

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Blida 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département : Biologie des Populations et Organismes

Laboratoire de recherche biotechnologies, environnements et santé

Domaine : Science de la Nature et la Vie

Filière : Sciences Biologique

Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de master en :

Spécialité : Biodiversité et physiologie végétale

Thème :

Etude de l'effet du déficit hydrique sur la production des métabolites secondaires chez *Ecballium elaterium* (L) Rich. (Le concombre d'âne).

Présenter par :

Melle. ADOUANE ILHEM

Melle. KACEMI KHAOULA

Soutenu publiquement le : 07-07-2018

Devant les membres de jury composé de :

Mme. KEBBAS S	MCB	U.S.D.B1	Promotrice
Mme. BRADEA M.S	MCA	U.S.D.B1	Présidente
Mme. BENMANSOUR	MCB	U.S.D.B1	Examinatrice

Année universitaire 2017/2018

Dédicaces

Je présente ma profonde gratitude, mes chaleureux et vifs remerciements à mes très chers parents pour leurs encouragements, leur patience et leurs sacrifices, pour leur soutien moral et financier, pour tout ce qu'ils m'ont offert pour être enfin ce que je suis.

Ce modeste mémoire est dédié :

A ma sœur et mon seul frère ainsi qu'à toute ma famille.

Ainsi qu'à toute la promotion 2017/2018



khaoula

C'est avec un grand respect que je dédie ce modeste travail à :

Mes chers parents qui m'ont éclairé le chemin de la vie par leur grand soutien et leurs encouragements et par leurs énormes sacrifices

durant mes études, je les remercie

A ma sœur, Mes frères

A toute ma famille

A tous mes cousins et cousines

A toutes mes amies



Ilhem

Remerciement

Nous tenons à remercier Dieu en premier lieu, qui nous protège et pour tout puissant de nous avoir accordé, la patience, la santé et le courage d'accomplir ce travail.

*Nous voudrions remercier du fond du cœur Mme **KEBBAS** qui a encadré cette étude au quotidien. Pour sa contribution positive et enrichissante pour son aide et pour son soutien et ses encouragements.*

*Nous adressons tous nos remerciements à **Mme TOUABIA** et **Mme BENSALAH**, nous lui sommes reconnaissants pour : leur grande disponibilité, leur ouverture d'esprit, leur dynamisme et leur optimisme, ainsi que pour leur multiples et précieux conseils scientifiques, professionnels ou tout simplement humains.*

Nous tenons à remercier les membres du jury:

*Au président du jury, **Mme BRADEAM/S** qui nous fait l'honneur de présider le jury. remerciements vont aussi à **Mme BEN MANSSOUR N** pour nous avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Nous tenons à remercier également **Monsieur DJAZOULI** pour avoir accepté que la réalisation de notre travail se fasse au laboratoire au niveau du département de biotechnologie Nous adressons nos remerciement à **Melle ZAKIA**, technicienne de laboratoire d'Amélioration des plantes, et aussi remercier **Mme GHANIA**, technicienne de laboratoire de physiologie et à **Mme NADJIA**, technicienne de laboratoire de phytopharmacie pour leur aide et leur encouragement.*

Nous remercions aussi l'équipe de la pépinière Echo-vert pour leur aide.

Tous nos remerciements iront à l'ensemble de nos enseignants qui nous ont formées tout au long de notre cursus.

Résumé

La résistance d'une plante à la sécheresse caractérise sa capacité de survivre ou de produire en conditions de déficit hydrique, un arrêt d'arrosage a été appliqué aux plantules d'*Ecballium elaterium* (L)Rich de un mois pendant 1^{er}, le 5^{ème}, le 10^{ème}, le 15^{ème} et le 20^{ème} jour de l'expérience afin de suivre le comportement morphologique et physiologique et biochimique de cette espèce vis-à-vis de déficit hydrique. Nos résultats montrent que Le stress hydrique appliqué a entraîné une diminution de poids sec des parties aériennes, chez les plantules stressés pour arriver à une valeur moyenne de $0,93 \pm 0,192g$ pendant 20 jours. D'autre part une réduction des paramètres de croissance a été enregistrée chez les plantes stressées à savoir la hauteur des tiges. La teneur relative en eau la plus faible est observée chez les plantules stressées en fonction de la durée du stress avec une valeur moyenne de $36,96 \pm 1,66\%$ au 20^{ème} jours. La teneur en chlorophylle est en faible diminution durant tout la période de l'expérimentation. La surface foliaire notamment le nombre de feuille en été affecté par le stress hydrique, L'accumulation des polyphénols au niveau des feuilles varie avec les niveaux du stress. Les réponses morphologiques et physiologiques et biochimiques des plantules contribuent efficacement aux mécanismes de tolérance de l'espèce au stress hydrique.

Mots clés : stress hydrique, chlorophylle, polyphénols, tolérance, surface foliaire

Abstract

A plant's resistance to drought characterizes its ability to survive or to produce in conditions of water deficit, a watering stop was applied to the *Ecballium elaterium* (L) Rich seedlings of a month during 1st, the 5th, the 10th, 15th and 20th day of the experiment to follow the morphological and physiological and biochemical behavior of this species with respect to water deficit. Our results show that the water stress applied led to a decrease in dry weight of the aerial parts, in stressed seedlings to reach an average value of 0.93 ± 0.192 g for 20 days. On the other hand a reduction in growth parameters was recorded in the stressed plants namely the height of the stems. The lowest relative water content is observed in the stressed seedlings as a function of the duration of the stress with an average value of $36.96 \pm 1.66\%$ at the 20th day. The chlorophyll content is low during the whole period of the experiment. The leaf area, in particular the number of leaves in the summer affected by the water stress, The accumulation of polyphenols in the leaves varies with the levels of the stress. The morphological and physiological and biochemical responses of seedlings contribute effectively to the mechanisms of tolerance of the species to water stress.

Key words: water stress, chlorophyll, polyphenols, tolerance, leaf area

ملخص

تميز مقاومة النبات للجفاف قدرته على البقاء أو الإنتاج في ظروف عجز المياه ، وتم تطبيق نظام الري على الشتلات في شهر واحد خلال اليوم الأول والخامس 10 و 15 و 20 يوم من التجربة لمتابعة السلوك (L) الغنية باللوباريوم المورفولوجية والفيزيولوجية والكيميائية الحيوية لهذا النوع فيما يتعلق بعجز المياه. تظهر نتائجنا أن ضغط الماء المطبق أدى إلى انخفاض في الوزن الجاف للأجزاء الهوائية ، في الشتلات المجهددة للوصول إلى قيمة متوسطة تبلغ 0.192 ± 0.093 جم لمدة 20 يومًا. من ناحية أخرى ، تم تسجيل انخفاض في معايير النمو في النباتات المجهددة وهي ارتفاع الساق. لوحظ أدنى محتوى نسبي للمياه في الشتلات المجهددة كدالة لمدة الإجهاد بمتوسط قيمة $36.96 \pm 1.66\%$ في اليوم العشرين. يكون محتوى الكلوروفيل منخفضًا خلال فترة التجربة بأكملها ، حيث تختلف مساحة الورقة ، خاصةً عدد الأوراق في الصيف المتأثر بالإجهاد المائي ، ويختلف تراكم البوليفينول في الأوراق باختلاف مستويات الإجهاد. تسهم الاستجابات المورفولوجية والفيزيولوجية والبيوكيميائية للشتلات بشكل فعال في آليات تحمل الأنواع على الإجهاد المائي.

الكلمات المفتاحية: الإجهاد المائي ، الكلوروفيل ، البوليفينول ، التسامح ، منطقة الأوراق

LISTE DES ABREVIATIONS

CO₂: dioxyde de carbone.

LEA: latembryoge-nesis-abundant.

ARNm : Acide ribonucléique messenger

O₂ : Oxygène

ERO: Espèce réactive oxygène .

MAP kinases : Mitogen Activated Protein Kinase.

CDP kinases :Cyclin-dependent kinases

K⁺: Potassium.

H₂O₂ :Peroxyde d'hydrogène.

OH : Radical hydroxyd .

UV : Ultraviolet.

MVS : Matière végétale sèche

HCl : Acide chlorhydrique.

P : Probabilité.

PT : Poids de turgescence.

PF : Point frais.

PS : Poids sec.

TRE : Teneur Relative en Eau.

TEF: Teneur en eau Foliaire.

ABA: Acide Abscissique.

AlCl₃ : trichlorure d'aluminium.

NaOH : Hydroxyde de sodium.

NaNO₂ : nitrite de sodium.

UV-B : Ultraviolets B.

Chl a : Chlorophylle a

Chl b: Chlorophylle b

Chl a/b: Chlorophylle a/b

Liste des figures

Figure 1 : Mécanismes de réponses des plantes à un stress abiotique	6
Figure 2 : structure des chlorophylles a (à gauche) et b (à droite).	9
Figure 3 : Schéma structurel des trois acides phénols.....	11
Figure 4 : Structure de base des flavonoïdes.	11
Figure 5 : Structure de quelques classes de flavonoïdes.	12
Figure 6 : Structure du cation flavylum ou 2-phényl-1-benzopyrylium	12
Figure 7 : Représentation des voies de biosynthèse des polyphénols	13
Figure 8 :Photos originales d'Ecballium elaterium (L) Rich	14
Figure 9 : Photos originale de la mise en pot d'Ecballium elaterium (L) Rich.....	16
Figure 10 : photos originale avant l'utilisation de logiciel Mesurim.	18
Figure 11 : Photos originale après l'utilisation de logiciel Mesurim	19
Figure 12 : Effet du déficit hydrique sur la Teneur Relative en Eau (TRE)% des plants d'Ecballium elaterium (L) Rich.....	23
Figure 13 : Effet du déficit hydrique sur l'évolution des poids secs des parties aériennes(g) des plants d'Ecballium elaterium (L) Rich.....	24
Figure 14 : Effet du déficit hydrique sur l'évolution des poids frais des parties aériennes(g) des plants d'Ecballium elaterium (L) Rich.	25
Figure 15 : Effet du déficit hydrique sur l'évolution de la hauteur des tiges (cm) Des plants d'Ecballium elaterium (L) Rich	30
Figure 16 : Effet de l'application du stress sur l'évolution du nombre des feuilles (feuille /jour) des plants d'Ecballium elaterium (L) Rich.....	31
Figure 17 : Effet de l'application du stress sur l'évolution de la surface foliaire (cm ²) feuille/jr. des plants d'Ecballium elaterium (L) Rich.	32
Figure 18 : coupe transversale d'une tige des plants témoins d'Ecballium elaterium (L).....	29
Figure 19 : Effet de déficit hydrique sur la teneur en chlorophylle a des plants de Ecballium elaterium(L)Rich.	31
Figure 20 : Effet de déficit hydrique sur la teneur en chlorophylle b des plants de Ecballium elaterium(L)Rich.	32
Figure 21 : Effet de déficit hydrique sur la teneur en caroténoïde des plants de Ecballium elaterium(L)Rich.....	29
Figure 22 : Effet de déficit hydrique sur la teneur en polyphénols totaux des plants de Ecballium elaterium(L)Rich.	35
Figure 23 : Effet de déficit hydrique sur la teneur en flavonoïde des plants de Ecballium elaterium(L)Rich.....	36
Figure 24 : Effet de déficit hydrique sur la teneur en anthocyane des plants de Ecballium elaterium(L)Rich.....	37

Liste des tableaux

Tableau 1 : Effet de déficit hydrique sur le rapport chlorophylle (A/B) des plants de <i>Ecballium elaterieum(L)Rich</i>	33
---	----

Table des matières

DEDICACES

REMERCIEMENTS

RESUME

ABSTRACT

ملخص

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

INTRODUCTION.....1

CHAPITRE I: SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUES

1. Stress hydrique	3
2. Importance de l'eau dans la plante	3
3. Paramètres affecté par le stress hydrique	3
3.1. La photosynthèse	3
3.2. La croissance végétative	4
3.3. La nutrition minérale	4
4. Les réponses des plantes au stress hydrique	4
4.1. Echappement (évasion).....	4
4.2. Esquive.....	5
4.3. La tolérance.....	5
5. Les réponses moléculaires au déficit hydrique	5
6. Les réponses morphologiques et physiologiques au déficit hydrique.....	6
6.1. Réponse morphologique	6
6.2. La régulation stomatique	7
6.3. L'ajustement osmotique.....	7
6.4. La turgescence cellulaire.....	8
6.5. Synthèse des pigments photosynthétique	8
7. Réponse biochimique à l'adaptation à la sécheresse au niveau foliaire	9
7.1. Régulation du potentiel hydrique par les osmolites	9
7.2. Hormones liées à la signalisation de la fonction stomatique	9
7.3. Synthèse des polyphénols totaux	10
7.3.1. Classification des polyphénols	10
7.3.1.2. Les acides phénols	10

7.3.1.3. Les flavonoïdes	11
7.3.1.4. Les anthocyanes	12
7.3.1.5. Les voies de synthèse des polyphénols	12
7.3.1.5.1 La voie de l'acide shikimique	12
7.3.1.5.2. La voie de l'acide malonique	13
8. Description botanique de la plante	14
8.1. Description	14
8.2. Nom commun	14
8.3. Systématique	15
8.4. Principes actifs	15
8.5. Utilisation de la plante	15
8.6. Origine et répartition géographique	15

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

1. Site expérimental	16
2. Matériel végétal et dispositif expérimental	16
3. Matériel végétal et conditions de culture	16
3.1 Bouturage	16
2. Dispositif expérimental	17
2.1. Préparation des pots et le semi	17
3. Paramètres étudiés	17
3.1. Paramètres physiologiques	17
3.1.1. Teneur relative en eau	17
3.1.2. Détermination des poids frais et secs	17
3.1.3. Dosage des pigments Chlorophylliens et des caroténoïdes	17
3.2. Paramètres morphologiques	18
3.2.1. Croissance en longueur	18
3.2.2. Nombre de feuille	18
3.2.3. Surface foliaire	18
3.2.4. Etude anatomique du tissu conducteur d' <i>Ecballium elaterium</i> (L) Rich	19
3.2.4.1. Protocole expérimental	19
3.2.4.2. Méthode d'étude anatomique	19

3.2.4.3. Réalisation des coupes transversales.....	19
3.2.4.4. Montage pour l'observation au microscope.....	20
3.3.Paramètres biochimiques.....	21
3.3.1.Les phénols totaux.....	21
3.3.2. Les flavonoïdes totaux	21
3.3.3. Les anthocyanes	21
4. Analyse statistique	22

CHAPITRE III : RESULTAT ET DISCUSSION

1. Effet du déficit hydrique sur le statut hydrique de la plante	23
1.1. La Teneur en Eau (TRE)% :	23
1.2. Effet du stress hydrique sur la croissance.....	24
1.2.1. La production de la biomasse sèche	24
1.2.2. La production de la biomasse fraîche	25
1.3. Effet du déficit hydrique sur les pigments photosynthétiques	26
1.3.1 Teneur en chlorophylle (A).....	26
1.3.2 Teneur en chlorophylle (B).....	27
1.3.3 Le rapport chlorophylle (A/B).....	28
1.3.4 Teneur en caroténoïde.....	29
1.4 La croissance caulinaire	30
1.5 Nombre de feuilles	31
1.6 La surface foliaire.....	32
1.7 Observation microscopique	33
1.8 Discussion.....	34
2. Effet du déficit hydrique sur le métabolisme secondaire.....	35
2.1 Effet du déficit hydrique sur l'accumulation des polyphénols totaux	35
2.2 Effet du déficit hydrique sur l'accumulation des flavonoïdes.....	36
2.3 Effet du déficit hydrique sur l'accumulation des anthocyanes.....	37
2.4 Discussion.....	38
Conclusion	40
Annexes	41
Références bibliographiques	46

Introduction

L'eau est un facteur essentiel à la production végétale. Elle a plusieurs fonctions au sein de la plante outre l'importance de l'eau constitutive des tissus, elle est le vecteur de transport de toutes les substances nécessaires au fonctionnement de la plantes. Enfin, elle a un rôle essentiel dans le maintien, grâce à la transpiration, d'une température de la plante compatible avec son métabolisme. Cette dernière fonction est de loin la plus consommatrice d'eau. D'après **Casals (1996)**, la sécheresse peut être définie correctement en considérant la disponibilité et les besoins en eau de la plante.

Le manque d'eau peut se manifester aussi bien dans le sol que dans l'atmosphère (**Scoric, 1990**). Généralement, la sécheresse du sol est lente, mais la diminution de l'humidité de l'air peut parfois être rapide (**Yokota et al., 2006**).

Les plantes sont souvent soumises à des 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 (**Larcher, 1995**).

Un déficit hydrique est le résultat d'une diminution temporaire de la disponibilité en eau pour les plantes (**Chaves et Oliveira., 2004**).**Sinclair et Ludlow (1986)** décrivent trois phases se déroulant au cours de la diminution de l'eau disponible. Au cours d'une première phase, la transpiration et photosynthèse se maintiennent comme pour les plantes irriguées à la capacité au champ jusqu'à ce que la teneur en eau soit réduite au point où l'absorption de l'eau ne permet plus de satisfaire l'évapotranspiration. Puis, à partir de ce seuil, environ 50% de l'eau disponible, la transpiration et la photosynthèse sont réduites en deçà du niveau potentiel.

Pour finir, les plantes entrent dans la troisième phase lorsque les stomates sont complètement fermés. Les plantes sont en état de survie pour une période variable en fonction de leur degré de tolérance, de la vitesse de la diminution de l'eau disponible.

Au cours de la deuxième phase, les réponses physiologiques de la plante sont variables et sont fonction de facteurs de l'environnement et de la plante elle-même (**Blum 1996**). Ainsi, le signal du "déficit hydrique" est perçu par les plantes en fonction de leur capacité à y faire face.

Les effets physiques, chimiques et physiologiques du stress hydrique dépendent du degré et du temps des conditions de sécheresse en relation avec le stade de développement de la plante (**Hamon, 2007**).

Les facteurs environnementaux comme la lumière, la température, le rayonnement UVB, l'ozone et le CO² ont une influence directe ou indirecte sur l'élaboration des métabolites secondaires. Ces aspects ont été illustrés par (**Demeyer et Dejaegere 1997**) ; (**Sallas et al., 2001**) qui ont travaillé sur *Salix myrsinifolia*, *Pinus sylvestris* ou encore *Datura stramonium*.

Beaucoup de métabolites se comportent comme des signaux chimiques que la plante utilise pour s'adapter aux changements défavorables de l'environnement (**Chadhary et al., 1985**). D'autres ont pour rôle la défense de la plante contre les herbivores, les pathogènes, les parasites ou l'inhibition de la germination et la croissance des plantes concurrentes (**Baskin et al. 1967 ; Hale et al. 2004**). Certains assurent une protection contre les radiations solaires, lorsque d'autres favorisent la dispersion du pollen et des graines grâce à la couleur ou au parfum des fleurs.

La cucurbitacée *Ecballium elaterium*(L)Rich est une plante sauvage indigène du bassin méditerranéen, aussi connue sous le nom de concombre d'âne, ou « squirting cucumber » . Des extraits secs de cette plante ont longtemps été utilisés dans la médecine traditionnelle de la région, par exemple en Turquie, pour le traitement de la sinusite, la constipation, les rhumatismes, la jaunisse, les otites et de nombreux autres maux (**Attard, 2011**). Des espèces semblables se retrouvent aussi en Amérique Latine et possèdent des applications traditionnelles similaires. (**Seeram et al., 2003**)

L'objectif de notre travail est de réaliser une étude portant sur l'effet du déficit hydrique sur la croissance et sur la synthèse des métabolites secondaires chez *Ecballium elaterium* (L)Rich.

Ce manuscrit est divisé en trois parties:

- Une partie bibliographie concernant des notions de stress hydrique ainsi que des rappels sur les métabolites secondaires, une description botanique et l'origine d'*ecballium elaterium*(L) Rich
- Dans la partie expérimentale on a réalisé une étude des paramètres physiologique, morphologique, biochimique chez *Ecballium elaterium*(L)Rich. soumise à un déficit hydrique
- La dernière partie consacrée au traitement des résultats obtenus et leur discussion et suivie par une conclusion.

Synthèse bibliographique

1. Stress hydrique

Le stress hydrique peut être défini comme le rapport entre la quantité d'eau nécessaire à la croissance de la plante et la quantité d'eau disponible dans son environnement, sachant que la réserve d'eau utile pour la plante est la quantité d'eau du sol accessible par son système racinaire (**Laberche, 2004**).

En effet, un stress hydrique s'installe lorsque la demande en eau dépasse la quantité disponible pendant une certaine période ou lorsque sa mauvaise qualité en limite l'usage (**Madhava Rao et al., 2006**).

L'effet du stress hydrique dépend de son degré, de sa durée, du stade de développement de la plante, du génotype et de l'interaction de la plante avec l'environnement (**Yokota et al., 2006**). D'un point de vue physique, le stress hydrique résulte d'un abaissement du potentiel hydrique dans l'air et/ou dans le sol en dessous d'une certaine valeur, dépendant du génotype, du phénotype et des caractéristiques du milieu (type de sol, température, vent) (**Lamaze et al., 1994**).

2. Importance de l'eau dans la plante

La richesse en eau des plantes est variable selon les espèces, les organes et les milieux de vie. Une feuille peut contenir 80 à 90% d'eau et le poids fraîchement coupé peut renfermer 30 à 50% d'eau (**Leclerc, 1999**).

L'eau constitue l'élément le plus vital pour la plante étant donné qu'il constitue la phase liquide dans laquelle tous les processus biochimiques de la plante ont lieu (**Esteban et al., 1999**).

Elle permet la turgescence et le maintien des structures cellulaires et en particulier de la structure colloïdale du cytoplasme. Elle permet aussi le déroulement du métabolisme de la plante. L'eau transporte les substances nutritives depuis le sol jusqu'à la partie aérienne à travers les vaisseaux conducteurs du xylème (**Laberche, 2004**).

De même, elle contribue au refroidissement de la plante par la transpiration et joue le rôle de solvant en donne une grande rigidité aux tissus végétaux.

L'eau joue également un rôle dans la croissance et le développement des plantes. Elle est aussi indispensable au bon fonctionnement des protéines (**Slama et al., 2005**).

3. Paramètres affecté par le stress hydrique

Les végétaux sont caractérisés par une grande capacité à résister à des variations importantes de la teneur en eau de leurs tissus. De nombreuses de plantes peuvent supporter sans dommage apparent une perte d'eau de 30% (**Morard, 1995**).

Néanmoins, lorsque l'alimentation hydrique est interrompue, la plante a du mal à répondre à la demande climatique. La teneur en eau du sol dans la zone racinaire décroît et induit une diminution de la transpiration ainsi que du potentiel hydrique foliaire, le stress hydrique au niveau de la plante va affecter différents paramètres (**Teulat et al., 1997**).

3.1. La photosynthèse

La photosynthèse est particulièrement sensible au stress hydrique. L'intensité de la photosynthèse augmente au cours de la journée, car l'éclairement culmine au midi solaire. Si

les plantes sont peu irriguées, l'eau devient le facteur déterminant. En cas de sécheresse, les stomates se ferment, ce qui évite à la plante de se déshydrater, mais l'absorption de CO₂ est de ce fait limitée car ce gaz est peu abondant dans l'air (**Coupé et Touraine, 1974**). La baisse du potentiel hydrique de la plante se traduit principalement par une diminution de la pression de turgescence puis une régulation stomatique. Donc un stress hydrique, en provoquant la fermeture des stomates se traduit par un ralentissement de la photosynthèse en même temps que la transpiration (**Teulat et al., 1997**).

3.2. La croissance végétative

L'un des premiers effets provoqué par le déficit hydrique est une réduction de la croissance végétative. La croissance de la partie aérienne, et surtout celle des feuilles, est généralement plus sensible que celle des racines (**Hopkins, 2003**)

La diminution de l'expression foliaire est soumise à un double control, comprenant les équilibres hydriques et les signaux hormonaux provenant des racines. Dans le cas de brusque variation environnementale d'humidité, de lumière ou de salinité, les relations hydriques sont les responsables des perturbations de la vitesse d'élongation. Alors pour le stress hydrique, dont la durée est l'ordre de quelques jours, ce sont les signaux hormonaux qui conditionnent le niveau de croissance, cependant, à ce niveau, durant les périodes de forte transpiration, c'est l'état hydrique qui redevient le facteur limitant, malgré le contrôle exercé par les hormones (**Munns et al., 2000**).

Les plantes soumises à un déficit hydrique voient généralement leur sénescence foliaire s'accélérer, et une perte trop importante d'eau peut conduire à la mort des cellules (**Kramer et Broyer., 1995 ; Bouchabke et al., 2006**).

3.3. La nutrition minérale

Le déficit hydrique affecte aussi bien l'état de la nutrition azotée que la quantité d'azote présente dans la plante (**Onillon et al., 1995 ; Volaire et al., 1998**). Après des périodes de sécheresse, la quantité d'azote minéral dans le sol est relativement plus élevée et la lixiviation peut être plus importante si le sol reste nu. Aussi, la mortalité des racines durant la période sèche peut libérer encore davantage d'azote dans le sol. Cependant le déficit hydrique induit un déficit de nutrition azotée, qui résulte surtout des réductions de flux d'azote dans la racine (**Lemaire et Denoix, 1987**).

4. Les réponses des plantes au stress hydrique

Afin de répondre à un stress hydrique les plantes peuvent adopter plusieurs stratégies (**Levitt, 1980**) défini trois grandes formes de résistance à la sécheresse qui sont : l'évasion ou l'échappement, l'esquive et la tolérance.

4.1. Echappement (évasion)

Ce mécanisme permet à la plante de ne pas subir directement des contraintes en réalisant son cycle de développement en dehors des périodes sèches (**Raissac, 1992**).

Cette stratégies réalise grâce à la précocité obtenue soit par la voie génétique ou par la vois des techniques culturales (**Monneveux, 1989**).

4.2. Esquive

L'esquive est la capacité de la plante à conserver un potentiel hydrique élevé en présence d'une contrainte hydrique, ceci est lié à une aptitude de la plante à extraire l'eau du sol et une capacité à limiter les pertes d'eau par transpiration (**Levitt, 1972 ; Tuner, 1986**).

Renard (1985) a montré que l'esquive est réalisée par : une fermeture stomatique ; un développement racinaire ; une chute foliaire ; l'enroulement foliaire.

4.3. La tolérance

La tolérance correspond à la capacité de la plante à maintenir ses activités métaboliques malgré le déficit hydrique (**Monneveux et Nemmar, 1986**).

Ces phénomènes de tolérance sont liés à la réduction des pertes en eau, à la régulation des quantités d'eau absorbées, et à l'augmentation de la concentration ultra cellulaires en composés organiques et minéraux tels que les sucres solubles, et la proline...etc . Ces solutés permettent de maintenir une turgescence requise pour la croissance cellulaire et l'ouverture stomatique à des niveaux de potentiel hydrique bas (**Dib et al., 1992**).

5. Les réponses moléculaires au déficit hydrique

La résistance à la sécheresse est complexe, elle affecte plusieurs centaines de gènes. Deux groupes se distinguent dans cette réponse :

Les gènes du premier groupe interviennent dans : la détection du stress (protéines kinases HK1, une protéase, la phospholipase...) ; l'amplification du message (MAP kinases, CDP kinases) ; les facteurs de transcription (MYC, MYB, DREB) qui activent la réponse adaptée au stress via le second groupe de gènes.

Les gènes du second groupe ont diverses fonctions telles que (i) la protection des macromolécules ou des membranes (protéines LEA latembryoge-nesis-abundant, osmotine, protéines chaperonnes, protéines se liant à l'ARNm et le protégeant) (ii) le maintien du flux d'eau (aquaporine, transporteurs membranaires) (iii) la synthèse de métabolites permettant l'osmoregulation (proline, bétaine, glucides solubles) (vi) détoxification des radicaux libres issus de l'excès d'électrons dans le thylakoïde (super oxydedismutase, ascorbate peroxydase, catalase, glutathion-s-transférase) (**Botineau ,2011**).

Selon **Yamaguchi-Shinozaki et al. (2002)** la cascade d'événements moléculaires conduisant au développement de la tolérance au stress comporte (**Figure 1**) :

- la perception du signal de stress par les récepteurs de la membrane cellulaire qui captent les variations du milieu externe ;
- la transduction du signal du stress du cytoplasme vers le noyau cellulaire, suivie d'une cascade d'évènements matérialisés par l'accumulation transitoire des ions Ca⁺⁺, l'activation des protéines de type kinases, l'accumulation de l'ABA et la modification de la structure de la membrane plasmique ;
- l'activation, dans le noyau, des facteurs de transcription associés à l'expression des gènes de réponse au stress ;
- l'expression des gènes du stress codant des protéines qui gèrent la situation de stress en réparant ou en maintenant l'homéostasie cellulaire.

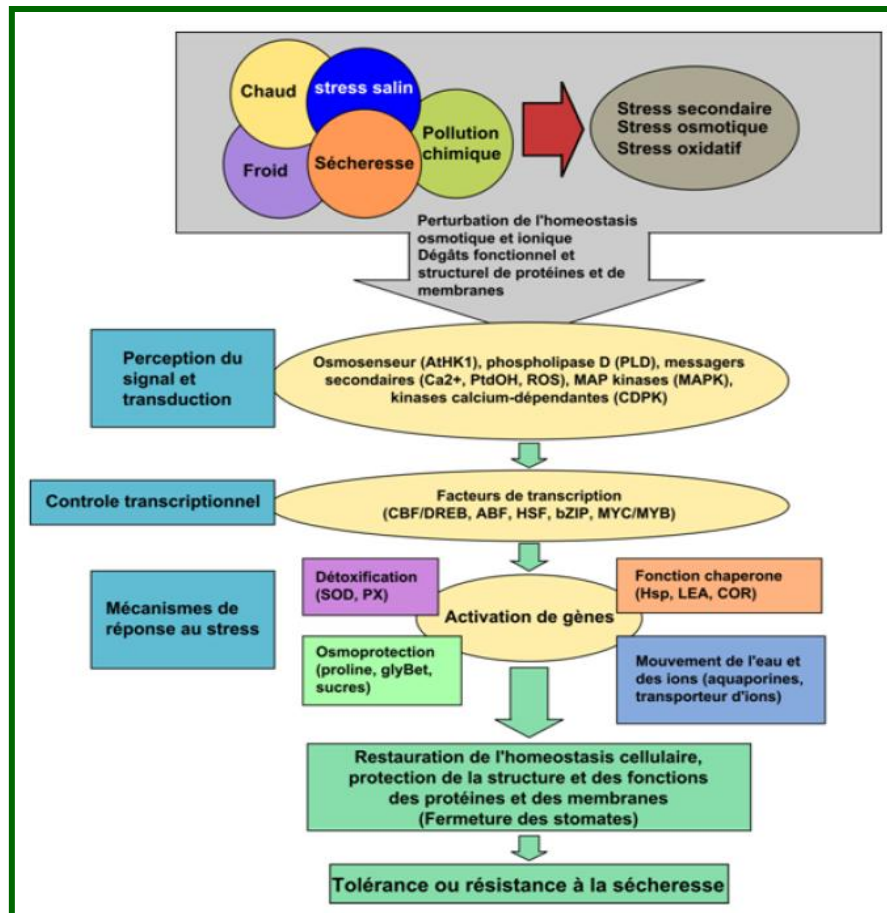


Figure 1. Mécanismes de réponses des plantes à un stress abiotique adapté de (Wang et al., 2003). Les stress abiotiques principaux tels la sécheresse, le stress salin, le froid, la chaleur et la pollution chimique, sont connectés et causent des stress secondaires comme les stress osmotique et oxydatif. Les signaux initiaux déclenchent des processus de signalisation permettant l'activation de facteurs de transcription qui eux-mêmes régulent l'expression de gènes impliqués dans le rétablissement de l'homéostasie cellulaire, la protection et/ou la réparation des protéines et des membranes endommagées.

6. Les réponses morphologiques et physiologiques au déficit hydrique

6.1. Réponse morphologique

Les plantes qui vivent en conditions de stress ont généralement une faible croissance. Une des adaptations des plantes à des conditions de déficit hydrique est l'élimination des organes à courte durée de vie au profit de ceux à longue vie pour réduire le coût de construction de nouveaux organes. Cela peut se traduire par une modification de la durée de vie des feuilles, de leur nombre et de leur surface spécifique. Le faible taux de renouvellement des feuilles permet d'améliorer l'efficacité de l'utilisation des nutriments en évitant une demande supplémentaire en carbone, et en eau, en cas de synthèse de nouvelles feuilles (Casper et al., 2001).

En cas de sécheresse modérée, des processus physiologiques sont réduits : synthèse de la paroi, des protéines ou de proto-chlorophylle, mouvement de sève. Lorsque la sécheresse est encore plus sévère, la respiration est réduite et la conductance du xylème fortement réduite par la cavitation des vaisseaux (**Coupé et Bruno Touraine,1974**).

Le stress hydrique provoque une multitude d'effets sur l'intégrité des fonctions cellulaires de la plante telles que la réduction de l'élongation des cellules et de la division cellulaire, qui induisent une diminution la surface foliaire photosynthétique (**Granier et al.,2000**).

La réduction de la surface foliaire exposée est citée comme une réponse à long terme des plantes méditerranéenne a l'intensité et la durée de la période sèche. Les systèmes racinaires profonds agissent pour équilibré les oscillations de disponibilité d'eau (**Sala et Tenhunen, 1996**).

Certaines essences peuvent par un enracinement profond accéder à de l'eau disponible dans les étages inférieurs du sol et de ce fait mieux résister au stress hydrique (**Tardieu et Dreyer,1997**), L'extension du système racinaire, contribue à l'absorption de l'humidité des couches les plus profonds du sol et assure a la plante une transpiration et des échanges gazeux peu affectés et donc une photosynthèse et une croissance peu modifiée.

6.2. La régulation stomatique

Lors d'un déficit hydrique, la plante essaie de réguler son niveau d'alimentation en eau et de maintenir son volume cellulaire constant afin de poursuivre sa croissance.

Le niveau d'eau peut être contrôlé par la restriction des sorties d'eau. Quand la teneur en eau du sol est réduite, les racines envoient des signaux chimiques à la tige puis à la feuille. En réponse, les stomates se ferment pour empêcher l'évaporation. C'est un des premiers événements de réponse à la sécheresse. La réponse stomatique entraîne une modification d'autres facteurs tels que la diminution de l'absorption du CO₂ et donc de la photosynthèse. L'assimilation en carbone diminue alors en faveur de la photo respiration, avec fixation d'O₂ à la place de CO₂, Ce processus de conversion coute de l'énergie à la plante et résulte en une perte nette en CO₂(**Anjum et al., 2011; Flexas et Medrano, 2002**).

6.3. L'ajustement osmotique

Une réponse forte que de nombreuses plantes apportent aux stress hydriques, consiste en une diminution du potentiel osmotique, provoquée par l'accumulation de solutés. Ce processus est appelé ajustement osmotique .alors qu'une certaine augmentation de la concentration en solutés pourrait être considérée comme résultant de la déshydratation de la cellule et de la diminution de son volume, l'ajustement osmotique se rapporte spécifiquement a une augmentation nette de la concentration de solutés provoquée par des processus métaboliques déclenchés par le stress. L'ajustement osmotique fait diminuer le potentiel hydrique qui devient donc négatif, permettant ainsi de maintenir le mouvement d'eau vers les feuilles et par conséquent leur turgescence (**Hopkins, 2003**).

L'ajustement génère l'accumulation de solutés ou osmolytes compatibles tels que la proline, la glycine-bétaïne, le mannitol, et les sucres, principalement, le glucose et le fructose (**Umezawa et al., 2006**).

6.4. La turgescence cellulaire

Quand la plante subit une alimentation hydrique insuffisante, les cellules perdent de l'eau et le volume de la vacuole diminue (Plasmolyse). Aussi, la première manifestation visuelle d'une déshydratation se traduit par la perte de la turgescence qui conduit au flétrissement et à l'abandon du port érigé.

C'est aussi la turgescence qui, associée au phénomène de croissance, permet à la pénétration des racines dans le sol (**Kiès, 1977**).

6.5. Synthèse des pigments photosynthétique

Le déficit hydrique chez beaucoup d'espèces, ce traduit par une réduction de la teneur en chlorophylle foliaire, cette réduction est concomitante d'une diminution de la teneur des protéines thylacoïdales associées aux chlorophylles a et b. la réduction de la teneur en pigments chlorophylliens est due soit à une diminution de la synthèse de ces protéines, soit à une activation de leur dégradation (**Guettouche, 1990**).

Le rapport chlorophylle (a/b) est un bon indicateur du seuil de tolérance au stress hydrique. Selon **Tahri et al.,(1997)** l'augmentation de la teneur en proline foliaire sous l'effet du stress suivie par un abaissement dans les teneurs en pigments chlorophylliens totaux (chlorophylles a et b).

De nombreuses autres molécules présentent également des propriétés anti-oxydantes. En fait, certains caroténoïdes jouent le rôle de pigments photosynthétiques secondaires.

L'action anti-oxydante des caroténoïdes repose sur leur capacité à piéger l'oxygène singulet et à neutraliser les radicaux peroxy (**Jaleel et al., 2009**). Ces pigments liposolubles (principalement β -carotènes) participent également à la prévention de la production des ERO, soit par la désactivation des chlorophylles triplet, soit par la dissipation de l'excès énergétique au travers du cycle des xanthophylles (**Demmig et Adams, 1993 ; Farooq et al., 2009**).

Les caroténoïdes sont des pigment rouge, orangés ou jaunes, portés par les plastes, ils permettent aux végétaux d'effectuer la photosynthèse sur des longueurs d'ondes qui ne sont pas absorbées par la chlorophylle (**Heller,1969**).

La chlorophylle est le principal pigment photosynthétique. Elle est présente chez presque tous les organismes photosynthétique et est à l'origine de leur couleur verte car elle absorbe fortement la lumière visible dans les longueurs d'onde correspondant au bleu et au rouge mais laisse filtrer une grande partie de la lumière verte .On dénombre jusqu'à plusieurs centaines de millions de molécules de chlorophylle dans un seul chloroplastes .Deux structures remarquables caractérisent cette molécule :

Un noyau tétra pyrrolique ou chlorine, contenant un atome de magnésium en son centre, une chaîne terpénique ou phytol, constituée de vingt atomes de carbone.

Il existe différentes formes de chlorophylles, dont les seules présentes chez les végétaux supérieurs sont la chlorophylle a et la chlorophylle b, les autres formes (chlorophylle c et d) présentes chez certaines algues ou bactéries .(**Baptiste , Féret , 2009**)

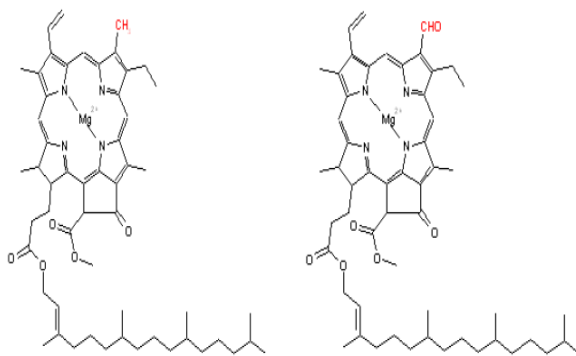


Figure 2 : structure des chlorophylles a (à gauche) et b (à droite).

7. Réponse biochimique à l'adaptation à la sécheresse au niveau foliaire

7.1. Régulation du potentiel hydrique par les osmolites

La diminution du potentiel hydrique du sol en conditions de sécheresse provoque une perte importante de la turgescence au niveau de la plante. Pour maintenir la turgescence, la plante met en place un mécanisme d'ajustement osmotique liée à sa capacité à accumuler certains solutés (Mahajan and Tuteja, 2005).

Une accumulation de différents osmorégulateurs permet la diminution du potentiel osmotique (Chaves et al., 2003):

- Les ions inorganiques, tels que le potassium contribue à 40% environ de l'osmolarité (Gaudillere and Barcelo, 1990).
- Les cyclitols et les polyols, en particulier le mannitol et le sorbitol ont un rôle majeur dans l'ajustement osmotique. Leur concentration augmente chez des plantes en déficit hydrique (Lo Bianco et al., 2000).
- La teneur en acides aminés libres augmente significativement en situation de déficit hydrique, en particulier la proline, l'acide aspartique et l'acide glutamique. Parmi ces acides aminés, la proline joue un rôle particulièrement important. L'accumulation de proline est la 1ère réponse des plantes exposées à un déficit hydrique, et est corrélée avec la tolérance au stress. Elle a également un rôle dans la préservation de la structure des protéines, la réduction de la peroxydation des lipides et le maintien de l'intégrité des membranes (Verslues and Sharma, 2010).
- Les amines quaternaires, tels que la glycine bêtaïne ou l'alanine bêtaïne, s'accumulent lors de différents types de stress chez certaines espèces. Ces molécules ont aussi un rôle dans la stabilisation de la conformation des protéines (Ramachandra et al., 2004).

7.2. Hormones liées à la signalisation de la fonction stomatique

La fonction stomatique est modulée par des signaux chimiques transmis par les racines quand la teneur en eau du sol est réduite. Les molécules impliquées dans la signalisation sont principalement l'acide abscissique (ABA), les cytokinines et l'éthylène.

L'ABA est une hormone synthétisée dans les racines et les feuilles, impliquée dans la croissance, mais également dans la régulation du fonctionnement des stomates. La déshydratation conduit à une augmentation de sa concentration. Il se produit un efflux de K⁺ des cellules de gardes, entraînant une perte de la turgescence conduisant à la fermeture des stomates (**Kim et al., 2010**).

Les cytokinines sont des promoteurs de la division cellulaire, et sont principalement synthétisés dans les racines puis transportés vers les tiges. Lors d'un déficit hydrique, la concentration en cytokinines dans les feuilles diminue ce qui conduit à une sénescence accélérée (**Pospisilova et al., 2000**).

L'éthylène est une phytohormone gazeuse. Tous les tissus végétaux produisent de l'éthylène mais sa biosynthèse augmente lors d'étapes critiques du développement (maturation des fruits, sénescence, germination) mais également en réponse à des variations de l'environnement (sécheresse, chocs thermiques, blessures). Dans le cas de stress abiotiques, l'éthylène est associé à un retard de croissance et à la formation des cheveux racinaires (**Potters et al., 2009**).

7.3. Synthèse des polyphénols totaux

Les composés phénoliques permettant de résister aux diverses agressions vis-à-vis des organismes pathogènes. Ils participent de manière très efficace à la tolérance des végétaux à des stress variés, donc ces composés jouent un rôle essentiel dans l'équilibre et l'adaptation de la plante au sein de son milieu naturel (**Macheix et al., 2005**).

Certains composés tels que les polyphénols, métabolites secondaires (phénols simples, acides benzoïques, phénylpropanoïdes, flavonoïdes, tanins, esters d'hydroxycinnamate et lignine) ont également un important pouvoir antioxydant. Ils sont en abondance dans les tissus végétaux.

Les flavonoïdes ont un effet antioxydant dans la désactivation de l'oxygène, qui est dû à leur structure phénolique et le H₂O₂ et OH (**Gould et al., 2002**). Ils ont également la capacité de modifier la cinétique de la peroxydation par une modification de l'ordre d'emballage de lipides et de diminuer la fluidité des membranes (**Arora et al., 2000**). Ces composés protègent également les plantes des radiations UV et dégradent les ERO générés par ces radiations (**Shirley, 1996**). Les propriétés antioxydantes des polyphénols proviennent de leur forte réactivité que l'hydrogène ou donneurs d'électrons, de l'aptitude du radical polyphénol dérivé de stabiliser et de délocaliser l'électron non apparié et de leur capacité de chélater les ions de métaux de transition (fin de la réaction de Fenton) (**Blokhina et al., 2003 ; Michalak et al., 2006**). Cette capacité générale de chélation des composés phénoliques est probablement liée au caractère nucléophile élevé de cycles aromatiques plutôt qu'à des groupes chélateurs spécifiques au sein de la molécule (**Michalak et al., 2006**).

7.3.1. Classification des polyphénols

Les polyphénols possèdent plusieurs groupements phénoliques avec ou sans autres fonctions (alcooliques, carboxyles...). Dans cette famille de molécules, se trouvent de nombreuses substances, on traite ces trois groupes qui peuvent se classer selon leur structure :

7.3.1.2. Les acides phénols

Les acides phénols, ou acides phénoliques, ont une fonction acide et plusieurs fonctions

Phénols. Ils sont incolores et plutôt rares dans la nature. Ils se divisent en deux catégories : Les acides phénols dérivés de l'acide benzoïque sont très communs, aussi bien sous forme libre que combinée à l'état d'esters ou d'hétérosides (**Haslam 1994**). Exemple : l'acide gallique qui est un élément principal de la structure des tannins hydrolysables (Figure 3).

Les acides phénols dérivés de l'acide cinnamique sont souvent estérifiés. Les plus courants sont l'acide cinnamique, l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide *p*-coumarique et l'acide sinapinique (**Haslam 1994, Bruneton 2009**) ; dont certains sont représentés dans la Figure 1.

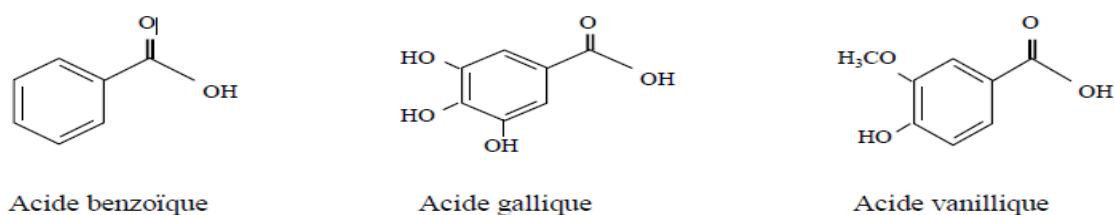


Figure 3. Schéma structurel des trois acides phénols. (*Bruneton 2009, Pawlowska et al. 2006*).

7.3.1.3. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des molécules très répandues dans le règne végétal. Ils font partie de la classe des poly phénols, principaux métabolites secondaires des plantes. Les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune et, de ce fait, présentent le même élément structural de base (sauf exception : chalcones, aurones, isoflavones), à savoir quinze atomes de carbone constitués de deux cycles en C6 (A et B) reliés par une chaîne en C3 (noyau 2-phényl-benzopyrane) (**Bruneton J.1999**).

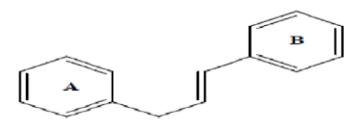


Figure 4 Structure de base des flavonoïdes.

La famille des flavonoïdes peut se diviser en six classes qui diffèrent par leurs structures chimiques : flavanols, flavones, flavonols, flavanones, isoflavones et anthocyanidines (**Meddleton et Kardasnam, 1993**).

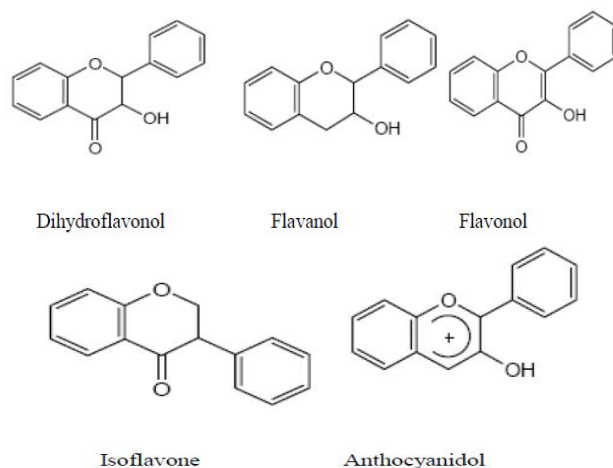


Figure 5 :Structure de quelques classes de flavonoïdes (**Fiorucci, 2006**).

7.3.1.4. Les anthocyanes

Les anthocyanes donnent des couleurs très variées : bleu, rouge, mauve, rose ou rouge. Ces molécules ont, comme les flavonoïdes, un squelette de base en C15 formé de deux cycles A et B, et d'un hétérocycle (cycle C) ; mais leur caractéristique principale est que ce dernier est chargé positivement. Cette charge est due à leur structure de base commune : le cation Flavylium ou 2-phenyl-1-benzopyrylium (**Heller, Forkmann, 1993**).

Les trois anthocyanes principaux sont :

- La pélargonidine : qui a un OH en 4' et donne une couleur rouge-orange.
- La cyanidine : qui a deux OH en 3', 4' ou en 4', 5'. Elle donne une couleur rouge magenta.
- La delphinidine : qui a trois OH en 3', 4', 5'. Elle donne une couleur mauve.

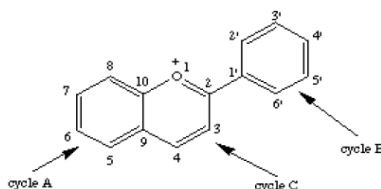


Figure 6 :Structure du cation flavylium ou 2-phényl-1-benzopyrylium (**Heller et Forkmann 1993**).

7.3.1.5. Les voies de synthèse des polyphénols

Ces deux voies sont décrites au niveau de la figure 7.

7.3.1.5.1. La voie de l'acide shikimique

Dans cette voie, l'érythrose 4-phosphate et le phosphoénol pyruvate sont produits par les Hydrates de carbones lors de leur dégradation par la voie des pentoses phosphate et la glycolyse respectivement. Ces derniers sont à l'origine des composés phénoliques C6-C1 formant les tannins hydrolysables et de la chalcone qui est la molécule de base de tous les flavonoïdes et tannins condensés (**Haslam 1994**)

Aussi, il est intéressant de préciser que la tyrosine et la phénylalanine dérivent de cette voie métabolique. En effet, ces deux acides aminés sont des intermédiaires métaboliques entre l'acideshikimique et l'acide cinnamique. (Dewick 1995).

7.3.1.5.2. La voie de l'acide malonique

La glycolyse et l'oxydation aboutissent à la formation de l'acétylCoA donnant le malonate. C'est à travers cette voie que s'effectue la cyclisation des chaînes polycétoniques, obtenues par condensation répétée d'unités « Acétate » qui se fait par carboxylation de l'acétyl-CoA. Cette réaction est catalysée par l'enzyme acétyl-CoAcarboxylase . (Fleeger et Flipse 1964)

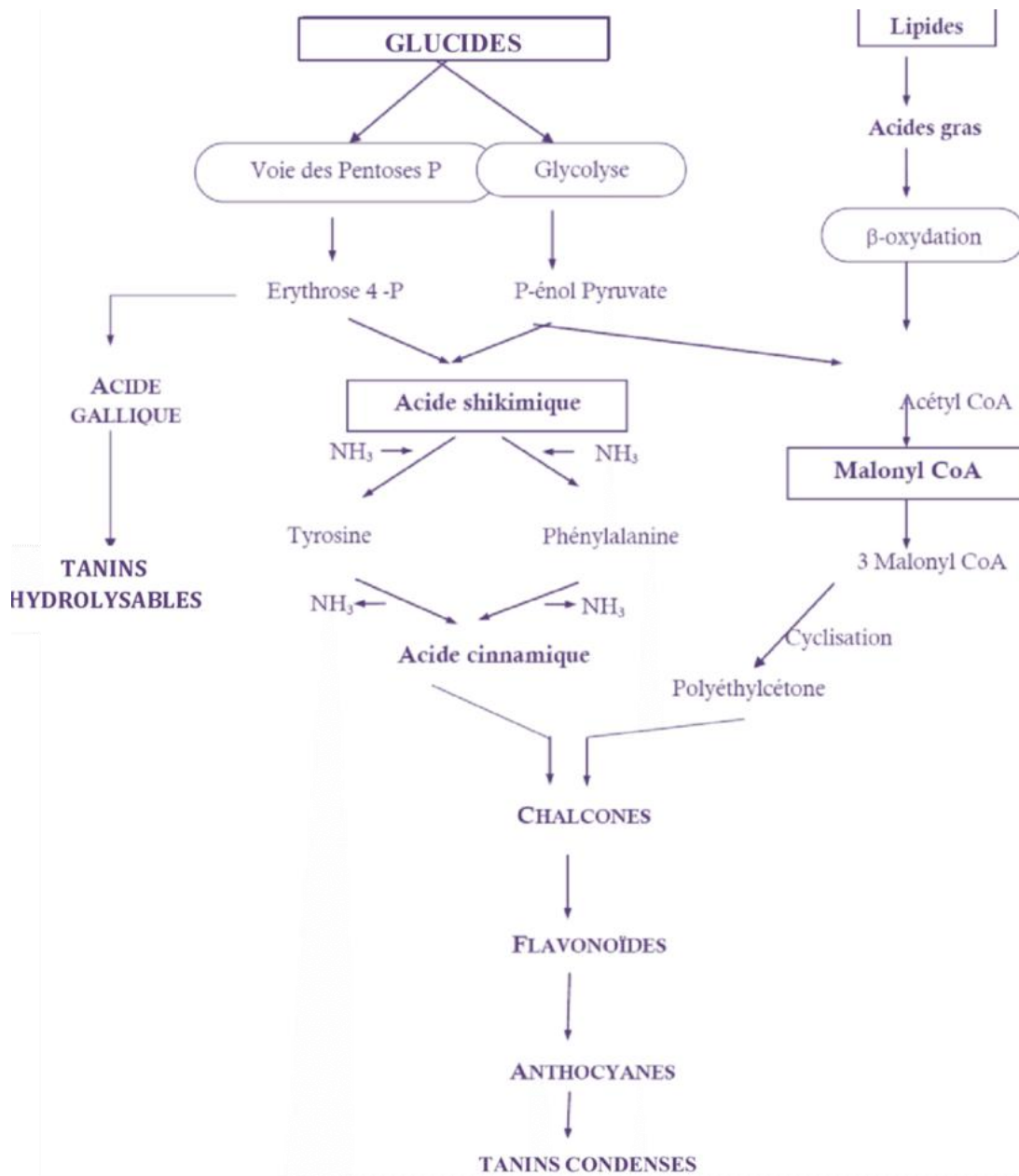


Figure 7 : Représentation des voies de biosynthèse des polyphénols (Chaouch 2014)

8. Description botanique de la plante

8.1. Description

C'est une plante herbacée, vivace, couverte de poils, raides mais non piquants. Ses branches ramifiées, dénuées de vrilles, peuvent atteindre une longueur de 20 à 100 cm.

Les feuilles d'une surface ondulée, de couleur vert claire, la face supérieure est plus pâle. La bordure est sinuée ou dentée (**Baba A, 2011**).

Les fruits forme de baies, hérissés de poiles raides, également verts ; à maturité, ils se détachent du pédoncule de façon brutale et sonore, expulsant la pulpe et les graines a plusieurs mètres alentour ce qui lui a valu son surnom de « giclet ».

Les fleurs mâles et femelles distinctes sur le même pied (plante monoïque), a 5 pétales jaunâtres ; les males réunies en grappes, les femelles solitaires, apparaissent au printemps et perdurent jusqu'à la fin de l'été (**Botineau, 2011**).

Les rameaux sont redressés.

Les racines Charnues et volumineuses (**Adwan et al., 2011**).



Figure 8 : Photos originales d'Ecballium elaterium (L) Rich .

La famille des cucurbitacées bien représentée dans les régions tropicales humide ou modérément sèches .cette famille(environ 700 espèces réparties en une centaine de genres) est peu présente dans les zones tempérées et absente des régions septentrionales .(**Jean Bruneton ,1999**) .

8.2. Nom commun :

Concombre d'âne ,concombre sauvage ,concombre à ressort , concombre explosif ,concombre sauteur, concombre du diable ,cornichon d'âne, cornichon sauteur, cornichon d'attrape, momordique élatère, pistolet des dames , melon de chat,giclet,,touch me not ,ecballie (**Site 1**).

8.3. Systématique

Règne : Plantae

Embranchement : Spermaphytes

S/embranchement : Angiospermes

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Cucurbitales

Famille : Cucurbitacea

Genre : Ecballium

Espèce : *Ecballium elaterium*(L.)Rich.

(Pierre et Déla., 2007).

8.4. Principes actifs

Huile essentielle ; Tanin ; Principe amer (géraliine) ; Cucurbitacines, élatérines ;Alcaloïdes
Acide gras (ecballine,..) ; Résine, mucilage ; Flavonoïdes et Stéroïdes ; Acides aminés,
vitamines (Frédérich, et al, 2016 ; Felhi, 2017).

8.5. Utilisation de la plante

Le suc du fruit frais est, en général, administré par voie nasale. Cette pratique était déjà décrite par Dioscoride qui recommandait de le mélanger à du lait pour le traitement des cirrhoses et de la jaunisse (Mira M, 1995).

8.6. Origine et répartition géographique

La momordique présente en région méditerranéenne de l'Europe, de l'Asie et de l'Afrique du nord ou elle s'aventure jusqu'aux zones semi-arides comme la région de l'ouest algérien et notamment Mostaganem, Nord-ouest algérien la région de Cherchell. Elle affectionne les terrains incultes et les bords des champs et les déblais (Site 2).

Matériels et Méthodes

Matériel et méthodes

1. Site expérimental

Nous avons réalisé notre travail au sein du laboratoire de phytopharmacie et zootechnique du Département de biotechnologie université Blida 1. De mois de mai jusqu'à mois de juin.

Notre travail a porté sur l'étude de l'effet du déficit hydrique sur la production des métabolites secondaires chez *Ecballium elaterium* (L)Rich. Par la mesure de certains caractères morphologiques, physiologiques, biochimique d'adaptation à la sécheresse. La mise en place des boutures s'est déroulée au niveau de la pépinière Echo-vert située dans la région de Blida.

2. Matériel végétal et dispositif expérimental

3. Matériel végétal et conditions de culture

L'expérimentation a été réalisée sur des boutures végétatives d'*Ecballium elaterium* (L)Rich. 200 boutures ont été mises en culture en serre en conditions contrôlées, de température 20°C et une humidité relative de 45, avec un arrosage régulier. De mois de mars jusqu'à mois d'avril.

3.1. Bouturage

Le bouturage se fait par des fragments de 10 à 20cm à partir des plantes dit plantes mères qui doivent être en bon état. Ces boutures sont effeuillées à part de deux à l'extrémité pour réduire l'évapotranspiration, puis elles sont les immergées dans l'eau pendant un ou deux jours. Les boutures qui sont prélevés sont plantées directement dans des pots en plastique d'une contenance de 1L contenant un mélange de substrats (1/2 de tourbe, 1/3 de sol). Les plantes sont ensuite régulièrement arrosées.



Figure 9: Photos originale de la mise en pot d'*Ecballium elaterium* (L) Rich.

2. Dispositif expérimental

2.1. Préparation des pots et le semi

Les boutures ont été réparties en 2 lots de 100 plantes. Nous avons arrosé l'ensemble des plantules un jour sur deux. Après 4 semaines de croissances, les plantes ont été divisés en deux lots, le premier étant régulièrement arrosé à l'eau du robinet et constitue le lot témoin. Le second a été totalement privé d'eau afin d'appliquer le stress par arrêt d'arrosage. Différents points de mesures et de dosages ont été choisi aussi bien pour le lot témoin que le lot stressé qui sont le 1^{ier}, le 5^{ème}, le 10^{ème}, le 15^{ème} et le 20^{ème} jour de l'expérience.

3. Paramètres étudiés

Nous avons analysé le comportement d'*Ecballium elaterium*(L) Rich. vis-à-vis du stress hydrique sur un plant morphologique, physiologique et biochimique.

3.1. Paramètres physiologiques

3.1.1. Teneur relative en eau

Elle est déterminée selon la méthode décrite par (Barrs,1968). Elle consiste en la détermination du pourcentage d'eau présent dans les feuilles excisées. Le poids frais de quatre feuilles est immédiatement pesé après la récolte (**PF**). Les feuilles sont ensuite plongées dans de l'eau distillée pendant 4 à 6 heures à l'abri de la lumière et à température ambiante, puis elles sont pesées afin d'obtenir le poids de turgescence (**PT**). Les feuilles sont ensuite séchées dans une étuve à 70°C et pesées jusqu'à l'obtention d'un poids sec constant (**PS**). La TRE est alors calculée selon la formule suivante :

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

3.1.2. Détermination des poids frais et secs

Dès la récolte, les poids frais (PF) des tiges, des feuilles et des parties aériennes sont pesés. Une fois pesés, les échantillons frais sont mis à l'étuve à 70°C pendant 48h et pesés régulièrement jusqu'à obtention d'un poids constant représentant ainsi le poids sec (PS). L'obtention de ces deux mesures nous a permis également de calculer la teneur en eau foliaire (TEF) d'après la formule suivante :

$$\text{TEF (\%)} = [(PF - PS) / PF] \times 100$$

3.1.3. Dosage des pigments Chlorophylliens et des caroténoïdes

Les pigments chlorophylliens sont extraits et dosés selon la méthode de Lichtentaler (1987). Cent (100) mg de matière végétale fraîche sont broyés dans un mortier avec 4 mL d'acétone 80 %. Le broyat est recueilli dans un tube de 20 ml . Le volume du tube est ajusté à 10 mL avec l'acétone. Les extraits sont centrifugés à 3000 rpm pendant 10 min à 4°C, transférés dans de la glace avant de mesurer l'absorbance au spectrophotomètre.

L'absorbance de la solution est lue à 3 longueurs d'ondes : 663,2 ; 646,8 et 470nm. Les concentrations en chlorophylles sont fournies en mg L^{-1} d'acétone d'après les formules de Lichtentaler:

$$\begin{aligned} \text{Chla (mg.L}^{-1}\text{)} &= 12,25.A_{663,2} - 2,79.A_{646,8} \\ \text{Chlb (mg.L}^{-1}\text{)} &= 21,50.A_{646,8} - (5,10.A_{663,2}) \\ \text{Chl (a+b) (mg.L}^{-1}\text{)} &= 7,15.A_{663,2} - 18,71.A_{646,8} \\ \text{Carot (mg.L}^{-1}\text{)} &= [1000.A_{470} - 1,82.\text{Chla} - 85,02.\text{Chlb}] / 198 \end{aligned}$$

3.2. Paramètres morphologiques

Ces paramètres morphologiques permettent de mesurer l'évolution des plantules.

3.2.1. Croissance en longueur

Nous avons mesuré la longueur des tiges à l'aide d'une règle graduée en (cm).

3.2.2. Nombre de feuille

Nous avons compté le nombre des feuilles de chaque plants (témoin, stressé).

3.2.3. Surface foliaire

Au niveau de chaque traitement prélevé des feuilles sont aléatoirement récoltées et sont étalées sur un papier millimétré en faisant apparait éclairement les rebords. Les feuilles ajustées à la règle ont prises en photos (appareil photo numérique) en gardant le même taux de pixel. Les photos numérisées sont traités par le logiciel Mesurim Pro version 3,4 pour xp, vista ,w7,w8a fin d'évaluer la surface foliaire des plantules traitées.

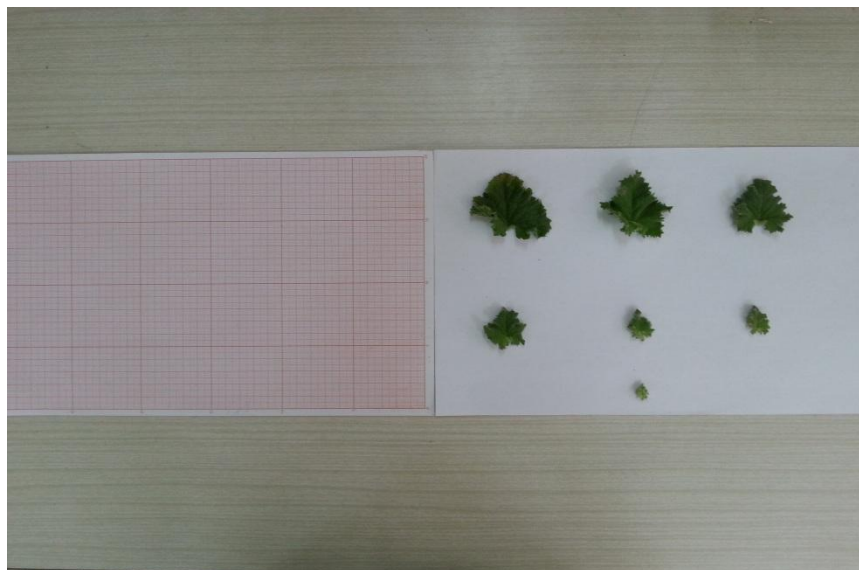


Figure 10: photos originale avant l'utilisation de logiciel Mesurim chez une plante témoin.

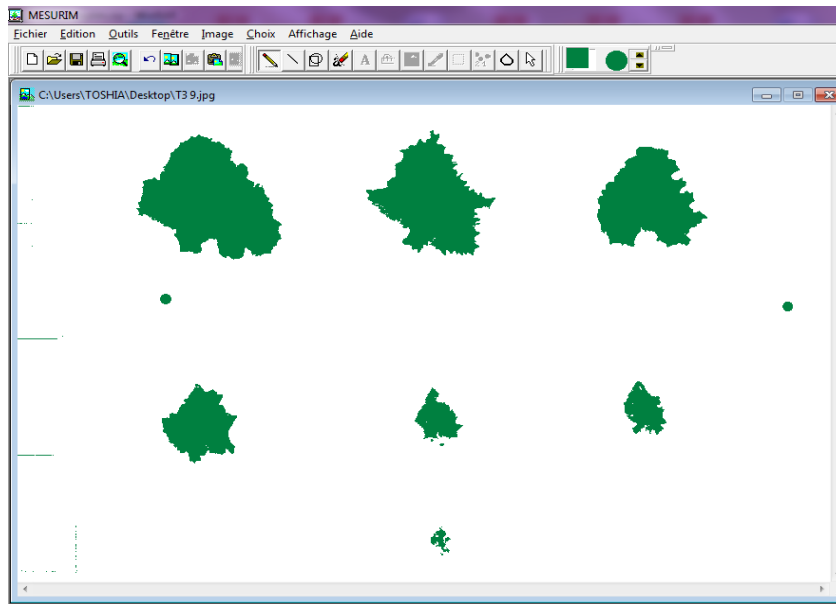


Figure 11: Photos originale après l'utilisation de logiciel Mesurium chez une plante témoin.

3.2.4. Etude anatomique des tissus conducteurs *d'Ecballium elaterium* (L) Rich

3.2.4.1. Protocole expérimentale

Nous avons réalisé plusieurs coupes transversales de la tige *d'Ecballium elaterium* (L) Rich .a l'aide d'une lame de rasoir .

3.2.2. Méthodes d'étude anatomique

Les étapes ci-dessous présentent une étude anatomique que nous avons faite au niveau des organes aériens (tige) des plantes *d'Ecballium elaterium* (L) Rich. Grossissements 40.

3.2.4.3. Réalisation des coupes transversales

Nous avons effectué des coupes très minces transversales au niveau des tiges et en tenant directement l'organe végétal à la main par lame de rasoir.

Ensuite, nous avons choisi les meilleures coupes à la fin de l'opération. Pour leur coloration d nous avons utilisé la méthode de la double coloration par le rouge de Congo et le bleu de méthylène

Les coupes réalisées sont placées dans de l'eau de javel pendant (cc) 15 à 20 mn. Cette opération entraîne la destruction du contenu cellulaire tout en conservant les parois.

Nous avons ensuite lavé les coupes avec de l'eau distillée plusieurs fois pour éliminer les traces de l'eau de Javel et favoriser la fixation des colorants dans les étapes à venir.

A l'aide d'une pipette mettre quelques gouttes de l'acide acétique et laisser pendant 2mn pour bien fixer les colorants.

Nous avons lavé les coupes par l'eau distillée une seule fois pour éliminer les traces de l'acide acétique (CH-COOH), (1% de CH-COOH avec 99% de l'eau distillée).

A l'aide d'une pipette mettre quelque gouttes de bleu de méthylène et laisser pendant 2mn au maximum Ce qui entraîne des colorations des éléments lignifiés (liège en vert – bois en bleu – parenchyme en rose – sclérenchyme en violet).

Nous avons lavé les coupes par l'eau distillée plusieurs fois pour éliminer les traces de bleu de méthylène.

A l'aide d'une pipette mettre quelque goutte de rouge de Congo et laisser pendant 10mn ce qui entraîne une coloration rose des parois cellulosesiques.

A l'aide d'une pipette mettre quelques gouttes de l'acide acétique et laisser pendant 2mn pour bien fixer les colorants.

Nous avons lavé les coupes par l'eau distillée une seule fois pour éliminer les traces de l'acide acétique (CH-COOH).

Ensuite nous avons lavé les coupes par l'eau distillée plusieurs fois pour éliminer les traces de rouge de Congo.

3.2.4.4. Montage pour observation au microscopique

Nous avons déposé Chaque coupe sur une lame porte-objet contenant une goutte d'eau, puis recouverte délicatement d'une lamelle porte-objet.

3.3. Paramètres biochimiques

3.3.1. Les phénols totaux

600 mg Après homogénéisation de matière végétale broyées sur la glace dans 4 mL de méthanol 80%, les échantillons sont centrifugés à 10 000 g pendant 20 minutes. A 20 μ L d'extrait sont ajoutés 1,58mL d'eau déminéralisée et 100 μ L de réactif Folin-Ciocalteu ; le mélange est incubé pendant 1 à 8 minutes. Au terme de l'incubation, 300 μ L de carbonate de sodium 20% sont ajoutés afin de favoriser un milieu alcalin pour démarrer la réaction d'oxydoréduction et le mélange est incubé une seconde fois 2h à température ambiante dans l'obscurité totale. L'absorbance est lue à 765nm au spectrophotomètre (UV-1800, Shimadzu). La courbe étalon est préparée à partir de solution mère d'acide gallique 5g.l⁻¹. Les dilutions préparées varient de 0 à 500mg.L⁻¹

3.3.2. Les flavonoïdes totaux

Les flavonoïdes totaux ont été déterminés en utilisant la méthode de Dewanto et al. (2002) utilisant le trichlorure d'aluminium et la soude. Le trichlorure d'aluminium forme un complexe jaune avec les flavonoïdes et la soude forme un complexe de couleur rose qui absorbe dans le visible à 510 nm.

600 mg de matière végétale broyées sur la glace ont été homogénéisés dans 4 mL de méthanol 80% puis centrifugés à 2000 g pendant 20 min. A 250 μ L d'extrait végétal sont ajoutés 1,25 mL d'eau déminéralisée et 75 μ L de nitrite de sodium NaNO₂ 5%. Après une incubation de 6 minutes, 150 μ L de trichlorure d'aluminium AlCl₃ sont ajoutés et le mélange est incubé pendant 5 minutes. 500 μ L de NaOH 1M sont ajoutés et le mélange est porté à 2.5ml avec de l'eau déminéralisée. L'absorbance est lue à 510 nm au spectrophotomètre (UV-1800, Shimadzu).

La courbe étalon est préparée à partir de solution mère de catéchine à 1g.mL⁻¹. Les dilutions préparées varient de 50 à 500mg.ml⁻¹

3.3.3. Les anthocyanes

Les anthocyanes ont été extraits selon le protocole de Pietrini et al (2002). La matière végétale est homogénéisée dans du méthanol acidifié (HCl 1%) puis maintenue à 4 °C. pendant 4h afin d'éviter la dégradation des chlorophylles dont les produits pourraient interférer avec l'absorbance des anthocyanines à 530 nm. Les débris ont été éliminés par centrifugation à 10 000 g pendant 30 minutes et le surnageant a été filtré sur papier Whatmann. L'absorbance est lue sur un surnageant limpide à 530 et 657nm en prenant en compte l'interférence avec les chlorophylles. Les anthocyanes sont mesurés selon le protocole de Mancinelli (1984) en utilisant l'équation $A_{530} - 0.25.A_{657}$ et les teneurs en anthocyanes sont exprimées en quantité équivalente de Cyanidine -3-glucoside par 100 g de poids sec en utilisant son coefficient d'extinction molaire (29 600 L.mol⁻¹.cm⁻¹) et son poids moléculaire de 449,2 g.mol⁻¹.

4. Analyse statistique

Les logiciels STATISTICA (Version 10.0 ; Statsoft Inc.2011), et Excel Microsoft Office 2010 ont été utilisés pour les analyses statistiques et la conception des graphiques. Les valeurs présentées dans les différents graphiques et tableaux représentent les moyennes de 5 répétitions \pm l'écart type de cette moyenne. Nous avons utilisé les tests de l'analyse des variances ANOVA pour évaluer l'effet du stress hydrique sur les différents paramètres physiologiques et biochimiques *Ecballium elaterium* (L)Rich. a le test post hoc de Tukey et le test SNK pour déterminer les groupes homogènes et faire ressortir les différences significatives entre les moyennes des échantillons témoins et stressés au seuil de $P < 0,05$, $P < 0,01$ et $P < 0,001$. Enfin le calcul du coefficient de corrélation (r) nous a permis d'évaluer le lien et le profil d'évolution de certains paramètres mis deux à deux.

Résultats et Discussions

1. Effet du déficit hydrique sur le statut hydrique de la plante

1.1. La Teneur en Eau (TRE)% :

La teneur relative en eau des plants témoins et plants stressés sont présentés dans le graphe ci dessous.

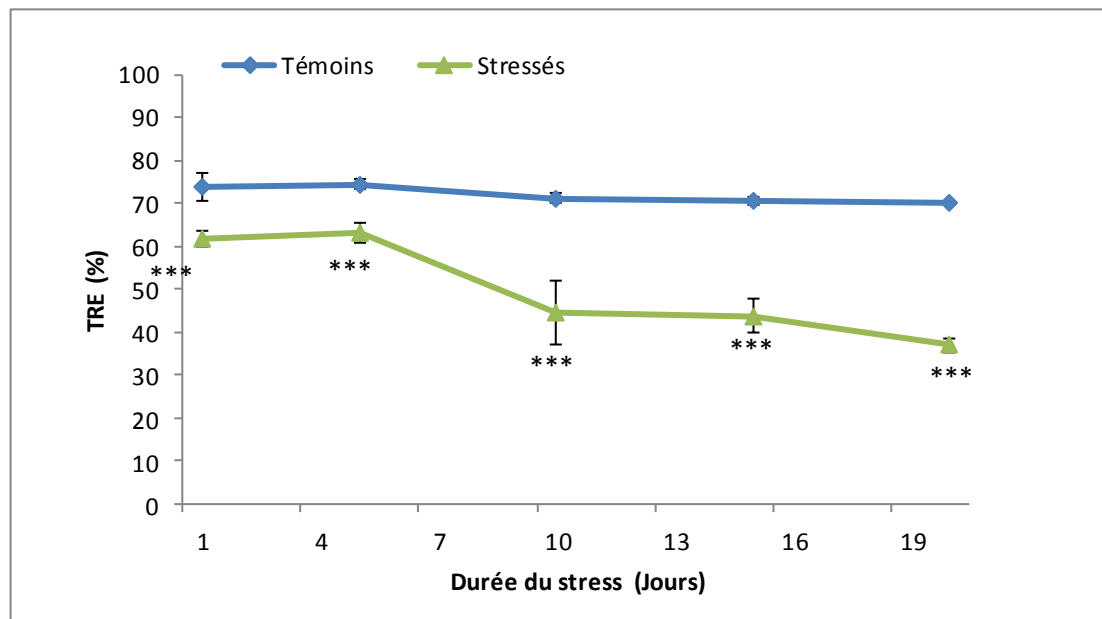


Figure 12: Effet du déficit hydrique sur la Teneur Relative en Eau (TRE)% des plants d'*Ecballium elaterium* (L) Rich , Chaque valeur représente la moyenne de cinq répétitions, les barres verticales représentent l'erreur standard, * P < 0.05, ** P < 0.01 ou *** P < 0.001 représentent les niveaux de significativité des différences entre les témoins et stressées pour chaque point d'application du stress évalué par le test multiple de Tukey.

La TRE des plants témoins reste stable tout au long de notre expérimentation avec des moyennes variant entre $73,82 \pm 3,34$ % au 1^{er} jour ; $71,19 \pm 1,02$ % au 10^{ème} jour et $69,87 \pm 0,25$ % jusqu'au 20^{ème} jour d'arrêt d'arrosage.

En parallèle, chez les plants stressés, la TRE diminue en fonction de la durée du déficit.

Nous avons marqué une valeur moyenne de $61,67 \pm 1,72$ % au 1^{er} jour et $44,37 \pm 7,46$ % au 10^{ème} jour d'arrêt d'arrosage.

Au 15^{ème} jour d'expérimentation nous avons enregistré une moyenne de $43,76 \pm 3,86$ % d'arrêt d'arrosage.

Le 20^{ème} jour la valeur moyenne de la TRE enregistré était de $36,96 \pm 1,66\%$ d'arrêt d'arrosage.

Nous avons marqués une différence hautement significative dès le 1^{er} jour de traitement jusqu'au 20^{ème} jour ($P < 0.001$).

1.2. Effet du stress hydrique sur la croissance

1.2.1. La production de la biomasse sèche

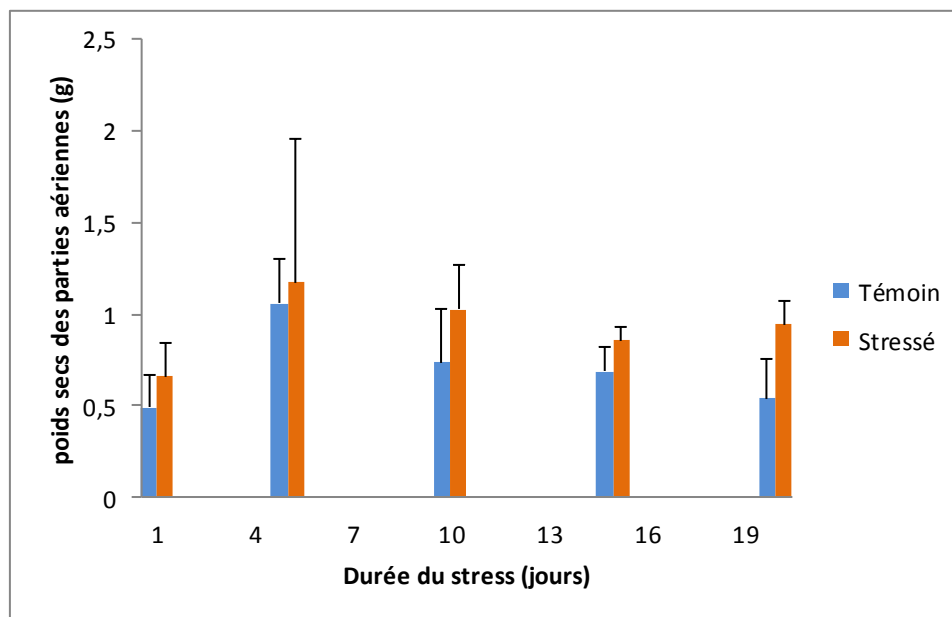


Figure 13: Effet du déficit hydrique sur l'évolution des poids secs des parties aériennes(g) des plants d'*Ecballium elaterium* (L) Rich. Chaque valeur représente la moyenne de cinq répétitions, les barres verticales représentent l'erreur standard, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ ou *** $P < 0.001$ représentent les niveaux de significativité des différences entre les témoins et stressés pour chaque point d'application du stress évalué par le test multiple de Tukey

La production de la biomasse sèche est absolument supérieure chez les plants stressés que chez les plants témoins.

Chez les plans témoins la production de la biomasse sèche au 1^{er} jour est d'une valeur minimal $0,49 \pm 0,17$ g d'arrêt d'arrosage.

Par contre nous avons remarqué une augmentation stable du 5^{ème} au 20^{ème} jour avec des valeurs moyenne de $1,05 \pm 0,24$ g et $0,53 \pm 0,214$ g d'arrêt d'arrosage.

Chez les plants stressés La production de la biomasse sèche est stable tout au long de l'expérimentation avec une moyenne de $0,93 \pm 0,192$ g

Il existe aucune différence significative.

1.2.2. La production de la biomasse fraîche

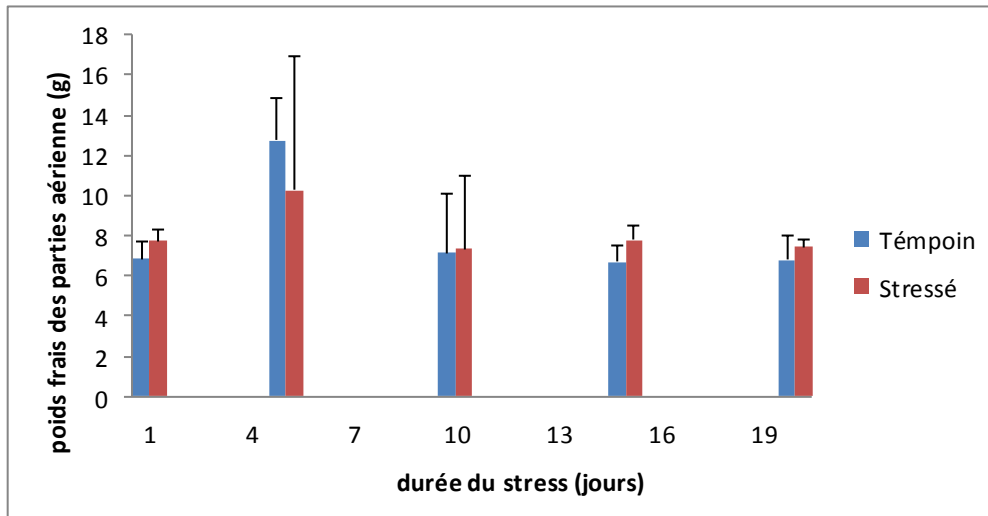


Figure 14: Effet du déficit hydrique sur l'évolution des poids frais des parties aériennes (g) des plantes d'*Ecballium elaterium* (L) Rich. Chaque valeur représente la moyenne de cinq répétitions, les barres verticales représentent l'erreur standard * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ ou *** $P < 0.001$ représentent les niveaux de significativité des différences entre les témoins et stressés pour chaque point d'application du stress évalué par le test multiple de Tukey.

La production de la biomasse fraîche chez les plants témoins a marqué une valeur maximale moyenne $12,74 \pm 2,10$ g au 5^{ème} jour d'arrêt d'arrosage.

Du 10^{ème} au 20^{ème} jour la production de la biomasse fraîche reste stable avec des moyennes $7,12 \pm 2,94$ g et $6,81 \pm 1,18$ g d'arrêt d'arrosage.

La production de la biomasse fraîche chez les plants stressés est presque stable durant toute la durée d'expérimentation avec une valeur moyenne $8,11 \pm 1,21$ g d'arrêt d'arrosage.

1.3 Effet du déficit hydrique sur les pigments photosynthétiques

1.3.1 Teneur en chlorophylle (A)

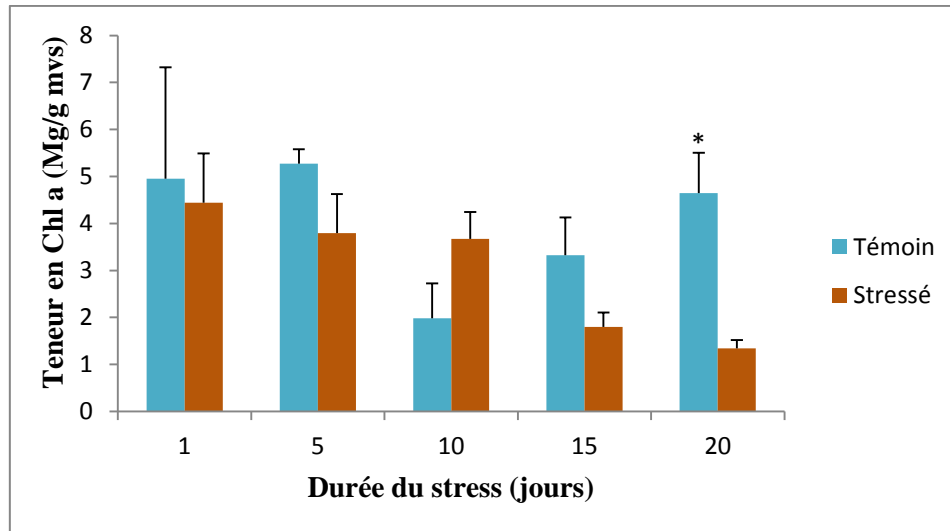


Figure 15 : Effet de déficit hydrique sur la teneur en chlorophylle a des plants de *Ecballium elaterium(L)Rich*. Chaque valeur représente la moyenne de 3 répétitions, les barres verticales représentent l'erreur standard, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ ou *** $P < 0.001$ représentent les niveaux de significativité des différences entre les témoins et stressées pour chaque point d'application de stress hydrique évalué par le test multiple de Tukey

Chez les plants témoins une valeur moyenne de $4,95 \pm 2,37$ Mg/g MVS était enregistré au 1^{er} jour d'arrêt d'arrosage.

Par contre au 10^{ème} jour nous avons enregistré une diminution modérée de la teneur en chlorophylle a avec une valeur moyenne de $1,98 \pm 0,74$ Mg/g MVS.

En effet une reprise d'augmentation au 15^{ème} et 20^{ème} jour où nous avons enregistré une teneur en chlorophylle moyenne de $3,32 \pm 0,80$ Mg/g MVS et $4,64 \pm 0,85$ Mg/g MVS respectivement

La teneur en chlorophylle (A) chez les plants stressés a marqué une faible diminution du 1^{er} au 10^{ème} jour avec une moyenne de $4,44 \pm 1,05$ Mg/g MVS au 1^{er} jour et $3,67 \pm 0,57$ Mg/g MVS au 10^{ème} jour.

Une valeur moyenne de $1,80 \pm 0,30$ Mg/g MVS était enregistré eau 15^{ème} jour et $1,34 \pm 0,17$ Mg/g MVS au 20^{ème} jour d'arrêt d'arrosage.

1.3.2 Teneur en chlorophylle (B)

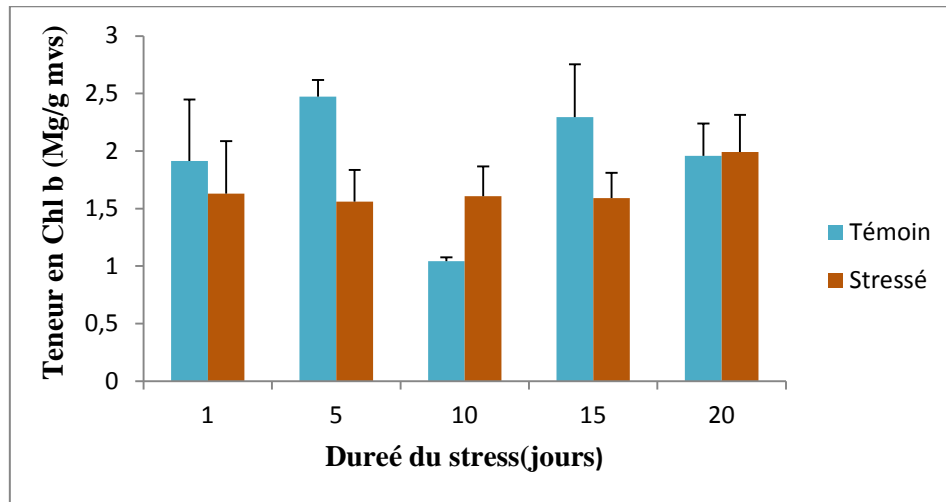


Figure 16: Effet de déficit hydrique sur la teneur en chlorophylle b des plants de *Ecballium elaterium*(L)Rich. Chaque valeur représente la moyenne de 3 répétitions, les barres verticales représentent l'erreur standard, * P < 0.05, ** P < 0.01 ou *** P < 0.001 représentent les niveaux de significativité des différences entre les témoins et stressés pour chaque point d'application de stress hydrique évalué par le test multiple de Tukey.

La moyenne la plus élevée de la teneur en chlorophylle (b) est enregistrée pour le 5^{ème} jour d'arrêt d'arrosage chez les plants témoins ($2,47 \pm 0,14$ Mg/g MVS)

En opposition la moyenne la plus faible de la teneur en chlorophylle (b) est enregistrée pour le 10^{ème} jour d'arrêt d'arrosage ($1,04 \pm 0,031$ Mg/g MVS)

Chez les plants stressés, aucune différence significative de la teneur en chlorophylle (b) n'est enregistrée ; elle est stable avec une moyenne ($1,67 \pm 0,17$ Mg/g MVS).

1.3.3 Le rapport chlorophylle A/B

Tableau 1: Effet de déficit hydrique sur le rapport chlorophylle (A/B) des plants de *Ecballium elaterium*(L) Rich. Chaque valeur représente la moyenne de 3 répétitions, les barres verticales représentent l'erreur standard,* P < 0.05, ** P < 0.01 ou *** P < 0.001 représentent les niveaux de significativité des différences entre les témoins et stressés pour chaque point d'application de stress hydrique évalué par le test multiple de Tukey.

		Durée de stress (jours)	Témoin	Stressé
Rapport Chl A/B	Jrs 1		1,21 ± 0,70	1,89 ±1,02
	Jrs 5		1,57 ± 0,21	1,72 ±1,02
	Jrs 10		0,89 ± 0,06	1,45 ± 0,27
	Jrs 15		0,94 ± 0,42	0,76 ± 0,09
	Jrs 20		1,63 ± 0,21	0,40 ± 0,08 *

Le rapport chlorophylle A/B des plants témoins est plus ou moins stable avec $1,25 \pm 0,34$ Mg/g MVS.

Le rapport chlorophylle A/B des plants stressés est en diminution continue passant de $1,89 \pm 1,02$ Mg/g MVS au 1^{er} jour à $0,40 \pm 0,08$ Mg/g MVS au 20^{ème} jour.

Apparition d'une différence significative de rapport chlorophylle A/B chez les plants témoin et stressés au 20^{ème} (P<0.05).

1.3.4 Teneur en caroténoïde

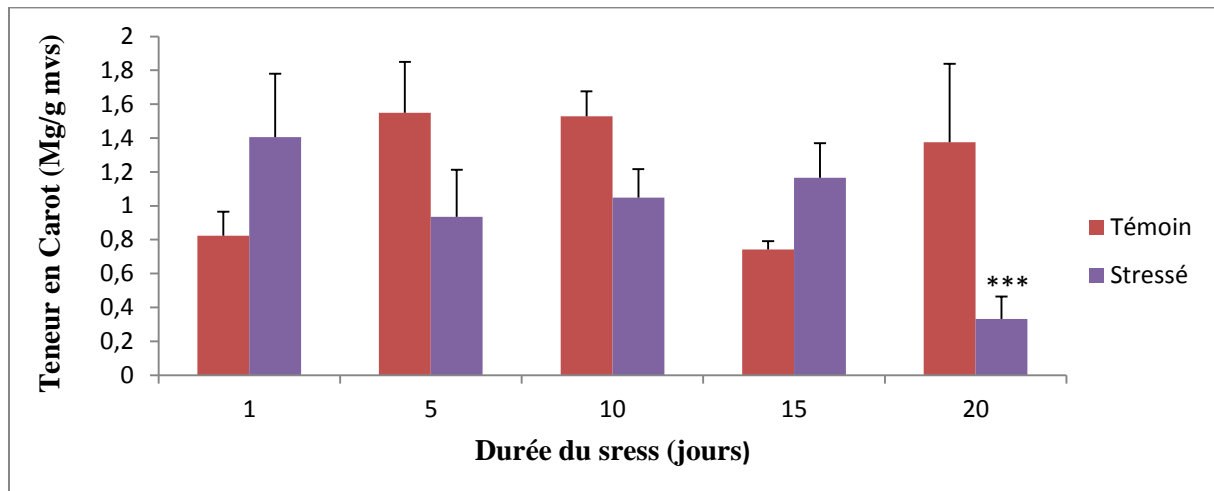


Figure 17 : Effet de déficit hydrique sur la teneur en caroténoïde des plants de *Ecballium elaterium* (L)Rich. Chaque valeur représente la moyenne de 3 répétitions, les barres verticales représentent l'erreur standard, * P < 0.05, ** P < 0.01 ou *** P < 0.001 représentent les niveaux de significativité des différences entre les témoins et stressés pour chaque point d'application de stress hydrique évalué par le test multiple de Tukey. La différence est significative au 20^{ème} jour (p<0.001).

Les teneurs en caroténoïde chez les plants témoins sont stables tout au long de l'expérimentation avec des valeurs moyennes de 0,82±0,140 Mg/g MVS au 1^{er} jour et 1,37±0,46 Mg/g MVS au 20^{ème} jour

Les teneurs en caroténoïdes chez les plants stressés sont stables du 1^{er} jour au 15^{ème} jour avec des valeurs moyennes de 1,40±0,37Mg/g MVS et 1,16 ±0,20Mg/g MVS.

Au 20^{ème} jour nous avons remarqué une faible diminution d'une moyenne 0,33 ± 0,13Mg/g MVS.

Du 1^{er} et 15^{ème} jours la teneur en caroténoïde est supérieure chez les plants stressés que chez les plants témoins.

Par contre au 5^{ème}, 10^{ème}, 20^{ème} jours la teneur en caroténoïde est inférieure chez les plants stressés que chez les plants témoins.

1.4 La croissance caulinaire (la surface et la longueur des tiges)

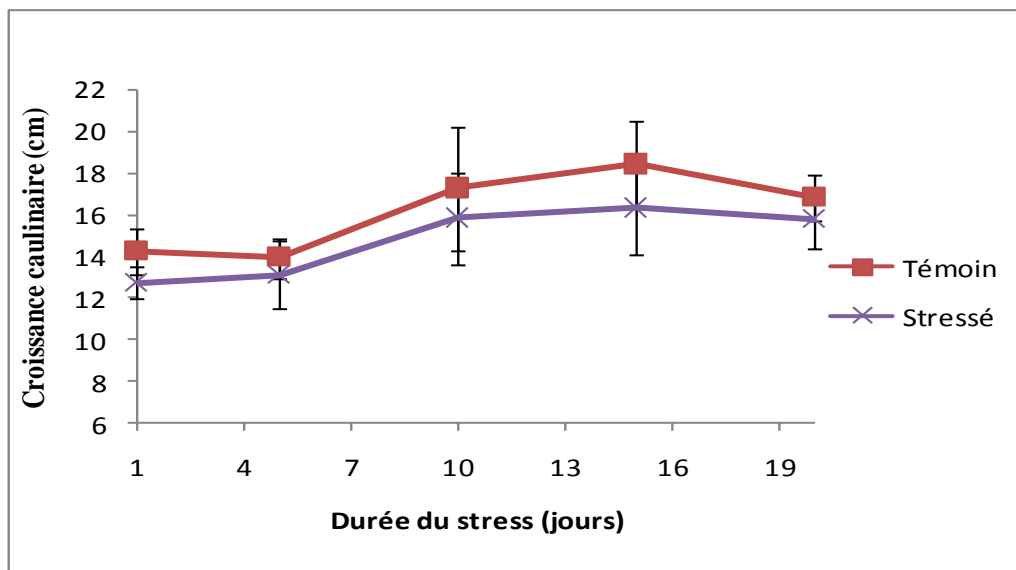


Figure 18: Effet du déficit hydrique sur l'évolution de la hauteur des tiges (cm) Des plants d'*Ecballium elaterium* (L) Rich. Chaque valeur représente la moyenne de cinq répétitions, les barres verticales représentent l'erreur standard, * P < 0.05, ** P < 0.01 ou *** P < 0.001 représentent les niveaux de significativité des différences entre les témoins et stressés pour chaque point d'application du stress évalué par le test multiple de Tukey.

La croissance en hauteur des plants témoins ainsi que les plants stressés est en augmentation continue du 1^{er} au 20^{ème} jour de l'expérimentation d'arrêt d'arrosage.

Chez les plants témoins nous avons enregistré des tailles de valeur moyenne de 14,22 ± 1,09 (cm) au 1^{er} jour d'expérimentation, et 17,26 ± 2,99 (cm) au 10^{ème} jour, de 16,82 ± 1,07 (cm) au 20^{ème} jour.

En effet, Nous avons marqué chez les plants stressés des tailles de valeur moyenne de 12,74 ± 0,75 (cm) au 1^{er} jour et une moyenne 15,82 ± 2,20 (cm) le 10^{ème} jour, 15,76 ± 1,38 (cm) pour le 20^{ème} jour.

La croissance caulinaire n'a pas affectée par le déficit hydrique, il existe aucune différence significative.

1.5 Nombre de feuilles

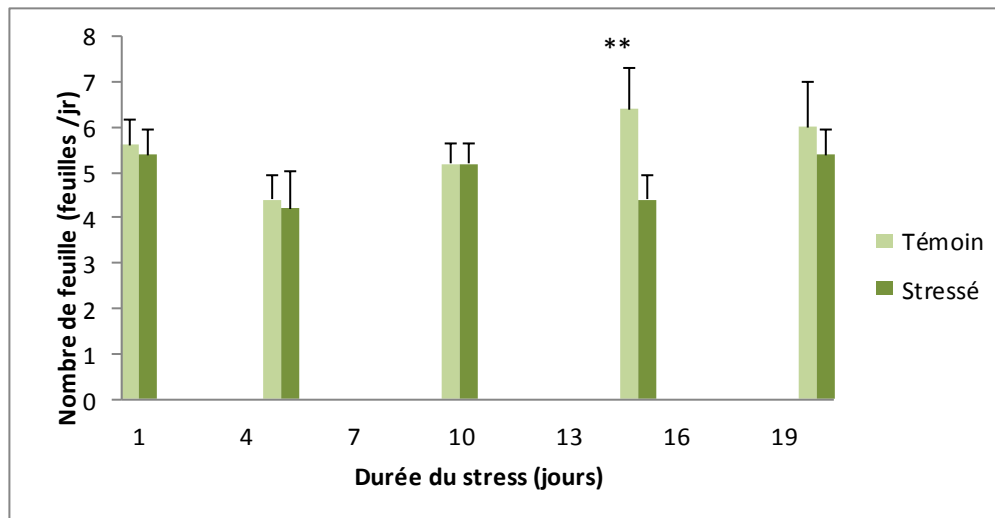


Figure 19: Effet de l'application du stress sur l'évolution du nombre des feuilles (feuille /jour) des plants d'*Ecballium elaterium* (L) Rich. Chaque valeur représente la moyenne de cinq répétitions, les barres verticales représentent l'erreur standard. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ ou *** $P < 0.001$ représentent les niveaux de significativité des différences entre les témoins et stressés pour chaque point d'application du stress évalué par le test multiple de Tukey.

Le nombre de feuilles est stable chez les plants témoins ainsi que les plants stressés tout au long de l'expérimentation.

Chez les plants témoins nous avons enregistré une valeur moyenne $5,6 \pm 0,54$ (feuille /jour) au 1^{er} jour et $5,2 \pm 0,44$ (feuille /jour) au 10^{ème} jour, 6 ± 1 (feuille /jour) au 20^{ème} jour d'arrêt d'arrosage.

En parallèle le nombre de feuilles chez les plants stressés nous avons enregistré une valeur moyenne $5,4 \pm 0,54$ (feuille /jour) au 1^{er} jour et $5,2 \pm 0,44$ (feuille /jour) au 10^{ème} jour, $5,4 \pm 0,54$ (feuille /jour) au 20^{ème} jour d'arrêt d'arrosage.

Apparition d'une différence significative au 15^{ème} jour ($P < 0,01$).

1.6 La surface foliaire

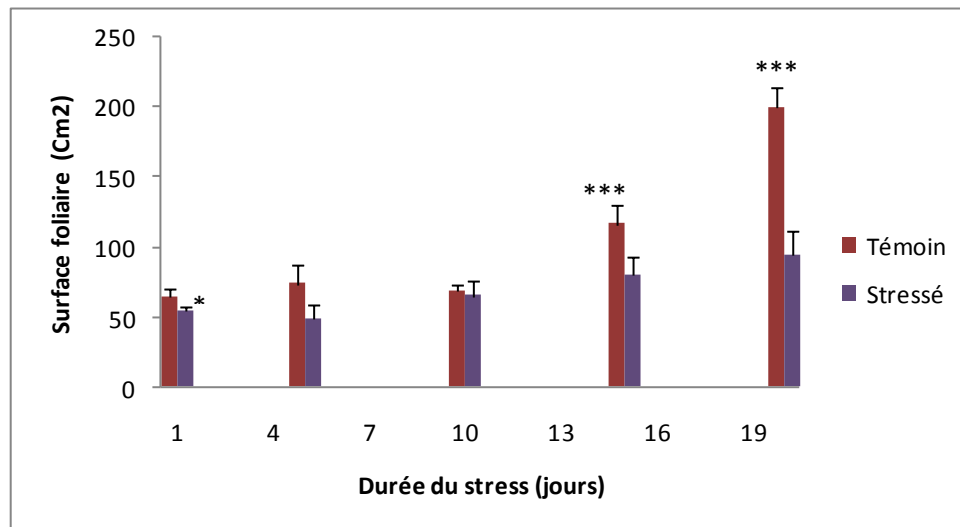


Figure 20: Effet de l'application du stress sur l'évolution de la surface foliaire (cm²) feuille/jr. des plants d'*Ecballium elaterium* (L) Rich. Chaque valeur représente la moyenne de cinq répétitions, les barres verticales représentent l'erreur standard. * P < 0.05, ** P < 0.01 ou *** P < 0.001, représentent les niveaux de significativité des différences entre les témoins et stressés pour chaque point d'application du stress évalué par le test multiple de Tukey.

L'évolution de la surface foliaire est absolument supérieure chez les plants témoins que chez les plants stressés.

L'évolution de la surface foliaire est stable chez les plants témoins de 1^{er} au 10^{ème} jour avec des valeurs moyennes $64,55 \pm 6,067$ (cm²) et $68,63 \pm 4,12$ (cm²) d'arrêt d'arrosage.

En opposition en remarque une augmentation du 10^{ème} au 20^{ème} jour avec des valeurs moyenne $199,75 \pm 14,48$ (cm²) au 20^{ème} jour d'arrêt d'arrosage.

Chez les plants stressés l'évolution de la surface foliaire augmente durant toute la période expérimentale avec une moyenne de $53,99 \pm 3,246$ (cm²) au 1^{er} jour et $94,39 \pm 16,95$ (cm²) au 20^{ème} jour d'arrêt d'arrosage.

Apparition d'une différence significative au 5^{ème} jour (P < 0.05) et (P < 0.001 au 15^{ème}, 20^{ème} jour).

1.7 Observations microscopiques

Nous avons observées les coupes préparées sous microscope photonique $\times 40$.

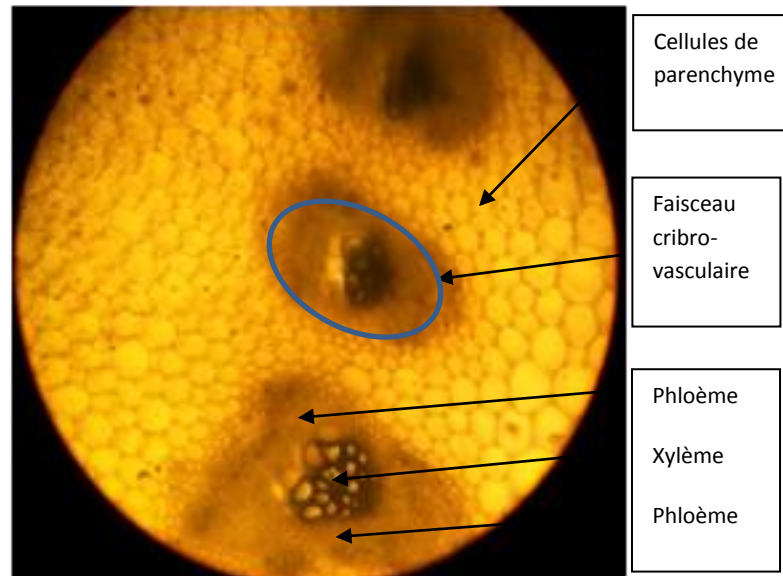


Figure18 : coupe transversale d'une tige des plants témoins d'*Ecballium elaterium* (L) Rich

1.8 Discussion

Nos résultats montrent que *L'Ecballium elatereium* (L) Rich. réagi à différents niveaux du stress hydrique appliqué, par des modifications morphologiques, physiologiques et métaboliques (Ouvrard et al., 1996).

La teneur en eau diminue en fonction de l'intensité du stress, avec des différences significative entre les plants témoins et stressé.

(Matin et al 1989) suggère que les génotypes qui arrivent à maintenir une teneur relative en eau élevée sous stress hydrique sont des génotypes les plus tolérants à la sécheresse. Ainsi, (Levit.,1980) constate que la capacité de maintenir un TRE élevé a été considérée comme un mécanisme qui permet à la plante d'esquiver la déshydratation.

La teneur en eau diminue lorsque le stress augmente, mais elle diminue plus vite chez les variétés sensibles que chez les variétés résistantes. La teneur en eau en plus de sa relation avec le volume cellulaire reflète plus précisément la balance entre l'eau disponible dans la feuille et le taux de transpiration, le potentiel osmotique et de turgescence(Scofield et al., 1988).

Notre résultat est en accord avec le travail de (**yousfi et al.,2010**) sur medicago, sur le pois chiche (**Derya et al.,2010**).

La réduction de la croissance aérienne observée au niveau des plantules s'explique par des augmentations des taux de certains régulateurs de croissance, notamment l'acide abscissique et les cytokinines.(**Benmahioul et al., 2009 ; Kuiper et al, 1990**).

Selon **Zhu (2001)** la réduction de croissance des parties aériennes est une capacité adaptative nécessaire à la survie des plantes exposées à un stress abiotique.

L'application du stress affecte en faible pourcentage les hauteurs des tiges des plants stressés .Nos résultats sont conformes à ceux rapportés par (**Thakur et Rai, 1982**), le déficit hydrique entraîne un retard dans la croissance végétale. Il se traduit par une réduction de la hauteur et du diamètre de la tige, un raccourcissement des entre-nœuds et une diminution du nombre de feuilles et de la surface foliaire.

La croissance de la plante est réduite à cause de la réduction de la photosynthèse provoquée par le stress hydrique, ce qu'il confirme nos résultats. 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**).

Selon **Leps (2000)**, les déficits hydriques longs se traduisent par des changements progressifs dans la structure de la plante qui visent à réduire sa surface transpirante, mais qui induisent également une baisse de sa production au début du cycle végétatif qu'il explique la diminution de la surface foliaire d'*ecballium elaterium (L) Rich.*

La réalisation d'une coupe transversale au niveau de la tige des plantes témoins d'*Ecballium elaterium (L)Rich.* Sous microscope $\times 40$. Indique qu'il existe des Faisceaux cribro-vasculaires, caractérisés par la présence de phloème au-dessus et au-dessous du xylème.

Nous avons observé également que les vaisseaux du xylème sont très nombreux et de petite taille. Pas de vaisseaux de metaxylème, il y a seulement des vaisseaux de proto xyleme.

Les cellules de parenchyme sont de petite taille.

2. Effet du déficit hydrique sur le métabolisme secondaire

2.1. Effet du déficit hydrique sur l'accumulation des polyphénols totaux

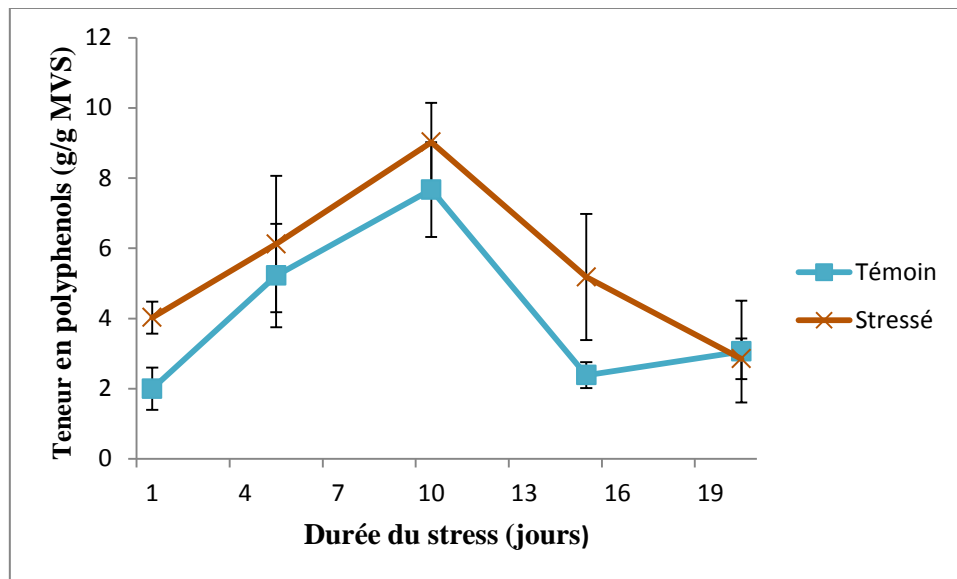


Figure 21: Effet de déficit hydrique sur la teneur en polyphénols totaux des plants de *Ecballium elaterium*(L)Rich. Chaque valeur représente la moyenne de 3 répétitions, les barres verticales représentent l'erreur standard, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ ou *** $P < 0.001$ représentent les niveaux de significativité des différences entre les témoins et stressés pour chaque point d'application de stress hydrique évalué par le test multiple de Tukey.

La teneur en polyphénols totaux était en augmentation continue aussi bien chez les plants stressés que chez les plants témoins, du 1^{er} au 10^{ème} jour d'arrêt d'arrosage.

Au 10^{ème} jour, on remarque une diminution soudaine chez les plants stressés que chez les plants témoins, cette diminution est continue jusqu'au 20^{ème} jour.

La teneur en polyphénols totaux est nettement supérieure chez les plants stressés que chez les plants témoins. Il existe aucune différence significative toute au long de la durée d'expérimentation.

2.2 Effet du déficit hydrique sur l'accumulation des flavonoïdes

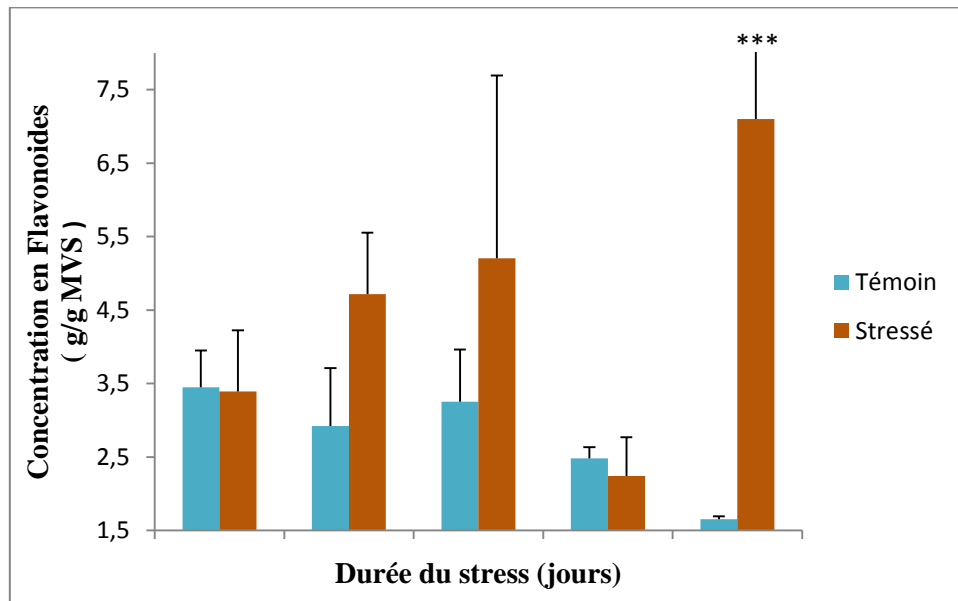


Figure 22: Effet de déficit hydrique sur la teneur en flavonoïde des plants de *Ecballium elaterium* (L) Rich. Chaque valeur représente la moyenne de 3 répétitions, les barres verticales représentent l'erreur standard, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ ou *** $P < 0.001$ représentent les niveaux de significativité des différences entre les témoins et stressées pour chaque point d'application de stress hydrique évalué par le test multiple de Tukey.

Du 1^{er} au 10^{ème} jour d'arrêts d'arrosages Les teneurs en flavonoïdes chez les plants témoins sont restées stable avec des moyennes variant entre $3,44 \pm 0,49$ g/g MVS et $3,25 \pm 0,71$ g/g MVS respectivement.

Pareillement nous avons noté une chute de teneur en flavonoïde moyenne de $2,47 \pm 0,15$ g/g MVS au 15^{ème} et $1,65 \pm 0,03$ g/g MVS au 20^{ème} jour d'arrêt d'arrosage.

La teneur en flavonoïde maintiendra une augmentation progressive durant le 1^{er} jour jusqu'au 10^{ème} jour, chez les plants stressés avec des moyennes variant entre $3,39 \pm 0,83$ g/g MVS et $5,20 \pm 2,48$ g/g MVS d'arrêt d'arrosage.

Par contre au 15^{ème} jour on remarque une diminution drastique avec une moyenne de $2,24 \pm 0,52$ g/g MVS.

Cette chute drastique est augmentée au 20^{ème} jour, où nous avons enregistré une teneur en flavonoïde moyenne de $7,10 \pm 1,11$ g/g MVS avec une différence significative ($p < 0.001$)

2.3 Effet du déficit hydrique sur l'accumulation des anthocyanes

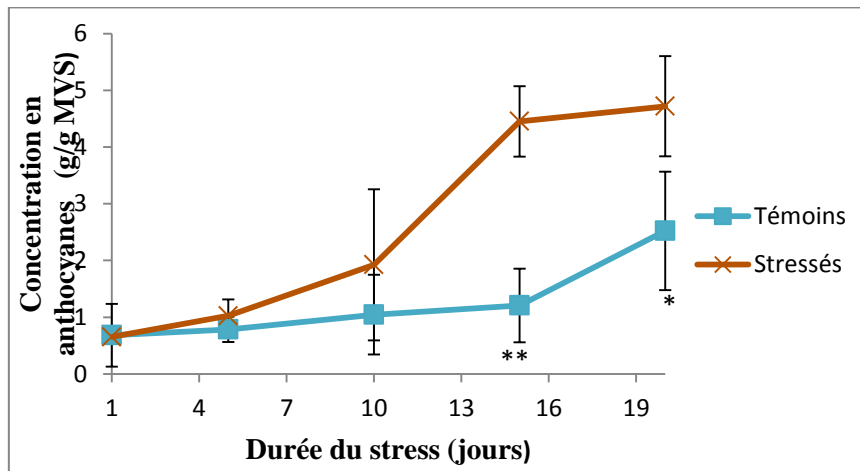


Figure 23: Effet de déficit hydrique sur la teneur en anthocyanes des plants de *Ecballium elaterium* (L) Rich. Chaque valeur représente la moyenne de 3 répétitions, les barres verticales représentent l'erreur standard, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ ou *** $P < 0.001$ représentent les niveaux de significativité des différences entre les témoins et stressés pour chaque point d'application de stress hydrique évalué par le test multiple de Tukey.

Les teneurs en anthocyanes chez les plantes témoins sont stables $1,24 \pm 0,74$ g/g MVS toute au long de la durée d'expérimentation.

Par contre, chez les plants stressés nous avons remarqué que les teneurs en anthocyanes continuent à augmenter en fonction de la durée du stress, avec des valeurs moyennes variant entre $0,65 \pm 0,05$ g/g MVS au 1er jour et $1,92 \pm 1,33$ g/g MVS au 10^{ème} jour, $4,71 \pm 0,88$ g/g MVS au 20^{ème} jour.

La différence est significative au 15^{ème} jour ($p < 0.001$) et 20^{ème} jour ($p < 0,05$).

2.4 Discussion

L'économie de l'eau se traduit par une turgescence relative moins affectée par le stress conduisant à une dilution de la chlorophylle (**Slayter ,1974**).

La chute des teneurs en chlorophylles est la conséquence de la réduction de l'ouverture des stomates visant à limiter les pertes en eau par évapotranspiration et par augmentation de la résistance à l'entrée du CO₂ atmosphérique nécessaire à la photosynthèse (**Bousbaet al.,2009**). Le rapport chlorophylle (a/b) est un bon indicateur du seuil de tolérance au stress hydrique (**Guettouche, 1990**). **Tahri et al., (1997)** montrent que l'augmentation de la teneur en proline foliaire sous l'effet du stress suivie par un abaissement dans les teneurs en pigments chlorophylliens totaux (chlorophylles a et b).

Le Rapport chlorophylle a/b sous un déficit hydrique, il y a eu une diminution avec une moyenne de $1,24 \pm 0,64$ Mg/g MVS Cela veut dire que la chlorophylle a est plus rapidement détruite que la chlorophylle b.(**Houasli et al.,2013**),ce qu'il explique la diminution de la photosynthèse mené à un déséquilibre de la stabilité des photosystèmes, ce qu'il confirme la réduction de la surface foliaire.

Les pigments caroténoïdes semblent jouer un rôle de photo-protection chez les végétaux (**Krinsky, 1978**), absorbent l'énergie lumineuse lorsque la chlorophylle est présente en faible quantité, puis transmettent à celle-ci l'énergie ainsi captée (**Site 3**).

Nos résultats confirment qu'une diminution de rapport chlorophylle a/b il a un impact sur la teneur en caroténoïde.

La diminution de la teneur en caroténoïde est expliqué par le fait de la biosynthèse de l'hormone végétale de stress qui est l'ABA à partir des caroténoïde, l'ABA est un l'inhibiteur de croissance et elle est produite sur une large gamme de stress environnementaux incluant la sécheresse (**Neuman,2008**).

Le stress hydrique a un effet négatif sur la teneur en pigment foliaire (**Jalleel et all.,2009**).Nos résultat rejoignent les observations de plusieurs chercheurs sur la teneur en chlorophylles chez différente espèces végétales comme le soja (**Atti,2002**),sur le haricot commun (**Nemeskeri et al.,2010**).

La biosynthèse des composés phénoliques dans les plantes est généralement induite en réponse à des stimuli biotiques et abiotiques tels que le rayonnement UV-B, la sécheresse, le froid, l'ozone, les métaux lourds, attaques d'agents pathogènes ou de carences en nutriments (**Dixon et Paiva, 1995**).

L'accumulation des composés phénoliques et flavonoïdes ont également été détectés en réponse à conditions de sécheresse plutôt sévères chez *Argania spinosa* (**Chakhchar et al., 2015**). Les polyphénols sont donc impliqués dans maintien du potentiel osmotique, ainsi que dans le piégeage des radicaux libres sous stress hydrique. La diminution de la teneur en polyphénols s'explique par leur rôle d'osmoregulation dans le maintien du potentiel osmotique de la plante, et nos résultats montre une diminution de la teneur relative en Eau de la plante.

De tels résultats montrent que le stress peut induire les voies de shikimate et phénylpropanoïdes dans des plantes résistantes au stress (**Dixon et Paiva, 1995**).

Les plantes possèdent divers mécanismes de résistance contre le stress de sécheresse. Lors d'un déficit en eau, les stomates se ferment, la biosynthèse d'osmolytes particuliers augmente, la balance de ces métabolites et la consommation, le partitionnement et la séquestration des ions change, la composition des membranes est modifiée, et une cascade de signalisation est initiée (**Bohnert et al., 1995**).

La réponse d'acclimatation lors du stress de sécheresse inclut aussi l'inhibition de la croissance et la desquamation des feuilles, ce qui restreint la dépense en eau des tissus sources et aide à maintenir le statut en eau et l'assimilation de CO² chez la plante. Les composés osmotiques comme les sucres et autres osmolytes sont aussi produits en réponse à une lente induction de la déshydratation, et ont une fonction dans le maintien de l'activité métabolique des tissus. Certains de ces mécanismes sont générés par les changements dans la transcription, la stabilité des ARNm et la dégradation des protéines qui se produisent en période de sécheresse (**Bohnert et al., 1995**).

Il est connu que l'ABA et ses métabolites augmentent significativement lors d'un stress de sécheresse (**Huang et al., 2008**). Ces changements dans le niveau d'ABA cellulaire génèrent l'activation de nombreux gènes répondant aux stress, dont ceux responsables de la fermeture des stomates, pour restreindre la transpiration (**Schroeder et al., 2001**).

La tolérance dans le cas d'un abaissement du déficit hydrique s'exprime par un maintien de la turgescence, rendu possible grâce au phénomène d'ajustement osmotique (**Munns, 2002**). La capacité d'ajustement osmotique d'un végétal est liée à sa capacité d'accumuler, au niveau symplasmique et de manière active certains solutés (**Fischer et al 2005**). Les solutés responsables de l'osmoregulation sont essentiellement des acides organiques, des acides aminés et des sucres. Parmi les acides aminés, l'accumulation de la proline permet la protection de la membrane cellulaire et participe à l'ajustement osmotique. L'ajustement osmotique peut être aisément évalué à partir des mesures de potentiel osmotique et de la teneur relative en eau, l'accumulation des sucres solubles étant la cause essentielle de la baisse du potentiel osmotique (**Hassani et al., 2008**).

Les anthocyanes sont des pigments hydrosolubles dérivés de flavonoïdes par la voie de l'acide shikimique. Les anthocyanes sont censés agir comme des osmorégulateurs sous stress hydrique, parce que nombreuses espèces végétales résistantes à la Sécheresse accumulent les anthocyanes dans leurs cellules (**Chalker, 2002**). En outre, les anthocyanes ont été rapportés pour contribuer à réduire les dommages oxydatifs.

Ainsi, nos résultats ont montré que le stress hydrique a induit une augmentation significative de la concentration d'anthocyanines dans les feuilles *d'Ecballium elaterium (L) Rich.*

Conclusion

Conclusion et perspectives

Le stress hydrique affecte le développement et le bon fonctionnement des plantes. Par ailleurs, et pour bien se développer, la plante doit disposer des mécanismes d'adaptation qui lui permettent de supporter la sécheresse.

Dans le cadre de notre travail, le comportement des plantes *d'Ecballium elaterium (L)Rich*, est analysé. A travers les résultats obtenus dans notre étude on peut constater que l'application d'une contrainte hydrique se manifeste chez l'ensemble des plantes étudiées (témoins et stressés) par des modifications marquées sur le plan morphologique, physiologique et biochimique en réponse au stress. Parmi les paramètres mesurés les plus affectés, figurent la teneur relative en eau, la surface foliaire et le poids de la matière sèche.

Ces paramètres ont confirmé par une analyse statistique des différences significatives à hautement significatives entre les plantes témoins et plantes stressés. Le stress hydrique réduit considérablement la teneur relative en eau de la plantes, Mais il permet une accumulation des composées phénoliques chez les plantes stressées.

Cette étude doit être confite et approfondit, par le dosage de l'ensemble des osmolytes tels que les sucres solubles totaux et la proline.

Il serait également intéressant de séparé et d'identifié chaque métabolites secondaires, on dosant chaque classe de phénols à part.

Même, cette étude doit être caractérisée les différents principes actifs de la plante, afin d'identifier leur activité thérapeutiques.

Enfin nous souhaiterons, réalisé une étude sur la qualité des métabolites secondaires, synthétisé en condition des déficits hydrique.

Références bibliographique

Références bibliographiques

Anjum S.A., Xie X.Y., Wang L.C., Saleem M.F., Man C., Lei W. (2011) Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. African Journal of Agricultural Research 6:2026-2032.

Arora, A., Byrem, T. M. Nair, M. G. & Strasburg, G. M. (2000). Modulation of liposomal membrane fluidity by flavonoids and isoflavonoids. Arch. Biochem. Biophys 373 :102-109.

Attia F, 2007. Effet du stress hydrique sur le comportement écophysologique et la maturité phénologique de la vigne (*Vitis vinifera* L.) : Etude de cinq cépages autochtones de Midi-Pyrénées. Thèse INP, Toulouse (France), 194p

Attard, E. (2011). "Use of Extracts from Squirting Cucumber (*Ecballium elaterium*) Seeds in Health." 1 079-108

Adwan, G., Salameh, Y., & Adwan, K., (2011). Effect of ethanolic extract of *Ecballium elaterium* against *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*. Journal of Asia and the Pacific of tropical biomedicine, 456-460.

BABA AISSA F., 2011-Encyclopédie des plantes utiles : Flore d'Algérie et du Maghreb, 217p.

Baskin J. M., Ludlow C. J., Harris T. M. and Wolf F. T. (1967). Psoralen, an inhibitor in the seeds of *Psoralea subacaulis* (Leguminosae). Phytochemistry, 6: 1209-1213.

Bohnert H.J., Nelson D.E., Jensen R.G., Adaptations to environmental stresses, Plant Cell 7 (1995) 1099-1111.

Blum A. 1996. Crop responses to drought and the interpretation of adaptation. Plant Growth Regulation 20 : 135-148.

Blokhina, O., Violainen, E. & Fagerstedt, K.V. (2003). Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. Ann. Bot. 91 : 179–194.

CASALS M.L. 1996. Introduction des mécanismes de résistance à la sécheresse dans un modèle dynamique de croissance et de développement du blé dur. Thèse de doctorat de l'INRA Paris Grignon, 93 p.

Coupé Michel , Bruno Touraine, (2016), physiologie végétale ; ellipses, paris, 320 p

Chaussat R., 1999. Productions végétales : croissance et développement des plantes. Ed., Paris: 1-6p.

- Chartzoulakisa K, Patakasb A, Kofidisc G, Bosabalidisc A, Nastoub A, 2002.** Water stress affects leaf anatomy, gas exchange, water relations and growth of two avocado cultivars. *Scientia Horticulturae* 95 : 39–50.
- Chadhary S.K.C., eska O., Warrington P.J. et Ashwood-Smith M. J. (1985).** Increased furocoumarin content of celery during storage. *J. Agr. Food. Chem.*, 33 (6):1153-1157.
- Chaves M.M., Maroco J.P., Pereira J.S. (2003)** Understanding plant responses to drought – from genes to the whole plant. *Functional Plant Biology* 30:239-264.
- Chaves MM, Oliveira MM. 2004.** Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: prospects for water-saving agriculture. *Journal Experimental of Botany* 55(407): 2365-2384.
- Chakhchar A, Lamaoui M, Wahbi S, Ferradous A, El Mousadik A, Ibsouda-Koraichi S, Filali-Maltouf A, El Modafar C (2015).** Leaf water status, osmoregulation and secondary metabolism as a model for depicting drought tolerance in *Argania spinosa*. *Acta Physiologiae Plantarum* 37:1-16.
- Clarke J.M. et Mc Craig T.N, 1982.** Evaluation of techniques for screening for drought resistance in wheat. *Crop Sci.*, 22:503-506p.
- Demeyer K. et Dejaegere R. (1997).** The influence of the Ca²⁺/K⁺ balance and light energy on alkaloid content and partitioning in *Datura stramonium*. *Aust. J. Bot.*, 1997, 45: 81-101.
- Demmig-Adams, B. & Adams, W.W. (1993).** The xanthophyll cycle. In JH RG Alscher, eds, *Antioxidants in Higher Plants*. CRC Press, Boca Raton, FL, p 91-110.
- Dixon RA, Paiva NL (1995).** Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *Plant Cells* 7:1085-1097.
- Esteban M. A; Villanueva M. J. and Lssarrague J. R, 1999.** Effect of irrigation on changes in berry composition of Tempranillo during maturation: sugars, organic acids and mineral elements. *American Journal of Enology and Viticulture* 50(4):20-23.
- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D. & Basra, S.M.A. (2009).** Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agron. Sustain. Dev.* 29: 185–212.
- Felhi Samir, Daoud Amal, Hajlaoui Hafedh, Mnafgu I Kais, Gharsallah Néji, Kadri Adel, 2016,** Solvent extraction effects on phytochemical constituents profiles, antioxidant and antimicrobial activities and functional group analysis of *Ecballium elaterium* seeds and peels fruits, *Food Sci. Technol, Campinas*, 37(3): 483-492.

- Flexas J., Medrano H. (2002)** Drought-inhibition of photosynthesis in C3 plants: stomatal and non-stomatal limitations revisited. *Ann Bot* 89:183-9.
- Gahoonia TS, Raza S, Nielsen NE, 1994.** Phosphorus depletion in the rhizosphere as influenced by soil moisture. *Plant and Soil* 159: 213-218.
- Gaudillere J.P., Barcelo M.O. (1990)** Effects of water and osmotic factors on the growth of wheat tillers. *Agronomie* 5:423-432.
- Gould, K. S., Mckelvie, J. & Markham, K. R. (2002).** Do anthocyanins function as antioxidants in leaves? Imaging of H₂O₂ in red and Green leaves after mechanical injury. *Plant Cell Environ.* 25 :1262–1269.
- Guettouche R., (1990)** Contribution à l'identification des caractères morpho physiologiques d'adaptation à la sécheresse chez le blé dur (*triticum durum* desf). Thèse diplôme d'agronomie approfondie.
- Granier, C. D. Inzé, F. Tardieu. 2000.** Spatial distribution cell division rate can be deduced from that of P34cdc2 kinase activity in maize leaves grown in contrasting conditions of temperature and water status. *PlantPhysiol.*, 124: 1393-1402.
- Hassani. A ,Dellal.A, Belkhodja.M , Kaid- Harche.M.** Effet de la salinité sur l'eau et certains osmolytes chez l'orge (*Hordeum vulgare*). *European Journal of Scientific Research*, Vol.23, No.1, (2008) 61-69.
- Hopkins W. G. 2003.** Physiologie végétale traduction de la 2^{ème} Edition américaine. par Serge R. Révision scientifique de Charle M. Edition Deboek. Université Bruxelles. 66-81, 237-309, 362-514p.
- INRA, 2006.** Sécheresse et agriculture : réduire la vulnérabilité de l'agriculture à un risque accru de manque d'eau. Synthèse du rapport d'expertise scientifique collective, 76p.
- Ielciuirina, Frédérick48ditio, Monique tits, Luc angenot, Ramona păltinean, Ewacieckiewicz, Gianinacrişan, Laurianvlase, 2016 .** *Bryonia alba* l. An *ecballium elaterium*(l.) A. Rich. –two related species of the *cucurbitaceae* family with important pharmaceutical potential , Vol. 64, 3:323-332.
- Jaleel, C.A., Manivannan, P., Wahid, A., Farooq, M., Al-Juburi, H.J., Somasundaram, R. & Panneerselvam, R. (2009).** Drought Stress in Plants: A Review on Morphological Characteristics and Pigments Composition. *International Journal of Agriculture and Biology* 11:100-105.
- Jayaprakasam, B., N. P. Seeram and M. G. Nair (2003).** “Anticancer and 48dition48g48mmatory activities of cucurbitacins from *Cucurbita andreana*.” *Cancer Lett* 189(1): 11-16.

Jean Bruneton ,(1999) Plantes toxiques, végétaux dangereux pour l'homme et les animaux , 3^e édition ,paris .

Kim T.H., Bohmer M., Hu H., Nishimura N., Schroeder J.I. (2010) Guard cell signal transduction network: advances in understanding abscisic acid, CO₂, and Ca²⁺ signaling. AnnualReview of Plant Biology 61 :561-91.

Kiès N., (1977) La plante et l'eau, cours polycopié, INA El Harrach, p 40.

Kiani P. 2007. Analyse génétique des réponses physiologiques du tournesol. (*Helianthus annuus* L.) soumis à la sécheresse. Thèse Doctorat de l'Institut National Polytechnique de Toulouse.

Laberche J-C, 2004. La nutrition de la plante In Biologie Végétale. Dunod. (éd). Paris :154 - 163.

Lamaze T. 1994. Résistance de plantes a la sécheresse : mécanismes physiologiques. Le sélectionneur Français, 45 : 75-85p.

Lamaze T., Tousch D., Sarda X., Grignon C., Depigny-This D., Monneveux P. et Belhassen E., (1994) Résistance de plantes a la sécheresse mécanismes physiologiques. Le sélectionneur Français 45 : 75-85.

Lebon E, 2006. Effet du déficit hydrique de la vigne sur le fonctionnement du couvert, l'élaboration du rendement et la qualité. INERA Sup Agro, UMR, Laboratoire d'Ecophysiologie des Plantes sous Stress Environnementaux, 4 p.

Leclerc J.C., 1999. Ecophysiologie végétale, PU de St Etienne.

Levit.J Responses of Plants to Environmental Stresses, Volume II (1980) 2nded, Academic Press, New York.

Lemaire G, Denoix A, 1987. Croissance estivale en matière sèche de peuplements de fétuque élevée (*Festuca arundinacea* Schreb.) et de dactyle (*Dactylis glomerata* L.) dans l'Ouest de la France. II. Interaction entre les niveaux d'alimentation hydrique et de nutrition azotée. Agronomie 7: 381-389.

Lo-Bianco R., Rieger M., Sung S.-J.S. (2000) Effect of drought on sorbitol and sucrose metabolism in sinks and sources of peach. *Physiologia Plantarum* 108:71-78.

Mahajan S., Tuteja N. (2005) Cold, salinity and drought stresses: An overview. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 444:139-158.

Madhava Rao K.V., Raghavendra A. S. et Janardhan Reddy K. 2006. Printed in the Netherlands. *Physiology and Molecular Biology of Stress Tolerance in Plants*. Springer : 1-14p.

Macheix J.J., Fleuriet A., Jay-Allemand C., 2005. Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed. Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne. 4-5. *Advances in Agronomy* 39:1-51

- Matin.M, H. Jarvis , F. Hayden,** Leaf water potential, relative water content, and diffusivity resistance in Barley. *Agronomy Journal* 81 (1989) 100-105.
- Matthews LR, 1986.** The effect of water stress on the leaf area of cucumismelo. A thesis Submitted to the Graduate Faculty of Texas Tech University in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science, 70 p
- Morard P., 1995.** Les cultures hors sol publications agricoles, Agen.pp123-153.
- MunnsR ;Passiora JB ; Guo O ; Cramer GR.,2000** Water relation and leaf expansion : importance of time scale , *J.Exp. Bot.* 51(350) 1495-1504.
- Munns.R,** Comparative physiology of salt and water stress. *Plant Cell and Environment*, 25 (2002) 239-250.
- Mira M, 1995** Cucurbitacins ans their pharmacological effects. *Phytotherapy research* 9.1995.page:159-68.
- Michalak, A. (2006).** Phenolic Compounds and Their Antioxidant Activity in Plants Growing under Heavy Metal Stress. *Polish J. of Environ. Stud.* 15: 523-530.
- Moinuddin.A, Fischer.R, K. Sayre, M P. Reynolds, (2005)**Osmotic adjustment wheat in relation to Grain Yield under Water Deficit Environments. *Agronomy Journal* 97 1062-1071.
- Neill, S., Desikan, R. & Hancock, J. (2002).**Hydrogen peroxide 50dition50g. *CurrOpin Plant Biol.*5:388-395.
- Onillon B, Durand JI, Gastal F, Tournebize R (1995).**Drought effects on growth and carbon partitioning in a tall fescue sward grown at different rates of nitrogen fertilization. *European Journal of Agronomy* 4: 91-99.
- Passioura JB. 1996.** Drought and drought tolerance. *Plant Growth Regulation* 20: 79-83.
- Patakas A, Nikolaou N, Zioziou E, Radoglou K, Noitsakis B. 2002.** The role of organic solute and ion accumulation in osmotic adjustment in drought-stressed grapevines. *Plant Science* 163 : 361-367
- Paul Mazliak, (1994),**Nutrition et métabolisme, physiologie vegetal, ellipses,paris,150 p.
- Pereira JS, Chaves M-M, Caldeira M-C, Correia AV 2007.** Water availability and productivity. In: James I.L. Morison MDM ed. *Plant Growth and Climate Change*, 118-145.
- Pospisilova J., Synkova H., Rulcova J. (2000)** Cytokinins and water stress. *BiologiaPlantarum* 43:321-328.
- Potters G., Pasternak T.P., Guisez Y., Jansen M.A.K. (2009)** Different stresses, similar morphogenic responses: integrating a plethora of pathways. *Plant Cell and Environment* 32 :158-169.

Pierre et déla vignes, 2007, L'herbier des plantes sauvage,larousse,82p,paris.

Ramachandra R.A.,Chaitanya K.V., Vivekanandan M. (2004) Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *Journal of Plant Physiology* 161:1189-202.

Shirley, B.W. (1996). Flavonoid biosynthesis: 'New' functions for an 'old' pathway. *Trends in PlantScience* 1: 377-382.

Sallas L., Kainulainen P., Utriainen J., Holopainen T. etHolopainen J. K. (2001).The influence of elevated O₃ and CO₂ concentrations on secondary metabolites of Scots pine (*Pinussylvestris* L.) seedlings. *Global Change Biology*, 7: 303-311.

Scriban .(1999)Biotechnologie. 5eme 51dition. Paris. Pp 404-407.

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

Sinclair TR, Ludlow MM. 1986.Influence of soil water supply on the plant water balance of four tropical grain legumes. *Australian Journal Plant Physiology* 13 : 329-341.

Slama A., Ben Salem M., Ben Naceur M. &Zid E.D., (2005) Les céréales en Tunisie : production, effet de la sécheresse et mécanismes de résistance. Institut national de la recherche agronomique de Tunisie (Inrat). Univ. Elmanar.Tunisie. 16 (3) : 225-9.

Slyater R., (1974) The effect of internal water status on plant growth development and yield in : plant responses to climatic factors .*proc.ofupsalsimpium, unesco*.

Tahri E., Belabed A. &Sadkik., (1997) Effet d'un stress osmotique sur l'accumulation de proline, de chlorophylle et des arm codant pour la glutamine synthétase chez trois variétés de blé dur (*Triticumdurum*Desf.). *Bulletin de l'Institut Scientifique. Rebat.V.21* : Pp 81 – 89.

Teulat B.B., Monneveux P., Wery J., Borries c., Souyriss 1., Charrieri A. etThis D., 1997.Relationships between relative water content and growth parameters under water stress in barley: a QTL study. *New Phytol*137: p 99-107.

Teglberg R. etJulkumen-Tiitto R. (2001).Quantitative changes in secondary metabolites of dark-leaves willow (*Salix myrsinifolia*) exposed to enhanced ultraviolet B radiation. *PhysiologiaPlantarum*, 113: 541-547.

Umezawa, T., M. Okamoto, T. Kushiro, E. Nambara, Y. Oono, M. Seki, M. Kobayashi, T. Koshiba, Y. Kamiya, K. Shinozaki. 2006. CYP707A3, amajor ABA 8'-hydroxylase involved in dehydration and rehydrationresponse in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J.*, 46: 171-182.

Verslues P.E., Sharma S. (2010) Proline metabolism and its implications for plant-environment interaction. The Arabidopsis book / American Society of Plant Biologists 8:e0140.

Voltaire F, Thomas H, Lelievre F, 1998. Survival and recovery of perennial forage grasses under prolonged Mediterranean drought: I. Growth, death, water relations and solute content in herbage and stubble. New Phytologist 140:439-449.

Wood.AJ. 2005. Eco-physiological adaptations to limited water environments. In: Jenks MA, Hasegawa PM eds. Plant abiotic stress: Blackwell Publishing Ltd.

Yamaguchi-Shinozaki, K., M. Kasuga, Q. Liu, K. Nakashima, Y. Sakuma, H. Abe, Z.K. Shinwari, M. Seki, K. Shinozaki. 2002. Biological mechanisms of drought stress response. JIRCAS Working Report, 1-8.

Yokota A. TAKAHARA K et AKASHI K. (2006) Physiology and Molecular Biology of Stress Tolerance in Plants. Springer.P: 15–39.

Zheng, L., Su, M., Wu, X. & Liu, C. (2008). Antioxidant Stress is promoted by nano-anatase in spinach chloroplasts under UV-B radiation, Biol. Trace Elem. Res. 121: 69-79.

Zhu J K. 2001. Plant salt tolerance Trends in Plant Sci. 6: 66-71.

Les sites internet:

Site 1 : <http://www.medisite.fr/dictionnaire-des-plantes-medicinalesmomordique.1234532.8.html>

Site 2 : <http://la-flore-de-mostaganem.e-monsite.com/pages/articles/cucurbitacees.html>

Site 3 : <https://giguete.users.greyc.fr/java/textes/pigments.html>

Les annexes



Figure 1 : le dispositif utilisé pendant l'expérimentation



Figure 2 : le bouturage mise en pot



Figure 3 : une centrifugeuse

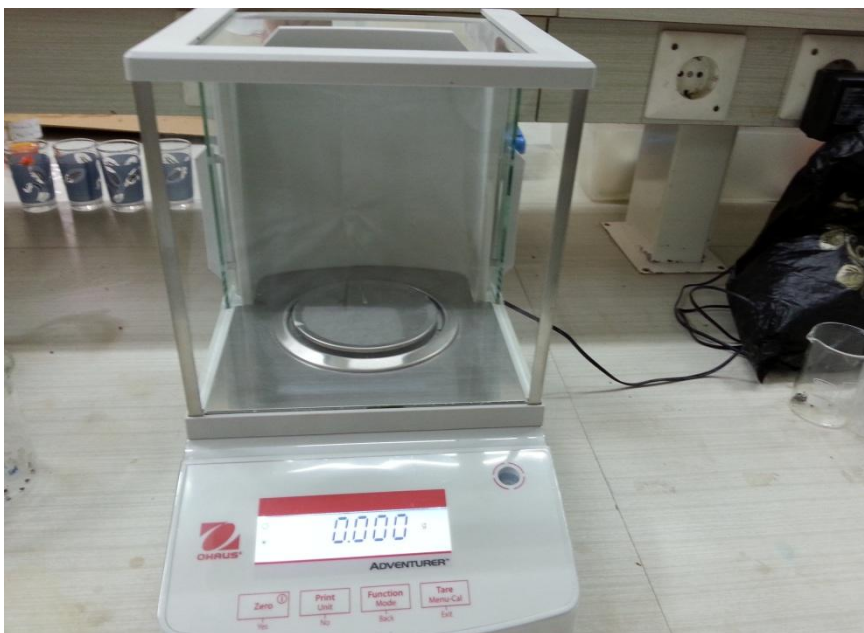


Figure 4 : une balance



Figure 5 : un mortier



Figure 6 : un spectrophotomètre



Figure 7 : un microscope



Figure 8 : une étuve

Tableau 1 : les réactifs utilisés aux niveaux des coupes histologique

Réactifs	rôles
-eau de javel -acide acétique (CH ₃ -COOH) -vert d'iode -rouge de Congo	-vider le contenu cellulaire - fixer la coloration sur la paroi - colorer les tissus mort (paroi lignifiée; xylème; sclérenchyme) - colorer les tissus vivants (paroi non lignifiée; phloème)