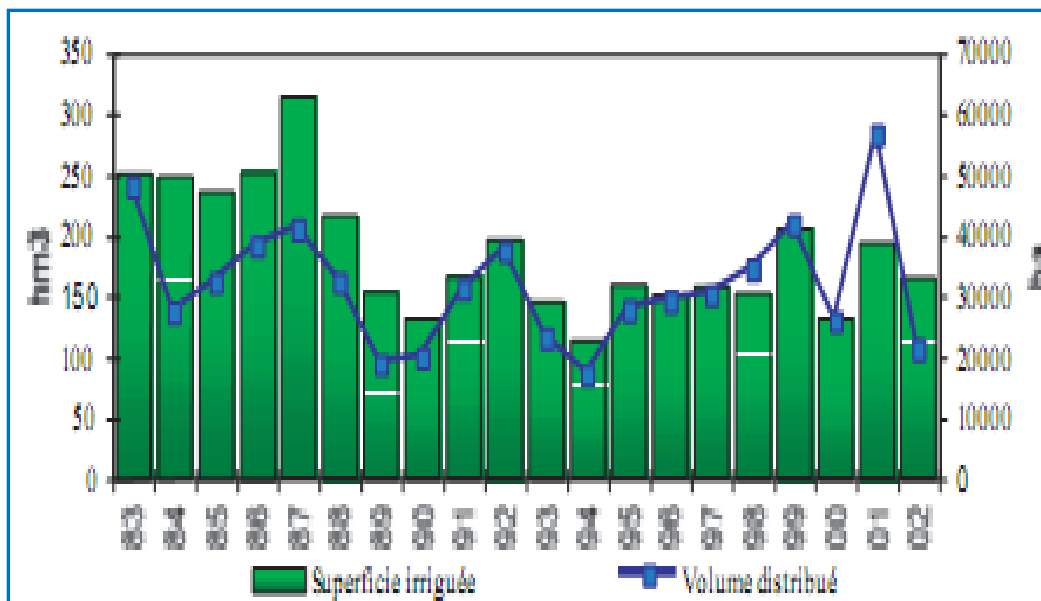


Figure 1 : Superficie irriguée (ha) et volume distribué (1 million de m³= hm³) dans les grands périmètres irrigués depuis 1983) (ENSH, Algérie, 2000).

1.3- Le stress hydrique

Les plantes sont souvent soumises à de graves déficits hydriques dus à une chute brutale de l'humidité ou à une augmentation de la température. La rareté des pluies ou des pluviosités trop espacées, peuvent également induire un stress hydrique du fait de la diminution de la quantité d'eau dans le sol.

La sécheresse peut être définie correctement en considérant la disponibilité de l'eau et les besoins en eau de la plante (Casals., 1996). Une plante est en situation hydrique limitante lorsque son évapotranspiration est inférieure à l'évapotranspiration maximale (Casals., 1996). Si l'on tient compte des réserves négligeables en eau de la plante, il faut admettre que le déficit hydrique est très étroitement lié à la disponibilité en eau du sol par rapport à la demande climatique.

Linchtenthaler (1996) a décrit le stress comme étant la résultante de toutes conditions défavorables qui affectent le métabolisme, la croissance et le développement de la plante.

Les réponses de la plante à la sécheresse (drought stress) dépendent de :

- ✓ L'état de l'eau dans le sol et de la vitesse d'évaporation de l'eau,
- ✓ La durée du déficit hydrique
- ✓ L'espèce, mais aussi de la variété.
- ✓ Du stade phénologique de la plante

Ces réponses peuvent être résumées en trois phases distinctes (Linchtenthaler., 1998) :

- 1- Phase d'alarme** : C'est la première phase du stress ; elle est marquée par une diminution des activités métaboliques et une orientation des substances élaborées vers les racines, provoquant ainsi une diminution de la croissance de la partie aérienne et de la vitalité chez la plante.
- 2- Phase de résistance au stress** : la plante met en jeu des mécanismes de tolérance au stress afin de maintenir sa vitalité.
- 3- Phase d'épuisement** : Lors de cette phase, toutes les fonctions physiologiques sont perturbées. Si le stress persiste, il entraînera la mort du végétal, mais si le stress est levé, une reprise du métabolisme cellulaire et du développement du végétal peuvent être observés ; c'est la phase de régénération ou phase standard, avec retour à l'état initial (phase sans stress).

1.3.1- Effets du stress hydrique

Lors d'un stress hydrique, l'eau absorbée par les racines n'est pas suffisante pour remplacer celle perdue par évapotranspiration, provoquant une diminution de la turgescence cellulaire.

La teneur relative en eau (TRE) peut donner une signification physiologique directe de l'état hydrique de la plante (Ritchie et *al.*, 1990). Elle exprime l'état de turgescence des cellules. La teneur relative en eau des feuilles est un bon paramètre physiologique, indicateur de l'état hydrique de la plante.

La diminution de la teneur relative en eau des plantes est néfaste pour la plante, et va influencer négativement son métabolisme et son développement.

Les conséquences du stress hydrique sont essentiellement; une diminution de la croissance pouvant mener à la mort de la plante, ainsi qu'une réduction de l'activité photosynthétique et du rendement.

Le déficit hydrique induit un stress oxydatif avec la formation de radicaux libres, qui sont des atomes ou des molécules dont la structure chimique est caractérisée par la présence d'un électron libre rendant cette espèce chimique beaucoup plus réactive que l'atome ou la molécule dont il (elle) est issu(e). Les ROS « Reactive oxygen species », par leur nature instable, sont particulièrement réactives et sont capables de provoquer des dégâts cellulaires importants en provoquant

- des cassures et des mutations de l'ADN
- et/ou en inactivant des protéines et des enzymes (Figure 2 : A)
- en oxydant les pigments, les sucres ...
- en induisant des processus de peroxydation lipidique au sein des acides gras polyinsaturés des lipoprotéines ou de la membrane cellulaire (Figure 2 : B)

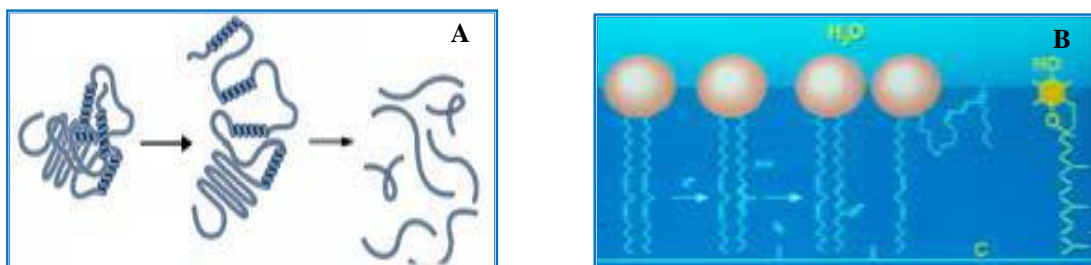


Figure 2 : Action des radicaux libres sur les protéines (A), et sur les lipides (B)

1.3.1.1 - Effets du stress hydrique sur la plante entière

D'une manière générale, la diminution de la TRE se traduit par une diminution de la croissance cellulaire ce qui réduit la hauteur et le diamètre de la tige. (May et Milthorpe., 1962). La sécheresse freine également le rythme de synthèse de la matière sèche (Hannel et Barralis., 1982).

1.3.1.2- Effets du stress hydrique sur le métabolisme cellulaire

Effet du stress hydrique sur l'activité photosynthétique

Lors d'un déficit hydrique, l'activité physiologique de la feuille, et plus particulièrement la photosynthèse et la conductance stomatique sont affectées (Lawlor., 2002). La réduction de la photosynthèse, liée à la diminution du potentiel hydrique foliaire, dépend à la fois de la fermeture des stomates, avec pour conséquence une diminution de la conductance à la diffusion du CO₂. (Tardieu et Simoneau., 1998; Flexas et Medrano., 2002.), mais aussi à la régénération limitée du RuBP, Ribulose Biphosphate, substrat du cycle de Calvin (Gimenez et al.. 1992).

En général, l'essentiel de la diminution de la photosynthèse dépend de l'intensité du stress hydrique (Oosterhuis., 1987). La phase claire de la photosynthèse se déroule dans les membranes des thylakoïdes, et met en jeu un ensemble de molécules particulières, nommées pigments photosynthétiques. Ces pigments sont de trois types :

- les chlorophylles : présentes chez tous les végétaux autotrophes au carbone ;
- les caroténoïdes : présents chez tous les végétaux autotrophes au carbone ;
- les phycobilines : présents exclusivement chez les algues et les cyanobactéries autotrophes au carbone.

Les pigments photosynthétiques ou pigments assimilateurs, sont des composés chimiques permettant la transformation de l'énergie solaire en énergie chimique chez les organismes effectuant la photosynthèse. Lorsqu'un photon est absorbé par une molécule de pigment photosynthétique, celle-ci passe à un état excité, de niveau énergétique plus élevé.

L'énergie accumulée dans la molécule de pigment est libérée lors du retour à l'état fondamental de la molécule sous forme d'électron ; c'est le processus de la photosynthèse. Dans certains cas l'électron libéré est capté par un oxygène et forme l'anion superoxyde qui est une forme active d'oxygène et qui peut en s'accumulant entraîner un stress oxydatif.

Lorsque l'énergie accumulée n'est pas suffisante pour faire partir un électron, le retour à l'état stable se fait :

- Sous forme de chaleur,

- Sous forme de fluorescence.
- Cette énergie peut être absorbée par un oxygène et forme l'oxygène singulet 1O_2

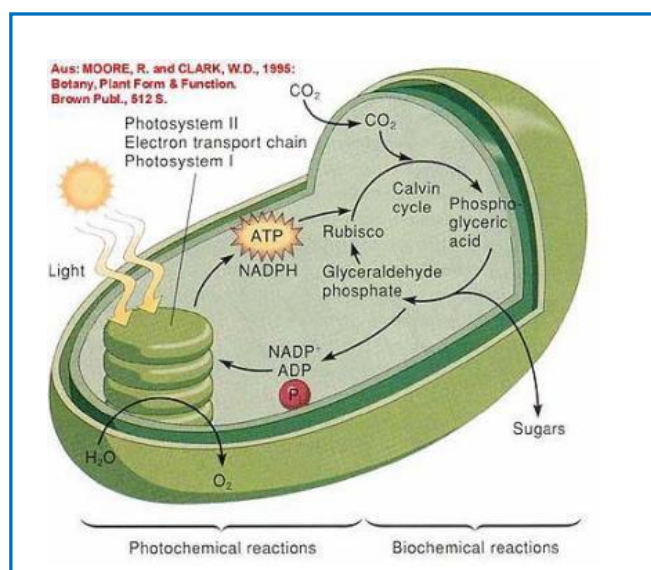


Figure 3 : Schéma du bilan fonctionnel de la phase biochimique de la photosynthèse selon Moore et Clark, 1995 Botany, Plant Form and function Brown Publ

L'ion $\dot{O}H$ est la forme la plus toxique ; elle est issue de la réaction de dissociation du peroxyde d'hydrogène (réaction de Haber-Weiss). Lors d'un stress oxydatif, ces composés sont fortement synthétisés et provoquent d'importants dommages au niveau de la cellule (peroxydation des lipides, dégradation des protéines,...) induisant ainsi une déstabilisation des membranes. (Long et al., 1994).



Effets du stress hydrique sur le métabolisme des protéines

Le stress hydrique empêche le bon fonctionnement de la protéogénèse, tout en favorisant la protéolyse (Bardzik et al., 1971), ce qui implique une diminution de la teneur en protéines foliaires.

Lors du stress, on assiste également à une activation de la synthèse de nouvelles protéines notamment les protéines de stress. Il s'agit de protéines de faibles poids moléculaire (entre 26 et 95 kDa) qui sont connues sous le nom de HSP : Heat Shock Protéine. (Bonhert et al., 1998).

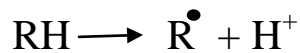
Ces HSP présentes dans le cytosol peuvent être transférées jusqu'au chloroplaste et à la mitochondrie. Elles permettent aux cellules de résister à un environnement

hostile en prolongeant leur viabilité jusqu'à l'apparition de conditions plus favorables et en maintenant les structures cellulaires dans un état fonctionnel. Les HSP peuvent aussi aider les autres protéines à retrouver un bon fonctionnement. L'augmentation de la synthèse de ces protéines, doit donc être considérée comme une réponse d'adaptation à des conditions de stress importantes (Bonhert et *al.*, 1998).

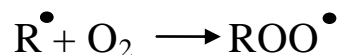
1.3.1.3 – Effets du stress hydrique sur les membranes cellulaires

Les acides gras polyinsaturés sont des cibles privilégiées des espèces réactives de l'oxygène en raison de leurs doubles liaisons facilement oxydables. Plus l'acide gras est insaturé et plus il est susceptible d'être peroxydé, grâce à une peroxydase ou par un processus d'oxydation non enzymatique ; il s'agit d'un enchaînement de réactions radicalaires organisées en trois phases successives : l'initiation, la propagation et la terminaison (Halliwell and gutteridge., 1989).

- ✓ La phase d'initiation consiste en la création d'un radical d'acide gras (R^\bullet) à partir d'un acide gras (RH) par soustraction d'un atome d'hydrogène provenant d'un groupement méthylène – CH_2 - bis allylique. Cette déshydrogénation peut être provoquée par un initiateur radicalaire tel que le $\bullet OH$ et le HOO^\bullet .



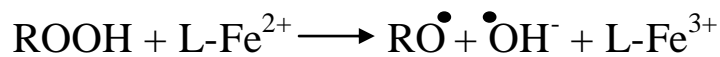
- ✓ Le radical lipidique (R^\bullet) subit ensuite un réarrangement moléculaire pour former un radical ayant une structure de diène conjugué, plus stable, qui peut réagir avec une molécule d' O_2 formant ainsi un radical peroxyde (ROO^\bullet) (Esterbauer et al., 1997).



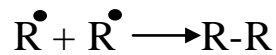
- ✓ Ce radical est suffisamment réactif pour arracher à nouveau, un hydrogène à un acide gras polyinsaturé voisin, propageant ainsi la réaction. Il est généralement admis que chaque radical (R^\bullet) peut être à l'origine d'une centaine de molécules d'hydroperoxyde avant que survienne la phase de terminaison.



- ✓ L'hydroperoxyde lipidique (ROOH) formé peut être oxydé en présence de métaux de transition divalents de Fe^{2+} ou Cu^{2+} et entraîner la formation d'alcalanes et d'aldéhydes toxiques dont le malonyldialdéhyde (MDA) ou le 4-hydroxynonanal.



- ✓ La réaction en chaîne peut être interrompue (phase de terminaison) par l'association de deux radicaux libres et la formation d'un composé stable ou le plus souvent par la réaction du radical avec une molécule antioxydante (Delattre et al., 2005).



Le malonyldialdéhyde est le résultat de la peroxydation des acides gras par les formes actives d'oxygène.

La peroxydation des lipides est le symptôme le plus attribué aux dommages oxydatifs ; il est souvent employé comme indicateur du stress oxydatif (Zhang et Kirkham., 1994).

1.3.2 - Résistance au stress hydrique

La résistance au stress hydrique dépend non seulement de l'espèce végétale mais aussi de l'intensité et de la durée du stress ; elle varie aussi chez l'individu selon le stade de développement.

En agronomie, la résistance de la plante est définie comme l'aptitude à minimiser la perte de croissance et de rendement.

La résistance à la sécheresse est définie de différentes manières, ce qui explique l'existence de plusieurs classifications (Turner., 1979 ; Levitt., 1980; Turner., 1986 ; Casals., 1996).

La classification la plus largement admise et la plus communément employée est celle proposée par Milthorpe 1962 in Casals., 1996. Elle considère trois grands types de résistance à la sécheresse.

1.3.2.1 - L'évitement de la sécheresse par la plante

Les plantes évitent la sécheresse en lui échappant (drought escape) grâce à des particularités de leur cycle de développement. La plante a la capacité d'accomplir son cycle de développement avant que le déficit hydrique ne soit important. C'est un

changement dans la longévité du cycle phénologique. La plante dans ce cas, peut soit réduire son cycle de développement ou l'étaler, selon les conditions externes. Il s'agit, en fait, d'inscrire ce cycle de développement afin d'éviter que des phases critiques pour la plante comme la germination mais aussi et surtout le stade plantule, ne coïncident avec les mauvaises conditions externes.

On parle alors du bon calage phénologique (Levitt., 1980). Les progrès les plus importants réalisés dans la sélection pour l'amélioration des rendements des espèces cultivées en régions arides ont consisté à réduire la durée du cycle de développement (Vartanian et Lemée., 1984).

En conditions méditerranéennes par exemple, la recherche d'une grande précocité a été jusqu'ici le moyen le plus utilisé pour éviter les effets négatifs du déficit hydrique et des hautes températures en fin de cycle sur le remplissage du grain chez le blé dur. (Dib et *al.*, 1991).

1.3.2.2 - La tolérance à la sécheresse avec maintien d'un potentiel hydrique élevé

Cela consiste pour la plante à maintenir son potentiel hydrique par :

- ✓ L'augmentation de la vitesse d'absorption de l'eau en relation avec le développement du système racinaire.
- ✓ La réduction des pertes en eau par transpiration grâce à des adaptations morphologiques (présence de cire sur la surface foliaire, réduction de la surface des feuilles.....).

1.3.2.3 - La tolérance à la sécheresse avec une faible teneur en eau

L'exposition des plantes à des conditions de sécheresse engendre une réaction d'adaptation qui se traduit par des changements de nature métaboliques et morphologiques.

Cette tolérance fait intervenir des modalités tout à fait différentes dont le principe de base est la préservation de l'intégrité structurale et fonctionnelle des tissus lorsque le potentiel hydrique baisse (Vartanian et Lemée., 1984).

Elle se fait par deux mécanismes : maintien de la turgescence cellulaire et tolérance à la dessiccation (appelée résistance).

- ✓ Concernant le premier mécanisme, le potentiel hydrique est réduit mais celui de la turgescence se maintient grâce à l'augmentation du potentiel osmotique. C'est le mécanisme d'ajustement osmotique. Il nécessite une accumulation dans le cytoplasme, de solutés neutres et à faible poids moléculaire (proline, glycine bétaine, sucres et autres). (Kameli et Losel., 1995).

- ✓ La tolérance à la dessiccation ; dépend de la capacité des membranes à résister à la dégradation enzymatique et à la dénaturation des protéines (Gaft., 1980), grâce à certains osmoprotecteurs (Betaine, sucres solubles...) et à la modification de la composition des lipides membranaires (phospholipides, galactolipides) (Pugnaire et *al.*, 1993). La capacité d'accumulation et de remobilisation des réserves glucidiques et une résistance protoplasmique relativement élevées sont donc associées à une tolérance à la contrainte hydrique (Bensalem et Dasilva., 1991).

L'adaptation correspond donc à une dynamique réactionnelle dont la résultante est la résistance (Vartanian et Lemée., 1984).

En résumé, nous pouvons dire que le processus d'évitement est important mais il ne prend en compte que les aspects phénologiques de la plante. Pour les autres processus, c'est la définition de l'état hydrique qui semble primordial. Le maintien de la turgescence par l'un ou l'autre des mécanismes, permet la préservation des fonctions physiologiques de la plante.

1.3.3 - Ajustement osmotique

L'ajustement osmotique est considéré comme étant un mécanisme important d'adaptation des végétaux à la sécheresse. Les substances de faible poids moléculaire (osmolytes) accumulées dans les cellules après exposition à un stress hydrique, sont essentiellement des polyols, des sucres solubles (glycérol, mannitol, glucose, saccharose,...), des acides aminés (la proline et la glycine betaine), des substances à ammonium quaternaire et à sulfonium ternaire (Smirnoff., 1998 ; Cushman and Bohnert., 2000). Ces substances de faible poids moléculaire, et neutre du point de vue pH et ionique ne doivent pas intervenir dans le métabolisme cellulaire.

1.3.3.1 - Les glucides

Lors d'un déficit hydrique, les réserves amylicées sont progressivement utilisées et pourraient être un facteur de tolérance au manque d'eau (Bensari et *al.*, 1990). Lorsque la contrainte hydrique cesse, la feuille reconstitue ses réserves d'amidon.

De nombreux auteurs ont mis en évidence le rôle protecteur des sucres sur les membranes, en particulier des mitochondries (Todd, 1972). La présence des sucres solubles permettrait le maintien des réactions de phosphorylation et de production d'énergie. Outre ce rôle protecteur des membranes, les hydrates de carbone protègent les processus par lesquels les enzymes sont synthétisés (Bammoun., 1997), ce qui impliquerait une meilleure résistance à la sécheresse (Bammoun, 1997).

Le saccharose est la source de carbone la plus accumulée lors d'un stress hydrique au niveau des tissus de certaines espèces végétales (Morgan., 1984 ; Ramos et *al.*, 1999).

Cette accumulation de saccharose joue un rôle important dans l'ajustement osmotique et peut fournir rapidement des glucides mobilisables comme source d'énergie pour la croissance après la levée du stress (Hare et al., 1997).

Le métabolisme du saccharose est un cycle continu de synthèse et de dégradation (Hill et Rees., 1995). Le saccharose phosphate synthétase catalyse le transfert du résidu glucose de l'UDP glucose sur le fructose 6-phosphate. Le saccharose phosphate formé est alors transformé en saccharose libre par la saccharose 6- phosphate phosphatase. (Richter, 1993) (Fig. 4)

Le fructose libre réagit avec l'UDP-glucose pour former le saccharose. Cette réaction est catalysée par le saccharose synthétase (Fig. 4).

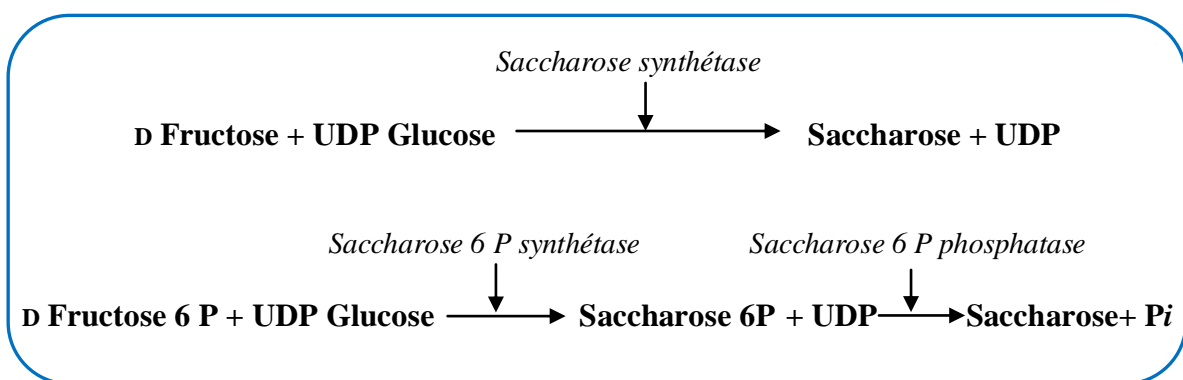


Figure 4 : Voies de synthèse du saccharose

La troisième enzyme qui participe au métabolisme du saccharose est l'invertase. Cette enzyme hydrolyse le saccharose en glucose et fructose, cette réaction est irréversible. Il existe deux types d'invertases : l'invertase acide soluble vacuolaire et l'invertase neutre alcaline cytosolique (Quick et al., 1996) (Fig. 5).

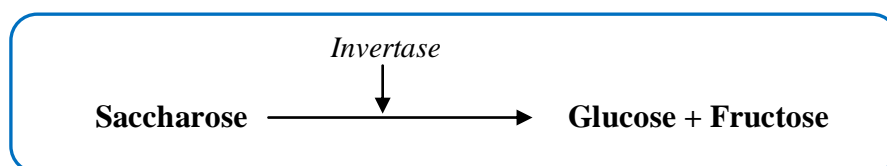


Figure 5 : formation du glucose et du fructose suite à l'hydrolyse du saccharose

La synthèse des glucides est la conséquence des activités photosynthétiques réalisées au niveau des feuilles. Le saccharose et l'amidon sont les glucides majeurs issus de la fixation de gaz carbonique par photosynthèse; les sucres solubles figurent parmi les composés osmotiques les plus fréquemment accumulés au cours des stress environnementaux (Dib et al., 1991).

1.3.3.2 - La proline

La proline est la molécule organique la plus accumulée chez les organismes lors d'un stress (Nakashima., 1998). Elle est considérée comme une source d'énergie, d'azote et de carbone et comme un osmolyte de réponse à la déshydratation (Kavi et al., 1995). Son accumulation dans l'organisme est l'une des stratégies adaptatives fréquemment observées chez les plantes pour limiter les effets du stress hydrique. Elle est liée à l'osmorégulation cytoplasmique (Acevedo et al., 1989).

L'accumulation de proline au niveau des feuilles des plants d'orge soumis à un stress osmotique sévère réduit les dommages des membranes cellulaires. La proline jouerait aussi un rôle de protection des membranes (Bandurska., 2001).

La proline serait synthétisée dans le cytosol et la mitochondrie ; sa concentration peut être relativement importante dans les cas de contraintes climatiques. Elle est considérée comme un osmoprotecteur (Delaunay et Verma., 1993).

Les voies de synthèse de la proline sont complexes et ont été étudiées au niveau moléculaire (Delauney et Verma., 1993). Ces chercheurs ont isolé dans les nodosités de *Vigna aconitifolia* un clone de cADN qui code pour une enzyme bifonctionnelle, la Δ^1 -pyrroline-5- carboxylate synthétase (P5CS). Cette enzyme a deux activités, une activité γ -glutamyl kinase et une activité glutamate semialdéhyde deshydrogenase.

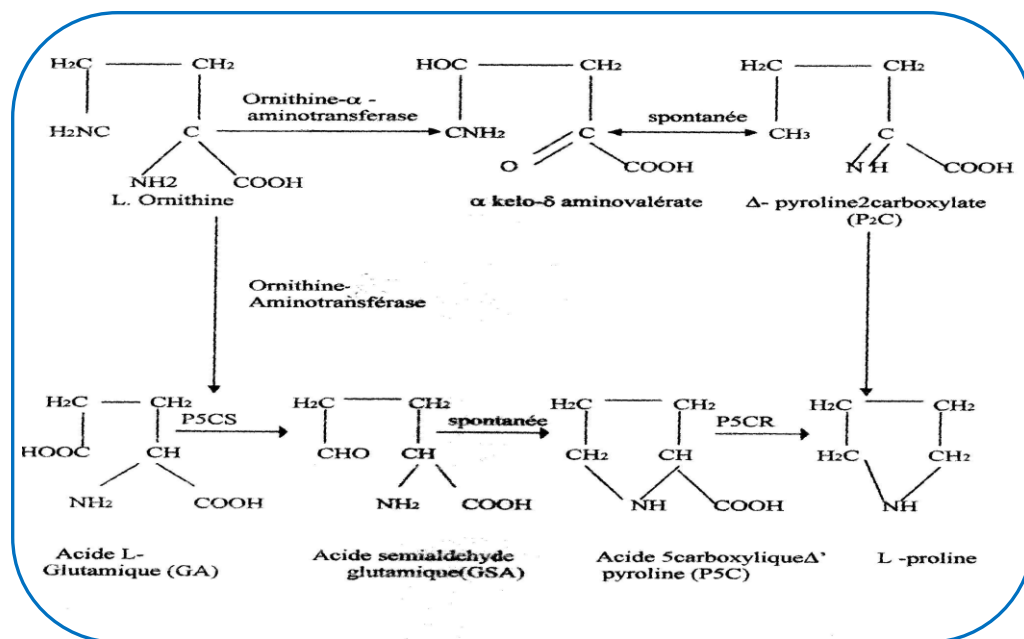


Figure 6 : Voies de biosynthèse de la proline chez les plantes (Asthon et al., 1993)

La proline est synthétisée selon deux voies :

- La voie de l'acide glutamique : L'acide glutamique est réduit en aldéhyde glutamique qui subit une cyclisation puis une réduction pour donner la proline (Fig. 6).

- La voie de l'ornithine : sa conversion en proline suit deux parcours de transamination dont l'un aboutit à la formation de l'acide semi-aldéhyde glutamique (GSA) pour suivre la voie de glutamate. L'autre voie donne de l'acide α Keto- aminoaléérique grâce à l' α céto- δ aminoansferase, puis la proline grâce a une cyclisation et une réduction (Fig. 6).

Chez les plantes supérieures, l'accumulation de la proline au cours d'un stress hydrique résulte de la régulation des voies de synthèse et de dégradation: stimulation de la voie de biosynthèse et répression de sa dégradation (Delauney et Vertma., 1993 ; Peng et al., 1996).

La déshydratation va favoriser la biosynthèse de la proline au dépend de sa dégradation. En effet L'ABA stimulerait l'accumulation de la proline selon un mécanisme mal défini au centre duquel se trouve la pyrroline-5-carboxylate synthétase (P5CS). Il contribuerait également à inhiber le catabolisme de la proline (Fig. 7).

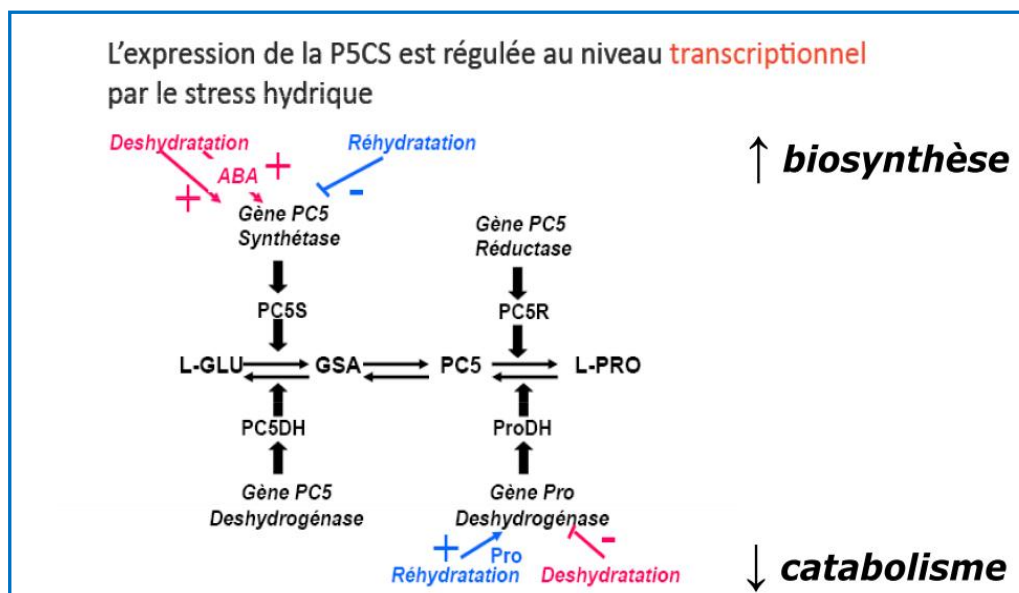


Figure 7 : Rôle de la déshydratation dans la biosynthèse et dans le catabolisme de la proline

1.3.3.3 - La glycine bétaine

Divers organismes végétaux (plantes supérieures, algues et bactéries) synthétisent des bétaines comme molécules osmorégulatrices. La glycine bétaine s'accumule en réponse au stress chez de nombreuses plantes cultivées, telles que la betterave à sucre (*Beta vulgaris*), les épinards (*Spinacia oleracea*), l'orge (*Hordeum vulgare*), le blé tendre (*Triticum aestivum*), et le sorgho (*Sorghum bicolor*) (Weiberg et al., 1984). Ces molécules leur permettent de résister au froid et/ou à la salinité. Les bétaines permettent aussi à certaines plantes (Plumbaginaceae) de mieux résister à la chaleur et

au stress hydrique (via une synthèse irréversible de glycine bétaine), la plus courante et la mieux distribuée chez les végétaux

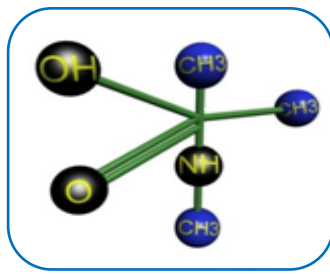


Figure 8: Structure moléculaire de la glycine bétaine

La glycine bétaine est un acide aminé à ammonium quaternaire, synthétisée au niveau du chloroplaste chez les plantes supérieures (Fig. 9). Elle est considérée comme la plus efficace des osmoprotecteurs

Elle est synthétisée à partir de la choline qui est convertie en bétaine aldéhyde, par la choline monooxygénase (OCM), puis en glycine bétaine par la bétaine aldéhyde (Fig. 9).

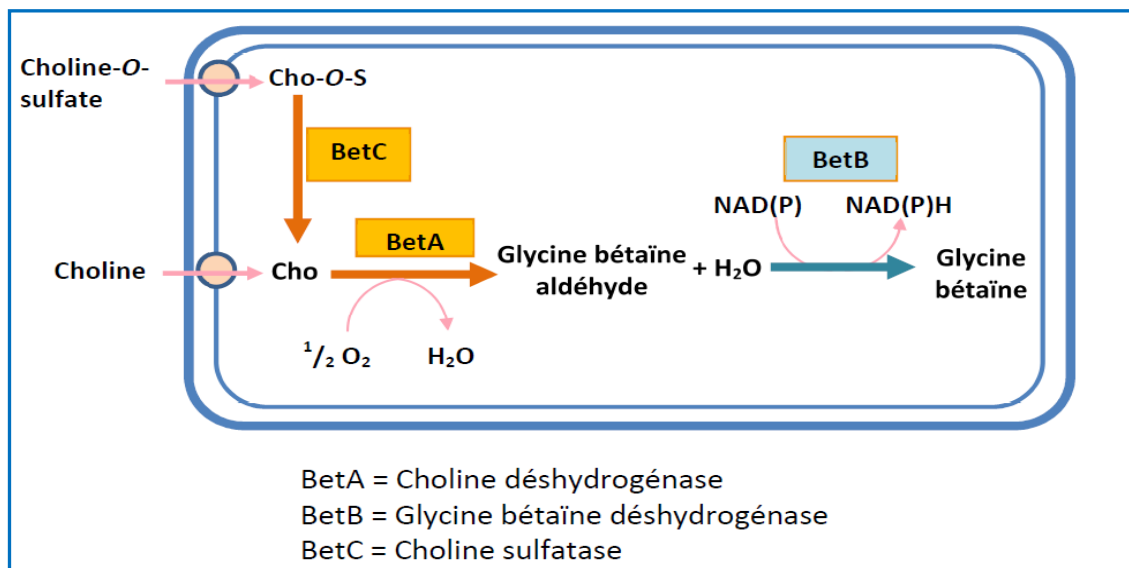


Figure 9 : Voie de synthèse de la glycine bétaine

Bien que d'autres voies comme la N-méthylation de la glycine soient également connues, la voie de synthèse de la glycine bétaine à partir de la choline a été identifiée chez toutes les espèces végétales, (Weretilnyk et al., 1989).

La glycine bétaine (N,N,N-triméthylglycine), appelée parfois bétaine, est présente dans plusieurs plantes (betterave, blé, épinards...), animaux et micro-organismes (*Propionibacterium shermanii*, *Pseudomonas dénitrifiants*...) (Huang et al., 2008). Elle joue un rôle important dans la résistance au stress osmotique chez les bactéries, les algues, les plantes et les mammifères (Wood et al., 2002) en stabilisant les structures des protéines et des membranes (Huang et al., 2008).

La glycine bêtaïne est très soluble dans l'eau et augmente sa tension superficielle (Söderlund et *al.*, 2002). Elle améliore ainsi la disponibilité en eau et assure une protection des enzymes impliquées dans la croissance et la photosynthèse des plantes. De nombreuses cultures susceptibles d'être perturbées par des stress ont une forte teneur en glycine bêtaïne.

1.4 - Brassica napus L. ou Colza

1.4.1- Origine géographique et aires de répartition

Le mot colza vient du flamand « Koolsaed » qui veut dire « semence de chou », (Kool=chou ; saed= semence).

Le colza (*Brassica napus* L.) est une plante herbacée annuelle issue d'un croisement spontané entre un chou (*Brassica oleracea* L.) et une navette (*Brassica rapa* L.). Le centre de diversification du colza se trouverait à l'intersection des centres de la navette (Europe, Asie) et du chou (Europe de l'Ouest et Afrique du Nord-Ouest).

Le croisement a pu se produire soit en pleine nature, dans le pourtour du Bassin méditerranéen, soit dans des jardins potagers où étaient cultivés côte à côte, des choux pour la consommation humaine et de la navette pour produire de l'huile d'éclairage.

Les deux parents du colza se sont par ailleurs croisés avec une autre espèce de Brassica, la moutarde noire. Ainsi, à partir de trois espèces de Brassica sont apparus trois hybrides (Fig. 10). Chacun de ces hybrides cumule dans son génome les chromosomes de ses deux parents. La famille des Brassicacées présente ainsi une étonnante plasticité génétique, à l'origine d'une grande diversité de formes et d'usages

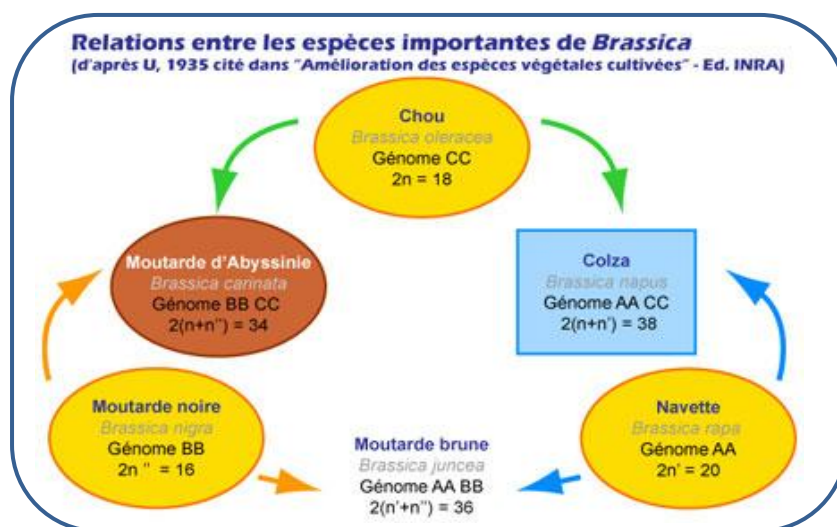


Figure 10 : Origine du colza et relation avec les autres espèces de Brassica.

1.4.2- Place du Colza dans la classification botanique (INA 2003)

Le colza cultivé « *Brassica napus* » appartient à la famille des crucifères (ou Brassicacées). Le genre *Brassica* est très important du point de vue des espèces cultivées.

A - Classification Phylogénétique :

Règne : Plantae

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Brassicales

Famille : Brassicaceae

Genre : *Brassica*

Nom Binomial : *Brassica napus*

1.4.3- Biologie du Colza « *Brassica napus* L

1.4.3.1- Description générale de la plante

Brassica. napus est une plante herbacée annuelle présentant des racines pivotantes. Les feuilles sont vert bleuâtre foncées, glauques, glabres ou portant quelques poils épars près de la marge. Les feuilles inférieures sont pétiolées et découpées, les feuilles supérieures sont lancéolées et entières. La tige est assez ramifiée, mais ce caractère varie selon les variétés et les conditions du milieu; les ramifications prennent naissance à l'aisselle des feuilles supérieures de la tige, et chacune se termine par une inflorescence. (Figure 12 : A, B, C et D).



Figure 11 : Champs de Colza

L'inflorescence est une grappe allongée de fleurs jaunes rassemblées aux extrémités mais ne dépassant pas les bourgeons terminaux. Les fleurs s'ouvrent successivement à partir de la base de l'inflorescence. (Musil, 1950). (Figure 12 : E et F)

Les ovules sont généralement fertilisés par autopolinisation, bien que des taux d'allofécondation de 20 à 30 % aient été signalés (Rakow et Woods., 1987). Le pollen, lourd et collant, ne peut être porté par le vent à une grande distance. Il est donc transporté par les insectes, et principalement par les abeilles. Dans le cas de plantes situées à proximité l'une de l'autre, la pollinisation croisée peut également résulter du contact entre les grappes de fleurs.

Les graines se forment à l'intérieur des siliques qui sont issues de la transformation de la fleur. La forme générale des graines de colza peut être sphérique, sphérique-oblique ou cuboïde, avec en moyenne une longueur de 1,1 à 2,6 mm, et une largeur de 1,3 à 2,3 mm. Les graines présentent généralement à l'extrémité hilare une large surface aplatie. Les graines peuvent être aplaties dans le sens de la longueur, du hile à l'apex, de sorte que le sillon radulaire se trouve allongé sur un des côtés. (Figure 12 : G et H)



Figure 12 : Description morphologique générale de la plante :

- A :** racines pivotantes ;
- B :** feuilles pétiolées et lancéolées ;
- C :** tige ramifiée ;
- D :** plante antière ;
- E et F :** inflorescence ;
- G :** silique contenant des graines ;
- H :** graines de colza

✓ Les Variétés du colza:

Le type « Hiver » ou Colza d'hiver est un colza dont la phase rosette est longue, qui demande pour accomplir son cycle végétatif une période hivernale vernalisante (avec des températures inférieures à 10°C pendant au moins 40 jours). Il possède une certaine résistance au froid.

Le type « printemps » ou Colza de printemps est un colza dont la phase rosette est très courte ; il ne nécessite aucune phase vernalisante, et il est sensible au froid.

1.4.3.2- Cycle de développement et croissance

Pour les deux variétés de colza (variété d'hiver et de printemps) le cycle de croissance est le même. Les seules différences résident dans la date du semis et dans le stade rosette qui dure plus longtemps chez les variétés d'hiver plus résistante au froid que chez les variétés de printemps moins résistante au froid

Semé en automne, le colza d'hiver étale d'abord au-dessus du sol ses deux cotylédons (germination épigée), puis développe une vingtaine de feuilles formant avant l'hiver, une rosette (Figure13 : A). Au début de l'hiver, la plante possède une tige de 2 à 3 cm, ou de 10 à 20 cm, selon les conditions écologiques. Parallèlement à la formation de cette rosette de feuilles, le système racinaire se développe en pivot et la plante y accumule les réserves qui seront utilisées au moment de la montée, de la ramification des tiges et de la maturation. (Figure13 : B)

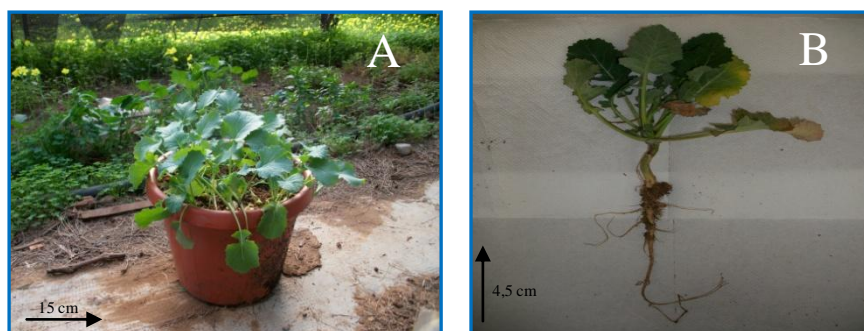


Figure 13 : A : plantules de colza en pot ; **B :** plantule de colza au stade rosette.

A la fin de l'hiver débute la montée ; l'inflorescence s'ébauche au sommet de la tige, et parallèlement commence l'élongation des entre-nœuds supérieurs. La floraison débute bien avant que la tige n'ait atteint sa taille définitive; la ramification de la tige se produit alors que la montée et la floraison se poursuivent. Très échelonnée, la floraison dure de 4 à 6 semaines à l'échelle de la plante; elle est à autogamie prépondérante (70% en moyenne). (Figure 14)



Figure 14 : fleurs

La formation du fruit est assez rapide. La maturité des graines est acquise en 6 à 7 semaines après la fécondation. A maturité, le moindre choc peut provoquer la déhiscence de la silique et la chute des graines. (Figure 15)



Figure 15 : jeunes siliques

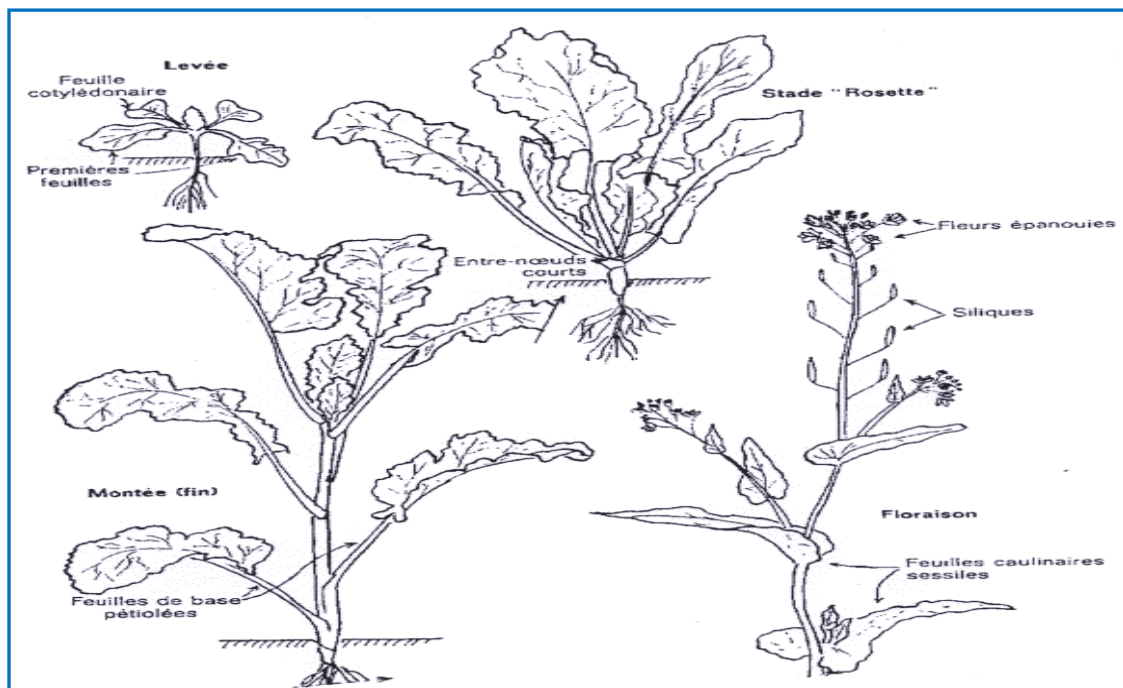


Figure 16: Stades de développement du colza

1.4.3.3- Composition de la graine et production mondiale de colza

Les graines de colza peuvent prendre plusieurs couleurs : Rougeâtre (notamment chez les graines immatures), grise, gris-noir, ou noir. Il existe une relation entre la couleur de la graine de colza et les teneurs en huile, protéines et cellulose de *B. campestris*. Plus la couleur de la graine s'éclaircit en passant du brun au jaune via le jaune brun, plus la teneur (en %) en huile de l'amande et en protéines du tourteau augmente et la teneur en cellulose du tourteau diminue (Downey et Bell., 1990).

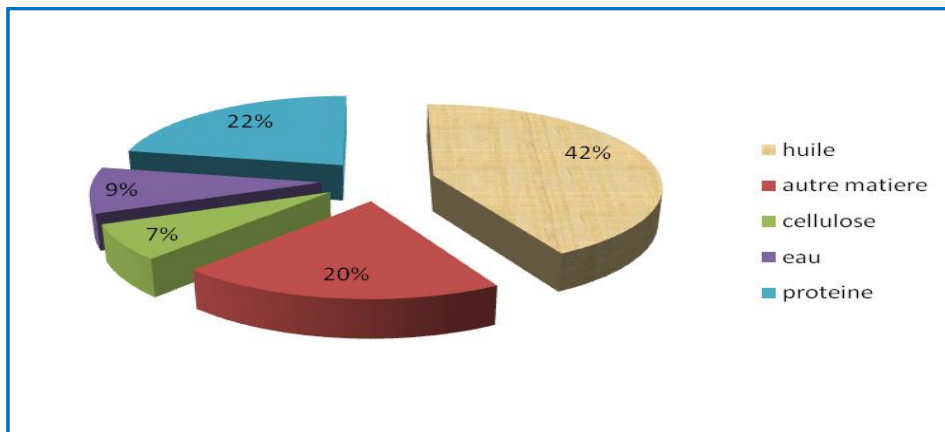


Figure 17 : Composition de la graine de colza (PROLEA 2006)

Les principaux producteurs de colza sont l'Union Européenne, le Canada, l'Australie, la Chine et l'Inde. En Inde, cette culture représente 13 % des surfaces cultivées (PROLEA 2006). Selon le ministère de l'agriculture des États-Unis, c'était en 2000, la troisième culture oléagineuse du monde après le palmier à huile et le soja, et la deuxième pour la production de protéines, bien qu'elle ne représente qu'un cinquième de celle du soja. En Europe, suite à l'augmentation récente de la production d'agro-carburants à partir de colza, cette plante est cultivée à la fois pour l'alimentation animale (grâce à la teneur élevée en protéines du tourteau), pour les agro-carburants et pour l'alimentation humaine. C'est aussi un moyen pour les Européens d'éviter l'importation de produits OGM (soja) et d'assurer une autonomie partielle en protéines végétales.

La production mondiale de colza qui s'élevait à 36 millions de tonnes en 2003 (source FAO) a augmenté ces dernières années pour atteindre 58.2 millions de tonnes en 2010.

Production en millions de tonnes de colza. Chiffres 2008		
Données de FAOSTAT (FAO) Base de données de la FAO, accès du 7 janvier 2011		
Canada	12,6	21,7 %
Chine	12,1	20,9 %
Inde	5,8	10,0 %
Allemagne	5,1	8,8 %
France	4,7	8,1 %
Ukraine	2,9	5,0 %
Pologne	2,1	3,6 %
Royaume-Uni	2,0	3,4 %
Australie	1,8	3,1 %
République tchèque	1,0	1,7 %
TOTAL MONDE	58,0	100 %

Production d'huile de colza en millions de tonnes. Chiffres 2008		
Données de FAOSTAT (FAO) Base de données de la FAO, accès du 7 janvier 2011		
Chine	4,52	23,9 %
Allemagne	2,77	14,7 %
Inde	1,81	9,6 %
Canada	1,78	9,4 %
France	1,49	7,9 %
Japon	0,95	5,0 %
Royaume-Uni	0,75	4,0 %
Pologne	0,73	3,9 %
Mexique	0,54	2,9 %
États-Unis	0,42	2,2 %
TOTAL MONDE	18,9	100 %

Figure 18 : Production mondiale de Colza et d'huile de Colza en millions de tonnes

1.4.3.4- Implantation

A l'entrée de l'hiver, le colza doit avoir atteint le stade optimal de résistance au froid "8 feuilles", "8 mm au collet", "15-20 cm de longueur du pivot" et "pas d'élongation de la tige". Pour cela, il faut semer tôt.

Tableau 1 : Dates limites de semis du colza (CETIOM 2002)

REGION	Nord et Est	centre, ouest-atlantique	Sud ouest	Pourtour méditerranéen
Période optimale de semis	20/08 au 30/08	28/08 au 05/08	25/08 au 10/09	01/09 au 10/09
Date limite de semis	05-sept	15-sept	20-sept	25-sept
Période optimale de levée	25-août	25/08 au 10/09	05/09 au 20/09	05/09 au 25/09

On ne doit pas dépasser 4 kg de semence à l'hectare. La dose est à calculer en fonction de l'objectif de peuplement souhaité en sortie d'hiver (40 à 60 pieds/m²). Une densité trop élevée peut provoquer une élongation des plantes avant l'hiver et les rendre plus sensibles au gel. Le développement des racines sera plus faible, d'où un mauvais ancrage.

1.4.3.5- Maladies et ravageurs du Colza

Le Colza souffre de la concurrence des mauvaises herbes, et notamment des graminées, grosses consommatrices d'azote. Différentes maladies et ravageurs, peuvent altérer le fonctionnement des peuplements de colza. Les risques de dégâts qu'elles peuvent occasionner et leur degré actuel de maîtrise sont très variables.

Tableau 2 : Principales maladies du Colza

	Sem	Stade rosette						formation des siliques							
		Levée	1 feuille	2 feuilles	3 feuilles	4 feuilles	6 feuilles	montaison	Boutons floraux accolés	Boutons floraux séparés	Floraison	Chutes des pétales	2 cm < siliques > 4 cm	Siliques bosselées	Graines colorées
AUTOMNE	<u>Mildiou</u>														
	<u>Fonte des semis</u>														
	<u>Phoma</u>														
PRINTEMPS	<u>Sclerotinia</u>														
	<u>Alternaria</u>														
	<u>Pseudocercospora</u>														
	<u>Cylindrosporiose</u>														
	<u>Oidium</u>														

Tableau 3 : Principaux ravageurs du Colza

	Sem	Stade rosette						formation des siliques					
		Levée	1 Feuille	2 Feuilles	4 Feuilles	6 Feuilles	Montaison	Boutons floraux accolés	Boutons floraux séparés	Floraison	Chute des pétales	2 cm < siliques > 4 cm	Siliques bosselées
AUTOMNE	<u>Limaces</u>												
	<u>Petites altises</u>												
	<u>Charançon du bourgeon terminal</u>												
	<u>Tenthrede de la rave</u>												
	<u>Mouche du chou</u>												
PRINTEMPS	<u>Charançon de la tige</u>												
	<u>Meligèthes</u>												
	<u>Charançon des siliques</u>												
	<u>Puceron cendré</u>												
	<u>Baris</u>												

1.4.3.6- Utilisation

Le colza est surtout cultivé pour ses graines, qui contiennent environ 50% d'une huile de bonne qualité nutritive (riche en acides gras insaturés). L'huile de colza naturelle contient de l'acide érucique, qui est cancérigène pour l'homme à dose importante. Des variétés à faible teneur en acide érucique dites « 0 », ont été sélectionnées. Ce sont les seules admises pour la consommation humaine. Les variétés dites « 00 » ou double zéro ont une teneur en acide érucique inférieure à 2 %, et une teneur en glucosinolates inférieure à 20 micromoles par gramme de la fraction lipidique. A forte dose dans l'alimentation animale, les glucosinolates sont toxiques et antinutritifs mais à faibles doses, en dessous des seuils de toxicité, leurs produits de dégradation ont des propriétés antifongiques, antibactériennes, anti-oxydantes, antimutagéniques et anticarcinogéniques, ce qui rend la variété dite « 00 » intéressante.

La vente d'huile de colza a connu une baisse importante, l'acide érucique qui y était contenu étant suspecté de provoquer des maladies cardio-vasculaires. Depuis lors, les variétés dites 'double zéro' ou 'colza 00', à très faible teneur en acide érucique, ont été mises au point offrant une huile dont la consommation est sans danger. A l'heure actuelle, les nutritionnistes vantent son fort pourcentage en acides gras monoinsaturés [acide oléique (60%)] et poly-insaturés [acide linoléique (20%) et acide linoléique (10%), précurseurs respectivement des familles des acides gras omega-6 et omega-3, qui rendent cette huile alimentaire particulièrement précieuse, entre autres pour leur intérêt dans la prévention des maladies cardio-vasculaires. D'après Brette et al., (1983), l'apparition des variétés de type « 00 », devrait entraîner une augmentation importante de l'utilisation des tourteaux de colza en alimentation animale et dans ce sens une diminution des importations de sous-produit d'origine divers.

En Europe c'est l'huile végétale la plus consommée, devant l'huile de tournesol et celle de soja. L'huile de colza entre dans la composition de la margarine. La consommation d'huile de colza ou de margarine de colza, pourrait réduire de 70 % le risque de maladies coronariennes.

Une fois celle-ci extraite, ce qui reste de la graine, le tourteau, riche en protéines (40% de la matière sèche) est utilisé en alimentation animale.

L'huile de colza a aussi des applications industrielles : un adjuvant destiné à l'application d'herbicides est par exemple commercialisé depuis 1989. Par ailleurs, le diester est un carburant à base d'huile de colza estérifiée par du méthanol. Directement utilisable en mélange avec le gazole par les moteurs diesel ; il ne contribue pas à l'effet de serre et émet moins de suies que le gazole classique. Une première production expérimentale de 20 000 tonnes a débuté en 1992 en Europe. D'autres débouchés (limités aujourd'hui à quelques milliers de tonnes) sont en cours d'étude : agents anti-poussières dans les silos à grains, lubrifiants (démoulage du béton, fluides hydrauliques), lipochimie. Afin d'offrir un produit qui permette de faire face à de

multiples utilisations, les sélectionneurs ont cherché à obtenir des variétés qui diffèrent par la composition en acides gras de leur huile :

- ✓ basse teneur en acide linoléique pour éliminer l'odeur de friture en alimentation humaine,
- ✓ haute teneur en acide palmitique pour la fabrication de margarine,
- ✓ haute teneur en acide érucique, oléique ou gamma-linoléique pour des utilisations industrielles spécifiques.

1- Matériel végétal :

Ce travail a été réalisé sur des graines de deux variétés de colza fantasio et Jura, fournies par l'ITGC (Institut Technique des Grandes Cultures), (Figure 19; A et B)

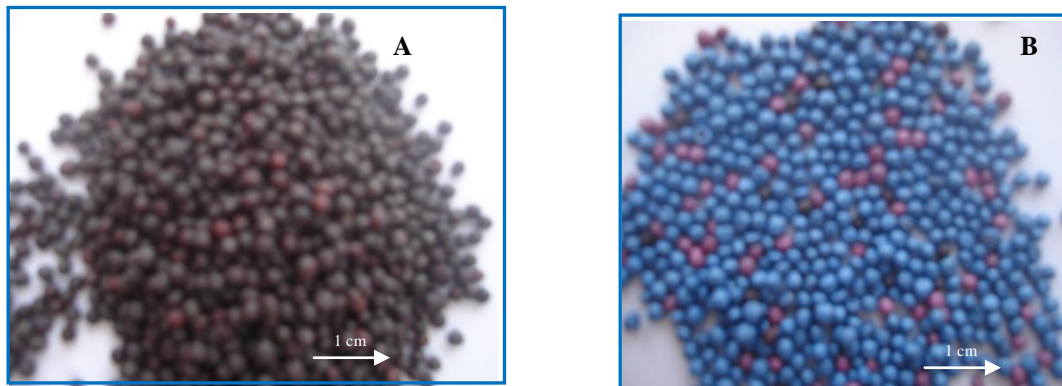


Figure 19 ; A : Graines de fantasio, B : Graines de jura

1.1- Mise en culture

✓ *Imbibition*

Les graines de colza sont mises à tremper dans des béciers, que l'on recouvre de gaze ; l'ensemble est déposé sous un filet d'eau pendant trois heures (la gaze permet dans ce cas l'entrée de l'eau, et empêche les graines de sortir du bécier). Cette technique permet une bonne imbibition et une bonne oxygénation des graines pour éviter que les substances phénoliques présentes dans les téguments jouent le rôle de piège à oxygène.

✓ *Etude de la faculté germinative*

Les graines des deux variétés de colza sont mises à germer dans des petits bacs en plastique tapissés de papier absorbant à raison de 100 graines par bac.

L'arrosage des graines a lieu régulièrement avec de l'eau pour les témoins, et des solutions de PEG à différentes concentrations pour les essais. La germination des graines est suivie pendant 5 jours. Les pourcentages moyens ont été déterminés sur la base de trois répétitions pour chaque concentration de PEG et pour chaque variété.

✓ *Croissance en pot au laboratoire*

Les graines germées sont mises à croître dans des petits pots de 240 cm³, remplis de terreau et éclairés par des néons 16 heures par jour. L'arrosage se fait régulièrement avec de l'eau.

Les prélèvements et les dosages sont réalisés sur des plantules de trois semaines (stade 4 feuilles).

✓ *Application du stress osmotique au laboratoire.*

Les racines des plantes sont rincées et mises dans de l'eau pendant 24 heures, puis dans des solutions de PEG à différentes concentrations (1% et 5%), pour les plantules stressées, alors qu'on laisse les racines des plants témoins dans l'eau.

Les prélèvements sont effectués toutes les 6, 24 et 48 heures, pour chaque variété et chaque concentration de PEG.

✓ *Croissance en serre*

Nous avons plantés des graines germées dans de grands pots d'un volume de 15,12 litres, contenant un mélange de terre et de fumier, disposés dans une serre afin de pouvoir contrôler les conditions externes. Les pots sont arrosés régulièrement pendant les premiers mois de mise en culture.

✓ *Application du stress hydrique par arrêt d'arrosage en serre.*

A partir du quatrième mois de mise en culture (plantes au stade levé), les pots sont séparés en deux lots

- Un premier lot de plantes témoins arrosées régulièrement (chaque deux jours),
- un deuxième lot de pots non arrosés, qui représente les plantes stressées par arrêt d'arrosage.

La croissance de 360 plantes des deux variétés a été suivie et les mesures biométriques réalisées (longueur de la tige).

2- Méthodes utilisées :

2. 1- Au niveau du laboratoire

✓ *Statut hydrique des plantules*

Le statut hydrique des plantules est déterminé par leur teneur relative en eau (TRE) qui est mesurée selon la méthode de Clarke et Mc Caing (1982).

Les quatre premières feuilles de la plantule sont pesées, et le poids obtenu correspond au poids de la matière végétale fraîche (PF). Elles sont ensuite mises dans des tubes à essai contenant de l'eau distillée pendant 24 heures, puis pesées pour avoir le poids à la turgescence (PT). Pour la mesure du poids sec (PS), les feuilles sont placées dans une étuve à 60°C pendant 48 heures

La teneur relative en eau des feuilles est établie selon la formule suivante (Ladigues, 1975):

$$\text{TRE} = \frac{\text{PF} - \text{PS}}{\text{PT} - \text{PS}} \times 100$$

✓ *Mesure de l'ouverture des stomates*

Le diamètre des ostioles est régulé par les conditions externes, nous avons donc mesuré la taille des ostioles des feuilles des deux variétés de colza à différentes concentrations de PEG et à des intervalles de 6, 24 et 48 heures.

Pour l'observation des stomates au microscope photonique, nous avons enduit la face inférieure des feuilles d'une fine couche de verni à ongles. Après deux minutes de séchage à l'air libre, nous avons prélevé délicatement la pellicule de verni sèche contenant les empreintes des ostioles. Cette pellicule est disposée entre lame et lamelle puis observée au microscope photonique.

La mesure de l'ouverture du stomate est réalisée grâce à une lame micrométrique sur 30 stomates pour chaque lame observée.

✓ *Extraction et dosage du malonyldialdéhyde (MDA)*

Le dosage du MDA nous permet donc d'évaluer le degré de peroxydation lipidique dans un tissu végétal.

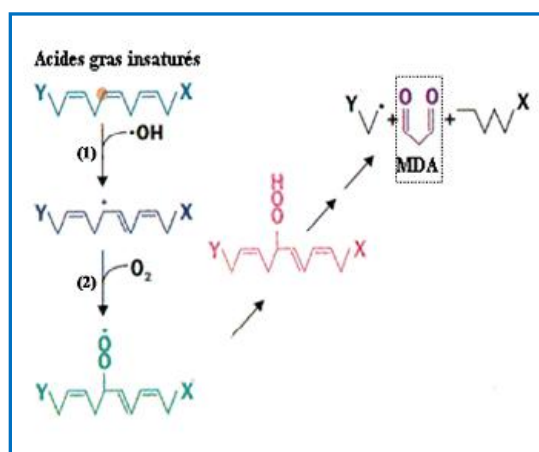


Figure 20 : Formation du MDA

Le malonyldialdéhyde (MDA) est dosée selon la méthode de Heath et Paker (1968).

0.25g de feuilles fraîches sont broyées dans de l'azote liquide. Le broyât est suspendu dans 5 mL d'acide trichloroacétique (5% w/v) contenant 1,25% de glycérol.

L'homogénat est centrifugé à 12 000 trs/min pendant 10 min et filtré sur papier wathman n°1. Les surnageants sont récupérés dans des tubes à essais.

A 2 mL de surnageant sont ajoutés 2 mL d'acide thiobarbiturique à 0.67% ; l'ensemble est mélangé au vortex, puis les échantillons sont chauffés 30 min au bain Marie à 100°C, refroidis dans de la glace puis centrifugés pendant une minute (pour éliminer la turbidité).

L'absorbance est mesurée à 532nm puis à 600nm. Pour éliminer l'absorbance non spécifique, l'absorbance lue à 532nm sera soustraite à celle lue à 600nm.

La quantité de MDA est calculée en utilisant un coefficient d'extinction molaire de $155 \text{ nM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$, selon la loi de Lambert-Beer :

$$\text{Abs} = \epsilon \times L \times [C]$$

Abs : la valeur de l'absorbance.

ϵ : le coefficient d'extinction molaire.

L : le trajet parcouru (ou largeur de la cuve = 1 cm).

[C]: La concentration.

✓ *Extraction et dosage des pigments foliaires*

Les quatre premières feuilles sont broyées à sec puis dans 10 mL d'acétone à 80% à froid. Le broyat est centrifugé à 3000 trs/min, le surnageant qui contient les pigments est récupéré.

L'absorbance est lue aux longueurs d'ondes suivantes après étalonnage du spectrophotomètre avec de l'acétone à 80%

$\lambda_a = 647\text{nm}$ et $\lambda_b = 663\text{nm}$ pour les chlorophylles *a* et *b*

Les teneurs en chlorophylles et en caroténoïdes sont déterminées selon les équations de Lichtenthaler (1987) :

$$\begin{aligned} \text{Chla} &= 12.25 \text{ DO}(\lambda_b) - 2.79 \text{ DO}(\lambda_a) \text{ } \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1} \\ \text{Chlb} &= 21.5 \text{ DO}(\lambda_a) - 5.1 \text{ DO}(\lambda_b) \text{ } \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1} \end{aligned}$$

Les teneurs en pigments foliaires sont exprimées en $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de matière végétale sèche. Trois extractions ont été réalisées pour chaque point expérimental.

✓ *Extraction et dosage des sucres solubles et de l'amidon*

Les quatre feuilles fraîches de chaque individu sont broyées dans 10 mL d'éthanol à 80% bouillant. Après agitation, le mélange est centrifugé à 5000 trs/min pendant 20 min. Le surnageant contenant les sucres solubles est récupéré et conservé. Deux autres extractions sont réalisées à l'aide de 5 mL d'éthanol à 80% bouillant. Les trois surnageant obtenus contenant les sucres solubles sont mélangés dans une fiole et ajustés à 20 mL avec de l'eau distillée.

L'amidon contenu dans le culot est dilué dans 5 mL d'eau distillée et hydrolysé par 6.5 mL d'acide perchlorique à 60%. Le mélange est incubé au froid pendant 24 heures pour une hydrolyse complète de l'amidon, puis centrifugé à 5000 tr/min pendant 20 minutes. Le surnageant est récupéré dans une fiole et il est ajusté à 50 mL avec de l'eau distillée.

Le dosage des glucides est déterminé par la méthode de McCready et *a.l.*, (1950).

Elle présente la faculté de doser à la fois les sucres solubles et d'estimer la quantité d'amidon ramenée à sa juste valeur, par utilisation d'un facteur de correction qui est de 0.9.

A chaud, les acides concentrés provoquent une déshydratation des monosaccharides par départ de molécules d'eau à partir des groupements alcools des oses, avec formation d'hétérocycles : ce sont les dérivés furfuraux. Le 5 hydroxyméthyl furfural formé se condense avec la forme tautomère de l'antrone, l'antranol. La condensation entraîne la formation de complexes vert-bleu.

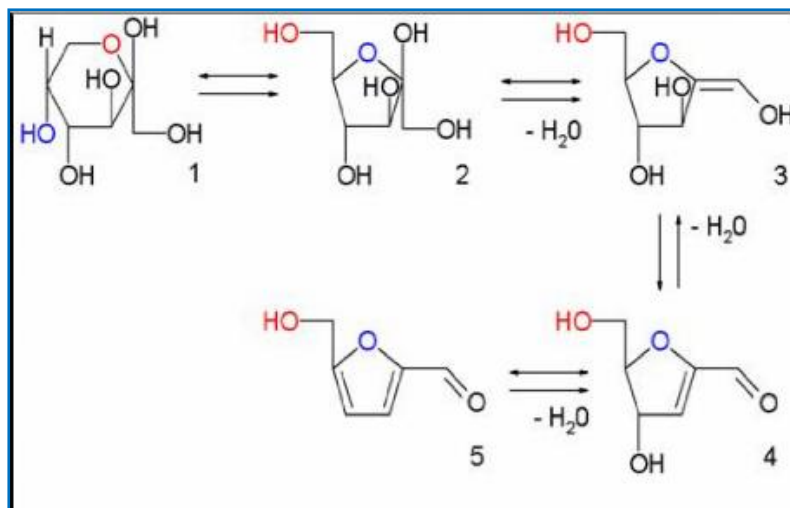


Figure 21 : processus de formation de l'hydroxyméthyl furfural

Après agitation du mélange au vortex, les tubes sont mis au bain marie à 100°C pendant 7 min, une coloration bleu-vert apparaît. Après refroidissement, les densités optiques sont lues au spectrophotomètre à la longueur d'onde de 630 nm.

La courbe étalon est préparée à partir de solution mère de glucose à 200 µg.mL⁻¹. Les dilutions préparées varient de 0 à 100 µg.mL⁻¹

[Sucres solubles] $\mu\text{g.mL}^{-1}$	0	20	40	60	80	100
DO	0	0,312	0,439	0,505	0,624	0,877

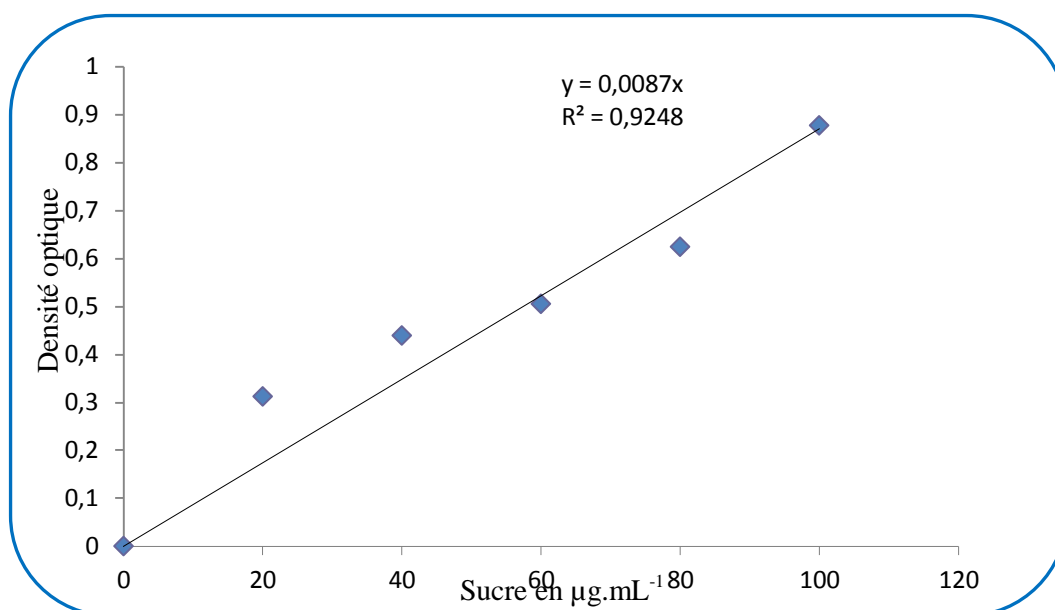


Figure 22 : Courbe étalon des sucres (densité optique lue a $\lambda = 630\text{nm}$)

✓ *Extraction et dosage de la proline*

La proline est dosée selon la méthode de Troll et Lindsay (1955), simplifiée par Bates *et al.*, (1973).

La proline réagit avec la ninhydrine en milieu acide et à chaud en donnant un composé de couleur rouge orangé, soluble dans des solvants organiques (toluène, benzène). Le réactif est préparé à partir de : 1,25 g de ninhydrine, 30 mL d'acide acétique glacial, 7,5 mL d'acide orthophosphorique et 12,5 mL d'eau distillée

50 mg de matière végétale fraîche sont broyées, dans un mortier, en présence d'azote liquide jusqu'à obtention d'une poudre à laquelle 6mL de méthanol sont ajoutés. Après agitation du mélange au vortex, l'ensemble est placé au bain marie a 60°C pendant 45 minutes. Pour éviter toute évaporation, les tubes contenant l'extrait sont fermés hermétiquement.

A 0,5 mL du surnageant, sont ajoutés 1 mL d'acide acétique glacial et 1 mL de réactif à la nynhydrine. Après agitation du mélange au vortex, l'échantillon est porté pendant 15 minutes au bain marie à 100°C , une coloration rose apparaît. Après refroidissement des tubes, 5 mL de toluène sont ajoutés ainsi qu'une pincée de NaCl pour éliminer l'eau résiduelle. Le mélange est agité au vortex. Les tubes sont fermés hermétiquement.

Après 24 heures de décantation, deux phases apparaissent ; la phase organique supérieure (toluène) renferme la proline.

La teneur en proline est déterminée par spectrophotométrie. La densité optique est mesurée à $\lambda = 515 \text{ nm}$.

La courbe étalon est réalisée à partir de solutions de concentrations croissantes en proline préparées à partir d'une solution mère de 2mM

[Proline] m mole.L ⁻¹	0	0,25	0,5	0,75	1	1,25	1,5	1,75	2
DO	0	0,154	0,263	0,317	0,400	0,484	0,665	0,742	0,886

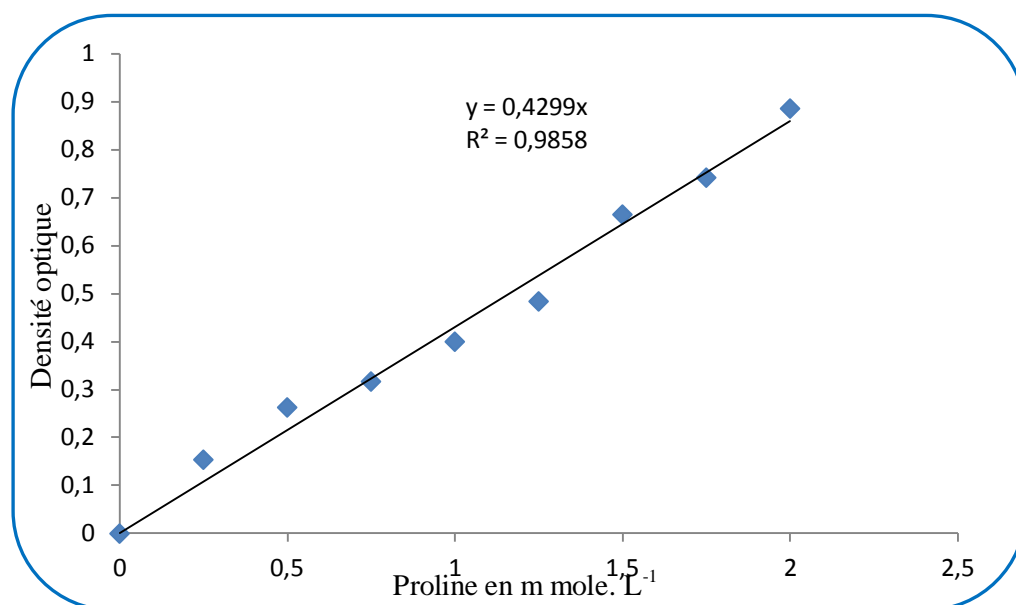


Figure 23 : Courbe étalon de la proline (densité optique lue à $\lambda = 515 \text{ nm}$)

✓ *Extraction et dosage de la glycine bétaine (GB)*

0.5 g de matière végétale sèche est mis dans un tube à essai contenant 20mL d'eau déionisée puis et agité pendant 24 heures à 25°C.

Le filtrat est récupéré et dilué par du H₂SO₄ (2N), volume à volume.

0.5 mL de la solution acide sont prélevés, versés dans des tubes à centrifugation puis mis dans de la glace. 0.2mL de réactif de KI/I₂ sont ajoutés. Les tubes sont stockés à 4°C pendant 16h puis centrifugés à 10 000 trs/min pendant 15 min à 0°C. Le réactif KI/I₂ est préparé comme suite : 4 g de KI et 3,14 g de I₂ sont dissouts dans 20 mL d'eau déionisée

Le surnageant est récupéré et les cristaux sont dissouts dans 9 mL de 1,2 dichloroéthane et les tubes sont agités au vortex.

Après 24 heures, on procède à la lecture au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 365nm.

La courbe étalon est préparée à partir de solution mère de glycine bétaine à 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Les dilutions préparées varient de 0 à 400 $\mu\text{g.mL}^{-1}$

[Glycine bétaine] $\mu\text{g.mL}^{-1}$	0	50	100	150	200	250	300	350	400
DO	0	0,04	0,06	0,07	0,12	0,12	0,14	0,16	0,18

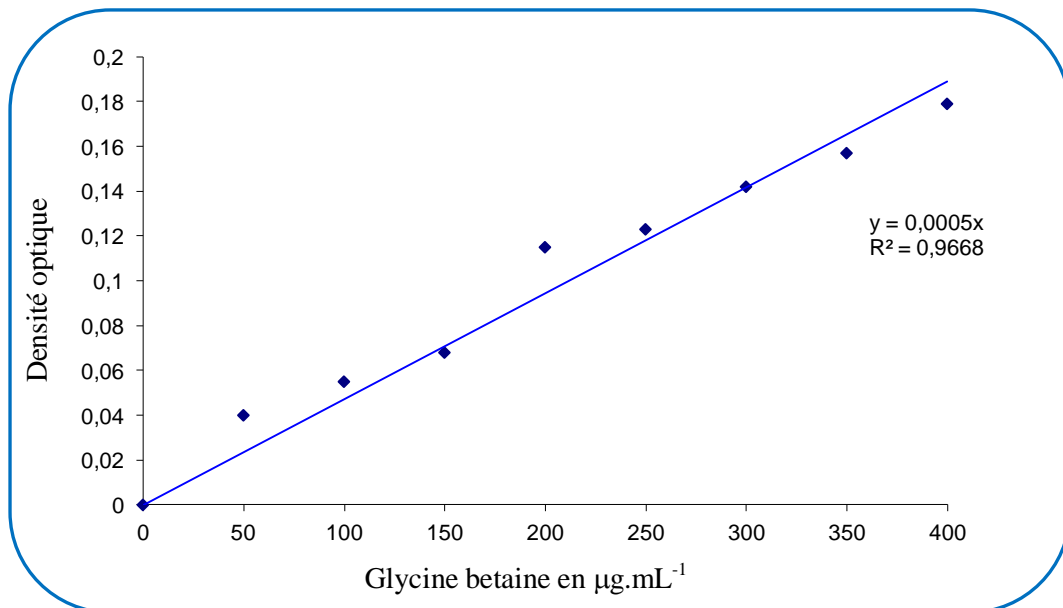


Figure 24 : Courbe étalon de la glycine bétaine (densité optique lue à $\lambda = 365\text{nm}$)

2.2- Au niveau de la serre

✓ *Mesures biométriques*

Les graines germées des deux variétés sont mises séparément dans de grands pots disposés dans une serre. L'arrosage des pots se fait tous les deux jours pendant 3 mois.

Les plantes passent par un stade rosette puis au bout de 3 mois commencent à se dresser et à donner des boutons floraux.

20 jours après le début du stade levé, nous avons séparé les plantes de chaque variété en deux lots :

Un premier lot de plantes témoins arrosées régulièrement (chaque deux jours)

Un deuxième lot de plantes stressées non arrosée

La mesure de la longueur de la tige est effectuée sur toutes les plantes, tous les 3 jours. Ces mesures ont commencé lorsque les plantes ont atteint une longueur de 10 cm et jusqu'à la formation des siliques.

✓ *Le rendement*

Après fécondation, les fleurs donnent des siliques contenant des graines. La maturité de ces siliques n'étant pas synchrone, elles sont récoltées au fur et à mesure de leur maturation. Nous avons donc procédé à une récolte sélective qui ne touche que les siliques matures laissant ainsi le temps aux jeunes pour mûrir.

L'ensemble de graines ainsi récoltées pour chaque variété est pesé ; le poids moyen des graines est déterminé sur 30 graines pesées séparément, on obtient ainsi une approximation du nombre de graines récoltées pour chaque variété.

1- Influence du stress hydrique sur la physiologie du Colza

1.1- Influence du stress osmotique sur la germination

Des solutions de PEG₆₀₀₀ de concentrations croissantes (0%, 2,5%, 5%, 7,5%, 10%, 20%, 30% et 40%), induisant des potentiels osmotiques de 0, -0,17, -0,45, -0,84, -1,34, -4,48, -9,40 et -16,09 bars, ont été utilisées pour induire les différents niveaux de stress osmotique testés.

Pour les concentrations de PEG inférieures à 40%, les graines des deux variétés présentent une cinétique de germination sigmoïde, avec une phase de latence, une phase exponentielle et un plateau. (Figure 25).

Le temps de latence augmente avec la concentration en PEG ; il est de 9, 21 et 33 heures pour des pressions osmotique respectives de -1,34, -4,48 et -9,40 bar.

Un plateau optimal avoisinant les 100% de germination est atteint presque simultanément après 36 heures de mise en germination, chez les deux variétés et pour des pressions osmotiques des solutions d'imbibition inférieures ou égales à -4,48 bar. La pression osmotique du milieu externe est moins importante que celle du milieu interne favorisant ainsi une circulation d'eau depuis l'extérieur vers l'intérieur des graines pour permettre une germination maximale.

Pour une concentration de 30 % de PEG, la pression osmotique est de -9,40 bar et le taux de germination atteint un maximum de 40% après 72 heures d'expérimentation pour les graines des deux variétés. Le PEG étant un polymère hautement hydrophile, va emprisonner une plus grande quantité d'eau ce qui augmente la pression osmotique du milieu externe et qui réduit considérablement la circulation de l'eau depuis la solution vers le milieu interne de la graine, réduisant ainsi le pouvoir germinatif; le taux de germination reste faible.

Lorsque le potentiel hydrique des solutions d'imbibition est abaissé par l'addition de PEG, la pression osmotique des solutions augmente et l'eau n'entre pas dans la graine. A -16,09 bars, la pression osmotique de la solution d'imbibition est trop forte, les graines des deux variétés ne sont pas suffisamment imbibées, et la capacité germinative est nulle.

La germination des deux variétés n'est pas significativement affectée par des concentrations en PEG engendrant des potentiels hydriques inférieurs à -4,48bar. Le temps moyen de germination est le même chez les deux variétés et les différences de taux de germination entre les variétés ne sont pas significatives.

Cependant une différence hautement significative entre les semences témoins et les semences soumises à un stress osmotique de -9,40 bar est observée chez les deux variétés. Dès l'application d'un stress osmotique de -9,40 bars, la capacité germinative est significativement réduite.

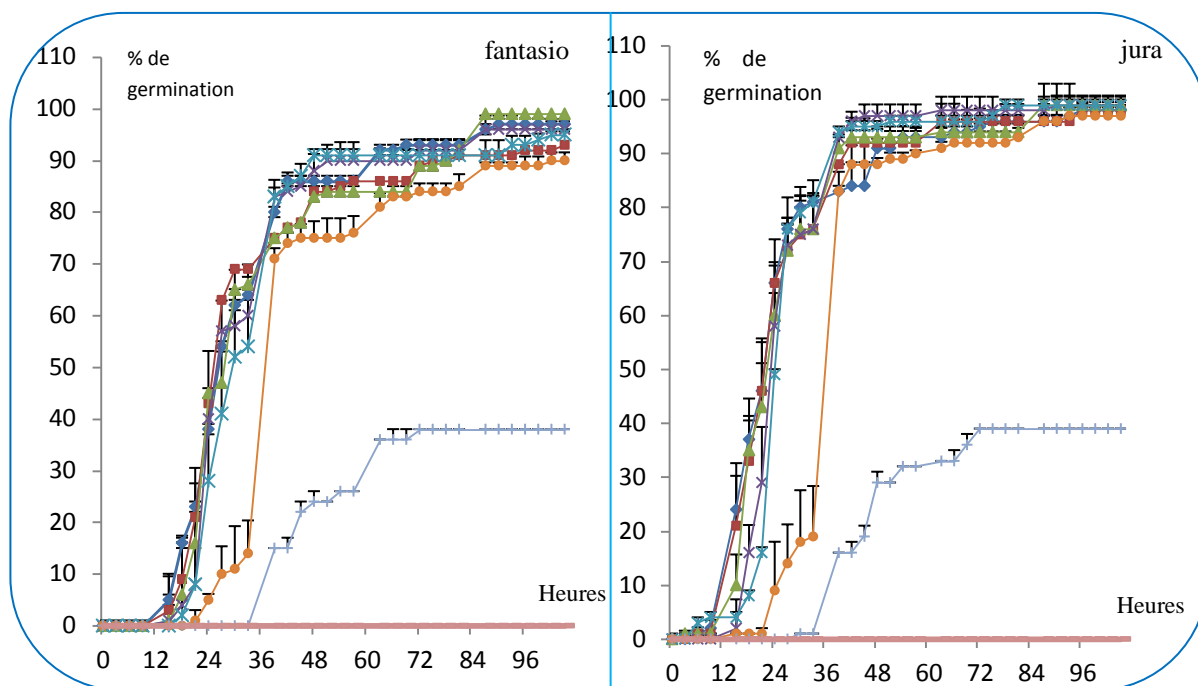


Figure 25: Effet d'un stress osmotique provoqué par différentes concentrations de PEG sur la germination des graines de colza variété fantasio et jura (Chaque point représente la moyenne de 3 répétitions).

—●— 0, —■— -0,17, —▲— -0,45, —✕— -0,84, —✱— -1,35, —●— -4,48, —✚— -9,40, —— -16,09

Les résultats relatifs à l'effet du stress osmotique sur la germination montrent que les semences des deux variétés de colza résistent bien à des pressions osmotiques inférieures ou égales à -4,48 bars. Au de-là de cette valeur, plus la pression osmotique est élevée, plus le taux de germination diminue et le temps moyen de germination augmente.

La valeur limite du potentiel pour laquelle la totalité des graines ne germe plus se situe entre -9,40 et -16,09 bars.

La germination est considérée comme étant une étape critique dans le cycle de développement de la plante. En effet, elle conditionne la croissance et le développement de la plante, et probablement sa productivité ultérieure. (Tremblin et Binet., 184). La résistance de la germination à des conditions de stress est un facteur important dans l'établissement des espèces (Mc William et *al.*, 1970 ; Boydston., 1989).

Les espèces tolérantes au stress hydrique au cours de la germination ne sont pas nécessairement celles qui sont les plus adaptées à la sécheresse au stade adulte (Mc Ginnies., 1960).

1.2- Effets du stress osmotique sur les plantules de colza.

Les plants de colza des deux variétés fantasio et jura sont soumis à un stress osmotique provoqué par la présence de molécules de PEG₆₀₀₀ à des concentrations de 0%, 1% et 5%, correspondant respectivement aux pressions osmotiques de 0, -0,05 et -0,45 bars.

1.2.1- Effets du stress osmotique sur la teneur relative en eau (TRE) et sur l'ouverture des stomates

1.2.1.1 – Teneur relative en eau

La teneur relative en eau est mesurée sur les quatre premières feuilles des jeunes plants des deux variétés. La mesure de la TRE a été réalisée pour chaque heure de prélèvement et pour chaque concentration de PEG.

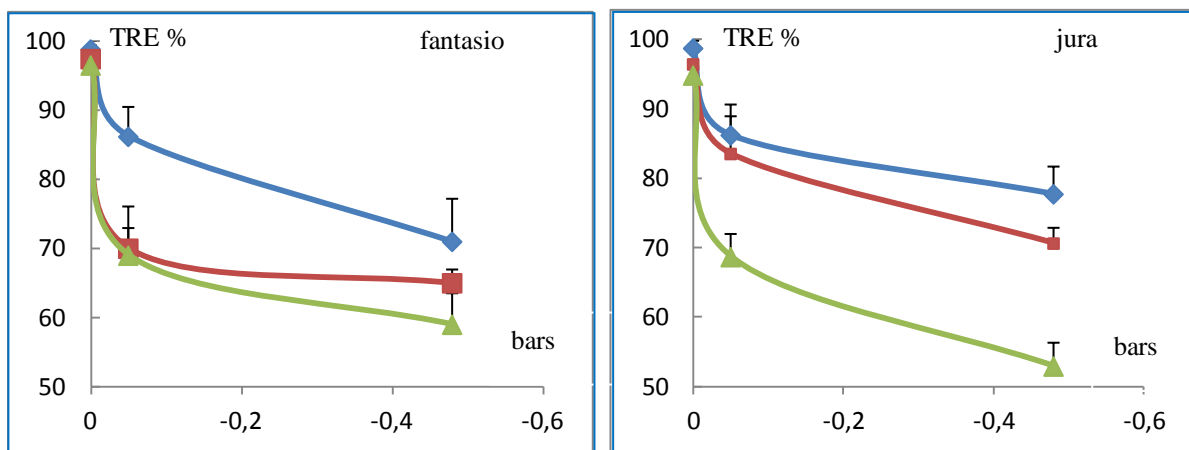


Figure 26 : Évolution de la teneur relative en eau des feuilles témoins et stressées des deux variétés en fonction de l'intensité du stress (chaque point représente la moyenne de 3

répétitions) — 6h — 24h — 48h

Pour les plants témoins, la TRE reste constante et supérieure à 95%, chez les deux variétés.

Chez la variété fantasio, la TRE est de $86,19 \pm 4,34\%$ après 6 heures d'expérimentation lorsque la pression osmotique de la solution est de -0,05 bars, cette valeur va baisser considérablement pour atteindre $70,00 \pm 6,12\%$ après 24 heures de stress. La TRE se stabilise à $69,00 \pm 4,00\%$ après 48 heures de stress.

La TRE chute considérablement et atteint $71,00 \pm 6,24$ pour la variété fantasio après 6 heures de stress lorsque la pression osmotique de la solution est de -0,48 bars. Cette valeur va diminuer progressivement pour atteindre $65,00 \pm 2,00\%$ après 24 heures, puis $59,00 \pm 4,56\%$ après 48 heures d'expérimentation. Cette diminution de la TRE reste faible mais significative.

Chez la variété jura, la TRE est stable durant les premières 24 heures d'expérimentation lorsque la pression osmotique de la solution est de -0,05 bars ($83,00 \pm 5,43\%$). Cette valeur va chuter significativement après 48 heures pour atteindre $68,00 \pm 3,34\%$.

La TRE est de $77,00 \pm 4,00\%$ après 6 heures pour des pressions osmotiques de -0,48 bar, puis elle diminue pour atteindre $70,00 \pm 2,27\%$ après 24 heures. La TRE chute ensuite considérablement après 48 heures d'expérimentation pour atteindre $52,00 \pm 3,43\%$.

Chez les plantes stressées, la TRE va baisser considérablement au cours du temps d'expérimentation. La pression osmotique du milieu extérieur fait diminuer la teneur en eau chez la plante toute entière (Slayter., 1974 ; Sairam et *al.*, 2001)., entraînant donc, une diminution de la mobilité des éléments nutritifs. Il y a aussi diminution du volume du milieu aqueux où se passent les réactions biochimiques qui assurent le meilleur développement de la plante. L'effet dépressif de la carence en eau sur l'état hydrique de la plante peut être irréversible, si la période de stress est prolongée, entraînant la mort de la plante (El Mourid., 1996 ; Samir., 1993 ; Casals., 1996).

La perception de la contrainte hydrique n'est pas la même chez les deux variétés. Lorsque la pression osmotique des solutions est de -0,05 bars, la variété jura présente au début du stress une meilleure résistance et la TRE ne baisse réellement qu'après 24 heures de stress contrairement à la variété fantasio. Lors d'un stress plus important, (-0,48 bars), c'est la variété fantasio qui présente une meilleure résistance, avec des TRE plus importante que chez la variété jura, durant toute la durée de l'expérimentation.

La diminution de la TRE est plus rapide chez les variétés sensibles que chez les variétés résistantes (Scofield et *al.*, 1988). Une TRE élevée dans des conditions de stress a été observée chez le soja (Zeghida et *al.*, 2004). Les génotypes qui maintiennent une TRE élevée plus longtemps en présence de stress hydrique sont en général des génotypes tolérants Nouri., (2002).

1.2.1.2- Effets du stress osmotique sur l'ouverture des stomates

La longueur moyenne des stomates chez les deux variétés est de $50 \mu\text{m} \pm 2 \mu\text{m}$ (mesurée sur 100 stomates).

L'ouverture ou la fermeture des stomates est due à une déformation des cellules de garde. Ce modèle est confirmé par la différence « $T_g - T_e$ » entre la pression de turgescence des cellules de garde et celles des cellules épidermiques voisines.

Si $T_g - T_e \leq 0$, les cellules de garde sont comprimées et l'ostiole est fermé

Si $T_g - T_e > 0$, l'ostiole est ouvert par gonflement des cellules de gardes.

Le degré de fermeture et d'ouverture des stomates varie avec les espèces (Gharti et Lales., 1990). Le principe de fonctionnement des stomates repose essentiellement sur

les variations du potentiel de turgescence dans les cellules de garde. Celles-ci sont déterminées par de nombreux facteurs dont certains sont liés à l'environnement et d'autres à la plante elle-même (Ben Naceur., 1994).

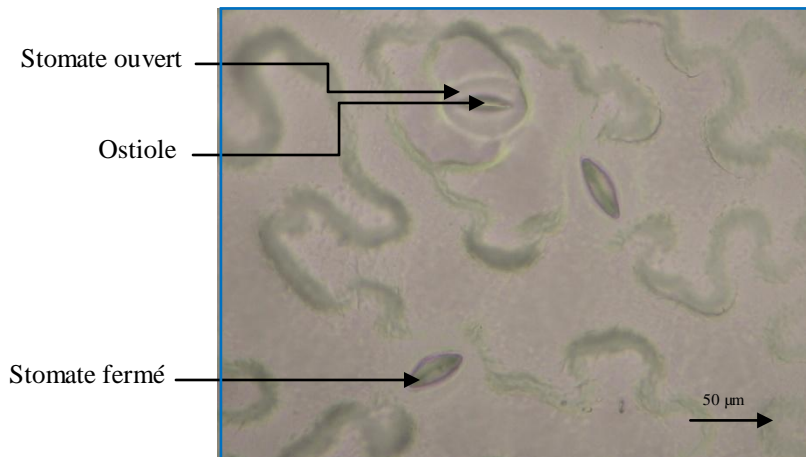


Figure 27 : Photo de stomates de colza observés au microscope photonique (Grossissement G x 40)

Dans cette étude (Figure. 28), les stomates restent ouverts chez les plants témoins des deux variétés étudiées ; toutefois, l'ouverture des stomates chez la variété fantasio est plus importante que chez la variété jura. Chez la variété fantasio, l'ouverture stomatique est de $9,0 \pm 0,1 \mu\text{m}$ à $7,0 \pm 0,5\mu\text{m}$ pour des TRE respectives de 98% et de 96%. Alors que chez la variété jura, elle est de $6,0 \pm 0,3\mu\text{m}$ à 98% de TRE, et diminue pour atteindre $4,0 \pm 0,7\mu\text{m}$ à 90% de TRE.

Le rythme de la transpiration est affecté par des facteurs extérieurs et peut être calculé à partir de données climatiques (rayonnement solaire, degré de saturation de l'air en vapeur d'eau et vitesse du vent). L'eau transpirée par les feuilles est d'autant plus importante que l'ambiance climatique est élevée. Lorsque la plante n'est pas bien alimentée en eau, sa TRE baisse et la réponse immédiate consiste en la fermeture des stomates afin de ralentir la transpiration. L'intensité de fermeture des stomates est directement liée aux variations de la TRE.

Chez les plants stressés des deux variétés, une réduction de l'ouverture stomatique, voire une fermeture complète fortement liée à la diminution de la TRE est observée.

Chez la variété fantasio et pour une TRE de 80%, l'ouverture des stomates est réduite à $3,0 \pm 0,2 \mu\text{m}$, et la fermeture totale des stomates est observée à une TRE de 60%. Chez la variété jura, la fermeture des stomates est plus précoce, elle est réduite à $2,0 \pm 0,2 \mu\text{m}$ lorsque la TRE est de 86%. La fermeture totale des stomates est atteinte à une TRE de 68% seulement.

La diminution progressive de la teneur relative en eau des feuilles provoque une fermeture graduelle des stomates chez les deux variétés de Colza ; chez la variété jura, la fermeture des stomates est plus rapide et plus sensible à la baisse de la TRE.

La diminution du potentiel hydrique sous l'effet du stress osmotique induit par le PEG, provoque la fermeture graduelle des stomates. La fermeture et la rapidité de fermeture des stomates dépendent de l'intensité du stress osmotique induit pas la concentration de PEG, mais aussi de la perception de la contrainte hydrique par la plante. Elle varie au sein d'une même espèce et d'une variété à une autre (Richards., 2006 ; Casadebaig., 2008)

Lors de nos expérimentations, une fermeture des stomates proportionnelle à la concentration de PEG a été observée. En conditions de contrainte hydrique, les stomates se ferment pour diminuer les pertes d'eau. Cette fermeture se traduit par une diminution de la conductance stomatique. (Chartzoulakis *et al.*, 1999 et Giorio *et al.*, 1999).

La conductance stomatique est affectée par les teneurs en eau dans le sol, elle est maximale pour un sol à 45-60% de sa capacité au champ (Clavet., 2000 ; Stern *et al.*, 1998 ; Lu et Zhang., 1999)

La sensibilité à la baisse de la TRE est plus importante chez la variété jura avec une fermeture plus rapide et plus importante des stomates que chez la variété fantasio, ce qui implique une meilleure résistante stomatique chez cette dernière.

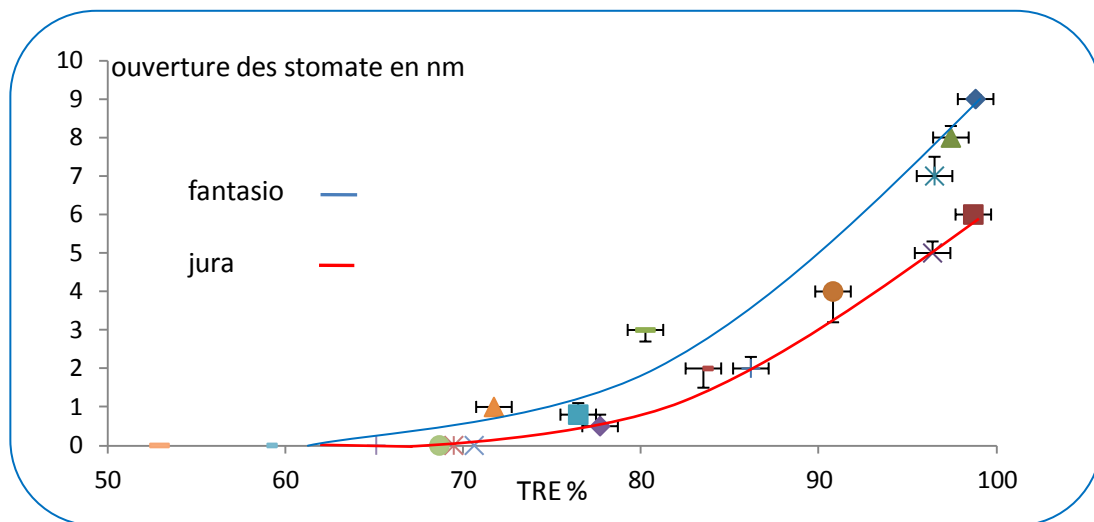


Figure 28 : Taille des stomates au niveau des feuilles des variétés fantasio et jura en fonction de la teneur relative en eau (Chaque point est la moyenne de 30 mesures).

Le degré de fermeture et d'ouverture des stomates varie avec les espèces (Gharti Chhrti et Lales., 1990 ; Ben Naceur., 1994).

Sur de jeunes plants, les stomates sont très sensibles à la sécheresse et se ferment progressivement avec le déficit hydrique foliaire (Dossou *et al.*, 1984).

1.2.1.3 – Discussion

Le stress induit chez les plantes une diminution du contenu relatif en eau (Albouchi *et al.*, 2000). La teneur relative en eau est un bon indicateur de l'état hydrique de la plante sous stress (Clark et Mac-Caig., 1982).

La sécheresse «vécue par la plante» se définit par les conditions physiques de l'environnement immédiat de la plante : demande évaporative de l'air au niveau des feuilles et disponibilité de l'eau dans le sol au contact des racines (Tardieu *et al.*, 2006). L'état hydrique d'une plante est directement lié à la différence entre le flux d'eau entrant par les racines et celui qui s'échappe par les feuilles au même instant (Tardieu *et al.*, 2006). Ce flux d'eau traversant la plante est conditionné à la fois par les conditions physiques de l'environnement de la plante (température, vent.), mais également par le contrôle « biologique » exercé par la plante sur le flux d'eau via la fermeture des stomates.

Une corrélation positive a été signalée entre la transpiration et l'état hydrique de la plante (Shiya., 1991; Behboudian et Lawes., 1995), ainsi qu'entre la TRE et le nombre de feuilles quelles que soient les conditions hydriques (Teulat *et al.*, 1997). La régulation de la conductance stomatique reste le mécanisme majeur intervenant à court terme pour limiter les pertes d'eau. Le potentiel hydrique foliaire sera maintenu d'autant plus longtemps que la fermeture des stomates est précoce. Celle-ci peut intervenir à des potentiels hydriques foliaires différents en fonction du génotype (Mojayad et Planchon., 1994) et du stade de développement (Morizet et Merrien., 1990). Une fermeture stomatique complète au bout de 6 jours de contrainte hydrique est obtenue chez *Vigna* et *Phaseolus* (Vasquez., 1989). Une relation linéaire a été établie entre la conductance stomatique et le potentiel hydrique pour des valeurs de potentiel hydrique comprises entre - 2 et -4 MPa chez le caroubier (Herwitz *et al.*, 1988).

Chez les deux variétés de colza, la teneur en eau des feuilles diminue considérablement après instauration du stress osmotique. Cette baisse proportionnelle à l'intensité du stress s'accompagne par une importante réduction de l'ouverture stomatique, puis une fermeture totale des stomates. Par ailleurs, selon la variété, nous avons pu mettre en évidence des différences dans la pente de corrélation entre le statut hydrique et l'ouverture stomatique indiquant une sensibilité différente aux variations de potentiel hydrique. Chez la variété jura, la fermeture stomatique rapide pourrait être un critère d'une meilleure adaptation à la sécheresse, permettant à la plante d'économiser l'eau disponible et de maintenir une teneur en eau des tissus élevée et aussi une certaine sensibilité à la déshydratation qui accélère le mouvement de fermeture des stomates pour minimiser les pertes d'eau par évapotranspiration. Au contraire une fermeture stomatique moins rapide chez la variété fantasio, peut traduire

une certaine tolérance à la déshydratation qui peut être accompagnée d'un ajustement osmotique. Ces capacités d'ajustement existent chez le caroubier (Nunes et *al.*, 1989).

1.2.2- Effet du stress osmotique sur la teneur en chlorophylles *a* et *b*

Une augmentation de la teneur en chlorophylles *a* et *b* des feuilles proportionnelle à la diminution de la teneur relative en eau est observée chez les deux variétés. Cette accumulation est plus régulière et plus importante chez la variété jura.

Chez la variété fantasio, l'augmentation de la teneur en chlorophylle *a* est rapide et régulière. Elle est de $1,33 \pm 0,58 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, $5,36 \pm 1,03 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, $13,75 \pm 2,11 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ et $21,48 \pm 4,97 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ pour des TRE respectives de 98%, 96%, 76% et 69%. Lorsque le stress est important (TRE de 59%), le taux de chlorophylles *a* est de $24,07 \pm 0,07 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$.

L'accumulation de la chlorophylle *a* chez la variété jura est pratiquement constante et plutôt faible ($6,36 \pm 2,08 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) lorsque le stress est faible (TRE supérieure à 80%). Puis une augmentation brutale du taux de chlorophylles *a* est observée. Elle passe à $13,07 \pm 0,98 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ et $14,85 \pm 0,45 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ pour des stress moyens (70% et 68% de TRE). Un pic d'accumulation de $31,44 \pm 1,03 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ est obtenue lorsque le stress est important (TRE de 52%).

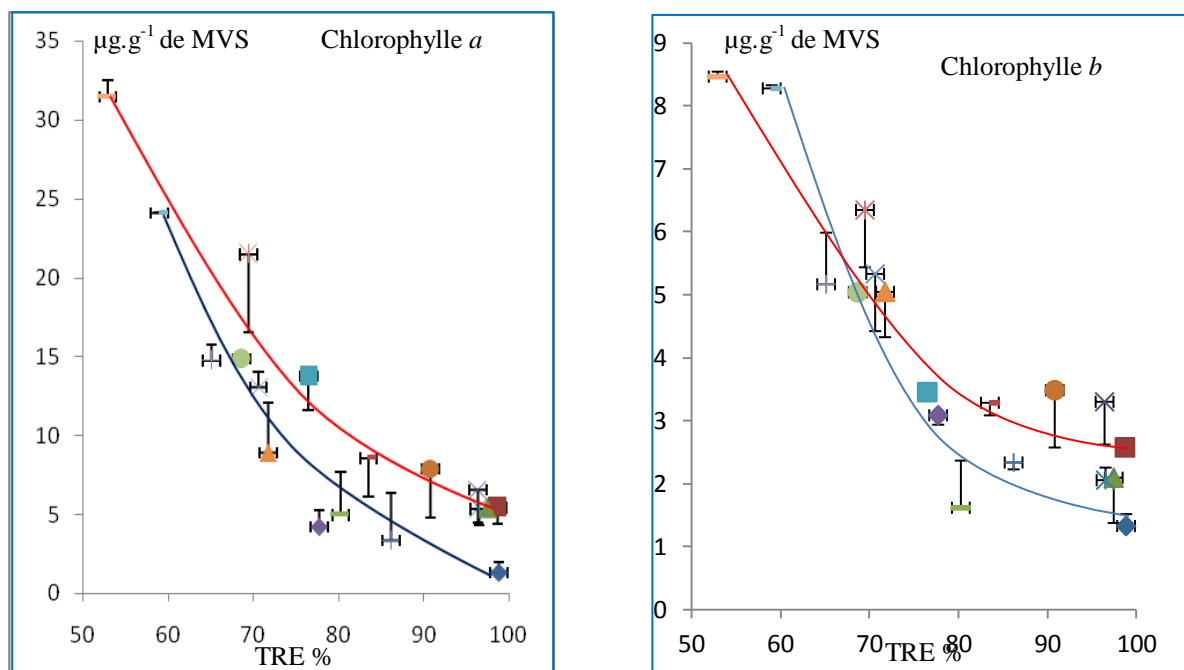


Figure 29: Évolution de la teneur en chlorophylles *a* et *b* des feuilles témoins et stressées, des variétés fantasio — et jura — en fonction de la teneur relative en eau (chaque point représente la moyenne de 3 répétitions).

L'analyse de la chlorophylle (*a*) illustrée à la figure (29), montre qu'elle est d'autant plus importante que la teneur relative en eau des feuilles diminue, en particulier chez la variété jura.

Chez les plantes bien hydratées de la variété fantasio, le taux de chlorophylle *b* ($1,13 \pm 0,19 \mu\text{g.g}^{-1}$), est plus faible que celui chez la variété jura ($2,58 \pm 0,06 \mu\text{g.g}^{-1}$). Le taux de chlorophylle *b* augmente légèrement pour atteindre $1,66 \pm 0,75 \mu\text{g.g}^{-1}$ chez fantasio, et $3,28 \pm 0,20 \mu\text{g.g}^{-1}$. Chez jura lorsque le stress est faible (TRE de 80% et 83%.)

Avec la poursuite de la baisse de la TRE, l'augmentation du taux de chlorophylle *b* devient plus importante chez les deux variétés. Elle passe à $3,45 \pm 0,15 \mu\text{g.g}^{-1}$, $5,05 \pm 0,72 \mu\text{g.g}^{-1}$ et $6,35 \pm 0,91 \mu\text{g.g}^{-1}$ chez fantasio, et $5,04 \pm 0,06 \mu\text{g.g}^{-1}$ et $5,33 \pm 0,82 \mu\text{g.g}^{-1}$ chez jura lorsque le stress est moyen.

Des pics respectifs de $8,28 \pm 0,08 \mu\text{g.g}^{-1}$ et $8,46 \pm 0,05 \mu\text{g.g}^{-1}$ sont atteints pour fantasio et jura lors d'un stress important (TRE 56% et 52%)

Chez les deux variétés, le stress osmotique induit l'accumulation de chlorophylles *a* et *b* en fonction de la concentration de PEG. Des études précédentes sur des cellules chlorophylliennes de dicotylédones ont montré que la production de chlorophylles augmente sous l'effet d'un stress salin (Winicov et Button., 1991 ; Locy *et al.*, 1996 ; Chang *et al.*, 1997).

Cette augmentation de chlorophylles pourrait être une réponse cellulaire authentique pour contrecarrer les effets du stress osmotique (Winicov et Button., 1991). Une augmentation des chlorophylles et des protéines photosynthétiques a été observée dans les cellules cultivées de la luzerne ; cette augmentation jouerait un rôle important dans la capacité de tolérance au sel de ces cellules (Winicov et Seemann., 1990).

L'augmentation du taux de chlorophylles en réponse à un stress osmotique en condition de stress salin, pourrait être liée au développement du chloroplaste, Chang *et al.*, (1997).

1.2.3- Effets du stress osmotique sur la peroxydation lipidique

Le malondialdéhyde (MDA), est le produit final de la peroxydation lipidique (Heath et Packer., 1968; Loreto et Vejikova., 2001; Sunkar *et al.*, 2003). C'est l'un des produits finaux de la peroxydation des lipides membranaires (Ohkawa *et al.*, 1979; Guichardant *et al.*, 1994). Le dosage de la MDA est un moyen efficace d'évaluer les dommages du stress oxydatif sur la membrane (Shao *et al.*, 2005; Katsuhara *et al.*, 2005).

Pour les deux variétés, le taux de MDA augmente en fonction de la diminution de la TRE. (Figure 30).

Chez la variété fantasio, le taux de MDA reste faible $0,30 \pm 0,11 \text{ mg.g}^{-1}$ lors d'un stress moyen (TRE supérieures à 70%), puis il augmente rapidement pour atteindre $1,89 \pm 0,40 \text{ mg.g}^{-1}$ et $3,83 \pm 0,03 \text{ mg.g}^{-1}$ lorsque le stress est important (TRE 69% et 59%).

Chez la variété jura, l'accumulation de MDA est régulière et importante; elle passe de $0,05 \pm 0,02 \text{ mg.g}^{-1}$ à $0,75 \pm 0,18 \text{ mg.g}^{-1}$ pour des stress faibles (TRE 86% et 83%), puis à $1,785 \pm 0,12 \text{ mg.g}^{-1}$, et $2,69 \pm 0,13 \text{ mg.g}^{-1}$ à des stress moyens (TRE 70% et 68%), ce qui est légèrement supérieur aux taux de MDA de la variété fantasio et pour les mêmes teneurs en eau des feuilles.

A des stress important (TRE de 52%), le taux de MDA chez la variété jura atteint $4,59 \pm 0,01 \text{ mg.g}^{-1}$.

La stabilité du taux de MDA chez la variété fantasio jusqu'à une TRE de 70%, montre que la peroxydation des lipides membranaires n'est pas très importante et qu'elle commence à être importante lorsque le stress devient sévère. Contrairement à la variété jura ou on remarque que le taux de MDA augmente lorsque la TRE diminue très faiblement. La dégradation des lipides membranaires est donc très sensible au stress chez cette variété.

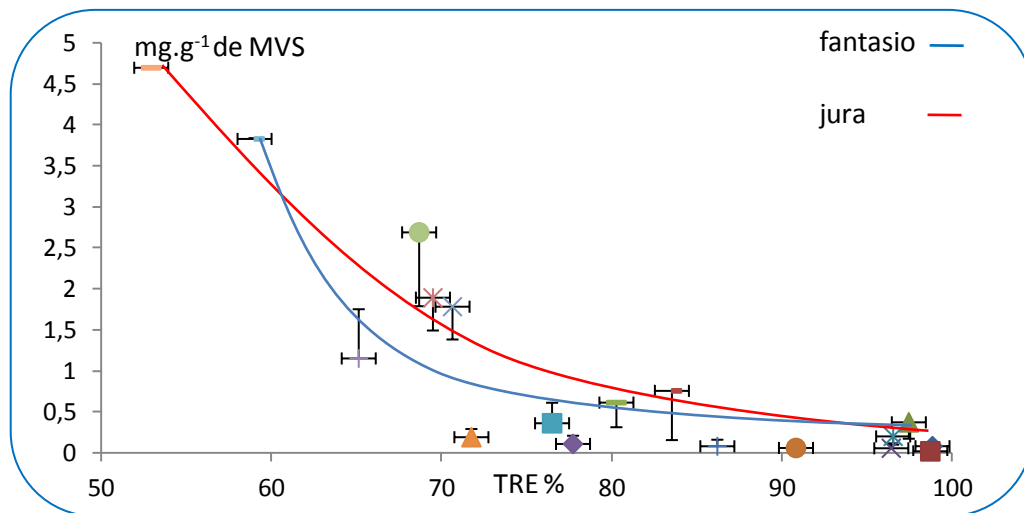


Figure 30 : Evolution de la teneur en MDA des feuilles témoins et stressées de la variété fantasio et jura en fonction de la teneur relative en eau (chaque point représente la moyenne de 3 répétitions).

Avec l'intensification du stress, l'accumulation de la MDA s'intensifie chez les deux variétés. Elle est plus importante chez la variété jura, ce qui implique une plus grande sensibilité membranaire chez cette variété.

L'augmentation de la teneur en MDA met en évidence la présence d'un stress oxydatif au niveau des feuilles de colza.

Le PEG agit comme un agent osmotique ; il va augmenter la pression osmotique dans la solution, provoquant ainsi un stress osmotique et favorisant la formation de radicaux libres ou espèces oxygénées réactives ($^1\text{O}_2$, O_2^- , $\cdot\text{OH}$, H_2O_2 , $\text{HOO}\cdot$), lesquels s'attaquent aux lipides insaturés conduisant à la libération d'hydroperoxydes ($\text{RO}\cdot$, $\text{ROO}\cdot$, $\text{RCOO}\cdot$, etc...) très nocifs pour les constituants cellulaires et en particulier pour

les membranes cellulaires (Thompson *et al.*, 1987; De Vos *et al.*, 1993; Weeks et Clijesters., 1996)

La réduction de la croissance sous l'effet d'un stress salin de différentes variétés de tomates est étroitement associée à une augmentation des niveaux de peroxydation lipidique. Par ailleurs, les variétés tolérantes au sel ont accumulé moins de MDA par rapport aux variétés sensibles (Koca *et al.*, 2007).

La réduction du taux de MDA est un indicateur important de la tolérance au stress, chez les variétés tolérantes au sel de l'orge (Liang *et al.*, 2003), du sorgho (Brankova *et al.*, 2005) et du tabac (Ruiz *et al.*, 2005).

1.2.4- Effets du stress osmotique sur les teneurs en osmolytes

1.2.4.1- Effets du stress osmotique sur les teneurs en sucres solubles et en amidon

1.2.4.1.1- Les sucres solubles

La figure 31 représente la teneur en sucres solubles des feuilles en fonction de la teneur relative en eau (TRE) des feuilles. Pour les deux variétés, une augmentation du taux de sucre proportionnelle à la diminution de la teneur relative en eau des feuilles est observée.

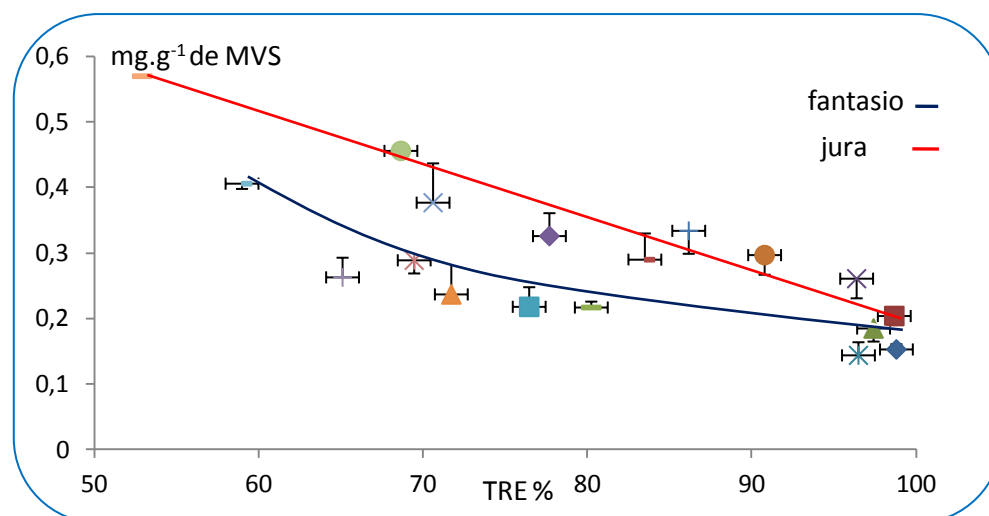


Figure 31 : Evolution de la teneur en sucres solubles des feuilles témoins et stressées de la variété fantasio et jura en fonction de la teneur relative en eau (chaque point représente la moyenne de 3 répétitions)

Chez la variété fantasio, le taux de sucre reste pratiquement stable chez les plantes bien hydratées ($0,180 \pm 0,030$ mg.g⁻¹ MVS), puis augmente légèrement au fur et à mesure de la baisse de la TRE. Il atteint $0,217 \pm 0,072$ mg.g⁻¹ à des stress faibles (TRE de 80%) et $0,238 \pm 0,092$ mg.g⁻¹ à des stress moyens (TRE de 70%).

L'augmentation du taux de sucre devient beaucoup plus importante lors d'un stress sévère (TRE 59%) ; le taux de sucre dans les feuilles va pratiquement doubler atteignant ainsi $0,406 \pm 0,053 \text{ mg.g}^{-1}$ de MVS.

Chez la variété jura, la cinétique est différente. L'augmentation de la teneur en sucre soluble est plus importante et régulière ; elle passe de $0,26 \pm 0,03 \text{ mg.g}^{-1}$ MVS chez les plantes bien hydratées, à $0,33 \pm 0,06 \text{ mg.g}^{-1}$ à des stress faibles (TRE 86%), puis $0,37 \pm 0,08 \text{ mg.g}^{-1}$, à des stress moyens (TRE 70%), pour atteindre $0,57 \pm 0,009 \text{ mg.g}^{-1}$ lorsque le stress est important (53% de TRE).

1.2.4.1.2- Amidon

La figure 32 représente le taux d'amidon des feuilles en fonction de leur teneur relative en eau chez les deux variétés. Une diminution du taux d'amidon proportionnelle à la diminution de la teneur relative en eau des feuilles est constatée

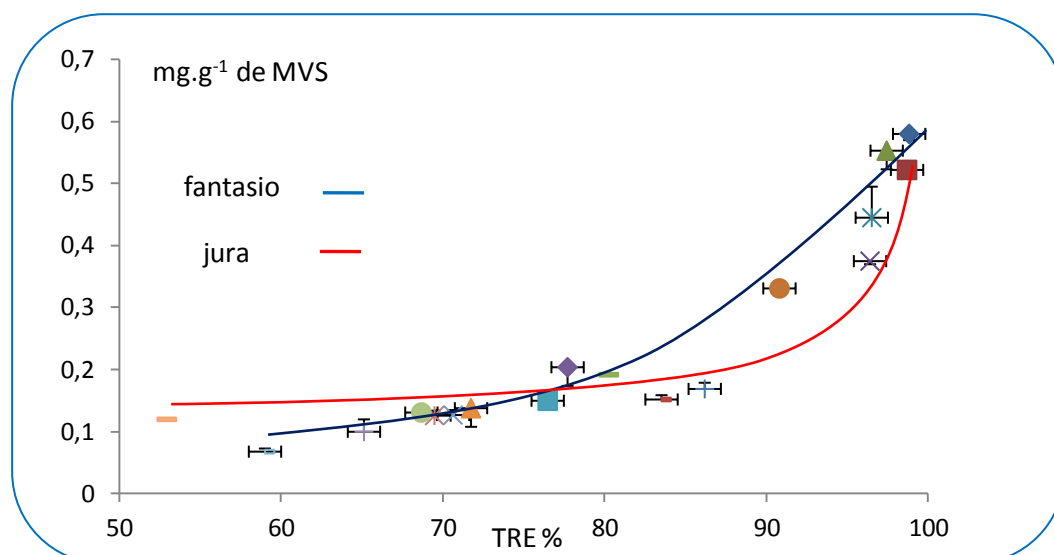


Figure 32 : Evolution de la teneur en amidon des feuilles témoins et stressées de la variété fantasio et jura en fonction de la teneur relative en eau (chaque point représente la moyenne de 3 répétitions)

Chez la variété fantasio, la diminution de la quantité d'amidon est régulière. Le taux d'amidon qui est de $0,52 \pm 0,06 \text{ mg.g}^{-1}$ de MVS chez les plantes bien hydratées, va diminuer progressivement en fonction de la baisse de la teneur en eau des feuilles pour atteindre $0,190 \pm 0,004 \text{ mg.g}^{-1}$ à de faibles stress (TRE 80%), et $0,13 \pm 0,01 \text{ mg.g}^{-1}$ à des stress moyens (TRE 70%). Lorsque le stress est important (TRE 59%), le taux d'amidon est au plus faible ($0,068 \pm 0,006 \text{ mg.g}^{-1}$ de MVS).

Chez jura, la baisse du taux d'amidon est plus brutale, passant de $0,522 \pm 0,003 \text{ mg.g}^{-1}$ chez les plantes bien hydratées, à $0,175 \pm 0,03 \text{ mg.g}^{-1}$ pour des stress moyens (TRE 77%).

La diminution de la teneur en amidon devient ensuite beaucoup plus faible, se stabilisant à $0,126 \pm 0,06 \text{ mg.g}^{-1}$ pour des stress importants (TRE jusqu'à 52%).

➤ Discussion

Les sucres solubles contribuent à maintenir la turgescence cellulaire au cours du stress, et à prévenir la dénaturation des protéines et de la membrane cellulaires (Crowe et *al.*, 1992).

Dans des conditions de sécheresse, la teneur en hexoses augmente dans les feuilles de cotonnier, tandis que celle de l'amidon diminue (Eaton et Ergle., 1948). La sécheresse réduit l'utilisation des glucides par la plante (Eaton et Ergle., 1948 ; Hartt., 1963). Le transfert des glucides en dehors de la feuille était considéré comme une condition nécessaire à l'obtention de rendements photosynthétiques élevés (Humpheries., 1963). La dégradation de réserves amylicées, et l'accumulation de glucides dans les feuilles lors d'une sécheresse, varient avec l'espèce étudiée (Jeremias., 1965)

Avec la diminution de la TRE suite au stress osmotique, la dégradation de l'amidon et l'accumulation des sucres solubles ne se font pas de la même intensité chez ces deux variétés de Colza. C'est la variété jura qui présente une dégradation plus rapide de l'amidon et une meilleure accumulation des sucres (figure : 33).

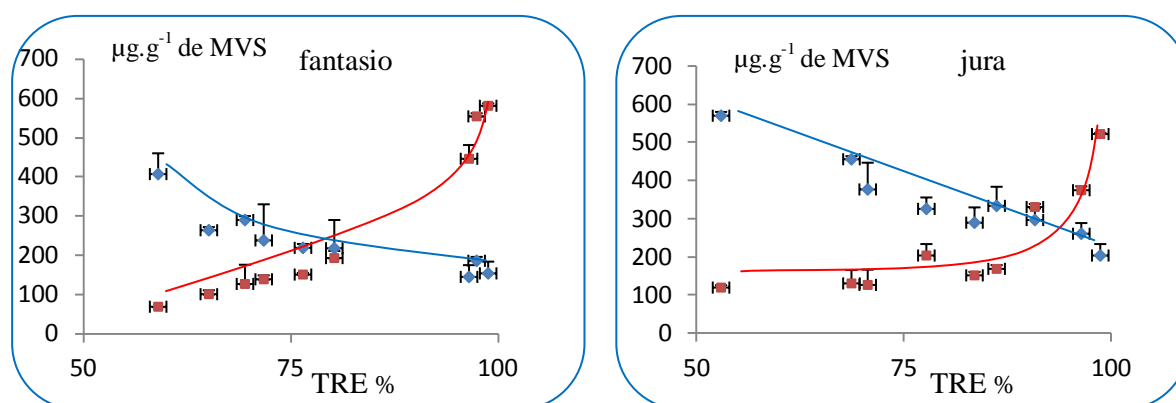


Figure 33 : Evolution de la teneur en sucres solubles — et en amidon — chez les deux variétés de colza en fonction de la TRE

L'augmentation de la teneur en sucres solubles au niveau des deux variétés de colza, pourrait s'expliquer par la vitesse et l'intensité de la dégradation de leurs réserves d'amidon. La conversion de l'amidon en sucres solubles est observée chez les deux variétés de colza, mais elle est beaucoup plus rapide chez la variété jura, chez qui une dégradation de l'amidon brutale est observée suite à une faible diminution de la TRE des feuilles, alors que chez la variété fantasio, la dégradation de l'amidon est progressive et graduelle, suivant la diminution de la TRE. L'accumulation des sucres solubles chez la variété jura est plus régulière et plus intense, elle est sensible à la plus faible diminution de la TRE des feuilles, alors que chez la variété fantasio, l'accumulation des sucres solubles reste faible jusqu'à des TRE de 70%, puis l'augmentation devient plus importante lorsque la TRE chute d'avantage (figure : 33)

La diminution de la teneur relative en eau provoque une diminution importante des réserves amylacées et une augmentation du taux des sucres solubles. Lors d'un stress osmotique, une conversion rapide de l'amidon en sucres solubles est observée.

Chez deux variétés de banane (la banane plantain et la banane dessert), l'existence d'une plus faible hydrolyse de l'amidon chez la banane plantain que chez la banane dessert durant tous les stades de mûrissement a été observée. L'amidon est donc complètement ou suffisamment dégradé chez les bananes de dessert contrairement à la banane plantain d'où des pics plus élevés de teneurs en glucides chez ces premières (Mariott *et al.*, 1981 et par Marchal *et al.*, 1988).

1.2.4.2- La proline

La figure 34, représente l'évolution de la teneur en proline en fonction de la TRE pour les deux variétés de colza. Une augmentation de la teneur en proline proportionnelle à la diminution de la teneur relative en eau des feuilles est remarquée. Nous notons également que la teneur en proline est deux fois plus importante chez la variété fantasio que chez la variété jura à des TRE inférieures à 60 %.

Chez la variété fantasio, la teneur en proline reste pratiquement stable pour de faibles stress (TRE supérieures à 80 %) avec une valeur de $0,115 \pm 0,070 \text{ mg.g}^{-1}$ de MVS, puis elle augmente graduellement pour atteindre $1,133 \pm 0,140 \text{ mg.g}^{-1}$, et $1,64 \pm 0,61 \text{ mg.g}^{-1}$ à des stress moyens (TRE 75% à 65%). Un pic de $6,77 \pm 0,03 \text{ mg.g}^{-1}$ de proline est atteint lorsque le stress est important (TRE 56%). L'accumulation de la proline chez la variété fantasio commence réellement lorsqu'on est en présence d'un stress moyen (TRE inférieures à 76%).

Chez la variété Jura, l'accumulation de la proline est plus rapide ; dès le début du stress, elle passe de $0,107 \pm 0,020 \text{ mg.g}^{-1}$ de MVS chez les plantes bien hydratées, à $0,635 \pm 0,190 \text{ mg.g}^{-1}$ à de faibles stress (TRE de 83%). Cette augmentation se poursuit avec la baisse de la TRE pour atteindre et $0,869 \pm 0,030 \text{ mg.g}^{-1}$ à des stress moyens (TRE 68%). Un pic de proline moins important que chez la variété fantasio ($3,12 \pm 0,10 \text{ mg.g}^{-1}$ de MVS), est atteint lorsque le stress est important (52% de TRE).

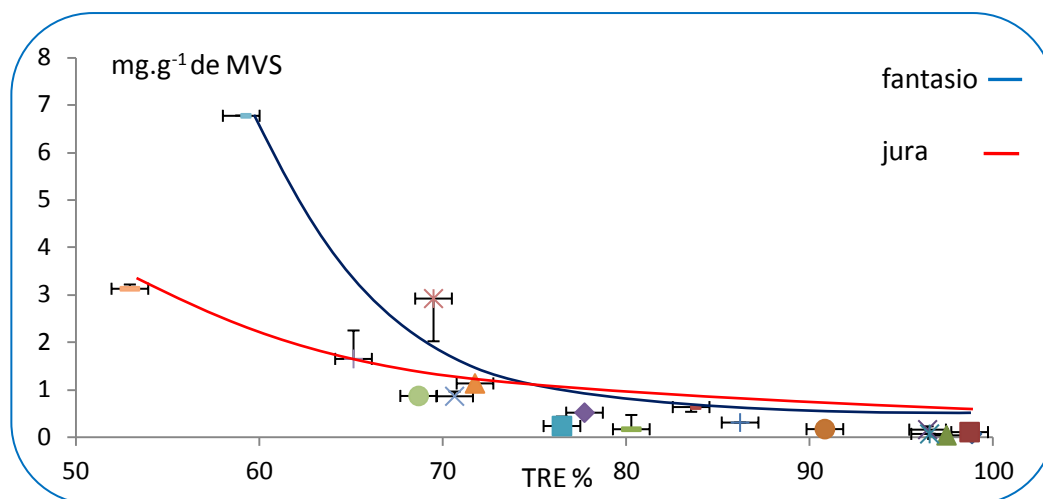


Figure 34 : Evolution de la teneur en proline des feuilles témoins et stressées de la variété fantasio et de jura en fonction de la teneur relative en eau (chaque point représente la moyenne de 3 répétitions).

La proline est la molécule la plus accumulée chez les organismes lors d'un stress (Nakashim., 1998). Elle est considérée comme source d'énergie, d'azote et de carbone, pour la reprise du métabolisme mais aussi comme un osmolyte en réponse à la déshydratation (Kavi et al., 1995).

L'augmentation de la teneur en proline serait reliée directement à l'application du stress hydrique (Cechin et al., 2006). Chez les plantes, une accumulation de la proline a été signalé après un stress salin, une sécheresse, des températures élevées ou basses, la présence de métaux lourds, une infection par des pathogènes, l'anaérobiose, la carence en nutriments, la pollution atmosphérique et l'irradiation UV (Hare et Cresson., 1997; Saradhi et al., 1995; Siripornadulsil et al., 2002). Plus le niveau de stress appliqué augmente plus les teneurs en proline deviennent plus marquées (Savouré et al., 1995). Cette corrélation négative entre l'accumulation de la proline et l'humidité du sol est observée chez différentes espèces de blé dur (Nouri., 2002) et chez la luzerne (Hireche., 2006).

L'accumulation de la proline joue un rôle adaptatif dans la tolérance au stress des plantes. Des études in vitro ont montré que la proline peut être un récepteur des formes actives d'oxygène (Smirnoff et Cumbes., 1998). Elle peut fonctionner comme molécule chaperon stabilisant la structure des protéines ; l'accumulation de proline peut équilibrer le statut cellulaire redox. Cette accumulation pendant un stress osmotique est principalement due à l'augmentation de la synthèse et à la réduction de sa dégradation. (Rentsch et al., 1996).

Une augmentation du taux de proline proportionnelle à la diminution de la TRE est observée chez les deux variétés. Cependant, chez la variété fantasio, l'accumulation de la proline est plus tardive et plus importante que chez la variété jura; en effet, les cinétiques d'accumulation de proline en fonction de l'évolution de la TRE n'est pas la

même pour les deux variétés. Une meilleure accumulation de proline lors du stress osmotique à long terme, est observée chez la variété fantasio.

Une augmentation régulière et fonction de l'intensité du stress de la quantité de proline a été mise en évidence dans les feuilles de *Parkisonia aculeata* L. (Benadjaoud et al., 1998).

Le transport de cet acide aminé du lieu de synthèse au site de résistance apparaît comme un paramètre important dans l'acquisition de la résistance des plantes à la salinité (Paquin, 1986).

1.2.4.3- La glycine bêtaïne

La figure 35, représente l'évolution de la teneur en glycine bêtaïne en fonction de la TRE pour les deux variétés de colza. L'allure générale montre une augmentation du taux de glycine bêtaïne proportionnelle à la diminution de la teneur en eau des feuilles chez les deux variétés. Il faut noter que chez la variété fantasio l'accumulation de la glycine bêtaïne est beaucoup plus rapide et plus importante que chez la variété jura.

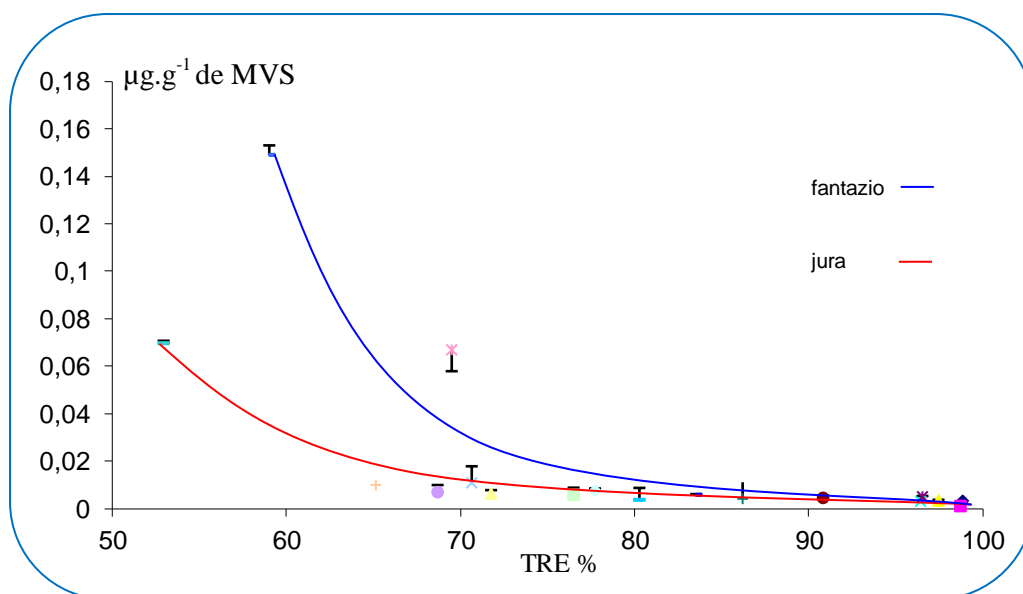


Figure 35 : Évolution de la teneur en glycine bêtaïne des feuilles témoins et stressées des variétés fantasio et jura en fonction de la teneur relative en eau (chaque point représente la moyenne de 3 répétitions.).

Le taux de glycine bêtaïne des feuilles des plants bien hydratés est plus faible chez la variété jura ($1,1 \pm 0,5 \text{ ng.g}^{-1}$) ; chez la variété fantasio ce taux est de $3,2 \pm 0,3 \text{ ng.g}^{-1}$. L'augmentation du taux de glycine bêtaïne reste faible jusqu'à des stress moyens (TRE de 70%) chez la variété jura. Elle atteint $10,8 \pm 1,0 \text{ ng.g}^{-1}$. Elle augmente ensuite rapidement et passe à $69,7 \pm 0,7 \text{ ng.g}^{-1}$ lorsque le stress est important (52% de TRE).

Chez fantasio, l'accumulation de glycine bêtaïne reste faible et atteint $5,0 \pm 0,2 \text{ ng.g}^{-1}$, $5,8 \pm 0,5 \text{ ng.g}^{-1}$ et $6,2 \pm 0,7 \text{ ng.g}^{-1}$ chez les plants hydratés et moyennement stressés

(TRE respectives de 96%, 76% et 71%). L'augmentation du taux de glycine bêtaïne devient ensuite plus importante; ($66,9 \pm 9,3 \text{ ng.g}^{-1}$) lorsque le stress devient plus sévère (la TRE est à 69%). Un maximum d'accumulation de glycine bêtaïne de $149,2 \pm 7,1 \text{ ng.g}^{-1}$ est atteint pour un stress très important à une (TRE de 59%.)

La glycine bêtaïne (GB) est un dérivé d'acide aminé qui est synthétisé par un grand nombre d'organismes comprenant les Chenopodiaceae, Amaranthaceae, Gramineae, Compositae et Malvaceae (Gorham., 1996; Blunden et al., 1999).

En plus de sa fonction dans l'osmorégulation, la glycine bêtaïne a un rôle dans la protection des protéines fonctionnelles, des enzymes (par exemple : la Rubisco), et des lipides de l'appareil photosynthétique et aussi pour maintenir le transfert d'électron dans les membranes de thylakoides (Xing et Rajashekar., 1999; Allakhverdiev et al., 2003).

Le stress sévère s'accompagne par une forte accumulation de glycine bêtaïne chez les deux variétés, mais cette accumulation est plus sensible à la diminution de la TRE chez fantasio, elle est également beaucoup plus intense chez cette variété et atteint des valeurs 3 fois plus importantes que chez jura. C'est la variété fantasio qui accumule le taux le plus élevé de glycine bêtaïne en conditions de stress sévère, et présente une meilleure capacité à accumuler la glycine bêtaïne lors d'un stress osmotique.

Les cellules du tabac BY-2 contiennent de la proline, mais pas de bêtaïne. L'accumulation de la proline est fortement induite en réponse à un stress salin (NaCl 200mM) (Okuma et al., 2004). L'application de proline et de bêtaïne exogènes sur des cals transgéniques de tabac BY-2 cultivées, atténue l'inhibition de la croissance de ces cellules, lors d'un stress salin de NaCl 200 mM, accompagné d'une accumulation accrue de la proline (Okuma et al., 2004; Hoque et al., 2007).

1.2.4.4 – Discussion

L'ajustement osmotique apparaît aujourd'hui comme un mécanisme majeur d'adaptation à la sécheresse. Il peut intervenir à tous les stades de développement et il n'a que peu ou pas d'incidence sur le rendement (Monneveux et Thise., 1997). L'accumulation simultanée de la proline, des sucres solubles et de la glycine bêtaïne suivant la variété et le degré de stress permet aux plantes de supporter le manque d'eau, en maintenant leur turgescence relative foliaire élevée, et leur intégrité cellulaire préservée (Bensalem., 1993).

Lorsque le potentiel hydrique foliaire est réduit, certaines plantes sont capables de maintenir leur turgescence cellulaire par ajustement osmotique grâce à l'accumulation active de solutés (Turner et Jones., 1980). Les plantes accumulent des solutés compatibles, pour atténuer les effets dommageables du stress. Il existe une forte corrélation entre l'accumulation de proline et de bêtaïne avec la tolérance au stress (Rhodes et Hanson., 1993; Achraf et Foolad., 2007). En plus de leurs rôles

d'osmoprotecteurs, la proline et les bêtaïne ont un rôle dans le renforcement du système antioxydant et de lutte contre les dommages du stress. (Khedr et al., 2003; Demiral et Turkan., 2004; Okuma et al., 2004; Ma et al., 2006; Hoque et al., 2007a, b ; Molinari et al., 2007), mais aussi dans l'amélioration de la tolérance au sel (Khedr et al., 2003; Demiral et Turkan., 2004; Okuma et al., 2004; Hoque et al., 2007). La glycine bêtaïne, semble être un osmolite qui jouerait un rôle protecteur très efficace contre le stress osmotique chez diverses espèces de bactéries, y compris ceux de la famille des entérobactéries (Csonka., 1989; Csonka et Hanson., 1991).

Le processus de concentration des sucres solubles et ou de la proline dans les tissus foliaires des plantes stressées est connue comme étant une caractéristique d'adaptation (De Raissac., 1992; Kameli et Losel., 1995). Les sucres solubles et la proline sont des composantes importantes observées chez de nombreuses espèces cultivées comme le blé. (Munns et Weir., 1981), et chez la luzerne (Mefti et al., 1998). Les sucres solubles protègent les membranes contre la déshydratation, en condition de déficit hydrique; ils participent en grande partie à l'abaissement du potentiel osmotique chez le blé. Les plantes stressées ont réagi par l'hydrolyse de l'amidon intracellulaire afin d'augmenter la quantité de sucres solubles au niveau de leurs cellules (Hireche., 2006).

Les résultats obtenus concernant le dosage des sucres solubles, proline et glycine bêtaïne, confirment la capacité d'osmorégulation des deux variétés. Elles accumulent différemment ces solutés en fonction de la sévérité du stress

La variété fantasio se distingue par sa plus faible accumulation de sucres solubles, et sa forte accumulation de proline et de glycine bêtaïne, en fonction de la variation de la TRE, favorisant ainsi une meilleure osmorégulation, mais aussi le renforcement du système antioxydant et de lutte contre les dommages du stress, contrairement à la variété jura chez qui l'accumulation des sucres solubles est favorisée au détriment de la proline et de la glycine bêtaïne, en fonction de la sévérité des restrictions en eau.

Une forte corrélation entre l'accumulation de la proline et de la glycine bêtaïne est observée chez les deux variétés lors de l'expérimentation (figure 36).

La relation de corrélation entre sucres solubles, proline et sucres solubles, glycine bêtaïne est plus faible chez les deux variétés, elle est aussi, différente d'une variété à une autre (figures : 37 et 38). C'est la variété fantasio qui présente une meilleure corrélation entre les sucres solubles et ces deux solutés, avec un coefficient de détermination « $R^2 = 0,899$ » entre les sucres solubles et la proline, contre 0,794 chez jura pour ces deux solutés (figure 37). Le coefficient de détermination entre les sucres solubles et la glycine bêtaïne chez la variété fantasio est « $R^2 = 0,799$ » alors que chez la variété jura ce coefficient est de 0,67 (figure 38).

Une corrélation positive est observée entre les différentes solutés accumulées chez les deux variétés lors du stress osmotique, mais c'est chez la variété fantasio que les

coefficients de déterminations sont les plus importants pour ces différents osmolites (figures : 36, 37 et 38).

Les modalités d'ajustement osmotiques varient en fonction de la variété, et même avec l'intensité du stress appliqué (Morgan, 1984 ; Blum 1988).

La variété fantasio présente une meilleure régulation osmotique en accumulant des taux plus importants de proline et de la glycine bêtaïne.

1.3- Effets du déficit hydrique sur les plants de colza en serre

1.3.1- Le rendement

Seules des siliques des plantes témoins ont pu être prélevées, les plants stressés n'ont pas atteint le stade de formation de siliques et sont mortes au début de la floraison.

Les siliques des plants témoins des deux variétés ont été récoltées, les graines extraites des siliques, et la somme de ces graines pesée. Un nombre approximatif de graine a été calculé pour chaque variété, grâce au poids moyen de 100 graines.

Le poids des graines de la variété fantasio est de 5,71g, alors que pour la variété jura le poids est de 10,57 g, ce qui correspond respectivement à 2495 et 4804 graines. Le rendement de la variété jura est donc beaucoup plus important que celui de la variété fantasio dans des conditions expérimentales favorables.

Tableau 4 : Nombre de graines récoltées à partir de plantes témoins des variétés fantasio et jura à la fin de l'expérimentation

	fantasio	jura
nombre de plantes	90	90
poids total des graines (g)	5,71	10,57
poids moyen d'une graine (mg) calculé sur 100 graines	2,2	2,2
nombre de graines	2595	4804

La variété jura produit beaucoup plus de graines que la variété fantasio dans les conditions favorables, et présenterait des potentialités intéressantes pour la promotion de la culture du colza.

1.3.2 - Effets du déficit hydrique sur la croissance

1. 3.2.1 - Croissance en longueur de la tige

La mesure de la longueur des tiges est réalisée sur toutes les plantes tous les 2 jours, à la sortie du stade rosette, et au début du stade levé (12 feuilles),

Les plants des deux variétés, sont séparés en deux lots à la fin du stade rosette:

- ✓ Un premier lot est laissé à l'air libre et arrosés régulièrement (chaque 2 jours) pendant 26 jours (témoins « T »).
- ✓ Un deuxième lot est déposé dans une serre ; les pots sont arrosés régulièrement (chaque 2 jours), pendant 12 jours, puis un arrêt d'arrosage est effectué durant le reste de l'expérimentation (essais « E »).

Pendant les 12 premiers jours de l'expérimentation, et avant l'application de l'arrêt d'arrosage, une faible croissance en longueur des plantes des deux variétés est observée. Le rythme de cette croissance est identique pour les deux variétés. La

longueur des tiges chez la variété fantasio passe de $10,4 \pm 0,5$ cm à $12,40 \pm 0,45$ cm respectivement au 1^{er} et au 6^{ème} jour, puis $16,6 \pm 0,94$ cm au 12^{ème} jour. Chez la variété jura, la longueur des tiges au 1^{er}, 6^{ème} et 12^{ème} jours est respectivement $9,0 \pm 0,46$ cm, $12,30 \pm 0,69$ cm et $17,20 \pm 1,49$ cm.

Une différence hautement significative de la longueur des tiges est observée entre les plantes témoins et stressées après arrêt d'arrosage, pour chaque variété.

Chez la variété fantasio, la croissance en longueur des tiges des plantes stressées reste faible, $17,60 \pm 1,00$ cm, $23,40 \pm 1,05$ cm, $24,40 \pm 1,41$ cm, $24,9 \pm 1,41$ cm, $25,17 \pm 1,41$ cm respectivement après 3, 6, 9, 12 et 15 jours d'arrêt d'arrosage, correspondant respectivement au 15^{ème}, 18^{ème}, 21^{ème}, 24^{ème} et 26^{ème} jour d'expérimentation. Les plantes témoins par contre présentent une meilleure croissance des tiges. La longueur des tiges des plantes témoins durant cette même période de mesure est respectivement de $20,99 \pm 1,01$ cm, $29,19 \pm 1,08$ cm, $31,17 \pm 1,08$ cm, $35,39 \pm 0,89$ cm et $35,80 \pm 0,89$ cm.

La cinétique de croissance entre les plantes témoins et les plantes stressées après arrêt d'arrosages n'est pas la même chez la variété jura.

La croissance de la tige chez les plantes stressées de la variété jura est très faible, elle est de $17,48 \pm 1,32$ cm, $18,91 \pm 1,35$ cm, $20,58 \pm 1,41$ cm, après respectivement 3, 6 et 9 jours d'arrêt d'arrosage. Un arrêt de croissance en longueur des tiges est ensuite observée le reste de l'expérimentation. Par contre la croissance des tiges des plantes témoins est graduelle et beaucoup plus importante, elle atteint $24,35 \pm 1,54$ cm, $35,00 \pm 1,47$ cm, $36,39 \pm 1,44$ cm, $43,70 \pm 1,30$ cm, respectivement au 15^{ème}, 18^{ème}, 21^{ème}, 24^{ème} et 26^{ème} jour d'expérimentation.

La cinétique de croissance des plantes témoins n'est pas la même durant toute la durée de l'expérimentation. Pendant les 12 premiers jours d'expérience, la croissance des tiges est identique chez les deux variétés. A partir du 13^{ème} jour, la croissance des tiges devient significativement plus importante chez la variété jura. En condition favorable, la variété jura présente une meilleure croissance en longueur.

Durant les 12 premiers jours de l'expérimentation et avant l'application du stress par arrêt d'arrosage, aucune différence significative n'est observée entre les deux variétés. La croissance en longueur des tiges des plantes est relativement faible mais identique pour les deux variétés.

Après application du stress hydrique par arrêt d'arrosage, la croissance en longueur des tiges présente une différence hautement significative entre les plantes témoins (arrosées régulièrement), et les plantes stressées. Pour chaque variété, la croissance des plantes témoins est beaucoup plus importante que celles des plantes stressées.

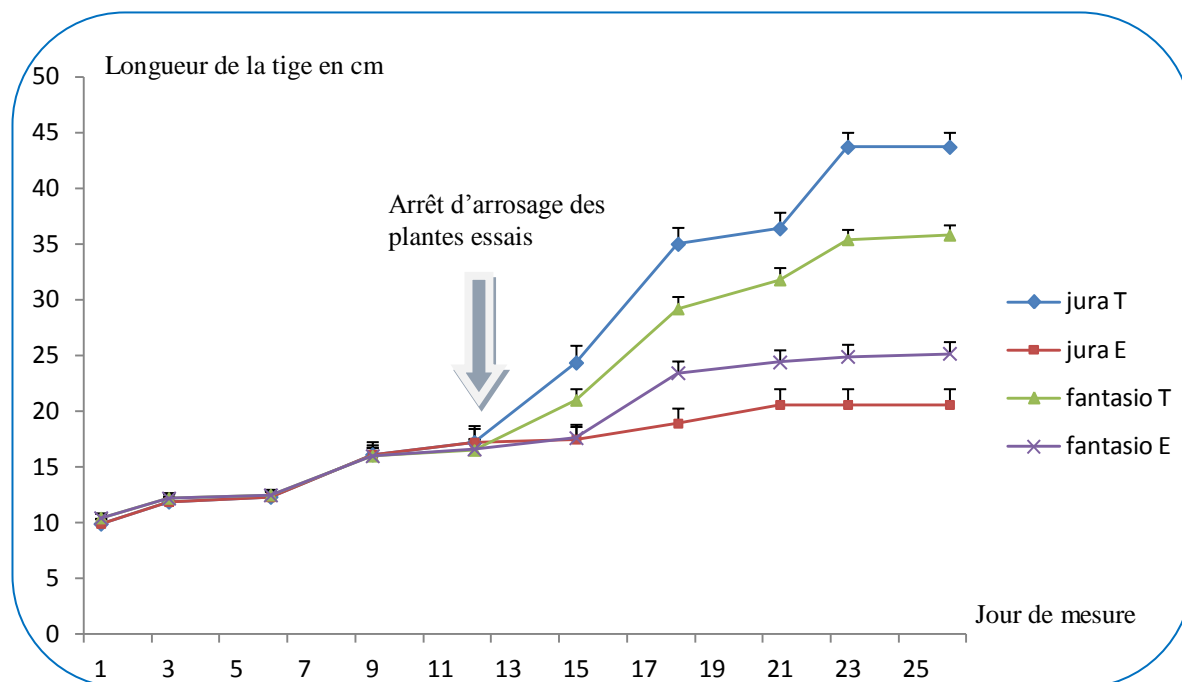


Figure 39 : Croissance en longueur de la tige des plantes témoins et stressées des variétés fantasio et jura en fonction de la durée de l'expérience (chaque point représente la moyenne de 3 répétitions)

Le stress hydrique entraîne une diminution de la croissance de l'appareil végétatif chez les plantules stressées (Bewley et Black., 1994); (Nepomuceno *et al.*, 1998). Ainsi qu'une diminution de la surface foliaire (Aspinall., 1986; Ranjbarfordoei *et al.*, 2000; Monneveux et Nemmar., 1986 ; Badiane *et al.*, 2004), et une réduction de la productivité Debaeke *et al.*, 1996).

Des effets similaires ont été remarqués sur la croissance de l'appareil végétatif des plantules d'arganier soumises à un stress hydrique en plein champ (Harrouni *et al.*, 1995). Les mêmes résultats ont aussi été obtenus chez le persil (Biniek., 1994) et le cèdre du Liban (Dirik., 2000). Dans le cas de la vigne, la croissance des rameaux présente également une sensibilité au stress hydrique (Smart et Coombe., 1983) se traduisant généralement par un ralentissement de la croissance des sarments et une réduction de la surface foliaire (Reynolds et Naylor., 1994 ; Koundouras *et al.*, 1999). Ces phénomènes s'observent même si le déficit en eau n'est que partiel au niveau du système racinaire (Dry et Loveys., 1999). En Australie, l'arrêt de croissance de rameaux non fructifères lors d'un déficit hydrique du sol est utilisé comme indicateur physiologique afin de déclencher l'irrigation des vignobles (Hardie et Martin., 2000).

Le déficit hydrique induit aussi un déficit de la nutrition minérale (azotée et phosphatée) qui est dû principalement à des réductions de flux d'éléments vers les racines ce qui a pour conséquence une réduction de la croissance des plants (Gahoonia *et al.*, 1994 ; Dugo., 2002).

En condition favorable, la variété jura présente une meilleure croissance en longueur. Chez les plantes stressées des deux variétés, la croissance en longueur est significativement moins importante que chez les plantes témoins. Les plantes de la variété fantasio présentent une meilleure croissance en longueur des tiges en condition de stress. La croissance en longueur des tiges est fortement perturbée par la contrainte hydrique chez les deux variétés.

La réduction de la croissance de l'appareil végétatif chez les plantes stressées n'est pas suffisante pour induire une tolérance au stress hydrique (Leidi *et al.*, 1993 ; Nepomuceno *et al.*, 1998 ; Sadras *et al.*, 1998).

1.3.3- Effets du déficit hydrique sur la physiologie des plants de colza

1.3.3.1- Effets du déficit hydrique sur l'accumulation de proline

L'évolution de la teneur en proline des feuilles des plantes témoins et stressées en serre des deux variétés montre un taux très faible et stable de proline chez les plants témoins des deux espèces durant toute la durée de l'expérimentation ($0,129 \pm 0,018$ mg.g⁻¹ chez fantasio et $0,162 \pm 0,016$ mg.g⁻¹ chez jura).

Par contre chez les plants stressés une augmentation du taux de proline proportionnelle à la durée de l'arrêt d'arrosage est constatée.

Chez les plantes stressées de la variété fantasio, la teneur en proline est de $0,120 \pm 0,013$ mg.g⁻¹ au premier jour d'arrêt d'arrosage, une accumulation importante et graduelle de proline est observée ensuite durant toute l'expérimentation. Elle atteint $1,70 \pm 0,006$ mg.g⁻¹, $3,30 \pm 0,05$ mg.g⁻¹ et $6,26 \pm 0,214$ mg.g⁻¹ après 3, 6 et 12 jours d'arrêt d'arrosage. Après 18 jours d'arrêt d'arrosage, le taux de proline est très important ($9,56 \pm 0,32$ mg.g⁻¹).

Au premier jour d'arrêt d'arrosage, la quantité de proline chez la variété jura est de $0,120 \pm 0,024$ mg.g⁻¹ ; cette quantité va augmenter légèrement et graduellement durant toute la durée de l'expérimentation. Après 6 jours d'arrêt d'arrosage le taux de proline atteint $0,847 \pm 0,038$ mg.g⁻¹, puis $2,13 \pm 0,025$ mg.g⁻¹ et $2,60 \pm 0,078$ mg.g⁻¹, respectivement le 9^{ème} et le 12^{ème} jour d'arrêt d'arrosage. Au 15^{ème} jour le taux de proline augmente pour atteindre $3,86 \pm 1,00$ mg.g⁻¹, puis $4,46 \pm 0,82$ mg.g⁻¹ au 18^{ème} jour d'arrêt d'arrosage.

Dans notre cas, l'accumulation de cet acide aminé s'est faite chez les plantes stressées des deux variétés, et le fort taux de proline, lié à des potentiels hydriques élevés enregistrés chez ces variétés, pourrait être dû à un meilleur ajustement osmotique. L'ajustement osmotique chez deux cultivars de riz était plus actif chez la variété qui avait le meilleur comportement vis à vis de la sécheresse (Gueye et Renard., 1981). L'accumulation de la proline a été démontrée chez de nombreuses espèces et dans

différentes situations de stress (osmotique, hydrique, thermique) (Blum et Ebercon., 1976 ; Huang et Cavalieri., 1979 ; Hubac et Viera Da Silva., 1980 ; Bellinger et *al.*, 1989 ; Dorfling et Askman., 1989). Les quantités accumulées pourraient être liées au niveau de tolérance aux stress (Singh et *al.*, 1973).

La proline jouerait un rôle important dans la régulation osmotique des cellules en cas de sécheresse (Savitskaya., 1967 ; Stewart et Lee., 1974), ce qui induit une plus grande résistance chez les plantes observées, et en particulier chez la variété fantasio. Irri (1975), indique que la capacité de récupération est plus sensible après une période de sécheresse chez les variétés qui ont accumulé le plus de proline pendant le stress hydrique. L'hypothèse avancée est que la proline accumulée pendant la période sèche pourrait servir à restaurer l'énergie dont les cellules ont besoin pour recouvrer des effets de la sécheresse (Tal et Rosenthal., 1979). Or dans les conditions expérimentales adoptées, les variétés pluviales accumulent plus de proline et récupèrent mieux après le déficit hydrique. Ces faits nous amènent à penser que la proline joue certainement un rôle de protection non négligeable.

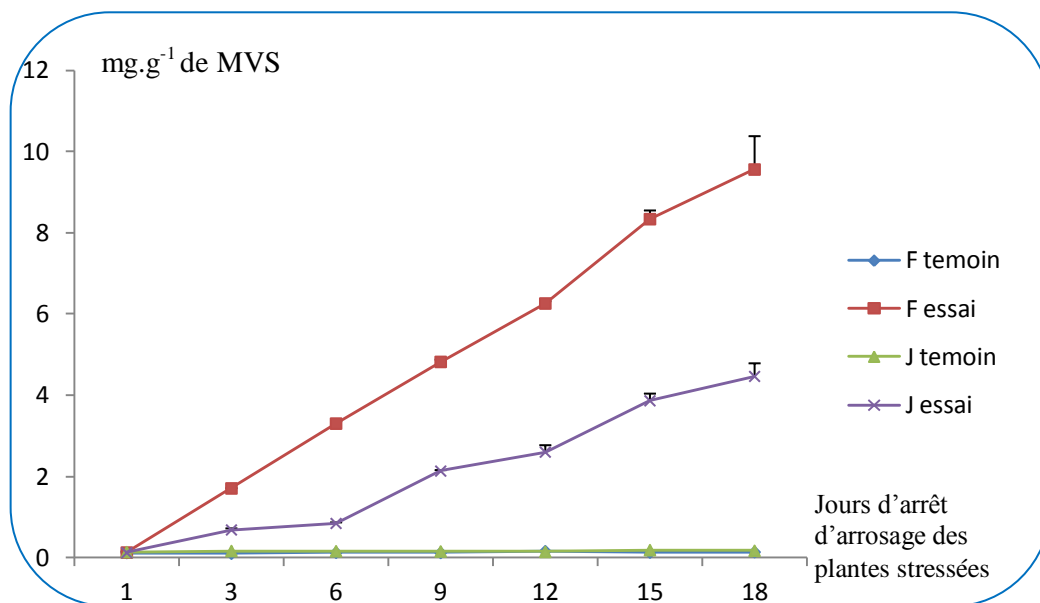


Figure 40 : Évolution de la teneur en proline des feuilles témoins et stressées de la variété fantasio et jura en fonction des jours de prélèvement (chaque point représente la moyenne de 3 répétitions)

Chez les plants stressés des deux variétés, l'accumulation de proline est proportionnelle à la durée du stress appliqué par arrêt d'arrosage. L'accumulation de proline chez la variété fantasio est plus régulière et plus importante que chez la variété jura, ce qui pourrait indiquer une meilleure résistance au stress de la variété fantasio ainsi qu'une meilleure capacité de récupération après une période de sécheresse.

1.3.3.2- Effets du déficit hydrique sur l'accumulation de MDA

L'évolution de la teneur en MDA des feuilles des plantes témoins et stressées en serre des deux variétés montre un taux faible et stable chez les témoins des deux espèces durant toute la durée de l'expérimentation. Une différence non significative est toute fois constatée entre les deux variétés ; le taux moyen de MDA est légèrement plus important chez les plantes témoins de la variété jura ($2,44 \pm 0,05 \text{ mg.g}^{-1}$), que chez les plants témoins de la variété fantasio ($1,57 \pm 0,07 \text{ mg.g}^{-1}$).

Au premier jour d'arrêt d'arrosage, les plants stressés des deux variétés présentent un taux de MDA très élevés par rapport aux taux des plants témoins ($2,27 \pm 0,13 \text{ mg.g}^{-1}$ et $2,8 \pm 0,10 \text{ mg.g}^{-1}$ respectivement chez les variétés fantasio et jura).

Chez la variété jura qui présente un plus grand taux de MDA le jour d'arrêt d'arrosage, une augmentation graduelle et rapide de ce taux est observée durant l'expérimentation, il passe rapidement à $4,18 \pm 0,19 \text{ mg.g}^{-1}$, puis à $5,38 \pm 0,33 \text{ mg.g}^{-1}$, respectivement au 6^{ème} et 12^{ème} jour de l'arrêt d'arrosage. L'augmentation du taux se poursuit pour atteindre $6,46 \pm 0,37 \text{ mg.g}^{-1}$, au 15^{ème} jour, et se stabilise jusqu'au 18^{ème} jour d'arrêt d'arrosage avec une valeur de $6,61 \pm 0,28 \text{ mg.g}^{-1}$.

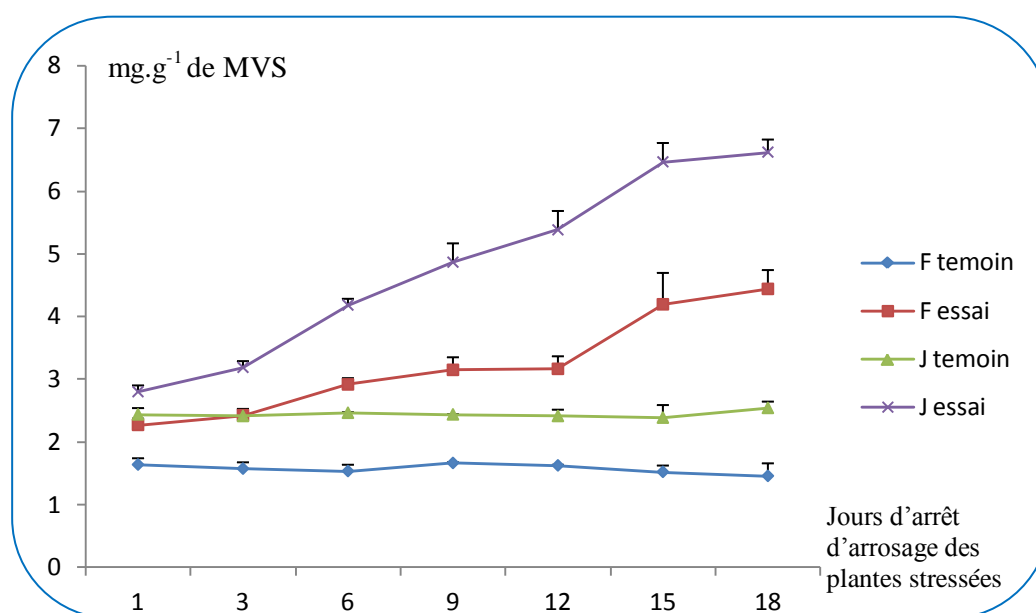


Figure 41 : Évolution de la teneur en MDA des feuilles témoins et stressées de la variété fantasio et jura en fonction des jours de prélèvement (Chaque point représente la moyenne de 3 répétitions)

Le taux de MDA chez la variété fantasio augmente légèrement pendant les 12 premiers jours d'arrêt d'arrosage pour atteindre $2,91 \pm 0,15 \text{ mg.g}^{-1}$, $3,14 \pm 0,24 \text{ mg.g}^{-1}$ et $3,16 \pm 0,22 \text{ mg.g}^{-1}$, respectivement au 6^{ème}, 9^{ème} et 12^{ème} jour d'arrêt d'arrosage, puis une

augmentation plus importante est observée atteignant respectivement $4,19 \pm 0,53$ mg.g^{-1} et $4,43 \pm 0,31$ mg.g^{-1} au 15^{ème} et 18^{ème} jour.

➤ Discussion

La quantité de MDA accumulée lors d'un stress osmotique peut être considérée comme un paramètre caractéristique de tolérance à la sécheresse (Karanlik., 2001 ; Fu et Huang., 2001 ; Aktas., 2002).

La teneur faible et constante en MDA chez les plantes témoins des deux variétés indique qu'il y a un faible niveau de peroxydation des lipides ainsi que des acides gras insaturés.

Chez les plantes stressées des deux variétés, une forte accumulation de MDA en fonction des jours d'arrêt d'arrosage est observée.

L'accumulation du malonyldialdéhyde est souvent considérée comme un indicateur de peroxydation des lipides (Smirnov., 1995). En situation de stress il y a formation importante de radicaux oxygénés toxiques, qui provoquent des dommages sur les chlorophylles et les membranes cellulaires (Fridovich., 1986; Shalata et Tal., 1998; Sreenivasulu et *al.*, 1999), sur les protéines (Davies, 1987), ainsi que les acides nucléiques (Fridovich., 1986; Imlay et Linn., 1988).

La peroxydation des lipides membranaires s'est produite par défaut de fonctionnement du système de détoxification, qui pourrait mener aux dommages des composants cellulaires principaux (Monk et *al.*, 1989; Jiang et Huang., 2001). Une telle réponse est rapportée sous l'effet du déficit hydrique chez d'autres espèces (Irigoyen et *al.*, 1992; Zhang et Kirkham., 1994; Jiang et Huang., 2001).

Chez les plantes stressées, une accumulation de MDA en fonction du temps d'arrêt d'arrosage est observée chez les deux variétés. Cette accumulation de MDA indique qu'il y a peroxydation des lipides membranaires après arrêt d'arrosage. Toutefois, une plus faible peroxydation des lipides, a eu lieu après arrêt d'arrosage dans les feuilles de la variété fantasio. C'est la variété jura qui présente le plus important dommage de la membrane cellulaire et donc une plus grande sensibilité au stress hydrique.

CONCLUSION

Dans notre étude, nous avons appliqué deux stress sur deux variétés de colza, les variétés fantasio et jura: Un stress osmotique induit par des solutions de PEG sur des plantules au laboratoire, et un stress hydrique induit par arrêt d'arrosage des plantes en serre. Ce travail nous a permis d'étudier et de comparer les réponses de ces variétés lors de stress et à différents stades physiologiques. Les résultats obtenues indiquent que :

- ✓ La faculté germinative des semences des deux variétés de colza, n'est pas affectée par des pressions osmotiques de 0 à -4,48 bars, mais à -9,40 bars, le pouvoir germinatif est considérablement réduit chez les deux variétés et de manière similaire, il est complètement inhibé à -16,09 bars.
- ✓ Dans des conditions favorables, c'est la variété jura qui présente une meilleure croissance et un meilleur rendement, alors qu'en conditions de stress induit par arrêt d'arrosage, c'est la variété fantasio qui affiche une meilleure résistance. La réduction de la croissance est plus importante chez la variété jura qui présente une plus grande sensibilité au stress hydrique.
- ✓ L'application d'un stress osmotique par des solutions de PEG va induire une baisse progressive de la TRE des feuilles chez les deux variétés, cette diminution de la TRE est plus rapide et plus importante chez la variété jura, et s'accompagne par une réduction de l'ouverture stomatique puis une fermeture totale des stomates qui survient plus rapidement chez cette variété.
- ✓ Une accumulation de solutés compatibles est observée chez les deux variétés en réponse aux deux stress. Chez la variété fantasio, c'est l'accumulation de proline et de glycine bêtaïne qui est favorisée au détriment des sucres solubles contrairement à la variété jura chez qui une accumulation importante de sucre est observée, alors que l'accumulation de proline et de glycine bêtaïne reste relativement faible.
- ✓ Lors des deux stress, une peroxydation des lipides est observée chez les deux variétés. L'augmentation du taux de MDA est beaucoup plus importante chez la variété jura chez qui les dommages sur les membranes sont plus importants. La variété jura présente une plus grande sensibilité membranaire vis-à-vis d'un stress osmotique

- ✓ En condition de stress osmotique ou d'arrêt d'arrosage c'est la variété fantasio qui présente une meilleure croissance des tiges, et une meilleure accumulation d'osmolytes (proline et glycine bêtaïne), ainsi qu'une plus grande résistance membranaire.

Pour mieux comprendre les effets de ces deux stress sur les variétés fantasio et jura, il est intéressant de compléter ce travail par :

- L'application d'un arrêt d'arrosage sur des plantules au stade floraison, pour observer l'effet du stress hydrique sur la formation des siliques.
- Le dosage des sucres solubles et de la glycine bêtaïne des plantes des deux variétés en serre et après arrêt d'arrosage pour comparer les effets du stress osmotique et du stress hydrique sur les deux variétés de colza.
- L'étude au champ, de l'effet d'un arrêt d'arrosage sur des plantes des deux variétés à différents stades de croissance, pour comparer entre la résistance des deux variétés ainsi que leur rendement en condition de culture en champs.

Références bibliographiques

- Acevedo R., Morelock J., and Olivieri R.A., 1989.** Modification of coral reef zonation by terrigenous sediment stress. *Palaios* 4: 92-100.
- Anonyme., 2005.** Graines Oléagineuses, Huiles et farine d'oléagineux. Examen du marché, décembre 2005.
- Aktas H., 2002.** Pepper, the salt tolerance of the physiological characterization and inheritance. Ç.Ü. Sciences Institute. (Ph.D. thesis, unpublished). Adana, p. 105.
- Albouchi A., Sebei H., Mezni M., El Aouni M., 2000.** Influence de la durée d'une alimentation hydrique déficiente sur la production de la biomasse, la surface transpirante et la densité stomatique d'*Acacia cymaphylla* Lindl. *Ann. Institut National de la Recherche en Génie rural, Eaux et Forêts (INRGREF, Tunis)*. 4 :138-161.
- Allakhverdiev S.I., Hayashi H., Nishiyama Y., Ivanov A.G., Aliev J.A., Klimov V.V., Murata N., and Carpentier R., 2003.** Glycinebetaine protects the D1/D2/Cyt b 559 complex of photosystem II against photo-induced and heat-induced inactivation. *J. Plant Physiol.* 160, 41—49.
- Anonyme., 2005.** Graines Oléagineuses, Huiles et farine d'oléagineux. Examen du marché, décembre 2005.
- Ashraf M., and Foolad M.R., 2007.** Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress tolerance. *Environ. Exp. Bot.* 59: 206-216
- Aspinall D., 1986.** Metabolic effects of water and salinity stress in relation to expansion of the leaf surface. *Aust. J. Plant Physiol.* 13: 59-73
- Badiane F., Diouf D., and Siane D., 2004.** Screening cowpea (*Vigna unguiculata* L.) varieties by inducing water deficit and RAPD analyses. *Afr. J. Biotechn.* 3(3): 174-178.
- Bammoun, A., 1997.** Contribution à l'étude de quelques caractères morpho physiologiques, biochimiques et moléculaires chez 13 variétés de blé dur, pour l'étude de la tolérance à la sécheresse dans la région des hauts plateaux de l'ouest algérien « thèse magister institut des sciences de la nature, université des sciences et de la technologie Houari Boumediene.
- Benadjaoud A., Aïd F., Kesri-Benhassaine G., Savouré A., et Zachowski A., 2009.** Impacts d'un stress osmotique sur le métabolisme de la proline chez *parkinsonia aculeata* L. 5èmes Journées scientifiques du Laboratoire de Biologie et Physiologie des Organismes (LBPO), FSB, USTHB, Alger
- Bandurska H., 2001.** Does proline accumulated in the leaves of water deficit stress barley plants confine cell membrane injuries? *Acta Physiol. Plant* 23: pp 483-490.
- Bardzik J.M., Marsh H.V., and Harvis J.R., 1971.** Effects of water stress on activities of three enzymes in maize seeding. *Plant physiol.* Pp. 828-831.

- Bates L.S., Waldren R.P., Teare I.D., 1973.** Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant Soil*, 39: 205-207.
- Behboudian M.H., and Lawes J.S., 1995.** The influence of water deficit on water relation photosynthesis and fruit growth in Asian pear (*Pyrus serotina* Rehd). *Science Horticulture*, N°60: 89-99.
- Belkhodja M., Benkabilia M., 2000.** Proline reponse of faba bean (*Vicia faba* L.) under salt stress. *Egyptian Journal of Agricultural Research*, Vol. 78, No. 1: 185-195.
- Belkhodja M., et Bidai Y., (2004).** Réponse de la germination des graines d'*Atriplex halimus* L. sous stress salin. *Revue Sécheresse*, N°4, vol.15,331-335.
- Bellinger Y., Bensaoud A., and Lahrer P., 1989.** Physiological accumulation: a trait of use to breeding for stress tolerance. In Acevedo, Conesa, Monneveux and Srivastava (Eds): *Physiologybreeding of winter creats for stressed mediterranean environments*. Colloque n° 55., July 3-6, 1989, Montpellier, France, pp. 449-458
- Benassi J.L., et Labonne M., 2000 – 2015.** Perspectives pour les oléagineux dans les pays du Maghreb : Algérie, Maroc et Tunisie, OCL Vol. 11 N° 2 03-4
- Ben Naceur M., 1994.** Contribution à l'évaluation du degré de résistance aux contraintes hydriques (Sécheresse et excès d'eau) chez l'orge (*Hordeum vulgare* L) et la Fétuque (*Festuca arundinacea* Schreb.). Thèse de doctorat en Sciences Agronomiques. Fac. Des Sci. Agro. Gembloux-Belgique, 118p.
- Bensalem M., et Vieira Da Silva J.P., 1991.** Polymorphisme varietal de résistance à la sécheresse chez les céréales a paille cas du blé. In l'amélioration des plantes pour l'adaptation au milieu aride. Ed. AUPEL-UREF, John Libbet, paris, pp. 25-34.
- Bensalem M., 1993.** Etude comparative de l'adaptation à la sécheresse du blé, de l'orge et du triticale. Dans : « Tolérance à la Sécheresse des Céréales en Zone Méditerranéenne. Diversité Génétique et Amélioration Variétale. » Les Colloques de l'INRA. 64 : 275-298.
- Bensari M., Calme S.J., et Viala G., 1990 .** Répartition du carbone fixé par photosynthèse entre l'amidon et le saccharose dans la feuille de soja : Influence d'un déficit hydrique : *Plant phisiol. Biochimie*, 28. pp. 113-124.
- Bewley J.D., and Black M., 1994.** *Seeds. Physiology of development and germination.* New York, Plenum, 445 pp.
- Biniiek A., 1994.** The influence of osmoconditioning in polyethylene glycol (peg 6000) on the germination and emergence of carrot and parsley seeds. *Acta Hort.* 371: 77-82. Bradford K.J., 1994.
- Blum A., 1988.** *Plant breeding for stress environments.* CRC Press: Boca Raton, FL
- Blum A., and Ebercon A., 1976.** Genotypic responses in sorghum to drought stress. III. Free proline accumulation and drought resistance. *Crop Science*, 16, pp. 428-431.
- Blunden G., Patel A.V., Armstrong N.J, Gorham J., 2001.** Betaine distribution in the Malvaceae. *Phytochemistry* 58:451– 454.

- Bonhert D.W., Larson B.T., Bauer M.L., Branco A.F., McLeod K.R., Harmon D.L., and Mitchell G.E Jr., 1998.** Nutritional evaluation of poultry byproduct meal as a protein source for ruminants: Effects on performance and nutrient flow and disappearance in steers. *J. Anim. Sci.* 76:2474–2484.
- Boyer J.S., 1982.** Plant productivity and environment. *Science*, 218: 443–448.
- Boydston R.A., 1989.** Germination and emergence of longspine sandbur (*Cenchrus longispinus*). *Weed Sci.*, 37, 63-67
- Brankova L., Ivanov S., Alexieva V., and Karanov E., 2005.** Salt induced alteration in the levels of some oxidative parameters and unspecific defence compounds in leaves of two plant species (cotton and bean) with different sensitivity to salinity. *Compt. Rend. De l'Acad. Bulgare des Sci.* 58(11): 1307-1312
- Brette C., Lossouarn J., Coleou J., 1983.** Un moyen au service d'une pédagogie d'acquisition de savoir et de savoir-faire, la réalisation de projets: exemple appliqué aux disciplines agronomiques. In: *Pédagogie, professionnalisation et efficacité de l'enseignement supérieur*. Université de Compiègne, 26-27 mai, 47- 56.
- Casadebaig P., 2008.** Analyse et modélisation des interactions génotype – environnement conduite de culture : application au tournesol. Thèse de doctorat, INP Toulouse.
- Casals M.L., 1996.** Introduction des mécanismes de résistance a la sécheresse dans un model dynamique de croissance et de développement du blé dur. Thèse de doctorat de l'INRA Paris Grignon, 93 P.
- Cechin I., Rossi S.C., Oliveira V.C. and Fumis T.F., 2006.** Photosynthetic responses and proline content of mature and young leaves of sunflower plants under water deficit. *PHOTOSYNTHETICA* .44 (1): 143-146p
- Chang C.C., Locy R.D., Smeda R., Sahi S.V., Singh N.K., 1997.** Photoautotrophic tobacco cells adapted to grow at high salinity. *Plant Cell Rep* 16:495–502.
- Chartzoulakis K., Patakas A., Bosabalidis A., 1999.** Changes in water relations, photosynthesis and leaf anatomy induced by intermittent drought in two olive cultivars. *J. Exp. Envir. Bot.* 42 (2), 113–120.
- Clarcke J., et Mc Caig T., 1982.** Excised leaf water retention capability as an indicator of drought résistance of Triticum genotypes. *Can. J. of Plant Science*, 1982. 62 571-578.
- Clavet J.C., 2000.** Investigating soil and atmospheric plant water stress using physiological and micrometeorological data. *Agricultural and Forest Météo*, Vol. 103: 229-247.
- Crowe J.H., Hoekstra F.A. and Crowe L.M., 1992.** Anhydrobiosis. *J. physiol.* 54.579-599.
- Csonka L.N., 1989.** Physiological and genetic responses of bacteria to osmotic stress. *Microbiol. Rev.* 53: 121–147.

- Csonka L.N., and Hanson, A.D., 1991.** Prokaryotic osmoregulation: genetics and physiology. *Annu. Rev. Microbiol.* 45: 569–606
- Cushman J.C., Bohnert H.J., 2000.** Genomic approaches to plant stress tolerance. *Curr Opin Plant Biol* 3: 117–124.
- Davies K.J.A., 1987.** Protein damage and degradation by oxygen radicals. 1. General aspects. *J. Biol. Chem.*, 262: 9895-9901.
- Debaeke P., Puech J., et Casals M.L., 1996.** Elaboration du rendement du blé d'hiver en conditions de déficit hydrique. I. Etude en lysimètres. *Agronomie*, 16: 3-23.
- Delattre J., Beaudoux J.L., Bonnefont-Rousselot., 2005.** Radicaux libres et stress oxydant: aspects biologiques et pathologiques. Lavoisier édition TEC & DOC éditions médicales internationales Paris, 1 - 405.
- Delauney J., and Verma D.P.S., 1993.** Proline biosynthesis and osmo-regulation in plants. *Plant.* 4: pp 215-223.
- Demiral T., and Türkan İ., 2004.** Comparative lipid peroxidation, antioxidant defense systems and proline content in roots of two rice cultivars differing in salt tolerance. *Environ. Exp. Bot.* 53, 247-257.
- De Raissac M., 1992.** Mécanismes d'adaptation à la sécheresse et maintien de la productivité des plantes cultivées. *Agronomie Tropicale.* 46(1) : 29-37.
- De Vos C.H.R., Bookum V.M.T., Vooijs R., Schat H. and De Kok L.J., 1993.** Effect of copper on fatty acid composition and peroxidation of lipids in roots of copper tolerant and sensitive *Silene cucubalus*. *Plant. Physiol. Biochem.* 31(2): 151-158
- Dib A., Monneveux P., et Araus J.L., 1991.** Adaptation à la sécheresse et notion d'idéotype chez le blé dur. II- caractères physiologiques d'adaptation, Elsevier, INRA Agro, 12, pp. 381-393.
- Dirik H., 2000.** Effet du stress hydrique osmotique sur la germination des graines chez les provenances de Cèdre du Liban (*Cedrus libani* A. Rich.) d'origine Turque. *Ann. Forest Sci.* 57: 371-367.
- Dorfling K., and Askman A., 1989.** Relationship between frost tolerance and formation of proline, abscisic acid and specific proteins in cold hardened winter wheat (*Triticum aestivum*) varieties. XII Eucarpia Congress.
- Dossou F.A., Louguet P., and Vieira Da Silva J.B., 1984.** Corrélations entre les résistances stomatiques de divers croisements de palmier à huile (*Elaeis guineensis* Jacq.) et la tolérance à la sécheresse. *Acta Oecologica*, Vol. 19, N° 5: 163-178.
- Downey., et Bell., 1990.** Dans: Bulletin de Biologie des Grains N°3. , Déc 2000.
- Dry P.R., and Loveys B.R., 1999.** Grapevine shoot growth and stomatal conductance are reduced when part of the root system is dried. *Vitis* 38, 151-156.
- Dugo MVG., 2002.** Effet du déficit hydrique sur l'état de nutrition azotée chez les graminées fourragères. Thèse Université de Poitiers (France), 189 p.

- Eaton F.M., and Ergle D.R., 1948.** Carbohydrate accumulation in the cotton plant at low moisture levels. *Plant Physiol.* 23:169-187
- El Mourid M., Karrou M., et El Gharous M., 1996.** La recherche en aridoculture respectueuse de l'environnement. *Al Awamia.* 92 : 69-81.
- Esterbauer H., Schmidt R., Hayn M., 1997.** Relationships among oxidation of low-density lipoprotein, antioxidant protection, and atherosclerosis. *Adv Pharmacol (New York).*; 38:425-456.
- Flexas J. and H. Medrano, 2002.** Drought-inhibition of photosynthesis in C3 plant: Stomatal and non-stomatal limitations revisited. *Annals of Botany* 89:183-189
- Fridovich I., 1986.** Biological effects of the superoxide radical. *Arch. Biochem. Biop.*, 274: 1-11.
- Fu J., Huang B., 2001.** Involvement of antioxidants and lipid peroxidation in the adaptation of two cool-season grasses to localized drought stress. *Environ. Exp. Bot.*, 45: 105-114.
- Gaft D.F., 1980.** Photoplastic tolerance of exterm water stress. In adaptation of plants to water and light temperature stress. (N.C Turner and P.J Kramer) ed. Wiley interscience new York, pp. 89-103.
- Gahoonia T.S., Raza S., Nielsen N.E., 1994.** Phosphorus depletion in the rhizosphere as influenced by soil moisture. *Plant and Soil* 159: 213-218
- Gaye J.P., Bloc D., 1992.** La tolérance au stress chez le maïs. *Perspective agricole*, 175, 100-106
- Gharti-Chhetri G.B., and Lales J.S., 1990.** Biochemical and physiological responses of nine spring wheat (*Triticum aestivum*) cultivars to drought stress at reproductive stage in the tropic. *Belg. J. Bot.* **123** (1/2): 27-35.
- Giorio P., Sorrentino G., and Andria R., 1999.** Stomatal behaviour, leaf water status and photosynthetic response in field-grown olive trees under water deficit. *Environmental and Experimental Botany*, Vol. 42: 95-104.
- Gimenez C., Mitchell V.J. and Lawlor D.W., 1992.** Regulation of photosynthetic rate of two sunflower hybrids under water stress. *Plant Physiol.* 98:516-524.
- Gorham J., 1996.** Glycine betaine is a major nitrogen-containing solute in the Malvaceae. *Phytochemistry* 43:367– 369. doi:10.1016/0031-9422(96)00312-3
- Gueye M., Renard C., 1981.** Comparaison de deux cultivars de riz (Se 302 G et IR 442) soumis à la sécheresse en début de floraison. *L'Agron. Trop.*, 37 (1) : 81-88
- Guichardant M., Vallete-Talbi L., Cavadini C., Crozier G., Berger M., 1994.** Malondialdehyde measurement in urine. *J Chromatogr B Biomed Appl.* 655: 112-116.
- Halliwell, B., and Gutteridge J.M.C., 1989.** *Free radicals in Biology and Medicine*, 2nd edn. Clarendon Press, Oxford.

Hannel, C., et Barralis G., 1982. Influence de different régimes hydriques sur la croissance vegetative, le poids et la germination d'une mauvaise herve cultivée en serre *Amaranthus retroflexus* L. agro 2(9), pp 835-841.

Hare P.D., Cress W.A., Van Staden J., 1997 Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress. *Plant Cell Environ* 21: 535–553

Hardie W.J., and Martin S.R., 2000. Shoot growth on de-fruited grapevines: a physiological indicator for irrigation scheduling. *Aust. J. Grape and Wine Research* 6, 52 – 58.

Harrouni M., Zahr S., et Elhemaïd A., 1995. Transplantation des jeunes plantes d'arganier: effet combiné de techniques culturales et du stress hydrique. In: J. Libbey Eds. Actes du colloque international : la forêt face à la désertification « cas des arganeraies ». 26-28 octobre 1995. Agadir (Maroc). p. 115-33.

Hartt C.E., 1963. *Natiirwissenschafterz*, 50, , p. 666.

Heath R.L., et Parcker L., 1968. «Photoperoxidation in isolated chloroplasts. 1. Kinetics tries of fatty acid peroxidation». *Arch. Biochem. Biophys.* 125: 189-198.

Herwitz SR., Yair A., Shachak M., 1988. Water use patterns of introduced cards trees (*Cerotonia siliqua* L.) on rocky hillslopes in the Negev Desert. *J.Arid Environ*; 14 : 83-92.

Hill S.A., and Rees T., 1995. The effect of hypoxia on the control of carbohydrate metabolism in ripening banana. *Planta* 197, 313 – 323.

Hireche YA., 2006. Reponse de la luzerne (*Medicago sativa* L) au stress hydrique et à la profondeur de semis. Mémoire de Magister, Université Al Hady Lakhdar-Batna (Algérie), 83 p

Hoque M.A., Okuma E., Banu M.N.A., Nakamura Y., Shimoishi Y. and Murata N., 2007a. Exogenous proline mitigates the detrimental effects of salt stress more than exogenous betaine by increasing antioxidant enzyme activities. *J. Plant Physiol.* 164: 553-561

Hoque MA., Banu MNA., Okuma E., Amako K., Nakamura Y., Shimoishi Y., et al., 2007b. Exogenous proline and glycinebetaine increase NaCl-induced ascorbate glutathione cycle enzyme activities, and proline improves salt tolerance more than glycinebetaine in tobacco Bright Yellow-2 suspension-cultured cells. *J Plant Physiol.* 164:1457–68.

Huang A.H.C., and Cavalieri A.J., 1979. Proline oxidase and water stress-induced proline accumulation in spinach leaves. *Plant. Physiol.*, 63, pp. 531-535.

Huang Q.C., Xu Z.R., Han X.Y., and Li W.F., 2008. Effect of dietary betaine supplementation on lipogenic enzyme activities and fatty acid synthase mRNA expression in finishing pigs. *Anim. Feed Sci. Technol.* 140:365-375.

Hubac C., and Vieira Da Silva J., 1980. - Indicateurs métaboliques de contraintes mésologiques. *Physiol. Vég.* , 18, pp. 45-53

- Humpheries E.C., 1963.** Ann. Bot., Nile série, 27, p. 175.
- Imlay J.A., Linn S., 1988.** DNA damage and oxygen radical toxicity. Sci., 240: 1302-1309.
- INRA., 2000.** La résistance des plantes à la sécheresse. Centre de Montpellier.
- Irigoyen J.J., Emerich D.W., and Sanchez-Diaz M., 1992.** Alfalfa leaf senescence induced by drought stress: photosynthesis, hydrogen peroxide metabolism, lipid peroxidation and ethylene evolution. Physiologia Plantarum 84: 67–72.
- Irri., 1975.** Annual Report for 1974. Los Banos, Philippines, 384 p.
- Jeremias K., 1965.** Planta (Berl.), 65, , p. 73.
- Jiang Y., and Huang B., 2001.** Drought and heat injury to two cool-season turf grasses in relation to antioxidant metabolism and lipid peroxidation. Crop Science 41: 436–442
- Johnson R.R., Frey N.H., and Moss D.V., 1974.** Effect of water stress on photosynthesis and transpiration of flag and spikes of barley and wheat. Crop, Sci; 14(5), pp. 728-731.
- Kameli A., et Losel D.M., 1995.** Contribution of carbohydrates and other solutes to osmotic adjustment in wheat leaves under water stress. Plant physiol, 145, pp. 363-366.
- Karanlik S., 2001.** Durability and resistance to salt stress of different wheat genotypes to investigate the physiological reasons. (Ph.D. thesis, unpublished).Ç.Ü. Fen Bil. Enst., Adana.
- Katsuhara M., Otsuka T., and Ezaki B., 2005.** Salt stress-induced lipid peroxidation is reduced by glutathione S-transferase, but this reduction of lipid peroxides is not enough for a recovery of root growth in Arabidopsis. Plant Sci., 169: 369-373.
- Kavi Kishor P.B., Hong Z., Miao C.H., Hu C.A.A., Verma D.P.S., 1995.** Overexpression of D 1-pyrroline-5-carboxylate synthetase increase proline production and confers osmotolerance in transgenic plants. Plant Physiol., 108, 1387–1394.
- Khedr A.H.A., Abbas M.A., Wahid A.A.A., Quick W.P., and Abogadallah G.M., 2003.** Proline induces the expression of salt-stress responsive proteins and may improve the adaptation of *Pancreaticum maritimum* L., to salt-stress. J. Exp. Bot. 54: 2553-62.
- Kiés N., 1977.** La plante et l'eau. Cours polycopier INA El Harrach, p 40.
- Koca H., Bor M., Özdemir F., Türkan I., 2007.** The effect of salt stress on lipid peroxidation, antioxidative enzymes and proline content of sesame cultivars. Env. Exp. Bot., 60: 344-351.
- Koundouras S., Van Leeuwen C., Seguin G., Glories Y., 1999.** Influence de l'alimentation en eau sur la croissance de la vigne, la maturation des raisins et les caractéristiques des vins en zone méditerranéenne (exemple de Némée, Grèce, cépage Saint-Georges, 1997). J. Int. Sci. Vigne Vin. 33 (4): 149 – 160.
- Lawlor D.W., 2002.** Limitation to photosynthesis to water stressed leaves: stomata vs. metabolism and the role of ATP. Annals of Botany 89:871-885.

Leclerc J.C., 1999. Ecophysiologie végétale. Publication de l'université de Saint Etienne. Paris: 283 p.

Leidi E.O., Lopes M., and Gutierrez J.C., 1993. Searching for water stress in cotton genotypes: photosynthesis, stomatal conductance and transpiration. *Photosynthetica* 28 : 383-390.

Levitt J., 1980. Responses of plants to environmental stress. 2nd edition. Water radiation, salt and other stresses Physiological ecology series. Acad. Press New York, pp. 205-211.

Liang Z.Q., Han Y.F., Liu A.Y. and Chu H.L., 2003. The genus *Paecilomyces* Bainier, a sort of resource having extensive perspective of exploitation. *Mycosystema* 22: 17-23.

Lichtenthaler H.K., 1996. Vegetation stress: an introduction to the stress concept in plants. *Journal of Plant Physiol.* 148: 4-14.

Lichtenthaler H.K., 1998. The stress concept in plants: an introduction. In: *Stress of Life: from Molecules to Man*, ed. P. Csermely, Annals of New York Academy Sciences 851: 187-198.

Locy R.D., Chang C.C., Nielsen B.L., Singh N.K., 1996. Photosynthesis in salt-adapted heterotrophic tobacco cells and regenerated plants. *Plant Physiol.* 110:321-8.

Long S.P., Humphries S., and Falkowski P.G., 1994. Photoinhibition of photosynthesis in nature. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 45, 633-662.

Loreto F., et Velikova V., 2001. «Isoprene produced by leaves protects the photosynthetic apparatus against ozone damage, quenches ozone products, and reduces lipid peroxidation of cellular membranes». *Plant Physiol.* 127: 1781-1787.

Lu C., and Zhang J., 1999. Effect of water stress on photosystem II photochemistry and its thermostability in wheat plants. *Journal of Experimental Botany*, Vol. 50, N° 336: 1199-1206.

Ma Q.Q., Wang W., Li Y.H., Li D.Q., Zou Q., 2006. Alleviation of photoinhibition in drought-stressed wheat (*Triticum aestivum*) by foliar-applied glycinebetaine. *J Plant Physiol.* 163:165-75.

Marchal J., Nolin J., and Letory J., 1988. Influence sur la maturation de l'enrobage de bananes avec Semper-fresh. *Fruits.* 43: 447-453.

Mariott J., Robinson M., and Karikari S.K., 1981. Starch and sugar transformation during ripening of plantains and bananas. *J. Sci. Food. Agric.* 32: 1021-1026.

May L.H., et Miltrope F.L. - Drought resistance of crops plants. *Field Crop Abstr.*, 1962, 15, p. 171-179.

Mefti M., Abdelguerfi A., et Chebouti A., 1998. Etude de la tolérance à la sécheresse chez quelques populations de *Medicago truncatula* (L.) Gaertn. *Science (5)* : 173-176

McCready R.M., Guggolz J., Silveira V., and Owens., H.S., 1950. Determination of starch and amylose in vegetables. *Anal. Chem.* 22:1156.

- Mc Ginnies W.J., 1960.** Effects of moisture stress and temperature on germination of six range grasses. *Agron. J.*, 52, 159-162
- Mc William J.R., Clements R.J., and Dowling P.M., 1970.** Some factors influencing the germination and early seedling development of pasture plants. *Aust. J. Agric. Res.*, 21, 19-32.
- Mojayad F., Planchon C., 1994.** Stomatal and photosynthetic adjustment to water deficit as the expression of heterosis in sunflower. *Crop Science* 34, 103–107.
- Molinari H.B.C., Marur C.J., Daros E., De Campos M.K.F., De Carvalho J.F.R.P., Filho J.C.B., et al., 2007.** Evaluation of the stress-inducible production of proline in transgenic sugarcane (*Saccharum* spp.): osmotic adjustment, chlorophyll fluorescence and oxidative stress. *Physiol Plant.* 130:218–29.
- Monk L.S., Fagerstedt K.V., Crowfold R.M.M., 1989.** Oxygen toxicity and superoxide dismutase as an antioxidant in physiological stress. *Physiol. Plant*; 76:456-459.
- Monneveux P., and Nemmar M., 1986.** Contribution de l'étude de la résistance à la sécheresse chez le blé tendre (*Triticum aestivum* L.) et le blé dur (*Triticum durum* Desf.). Etude de l'accumulation de la proline au cours du cycle de développement. *Agronomie* 6: 583-590.
- Monneveux P., This D., Belhassen E., 1997.** Amélioration génétique de la résistance à la sécheresse. In C. Riou, R. Bonhomme, P. Chassin, A. Neveu, F. Papy (éds) : *L'eau et l'espace rural. Production végétale et qualité de l'eau*, INRA Éditions, Paris. 122-142.
- Moore R., Clark W.D., Stern K.R., and Vodopich D., 1995.** *Botany*. WmC. Brown Publisher. Kerper Boulevard , Dubuque , IA 52001 USA
- Morard P., 1995.** Les cultures végétales hors sol. S.A.R.L. Publications Agricoles. Agropôle, BP 200, F-47931 Agen, 304 p.
- Morgan J.M., 1984.** Osmoregulation and water stress in higher plants. *Annu Rev Plant Physiol* 35: 299-319.
- Morizet J., Merrien A., 1990.** Principaux traits du comportement hydrique du tournesol. In : R. Blanchet, A. Merrien (Eds.), *Le tournesol et l'eau*. Cetiom Publications, Paris p. 7-21
- Munns R., and Weir R., 1981.** Contribution of sugars to osmotic adjustment in elongation and expanded zones of wheat leaves during moderate water deficits at two light levels. *Aust. J. Plant Physiol.* 81: 93-105.
- Musil A.F., 1950** Identification of Brassicas by seedling growth or later vegetative stages. USDA Circular 857. 26 pp.
- Nakashima M., 1998.** End-users' Governance of Natural Resources: Irrigation Management Transfer in Mexico, *Hiroshima Journal of International Studies*, 4:1-16

- Nepomuceno A., Stewart J.Mc.D., and Oosterhuis D.M., 1998.** Physiological and molecular responses during water deficit in cotton (*G. hirsutum* L.). Pp. 1377-80. In: Proceedings, Beltwide Cotton Conferences. National Cotton Council, Memphis, Tenn.
- Nouri L., 2002.** Ajustement osmotique et maintien de l'activité photosynthétique chez le blé dur (*Triticum durum*, Desf), en condition de déficit hydrique. Thèse de Magistère en Biologie végétale Univ Mentouri. Constantine. 77p.
- Nunes M.A., Catarino F., Pinto E., 1989.** Strategies for acclimation to seasonal drought in *Ceratonia siliqua* leaves. *Physiol Plant*; 77 : 150-6.
- Ohkawa H., Ohishi N., and Yagi K., 1979.** *Anal. Biochem.* 95, 351.
- Okuma E., Murakami Y., Shimoishi Y., Tada M., Murata Y., 2004.** Effects of exogenous application of proline and betaine on the growth of tobacco cultured cells under saline conditions. *Soil Sci Plant Nutr.* 50:1301–5.
- Oosterhuis D.M., and Walker S., 1987.** Stomatal resistance measuring as indicator of water deficit stress in wheat soybeans. *South Africa journal of plant and soil*, 4(3), pp. 113-126.
- Paquin R., 1986.** Effet de l'humidité du sol sur la teneur de la proline libre et des sucres totaux de la luzerne endurcie au froid et à la sécheresse. *Can. Journal Plant Science*, Vol. 66 : 95-101.
- Peng Z., Lu Q., Verma D.P.S., 1996.** Reciprocal regulation of D1-pyrroline-5-carboxylate synthetase and proline dehydrogenase genes control levels during and after osmotic stress in plants. *Mol Gen Genet* 253: 334–341
- Pugnaire F.I., Endolz L.S., and Pardos J., 1993.** Constraints by water stress on plant growth. In PASSARAKLI, P. handbook of plant and crop stress. New York: Marcel Dekker. pp. 247-259.
- Quick W.P., and Schaffer A.A., 1996.** Sucrose metabolism and sucrose phosphate synthase. *Plant Physiol.* 115:609. in sources and sinks, pp.115-156. In: E. Zamski and 616. A.A. Seh3ffer, 005. Phycroassimilate Distribution in Plants and Crops: Source-Sink Relationships. MartelDekker,Inc.,New York.
- Rakow G. and Woods D.L., 1987.** Outcrossing in rape and mustard under Saskatchewan prairie conditions. *Can. J. Plant Sci.* 67: 147:151.
- Ramos M.L.G., Gordon J.A., Minchin R.F., Sprent I.J., and Parsons R., 1999.** Effect of water stress on nodule physiology and biochemistry of a drought tolerant cultivar of common bean (*Phaseolus vulgaris*). *Ann. Bot.*, 83: 57-63.
- Ranjbarfordoei A., Samson R., Damme P., and Lemeur R., 2000.** Effects of drought stress induced by polyethylene glycol on pigment content and photosynthetic gas exchange of pistacia. *Photosynthetica* 38: 443-447
- Rentsch D., Hirner B., Schmeizer E., and Frommer W.B., 1996.** Salt stress-induced proline transporters and salt stress repressed broad specificity amino acid permeases

identified by suppression of a yeast amino acid permease-targeting mutant. *Plant Cell* 8, 1437-1446

Reynolds A., Naylor A., 1994. Pinot noir and Riesling grapevines respond to water stress duration and soil water-holding capacity. *HortScience* 29: 1505-1510.

Rhodes D., and Hanson A.D., 1993. Quaternary ammonium and tertiary sulfonium compounds in higher plants. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 44, p.357-384.

Richards R.A., 2006. Physiological traits used in the breeding of new cultivars for water-scarce environments. *Agricultural Water Management* 80, 197-211.

Richter G., 1993. Les glucides. In: Presse Polytechnique et Universitaire Romande (eds) *Métabolisme des végétaux, Physiologie et Biochimie*, chap. IV, Paris, France, pp.189-220

Ritchie S.W., Nguyen H., and Holaday A.S., 1990. Leaf water content and gas exchanges parameters of two wheat genotypes differing in draught resistance. *Crop Sci.* 30. 105-111.

Ruiz J.M., Blasco B., Rivero R.M., and Romero L., 2005. Nicotine-free and salt-tolerant tobacco plants obtained by grafting to salinity-resistant rootstocks of tomato. *Physiol. Plant*, 124: 465-475.

Sadras V.O., Wilson L.J., and Lally D.A., 1998. Water deficit enhanced cotton resistance to spider mite herbivory. *Ann. Bot.* 82 (2): 273-286.

Sairam R.K., Chandrasekhar V., Srivastava G.C., 2001. Comparison of hexaploid and tetraploid wheat cultivars in their responses to water stress. *Biologica plantarum*, 44 (1) ,89 - 94.

Samir K., 1993. Réponses agrophysiologiques de trois variétés de blé dur au stress hydrique en zones semi-arides marocaines. Thèse de troisième cycle de la faculté des sciences de Meknes, 185p.

Saradhi P.P., Alia S., Arora., and Prasad K.V., 1995. Proline accumulation in plants exposed to UV radiation and protect them against UV induced peroxidation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 209: 1-5.

Saunier R.E., Diss. Abst., 28 B, 1967, p. 1376 B.

Savitskaya N.N., 1967. Problem of accumulation of free proline in barley plant under conditions of soil water deficiency. *Fiziol. Rast.*, 14 : 737-739.

Savouré A., Jaoua S., Hua Xue Jun., Ardiles W., Van Montagu M., and Verbruggen., 1995. Isolation, characterization, and chromosomal location of a gene encoding the DELTA 1- pyrroline-5-carboxylate synthetase in *Arabidopsis thaliana*. *FEBS Letters* .372: 13 -19 p.

Scofield T., Evans J., Cook M.G., and Wardlow I.F., 1988. Factors influencing the rate and duration of grain filling in wheat. *Aust.J. Plant physiol.* 4: 785 - 797 p.

- Shalata A., Tal M., 1998.** The effect of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in the leaf of the cultivated Tomato and its wild salt tolerant relative *Lycopersicon pennellii*. *Physiol. Plant.*, 104: 169-174.
- Shao H.B., Liang Z.S., and Shao M.A., 2005.** Changes of some anti-oxidative enzymes under soil water deficits among 10 wheat genotypes at maturation stage. *Colloids Surf. B: Biointerfaces.*, 45: 7-13.
- Shiya S.K., 1991.** Evaluation of drought and salt resistance of several tomato varieties in terms of production, growth and ecophysiological characteristics. Thèse de doctorat. Université Gent, Belgique. 207 pp
- Singh T.N., Paleg L.G., and Aspinall D., 1973.** Nitrogen metabolism and growth in barley plant during water stress. *Aust. J. Biol. Sci.*, 26, pp. 45-56.
- Siripornadulsil S., Traina S., Verma D.P., and Sayre R.T., 2002.** Molecular: Mechanisms of proline-Mediated tolerance to toxic heavy metals in transgenic microalga. *Plant Cell.*, 14: 2837-47
- Slyter R., 1974.** The effect of internal water status on plant growth development and yield In plant responses to climatic factors .Proc.of upsal simpisium, Unesco.
- Smart R.E., and Coombie B.G., 1983.** Water relations og grapevignes. In (ed). Kozlowski., T.T. Water deficit and plant growth, Vol VII, Academic press. Pp. 137-196.
- Smirnoff N., 1995.** Antioxidant systems and plant response to the environment. In: Smirnoff N. [ed.], Environment and plant metabolism: Flexibility and acclimation, 217-243. Bios Scientific Publishers, Oxford.
- Smirnoff N., 1998.** Plant resistance to environmental stress. *Curr Opin Biotechnol* 9: 214-219.
- Smirnoff N., Cumbes Q.J., 1998.** Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. *Phytochemistry* 28, 1057-1060.
- Söderlund T., et al., 2002.** Effects of betaine on the structural dynamics of Thermomyces (*Humicola*) lanuginose lipase. *Colloid Surf. B*, 26(1-2), 75-83.
- Sreenivasulu N., Ramanjulu S., Ramachandra-Kini K., Prakash H.S., Shekar-Shetty H., Savithri H.S., Ve Sudhakar C., 1999.** Total peroxidase activity and peroxidase isoforms as modified by salt stress in two cultivars of Fox-Tail Millet with differential salt tolerance. *Plant. Sci.*, pp. 141: 1-9
- Stern R.A., Meron M., Naor A., Wallach R., Bravdo B., and Gazit S., 1998.** Effect of fall irrigation level in 'Mauritius' and 'Floridian' Lychee on soil and plant water status, flowering intensity, and yield. *Journal American Society for Horticultural Science*, Vol. 123, N°1: 150-155.
- Stewart C.R., and Lee J.A., 1974.** The role of proline accumulation in halophytes. *Planta*, 120, pp. 273-289

- Sunkar R., Bartels., et Kirch H.H., 2003.** «Overexpression of a stress-inducible aldehyde dehydrogenase gene from *Arabidopsis thaliana* in transgenic plants improves stress tolerance». *Plant*. 135: 452-464.
- Tal M., and Rosenthal I., 1979.** Salt tolerance in *Simmondsia chenensis* water balance and accumulation of chloride sodium and proline under low and high salinity. *Ann. Bot.*, 34, pp. 701-708
- Tardieu F., and Simoneau., 1998.** Variability among species of stomatal control under fluctuating soil water status and evaporative demand: modeling isohydric and anisohydric behaviours. *Journal of Experimental Botany* 49:419-432.
- Tardieu F., Zivy M., 2006.** Amélioration génétique de la tolérance des cultures à la sécheresse. In : J.- P. Amigues, P. Debaeke, B. Itier, G. Lemaire, B. Seguin, F. Tardieu, A. Thomas (Eds.), Sécheresse et agriculture. Réduire la vulnérabilité de l'agriculture à un risque accru de manque d'eau. Expertise collective scientifique, rapport, INRA, France, p. 242-257
- Tremblin G., et Binet P., 1984.** Halophilie et résistance au sel chez *Haloepelis amplexicaulis* (Vahl) Ung. *Oecol. Plant*, 5, 291-293.
- Teulat B., Rekika D., Nachit M., and Monneveux P., 1997a.** Comparative osmotic adjustments in barley and tetraploid wheats. *Plant Breeding* 116: 519–23.
- Teulat B., Monneveux P., Wery J., Borriès C., Souyris I., Charrier A., and This D., 1997b.** Relationships between relative water content and growth parameters in barley: a QTL study. *New Phytol.* 137: 99–107
- Thompson J.E., Paliyath G., Brown J.H., and Dubury C.L., 1987.** The involvement of active oxygen in membrane deterioration during senescence. In *Plant Senescence : its Biochemistry and Physiology*, W.W. Thompson, E.A. Nothnagel and R.C. Huffaker, Eds., American society of Plant Physiologists, Rockville, USA, pp. 146-155.
- Todd, G.W., 1972.** Water deficit and enzymatic activity, in *Water stress and plant growth*, ed. Kozlovosky, New York acad. Press.
- Troll, W., and Lindsey J., 1955.** *J. biol. Chem.* 215, 655.
- Turner N.C., 1979.** Drought resistance and adaptation to water deficits in cop[^]plant. In *Stress physiology in cop plants*, H.W Musseland et R,C stepales, ed, Willey, (interscience) new York, pp, 343-372.
- Turner N.C., and Jones M.M., 1980.** Turgor maintenance by osmotic adjustment: a review and evaluation. In: *Adaptation of plants to water and high temperature stress*, (Eds.): N.C. Turner and P.J. Kramer. pp. 84-104.
- Turner D.C., 1986.** Adaptation to water deficits: a changing perspective. *Aust J. plant physiol* (13), pp. 175-190.
- U N., 1935.** Genomic analysis in Brassica with special reference to the experimental formation of *B. napus* and peculiar mode of fertilization. *Jpn. J. Bot.* 7: 389–452.

- Vartanian N., et Lemeé G., 1984.** La notion d'adaptation à la secheresse. Lab du phytotron, CNRS, GF sur yvelle.
- Vasquez A.T., 1989.** Action du déficit hydrique sur la composition protéinique des chloroplastes chez *Phaseolus vulgaris* et *vigna unguiculata*
- Weckx J.E.J., and Clijsters H.M.M., 1996.** Oxidative damage and defense mechanisms in primary leaves of phaseolus vulgaris as a result of root assimilation of toxic amounts of copper. *Physiologia Plantarum*. 96 : 506-512.
- Weiberg D.S., Pinkus G.S., and Ault K.A., 1984.** Cytofluorometric detection of B-cell clonal excess: A new approach to the diagnosis of B-cell Iymphoma. *Blood*, 63, 1080.
- Weretilnyk E.A., Bednarek S., McCue K.F., Rhodes D., and Hanson A.D., 1989.** Comparative biochemical and immunological studies of the glycine betaine synthesis pathway in diverse families of dicotyledons. *Planta* 178: 342–52.
- Winicov I., Seemann J.R., 1990.** Expression of genes for photosynthesis and the relationship to salt tolerance of alfalfa (*Medicago sativa*) cells. *Plant Cell Physiol*;31:1155–61.
- Winicov I., Button J.D., 1991.** Accumulation of photosynthesis gene transcripts in response to sodium chloride by salt-tolerant alfalfa cells. *Planta*;183: 478–83.
- Wood K.V., et al., 2002.** Characterization of betaines using electrospray MS/MS. *Phytochemistry*, 59, 759-765.
- Xing W., Rajashekar C.B., 2000.** Glycine betaine involvement in freezing tolerance and water stress in *Arabidopsis thaliana*. *Environ Exp Bot* 46:21–28.
- Zeghida A., Amrani R., Djennadi F., Ameroun R., Khldoun A.A., et Belloucif M. 2004.** Etude de la variabilité de réponse des plantules de blé dur (*Triticum durum* Desf) à la salinité. *Céréaliculture*. ITGC. 42. Constantine : 5p.
- Zhang J., Kirkham M.B., 1994.** Drought-stress induced changes in activities of superoxide dismutase, catalase and peroxidases in wheat leaves. *Plant Cell Physiol*. 35:785-791.