

N° D'ordre : 23 / 2019 - D/S.B

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE DES SCIENCES ET DE LA TECHNOLOGIE HOUARI MOUMEDIENE
FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES



THESE DE DOCTORAT EN SCIENCES

Présentée pour l'obtention du grade de Docteur

En : Sciences Biologiques
Spécialité : Eco-biologie et Amélioration Végétale

Par M^{me} CHERIFI Hayet

CONTRIBUTION A L'ETUDE DES MECANISMES DE TOLERANCE AU STRESS SALIN DE *Trigonella foenum graecum* L.

Soutenue publiquement le 15/10/ 2019 devant le jury composé de :

M .R. DJEBBAR	Professeur à l'USTHB/Alger	Président
M ^{me} .O. ABROUS BELBACHIR	Professeur à l'USTHB/Alger	Directrice de thèse
M .R. AMIROUCHE	Professeur à l'USTHB/Alger	Examineur
M ^{me} .D. CHABANE	Professeur à l'USTHB/Alger	Examineur
M ^{me} .N. ALKAMA	Professeur à l'UMMTO/Tizi-Ouzou	Examineur
M ^{me} .S. AIT KAKI	Maitre de conférence/A à l'UMBB/Boumerdes	Examineur

Dédicaces

Je dédie cette thèse à mon père, à ma mère et à mes beaux parents qui m'ont toujours soutenue et encouragée. Je remercie mon mari, pour la grande patience, l'encouragement et la confiance qu'il m'a témoigné. Je tiens à le remercier pour son soutien moral ininterrompu et ses nombreux conseils tout le long de ma thèse. A toutes les personnes qui ont montré de l'intérêt pour mon travail, notamment ma famille et mes amies.

REMERCIEMENTS

Les travaux de recherche qui font l'objet de cette thèse ont été réalisés en partie au niveau du laboratoire de Physiologie Végétale de la Faculté des Sciences Biologique (FSB) de l'USTHB et en partie au sein du laboratoire de Nutrition des Plantes du CEBAS-CSIC Espagne.

Je voudrais tout d'abord remercier grandement le Pr Abrous-Belbachir Ouzna pour toute son aide et la confiance qu'elle m'a témoigné en acceptant la direction scientifique de mes travaux. Je suis ravie d'avoir travaillé en sa compagnie. Je lui suis reconnaissante de m'avoir fait bénéficier tout au long de ce travail de sa grande compétence, de sa rigueur intellectuelle, et de son efficacité certaine. Soyez assurée de ma profonde gratitude.

Je suis profondément reconnaissante envers tous les membres de jury qui ont accepté de juger ce travail

Je remercie Mr Djebbar Reda, d'avoir aimablement accepté de présider ce jury ; qu'il me soit permis de lui témoigner mon sincère et profond respect.

J'adresse mes remerciements à Mr Amirouche Rachid, de m'avoir honoré d'être membre du jury et de juger ce travail.

Mme Chabane Djamila, me fait un grand honneur d'être membre du jury. Ses remarques nous permettront sans aucun doute d'améliorer cette thèse.

Je tiens également à remercier Mme Alkama Nora, pour sa disponibilité et pour l'intérêt apporté à mon travail en ayant accepté de l'examiner.

Mes remerciements s'adressent aussi à Mme Ait Kaki Sabrina, d'avoir accepté de participer à ce jury. Sa présence dans le jury est un honneur auquel je suis particulièrement sensible.

A mes amies et collègues du laboratoire de physiologie végétale avec qui j'ai partagé de la complicité et de l'amitié.

Je tiens à exprimer mes sincères remerciements à Mr Alfocea Francisco Perez pour son accueil et aux conditions privilégiées qui m'ont été offertes au sein de son laboratoire. Je remercie particulièrement Dr. Albacete Alfonso pour sa disponibilité, sa patience, sa gentillesse et pour l'aide qu'il m'a octroyés lors de mon stage au CEBAS-CSIC ainsi que pour la réalisation de notre article. Qu'il trouve ici les marques de ma reconnaissance et de mon respect.

Résumé

Le fenugrec est une légumineuse cultivée dans le monde entier et utilisée dans le domaine culinaire, l'industrie pharmaceutique, l'alimentation du bétail et la fertilisation des sols. Elle est généralement cultivée dans les régions arides et semi-arides qui se caractérisent par des sols salins pouvant affecter le bon développement des plantes. Afin de mieux comprendre l'effet de la salinité sur les plantes de fenugrec (*Trigonella foenum graecum* L.), une expérimentation a été réalisée en soumettant ces dernières à l'effet d'une concentration modérée (100 mM) et une concentration élevée (200 mM) de NaCl.

Les résultats obtenus ont montré que la contrainte saline affecte la croissance des plantes de fenugrec en diminuant la longueur de leur partie aérienne et souterraine, leur masse sèche, la surface foliaire ainsi que le nombre de feuilles. Elle affecte également la physiologie en diminuant la teneur relative en eau mais également la quantité de pigments photosynthétiques, de sucres solubles et de proline. A l'échelle cellulaire la contrainte saline a provoqué une augmentation du MDA marqueur de la peroxydation des lipides ainsi que celle de la fuite des électrolytes ce qui traduit l'installation d'un stress oxydatif. En réponse, la plante a augmenté l'activité de certaines de ses enzymes antioxydantes à savoir, la catalase et l'ascorbate peroxydase.

La salinité provoque une déficience nutritionnelle et une augmentation de la teneur en Na⁺ au niveau des feuilles et des racines. En outre, des changements importants dans les classes des principales hormones de croissance ont été observés, associés à la réduction de la croissance sous la contrainte saline. Ainsi, les phytohormones telles la trans-zéatine et les gibbérellines diminuent avec la salinité dans les feuilles des plantes de fenugrec, alors que le précurseur de l'éthylène, 1-aminocyclopropane-1 - acide carboxylique, s'accumule dans les racines des plantes de fenugrec, notamment sous l'effet des niveaux élevés de salinité. La quantité d'acide abscissique foliaire augmente sous la salinité, ce qui limite la transpiration des feuilles et permet aux plantes de s'adapter aux conditions stressantes.

Les hormones végétales semblent jouer un rôle essentiel dans les réactions des plantes de fenugrec à la contrainte saline et pourraient avoir un intérêt potentiel dans les programmes de tolérance de cette espèce au sel.

Mots clés : stress salin, Fenugrec (*Trigonella foenum graecum* L.), croissance, stress oxydatif, micro et macronutriments, équilibre hormonal.

TABLE DES MATIERES

ABREVIATIONS

LISTE DES FIGURES ET DES TABLEAUX

INTRODUCTION

I - SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. Présentation de <i>Trigonella foenum graecum</i> L.....	4
I.1.1. Systématique de l'espèce.....	4
I.1.2. Origine.....	4
I.1.3. Description botanique.....	6
I.1.4. Croissance et développement.....	6
I.1.5. Intérêts.....	7
I.2. La salinité dans le monde.....	8
I.2.1. Les différents types de salinisation.....	9
I.2.2. La salinité en Algérie.....	11
I.2.3. Mesure de la salinité.....	12
I.3. Le stress salin chez les plantes.....	12
I.3.1. Définition du stress chez les plantes.....	12
I.3.2. Effet du stress salin sur la croissance des plantes.....	13
I.3.3. Effet du stress salin sur la photosynthèse.....	17
I.4. Les hormones végétales.....	17
I.4.1. Rôles des phytohormones chez les plantes.....	19
I.4.2. Implication des phytohormones dans le stress salin.....	25
I.5. Les mécanismes d'entrée et de transport de Na⁺ dans la plante.....	30
I.5.1. Les voies de signalisation du stress salin.....	32
I.6. Réponses physiologiques des plantes au stress salin.....	33

I.6.1. Régulation ionique.....	33
I.6.2. Ajustement osmotique.....	36
I.6.3. Implication du modèle biphasique de Munns.....	37
I.7. Le stress oxydatif.....	39
I.7.1. Les marqueurs d'un stress oxydatif.....	39
I.7.2. Espèces réactives d'oxygène et leurs sites de production.....	40
I.7.3. Toxicité des espèces réactives d'oxygène.....	42
I.7.4. Les mécanismes de régulation et de détoxification des ROS.....	43

II – MATERIEL ET METHODES

II.1. Choix de l'espèce végétale.....	46
II.2. Méthodes d'étude.....	46
II.2.1. Mise en germination des graines.....	46
II.2.2. Mise en culture.....	46
II.2.3. Application du stress.....	47
II.2.4. Récolte des plantes et mesure de la croissance.....	48
II.2.5. Mesure de la masse de la matière fraîche et sèche des plantes.....	48
II.2.6. Mesure de la teneur relative en eau (TRE).....	48
II.2.7. Mesure des paramètres des échanges gazeux.....	49
II.2.8. Mesure de la fluorescence chlorophyllienne.....	50
II.2.9. Estimation de l'intégrité membranaire.....	51
– Mesure de la fuite relative d'ions.....	51
– Estimation de la peroxydation des lipides.....	51
II.2.10. Dosage des pigments photosynthétiques.....	52
II.2.11. Dosage de la proline.....	53
II.2.12. Détermination de la teneur en sucres éthanolosolubles.....	53

II.2.13. Mesure des activités enzymatiques du système antioxydant.....	54
II.2.14. Dosage des ions.....	56
II.2.15. Mesure de la teneur en phytohormones.....	57
II.3. Analyses statistiques.....	58

CHAPITRE III – RESULTATS

III.1. Effets de la salinité sur la croissance et le développement des plantes de fenugrec.....	59
III.1.1. Effet de la salinité sur la surface foliaire totale.....	59
III.1.2. Effet de la salinité sur le nombre de feuilles.....	59
III.1.3. Effet de la salinité sur la longueur de la partie aérienne.....	60
III.1.4. Effet de la salinité sur la croissance pondérale.....	61
III.2. Effets de la salinité sur la physiologie des plantes de fenugrec.....	64
III.2.1. Effet de la salinité sur la teneur relative en eau (TRE).....	64
III.2.2. Effet de la salinité sur la conductance stomatique (gs).....	65
III.2.3. Effet de la salinité sur la photosynthèse nette.....	65
III.2.4. Effet de la salinité sur le taux de transpiration.....	66
III.2.5. Effet de la salinité sur la fluorescence chlorophyllienne.....	67
III.2.6. Effet de la salinité sur les pigments photosynthétiques.....	67
III.2.7. Effet de la salinité sur la teneur en caroténoïdes.....	68
III.2.8. Effet de la salinité sur la teneur en sucres solubles.....	69
III.2.9. Effet de la salinité sur la teneur en proline.....	70
III.3. Effets de la salinité sur l'intégrité membranaire.....	71
III.3.1. Teneur en malondialdéhyde (MDA).....	71
III.3.2. Efflux d'électrolytes.....	72
III.4. Effet de la salinité sur le système enzymatique du système antioxydant.....	73

III.4.1. Activité de la catalase.....	73
III.4.2. Activité de l'ascorbate peroxydase cytosolique.....	74
III.5. Effet de la salinité sur la composition en macro et micronutriments des plantes de fenugrec.....	75
III.6. Effet de la salinité sur le profil hormonal des plantes de fenugrec.....	77
III.7. Analyse en composantes principales (ACP).....	84

CHAPITRE IV – DISCUSSION

Discussion.....	86
------------------------	-----------

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES.....	101
---	------------

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	104
---	------------

ANNEXES

LISTE DES FIGURES ET DES TABLEAUX

Figures

Synthèse bibliographique :

Figure 1 :	Production actuelle du fenugrec dans le monde.....	5
Figure 2 :	Les premières étapes de la croissance du Fenugrec.....	7
Figure 3 :	Schéma représentant l'effet du stress salin sur la plante.....	14
Figure 4 :	Structure biochimiques des principales phytohormones.....	18
Figure 5 :	Voie de biosynthèse de l'AIA.....	19
Figure 6 :	Implication des auxines dans l'élongation cellulaire.....	20
Figure 7 :	Organogénèse contrôlée par la balance entre auxines et cytokinines.....	21
Figure 8 :	Structure chimique des principales cytokinines.....	22
Figure 9 :	Représentation de quelques gibbérellines.....	24
Figure 10 :	Modèle illustrant la fermeture des cellules de garde par l'intervention des canaux ioniques dans la signalisation par l'ABA.....	26
Figure 11 :	Modèle des voies SOS de la réponse des plantes à la salinité.....	33
Figure 12 :	Illustration des stratégies "inclusion et exclusion".....	36
Figure 13 :	Schéma représentant la croissance bi-phasique de différents génotypes en réponse à la salinité.....	38
Figure 14 :	Les sites de production des ROS et leur élimination dans la cellule.....	41

Matériel et méthodes :

Figure 15 :	Schéma montrant le protocole expérimental suivi.....	47
Figure 16 :	Plantes de fenugrec après 35 jours de traitement salin.....	48
Figure 17 :	Principe de dosage du malondialdéhyde.....	52
Figure 18 :	Principe de fonctionnement du spectromètre ICP-AES.....	57

Résultats :

Figure 19 :	Effet de la salinité sur la surface foliaire totale des plantes de Fenugrec....	59
Figure 20 :	Effet de la salinité sur le nombre de feuille des plantes de Fenugrec.....	60

Figure 21 :	Effet de la salinité sur la longueur de la partie aérienne des plantes de Fenugrec.....	60
Figure 22 :	Effet de la salinité sur la masse fraîche de la partie aérienne et la partie racinaire des plantes de Fenugrec.....	61
Figure 23 :	Effet de la salinité sur la masse sèche de la partie aérienne et la partie racinaire des plantes de Fenugrec.....	63
Figure 24 :	Effet de la salinité sur la teneur relative en eau des plantes de Fenugrec....	64
Figure 25 :	Effet de la salinité sur la conductance stomatique des plantes de Fenugrec.....	65
Figure 26 :	Effet de la salinité sur le taux photosynthétique des plantes de Fenugrec...	66
Figure 27 :	Effet de la salinité sur le taux de transpiration des plantes de Fenugrec.....	66
Figure 28 :	Effet de la salinité sur la teneur en chlorophylles totales des plantes de Fenugrec.....	68
Figure 29 :	Effet de la salinité sur la teneur en caroténoïdes des plantes de Fenugrec..	69
Figure 30 :	Effet de la salinité sur la teneur en sucres solubles des feuilles et des racines des plantes de Fenugrec.....	70
Figure 31 :	Effet de la salinité sur la teneur en proline au niveau des feuilles et des racines des plantes de Fenugrec.....	71
Figure 32 :	Effet de la salinité sur la teneur en MDA des feuilles des plantes de Fenugrec.....	72
Figure 33 :	Effet de la salinité sur la fuite relative d'électrolytes des feuilles des plantes de Fenugrec.....	73
Figure 34 :	Effet de la salinité sur l'activité de la catalase des feuilles des plantes de Fenugrec.....	74
Figure 35 :	Effet de la salinité sur l'activité de l'ascorbate peroxydase au niveau des feuilles des plantes de Fenugrec.....	74
Figure 36 :	Effet de la salinité sur la teneur en trans-zéatine au niveau des feuilles et des racines des plantes de Fenugrec.....	78
Figure 37 :	Effet de la salinité sur la teneur en isopentényladenine au niveau des feuilles et des racines des plantes de Fenugrec.....	78
Figure 38 :	Effet de la salinité sur la teneur en cytokinines au niveau des feuilles et des racines des plantes de Fenugrec.....	79

Figure 39 :	Effet de la salinité sur la teneur en ACC (précurseur de l'éthylène) au niveau des feuilles et des racines des plantes de Fenugrec.....	80
Figure 40 :	Effet de la salinité sur la teneur en acide indole acétique au niveau des feuilles et des racines des plantes de Fenugrec.....	80
Figure 41 :	Effet de la salinité sur la teneur en acide abscissique au niveau des feuilles et des racines des plantes de Fenugrec.....	81
Figure 42 :	Effet de la salinité sur la teneur en acide gibbérellique au niveau des feuilles et des racines des plantes de Fenugrec.....	82
Figure 43 :	Effet de la salinité sur la teneur en acide jasmonique au niveau des feuilles et des racines des plantes de Fenugrec.....	83
Figure 44 :	Effet de la salinité sur la teneur en acide salicylique au niveau des feuilles et des racines des plantes de Fenugrec.....	84
Figure 45 :	Analyse en composantes principales (ACP) représentant les corrélations entre les différents paramètres étudiés en fonction des traitements salins chez les plantes de fenugrec.....	85
Figure 46 :	Schéma général récapitulatif de l'effet du stress salin sur les feuilles des plantes de fenugrec <i>Trigonella foenum graecum</i> L.....	87

Tableaux

Synthèse bibliographique :

Tableau 1 :	Distribution des sols affectés par le sel dans le monde.....	09
Tableau 2 :	Pourcentage des surfaces (%) affectées par la salinité dans différentes wilayas d'Algérie.....	11
Tableau 3 :	Classification de la conductivité électrique des sols et effets de la salinité sur les plantes.....	12

Résultats :

Tableau 4 :	Rapport masse fraîche racine/ masse fraîche partie aérienne des plantes de Fenugrec.....	62
Tableau 5 :	Rapport masse sèche racine/ masse fraîche partie aérienne des plantes de Fenugrec.....	63
Tableau 6 :	Effet de la salinité sur le rendement quantique maximal du PSII (Fv/Fm) des plantes de Fenugrec.....	67

Tableau 7 :	Effet de la salinité sur le rapport chlorophylle a / chlorophylle b des plantes de Fenugrec.....	68
Tableau 8 :	Effet de la salinité sur la concentration en micro et macronutriments au niveau des feuilles et des racines des plantes de Fenugrec.....	76
Tableau 9 :	Rapport K^+/Na^+ , Ca^{+2}/Na^+ et K^+/Ca^{2+} au niveau des feuilles des plantes de Fenugrec.....	77

ABREVIATIONS

¹O₂	Oxygène singulet
ABA	Acide abscissique
ACC	Acide 1-aminocyclopropane-1-carboxlique
ACO	ACC oxydase
ACS	ACC synthase
AG	Acide gibbérellique
AIA	Acide Indole 3-Acétique
AJ	Acide Jasmonique
ANOVA	Analyse de variances
AS	Acide salicylique
CAT	Catalase
Chl*	Chlorophylle excitée
CKs	Cytokinines
cZ	cis-Zeatine
E	Taux de transpiration
ECT	Chaîne de transport des électrons
EDTA	Acide éthylène-diamine-tétra-acétique
gs	Conductance stomatique
H₂O₂	Peroxyde d'hydrogène
iP	isopentényladénine
MDA	Malondialdéhyde
MVS	Matière végétale sèche
O₂⁻	Anion superoxyde
·OH	Radical hydroxyle
P_N	Taux photosynthétique net
POD	Peroxydase
TBA	Acide thiobarbiturique
TCA	Acide trichloroacétique
tZ	trans-Zeatine
ε	Coefficient d'extinction molaire

Introduction

INTRODUCTION

Le fenugrec, *Trigonella foenum graecum* L. est une légumineuse annuelle cultivée principalement pour être utilisée comme épice dans de nombreuses parties du monde. Le fenugrec était cultivé dans certaines régions d'Europe, d'Afrique du nord, d'Asie de l'ouest et du sud, d'Amérique du nord et du sud et d'Australie (Lim, 2012). Le nom d'espèce « *foenum graecum* » signifie « foin grec » indiquant son utilisation comme culture fourragère dans le passé.

Le fenugrec est également utilisé dans la médecine traditionnelle pour stimuler la lactation chez la mère qui allaite, augmenter l'appétit, traiter de nombreuses maladies telles que le diabète, les infections microbiennes et les maladies cancéreuses (Zandi et al., 2017).

L'agriculture moderne est confrontée à plusieurs stress abiotiques tels que la salinité, la sécheresse, le froid et les fortes températures comme contraintes majeurs affectant le rendement des cultures (Tardieu et Tuberosa, 2010). Une diminution de plus de 50% du rendement agricole est due aux stress abiotiques (Wang et al., 2001). Les plantes cultivées mettent en place des mécanismes cellulaires et moléculaires complexes en réponse aux divers stress afin de prévenir les dommages et d'assurer leur survie (Fahad et al., 2015).

Bien que les mécanismes engendrés par les stress abiotiques varient en fonction de la nature et de l'intensité du stress et du stade de développement de la plante, le résultat de l'exposition au stress est une réduction de la germination, de la croissance et du rendement final (Munns et Tester, 2008).

La salinité des eaux et des sols est l'un des principaux stress en particulier dans les régions arides et semi-arides. Elle peut réduire fortement la production agricole. Les effets délétères de la salinité sur la croissance des plantes sont associés à un faible potentiel osmotique de la solution du sol (stress hydrique) ce qui induit une inhibition de l'absorption de l'eau, de la division et l'expansion cellulaire (Munns et Tester, 2008), un déséquilibre nutritionnel, un effet ionique spécifique (stress salin) dû à une accumulation excessive d'ions Na^+ dans la plante, notamment dans les feuilles entraînant l'apparition de chloroses et de nécroses (Glenn et al., 1999). Le maintien de l'équilibre ionique et hydrique est nécessaire pour la survie de la plante (Yeo, 2007).

INTRODUCTION

Face à la contrainte saline, la plante assure son ajustement osmotique en accumulant des solutés organiques compatibles tels la proline ou la glycine bêtaïne, les sucres ou les polyols.

L'effet de la salinité sur les plantes mène à l'accumulation de formes actives d'oxygène (stress oxydatif) (Nazar et al., 2011) pouvant entraîner une peroxydation des lipides, des dommages au niveau de l'ADN, des protéines, l'inhibition de la photosynthèse et indirectement à la perturbation de l'équilibre nutritionnel (Nazar et al., 2011 ; Turan et Tripathy, 2012).

Les plantes ont développé des mécanismes pour protéger les cellules et les systèmes sub-cellulaires contre les effets délétères des formes actives d'oxygène occasionnés par le stress salin, en activant des enzymes telles que la catalase, les peroxydases et/ou des systèmes non enzymatiques tels que l'ascorbate.

Les phytohormones appelées aussi régulateurs de croissance jouent un rôle vital dans la capacité des plantes à s'acclimater aux conditions défavorables de l'environnement en favorisant la croissance et le développement. Bien que la réponse de la plante à la salinité dépende de plusieurs facteurs, les phytohormones semblent avoir un rôle critique dans la modulation des réponses physiologiques qui permettent la résistance/tolérance à la salinité.

L'augmentation des effets de la salinité sur les terres agricoles nécessite une meilleure compréhension des mécanismes de tolérance des plantes afin de maintenir la productivité des cultures et de gérer au mieux les conditions de croissance.

Le présent travail s'inscrit dans la problématique développée par l'équipe de physiologie végétale qui s'intéresse aux réponses des plantes cultivées aux stress abiotiques.

Dans ce contexte, notre travail a eu pour objectif d'étudier et de comprendre le comportement morpho-physiologique des plantules de *Trigonella foenum graecum* L. soumises à deux concentrations de NaCl pendant la période végétative.

Afin de mener cette étude, nous nous sommes intéressés à l'évaluation de quelques paramètres à savoir :

- Mesure de la croissance pondérale de la partie aérienne et racinaire, mesure de la longueur de la partie aérienne ainsi que la surface et le nombre de feuilles.

INTRODUCTION

- Evaluation du statut hydrique par la mesure de la TRE et du taux de transpiration.
- Dosage de certains paramètres associés à la photosynthèse tels que les pigments foliaires, les sucres solubles, la conductance stomatique.
- Evaluation de la peroxydation des lipides par la mesure de la fuite des électrolytes ainsi que le dosage du MDA.
- Mesure de quelques activités enzymatiques antioxydantes telles que la catalase et l'ascorbate peroxydase cytosolique.
- Evaluation du statut nutritionnel par la mesure des micro et macronutriments ainsi que du Na⁺ au niveau de la partie aérienne et souterraine.
- Quantification des hormones endogènes telles que l'acide abscissique, l'acide indole acétique, l'acide aminocyclopropane-1-carboxylique un précurseur de l'éthylène, l'acide jasmonique, les cytokinines, l'acide salicylique et l'acide gibbérellique au niveau de la partie aérienne et racinaire.

Synthèse bibliographique

I.1. Présentation de *Trigonella foenum graecum* L.

I.1.1. Systématique de l'espèce

Classification phylogénétique APG III

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Embranchement	Spermatophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Rosidae
Ordre	Fabales
Famille	Fabaceae
Genre	<i>Trigonella</i>
Espèce	<i>Trigonella foenum-graecum</i> L.

I.1.2. Origine

L'origine exacte du fenugrec est difficile à déterminer car la plante a été cultivée depuis l'antiquité, environ 4000 ans avant JC. La région méditerranéenne est connue pour être l'habitat naturel du genre *Trigonella* (Vavilov, 1926) alors que De Candolle (1964) et Fazli et Hardman (1968) suggèrent une origine asiatique de la plante. Dangi et al. (2004) ont suggéré que *T. carrulea* et *T. foenum-graecum* sont originaires de Turquie. Les espèces sauvages du genre existent dans les pays d'Europe, d'Afrique du Nord, des îles Canaries, d'Afrique du Sud, d'Asie centrale et de l'Australie (Wichtl et Anton., 2003). Le fenugrec est une plante cultivée actuellement dans plusieurs régions du monde (Fig. 1).

En Algérie, plusieurs espèces de Trigonelle ont été répertoriées. D'après la flore de Quezel et Santa (1962), certaines espèces spontanées sont sahariennes telles que *Trigonella anguina* Del., *T. stellata* Forsk., *T. polycerata* L., et d'autres sont présentes au niveau du Tassili telles que *T. balachowskyi* Leredde. et *T. maritima* Del.

CHAPITRE I – SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

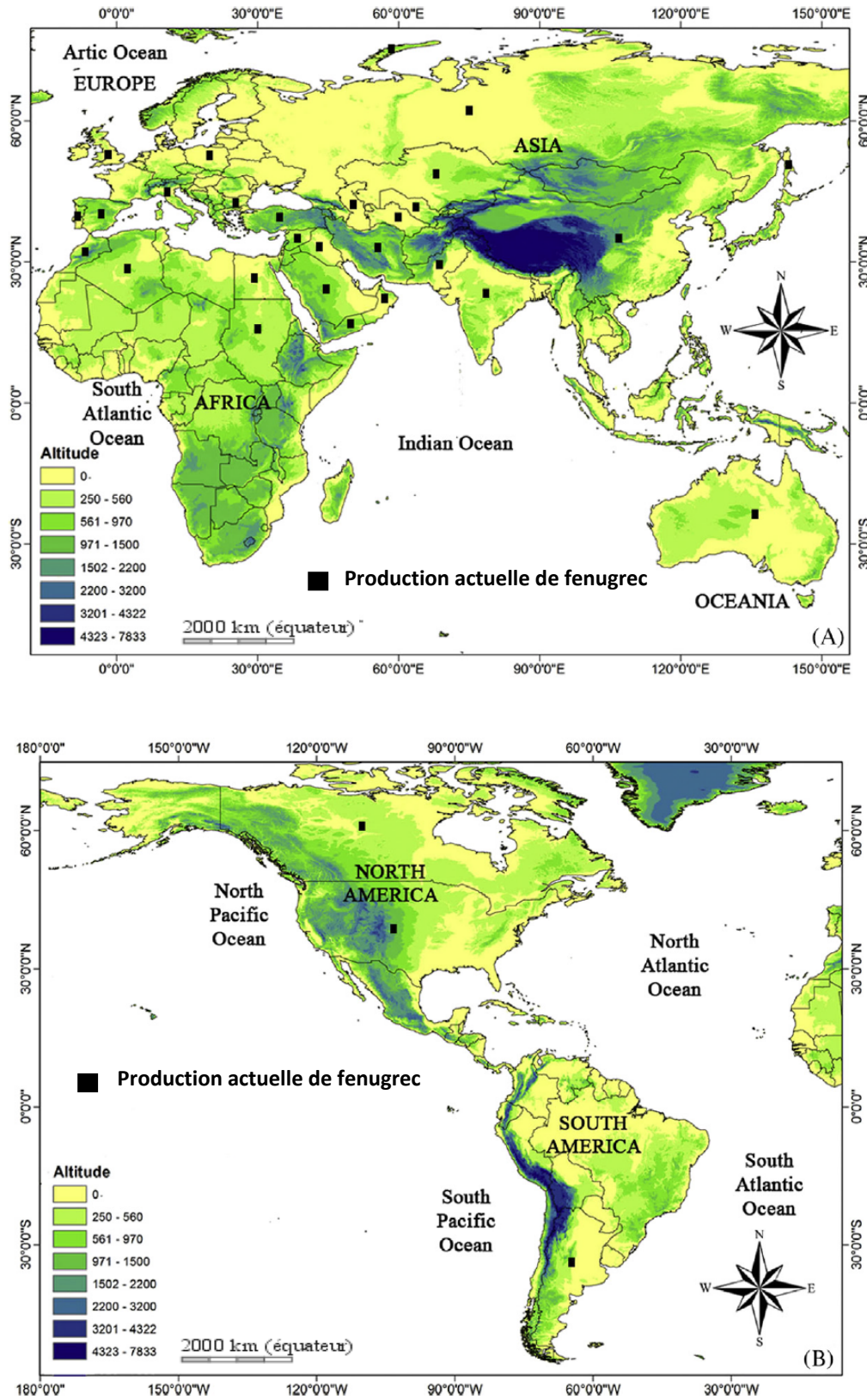


Figure 1 : Production actuelle du fenugrec dans le monde (Basu et al., 2019)

I.1.3. Description botanique

Le fenugrec est une plante herbacée annuelle appartenant à la famille des fabacées, le pied de fenugrec peut atteindre une hauteur de 30 à 80 cm. Les tiges supportent des ramifications nombreuses, dotées de feuilles ovales trifoliées. Le fruit du fenugrec est une gousse dont la longueur, variable, pouvant atteindre 20 cm renfermant des graines.

I.1.4. Croissance et développement

Le fenugrec pousse sur des sols calcaires et sa culture exige assez peu d'humidité. Il est assez tolérant à la sécheresse. Il se développe mieux sur un sol riche et bien drainé ou les sols sableux-limoneux avec un pH de 5.3 - 8.2 en plein soleil. En tant que plante légumineuse, elle a besoin de peu ou pas d'engrais azoté car elle peut fixer l'azote et enrichir le sol (Acharya et al., 2010).

La période de germination des graines de fenugrec dans le sol varie généralement entre 3 et 10 jours. La germination est de type épigé. Six à dix jours après la germination, il y a apparition de la première feuille simple. La première feuille trifoliée se forme après 5 ou 8 jours supplémentaires (Fig. 2). La floraison a généralement lieu au bout de 60 jours après la plantation du fenugrec. Les graines sont prêtes à être récoltées 30 à 35 jours après la floraison.

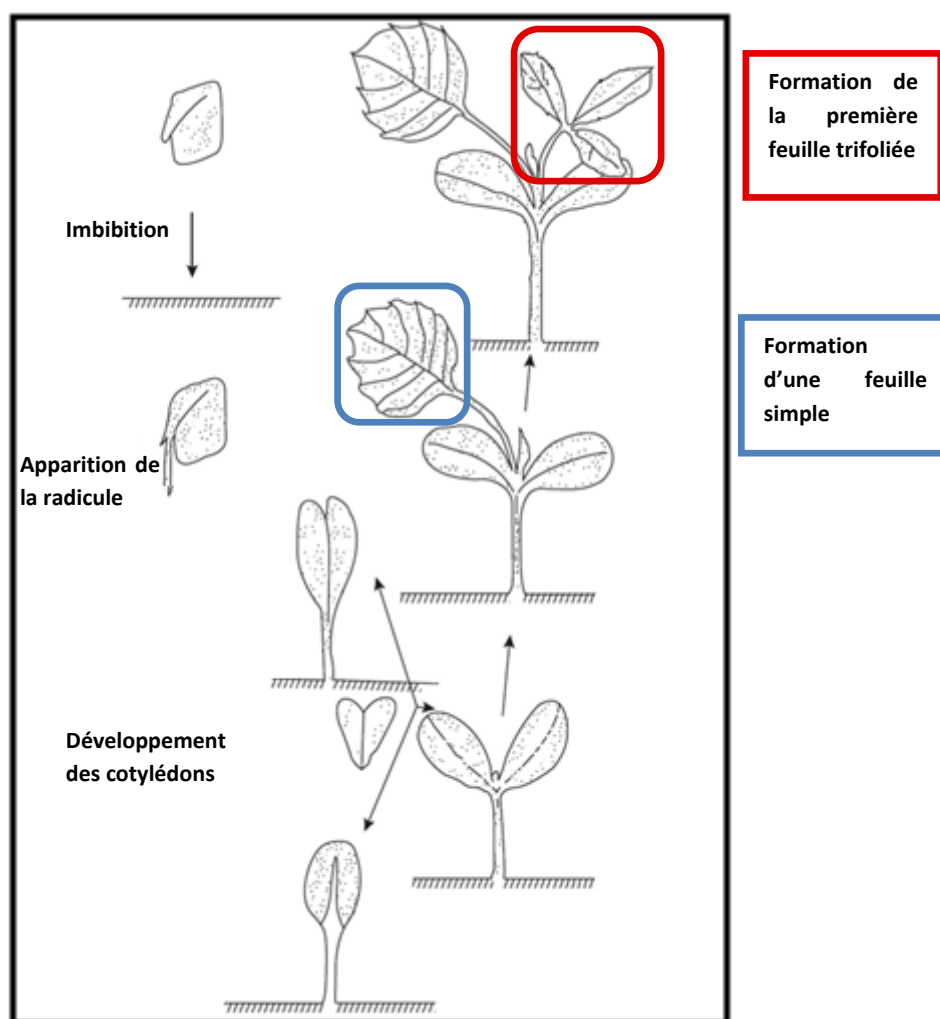


Figure 2 : Les premières étapes de la croissance du Fenugrec (Petropoulos, 2002)

I.1.5. Intérêts

Utilisation dans l'alimentation

Le fenugrec est l'une des premières épices connues de l'homme et utilisée par les anciens Egyptiens comme nourriture, plante médicinale et pour les rituels d'embaumement religieux. En Asie et en Egypte, les racines des semis germés, de 5 à 8 cm de long, sont consommées comme légumes. Les feuilles fraîches ou séchées ont un goût amer et une forte odeur unique. Elles sont très appréciées dans les curries (mélange d'épices) et se combinent avec d'autres légumes. En Chine et en Asie, les feuilles sont généralement consommées bouillies (Prasad et al., 2014).

Utilisation dans la médecine traditionnelle

Les graines de fenugrec sont utilisées pour stimuler le métabolisme et aider à contrôler le taux de sucre, à soulager les troubles gastriques et digestifs, à baisser la tension artérielle et à traiter l'anémie. Le fenugrec est utilisé aussi pour traiter la bronchite, la fièvre, les maux de gorge, les plaies, les irritations cutanées, les ulcères et dans le traitement du cancer. La graine de fenugrec est utilisée aussi comme galactogène (Wani et Kumar, 2018).

I.2. La salinité dans le monde

La population mondiale est en voie d'augmenter de 34% d'ici 2050 pour atteindre environ 9.1 billion, cela nécessite une production de nourriture de plus de 70% (FAO 2009). Satisfaire les besoins alimentaires d'une population en pleine croissance est une tâche difficile car les changements climatiques ont mis en péril la durabilité et la productivité des systèmes de production agricole.

Dans le monde entier, la salinité des sols a affecté environ 30% des sols irrigués et 6% de la superficie totale avec une perte monétaire de 12 milliards de dollars US dans la production agricole (Shabala, 2013). La surface affectée par la salinité dans le monde est évaluée à 954.8 millions d'hectares, soit 23% des terres cultivées (Tableau. 1).

Le terme « salinité » correspond à la présence dans le sol et dans l'eau de solutés minéraux électrolytiques à des concentrations nocives pour de nombreuses cultures agricoles. Les principaux ions qui contribuent à la salinité des sols sont le Cl^- , SO_4^{2-} , HCO_3^- , BO_3^{3-} , Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} et plus rarement, NO_3^- et K^+ avec une prédominance du Cl^- et du Na^+ (Bernstein, 1975).

Moins évidente que l'apparition de sols naturellement salins mais peut être plus insidieuse, est la salinité provoquée par inadvertance des sols initialement productifs provoquée par l'intervention humaine. La salinisation est très répandue dans les terres irriguées à cause de la mauvaise gestion de l'irrigation et du drainage. La salinisation des sols agricoles à la suite de la pratique d'irrigation, appelée aussi salinisation secondaire est l'un des exemples les plus connus de la pollution des sols (Perez-Alfocea, 1999).

CHAPITRE I – SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

Tableau 1 : Distribution des sols affectés par le sel dans le monde (million hectares) (Pessarakli et Szabolcs, 1999)

Régions	Superficie (millions d'hectares)
Afrique	80.5
Europe	50.8
Amérique du nord	15.7
Amérique du sud	129.2
Australie	357.3
Mexique et Amérique centrale	2
Asie du Sud Est	20
Asie du centre et du Nord	211.7
Asie du Sud	87.6
Total	954.8

I.2.1. Les différents types de salinisation

- La salinisation primaire

Le sol peut être riche en sels en raison des constituants de la roche mère tels que les minéraux carbonés et/ou le feldspath. Des événements géologiques ou des formations spécifiques peuvent augmenter la concentration en sel des eaux souterraines et donc dans les couches des sols. Grâce aux effets capillaires (par évapotranspiration), les sels s'accumulent au niveau ou à proximité de la surface du sol (Chari et al., 2012).

A l'exception des bordures de la mer, les sols salins se rencontrent rarement dans les régions humides grâce à l'excès de pluie par rapport à l'évapotranspiration. Par contre dans les régions arides, il peut y avoir des périodes sans précipitations et donc pas de lessivage efficace, ce qui induit une accumulation des sels dans le sol. L'effet combiné des maigres précipitations, de l'évaporation élevée, de la présence de sédiments salins et dans certains endroits la présence d'eaux souterraines peu profondes et saumâtres induit la formation d'un sol salin (Hillel, 2005).

CHAPITRE I – SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

Outre l'accumulation à long terme des sels dans le sol, la salinisation naturelle du sol peut également être préexistante en raison des sols submergés par l'eau de mer. L'eau de mer remplit les vides des sédiments et reste enfermée dans les dépôts marins (Wendland et al., 2008). De plus, la hausse actuelle du niveau de la mer peut provoquer l'inondation des terres côtières, que ce soit à long terme (transgressions marines) ou à court terme (inondations, tsunamis). Ces augmentations peuvent amplifier l'intrusion des eaux de mer dans les zones côtières provoquant des problèmes de salinité du sol dans ces dernières (Raats, 2014).

- La salinisation secondaire

Contrairement à la salinisation primaire, la salinisation secondaire est induite par l'intervention de l'homme, principalement par l'irrigation avec des eaux salines et d'autres pratiques d'irrigation mal adaptées souvent associées à de mauvaises conditions de drainage (Fan et al., 2012).

Avec un climat dominé par de faibles précipitations, des taux d'évapotranspiration défavorables et des caractéristiques du sol qui limitent la lixiviation, les terres irriguées sont des points sensibles de la salinisation. En tant que telle, la salinisation est un facteur majeur limitant la production végétale dans les zones côtières arides (Sparks, 2003).

Les eaux souterraines salées peuvent atteindre les couches supérieures du sol et fournir ainsi des sels à la zone racinaire. Dans les régions arides, les sols mal drainés permettent également une évaporation trop importante conduisant à des résidus de sel à la surface du sol (Mateo-Sagasta et Burke, 2011).

L'utilisation d'engrais et d'autres apports associés à l'irrigation et un drainage insuffisant provoquent une salinisation du sol, plus marquée dans l'agriculture intensive (Eckelmann et al., 2006). Le traitement des eaux usées, industrielles ou les opérations minières sont souvent riches en sel, leur injection souterraine mal gérée, leur stockage en surface ou leur utilisation pour l'irrigation peuvent également conduire à la salinisation des sols. L'utilisation excessive d'agents de dégivrage traditionnels à base de sels contribue également à l'accumulation de sels dans le sol et l'eau souterraine (Mateo-Sagasta et Burke, 2011).

CHAPITRE I – SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

La salinité du sol est la cause majeure de la désertification le long de la côte méditerranéenne, principalement due aux activités humaines. Dans la région méditerranéenne, la salinisation des sols affecte 25% des terres agricoles irriguées à un taux significatif (Abu Hammad et Tumeizi, 2012).

La salinité des sols entraîne souvent d'autres problèmes dans les sols tels que la sodicité et l'alcalinité. La sodicité du sol est le résultat de la liaison des ions Na^+ aux particules d'argile chargées négativement, ce qui conduit à la dispersion et au gonflement de l'argile.

I.2.2. La salinité en Algérie

En Algérie, la superficie des sols salés est estimée à 1,5 million d'hectares en 2004 (MADR, 2004). D'après Douaoui et Hartani (2007), environ 20% des sols irrigués en Algérie sont concernés par le problème de la salinité. Ce problème a été observé dans plusieurs régions d'Algérie (Chlef, Relizane, Mohamadia, Sig, Ain Timouchent, Hautes plaines de Setif et de Constantine) (Tableau. 2). La salinité a connu une grande extension dans les régions sahariennes au sud de Biskra jusqu'à Touggourt, Ouargla et au-delà (Durand, 1958).

Tableau 2 : Pourcentage des surfaces (%) affectées par la salinité dans différentes wilayas d'Algérie (Benzellat, 2011)

Wilaya	Salinisation en %	Wilaya	Salinisation en %
Tamanrasset	57.57	Mascara	1.97
Ouargla	56.64	Alger	1.89
Ghardaïa	41.41	Mostaganem	1.5
Bechar	16.97	Naama	1.49
Illizi	10.53	Laghouat	1.48
Djelfa	9.22	Batna	1.05
Relizane	8.28	Oran	0.99
Ain Temouchent	8.14	Chlef	0.79
Tébessa	5.61	Guelma	0.7
Adrar	5.2	Mila	0.45
Biskra	4.8	Boumerdes	0.27
Khanchla	2.52	Saïda	0.23

CHAPITRE I – SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

I.2.3. Mesure de la salinité

La conductivité électrique définit la quantité totale en sels solubles correspondant à la salinité globale du sol, elle dépend de la teneur et de la nature des sels solubles présents dans ce sol. D'après Richards (1994), un sol est considéré salé, lorsque la conductivité électrique de l'extrait saturé est supérieure à 4 dS/m à 25°C.

La conductivité électrique (CE) est souvent utilisée pour la mesure de la salinité des eaux et du sol (Tableau. 03), elle est exprimée en déci-siemens par mètre (dS.m^{-1}) ou en millimhos par centimètre (mmhos.cm^{-1}), les deux unités étant équivalentes (Patterson, 2006). Elle peut aussi être quantifiée en milligramme par litre d'eau (mg/L), souvent exprimée en partie par million (ppm), en millimolaire (mM) ou en milliéquivalent par litre (meq.L^{-1}) (Seraphin, 1985).

Tableau 3 : Classification de la conductivité électrique des sols et effets de la salinité sur les plantes (Richards, 1954)

Classe	CE (dS.m^{-1})	Effets sur la croissance et le rendement des plantes
Non salin	0-2	Négligeable
Légèrement salin	2-4	Baisse du rendement de certaines plantes sensibles
Modérément salin	4-8	Baisse du rendement de la plupart des plantes
Fortement salin	8-16	Un rendement normal seulement pour les plantes tolérantes au sel
Très fortement salin	>16	Un rendement raisonnable que pour les plantes très tolérantes au sel

I.3. Le stress salin chez les plantes

1.3.1. Définition du stress chez les plantes

Le stress est défini comme toute contrainte abiotique externe (chaleur, eau, salinité) ou biotique qui limite le taux de photosynthèse et réduit la capacité de la plante à convertir l'énergie en biomasse (Grime, 1977). Le stress environnemental peut être défini chez la plante comme tout changement dans les conditions de croissance, dans le milieu naturel de la plante, qui altère ou perturbe son homéostasie métabolique (Levitt, 1980).

CHAPITRE I – SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

Par conséquent, un ajustement osmotique est nécessaire, visant à atteindre un nouvel état d'homéostasie, grâce à un processus appelé habituellement l'acclimatation (Mittler, 2006). Cependant, le concept de stress chez les plantes est souvent utilisé de manière imprécise et la terminologie des stress peut prêter à confusion.

Le stress est généralement défini comme toute modification d'un facteur externe qui exerce une influence défavorable sur la plante. Dans la plupart des cas, le stress est mesuré par rapport à la survie des plantes, au rendement des cultures, à la croissance (accumulation de biomasse) ou aux processus d'assimilation primaires (absorption de CO₂ et nutriments), qui sont liés à la croissance globale. De plus, le concept de stress est intimement associé à celui de tolérance au stress, qui est la capacité de la plante à faire face à un environnement défavorable. Dans la littérature, le terme résistance au stress est souvent utilisé de manière interchangeable avec la tolérance au stress, bien que ce dernier terme soit le plus utilisé (Taiz et Zeiger, 2009).

1.3.2. Effet du stress salin sur la croissance des plantes

La plupart des espèces d'intérêt agronomique sont rangées dans le groupe des glycophytes, plantes dites sensibles au sel parce que leur croissance est diminuée en présence de sel dans le sol. À l'inverse un certain nombre de plantes dites halophytes sont naturellement tolérantes au sel poussent aussi bien voir mieux sur un sol salin qu'en conditions normales.

Il n'y a pas de distinction précise entre les concentrations de sel tolérées par les plantes de l'un ou l'autre groupe de plantes bien qu'une frontière arbitraire de concentration externe de sel de l'ordre de 6 g.L⁻¹ soit citée. C'est pourquoi, il n'est pas possible de définir dans l'absolu, le seuil de salinité à partir duquel les plantes subissent un stress.

La salinité affecte presque tous les aspects du développement de la plante, y compris la germination, la croissance végétative et la reproduction. La salinité du sol induit une toxicité ionique, un stress osmotique, une déficience en nutriments (N, Ca²⁺, K⁺, P, Fe²⁺, Zn²⁺) et un stress oxydatif chez les plantes.

Les plantes doivent faire face à deux contraintes majeures sous l'effet de la salinité, le stress osmotique et le stress ionique (Fig. 03). Le stress osmotique s'installe rapidement, il est dû à une augmentation de la concentration de sel à l'extérieur des racines, ce qui mène à une

CHAPITRE I – SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

inhibition de l'absorption de l'eau, de l'expansion cellulaire et du développement des racines latérales (Munns et Tester, 2008).

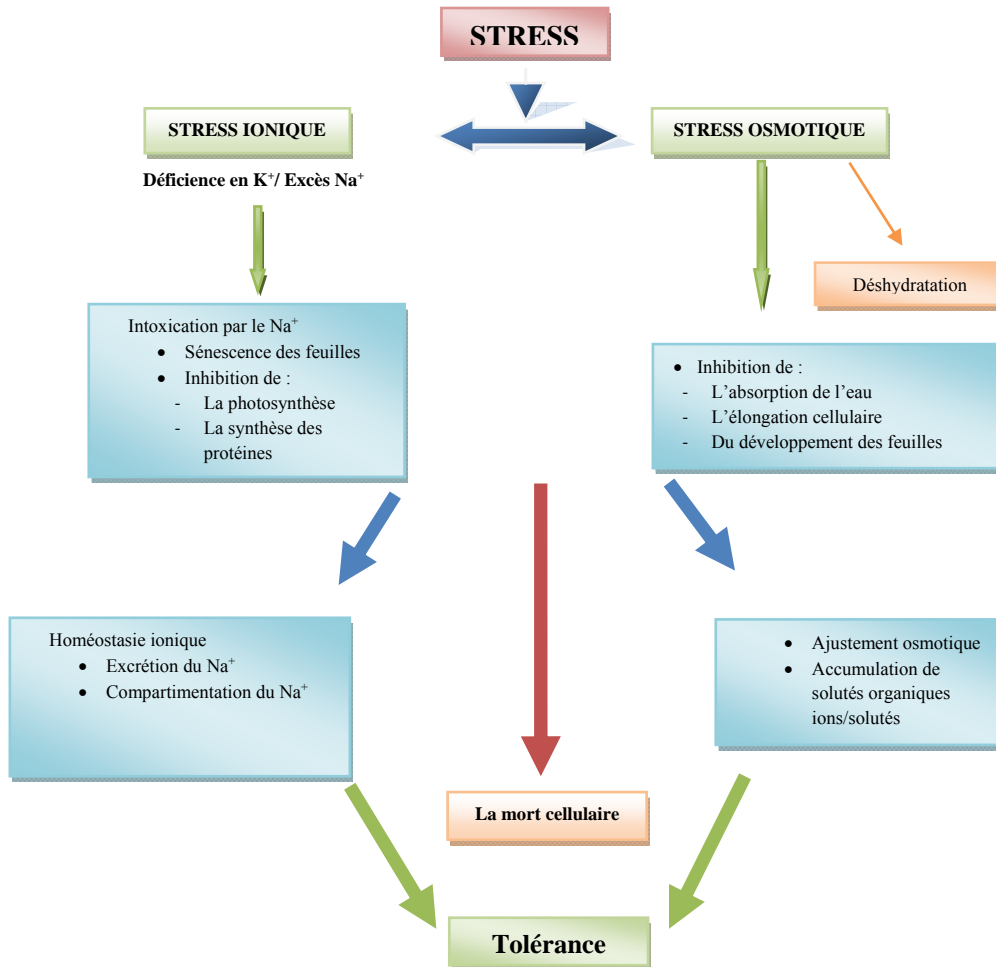


Figure 3 : Schéma représentant l'effet du stress salin sur la plante (Horie et al., 2012)

Le stress ionique apparaît plus tard quand les ions toxiques comme les ions Na^+ s'accumulent en excès dans la plante en particulier au niveau des feuilles, ce qui mène à la sénescence des feuilles et à une diminution des activités métaboliques essentielles comme la photosynthèse (Yeo et Flowers, 1986).

Le stress induit une diminution de la surface totale des feuilles et la diminution du nombre de feuilles. En effet, la diminution de la croissance foliaire est la première réponse des glycophytes exposées à un stress salin (Munns et Termaat, 1986).

CHAPITRE I – SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

La réduction de la surface des feuilles peut être considérée comme un mécanisme d'évitement, qui minimise la perte d'eau par transpiration quand les stomates sont fermés (Savé et al., 1994). Cet effet peut favoriser la rétention des ions toxiques au niveau des racines, limitant ainsi l'accumulation de ces ions au niveau de la partie aérienne de la plante (Munns et Tester, 2008).

- **Effet osmotique**

Le stress osmotique provoqué par la salinité réduit la disponibilité de l'eau pour les racines de la plante. Les plantes régulent le transport de l'eau sous l'effet d'un stress salin car une quantité d'eau suffisante est indispensable pour les cellules pour maintenir leur croissance et leurs fonctions vitales comme la photosynthèse et le métabolisme. Lors du transport de l'eau à partir des racines vers la partie aérienne, l'évaporation est l'une des forces principales qui permet le déplacement de l'eau. Le stress osmotique induit par la salinité provoque la fermeture des stomates via la régulation hormonale (Jia et al., 2002), ce qui mène à une diminution de l'évaporation et du transport de l'eau.

La division et l'élongation cellulaire sont fortement affectées par la baisse de la pression de turgescence (Shannon et al., 1998). La salinité inhibe le cycle cellulaire temporairement par la réduction de l'expression et de l'activité des cyclines et cyclines dépendantes kinase qui se traduit par moins de cellules au niveau du méristème et donc limitant la croissance (West et al., 2004).

L'augmentation du rapport racine/partie aérienne est une des réponses au stress salin, liée à des facteurs associés au stress hydrique (effet osmotique) plutôt qu'à un effet spécifique du sel (Hsiao et Xu, 2000). Une croissance relative importante des racines sous l'effet de la salinité, peut favoriser la rétention des ions toxiques au niveau de cet organe, contrôlant ainsi sa translocation vers la partie aérienne. Cette réponse peut constituer un mécanisme typique pour la survie des plantes dans des conditions de salinité (Cassaniti et al., 2012).

- **Effet ionique**

Le stress salin cause une toxicité ionique au niveau des cellules végétales via l'influx important du Na⁺ dans les cellules. Ce phénomène peut entraîner un déséquilibre ionique

CHAPITRE I – SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

intracellulaire à cause de la prédominance d'ions spécifiques (Na^+ et Cl^-) ou de l'effet de compétition entre les cations et les anions (Dogan et al., 2010).

Au niveau de la plante entière, la salinité mène à une sur-accumulation de Na^+ au niveau de la partie aérienne en particulier au niveau des feuilles âgées (Garthwaite et al., 2005).

Le remplacement des ions potassium par les ions sodium ou les ions chlore dans les réactions biochimiques, induit un changement conformationnel des protéines. Pour beaucoup d'enzymes, le K^+ agit comme cofacteur et ne peut être substitué par le Na^+ . Une forte concentration de K^+ est aussi nécessaire pour la liaison du tRNA aux ribosomes et donc à la synthèse des protéines (Tester et Davenport, 2003).

Certains travaux ont montré qu'une accumulation spécifique de Cl^- dans les feuilles de plantes stressées par le sel déclenche la synthèse d'ACC et sa conversion en éthylène à un taux élevé, libérant suffisamment d'hormone pour déclencher l'abscission des feuilles comme dans le cas des agrumes et d'autres plantes (Tudela et Primo-Millo, 1992; Dodd, 2005).

Sous l'effet de la salinité, les propriétés de la paroi cellulaire changent et la turgescence des feuilles diminue menant à une réduction de la surface foliaire totale (Byrt et al., 2018). La paroi est chargée négativement et peut se lier à des cations (Ca^{2+} et du Na^+) de manière réversible (Shomer et al., 2003). La ramification de certaines molécules de pectines dépend des liaisons Ca^{2+} avec les résidus chargés négativement (Hocq et al., 2017). Si le rapport $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ est élevé, les ions Na^+ peuvent déplacer les ions Ca^{2+} de leur site de liaison réduisant ainsi la cohésion de la pectine ce qui mène à un ralentissement de l'élongation cellulaire (Proseus et Boyer, 2012).

L'effet ionique se manifeste plus généralement au niveau des feuilles causant des dommages au niveau du méristème et un déséquilibre nutritionnel. Ainsi, de fortes concentrations de Na^+ ou de Cl^- peuvent s'accumuler dans les feuilles ou dans une partie de celles-ci provoquant des brûlures au niveau des feuilles « scorching » ou « firing ».

La quantité de sels dans le sol que peuvent supporter les plantes cause de grands dommages pour leur culture; cela varie avec les familles, les genres et les espèces mais aussi les variétés. Les effets de la salinité peuvent ne pas être négatifs ; la salinité, selon son niveau,

CHAPITRE I – SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

peut avoir quelques effets favorables sur le rendement, la qualité et la résistance aux maladies. Chez l'épinard, par exemple, le rendement peut initialement augmenter sous l'effet d'une faible salinité ou d'une salinité modérée (Osawa, 1963).

I.3.3. Effet du stress salin sur la photosynthèse

Le stress salin affecte la photosynthèse à court et à long terme. A court terme, la salinité peut affecter la photosynthèse par une baisse de la conductance stomatique, menant à une diminution de l'assimilation du carbone (Parida et Das, 2005). Cet effet peut mener à une inhibition rapide de la croissance (réduction de la surface foliaire), souvent après quelques heures d'exposition au sel (Herández et Almansa, 2002).

A long terme, le stress salin peut affecter le processus photosynthétique en raison de l'accumulation de sel au niveau des feuilles jeunes (Munns et Tester, 2008) et d'une diminution de la concentration en chlorophylle et en caroténoïdes (Duarte et al., 2013). Le taux photosynthétique net (P_N) peut diminuer à cause de la fermeture des stomates, et/ou de l'inhibition des enzymes du cycle de Calvin, comme la Rubisco, la phosphoénol pyruvate carboxylase (PECP), la ribulose-5-phosphate kinase, la glyceraldehyde-3-phosphate déhydrogénase ou la fructose-1,6-biphosphatase (Chaves et al., 2009). La salinité peut aussi affecter la photosynthèse à travers la diminution de l'efficacité du photosystème II (Netondo et al., 2004). La diminution de la conductance stomatique permet d'éviter une perte importante en eau par transpiration

I.4. Les hormones végétales

Le concept a été emprunté à partir de celui des animaux. La définition la plus simple d'une hormone chez les animaux est « une substance organique produite dans un organe et transportée à de très faibles concentrations vers d'autres sites afin de réguler des processus spécifiques dans les tissus cibles. Chez les végétaux cette notion est moins claire, et cela pour plusieurs raisons qui tiennent les unes aux caractères de l'émission et du transport du signal hormonal, et les autres aux particularités de sa réception (Heller et al., 2000).

Le concept d'hormone végétale dérive probablement des observations réalisées par Sachs entre 1880 et 1893. Ce chercheur a suggéré que « Les différences morphologiques entre les organes végétaux étaient dues à des différences dans leur composition » et postulait

CHAPITRE I – SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

l'existence de substances produites au niveau des racines, des fleurs et des autres organes et qui se déplacent dans différentes directions au sein de la plante.

Certaines hormones ont été découvertes grâce à des axes de recherches comme le cas des gibbérellines (AGs) au cours de recherches phytopathologiques ; les cytokinines (CKs) au cours d'essais de culture tissulaire.

Les premières hormones végétales (Fig. 04) ont été découvertes au milieu du 20^e siècle, notamment les auxines, l'acide gibbérellique, l'éthylène, la cytokinine et l'acide abscissique. Par la suite, d'autres hormones ont été découvertes, les brassinostéroïdes, l'acide salicylique, les jasmonates et plus récemment, les strigolactones (Li et al., 2017).

Certaines de ces molécules agissent au niveau de leur lieu de synthèse, d'autres passent d'une cellule à une autre, d'autres sont transportées entre les tissus et organes afin de réguler des processus au niveau de la plante entière et d'autres peuvent être rejetées dans l'environnement pour influencer les plantes voisines et d'autres organismes.

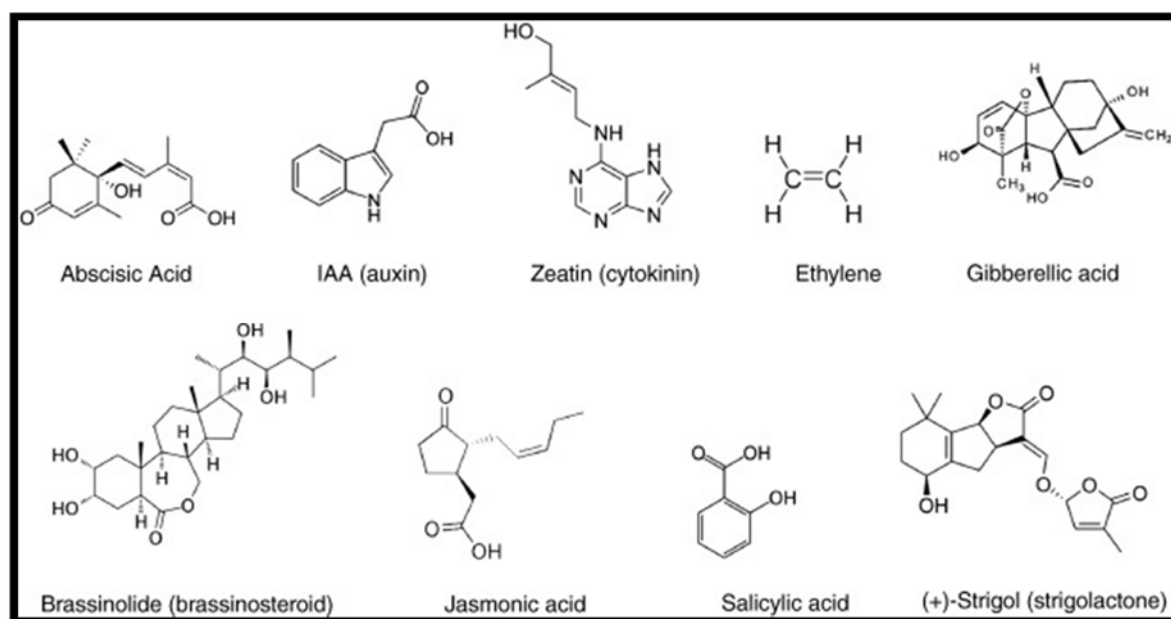


Figure 4 : Structures biochimiques des principales phytohormones (Wani et al., 2016)

Certaines phytohormones assurent un rôle vital dans la réponse des plantes au stress abiotique, ce qui leur permet de survivre aux conditions de stress. Cela entraîne une croissance plus réduite, permettant aux plantes de concentrer leurs ressources sur leurs réponses au stress (Skirycz et Inzé, 2010)

CHAPITRE I – SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

I.4.1. Rôles des phytohormones chez les plantes

Il existe plusieurs molécules endogènes de signalisation et régulatrices qui peuvent influencer la croissance, le développement et la physiologie des plantes. Les hormones sont synthétisées de manière spécifique pour la signalisation. Elles sont souvent transportées d'un site de synthèse vers un site d'action et elles agissent à de très faibles concentrations.

Les auxines (AIA)

L'acide indole-acétique, fut la première hormone végétale découverte dans les années 1920. D'autres substances possédant les mêmes propriétés physiologiques de l'AIA, sont désignées sous le nom d'auxines. Ce sont des phytohormones qui jouent un rôle important dans la régulation de la croissance et le développement des plantes (auxine de grec *auxé*, croissance). Elles contribuent essentiellement au développement des tissus vasculaires, à l'élongation cellulaire, l'organogénèse et la dominance apicale (Lau et al., 2008).

L'AIA est synthétisée à partir du tryptophane, principalement dans les primordiums des feuilles, ainsi que dans les graines en développement (Fig. 05). Il est transporté de cellule en cellule à travers la membrane cellulaire (Zazimalova et al., 2010). Son transport vers les racines s'effectue via le phloème.

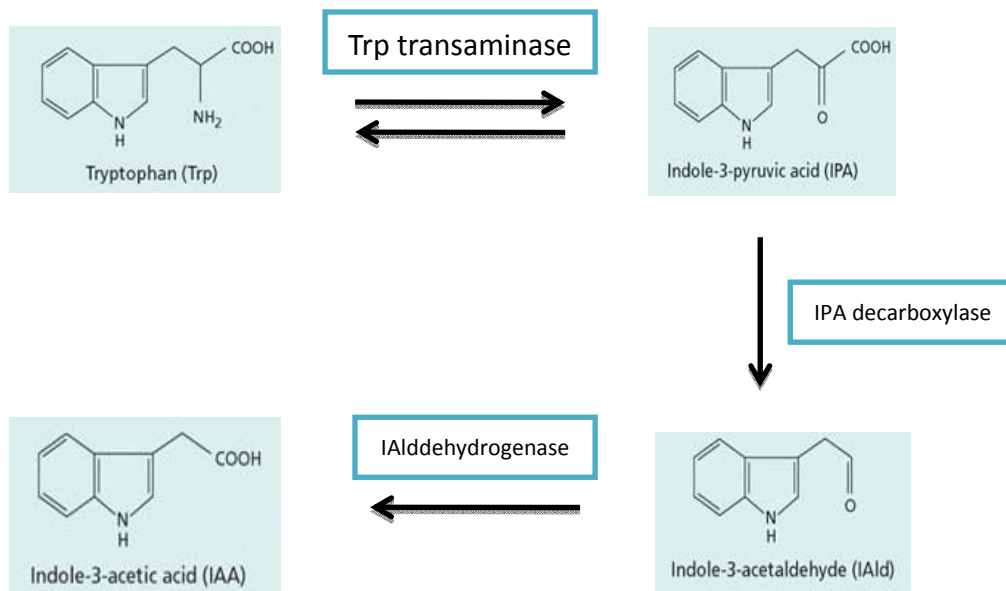


Figure 5 : Voie de biosynthèse de l'AIA (Bartel, 1997)

CHAPITRE I – SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

L'auxine stimule l'auxèse (élongation cellulaire) via l'activation des pompes à protons (Fig. 06). Ces pompes expulsent des protons dans le milieu extracellulaire ce qui fait diminuer le pH au niveau de la paroi. L'acidification de la paroi a pour conséquence d'activer les expansines (enzymes) qui coupent les liaisons hydrogène entre les microfibrilles de la cellulose et d'autres composants de la paroi cellulaire. L'armature de cellulose se relâche et les polysaccharides de connexion sont séparés, la paroi devient plus extensible. L'efflux des protons favorise aussi l'entrée d'ions potassium qui vont, par un mécanisme d'osmose, induire l'entrée d'eau dans la cellule, d'où une augmentation de la pression de turgescence qui s'applique sur la totalité de la paroi par l'intermédiaire du cytoplasme. La cellule peut alors « s'étirer ». Par la suite, la cellulose synthase procède à la reconstruction de la cellulose (Majda et Robert, 2018).

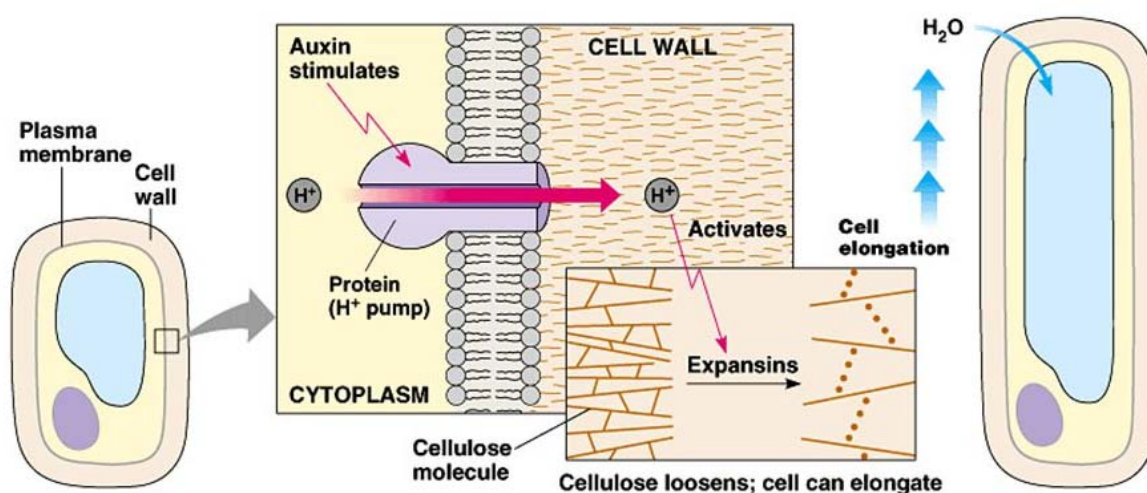


Figure 6 : Implication des auxines dans l'élongation cellulaire (Copyright © 2008 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings)

Acide abscissique (ABA)

L'acide abscissique a été découvert à la suite de recherches réalisées sur l'abscission des fruits de cotonnier par Addicott et ses collaborateurs en 1963. L'acide abscissique est un composé synthétisé à partir du glycéraldéhyde-3-phosphate par l'intermédiaire de l'isopentenyl diphosphate et des caroténoïdes. Il est synthétisé principalement au niveau des racines et des feuilles âgées en réponse à un stress hydrique. Les graines sont généralement riches en ABA. L'ABA est exporté des racines via le xylème et des feuilles via le phloème.

CHAPITRE I – SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

C'est une hormone qui a un rôle de médiateur de signalisation au niveau de plusieurs processus de développement des plantes comme les réponses d'adaptation. Le rôle de l'ABA comme molécule signalale endogène est bien établi. Elle permet aux plantes de survivre aux conditions défavorables de l'environnement comme le stress salin et la sécheresse, c'est l'hormone de détresse (Raghavendra et al., 2010).

Les cytokinines (CKs)

Les cytokinines ont été découvertes dans les années 1950 en raison de leur capacité à induire la division cellulaire. Peu après cette découverte, Skoug and Miller. (1957) ont émis l'hypothèse de la relation auxine-cytokinine dans la morphogénèse des plantes (Miller et al., 1955). D'après cette hypothèse, les cytokinines et les auxines jouent un rôle essentiel dans la morphogénèse des plantes, en influençant la formation des racines et de la partie aérienne ainsi que leur croissance (Fig. 07).

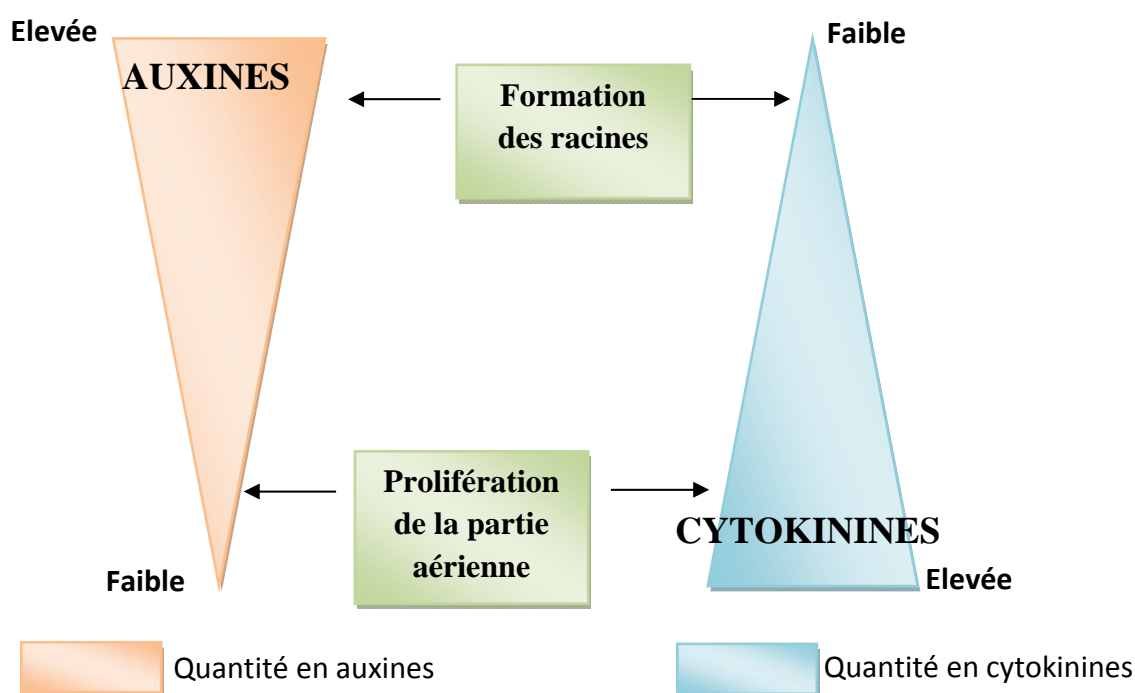


Figure 7 : Organogénèse contrôlée par la balance entre auxines et cytokinines
(Gaspar et al., 2003)

CHAPITRE I – SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

La nature chimique des cytokinines est N⁶-substituée à des dérivés purines. L'isopentenyladenine (iP), la *trans*-zeatine (tZ), la *cis*-zeatine (cZ) et la dihydrozeatine (DZ) sont les cytokinines prédominantes chez les plantes supérieures (Letham, 1994).

Les cytokinines sont des substances naturelles dérivées de l'adénine. La forme chimique la plus courante chez les plantes est la zéatine (Z). Les cytokinines de type iP et tZ sont plus abondantes chez les dicotylédones alors que les cytokinines de type cZ sont majoritairement représentées chez les monocotylédones (Fig. 08). Les cytokinines peuvent se présenter également sous forme de ribosides ou ribotides. Les cytokinines sont synthétisées à partir d'une modification biochimique de l'adénine dans les zones apicales de la racine et dans les graines en développement. Elles sont transportées *via* la sève du xylème des racines vers la partie aérienne de la plante (Sakakibara, 2006).

Ces phytohormones ont un rôle fondamental dans les processus de croissance et de développement des plantes. Elles régulent essentiellement la division cellulaire, la dominance apicale, la biogénèse des chloroplastes, la mobilisation des nutriments, la sénescence des feuilles, la différenciation des vaisseaux, le développement photomorphogénique, la différenciation de la partie aérienne et la production d'anthocyanes (Mok, 2001).

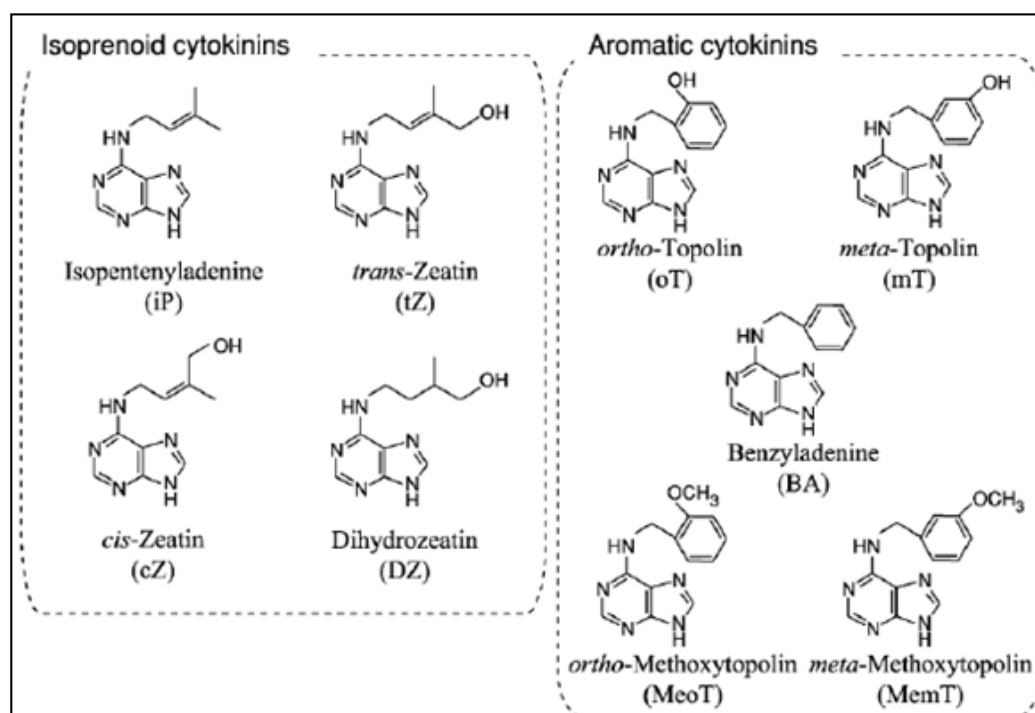


Figure 8 : Structure chimique des principales cytokinines (Sakakibara, 2006)

CHAPITRE I – SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

Les cytokinines seraient impliquées dans l'amélioration de la tolérance au stress abiotique (forte salinité et stress thermique) chez les plantes (Javid et al., 2011).

L'acide jasmonique (JA)

L'acide jasmonique a été identifié par Demole et al. (1962) dans l'huile essentielle des plantes de jasmin. L'acide jasmonique joue un rôle clé dans les réponses physiologiques et biochimiques des plantes sous l'effet des conditions environnementales. L'acide jasmonique est impliqué dans certains processus du développement comme la germination, la croissance des racines, la fertilité, le murissement des fruits et la sénescence (Wasternack et Hause, 2002). En outre, l'acide jasmonique est impliqué dans le mécanisme de défense des plantes en réponse à une attaque par un agent pathogène et le stress environnemental comme la sécheresse, les faibles températures et la salinité (Cheong et Choi, 2003).

La biosynthèse de l'acide jasmonique est réalisée au niveau des feuilles et des racines. L'acide jasmonique est synthétisé à partir de l'acide linoléique. L'allène oxide synthase (AOS) est l'enzyme clé de la biosynthèse de l'AJ. Cette enzyme convertit l'acide 13-hydroperoxylinoléique en acide 12,13-époxylinoléique qui est converti à son tour par l'allène oxide cyclase en cyclopentenone (Creelman et Mullet, 1997). Au niveau de la cellule, le site primaire de biosynthèse est le chloroplaste (Cheong et Choi, 2003).

Les gibbérellines (AGs)

L'origine de leur nom est un ascomycète parasite du riz, *Gibberella fujikuroi* qui provoque le gigantisme chez son hôte (Heller et al., 2000). Les gibbérellines sont généralement impliquées dans la croissance et le développement comme la germination des graines, l'expansion foliaire, la photomorphogénèse, l'élongation de la tige et la floraison (Daviere et Achard, 2013). Le métabolisme de l'AG et la voie de signalisation sont contrôlés par des facteurs interne et externe.

La biosynthèse des AGs est régulée par les stimulus du développement et de l'environnement (Sun et Gubler, 2004). Les AGs diminuent rapidement quand la plante est exposée aux stress biotique et abiotique (Colebrook et al., 2014). D'après les travaux de Achard et al. (2006); une famille de protéines « DELLA », régulateurs négatifs majeurs de

CHAPITRE I – SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

l'AG, sont essentiellement impliquées dans le contrôle des signaux environnementaux et des autres voies de signalisation hormonale chez les plantes.

Il existe environ 125 composés appartenant à ce groupe d'hormones. L'acide gibbérellique (AG3) est un produit fongique largement utilisé dans les applications exogènes d'AG. Cependant, la gibbérelline la plus importante chez les plantes est l'AG1 (Fig.09). Ces composés sont synthétisés à partir du glycéraldéhyde-3-phosphate via l'isopentényl diphosphate, au niveau des tissus jeunes de la partie aérienne et des graines en développement. Sa biosynthèse commence dans les chloroplastes (George et al., 2007).

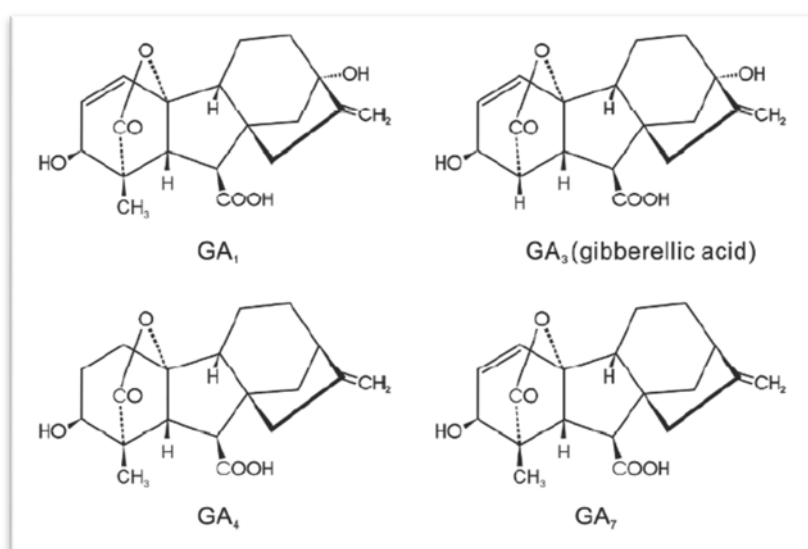


Figure 9 : Représentation de quelques gibbérellines (George et al., 2007)

L'éthylène

L'éthylène est un gaz synthétisé par tous les tissus végétaux régulant ainsi leur développement. Il est impliqué dans le processus de maturation des fruits, la sénescence et l'abscission des feuilles (Abeles et al., 1992). En fonction de l'espèce végétale, l'éthylène peut avoir des effets différents sur le développement. Par exemple, alors qu'il inhibe généralement la croissance de la partie aérienne des dicotylédones (petit pois) il active la croissance de nombreuses hydrophytes comme le riz (Ku et al., 1970).

CHAPITRE I – SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

La voie de biosynthèse de l'éthylène est bien connue. La méthionine est convertie en S-adenosylmethionine qui à son tour est convertie en 1-aminocyclopropane-1-carboxylique acid (ACC) via l'ACC synthase (ACS) ; l'ACC est ensuite métabolisé en éthylène via l'ACC oxidase (ACO) (Wani et al., 2016).

Les taux de production les plus élevés apparaissent dans les tissus sénescents et dans les fruits mûrs. Comme il s'agit d'un gaz, l'éthylène se déplace par diffusion à partir des lieux de synthèse. Son précurseur, l'ACC peut être transporté et produire un effet à distance (Wani et al., 2016).

L'acide salicylique

L'acide salicylique est l'un des plus importants composés phénoliques qui peut agir comme un régulateur de croissance. Il a un effet important sur le fonctionnement de la plante (Shakirova et al., 2003). L'acide salicylique stimule plusieurs processus chez la plante, comme la germination des graines (Cutt et Klessig, 1992), l'absorption et le transport des cations (Harper et Balke, 1981), la glycolyse, la conductance stomatique, la transpiration, l'activité photosynthétique et le taux de croissance (Khan et al., 2003). Le rôle majeur de l'acide salicylique chez les plantes est la régulation de la réponse aux stress biotiques ; cependant, dans la littérature il est médiateur de la réponse à différents stress de l'environnement comme la salinité et le déficit hydrique (Ghassemi-Golezani et Hosseinzadeh-Mahootchi, 2015).

I.4.2. Implication des phytohormones dans le stress salin

- ABA

L'exposition des plantes aux stress abiotiques (fortes salinité et déficit hydrique) induit rapidement une augmentation du taux d'ABA endogène et l'expression de ses gènes de biosynthèse chez les plantes (Zhu, 2002). Sous l'effet de la salinité, les gènes responsables de la biosynthèse de l'ABA sont rapidement activés comme la zéaxanthine oxidase, 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase, ABA-aldehydeoxidase et la sulfurase à molybdène à travers la voie de phosphorylation à calcium-dépendante (Xiong et al., 2002). L'augmentation de l'ABA permet aux plantes de s'acclimater sous l'effet d'un déficit hydrique par une fermeture des stomates et l'accumulation de certaines protéines et d'osmoprotectants pour l'ajustement

CHAPITRE I – SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

osmotique. Cependant, l'augmentation du taux d'ABA mène à un retard de la croissance des plantes (Cramer et Quarrie 2002).

L'expression des gènes de biosynthèse de l'ABA serait régulée par des voies de phosphorylation à Ca^{2+} -dépendant induites par le stress salin et de ses voies de signalisation (Saeng-ngam et al., 2012).

L'augmentation de turgescence des cellules de garde provoque l'ouverture des stomates (Fig. 10). Cela est dû à une augmentation de la pression osmotique (baisse du potentiel hydrique) dans la vacuole des cellules de garde. Cette hausse est liée principalement à une augmentation de la teneur en ions K^+ . Sous l'effet d'un stress hydrique, l'ABA provoque la fermeture des stomates. Cette dernière est induite par une baisse de la pression osmotique vacuolaire qui est la conséquence de la fermeture des canaux d'influx du potassium (K^+_{i}); l'ouverture des canaux d'efflux du potassium (K^+_{e}); l'ouverture des canaux d'efflux anioniques (A^-). En outre, l'ABA induit une augmentation des ions calcium du cytosol provoquant la fermeture des canaux (K^+_{i}) du tonoplaste et l'ouverture des canaux (A^-) et donc interviennent dans la chaîne de transduction de l'ABA qui mène à la fermeture des stomates (Schroeder et al., 2001; Heller et al., 2004).

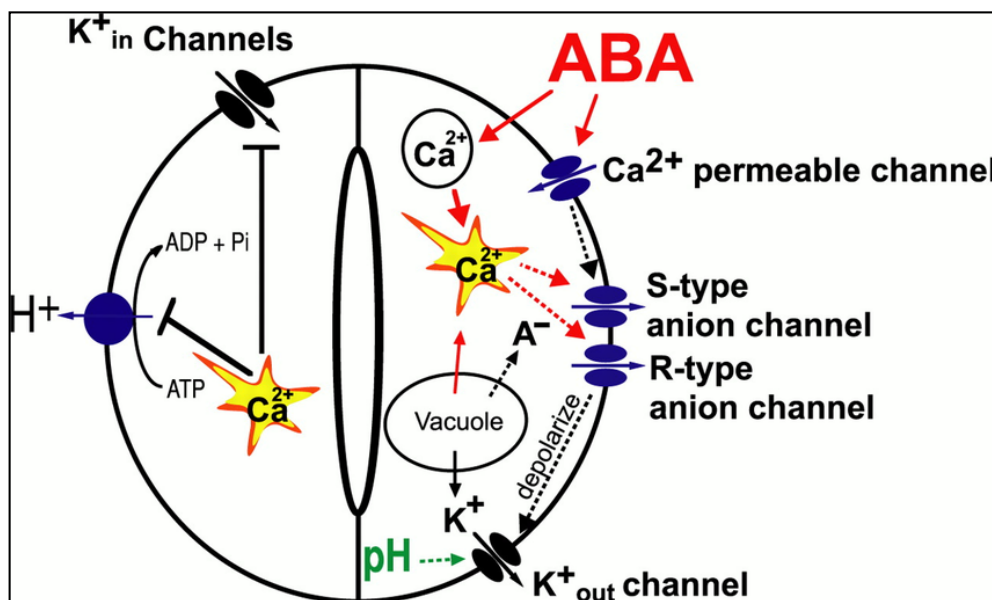


Figure 10 : Modèle illustrant la fermeture des cellules de gardes par l'intervention des canaux ioniques dans la signalisation par l'ABA (Schroeder et al., 2001)

CHAPITRE I – SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

La fermeture des stomates implique une interaction complexe entre différentes molécules. Depuis de nombreuses années, la phytohormone ABA est connue pour être le facteur responsable du processus de fermeture des stomates, mais le mode précis de son action n'a été élucidé qu'en 2005 et il est maintenant certain que l'ABA fonctionnerait en présence d' H_2O_2 (Desikan et al., 2005).

- Les auxines

Les auxines sont impliquées dans la réponse des plantes au stress salin. Une forte salinité induit une modification importante de l'architecture racinaire en altérant l'accumulation des auxines et leur distribution (Petersson et al., 2009). Cela suggère que la redistribution des teneurs en auxines au niveau des tissus de la plante est corrélée avec une réduction de la croissance. D'autres travaux ont montré une réduction significative de la concentration en AIA chez les plantes cultivées comme le riz et la tomate (Kazan, 2013). En effet, une réduction d'environ 75% du taux d'AIA a été observée chez la tomate sous l'effet d'un stress salin (Dunlap et Binzel, 1996). Cependant, d'après Ribaut et Pilet (1994), une augmentation de la teneur en AIA est observée chez des plantes de maïs qui est corrélée avec une baisse de la croissance suggérant une altération de la balance hormonale en condition de stress hydrique.

- Les cytokinines

Sous l'effet du stress salin, une réduction de la biosynthèse des cytokinines au niveau du système racinaire et par conséquent une réduction de cytokinines au niveau de la partie aérienne altérerait le réseau d'expression globale des gènes par des réponses appropriées d'élicite pour soulager les effets du stress (Nishiyama et al., 2012). La réduction des CKs endogènes sous l'effet du stress salin laisse supposer que les taux de cytokinines seraient un facteur limitant pour améliorer la tolérance au stress salin. Une application exogène de cytokinines de synthèse, kinétine, est capable de lever la dormance de graines induite par un stress chez les plantes cultivées comme la tomate, l'orge et le coton (Javid et al., 2011).

Les effets positifs du traitement par la kinétine démontrent son action à éliminer les radicaux libres (Chakrabarti et Mukherji, 2003). Les CKs pourraient diminuer la tolérance à la salinité chez les plantes à travers son interaction antagoniste avec l'hormone de stress l'ABA (Javid et al., 2011). Les CKs jouent un rôle de régulation important au cours du

CHAPITRE I – SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

développement des plantes et de la signalisation par l'ABA pendant un stress (Tran et al., 2010).

Sous l'effet du stress, une accumulation d'ABA aide la plante à éviter le stress par une fermeture des stomates qui minimise la perte de l'eau, accélère la sénescence des feuilles, une baisse de la croissance et induit la biosynthèse des substances protectrices. D'un autre côté, il a été établi que les CKs permettent de retarder la fermeture des stomates et la sénescence des feuilles (Pospisilova et al., 2005). Certains résultats montrent que les CKs joueraient un rôle négatif au cours des réponses au stress salin chez les plantes (Nishiyama et al., 2011).

- L'acide jasmonique

L'acide jasmonique est une molécule signalée impliquée dans divers processus de développement et des réponses de défense chez les plantes (Kazan et Manners, 2012). Des études moléculaires ont démontré l'implication de l'acide jasmonique dans la tolérance au stress salin. Comme l'ABA, une accumulation d'acide jasmonique endogène a été observée chez des plantes cultivées tolérantes au stress salin comparativement aux plantes cultivées sensibles à la salinité (Kang et al., 2005).

Il a été également observé que l'acide jasmonique augmente sous l'effet de fortes concentrations de sel chez les plantes (Moons et al., 1997) indiquant que des teneurs élevées d'acide jasmonique pourraient agir comme une protection face aux effets défavorables causés par la salinité. Une application exogène d'acide jasmonique réduit les ions sodium chez des plantes de riz tolérantes au sel (Kang et al., 2005). Les effets synergiques entre l'acide jasmonique et l'ABA impliqués dans la tolérance au stress salin sont controversés. Certaines études ont montré un rôle antagoniste de l'acide jasmonique vis-à-vis des régulations de l'expression des gènes ABA-dépendant induites par le stress salin chez les riz (Moons et al., 1997).

Beaucoup de travaux ont démontré qu'une application exogène d'acide jasmonique diminue l'effet toxique de la salinité via la stimulation des activités antioxydantes. Une pulvérisation des feuilles avec de l'acide jasmonique chez différentes plantes réduit l'effet délétère de la toxicité du sel et améliore la performance et le rendement des plantes par l'activation des enzymes antioxydatives et de l'absorption des ions (Qiu et al., 2014). Anjum et al. (2011) ont démontré qu'une application exogène d'acide jasmonique a joué un rôle clé

CHAPITRE I – SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

dans l'amélioration du potentiel hydrique au niveau des cellules végétales et l'augmentation de la synthèse de certains osmoregulateurs chez les plantes de soja.

- L'acide gibbérellique

Les phytohormones AGs sont connues depuis longtemps pour contrôler divers processus du développement des plantes en activant la dégradation de régulateurs transcriptionnels, les protéines DELLAs. Le rôle important de l'AG dans la régulation de la croissance des plantes sous l'effet des conditions de stress abiotiques est due aux protéines DELLA (Achard et al., 2006). Une exposition au stress salin induit une réduction du taux d'AGs qui coïncide avec une forte accumulation des protéines DELLA (Colebrook et al., 2014).

Cependant, le mécanisme moléculaire par lequel les DELLAs relaient l'information commence seulement à émerger. Une fonction importante des DELLAs repose sur leur capacité à établir des interactions protéine-protéine avec différentes classes de protéines nucléaires dont certains facteurs de transcription. Ainsi, les DELLAs contrôlent l'expression d'une multitude de gènes cibles impliqués dans diverses voies de signalisation.

Parmi les différents types de phytohormones impliquées dans l'allègement de l'effet délétère du stress salin, l'AG est particulièrement importante chez les plantes cultivées comme le blé et le riz (Javid et al., 2011 ; Colebrook et al., 2014). Une application exogène d'AG3, une AG bioactive, chez la tomate améliore la disponibilité de l'eau à la plante sous l'effet de faible concentration de sel (Maggio et al., 2010). Cela suggère qu'une application de GA3 pourrait aider à améliorer le rendement des plantes cultivées sous les conditions de stress salin.

- L'acide salicylique

La pulvérisation des feuilles avec de l'acide salicylique améliore l'activité photosynthétique et la croissance des plantes sous l'effet de la salinité (Khan et al., 2014). Une application exogène d'acide salicylique augmente la résistance des plantes de blé stressées par le sel via l'augmentation du contenu en proline et en acide abscissique (Shakirova et al., 2003).

I.5. Les mécanismes d'entrée et de transport du Na⁺ dans la plante

La racine est directement exposée à un excès de sel sous l'effet de la salinité, et au même temps, la racine assure des fonctions importantes pour assimiler les solutés nécessaires présents dans le sol. Les solutés, une fois absorbés par la surface racinaire, se déplacent dans la racine de manière radiale, entrent dans le xylème et sont transportés vers la partie aérienne. Il existe trois voies de mouvement radial des solutés : apoplastique, symplastique et trans-cellulaire. Parmi ces voies, la voie trans-cellulaire peut être négligée à cause de la faible perméabilité membranaire à la majorité des solutés (Steudle et Peterson, 1998).

Des études ont montré que la voie majeure de l'absorption des ions sodium dans la stèle est la voie apoplastique chez les plantes de riz (Yeo et al., 1987 ; Yadav et al., 1996). Une quantité significative est transportée par la voie apoplastique vers la partie aérienne sous l'effet d'un stress salin (appelée aussi « bypass flow ») (Yeo et al., 1987).

D'après Garcia et al. (1997) l'absorption des ions sodium par le « bypass flow » est probablement impliquée directement dans la fuite apoplastique qui se produit au niveau de l'apex des racines (Enstone et Peterson, 1992) et au niveau des sites d'émergence des racines secondaires (Peterson et al., 1981).

D'après Munns (2002), les grands espaces créés entre la membrane plasmique et la paroi cellulaire peuvent se remplir de solution et permettre une voie apoplastique artificielle pour que les sels se déplacent de manière radiale à travers la racine sous l'effet de la salinité.

Cependant, cela reste improbable pour les sites de la bande de Caspary car la membrane plasmique est étroitement attachée à la paroi cellulaire au niveau de ces sites même en condition de stress osmotique (ou de salinité) qui cause une plasmolyse sévère (Karahara et Shibaoka, 1992).

D'après Yeo et al. 1987, quatre mécanismes permettent au Na⁺ d'entrer dans les racines : (i) les canaux/transporteurs d'ions qui permettent un transport sélectif des ions Na⁺ à travers la membrane plasmique des cellules corticales, (ii) les canaux/transporteurs permettant un transport non sélectif des ions à travers la membrane des cellules corticales racinaires, (iii) l'entrée des ions Na⁺ par la voie symplastique racinaire due à une fuite à travers la bicouche

CHAPITRE I – SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

de la membrane ou bien une rupture au niveau de la bicouche membranaire, et (iv) l'entrée apoplastique direct dans le xylème de l'environnement extérieur sans sélectivité biologique.

Au cours de l'entrée intrusive du Na^+ dans les racines, les plantes peuvent exercer une sélectivité au niveau de trois membranes indépendantes : la membrane plasmique des cellules corticales, le tonoplaste des cellules racinaires et de la partie aérienne et la membrane plasmique des cellules parenchymateuses.

L'espace apoplastique a un rôle important dans la nutrition des plantes supérieures et au cours du transport des solutés par les voies symplastique et trans-cellulaire et ce grâce aux canaux transporteurs localisés au niveau de la membrane plasmique et aux plasmodesmes (Sattelmacher et al., 1998). En présence de 100mM de NaCl, le taux de Na^+ transporté vers la partie aérienne chez des plantes d'orge, considérée comme étant une des céréales les plus tolérantes au sel, est plus bas (20%) comparativement à celui des plantes de riz (Munns, 1985).

Au niveau de la racine, ce sont les composants morphologiques qui empêchent le transport apoplastique non sélectif de l'eau et des ions vers la stèle. Ces composants morphologiques sont la bande de Caspary et les lamelles de subérine au niveau de l'exo et endoderme (Enstone et al., 2003).

L'espace apoplastique au niveau des feuilles est relativement petit ce qui induit une augmentation significative de la quantité de Na^+ en condition de salinité. En d'autres termes, l'accumulation d'une petite portion de Na^+ au niveau de l'espace apoplastique des feuilles peut causer beaucoup de changement dans les concentrations ioniques.

D'après les estimations de Yeo et Flowers (1986), même si 99% des ions Na^+ sont séquestrés dans les feuilles pendant le stress salin, la concentration en Na^+ pourrait atteindre 500 mM en 7 jours, ce qui entraînerait une déshydratation sévère des cellules et la fermeture des stomates.

L'accumulation apoplastique du Na^+ au niveau de la partie aérienne serait corrélée négativement avec la survie des variétés de riz (Krishnamurthy et al., 2009).

I.5.1. Les voies de signalisation du stress salin

Le maintien de l'homéostasie ionique par l'absorption et la compartimentation des ions est non seulement crucial pour une croissance normale des plantes mais constitue également un processus essentiel pour la croissance pendant un stress salin. Par conséquent, l'excès de sel est soit transporté vers la vacuole ou bien séquestré dans les vacuoles des tissus âgés qui sont sacrifiés, protégeant ainsi la plante de la salinité (Hasegawa, 2013).

Les ions Na^+ présents dans le cytoplasme sont transportés vers la vacuole via l'antiport Na^+/H^+ . Il existe deux types de pompes H^+ au niveau de la membrane vacuolaire : la H^+ -ATPase de type vacuolaire (V-ATPase) et la pyrophosphatase vacuolaire (V-PPase) (Dietz et al., 2001 ; Wang et al., 2001). La V-ATPase est la plus dominante dans la cellule végétale. En condition de stress, la capacité de survie de la plante dépend de l'activité de la V-ATPase (Dietz et al., 2001).

De plus en plus d'études démontrent le rôle de la voie de signalisation du stress (Salt Overly Sensitive SOS) dans l'homéostasie ionique et la tolérance à la salinité (Hasegawa et al., 2000). La voie de signalisation SOS implique trois principales protéines, SOS1, SOS2 et SOS3 (Fig.11). La SOS1, qui correspond à l'antiport Na^+/H^+ de la membrane plasmique, est essentielle à la régulation de l'efflux du Na^+ au niveau cellulaire. La surexpression de cette protéine confère une tolérance au sel chez les plantes (Shi et al., 2002). Le gène SOS2, qui code la sérine/thréonine kinase, est activé par des signaux Ca^+ induits par le stress salin (Liu et al., 2000).

Le troisième type de protéine impliquée dans la voie de signalisation du stress SOS est la protéine SOS3 qui est une protéine de liaison du Ca^{2+} (Ishitani et al., 2000). La SOS2 a deux sites catalytiques kinases au niveau de N terminal et un site régulateur au niveau C terminal. En temps normal, le site kinase est bloqué, l'interaction entre les protéines SOS2 et SOS3 induit une activation des sites kinases (Guo et al., 2004). Cette activation permet la phosphorylation de la SOS1 qui augmente son activité dans le transport ionique (Quintero et al., 2002). Le complexe SOS3-SOS2 active également le transporteur de Na^+ au niveau vacuolaire appelé NHX (Apse et al., 1999). La SOS phosphorylée entraîne une augmentation de l'efflux du Na^+ , réduisant ainsi sa toxicité (Martínez-Atienza et al., 2007).

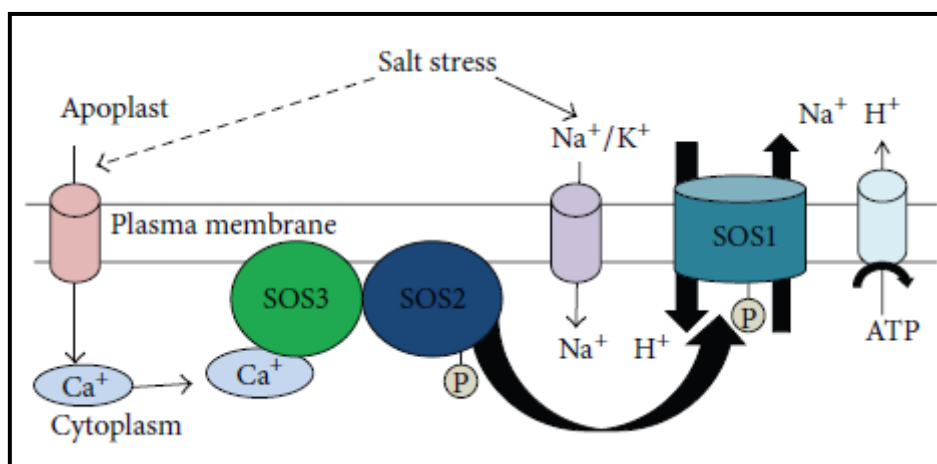


Figure 11 : Modèle des voies SOS de la réponse des plantes à la salinité (Gupta et Huang, 2014)

I.6. Réponses physiologiques des plantes au stress salin

Les plantes utilisent plusieurs stratégies pour répondre aux stress abiotiques afin d'améliorer leur croissance et leur productivité, et ce grâce à des changements de morphologie et de développement (plasticité de la croissance) ainsi qu'à des changements biochimiques et physiologiques.

L'adaptation à tous ces stress s'accompagne d'ajustements métaboliques conduisant à l'accumulation de plusieurs solutés organiques tels que les sucres, les polyols, la glycine-bétaïne ou la proline, la protection de la machinerie cellulaire, le maintien de l'homéostasie ionique, l'élimination des radicaux libres, l'expression de certaines protéines et la régulation de leur gènes et l'induction des phytohormones (Parida et Das, 2005 ; Tuteja, 2007 ; Munns et Tester, 2008).

1.6.1. Régulation ionique

La plante atteint l'homéostasie ionique en limitant l'absorption des ions toxiques ou en assurant la compartimentation dans la vacuole et en maintenant l'absorption des ions essentiels (Tester et Davenport, 2003).

Des stratégies efficaces pour les glycophytes sont nécessaires pour faire face au stress salin pour maintenir un taux en Na^{+} bas au niveau cellulaire et maintenir une concentration de Na^{+} basse au niveau de la partie aérienne.

CHAPITRE I – SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

Dans la stratégie de la régulation, les ions de Na^+ peuvent être maintenus en dessous de leur taux toxiques dans le cytosol par :

- La restriction de l'entrée du Na^+ dans les cellules corticales de la racine (Exclusion).
- L'excrétion du Na^+ des cellules racinaires vers le sol (Exclusion).
- La récupération du Na^+ à partir du flux de transpiration du xylème pour le réorienter vers les racines (Redistribution).
- Le stockage du Na^+ dans les vacuoles des cellules matures (Compartmentation).
- L'excrétion du Na^+ à travers les glandes de sel (chez les plantes halophytes) (Elimination) (Zhu, 2002).

Sous l'effet de la toxicité par le Na^+ , le K^+ diminue. Au niveau de la cellule végétale, le maintien de la teneur en K^+ cytosolique en condition de forte concentration en Na^+ est un facteur clé dans la détermination de la capacité à la tolérance à la salinité. La capacité d'une plante à maintenir un rapport cytosolique K^+/Na^+ élevé est probablement l'un des principaux déterminants de la tolérance des plantes au sel (Maathuis et Amtmann, 1999).

Lorsque le Na^+ est absorbé par la plante, celui-ci peut être rejeté à l'extérieur de la cellule ou bien relocalisé dans des régions métaboliques non actives (Gaxiola et al., 1999). La restriction du flux de transpiration et donc l'entrée du Na^+ dans les cellules de la racine est essentiel pour éviter l'accumulation de concentrations toxiques de sel dans la partie aérienne (Munns et al., 1999).

L'entrée du sodium dans le flux de transpiration dépend de la quantité de sodium absorbée par les transporteurs de Na^+ et les transporteurs de cations non spécifiques et de la quantité d'eau qui entre à travers la voie apoplastique vers le xylème. Le Na^+ du sol pénètre en premier au niveau des cellules du rhizoderme puis des cellules corticales de la racine.

La séquestration du sodium dans la vacuole (compartmentation) est un mécanisme efficace pour réduire la concentration du Na^+ cytosolique (Yamaguchi et Blumwald, 2005). En outre, la séquestration du sodium dans la vacuole peut à son tour se comporter comme un osmoticum, qui participe au maintien de la force osmotique et l'absorption de l'eau en condition de salinité. L'amélioration de la force de conductivité pour l'activité d'échange vacuolaire Na^+/H^+ est une stratégie efficace pour augmenter la tolérance des plantes à la

CHAPITRE I – SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

salinité. Cette séquestration vacuolaire du Na^+ est cruciale pour les plantes tolérantes au sel (Horie et al., 2012).

Les travaux de Staal et al. (1991), ont montré que des plantes de *Plantago maritima* tolérantes au sel maintiennent une plus grande activité antiport Na^+/H^+ sous l'effet du stress au niveau du tonoplaste que chez les plantes *Plantago media* sensibles au sel, suggérant que la différence dans la capacité de la séquestration du Na^+ dans les vacuoles pourrait être la cause de la sensibilité au sel.

La réabsorption du sodium au niveau du xylème se produit par échange d'ions K^+ (Läuchli, 1984). Ce mécanisme est idéal car les plantes peuvent ainsi prévenir la suraccumulation du Na^+ et accumuler des ions K^+ au niveau de la partie aérienne, ce qui augmente le rapport K^+/Na^+ au niveau de partie aérienne surtout au niveau des feuilles sous l'effet de la salinité (Hauser et Horie, 2010).

Jeschke (1984), a suggéré que la tolérance au sel est fortement associée avec la capacité à restreindre l'accumulation du Na^+ au niveau de la partie aérienne des plantes d'orge. Cependant, d'après Shabala et al. (2010), la capacité de tolérance au sel de cultivars tolérants n'est pas nécessairement associée avec une accumulation de Na^+ au niveau de la sève de xylème, mais plutôt à une propriété de chargement plus élevée de la teneur en potassium au niveau du flux de xylème, ce qui maintient un rapport K^+/Na^+ élevé au niveau de la sève du xylème et donc au niveau de la partie aérienne.

En outre, des cultivars tolérant au sel ont montré une séquestration plus efficace du Na^+ au niveau des feuilles que chez les plantes sensibles (Shabala et al., 2010), suggérant qu'une quantité élevée en K^+ présente au niveau du xylème et une activité antiport Na^+/H^+ importante au niveau des feuilles pourraient être des mécanismes plus prédominants pour les plantes d'orge afin de résister au stress salin.

La gestion de la compartimentation du Na^+ dans la plante entière est régie par deux types de stratégies appelées "include" et "exclude" (Fig. 12). Les plantes qui utilisent la stratégie "include" transportent les ions sodium via le xylème grâce au flux de transpiration, vers les feuilles pour y être stockés en préservant le méristème apical ; c'est le cas des plantes résistantes à la salinité. Par contre, les plantes sensibles au sel, utilisent la stratégie "exclude"

qui permet de re-circuler une partie des ions sodium présents dans les feuilles, via le phloème pour être stockés au niveau des racines (Levigneron et al., 1995).

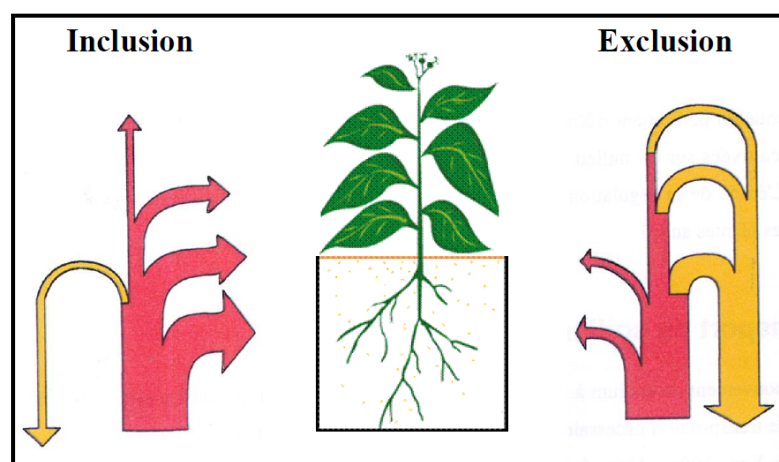


Figure 12 : Illustration des stratégies "inclusion et exclusion" (Levigneron et al., 1995)

I.6.2. Ajustement osmotique

La salinité diminue le potentiel hydrique du sol, ce qui mène à un stress osmotique. Afin de maintenir l'absorption de l'eau suite au stress osmotique, les plantes ont développé un mécanisme appelé ajustement osmotique par l'accumulation active de solutés comme les ions inorganiques (K^+) et des solutés organiques comme la proline, la bêtaïne, les polyols et les sucres solubles. L'ajustement osmotique doit être adapté afin que le potentiel hydrique cellulaire demeure constant à celui du milieu extracellulaire et à celui du sol. La séquestration vacuolaire du Na^+ est une stratégie importante et économique pour l'ajustement osmotique et en même temps réduit la concentration cytosolique en Na^+ pendant la salinité (Iqbal et al., 2014).

Les solutés compatibles sont définis comme non toxiques même lorsqu'ils sont fortement accumulés dans le cytosol et contribuent à diminuer le potentiel hydrique du cytoplasme. En plus du rôle de l'ajustement osmotique, les solutés compatibles fonctionnent comme des chaperonnes protégeant les enzymes et les structures membranaires, et comme antioxydants en conditions de stress salin (Bohnert et Shen, 1999) tels les polyols et la proline (Smirnov et Cumbes, 1989).

CHAPITRE I – SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

La proline stabilise aussi la structure subcellulaire (membranes et protéines) et le potentiel redox cellulaire sous l'effet du stress. La glycine bêtaïne et le tréhalose stabilisent la structure quaternaire des protéines et l'état ordonné des membranes. La glycine bêtaïne réduit aussi la peroxydation des lipides pendant le stress salin.

La proline est une substance importante de l'ajustement osmotique. Elle existe aussi sous forme libre et possède un faible poids moléculaire, une forte solubilité dans l'eau et aucune charge nette dans un intervalle de pH physiologique. La teneur en proline peut être utilisée comme un indicateur physiologique de la résistance/sensibilité des plantes à la salinité (Cha-Um et Kirdmanee, 2009).

Les sucres solubles comprennent principalement le glucose, le saccharose. Ils peuvent stabiliser les membranes cellulaires (Mundree et al., 2002). De plus, ils protègent les enzymes solubles des concentrations intracellulaires élevées d'ions inorganiques tels que les ions Na^+ (Blackman et al., 1992).

Des études ont montré que la glycine-bêtaïne peut bloquer le transport rapide et quantitatif du Na^+ et du Cl^- de la racine vers la partie aérienne et améliore le transport du K^+ pour augmenter la tolérance des plantes de blé à la salinité (Chen et al., 2007). La vaporisation des feuilles de maïs avec de la glycine-bêtaïne augmente la teneur relative en eau et réduit le potentiel osmotique sous l'effet de la salinité (Nawaz et Ashraf, 2007).

Une application externe de glycine-bêtaïne peut aussi augmenter la teneur en protéines solubles et en sucres solubles des feuilles de maïs sous l'effet d'un stress par de faibles températures (Farooq et al., 2008).

I.6.3. Implication du modèle biphasique de Munns

La salinité peut engendrer chez les plantes un stress osmotique, un stress ionique et/ou des désordres nutritionnels (Laüchli et Epstein, 1990).

L'impact du stress salin sur les plantes dépend de l'espèce végétale, du génotype, du stade de développement, de l'état physiologique de la plante, de l'organe en question, de la durée et de l'intensité du stress (Munns, 2002).

CHAPITRE I – SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

L'élongation cellulaire et la division cellulaire diminuent ce qui mène à une réduction de la croissance des feuilles et des racines. Les plantes sévèrement stressées par le sel développent souvent des lésions visibles dues à l'absorption excessive de sel. Après quelques semaines, le développement des plantes est altéré.

Après des mois d'exposition au sel, une nette différence de la croissance globale est observée entre les plantes stressées et les plantes témoins; Ainsi Munns (2005) a développé le concept de « two-phase growth response to salinity » (Fig. 13).

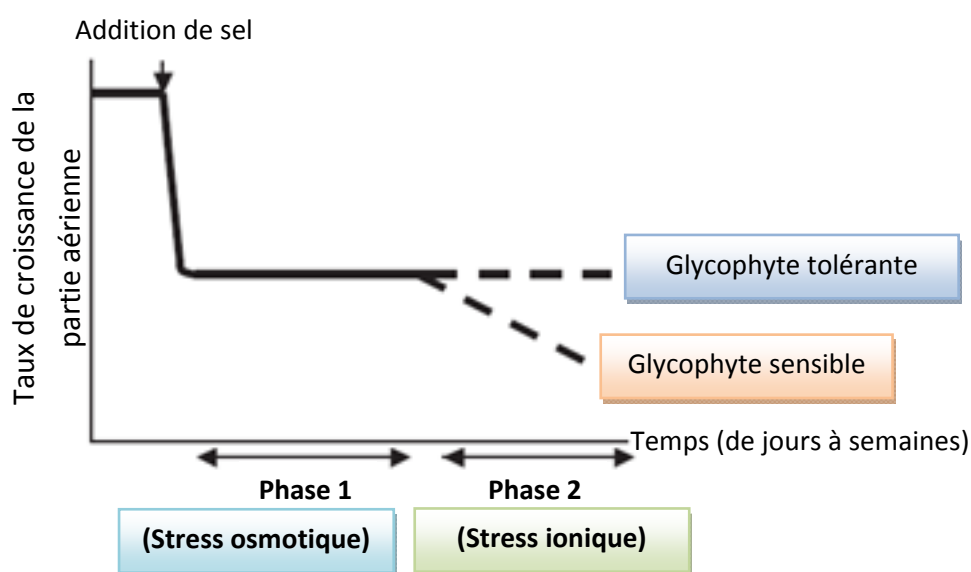


Figure 13 : Schéma représentant la croissance bi-phasique de différents génotypes en réponse à la salinité, modifié (Munns, 2005)

La première phase de réduction de la croissance se produit rapidement après l'exposition au stress salin. Cette réponse est due à des changements osmotiques à l'extérieur des racines qui causent un changement de la relation cellule/eau (effet osmotique). L'effet osmotique initial réduit l'aptitude de la plante à absorber de l'eau.

Plusieurs minutes après la diminution initiale de la croissance foliaire, une réponse progressive de la vitesse de croissance jusqu'à l'état d'équilibre est observée ; cela est fonction de la concentration en sel à l'extérieur de la racine (Munns, 2002).

La deuxième phase a un effet plus lent qui peut prendre plusieurs jours, semaines ou des mois. C'est le résultat de l'accumulation de sel dans les feuilles menant à la toxicité saline de la plante, en premier au niveau des feuilles âgées (effet spécifique du sel). Cette toxicité

CHAPITRE I – SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

par le sel peut conduire à la réduction de la photosynthèse totale de la surface foliaire et à la mort des feuilles. La toxicité primaire par le sel apparaît au niveau des feuilles âgées où le Na^+ et le Cl^- s'accumulent.

Les valeurs auxquelles les feuilles meurent déterminent la survie de la plante. Si les nouvelles feuilles sont produites plus rapidement que les feuilles âgées meurent, il y a donc assez de feuilles photosynthétiques pour la floraison et la production de graines même si le nombre est plus réduit.

Si par contre, les feuilles âgées meurent plus rapidement que le développement de nouvelles feuilles, la plante peut ne pas survivre longtemps et les photosynthétats ne suffisent pas pour produire les organes reproducteurs et des graines viables.

En se basant sur le concept biphasique, la réduction initiale de la croissance chez les plantes sensibles et tolérantes est causée par un effet osmotique du sel dans le milieu extérieur des racines. Dans la deuxième phase, les espèces sensibles au stress salin sont plus fragiles par leur incapacité à tolérer le sel en accumulant des taux toxiques de sel dans les feuilles transpirantes (Munns et al., 2006).

La salinité réduit souvent la croissance de la partie aérienne plus que la croissance des racines (Laüchi et Epstein, 1990) et peut réduire le nombre de fleurs, augmenter la stérilité et affecter la période de floraison et de maturation chez le blé (Maas et Poss, 1989) et le riz (Khatun et al., 1995).

I.7. Le Stress oxydatif

Le stress salin est complexe, il induit un stress osmotique et un stress ionique qui causent à leur tour un déséquilibre métabolique (Munns et Gilliam, 2015) qui peut mener à un stress oxydatif par accumulation d'espèces réactives d'oxygène (ERO) comme le superoxide (O_2^-), le peroxide d'hydrogène (H_2O_2), le radical hydroxyl ($\cdot\text{OH}$) (Halliwell et Gutteridge, 1985), et l'oxygène singulet ($^1\text{O}_2$) (Elstner, 1987).

I.7.1. Les marqueurs d'un stress oxydatif

Dans les circonstances normales, les radicaux libres sont produits en permanence en faibles quantités, cette production est parfaitement contrôlée par des systèmes de défense.

CHAPITRE I – SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

Dans ces circonstances la balance entre les antioxydants et les pro-oxydants est en équilibre. Dans le cas contraire, un stress oxydant apparaît (Favier, 2003).

Le stress oxydant a été défini par Sies (1985) comme étant le résultat d'un déséquilibre entre la balance des pro-oxydants et les systèmes de défense (antioxydants), en faveur des premiers, conduisant potentiellement à des dommages oxydatifs des biomolécules.

I.7.2. Espèces réactives d'oxygène et leurs sites de production

Les radicaux qui endommagent les systèmes biologiques sont, en particulier, des radicaux libres d'oxygène, plus connus sous le nom de « Espèces Réactives de l'Oxygène » ERO ou (Reactive Oxygen Species, ROS) (Favier, 2003). Les espèces réactives d'oxygène peuvent engendrer des dommages importants dans la structure et le métabolisme cellulaire en dégradant les protéines, les lipides et les acides nucléiques (Foyer, 2005).

- Formation d'espèces réactives de l'oxygène dans le chloroplaste

Le chloroplaste est le site majeur de production des ROS (O_2^- , 1O_2 , H_2O_2) (Fig. 14). Le photosystème II est la première source de ROS. La chlorophylle a absorbé un photon ce qui permet la libération d'un électron qui entre dans la chaîne de transport des électrons. La chlorophylle passe à son état triplet excité (Chl^*) qui réagit avec l'oxygène moléculaire et forme de l'oxygène singulet (1O_2) (Macpherson et al., 1993; Telfer et al., 1994). L'anion superoxyde (O_2^-) se forme au niveau du photosystème I (Asada, 2006) et du photosystème II (Zhang et al., 2003).

Dans les conditions normales, les électrons se déplacent des photosystèmes vers le $NADP^+$ qui est réduit en NADPH. Ce dernier entre dans le cycle de Calvin. En cas de stress, la chaîne de transport des électrons (ECT) est surchargée et une partie des électrons est déviée vers la ferrédoxine qui utilise l' O_2 comme accepteur d'électrons, ce qui permet la formation de l' O_2^- via la réaction de Mehler (Wise et Naylor, 1987 ; Elstner, 1991).

CHAPITRE I – SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

Le O_2^- est dismuté spontanément en H_2O_2 par l'action de la superoxyde-dismutase Cu Zn-SOD dans le stroma. Le H_2O_2 peut interagir avec le Fe^{2+} et le Cu^{2+} (réaction de Fenton) pour former le $^{\bullet}OH$ Fortement toxique (Sweetlove et Foyer, 2004) ou bien entrer dans le cycle de l'ascorbate-glutathion pour se transformer en H_2O et en O_2 (Asada, 1999).

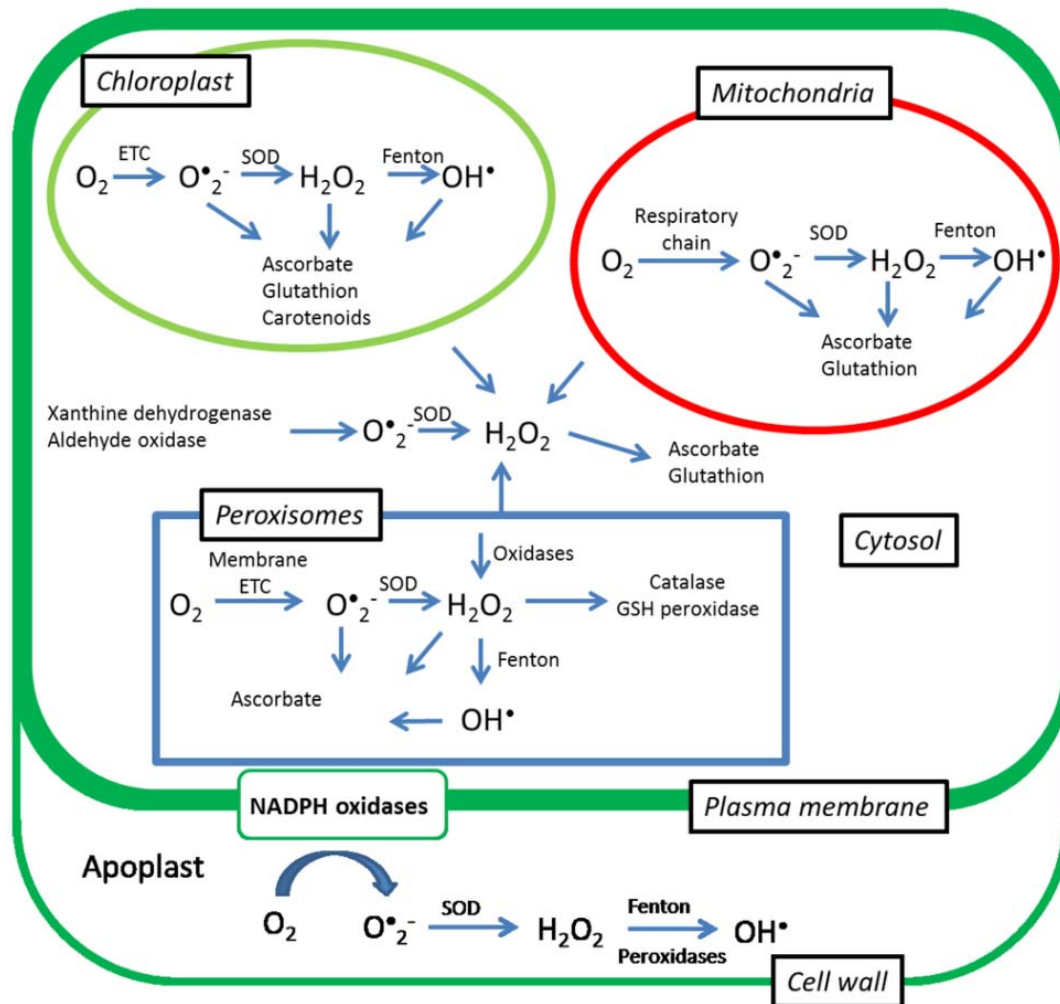


Figure 14 : Les sites de production des ROS et leur élimination dans la cellule (Jajic et al., 2015).

- Formation d'espèces réactives de l'oxygène dans la mitochondrie

La production de ROS au niveau de la mitochondrie se fait naturellement au cours de la respiration mais augmente en réponse à un stress biotique ou abiotique. Les complexes I et III de l'ETC mitochondriale sont les sites de production du O_2^- . Ce dernier peut être réduit par la SOD dismutase en H_2O_2 .

- **Formation d'espèces réactives de l'oxygène dans le peroxysome**

Le métabolisme du peroxysome est une source de formation des ROS. L'ion superoxyde est produit au cours de l'oxydation de la xanthine et de l'hyxanthine en acide urique par la xanthine oxydase (Fridovich, 1986) au cours de la chaîne de transport d'électrons située au niveau des membranes peroxysomales (Fang et al., 1987). Le peroxysome peut être la source de formation de H₂O₂, essentiellement au cours de la photorespiration (Foyer, 1996).

I.7.3. Toxicité des espèces réactives d'oxygène

- *Oxydation des acides nucléiques*

Les espèces réactives de l'oxygène peuvent induire des lésions sur les molécules d'ADN telles que des mutations et des modifications génétiques létales (Roldan-Arjona et Ariza, 2008). L'oxydation de l'ADN peut avoir des conséquences sur la régulation de l'expression des gènes (Halliwell, 2006). L'oxygène singulet attaque en priorité la guanine pour la convertir en thymine (Ribeiro et al., 1994), alors que le radical hydroxyle (·OH) présente la plus importante réactivité avec les bases et les sucres constituant la molécule d'ADN (Evans et al., 2004). Au contraire, le peroxyde d'hydrogène et le superoxyde ne semblent pas avoir d'effet (Moller et al., 2007).

- *Oxydation des lipides*

Les lipides (principalement leurs acides gras polyinsaturés) sont la cible privilégiée de l'attaque par le radical hydroxyle capable d'arracher un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons, pour former un radical diène conjugué, oxydé en radical peroxyde. Cette réaction appelée peroxydation lipidique forme une réaction en chaîne car le radical peroxyde formé se transforme en peroxyde au contact d'un autre acide gras qui forme un nouveau radical diène conjugué. Le radical peroxyde, après évolution en un peroxyde cyclique et coupure de la molécule, peut libérer différents aldéhydes toxiques dont le malondialdéhyde (MDA) (Favier, 2003).

- *Oxydation des protéines*

Cette oxydation peut mener à l'oxydation d'un acide aminé ou à la rupture d'une chaîne peptidique (Moller et al., 2007). Les acides aminés soufrés et aromatiques sont les plus sensibles à l'oxydation (Davies, 2004). L'oxygène actif peut attaquer les résidus d'acides aminés des protéines (en particulier la Tyr, Phe, Trp, Met et Cys) pour former des dérivés carbonyles (Stadtman, 1992). Les ROS peuvent aussi induire une altération de la charge électrique des protéines ce qui affecte leur fonction.

1.7.4. Les mécanismes de régulation et de détoxification des ROS

La plante réagit au stress en mettant en œuvre diverses stratégies de défense grâce à des antioxydants enzymatiques et non enzymatiques (Yadav et al., 2010). Ces antioxydants sont présents dans le cytosol, mais également dans les différents organites tels que le chloroplaste (Asada, 2006), les mitochondries (Moller et al., 2007) et les peroxysomes (Del Rio et al., 2006).

La capacité de la plante à faire face aux stress est déterminée par son efficacité à détecter le stress et activer son mécanisme de défense.

Les antioxydants non enzymatiques

L'acide L-ascorbique ou vitamine C est un antioxydant synthétisé dans la mitochondrie puis acheminé vers les autres compartiments cellulaires (2 à 25 mM) (Blokchina et al., 2003). Le précurseur de l'ascorbate est le D-glucose ; il agit comme un réducteur dans le cytosol et le chloroplaste (Foyer et Noctor, 2005). L'ascorbate intervient dans le cycle ascorbate-glutathion, les réactions de détoxification des ions superoxydes, le radical hydroxyl et l'oxygène singulet ainsi que la réduction du H₂O₂ en eau via l'intervention de l'ascorbate peroxydase (Noctor et Foyer, 1998).

Au niveau du chloroplaste, il intervient comme cofacteur de la violaxantine de-epoxidase et donc est impliqué dans le mécanisme de dissipation de l'excès d'énergie d'excitation (Smirnoff, 2000). Il est capable de régénérer d'autres antioxydants tel que le tocophérol (Thomas et al., 1992)

CHAPITRE I – SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

L' α -tocophérol, ou vitamine E, est synthétisée exclusivement par les plantes et les cyanobactéries au niveau des membranes plastidiales. Il protège spécifiquement le photosystème II contre la photoinhibition et a une action de protection membranaire limitant la peroxydation des lipides (Ivanov et Khorobrykh, 2003)

Le glutathion (γ -glutamyl-cystéinyl-glycine ou GSH) est un tripeptide à cystéine. Il permet la détoxification des ROS via des réactions de conjugaison catalysées par la glutathion peroxydase. Le glutathion intervient dans la stabilisation des structures membranaires en éliminant les peroxydes formés au cours de la peroxydation des lipides (Price et al., 1990).

Les caroténoïdes sont des antioxydants qui ont de multiples fonctions y compris la tolérance au stress oxydatif. Ils assurent aussi un rôle de protection de l'appareil photosynthétique contre les radicaux libres formés au cours de la photosynthèse. L'effet antioxydant des caroténoïdes repose sur leur capacité à piéger l'oxygène singulet et à neutraliser les radicaux peroxy. Ils agissent également en désactivant les chlorophylles triplets, ou en dissipant l'excès d'énergie à travers le cycle des xanthophylles. Ces dernières sont associées à l'antenne du PSII (Demmig et al., 1987).

La proline est un osmoprotecteur et un antioxydant. Il permet la stabilisation des membranes et des protéines (Ashraf et Foulad, 2007). La proline s'accumule en condition de stress salin (Banu et al., 2009) et permet de diminuer le taux de radicaux libres (Alia et Saradhi, 1991).

Antioxydants enzymatiques

- La superoxyde dismutase (SOD)

La superoxyde dismutase (SOD), est la première ligne de défense de la plante parmi les enzymes du système antioxydant, qui peut éliminer l'excès d'anions superoxydes dans les cellules. Chez les plantes supérieures, la SOD est une métalloprotéine subdivisée en trois groupes : la manganèse SOD (Mn-SOD) majoritairement présente dans les mitochondrie et les peroxysomes, mais également présente dans le cytosol (Bowler et al., 1989., Hernandez et al., 2000).

La Fer SOD (Fe-SOD) localisée dans le cytosol mais également dans les chloroplastes, mitochondries et peroxysomes (Droillard et Paulin, 1990; Gomez et al., 1999) et la

CHAPITRE I – SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

cuivre/zinc SOD (Cu/Zn SOD) présente dans le cytosol, dans les mitochondries et les chloroplastes (Hernandez et al., 1994).

La SOD catalyse la dismutation de deux ions superoxydes en peroxyde d'hydrogène. Le H_2O_2 formé et ses dérivés sont rapidement éliminés ou réduits par l'APX ou la GPX ou par le cycle ascorbate/glutathion (Wang et al., 2016).

- **Ascorbate peroxydase** : (APX ; EC 1.11.1.11)

L'APX fait partie de la classe I hème peroxydases, elle se trouve chez la majorité des eucaryotes. L'ascorbate peroxydase a été mise en évidence dans les feuilles de pois (Kelly et Latzko 1979) puis isolée à partir de chloroplastes d'épinards (Grodén et Beck 1979). Les peroxydases sont localisées dans différents compartiments cellulaires tels que le chloroplaste, le cytoplasme, la mitochondrie et les peroxysomes (Potters et al., 2002; Nakano et Asada, 1981). L'APX présente une plus forte affinité vis-à-vis du H_2O_2 (de l'ordre du μM) comparativement à la CAT et la POD (de l'ordre du mM) (Gill et Tuteja, 2010).

- **Catalase** : (H_2O_2/H_2O_2 oxidoreductase, EC 1.11.1.6 ; CAT)

La catalase est un hème tétramérique qui catalyse la dismutation du H_2O_2 en H_2O et O_2 et joue un rôle important non seulement dans les mécanismes de défense mais aussi dans la perception du signal (Loew 1901 ; Liu et al., 2015). La dégradation du H_2O_2 dans les tissus vivants a été observée pour la première fois par Thenard en 1881 ; cependant, c'est Loew 1901 qui a prouvé la présence de cette enzyme, qu'il a nommé « catalase », responsable de la dégradation du H_2O_2 dans les tissus (Aebi et Sutter, 1971). La catalase est localisée principalement dans le peroxysome (Scandalios, 1990).

La catalase élimine principalement le H_2O_2 formé au cours de la photorespiration. Certaines études ont montré que la catalase est une enzyme clé de l'élimination de H_2O_2 chez les plantes C_3 et est nécessaire pour la tolérance des plantes C_3 au stress (Willekens et al., 1994). La catalase est différente de l'APX, elle nécessite un réducteur et a une forte affinité pour le H_2O_2 .

Matériel et méthodes

II.1. Choix de l'espèce végétale

Le fenugrec (*Trigonella foenum graecum* L.) est considérée comme une plante à tolérance modérée vis-à-vis du stress salin (Kumawat et al., 2017).

Les graines de *Trigonella foenum graecum* ont été fournies par des agriculteurs de la wilaya de Adrar au sud ouest de l'Algérie récoltées au cours de l'année 2011.

II.2. Méthodes d'étude

II.2.1. Mise en germination des graines

Les graines de fenugrec (*Trigonella foenum graecum*. L) sont désinfectées avec l'hypochlorite de sodium à 12° pendant 1-2 mn, puis rincées plusieurs fois à l'eau courante et enfin à l'eau distillée. Les graines sont ensuite mises à imbiber pendant 4 heures dans de l'eau distillée puis mises à germer dans des boîtes de Pétri tapissées de papier absorbant humidifié avec de l'eau distillée et placées pendant trois jours dans une étuve à une température de 25°C.

II.2.2. Mise en culture

Les graines germées sont transférées dans des pots remplis de vermiculite (trois germinations par pot). La croissance se déroule dans une chambre de croissance dans des conditions contrôlées : 16h de lumière, température de l'air variant entre 25°C et 28°C le jour et de 17°C à 18°C durant la nuit. L'humidité relative est maintenue à $70 \pm 5\%$ pendant la nuit et à $50 \pm 5\%$ pendant le jour. L'intensité lumineuse est autour de $245 \mu\text{moles m}^{-2}\text{s}^{-1}$. L'étude des paramètres de croissance, de la photosynthèse, du statut hydrique ainsi que l'analyse de la teneur en sucre, en proline, en ions et en phytohormones ont été réalisées au laboratoire de nutrition des plantes au niveau du centre de recherche CEBAS-CSIC en Espagne.

La mesure des activités des enzymes antioxydantes et l'évaluation de la peroxydation des lipides a été réalisée à Alger sur des plantes ayant poussé au niveau de la chambre de culture du laboratoire de physiologie végétale avec une photopériode de 16h/8h jour/nuit et une température de l'air variant entre 25°C et 28°C le jour et de 17°C à 18°C durant la nuit.

II.2.3. Application du stress

Après 12 jours d'acclimatation dans les conditions non stressantes, les plantes sont traitées avec 100 mM (5.8 g.L^{-1}) de NaCl et 200 mM (11.6 g.L^{-1}) de NaCl rajoutées à la solution nutritive modifiée de Hoagland (voir annexe). Les concentrations de sel ont été retenues après des essais préliminaires. Le lot de plantes témoins est arrosé avec la solution nutritive. Les plantules ont été traitées une seule fois avec le sel. La solution nutritive est ajustée chaque deux jours et renouvelée chaque semaine.

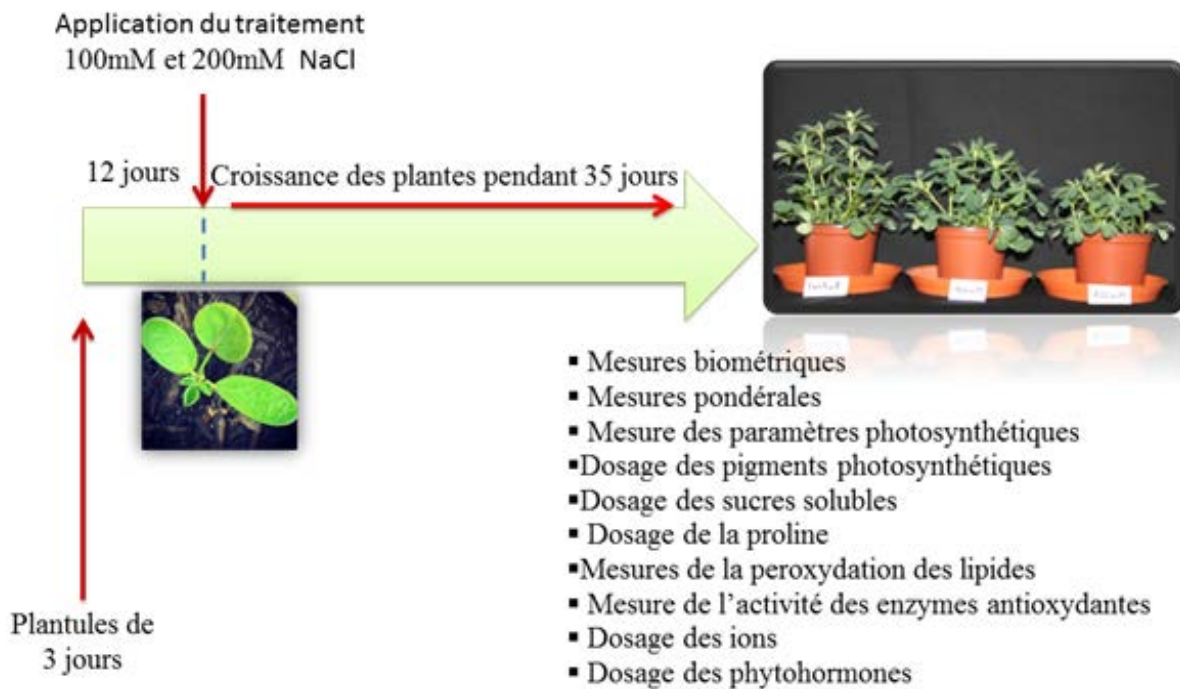


Figure 15 : Schéma montrant le protocole expérimental suivi

Après 35 jours de l'application du traitement les mesures biométriques et pondérales ont été réalisées. Parallèlement à cela l'étude de différents paramètres de la photosynthèse (taux de transpiration, conductance stomatique, taux photosynthétique, le rendement quantique maximal du photosystème II) ainsi qu'une étude biochimique ont été effectuées (intégrité membranaire, teneur en sucres solubles, en proline, en substances réactives à l'acide thiobarbiturique dont le malondialdéhyde, ainsi qu'une analyse et une quantification des macro et micronutriments et des hormones endogènes). Ces mesures et observations sont comparées à celles réalisées sur des plantes témoins non traitées.

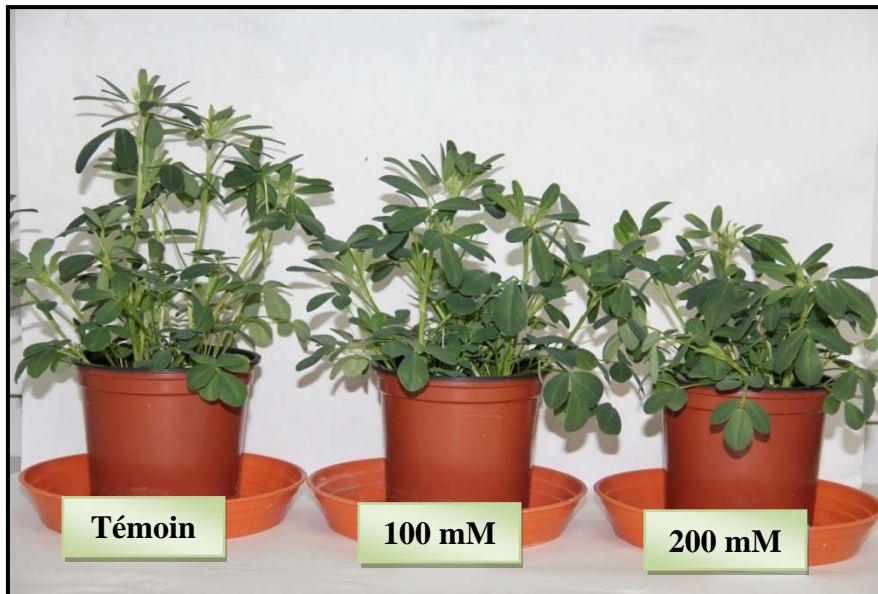


Figure 16 : Plantes de fenugrec après 35 jours de traitement salin (plantes âgées de 50 jours)

II.2.4. Récolte des plantes et mesure de la croissance

Après 35 jours de traitement, la mesure de la longueur de la partie aérienne est réalisée du collet jusqu'au bourgeon terminal à l'aide d'une règle graduée et le nombre de feuilles a été déterminé. Après la récolte des plantes des lots témoins et des lots traités, la mesure de la matière fraîche, de la surface foliaire et de la matière sèche est réalisée. La surface foliaire a été mesurée à l'aide d'un planimètre LI-3100C (Li-Cor, Lincoln, NB, Etats-Unis). Pour chaque traitement, une moyenne de (10) individus est établie.

II.2.5. Mesure de la masse de la matière fraîche et sèche des plantes

Après avoir déterré les plantes, le système racinaire est rincé d'abord à l'eau de robinet puis à l'eau distillée puis séché avec du papier absorbant. La partie aérienne et la partie racinaire sont pesées séparément, le poids obtenu correspond à la masse de la matière fraîche. Elles sont ensuite mises à sécher à l'étuve à 70°C pendant 72 heures pour la mesure de la matière sèche.

II.2.6. Mesure de la teneur relative en eau (TRE)

10 disques foliaires de 0,8 cm de diamètre sont prélevés puis pesés, le poids obtenu correspond au poids de la masse végétale fraîche (PF). Les disques sont ensuite mis à flotter dans un eppendorf contenant 1,5 mL d'eau distillée puis placés au froid (4°C) et à l'obscurité

CHAPITRE II – MATERIEL ET METHODES

pendant 24 heures. Par la suite, les disques sont séchés à l'aide de papier absorbant puis pesés pour obtenir le poids à la turgescence (PT). Ils sont enfin placés à l'étuve réglée à 70°C pendant 48 heures pour mesurer la masse végétale sèche (PS).

La teneur relative en eau est mesurée selon la formule suivante (Clarke et Mac-Caig, 1982) :

$$\text{TRE} = [(\text{PF-PS}) / (\text{PT-PS})]*100$$

II.2.7. Mesure des paramètres des échanges gazeux

Les paramètres des échanges gazeux tels que la photosynthèse nette (A) ou la correspondant à la balance entre la consommation de CO₂ par le processus de la photosynthèse et la production de CO₂ par les processus de la respiration et de la photorespiration, la conductance stomatique à la vapeur d'eau (g_s) et le taux de transpiration (E) sont déterminés au niveau des feuilles matures entre 09 :00 et 12 :00 h en utilisant un appareil portatif permettant d'analyser les échanges gazeux (ADC, Analytical Development Company, LCA4 Model).

Les feuilles sont d'abord équilibrées à un flux de densité de photons de 500 μmol m⁻².s⁻¹ pendant au moins 2 min. La photosynthèse est induite avec un flux de densité de photons de 1000 μmol m⁻².s⁻¹ et 400 μmol mol⁻¹ de CO₂ autour de la feuille. La température de la feuille est maintenue à 25°C. L'analyse a été réalisée sur 10 feuilles pour chaque lot de plantes (Témoins, traitées avec 100 mM et 200 mM de sel).

Le LCA-4 est un analyseur double qui permet de mesurer la concentration de CO₂ et de H₂O. Cet appareil est désigné pour la réalisation de mesures précises de l'activité photosynthétique quand il est utilisé en conjonction avec la chambre foliaire. Pour cela, il est muni d'une pince comportant un micro capteur d'humidité. Le principe de la mesure est basé sur la sensibilité du micro capteur à la vapeur d'eau. Le haut de LCA-4 contient les clés de contrôle et un afficheur.

Cet appareil est constitué d'une chambre de mesure dont la composition en gaz et en vapeur d'eau est contrôlée et mesurée avec précision grâce à un système infrarouge (IRGA). Ce système est composé d'une source infra-rouge (une photodiode), d'une cellule gazeuse (un tube de métal dont les extrémités sont faites d'un matériel transmettant l'infra-rouge), d'un filtre optique et d'un détecteur.

Le principe de la méthode repose sur l'analyse du spectre d'absorption attribuable à un gaz donné. En effet, les molécules gazeuses hétéro-atomiques, tel le CO₂ et l'H₂O, absorbent les radiations à des longueurs d'onde spécifiques dans l'infra-rouge. Ainsi, la présence de CO₂ et d'H₂O dans la cellule gazeuse causera une diminution de la quantité de radiations atteignant le détecteur, un signal qui sera converti en unités de concentration par le logiciel présent dans l'appareil. Connaissant le flux continu de gaz qui traverse la cellule, il devient ainsi possible de déterminer avec précision les changements dans la concentration gazeuse se développant dans le temps (Long et al., 1996). Cette technique de mesures présente l'avantage d'acquérir des données en temps réel et de manière non destructive.

II.2.8. Mesure de la fluorescence chlorophyllienne

La mesure de la fluorescence chlorophyllienne (fluorimétrie) est une technique qui permet de révéler la présence d'un stress pouvant perturber l'activité photosynthétique des plantes.

L'intensité de la fluorescence a été mesurée sur des feuilles pré-adaptées à l'obscurité pendant 30 min, à l'aide d'un fluorimètre de type OS-30 (OptiSciences-Herts, UK) et avec une source d'excitation d'intensité 3000 $\mu\text{mole} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. Cette opération permet de supprimer le moteur énergétique de la photosynthèse (les photons) et vide ainsi la chaîne de transfert des électrons. Les centres réactionnels sont alors disponibles. L'intensité de la fluorescence minimale (F₀) dans un état pré-adapté à l'obscurité a été mesurée en présence d'un background-far-red pour favoriser l'oxydation rapide des transporteurs d'électrons inter-systèmes. L'intensité de la fluorescence maximale (F_m) dans un état pré-adapté et après adaptation à la lumière actinique blanche (F_m') a été mesurée avec des impulsions saturantes 0.8 s (3000 $\mu\text{mole} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$). Quand les accepteurs d'électrons du PSII sont saturés, l'énergie lumineuse excédant les possibilités de collecte du PSII est réémise sous forme de fluorescence.

Après la mesure de F_m', la lumière blanche actinique (400 $\mu\text{mole} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) a été éteinte, et la lumière far-red a été appliquée pendant 3s, dans le but de mesurer l'intensité de la fluorescence minimale dans un état adapté à la lumière (F₀'). Le rendement quantique maximal du photosystème ouvert II (PSII) (F_v/F_m) a été calculé comme (F_m-F₀)/F_m (Maxwell and Johnson, 2000). Il traduit l'efficacité du PSII à utiliser la lumière pour la conversion photochimique.

II.2.9. Estimation de l'intégrité membranaire

- Mesure de la fuite relative d'ions

La fuite des électrolytes est un indicateur de la stabilité de la membrane cellulaire. Elle est estimée par la mesure de la conductivité sur des disques foliaires de 0,8 cm de diamètre. Ces disques sont prélevés sur dix feuilles prises au hasard puis mises à flotter dans 20mL d'eau distillée. La conductivité électrique (E) est lue à l'aide d'un conductimètre après 24 heures d'incubation à une température de 4C°. Les disques sont ensuite placés dans un bain Marie pendant 1 heure (jusqu'à destruction totale des membranes), après refroidissement, la conductivité correspondante (ET) est lue (Dionisio-Sese et Tobita, 1998) .

L'intégrité membranaire est déterminée par le rapport entre la conductivité des disques foliaires mis dans l'eau non bouillie (E) et celle des disques mis à bouillir (ET) selon l'équation :

$$\text{Fuite relative d'ions (\%)} = (E / ET) * 100$$

- Estimation de la peroxydation des lipides

Le malondialdéhyde (MDA), produit final de l'oxydation des acides gras polyinsaturés, est utilisé comme indicateur de la peroxydation des lipides. La teneur en MDA est déterminée par la réaction à l'acide thiobarbiturique (TBA) selon la méthode de Health et Packer (1968).

En milieu acide et à chaud (pH=2 à 3, 100 °C) une molécule de MDA est condensée avec deux molécules d'acide thiobarbiturique (TBA) pour former un complexe de couleur rose mesurable à 532 nm (Buege et Aust, 1978 ; Prophan et Novacky, 1991).

Néanmoins, ce dosage n'est pas spécifique au MDA car d'autres aldéhydes peuvent réagir avec le TBA d'où le terme anglo-saxon «thiobarbituric acid reactive species» (TBARS). Le principe de cette méthode est résumé ainsi (Fig. 17).

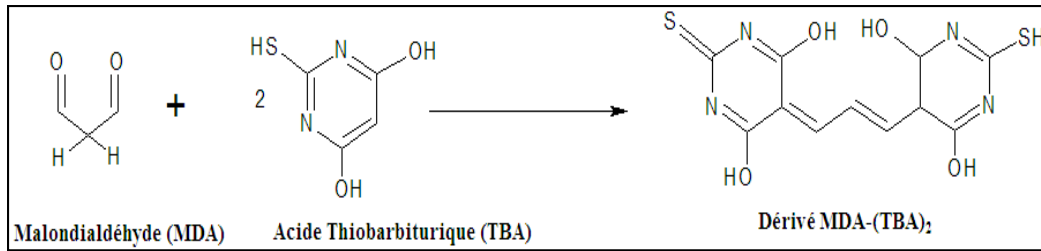


Figure 17 : Principe de dosage du malondialdéhyde (Réaction de condensation du MDA avec l'acide thiobarbiturique formant le dérivé coloré : *MDA (TBA)₂*).

100 mg de feuilles fraîches sont broyées à froid puis homogénéisées dans 2 mL d'acide trichloroacétique (TCA) à 0.1 %. Une centrifugation de 13000 tr.mn⁻¹ pendant 15 mn à 4°C est réalisée. Au surnageant (0.5 mL) est ajouté un volume de 0.5 mL d'acide thiobarbiturique (TBA) à 0,5 % (préparé dans le TCA 20 %). Le mélange est chauffé dans un bain-Marie à 100°C durant 25 mn. Pendant cette incubation, un complexe se forme entre le TBA et les composés aldéhydiques, essentiellement le malondialdéhyde : TBA-MDA.

La réaction est arrêtée par un refroidissement immédiat dans un bain de glace. Après centrifugation de 5 mn à 10000 tr.mn⁻¹ et à 4°C, l'absorbance du surnageant contenant le complexe TBA-MDA (ou du surnageant) est mesurée à 532 nm contre un blanc constitué de tampon d'extraction. La densité optique est corrigée par une lecture à 600 nm. La concentration en MDA est calculée en utilisant le coefficient d'extinction molaire ($\epsilon = 155\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$).

$$\text{MDA } (\mu\text{moles/g MVF}) = [(\text{DO } 532 - \text{DO } 600) \times V (\text{extraction en mL}) \times 1000] / 155 \times \text{MVF}$$

II.2.10. Dosage des pigments photosynthétiques

100 mg de matière végétale fraîche sont broyées à sec puis dans 8 mL d'acétone à 80%. Le broyat est centrifugé à 4500 g pendant 10 minutes. Le surnageant contenant les pigments est récupéré. Les densités optiques (DO) sont lues aux longueurs d'onde de 470 nm, 663 nm et 647 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Les teneurs en pigments sont exprimées en mg. g⁻¹ de matière végétale sèche.

CHAPITRE II – MATERIEL ET METHODES

La teneur en chlorophylles et en caroténoïdes est déterminée selon les équations de Lichtenthaler (1987) :

$$\text{Chl a} = 12.25 \text{ DO (663)} - 2.79 \text{ DO (647)} \quad \mu\text{g.mL}^{-1}$$

$$\text{Chl b} = 21.5 \text{ DO (647)} - 5.10 \text{ DO (663)} \quad \mu\text{g.mL}^{-1}$$

$$\text{Chl (a+b)} = 7.15 \text{ DO (663)} + 18.71 \text{ DO (647)} \quad \mu\text{g.mL}^{-1}$$

$$\text{Caroténoïdes} = [1000 \text{ DO (470)} - 1.82 \text{ Chl a} - 85.02 \text{ Chl b}] / 198 \quad \mu\text{g.mL}^{-1}$$

II.2.11. Dosage de la proline

La technique utilisée est celle de Bates et al (1973) modifiée. Le principe de la technique est basé sur la faculté de la proline à réagir en milieu acide et à chaud avec la ninhydrine pour former un complexe de couleur rose soluble dans le toluène.

200 mg de matière végétale fraîche sont broyés dans l'azote liquide puis homogénéisés dans 10 mL d'acide sulfosalicylique à 3%. L'ensemble est placé au bain-Marie à 70°C pendant 30 minutes puis refroidi et filtré. 2 mL d'acide ninhydrique et 2 mL d'acide acétique glacial sont ajoutés à 2 mL de filtrat, l'ensemble est placé au bain-Marie à 90°C pendant 1 heure. Après refroidissement, 2 mL de toluène sont rajoutés, le mélange est agité au vortex pendant 15 à 20 secondes. Deux phases se séparent (une phase supérieure organique de couleur rose qui contient la proline et une phase inférieure aqueuse transparente sans proline). La phase supérieure est récupérée à l'aide d'une pipette Pasteur. Les densités optiques des échantillons sont lues au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 520 nm. Une courbe étalon est réalisée à l'aide d'une concentration mère de proline à 1 mM. Les teneurs en proline sont exprimées en $\mu\text{mol.g}^{-1}$ de matière végétale sèche.

II.2.12. Détermination de la teneur en sucres éthanolosolubles

Les sucres solubles sont dosés selon la méthode de Mc Cready et al. (1950). 0,25g de matière végétale fraîche sont broyées dans de l'azote liquide en fine poudre. L'extraction est réalisée dans 7 mL d'éthanol à 70%. Le broyat est centrifugé à 8000 g pendant 10 minutes à 4°C.

A 200 μL de surnageant sont ajoutés 1 mL de solution d'anthrone (0,5 g D-anthrone + 250 mL H_2SO_4 à 95% + 12,5 mL d'eau distillée). L'ensemble est agité au vortex puis placé au bain Marie à 100°C pendant 10 minutes. Après refroidissement, les densités optiques sont lues au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 625nm.

Une gamme étalon est réalisée à partir d'une solution mère de glucose à $100\mu\text{g.mL}^{-1}$.

II.2.13. Mesure des activités enzymatiques du système antioxydant

- Préparation de l'extrait enzymatique

Les racines ou les feuilles fraîches (150 mg) sont broyées séparément en présence de glace dans 1,5 mL de tampon Tris-HCL 0.1 M (pH 8.1) contenant 10 % de saccharose et 0.05 % de β -mercaptoéthanol (réduit les ponts disulfures), ce qui permet de préserver l'activité enzymatique. Le broyat est ensuite centrifugé à 15000 tr.mn^{-1} à 4°C pendant 10 min. Le surnageant récupéré représente la fraction des protéines ou extrait brut ; il sera utilisé comme extrait pour la mesure des activités enzymatiques du système antioxydant.

Les protéines sont quantifiées selon la méthode de Bradford (1976) en utilisant le réactif de Bradford (bleu de Coomassie + éthanol + acide ortho-phosphorique). Cette méthode basée sur une réaction colorimétrique entre les protéines et le colorant bleu de Coomassie G250 permet de mesurer la quantité en protéiques.

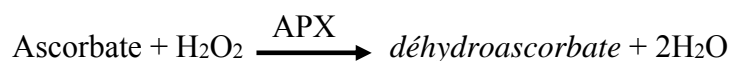
Une aliquote de l'extrait (50 μL) est additionnée à 2 mL de réactif. La coloration se développe dans un temps minimum de 5 min. L'absorbance est lue à 595 nm. Les teneurs en protéines (mg.g^{-1} de MVF) sont déterminées par référence à une gamme étalon, préparée à partir d'une solution mère de BSA (Bovin Serum Albumin) à 1 mg.mL^{-1} .

- Mesure des activités enzymatiques

Les activités enzymatiques sont mesurées par spectrophotométrie. Pour éviter la dégradation des enzymes, toutes les opérations sont réalisées à 4°C . Les activités ascorbate peroxydase et catalase sont mesurées sur des extraits de protéines totales extraites et dosées selon la technique décrite ci-dessous.

Activité ascorbate peroxydase (APX) cytosolique

L'ascorbate peroxydase (APX, EC 1.11.1.11) catalyse la réaction suivante :



L'activité APX cytosolique, est mesurée selon la méthode de Nakano et Asada (1981) en suivant l'oxydation de l'ascorbate par le peroxyde d'hydrogène à la longueur d'onde de 290 nm ($\epsilon = 2.88 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$).

Pour un volume final de 1 mL, le mélange réactionnel est constitué de 50 mM de tampon K-phosphate $\text{K}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$ pH 7.5, 0.1 mM EDTA et extrait protéique (volume correspondant à 30 μg de protéines). Le zéro est réalisé à 290 nm contre une cuve en quartz contenant le tampon et l'extrait enzymatique. Par la suite, sont ajoutés successivement 10 μL d'ascorbate à 0.5 mM et 5 μL de H_2O_2 à 0.06 % (correspondant à 0.1 mM) qui initie la réaction. Le déclin de l'absorbance est mesuré à 30 secondes et 1 minute à 25°C. Vu que le tampon d'extraction ne contient pas d'acide ascorbique, il s'agit ici du dosage de l'APX cytosolique. En effet, l'APX chloroplastique se détériore rapidement en absence d'acide ascorbique (Djebbar, 2012). L'activité enzymatique est exprimée en nmoles d'ascorbate oxydées par minute et par mg de protéines. La conversion de la vitesse initiale en activité spécifique de l'APX est exprimée par la formule ci-dessous :

$$\text{Activité (nmole d'asc oxyd. min}^{-1}\text{.mg}^{-1}\text{ prot)} = \Delta\text{DO.min}^{-1} \times 1000 / (2.88 \times \text{mg protéines})$$

Activité catalase (CAT)

La catalase (CAT, EC 1.11.1.6) est responsable de la dismutation du H_2O_2 en eau et en oxygène moléculaire, empêchant donc cette molécule de participer à la réaction de Fenton (réaction d'oxydoréduction du H_2O_2 pour générer le radical hydroxyle HO^{\bullet}).



La disparition du substrat (H_2O_2) sous l'effet de la catalase peut être suivie directement par la diminution de l'absorbance à 240 nm (coefficient d'extinction molaire $\epsilon = 36 \text{ M}^{-1}\text{.cm}^{-1}$) (Dorey et al., 1998). Un volume d'extrait correspondant à 30 μg de protéines est placé dans un milieu réactionnel (1mL) renfermant 50 mM de tampon phosphate-sodium $\text{Na}_2\text{HPO}_4/$

CHAPITRE II – MATERIEL ET METHODES

NaH₂PO₄ pH 7.5. Le zéro est réalisé à 240 nm contre une cuve en quartz contenant le même volume de tampon et d'échantillon. La réaction est déclenchée par l'addition de 5 µL de H₂O₂ à 6 % (correspondant à 10 mM). La variation de l'absorbance (le déclin de la DO) est suivie pendant 30 secondes et 1 min à 25°C. L'activité CAT est exprimée en nmoles de H₂O₂ dégradées par minute et par mg de protéines. La conversion de la vitesse initiale (changement de l'absorbance à 240 nm) en activité spécifique de la catalase est exprimée comme suit :

$$\text{Activité (nmole de H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1} \text{ prot)} = \Delta\text{DO} \cdot \text{min}^{-1} \times 1000 / (36 \times \text{mg protéines})$$

II.2.14. Dosage des ions

Les éléments dosés sont : le calcium, le potassium, le magnésium, le sodium, le soufre, le phosphore, le manganèse, le bore, le fer, le zinc et l'aluminium.

Les racines et les feuilles sont séchées à l'étuve à 65°C pendant 48 heures puis réduites en poudre à l'aide d'un vibro-broyeur.

50 mg de matière végétale sèche est digérée à 80°C dans une solution HNO₃/HClO₄ (5/3, v/v). Les minéraux sont dissous dans une solution d'HCl à 0.1 M, dilués avec de l'eau bi-distillée puis filtrés. La concentration en cations est déterminée grâce à un spectromètre d'émission optique par plasma à couplage inductif ICP-AES (inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy) (Iris Intrepid II, Thermo Fisher Scientific) calibré avec des solutions standards certifiées (Zhao et al., 1994).

Le spectromètre d'émission atomique par plasma à couplage inductif ICP-AES repose sur l'excitation thermique des ions dans le plasma et l'analyse de la lumière émise par ces ions excités. L'échantillon liquide est introduit dans le nébulisateur afin de former un aérosol avant d'être atomisé et ionisé. L'excitation des atomes est effectuée par un plasma (un gaz ionisé) d'argon maintenu par un champ magnétique inductif à haute fréquence, dont la température est d'environ 8000 °C. Les atomes ainsi excités émettront un photon à leur retour à leur état fondamental. L'énergie des photons émis (longueur d'onde) est caractéristique pour chacun des éléments du tableau périodique. Un détecteur capte l'intensité émise par le retour de l'atome à l'état fondamental et permet ainsi une quantification (Fig. 18).

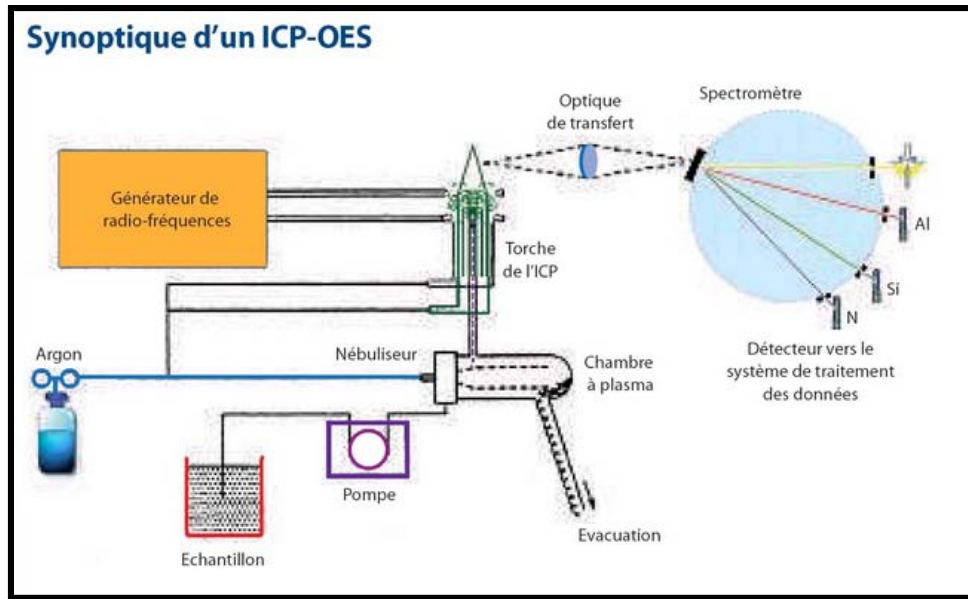


Figure 18 : Principe de fonctionnement du spectromètre ICP-AES

II.2.15. Mesure de la teneur en phytohormones

Les cytokinines (trans-zéatine et isopentenyladenine), l'AIA (acide indolacétique), l'ACC (acide aminocyclopropane-1-carboxylique), l'ABA (acide abscissique), JA (acide jasmonique), SA (acide salicylique) et les gibberellines (GA1, GA3 et GA4) sont analysés selon la méthode décrite par Albacete et al. (2008). 0,25 g de matière végétale fraîche (feuille ou racine) sont broyés dans de l'azote liquide puis dans 1,25 mL de méthanol : H₂O (80:20). Les extraits sont centrifugés à 13000 rpm pendant 15 mn à 4°C, l'extraction est répétée deux fois. Les deux surnageants sont mélangés puis filtrés à l'aide d'une colonne (SepPak Plus, Waters, Millford, MA, USA).

Les extraits sont placés dans une enceinte sous vide pendant 3 heures. 1 mL de méthanol : H₂O (20:80) est ajouté aux extraits. Les extraits sont ensuite mis dans un bain à ultrason pendant 10 mn à 25°C. Les extraits sont centrifugés à 13000 rpm pendant 15mn à 4°C, le surnageant est récupéré et centrifugé une deuxième fois. 10 µL de chaque échantillon, dissous dans une phase A mobile, sont injectés dans une colonne SB-C18 HPLC (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA), maintenue à 40°C. La phase mobile A composée d'eau/Acetonitrile/Acide formique (94.9:5:0.1), et la phase mobile B composée d'eau/Acetonitrile/Acide formique (10:89.9:0.1) sont utilisées pour la séparation par chromatographie.

CHAPITRE II – MATERIEL ET METHODES

Le spectre de masse est obtenu en utilisant le Xcalibur software version 2.2 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA).

Pour la quantification des phytohormones, une courbe étalon est réalisée pour chaque hormone à partir d'une solution mère à 100 $\mu\text{g.L}^{-1}$.

II. 3. Analyses statistiques

Les analyses sont menées par Analyse de variance (ANOVA) à l'aide du logiciel SPSS for Windows (version 20.0, SPSS Inc., Chicago IL, USA) où le test de Tukey est utilisé au seuil de significativité de $P < 0.05$.

Afin d'étudier les relations liant certains paramètres, nous avons eu recours aux corrélations bivariées et à l'analyse en composantes principales (ACP).

Résultats

III. 1. Effets de la salinité sur la croissance et le développement des plantes de fenugrec

III.1. 1. Effet de la salinité sur la surface foliaire totale

La surface foliaire totale déterminée chez les plantes de fenugrec est représentée par la Figure 19. La surface foliaire totale des plantes stressées avec 100 mM et 200mM de NaCl est significativement plus faible que celle des plantes témoins ; en effet, la surface foliaire totale des plantes témoins est de $188,84 \pm 4,09 \text{ cm}^2$. Elle diminue et atteint $169,92 \pm 7,19 \text{ cm}^2$ et $161,4 \pm 9,95 \text{ cm}^2$ respectivement, chez les plantes traitées avec 100 mM et 200 mM de NaCl ce qui correspond à un pourcentage de diminution de 10% et 14%.

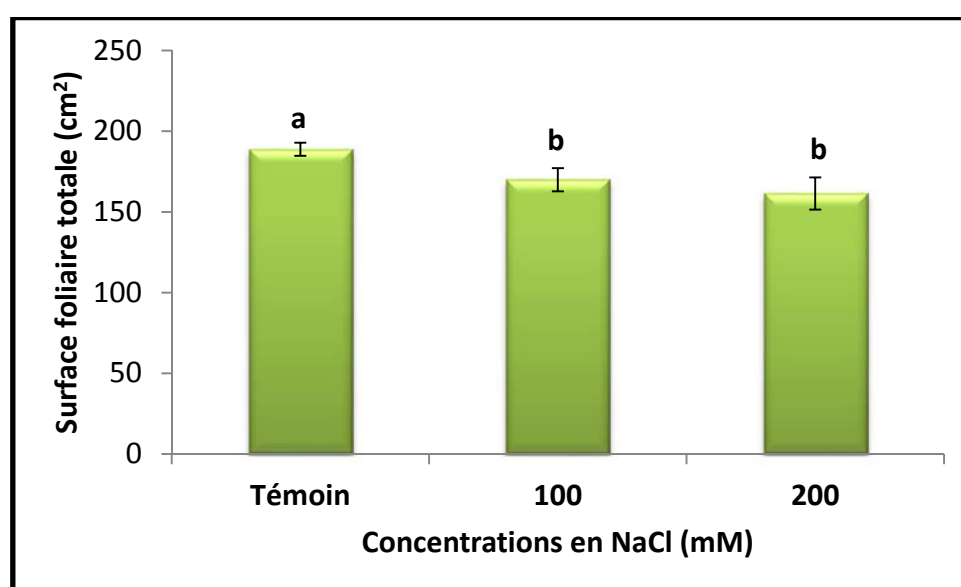


Figure 19 : Effet de la salinité sur la surface foliaire totale des plantes de Fenugrec âgées de 50 jours. Les valeurs sont les moyennes (n = 3). Les lettres indiquent les différences significatives entre les traitements et le témoin : (P < 0.05).

III.1. 2. Effet de la salinité sur le nombre de feuilles

Le nombre de feuilles des plantes témoins est de $12 \pm 0,38$ feuilles. Celui-ci diminue pour atteindre $11 \pm 0,38$ feuilles et $10 \pm 0,58$ feuilles respectivement, chez les plantes traitées avec 100 mM et 200 mM de NaCl (Fig. 20). Cette réduction du nombre de feuilles (16,5 %) n'est significative que chez les plantes stressées avec 200 mM de NaCl.

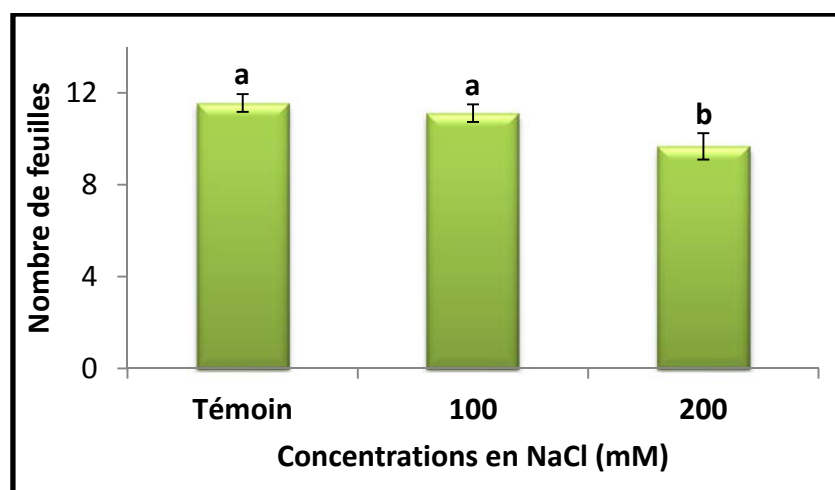


Figure 20 : Effet de la salinité sur le nombre de feuilles des plantes de Fenugrec âgées de 50 jours. Les valeurs sont les moyennes (n = 3). Les lettres indiquent les différences significatives entre les traitements et le témoin : (P < 0.05).

III. 1. 3. Effet de la salinité sur la longueur de la partie aérienne

Le NaCl induit une réduction de la longueur de la partie aérienne des plantes de fenugrec (Fig. 21). La diminution est significative sous l'effet de 100 mM et de 200 mM de NaCl. La longueur de la partie aérienne chez les plantes témoin est de $14,97 \pm 0,45$ cm. Cette longueur diminue et atteint $13,27 \pm 0,71$ cm et $11,5 \pm 1,37$ cm respectivement, chez les plantes stressées avec 100 mM et 200 mM de NaCl, ce qui correspond à une baisse respective de 11% et 23%.

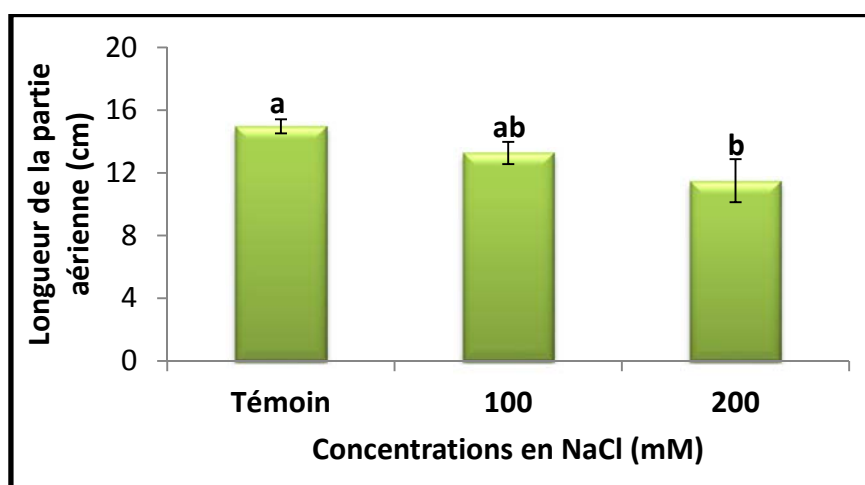


Figure 21 : Effet de la salinité sur la longueur de la partie aérienne des plantes de Fenugrec âgées de 50 jours. Les valeurs sont les moyennes (n = 5). Les lettres indiquent les différences significatives entre les traitements et le témoin : (P < 0.05).

III. 1. 4. Effet de la salinité sur la croissance pondérale

– *La masse de la matière fraîche*

La masse de la matière fraîche de la partie aérienne et des racines diminue significativement sous l'effet de 200 mM de NaCl (Fig. 22).

La masse de la matière fraîche de la partie aérienne chez les plantes témoins est de $8,5 \pm 0,65$ g. Cette valeur diminue sous l'effet de 100 mM et 200 mM de NaCl, et atteint respectivement, $7,5 \pm 0,53$ g et $7,4 \pm 0,57$ g. Cela correspond à une baisse de 12% et 13% comparativement aux plantes témoins. La masse de la matière fraîche des racines chez les plantes témoins est de $8 \pm 0,87$ g. Elle diminue de moitié chez les plantes traitées avec 200 mM de NaCl pour atteindre $4 \pm 0,43$ g alors que chez les plantes traitées avec 100 mM de NaCl, aucune variation n'a été observée.

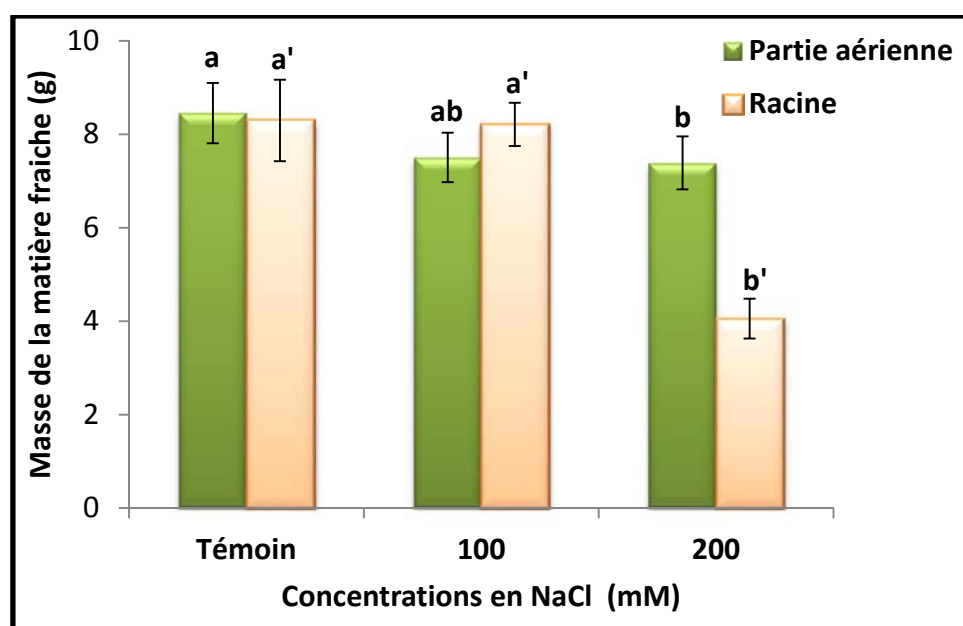


Figure 22 : Effet de la salinité sur la masse fraîche de la partie aérienne et la partie racinaire des plantes de fenugrec âgées de 50 jours. Les valeurs sont les moyennes (n = 5). Les lettres indiquent les différences significatives entre les traitements et le témoin : (P<0.05).

La masse de la matière fraîche totale diminue de 35% chez les plantes traitées par les fortes concentrations en sel comparativement aux plantes témoins.

CHAPITRE III – RESULTATS

- Rapport masse fraiche des racines/ masse fraiche de la partie aérienne

Une diminution significative du rapport masse fraiche racine/masse fraiche partie aérienne est observée chez les plantes stressées avec 200 mM de NaCl en comparaison aux plantes témoins, cela serait du à la forte baisse de la matière fraiche de la partie racinaire. Par contre chez les plantes stressées avec 100 mM de NaCl aucune variation n'est observée.

Tableau 4 : Rapport masse fraiche racine/ masse fraiche partie aérienne des plantes de Fenugrec âgées de 50 jours. Les valeurs sont les moyennes (n = 5). Les lettres indiquent les différences significatives entre les traitements et le témoin : (P<0.05).

	Témoin	100 mM	200 mM
Racine/Partie aérienne	1 ± 0,13 a	1,1 ± 0,06 a	0,5 ± 0,04 b

- Masse de la matière sèche

Sous l'effet de la salinité, la masse de matière sèche de la partie aérienne et des racines des plantes de fenugrec diminue de manière significative avec l'augmentation de la concentration en sel (Fig. 23).

La masse de la matière sèche de la partie aérienne des plantes témoins est de $0,97 \pm 0,06$ g. Cette masse diminue chez les plantes traitées avec 100 mM et 200 mM de NaCl et atteint respectivement, $0,69 \pm 0,045$ g et $0,64 \pm 0,046$ g. Les pourcentages de réduction sont respectivement de 29% et 34%.

Concernant les racines, le sel entraîne des réductions respectives de la masse sèche de 15% et 45% comparativement aux plantes témoins ; en effet les valeurs de la masse sèche des racines sont respectivement de $0,45 \pm 0,03$ g et $0,29 \pm 0,02$ g chez les plantes traitées avec 100 mM et 200 mM de NaCl comparativement aux plantes témoins ($0,53 \pm 0,06$ g).

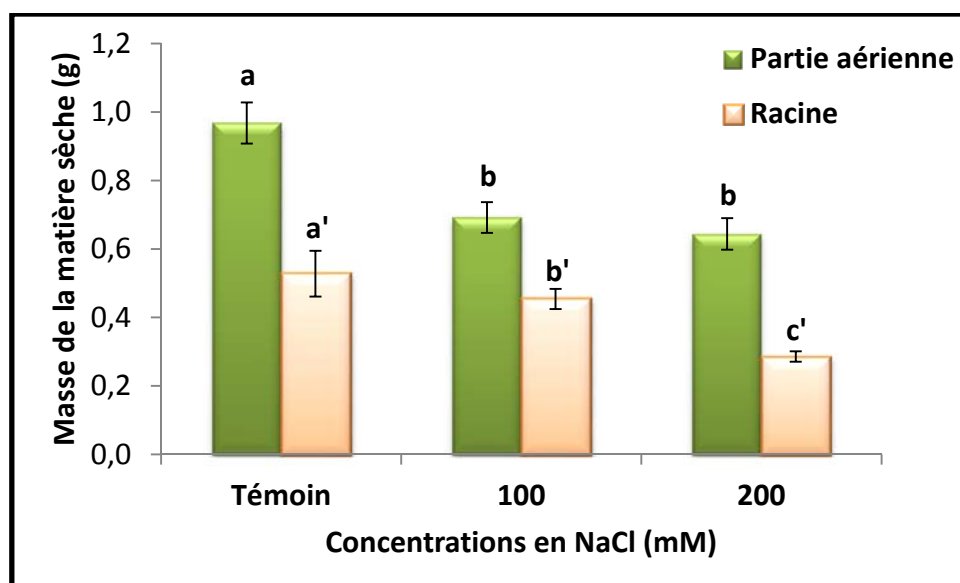


Figure 23 : Effet de la salinité sur la masse sèche de la partie aérienne et la partie racinaire des plantes de Fenugrec âgées de 50 jours. Les valeurs sont les moyennes (n = 5). Les lettres indiquent les différences significatives entre les traitements et le témoin : (P < 0.05).

- Rapport masse sèche des racines/ masse sèche de la partie aérienne

D'après le tableau (5), le rapport masse sèche racine/masse sèche partie aérienne des plantes de fenugrec témoins est de $0,544 \pm 0,044$. Il augmente chez les plantes stressées avec 100 mM de NaCl comparativement aux plantes témoins pour atteindre $0,658 \pm 0,053$ ce qui correspond à un pourcentage d'augmentation de 21%. Sous l'effet de la forte concentration de sel (200 mM), ce rapport diminue et atteint $0,446 \pm 0,048$. Le pourcentage de diminution est de 18%. Cette diminution est due à une réduction plus prononcée de la masse sèche de la partie racinaire en comparaison avec la matière sèche de la partie aérienne des plantes sous l'effet du stress salin.

Tableau 5 : Rapport masse sèche racine/ masse fraîche partie aérienne des plantes de Fenugrec âgées de 50 jours. Les valeurs sont les moyennes (n = 5). Les lettres indiquent les différences significatives entre les traitements et le témoin : (P<0.05).

	Témoin	100 mM	200 mM
Racine/Partie aérienne	$0,544 \pm 0,044$ b	$0,658 \pm 0,053$ a	$0,446 \pm 0,048$ c

CHAPITRE III – RESULTATS

La biomasse sèche totale accumulée en fin de l'expérience chez les plantes de fenugrec âgées de 50 jours est de $1,50 \pm 0,12$ g de matière sèche.

La moyenne de la biomasse sèche totale accumulée par niveau de stress est de $1,15 \pm 0,06$ g pour la concentration de 100mM de sel et de $0,93 \pm 0,04$ g stress salin sévère (200 mM) ce qui correspond à pourcentage de diminution de 23% et 38%.

III. 2. Effets de la salinité sur la physiologie des plantes de fenugrec

III. 2. 1. Effet de la salinité sur la teneur relative en eau (TRE)

La mesure de la teneur relative en eau ou TRE qui reflète le statut hydrique de la plante est généralement considérée comme un bon indicateur de l'état hydrique du végétal.

Les résultats obtenus (Fig. 24) montrent que la TRE chez les plantes témoins est de 89,36 %. Celle ci diminue à 73,32 % sous l'effet de 100 mM de NaCl et à 72,13 % sous l'effet 200 mM de NaCl. Les pourcentages de réduction sont respectivement de 18% et 19% comparativement aux plantes de fenugrec témoins.

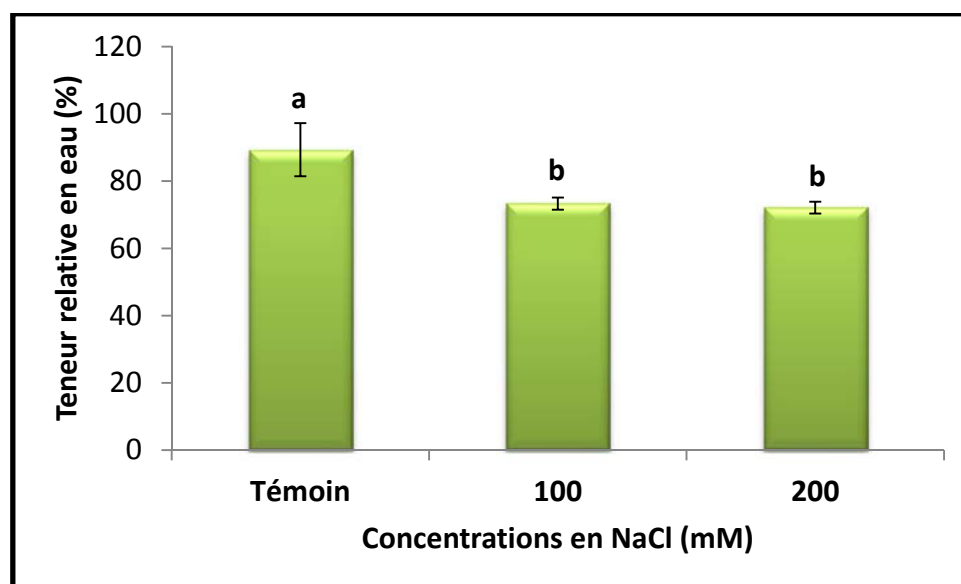


Figure 24 : Effet de la salinité sur la teneur relative en eau des plantes de Fenugrec âgées de 50 jours. Les valeurs sont les moyennes (n = 10). Les lettres indiquent les différences significatives entre les traitements et le témoin : (P < 0.05).

III. 2. 2. Effet de la salinité sur la conductance stomatique (g_s)

Les stomates sont le lieu des principaux échanges gazeux entre la plante et son environnement. Leur degré d'ouverture détermine les quantités de CO_2 et d' H_2O pouvant être échangées. Il est décrit par la conductance stomatique (g_s).

La conductance stomatique chez les plantes témoins est de $0,96 \pm 0,26 \text{ mol H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. Le stress salin réduit de manière significative la conductance stomatique (g_s) chez les plantes de fenugrec soumises à 100 mM et 200 mM de NaCl (Fig. 25). En effet, la conductance stomatique chute à $0,36 \pm 0,04 \text{ mol H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ et $0,46 \pm 0,07 \text{ mol H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. Cette baisse est respectivement de 62% et 52% comparativement aux plantes témoins.

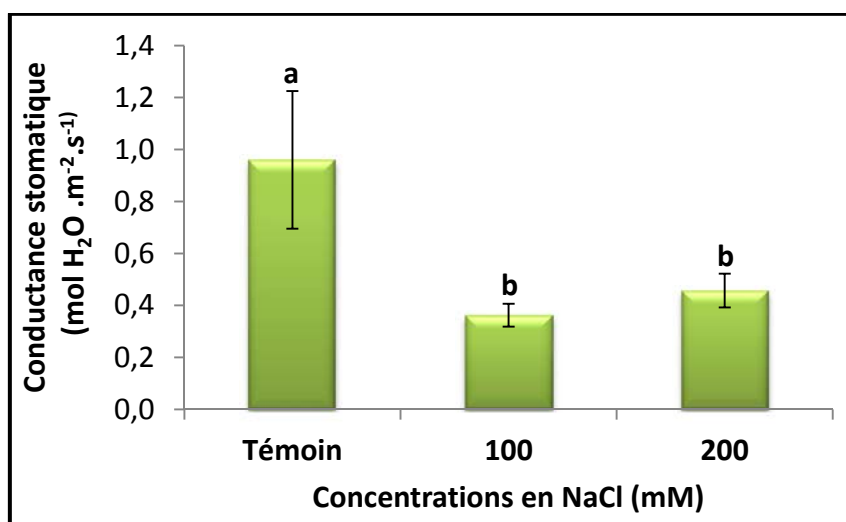


Figure 25 : Effet de la salinité sur la conductance stomatique des plantes de Fenugrec âgées de 50 jours. Les valeurs sont les moyennes ($n = 4$). Les lettres indiquent les différences significatives entre les traitements et le témoin : ($P < 0.05$).

III. 2. 3. Effet de la salinité sur la photosynthèse nette

La photosynthèse nette chez les plantes témoins est de $17,69 \pm 1,62 \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ (Fig. 26). De manière inattendue, La photosynthèse nette est significativement plus élevée chez les plantes stressées avec 100 mM et 200 mM de NaCl comparativement aux plantes témoins. La photosynthèse nette atteint respectivement, $25,98 \pm 3,85 \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ et $32,69 \pm 1,70 \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. Soient 47% et 85% d'augmentation respectivement.

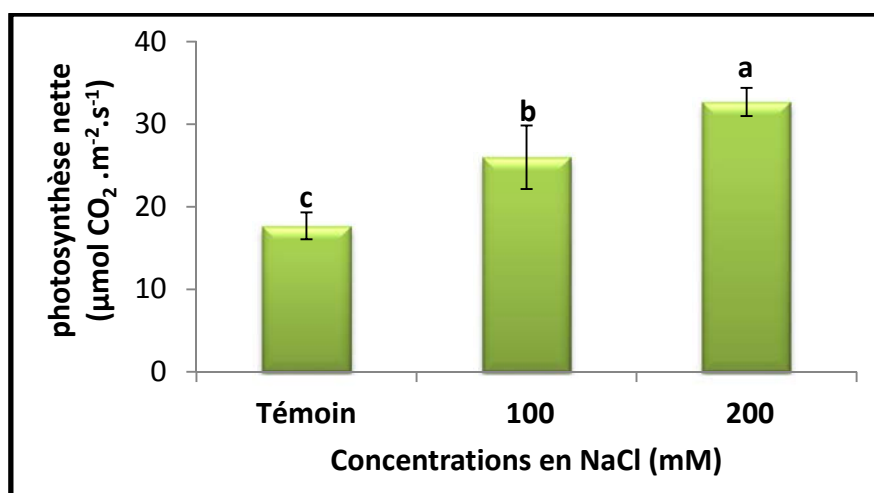


Figure 26 : Effet de la salinité sur la photosynthèse nette des plantes de Fenugrec âgées de 50 jours. Les valeurs sont les moyennes (n = 4). Les lettres indiquent les différences significatives entre les traitements et le témoin : (P < 0.05).

III. 2. 4. Effet de la salinité sur le taux de transpiration

Le taux de transpiration (E) chez les plantes témoins est de $6,27 \pm 0,54$ mmol.m⁻².s⁻¹ (Fig. 27). Ce taux diminue de manière significative pour atteindre $4,52 \pm 0,28$ mmol.m⁻².s⁻¹ et $5,12 \pm 0,31$ mmol.m⁻².s⁻¹, respectivement chez les plantes stressées avec 100 mM et 200 mM de NaCl. Le pourcentage de diminution est respectivement de 28% et 18%.

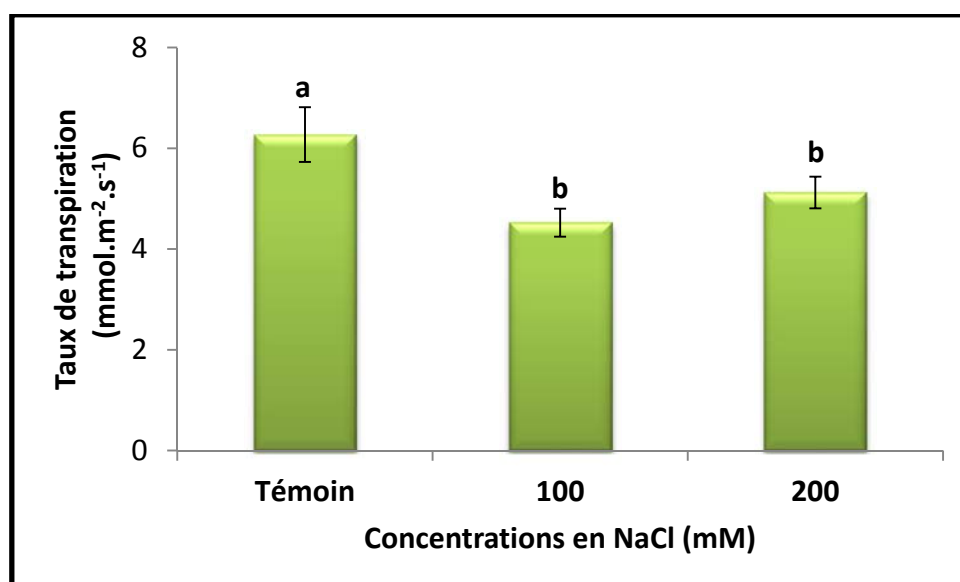


Figure 27 : Effet de la salinité sur le taux de transpiration des plantes de Fenugrec âgées de 50 jours. Les valeurs sont les moyennes (n = 4). Les lettres indiquent les différences significatives entre les traitements et le témoin : (P < 0.05).

III.2.5. Effet de la salinité sur la fluorescence chlorophyllienne

La fluorescence chlorophyllienne est considérée comme un paramètre efficace de détection de la réaction des plantes aux stress, elle contribue à dissiper l'énergie lumineuse absorbée par les chlorophylles, ce qui réduit l'efficacité du rendement quantique. En effet lorsque la photosynthèse fonctionne avec un rendement maximum, les photons absorbés sont piégés rapidement par les centres de conversion photochimique, ce qui limite leur dissipation par fluorescence.

En absence de sel, le rendement quantique maximal (F_v/F_m) des plantes de fenugrec témoins est de $0,85 \pm 0,006$. Cette valeur ne varie pas de manière significative chez les plantes traitées avec 100 mM ($0,84 \pm 0,006$) et 200 mM de NaCl ($0,83 \pm 0,006$).

Tableau 6 : Effet de la salinité sur le rendement quantique maximal du PSII (F_v/F_m) des plantes de Fenugrec âgées de 50 jours. Les valeurs sont les moyennes ($n = 3$).

	Témoin	100 mM	200 mM
F_v/F_m	$0,85 \pm 0,006$	$0,84 \pm 0,006$	$0,83 \pm 0,006$

III. 2. 6. Effet de la salinité sur les pigments photosynthétiques

La teneur en chlorophylle totales (Fig. 28) chez les plantes de fenugrec témoins est de $0,176 \pm 0,006$ mg.g⁻¹ MVS. Nos résultats montrent une corrélation négative entre la concentration en sel et la teneur en chlorophylles totales. En effet la quantité de chlorophylles totales diminue respectivement à $0,161 \pm 0,007$ mg.g⁻¹ MVS et $0,157 \pm 0,003$ mg.g⁻¹ MVS chez les plantes traitées avec 100mM et 200 mM de NaCl, soient 8,5% de réduction en présence de 100mM de NaCl et 10,8% sous l'effet de 200 mM de NaCl comparativement aux plantules témoins.

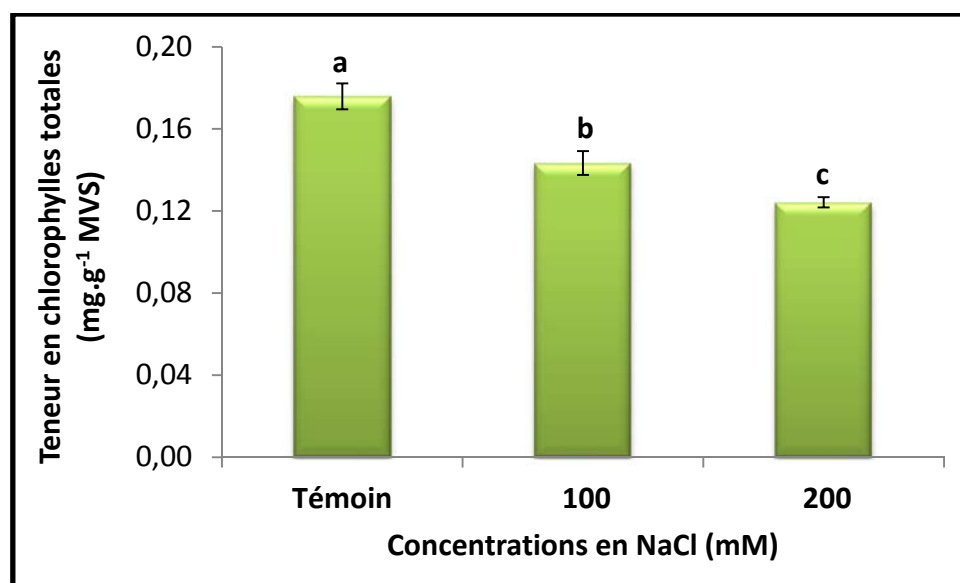


Figure 28 : Effet de la salinité sur la teneur en chlorophylles totales des plantes de Fenugrec âgées de 50 jours. Les valeurs sont les moyennes (n = 3). Les lettres indiquent les différences significatives entre les traitements et le témoin : (P < 0.05).

Le rapport chl_a/Chl_b (Tab. 7) chez les plantes témoins est de $2,77 \pm 0,25$. Ce rapport ne varie pas de manière significative chez les plantes traitées avec 100 mM ($3,07 \pm 0,21$) et 200 mM ($2,61 \pm 0,05$) de NaCl.

Tableau 7 : Effet de la salinité sur le rapport chlorophylle a / chlorophylle b des plantes de Fenugrec âgées de 50 jours. Les valeurs sont les moyennes (n = 3).

	Chla/Chlb
Témoin	$2,77 \pm 0,25$
100 mM	$3,07 \pm 0,21$
200 mM	$2,61 \pm 0,05$

III. 2. 7. Effet de la salinité sur la teneur en caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des pigments accessoires des photosystèmes I et II impliqués dans la collecte de l'énergie lumineuse. Ils font également partie des antioxydants non enzymatiques intervenant dans la photoprotection des chlorophylles mais aussi dans la stabilisation des systèmes membranaires. La teneur en caroténoïdes (Fig. 29) chez les plantes de fenugrec témoins est de $0,029 \pm 0,001$ mg.g⁻¹ MVS. Cette teneur diminue de manière significative chez les plantes soumises à 100 mM et 200 mM de NaCl pour atteindre respectivement

CHAPITRE III – RESULTATS

$0,028 \pm 0,001 \text{mg.g}^{-1}$ MVS et $0,025 \pm 0,001 \text{mg.g}^{-1}$ MVS respectivement. Cette baisse correspond à un pourcentage de réduction de 3% et 14 % respectivement.

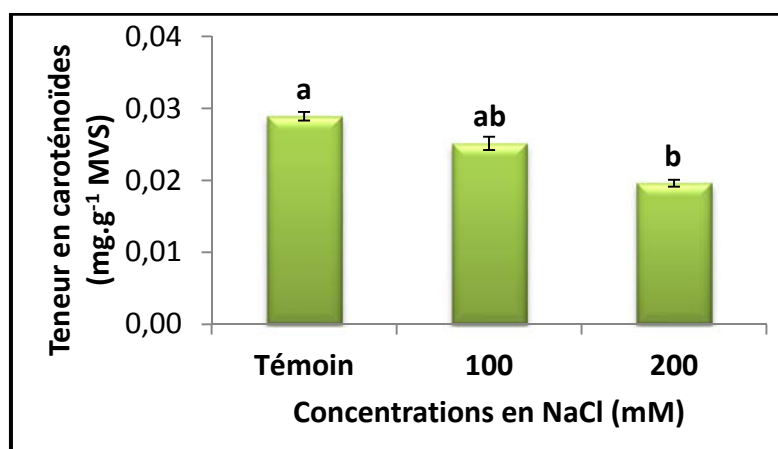


Figure 29 : Effet de la salinité sur la teneur en caroténoïdes des plantes de Fenugrec âgées de 50 jours. Les valeurs sont les moyennes (n = 3). Les lettres indiquent les différences significatives entre les traitements et le témoin : (P < 0.05).

III. 2. 8. Effet de la salinité sur la teneur en sucres solubles

Au niveau des feuilles des plantes de fenugrec stressées (Fig. 30), le sel induit une diminution de la quantité de sucres solubles. En effet, la teneur est de $0,43 \pm 0,01 \mu\text{g.g}^{-1}$ MVS et $0,40 \pm 0,01 \mu\text{g.g}^{-1}$ MVS, respectivement sous l'effet de 100 mM et 200 mM de NaCl, comparativement aux plantes témoins ($0,55 \mu\text{g.g}^{-1}$ MVS).

Au niveau des racines, le stress salin induit une augmentation significative de la teneur en sucres solubles sous l'effet de 200 mM de NaCl. En effet, la quantité de sucres solubles qui est de $0,098 \pm 0,002 \mu\text{g.g}^{-1}$ MVS chez les plantes témoins, s'élève à $0,125 \pm 0,004 \mu\text{g.g}^{-1}$ MVS soit 27% d'augmentation comparativement aux plantes de fenugrec témoins.

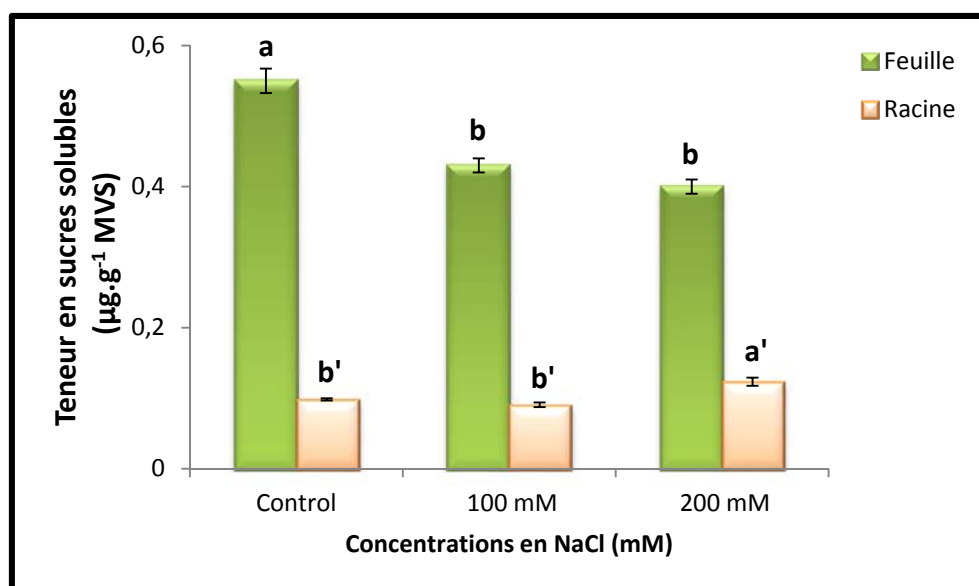


Figure 30 : Effet de la salinité sur la teneur en sucres solubles des feuilles et des racines des plantes de Fenugrec âgées de 50 jours. Les valeurs sont les moyennes (n = 3). Les lettres indiquent les différences significatives entre les traitements et le témoin : (P < 0.05).

III.2.9. Effet de la salinité sur la teneur en proline

Au niveau des feuilles de plantes de fenugrec, la salinité n'induit aucune variation significative de la proline libre (Fig. 31).

A l'inverse, au niveau des racines, sous l'effet de la forte concentration en sel (200 mM), la teneur en proline au niveau racinaire augmente de manière significative. En effet, la teneur en proline racinaire chez les plantes témoins est de $0,7 \pm 0,01 \mu\text{mol.g}^{-1}$ MVS. Celle-ci augmente chez les plantes traitées avec 200 mM de NaCl pour atteindre $1,2 \pm 0,22 \mu\text{mol.g}^{-1}$ MVS, ce qui correspond à un pourcentage d'augmentation de 71%, comparativement aux plantes témoins.

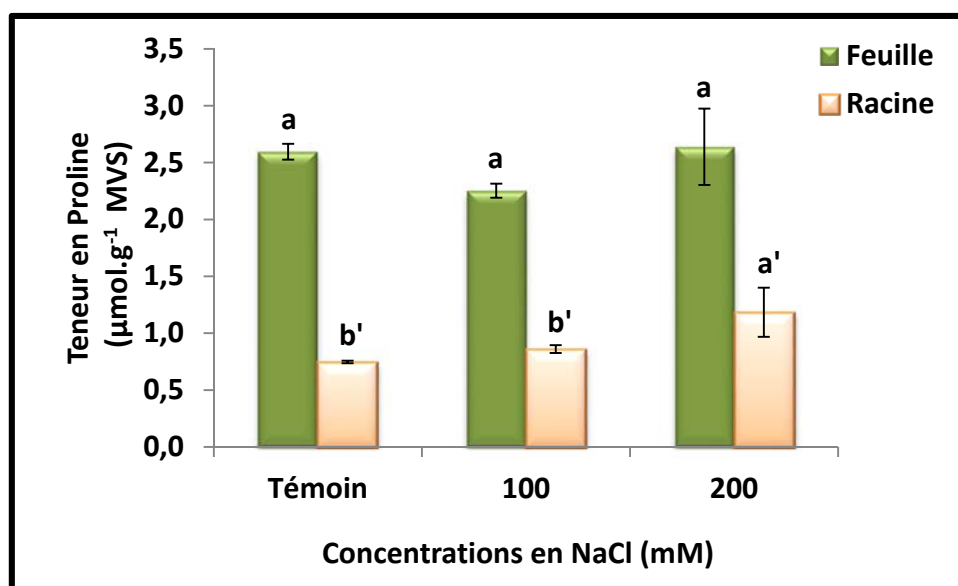


Figure 31 : Effet de la salinité sur la teneur en proline au niveau des feuilles et des racines des plantes de Fenugrec âgées de 50 jours. Les valeurs sont les moyennes (n = 3). Les lettres indiquent les différences significatives entre les traitements et le témoin : (P < 0.05).

III. 3. Effet de la salinité sur l'intégrité membranaire

III.3.1. Teneur en malondialdéhyde (MDA)

Le MDA, produit de la peroxydation des lipides membranaires est utilisé comme biomarqueur du niveau de dégradation des membranes cellulaires et de l'état de stress.

Au niveau des feuilles des plantes de fenugrec soumises à la contrainte saline, la teneur en MDA augmente de manière significative comparativement aux plantes témoins (Fig. 32).

Cette teneur s'élève significativement pour atteindre 1.9 ± 0.46 nmol.g⁻¹ MVS et 2.3 ± 0.22 nmol.g⁻¹ MVS respectivement sous l'effet de 100 mM et 200 mM de NaCl, soient 72 % et 109 % d'augmentation par rapport au témoin (1.1 ± 0.32 nmol.g⁻¹ MVS).

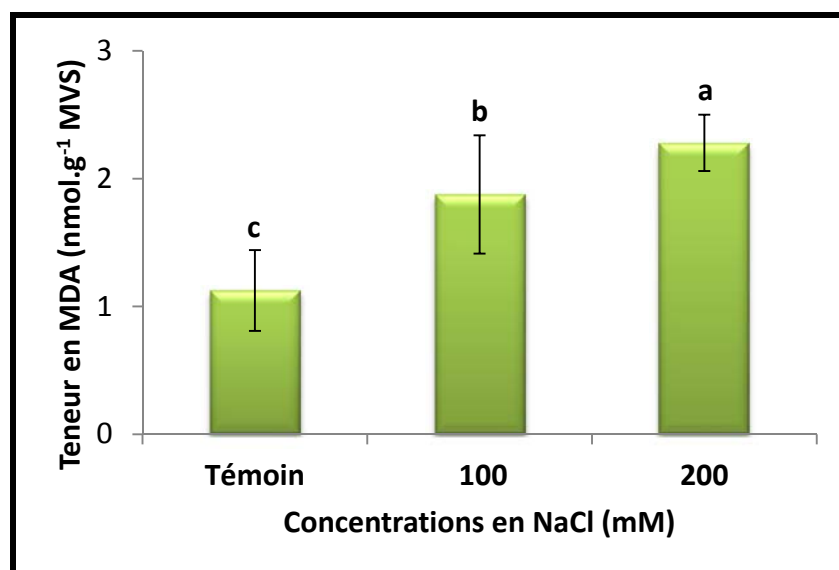


Figure 32 : Effet de la salinité sur la teneur en MDA des feuilles des plantes de Fenugrec âgées de 50 jours. Les valeurs sont les moyennes (n = 4). Les lettres indiquent les différences significatives entre les traitements et le témoin : (P < 0.05).

III.3.2. Efflux d'électrolytes

La fuite des électrolytes représente également un critère d'estimation de l'intégrité membranaire. La figure 33, illustre les variations de la fuite des électrolytes observées chez les plantes de fenugrec soumises à la contrainte saline. Dans nos conditions d'expérimentation, la fuite relative d'électrolytes présente le même profil que celui du MDA.

En effet, chez les plantes témoins, la fuite des électrolytes est de 51% ; une augmentation significative de la fuite d'électrolytes est observée chez les plantes traitées respectivement avec 100 mM et 200 mM de NaCl. Les pourcentages d'augmentation sont respectivement de 55% et 82%.

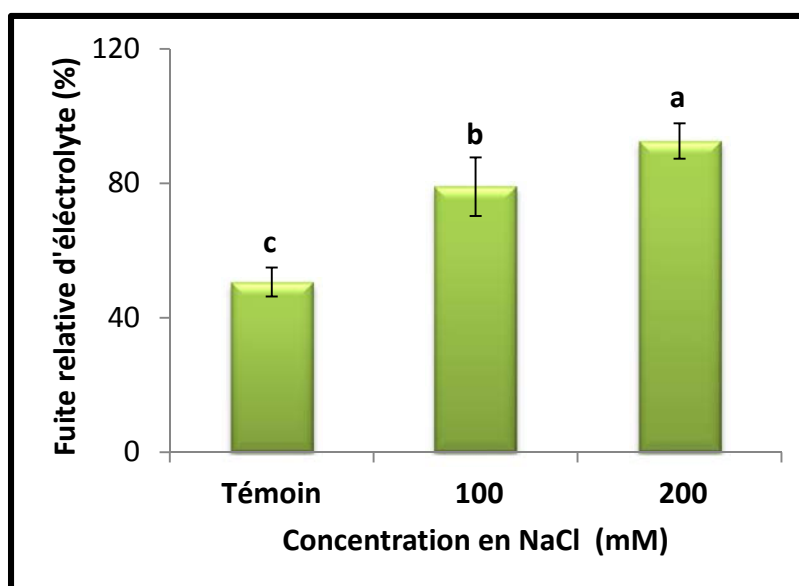


Figure 33 : Effet de la salinité sur la fuite relative d'électrolytes des feuilles des plantes de Fenugrec âgées de 50 jours. Les valeurs sont les moyennes (n = 5). Les lettres indiquent les différences significatives entre les traitements et le témoin : (P < 0.05).

III. 4. Effet de la salinité sur les activités enzymatiques du système antioxydant

III. 4. 1. Activité de la catalase

Chez les plantes témoins, l'activité catalase est de $0,016 \pm 0,004$ nmole.min⁻¹.mg⁻¹ de protéines (Fig. 34). Chez les plantes soumises à 100 mM et 200 mM de NaCl, l'activité de la catalase augmente respectivement à $0,041 \pm 0,003$ nmole.min⁻¹.mg⁻¹ de protéines et $0,032 \pm 0,003$ nmole.min⁻¹.mg⁻¹ de protéines. L'étude statistique révèle que cette augmentation de l'activité catalase est significative.

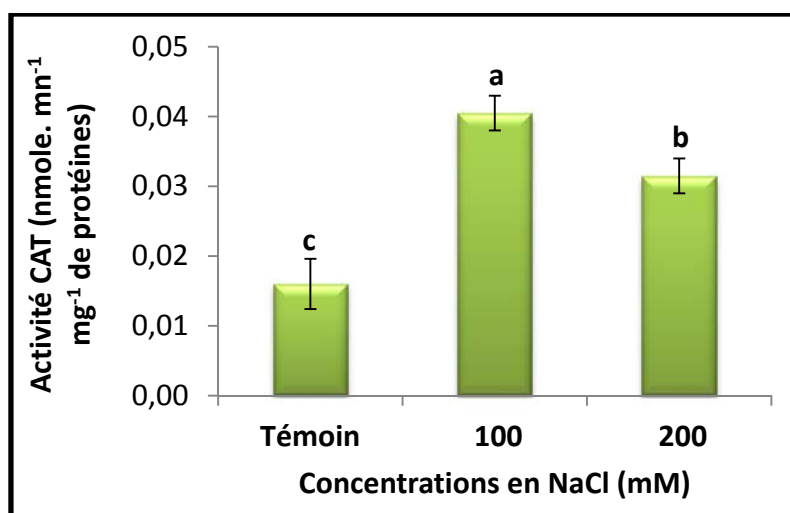


Figure 34 : Effet de la salinité sur l'activité de la catalase des feuilles des plantes de Fenugrec âgées de 50 jours. Les valeurs sont les moyennes (n = 3). Les lettres indiquent les différences significatives entre les traitements et le témoin : (P < 0.05).

III. 4. 2. Activité de l'ascorbate peroxydase cytosolique

An niveau des feuilles des plantes témoins, l'activité ascorbate peroxydase cytosolique (APX) est de $34,03 \pm 3,38$ nmole.min⁻¹.mg⁻¹ de protéines (Fig. 35), celle-ci passe à $39,62 \pm 11,38$ nmole.min⁻¹.mg⁻¹ de protéines et $89,81 \pm 23,85$ nmole.min⁻¹.mg⁻¹ de protéines chez les plantes stressées avec les concentrations respectives 100 mM et 200 mM de NaCl, ce qui correspond aux pourcentages d'augmentation de 16 % et 164 %.

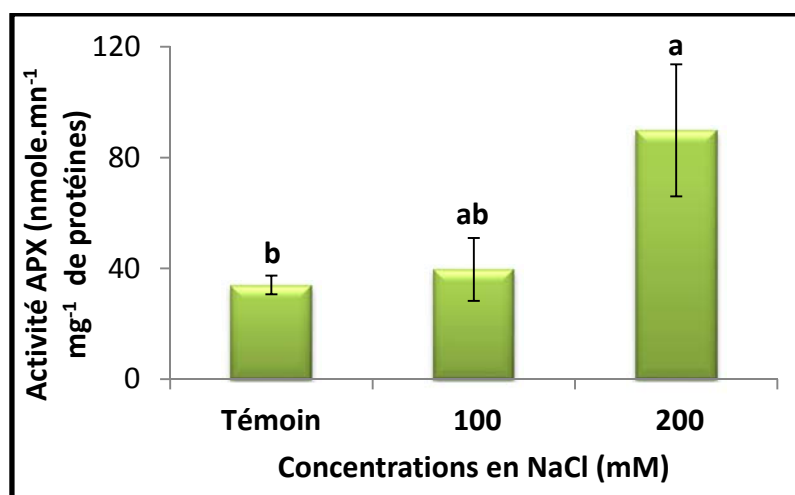


Figure 35 : Effet de la salinité sur l'activité de l'ascorbate peroxydase cytosolique au niveau des feuilles des plantes de Fenugrec âgées de 50 jours. Les valeurs sont les moyennes (n = 3). Les lettres indiquent les différences significatives entre les traitements et le témoin : P < 0.05).

III. 5. Effet de la salinité sur la composition en macro et micronutriments des plantes de fenugrec

Les plantes peuvent manifester un déséquilibre ionique sous l'effet d'une contrainte saline.

Nos résultats montrent que la salinité provoque une diminution des teneurs en macro et micronutriments au niveau des feuilles et des racines des plantes de fenugrec (Tab. 8).

Au niveau des feuilles, la teneur en Ca^{2+} foliaire diminue de manière significative de 30% et 55%, respectivement chez les plantes traitées avec 100 mM et 200 mM de NaCl. Une diminution similaire est observée au niveau des racines.

Les deux concentrations salines diminuent la teneur en K^+ , Mg^{2+} et Fe^{2+} au niveau des feuilles et des racines des plantes de fenugrec, alors que la teneur en P augmente chez les plantes traitées avec 200 mM de NaCl. La teneur en S diminue avec l'augmentation des concentrations salines au niveau des feuilles des plantes de fenugrec alors qu'elle augmente au niveau des racines des plantes traitées avec 200 mM de NaCl. La teneur en Mn^{2+} diminue au niveau des feuilles des plantes stressées mais augmente au niveau des racines des plantes stressées avec 200 mM de NaCl. La teneur en B diminue au niveau des feuilles sous l'effet des conditions salines, alors qu'elle augmente significativement au niveau des racines des plantes stressées.

La salinité n'a aucun effet sur la teneur foliaire en Zn^{2+} par contre la teneur en Zn^{2+} racinaire diminue significativement avec l'augmentation de la salinité.

La teneur en Na^+ augmente de manière significative au niveau des plantes stressées avec l'augmentation des concentrations en NaCl ; la teneur en Na^+ foliaire des plantes de fenugrec témoins est de $4,03 \pm 0,21 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ MVS. Cette teneur augmente chez les plantes traitées avec 100 mM et 200 mM de NaCl pour atteindre respectivement, $22,87 \pm 0,67 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ MVS et $23,53 \pm 1,42 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ MVS; Soit une teneur 5 fois plus élevée que chez les plantes de fenugrec témoins.

CHAPITRE III – RESULTATS

Au niveau racinaire, la teneur en Na^+ chez les plantes témoins est de $6,83 \pm 0,35 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1} \text{ MVS}$. Cette teneur augmente pour atteindre $23,47 \pm 0,67 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1} \text{ MVS}$ et $30,90 \pm 1,61 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1} \text{ MVS}$ respectivement sous l'effet de 100 mM et 200 mM de NaCl. Cela correspond à une augmentation 4-5 fois plus élevée que chez les plantes témoins.

Tableau 8 : Effet de la salinité sur la teneur en micro et macronutriments au niveau des feuilles et des racines des plantes de Fenugrec âgées de 50 jours. Les valeurs sont les moyennes ($n = 3$). Les lettres indiquent les différences significatives entre les traitements et le témoin : ($P < 0.05$).

		Témoin		100mM		200mM	
		Feuille	Racine	Feuille	Racine	Feuille	Racine
Macronutriments ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1} \text{ MVS}$)	Ca^{2+}	$14.43 \pm 0.21a$	$6.10 \pm 1.31a'$	$10.13 \pm 0.29b$	$4.03 \pm 0.12b'$	$6.53 \pm 0.21c$	$3.07 \pm 0.25b'$
	K^+	$49.97 \pm 0.15a$	$63.90 \pm 2.75a'$	$31.77 \pm 1.22b$	$59.33 \pm 1.16a'$	$28.33 \pm 1.14c$	$47.67 \pm 1.37b'$
	Mg^{2+}	$15.27 \pm 0.12a$	$29.63 \pm 1.33a'$	$12.37 \pm 0.59b$	$16.10 \pm 0.95b'$	$9.90 \pm 0.46c$	$7.33 \pm 0.40c'$
	Na^+	$4.03 \pm 0.21b$	$6.83 \pm 0.35c'$	$22.87 \pm 0.67a$	$23.47 \pm 0.67b'$	$23.53 \pm 1.42a$	$30.90 \pm 1.61a'$
	S	$4.67 \pm 0.21a$	$7.93 \pm 0.40b'$	$2.90 \pm 0.20b$	$7.90 \pm 0.36b'$	$3.27 \pm 0.06b$	$9.63 \pm 0.46a'$
	P	$5.80 \pm 1.06b$	$3.13 \pm 0.23b'$	$4.13 \pm 0.15b$	$3.47 \pm 0.21b'$	$8.83 \pm 1.36a$	$3.73 \pm 0.06a'$
Micronutriments ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1} \text{ MVS}$)	Mn^{2+}	$0.22 \pm 0.00a$	$0.45 \pm 0.02b'$	$0.20 \pm 0.00b$	$0.32 \pm 0.04c'$	$0.21 \pm 0.00ab$	$0.69 \pm 0.02a'$
	B	$0.06 \pm 0.00a$	$0.005 \pm 0.000b'$	$0.05 \pm 0.00c$	$0.01 \pm 0.00a'$	$0.06 \pm 0.00b$	$0.01 \pm 0.00a'$
	Fe^{2+}	$0.19 \pm 0.01a$	$16.60 \pm 1.28a'$	$0.13 \pm 0.00b$	$4.72 \pm 0.40b'$	$0.11 \pm 0.01c$	$1.68 \pm 0.15c'$
	Zn^{2+}	$0.01 \pm 0.00a$	$0.03 \pm 0.00a'$	$0.01 \pm 0.00a$	$0.01 \pm 0.00b'$	$0.01 \pm 0.00a$	$0.01 \pm 0.00b'$
	Al	$0.05 \pm 0.01b$	$11.95 \pm 0.63a'$	$0.05 \pm 0.00b$	$4.17 \pm 0.51b'$	$0.11 \pm 0.03a$	$1.37 \pm 0.06c'$

- Effet de la salinité sur le rapport K^+/Na^+ et $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$:

Le rapport K^+/Na^+ foliaire chez les plantes de fenugrec témoins est de $12,41 \pm 0,66$. Ce rapport diminue de 88% et 90%, respectivement chez les plantes traitées avec 100 mM et 200 mM de NaCl. Cette diminution est due à une baisse de la teneur en K^+ sous l'effet de 100 mM ($31.77 \pm 1.22 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1} \text{ MVS}$) et 200 mM ($28.33 \pm 1.14 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1} \text{ MVS}$) de NaCl. Alors que, la teneur en Na^+ augmente sous l'effet de ces deux concentrations de NaCl. Le rapport $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$ foliaire diminue également sous l'effet de la salinité chez les plantes de fenugrec soumises à la salinité comparativement aux plantes témoins. Le pourcentage de réduction est de 87% et 92% respectivement chez les plantes traitées avec 100 mM et 200 mM de NaCl.

CHAPITRE III – RESULTATS

Cette diminution est due à une baisse de la teneur en Ca^{2+} sous l'effet de 100 mM ($10.13 \pm 0.29 \text{ mg.g}^{-1} \text{ MVS}$) et 200 mM ($6.53 \pm 0.21 \text{ mg.g}^{-1} \text{ MVS}$) de NaCl, cependant la teneur en Na^+ foliaire augmente sous l'effet de la salinité. Chez les plantes de fenugrec témoins, le rapport $\text{K}^+/\text{Ca}^{2+}$ foliaire est de $3,46 \pm 0,04$. Ce rapport augmente de manière significative chez les plantes traitées avec 200 mM de NaCl pour atteindre $4,34 \pm 0,31$, ce qui correspond à un pourcentage d'augmentation de 25%. Cela est du à une diminution plus importante de la teneur en Ca^{2+} foliaire comparativement à la diminution de la teneur en K^+ foliaire.

Tableau 9 : Rapport K^+/Na^+ , $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$ et $\text{K}^+/\text{Ca}^{2+}$ au niveau des feuilles des plantes de Fenugrec âgées de 50 jours. Les valeurs sont les moyennes ($n = 3$). Les lettres indiquent les différences significatives entre les traitements et le témoin : ($P < 0.05$).

	Témoin	100 mM	200 mM
K^+/Na^+	$12,41 \pm 0,66\mathbf{a}$	$1,39 \pm 0,08\mathbf{b}$	$1,21 \pm 0,12\mathbf{b}$
$\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$	$03,59 \pm 0,22\mathbf{a}$	$0,44 \pm 0,02\mathbf{b}$	$0,28 \pm 0,01\mathbf{b}$
$\text{K}^+/\text{Ca}^{2+}$	$03,46 \pm 0,04 \mathbf{b}$	$3,13 \pm 0,08 \mathbf{b}$	$4,34 \pm 0,31\mathbf{a}$

III.6. Effet de la salinité sur le profil hormonal des plantes de fenugrec

La salinité peut entraîner des modifications dans la balance hormonale des plantes.

La teneur en tZ (trans-zéatine) foliaire des plantes témoins est de $7,53 \pm 0,47 \text{ ng.g}^{-1} \text{ MVS}$ (Fig. 36). Cette teneur diminue significativement sous l'effet de 100 mM et 200 mM de NaCl et atteint respectivement, $2,64 \pm 0,25 \text{ ng.g}^{-1} \text{ MVS}$ et $5,03 \pm 1,32 \text{ ng.g}^{-1} \text{ MVS}$. Cette baisse est respectivement de 65 % et 33 %.

Au niveau racinaire, aucune variation de la teneur en tZ n'a été observée chez les plantes de fenugrec traitées avec le NaCl comparativement aux plantes témoins.

CHAPITRE III – RESULTATS

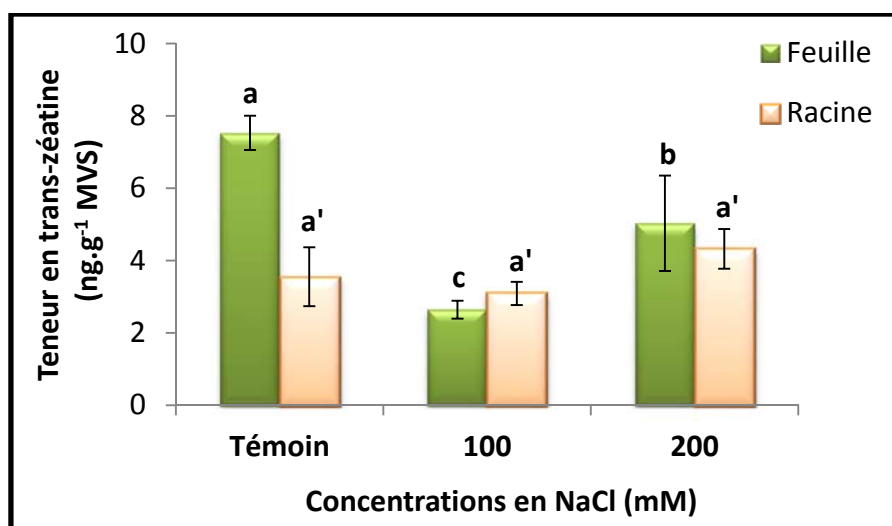


Figure 36 : Effet de la salinité sur la teneur en trans-zéatine au niveau des feuilles et des racines des plantes de Fenugrec âgées de 50 jours. Les valeurs sont les moyennes (n = 3). Les lettres indiquent les différences significatives entre les traitements et le témoin : (P < 0.05).

La teneur en isopentényladénine ou iP reste inchangée au niveau des feuilles des plantes de fenugrec sous l'effet de 100mM et 200 mM de NaCl (Fig. 37). Au niveau des racines, la teneur en iP est de $0,360 \pm 0,01$ ng.g⁻¹MVS. Cette teneur diminue significativement et atteint $0,031 \pm 0,01$ ng.g⁻¹ MVS et $0,007 \pm 0,001$ ng.g⁻¹ MVS respectivement chez les plantes traitées avec 100 mM et 200 mM de NaCl, ce qui correspond à un pourcentage de réduction de 91% et 98%.

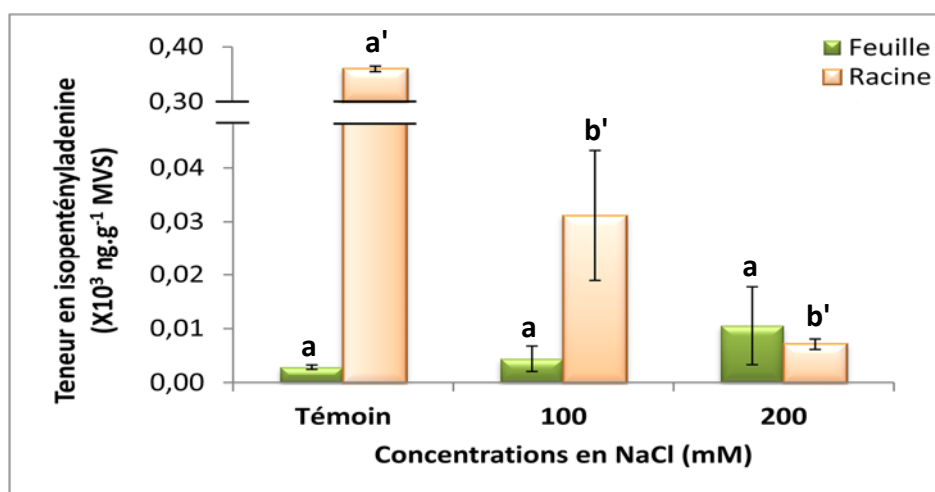


Figure 37 : Effet de la salinité sur la teneur en isopentényladénine au niveau des feuilles et des racines des plantes de Fenugrec âgées de 50 jours. Les valeurs sont les moyennes (n = 3). Les lettres indiquent les différences significatives entre les traitements et le témoin : (P < 0.05).

CHAPITRE III – RESULTATS

La teneur en cytokinines actives (tZ+iP) foliaires chez les plantes témoins est de $7,5 \pm 0,47 \text{ ng.g}^{-1} \text{ MVS}$ (Fig. 38). Cette teneur diminue chez les plantes traitées avec 100 mM et 200 mM de NaCl et atteint respectivement, $2,6 \pm 0,25 \text{ ng.g}^{-1} \text{ MVS}$ et $5 \pm 1,23 \text{ ng.g}^{-1} \text{ MVS}$. Les pourcentages de réduction sont respectivement de 65% et 33,5%.

La teneur en cytokinines (tZ+iP) racinaires des plantes traitées par le sel aux deux concentrations utilisées n'est pas affectée comparativement aux plantes témoins.

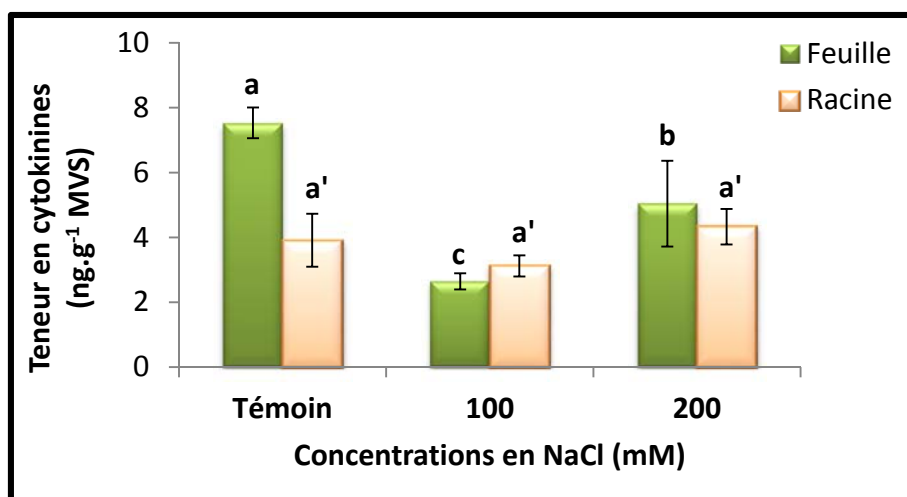


Figure 38 : Effet de la salinité sur la teneur en cytokinines au niveau des feuilles et des racines des plantes de Fenugrec âgées de 50 jours. Les valeurs sont les moyennes ($n = 3$). Les lettres indiquent les différences significatives entre les traitements et le témoin : ($P < 0.05$).

La teneur en acide aminocyclopropane-1-carboxylique ou ACC, précurseur de l'éthylène, ne varie pas chez les plantes de fenugrec soumises à la salinité comparativement aux plantes témoins (Fig. 39). Par contre, au niveau des racines, la teneur en ACC chez les plantes traitées avec 200 mM de NaCl augmente de manière significative ; elle est 4 fois plus élevée que celle des plantes témoins. En effet la quantité de cette hormone passe de $0,77 \pm 0,16 \text{ ng.g}^{-1} \text{ MVS}$ chez les plantes témoins à $3,23 \pm 0,82 \text{ ng.g}^{-1} \text{ MVS}$ chez les plantes soumises à 200 mM de NaCl.

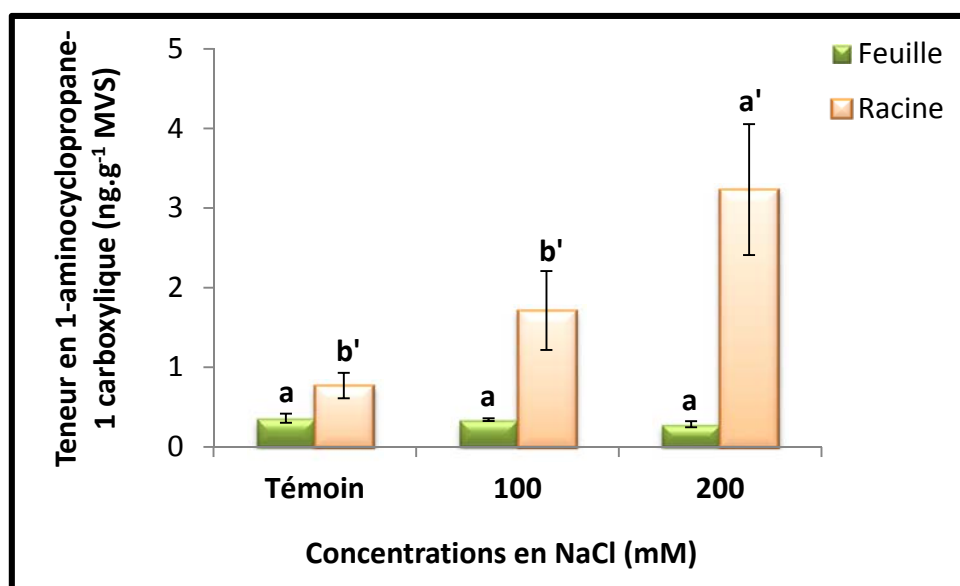


Figure 39 : Effet de la salinité sur la teneur en ACC (précurseur de l'éthylène) au niveau des feuilles et des racines des plantes de Fenugrec âgées de 50 jours. Les valeurs sont les moyennes (n = 3). Les lettres indiquent les différences significatives entre les traitements et le témoin : (P < 0.05).

La teneur en acide indolacétique ou AIA est plus élevée au niveau des racines qu'au niveau des feuilles, mais aucune variation n'est observée chez les plantes traitées avec la salinité comparativement aux plantes témoins (Fig. 40).

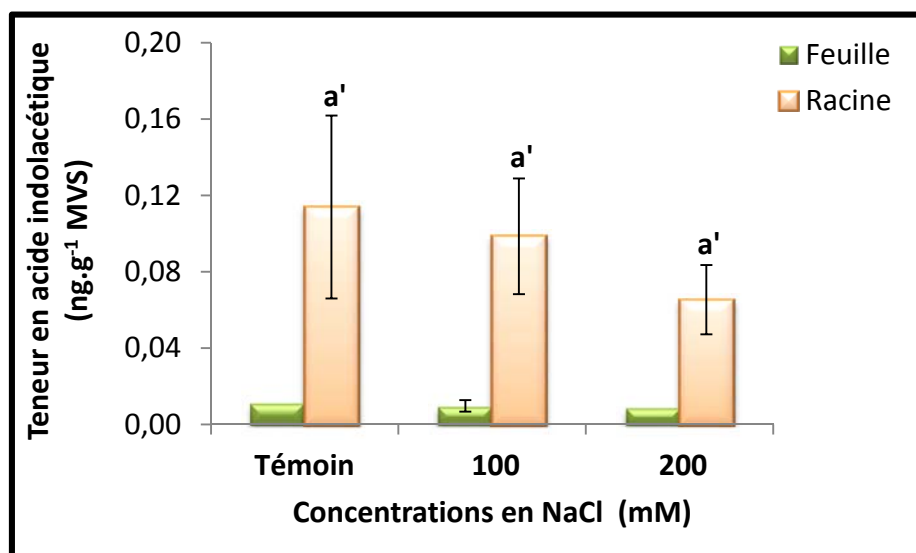


Figure 40 : Effet de la salinité sur la teneur en acide indole acétique au niveau des feuilles et des racines des plantes de Fenugrec âgées de 50 jours. Les valeurs sont les moyennes (n = 3). Les lettres indiquent les différences significatives entre les traitements et le témoin : (P < 0.05).

CHAPITRE III – RESULTATS

La teneur en acide abscissique ou ABA foliaire augmente chez les plantes soumises à la contrainte saline (Fig. 41). Cette teneur est 3 fois plus élevée sous l'effet de 100 mM de NaCl et 5 fois plus élevée sous l'effet de 200 mM de NaCl. En effet, la teneur en ABA foliaire chez les plantes témoin est de $0,33 \pm 0,11$ ng.g⁻¹MVS alors que chez les plantes traitées avec 100 mM et 200 mM de NaCl elle atteint respectivement, $1,10 \pm 0,22$ ng.g⁻¹MVS et $1,64 \pm 0,11$ ng.g⁻¹MVS.

La teneur en acide abscissique racinaire ne varie pas chez les plantes de fenugrec traitées avec le sel comparativement aux plantes témoins.

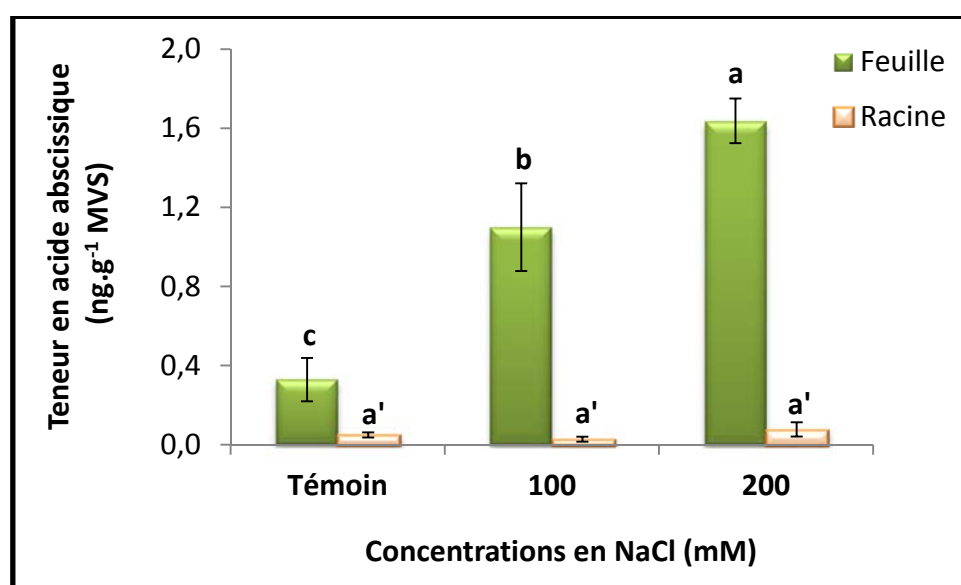


Figure 41 : Effet de la salinité sur la teneur en acide abscissique au niveau des feuilles et des racines des plantes de Fenugrec âgées de 50 jours. Les valeurs sont les moyennes (n = 3). Les lettres indiquent les différences significatives entre les traitements et le témoin : (P < 0.05).

La teneur en Acide gibbérellique ou AG diminue de manière significative au niveau des feuilles et des racines chez les plantes de Fenugrec soumises à la salinité (Fig. 42).

La teneur en AGs foliaire des plantes témoins est de $0,0034 \pm 0,0006$ ng.g⁻¹MVS. Cette teneur diminue de 23,5% chez les plantes traitées avec 100 mM de NaCl et cette hormone n'est plus détectée chez les plantes traitées avec 200 mM de NaCl.

Au niveau racinaire, la teneur en AGs chez les plantes témoins est de $1,05 \pm 0,34$ ng.g⁻¹ MVS. Cette teneur diminue pour atteindre $0,21 \pm 0,09$ ng.g⁻¹ MVS et $0,01 \pm 0,002$ ng.g⁻¹ MVS,

CHAPITRE III – RESULTATS

respectivement chez les plantes soumises à 100 mM et 200 mM de NaCl. Cela correspond à des pourcentages de réduction respectifs de 80% et 99%.

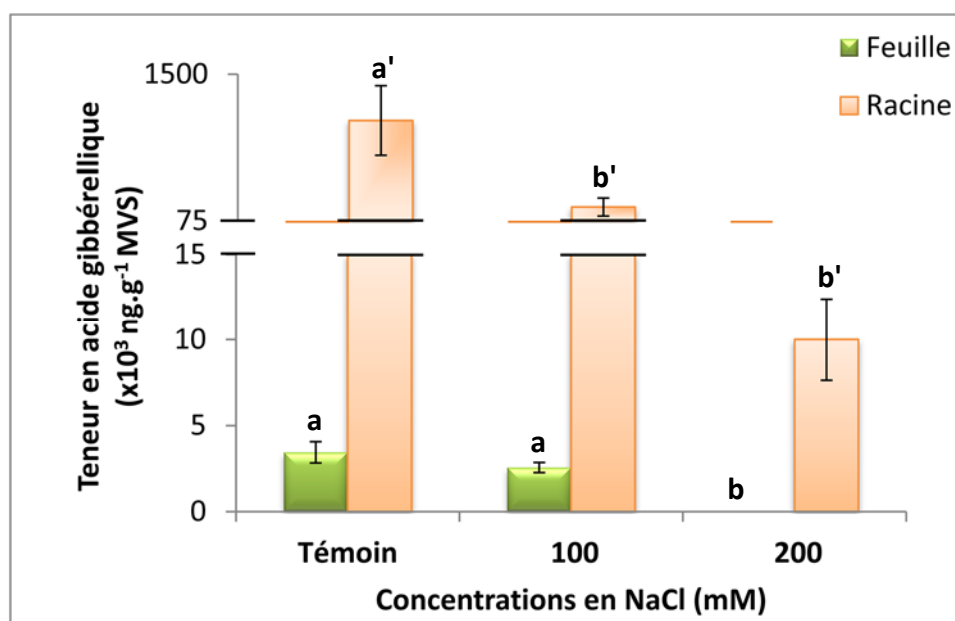


Figure 42 : Effet de la salinité sur la teneur en acide gibbérellique au niveau des feuilles et des racines des plantes de Fenugrec âgées de 50 jours. Les valeurs sont les moyennes ($n = 3$). Les lettres indiquent les différences significatives entre les traitements et le témoin : ($P < 0.05$).

La salinité induit une augmentation de la teneur en acide jasmonique foliaire seulement chez les plantes soumises à une concentration de 200 mM de NaCl (Fig. 43). Chez les plantes témoins la teneur en AJ est de $12 \pm 0,86 \text{ ng.g}^{-1} \text{ MVS}$, elle atteint $17 \pm 1,41 \text{ ng.g}^{-1} \text{ MVS}$ sous l'effet du sel ce qui correspond à un pourcentage d'augmentation de 29%.

La teneur en acide jasmonique racinaire des plantules témoins est de $13 \pm 2,95 \text{ ng.g}^{-1} \text{ MVS}$. Cette teneur augmente sous l'effet de 100 mM de NaCl et atteint $24 \pm 3,97 \text{ ng.g}^{-1} \text{ MVS}$ correspondant à un pourcentage d'augmentation de 84% mais ne varie pas chez les plantes de fenugrec traitées avec 200 mM de NaCl.

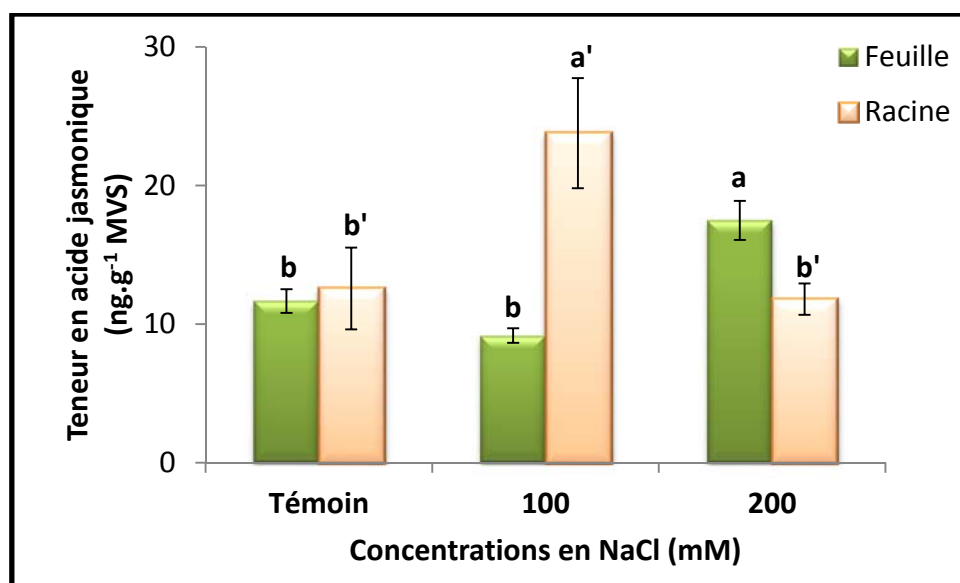


Figure 43 : Effet de la salinité sur la teneur en acide jasmonique au niveau des feuilles et des racines des plantes de Fenugrec âgées de 50 jours. Les valeurs sont les moyennes (n = 3). Les lettres indiquent les différences significatives entre les traitements et le témoin : (P < 0.05).

La teneur en acide salicylique foliaire chez les plantes de fenugrec témoins est de $0,21 \pm 0,02$ ng.g⁻¹ MVS (Fig. 44). Cette teneur augmente de manière significative chez les plantes traitées avec 100 mM de NaCl et atteint $0,53 \pm 0,15$ ng.g⁻¹ MVS. Cependant, aucun changement n'a été observé chez les plantes soumises à 200 mM de NaCl comparativement aux plantes témoins.

La teneur en acide salicylique racinaire est de $0,43 \pm 0,02$ ng.g⁻¹ MVS. Cette teneur augmente 3 fois plus au niveau des racines des plantes traitées avec 100 mM de NaCl comparativement aux plantes témoins, elle atteint $1,26 \pm 0,17$ ng.g⁻¹ MVS. Par contre cette teneur ne semble pas être affectée chez les plantes traitées avec 200 mM de NaCl.

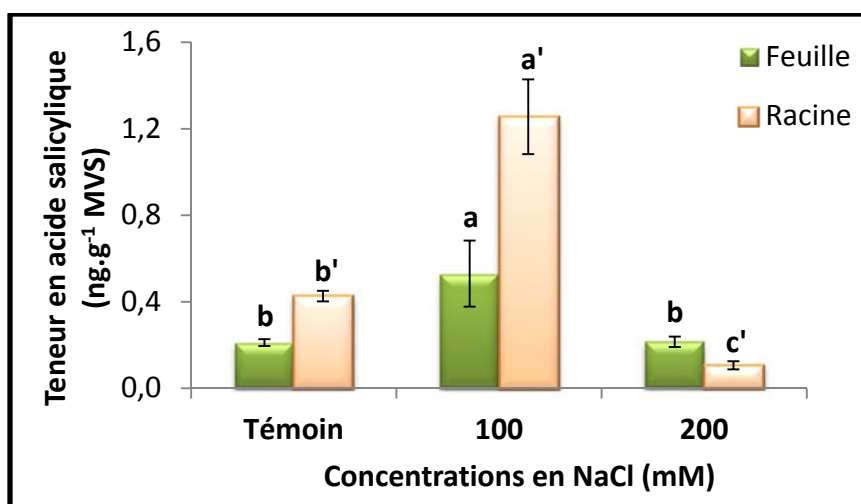


Figure 44 : Effet de la salinité sur la teneur en acide salicylique au niveau des feuilles et des racines des plantes de Fenugrec âgées de 50 jours. Les valeurs sont les moyennes (n = 3). Les lettres indiquent les différences significatives entre les traitements et le témoin : (P < 0.05).

III.7. Analyse en composantes principales (ACP)

Afin d'évaluer le degré de divergence entre les paramètres étudiés chez les plantes de fenugrec sous l'effet de la contrainte saline, une analyse en composantes principales (ACP) a été réalisée (Fig. 45).

Seuls les deux premiers axes de l'ACP expriment 80,6 % de la variabilité. L'axe 1 (Composante 1) représente 57,1 % de la variation, cet axe associe les paramètres suivants : APX (Ascorbate peroxydase), MDA (Manolyldialdehyde), catalase, Na_F (Na⁺ foliaire), Na_R (Na⁺ racinaire), ABA_F (Acide abscissique foliaire), Prol_R (Proline racinaire), Sucre_R (sucre racinaire) et AJ_F (Acide jasmonique foliaire) du côté négatif de l'axe 1.

Du côté positif de l'axe 1 sont associés les paramètres suivants : Sucre_F (sucre foliaire), K_F (K⁺ foliaire), K_R (K⁺ racinaire), AGs_R (Acide gibbérellique racinaire), AGs_F (Acide gibbérellique foliaire), CT (Chlorophylle totale), TRE (teneur relative en eau), CS (conductance stomatique), LPA (Longueur de la partie aérienne), NF (Nombre de feuilles), SF (Surface foliaire), ACC_F (acide 1-aminocyclopropane-1-carboxylique foliaire), MST (masse sèche totale), MSPA (masse sèche de la partie aérienne), Ca_F (Ca²⁺ foliaire) et Ca_R (Ca²⁺ racinaire).

CHAPITRE III – RESULTATS

L'axe 2 a expliqué 23,5% de la variation, et définit les variables suivantes : AS_R (Acide salicylique racinaire), AS_F (Acide salicylique foliaire), JA_R (Acide jasmonique racinaire) du côté positif de l'axe 2. Du côté négatif de l'axe 2 sont représentés les variables CKs_R (Cytokinines racinaires) et CKs_F (Cytokinines foliaires).

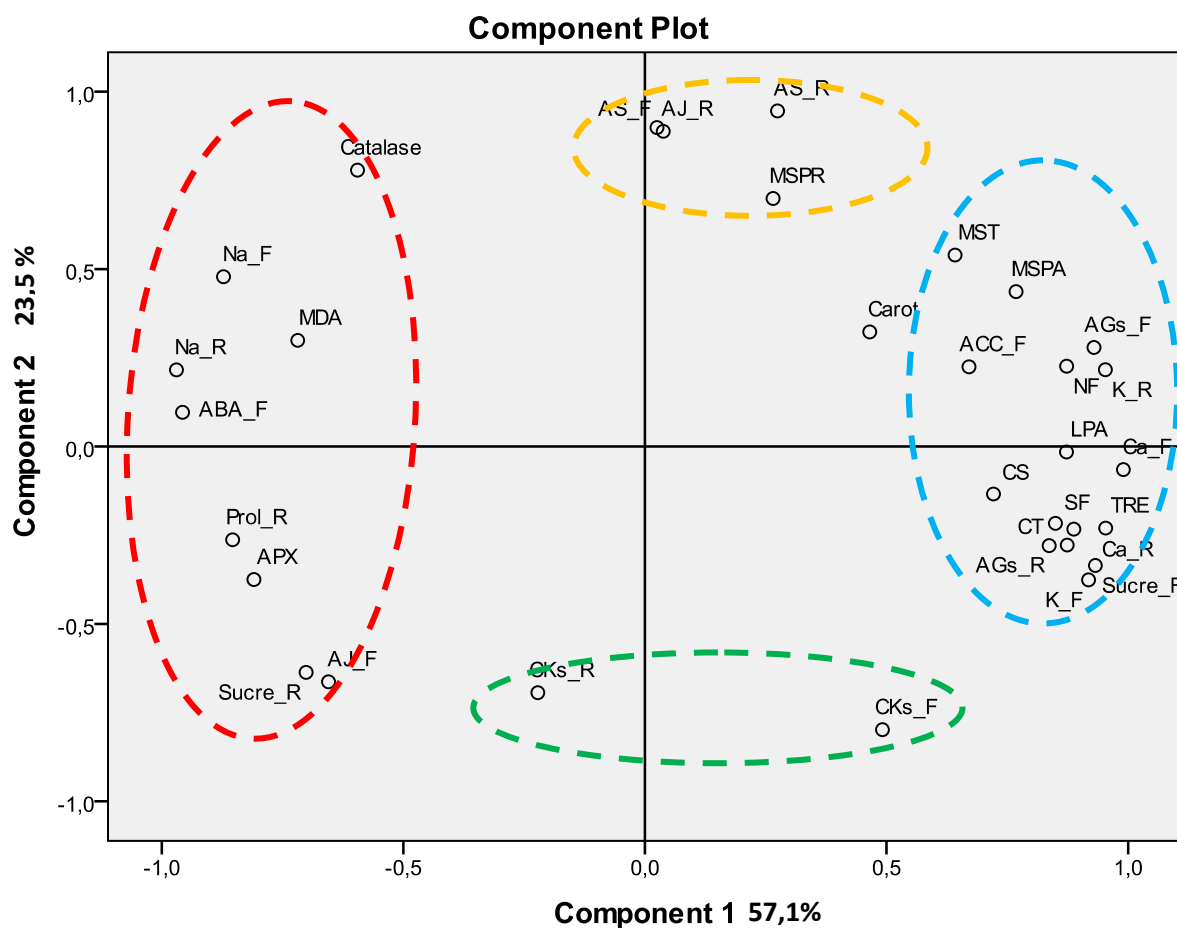


Figure 45 : Analyse en composantes principales (ACP) représentant les corrélations entre les différents paramètres étudiés chez les plantes de fenugrec soumises à la contrainte saline.

Discussion

CHAPITRE IV - DISCUSSION

Le fenugrec est une espèce de légumineuse annuelle cultivée dans plusieurs régions du monde en raison de son intérêt commercial comme source d'une diversité de substances phytochimiques (Petropoulos, 2002). Afin de satisfaire les besoins croissants de l'industrie pharmaceutique, beaucoup de plantes médicinales comme le fenugrec ont besoin d'être cultivées à l'échelle commerciale, mais la salinité des sols et les autres facteurs environnementaux peuvent représenter un sérieux problème pour la production de ces plantes (Qureshi et al., 2005). Le stress salin est un problème environnemental d'actualité et un facteur important pouvant limiter la production agricole. Les plantes répondent à ce stress abiotique par des interactions complexes mettant en jeu des modifications morphologiques et physiologiques (le statut hydrique, la photosynthèse et l'équilibre nutritionnel et hormonal).

Il est admis que la quantité de sel dans le sol que les plantes peuvent supporter sans grands dommages pour leur culture varie avec les familles, les genres, les espèces mais aussi les variétés.

Le stress salin engendre un effet dépressif sur la croissance et le développement chez la majorité des plantes cultivées (Munns et al., 1995).

Nos résultats montrent que le stress salin entraîne une diminution de la surface foliaire totale, du nombre de feuilles et de l'élongation de la partie aérienne des plantes de fenugrec (Fig. 46). Nos résultats sont en accord avec ceux de Assadi (2009) qui a observé une réduction de la croissance de la partie aérienne des plantes de fenugrec sous l'effet d'une concentration en sel de 200 mM.

La réduction de la croissance est l'une des premières manifestations des plantes face aux stress (Boyer, 1970; Saab et al., 1989). La diminution de la surface foliaire (ralentissement de la croissance des feuilles ou la diminution de leur nombre et/ou leur sénescence) est un mécanisme adaptatif qui permet de réduire la surface de transpiration (Granier et al., 2000).

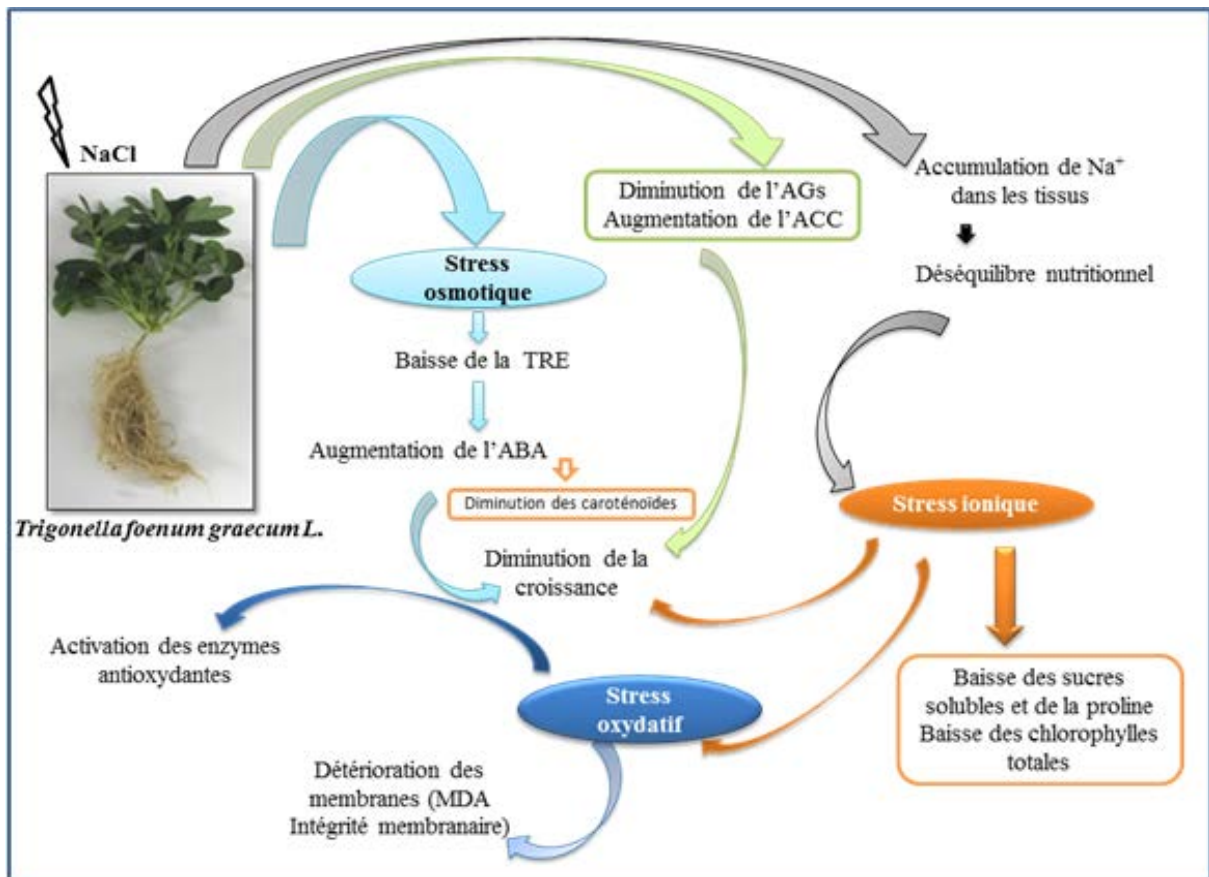


Figure 46 : Schéma général récapitulatif de l'effet du stress salin sur les feuilles des plantes de fenugrec *Trigonella foenum graecum L.*

D'après Hu et Schmidhalter (2004), la réduction de l'élongation des feuilles sous l'effet de la salinité peut être associée à une diminution de l'extensibilité de la paroi cellulaire. En effet, une accumulation excessive en Na⁺ au niveau de la paroi cellulaire végétale provoque une modification des propriétés de celle-ci en réduisant la cohésion des composants pariétaux, ce qui mène à un ralentissement de l'élongation cellulaire (Byrt et al. 2018).

La diminution du nombre de feuilles et de la surface foliaire pourrait être due à une accumulation du Na⁺ au niveau de la paroi cellulaire ou au niveau du cytoplasme des feuilles quand la vacuole n'arrive plus à séquestrer le sel, en particulier aux fortes concentrations (200 mM de NaCl) (Munns, 2002). En effet, une corrélation significative et négative a été observée entre la surface foliaire ($r = -0.879^{**}$), l'élongation de la partie aérienne ($r = -0.794^{*}$) et la teneur en Na⁺ foliaire. La diminution du nombre de feuilles et de la surface foliaire pourrait s'expliquer également par une inhibition du prélèvement à partir du sol des éléments minéraux

CHAPITRE IV - DISCUSSION

et de leur assimilation à l'augmentation de la pression osmotique du milieu engendrée par le sel (Munns et al., 1995).

La réduction de la surface foliaire peut être considérée comme un mécanisme d'évitement par la plante stressée, qui minimise la perte d'eau par transpiration, et limite l'accumulation des ions Na^+ au niveau des feuilles (Munns et Tester, 2008).

La masse sèche et la masse fraîche des plantes sont considérées parmi les critères les plus déterminants dans la réponse des plantes aux stress salin (Munns, 2005). Nos résultats montrent une légère diminution de la masse sèche et fraîche des plantes de fenugrec sous l'effet du stress salin. Ces résultats sont en accord avec ceux de Babar et al. (2014) qui ont montré une diminution significative de la biomasse de plantes de fenugrec sous l'effet de 100 mM de NaCl.

Le rapport de la masse sèche de la racine / la masse sèche de la partie aérienne augmente chez les plantes soumises à 100 mM de NaCl. Cela est dû à une diminution plus importante de la masse sèche de la partie aérienne par rapport à celle de la partie racinaire sous l'effet de la concentration modérée de sel (100 mM). D'après Zhu (2001), la réduction de la partie aérienne est une stratégie adaptative nécessaire à la survie des plantes soumises au stress abiotique. Par contre ce rapport diminue de manière significative chez les plantes soumises à 200 mM de NaCl suite à une forte diminution de la partie racinaire.

La teneur relative en eau (TRE) est un paramètre largement utilisé pour évaluer le statut hydrique de la plante face à un stress abiotique (Munns et al., 2006). D'après nos résultats, la TRE diminue sous l'effet de la salinité chez les plantes de fenugrec. En condition de salinité, l'accumulation des ions au niveau de la zone racinaire inhibe l'absorption de l'eau menant ainsi à une sécheresse physiologique et donc à la diminution de la TRE.

Le déficit hydrique engendré par le stress salin induit une diminution du potentiel de turgescence qui affecte à son tour l'expansion des feuilles (Nayidu et al., 2013) et la division cellulaire (Munns et Tester, 2008) ce qui se traduit par une diminution de la surface foliaire totale et du nombre de feuilles des plantes. En effet, une corrélation positive est observée entre la surface foliaire totale ($r = 0.881^{**}$), le nombre de feuilles ($r = 0.822^{**}$) et la TRE. La diminution de ces paramètres favorise la rétention des ions toxiques au niveau des racines,

CHAPITRE IV - DISCUSSION

limitant ainsi l'accumulation de ces ions au niveau de la partie aérienne de la plante (Munns et Tester, 2008).

La photosynthèse est considérée comme l'un des facteurs physiologiques les plus importants reflétant la sensibilité d'une plante à la contrainte environnementale (Chaves et al., 2009). Dans cette étude, nous avons constaté que le stress salin fait diminuer tous les paramètres liés à la photosynthèse chez les plantes de fenugrec (teneur en pigments photosynthétiques, la conductance stomatique et le taux de transpiration) excepté le taux photosynthétique.

D'après nos résultats, les teneurs en chlorophylles totales et en caroténoïdes sont corrélées négativement avec les teneurs en Na^+ foliaire. Nos résultats sont en accord avec ceux trouvés par Al-Saady et al. (2012) et Hafsi et al. (2017) respectivement chez le *Trigonella foenum graecum* et *Sulla carnosa* sous l'effet de la salinité. La diminution de la teneur en chlorophylles peut être due à une inhibition de leur synthèse et/ou à une activation de leur dégradation par les chlorophyllases (Santos, 2004). Elle peut être due à une réduction de l'absorption de minéraux tels que le Mg^{2+} , principal constituant des chlorophylles, suite à un effet antagoniste du Na^+ sur l'absorption de Mg^{2+} (Wu et al., 2010) ou à une diminution en Fer, catalyseur des enzymes intervenant dans la biosynthèse des chlorophylles.

En effet, une diminution de la teneur en ions Mg^{2+} foliaire et racinaire a été observée chez les plantes de fenugrec en fonction de l'augmentation des concentrations de sel.

Le rapport Chla/Chlb ne varie pas sous l'effet de la salinité chez les plantes de fenugrec, ce qui peut s'expliquer par le fait que les chlorophylles a et b diminuent de manière similaire.

La teneur en caroténoïdes des plantes de fenugrec diminue sous l'effet de la salinité. Cette baisse peut être due à une réorientation du métabolisme vers une synthèse d'ABA au niveau des feuilles. En effet, une corrélation négative est observée entre la teneur en ABA foliaire et la teneur en caroténoïdes. L'acide abscissique est un produit issu des caroténoïdes. Le β -carotène est synthétisé dans le chloroplaste à partir de deux molécules de GGPP (géranyl géranyl pyrophosphate), formant un intermédiaire, le phytoène, qui après désaturation, donne la molécule de β -Carotène. Sous l'action de la β -carotène hydroxylase, ce composé est

CHAPITRE IV - DISCUSSION

transformé en zéaxanthine, première xanthophylle spécifique de la voie de biosynthèse de l'ABA (Nisar et al., 2015).

En outre, cette baisse peut être due à la dégradation des caroténoïdes suite au stress oxydatif induit par la salinité qui peut être considéré comme un agent potentiellement endommageant puisque les chloroplastes sont les principaux sites de formation des ROS (en particulier O_2^- et 1O_2) (Yamane et al., 2012).

D'après nos résultats, une augmentation de la photosynthèse nette sous les conditions salines est observée chez les plantes de fenugrec stressées malgré une réduction de la conductance stomatique et du taux de transpiration. D'après certaines études réalisées sur des plantes soumises à un stress hydrique, il existerait des mécanismes de régulation permettant de maintenir la photosynthèse sous l'effet du stress, telles que, la régulation ionique et la balance hormonale (Lawlor et Cornic, 2002 ; Albacete et al., 2015).

Nos résultats montrent une corrélation négative entre la concentration en pigments photosynthétiques et le taux photosynthétique chez les plantes de fenugrec exposées à la salinité. Selon Lünchli et Grattan, (2012), la photosynthèse ne semble pas être le seul paramètre déterminant de la croissance des plantes sous l'effet d'un stress salin chez plusieurs plantes agronomiques. D'après Medrano et al. (2002), la conductance stomatique, le taux de transpiration et la disponibilité du CO_2 sont également impliqués dans la réponse des plantes face à un stress.

La diminution de la conductance stomatique représente un mécanisme d'adaptation ou de résistance (en fonction de sévérité et/ou de la durée du stress) pour faire face à la salinité, en réduisant le transport du sel vers les feuilles augmentant ainsi leur longévité (Koyro, 2006 et Alvarez et Sanchez-Blanco, 2015).

Nos résultats montrent une diminution de la conductance stomatique et du taux de transpiration qui est en contradiction avec la diminution de la TRE. Cette contradiction a été observée par Lassouane et al. (2016) chez *Parkinsonia aculeata* sous l'effet d'un stress hydrique. D'après Medrano et al. (2002), cela serait probablement dû à l'influence du stress osmotique sur la régulation stomatique.

CHAPITRE IV - DISCUSSION

La diminution de la conductance stomate et de la transpiration affecte la diffusion du CO₂ dans les feuilles ce qui a comme conséquence une diminution de la disponibilité de la teneur en CO₂ pour la RubisCo. Cela peut engendrer une augmentation de la photorespiration et une augmentation de production d'H₂O₂ au niveau du peroxyosome ce qui expliquerait l'augmentation de l'activité catalase. En effet, nous avons observé une corrélation négative entre la conductance stomatique et l'activité catalase ($r = - 0.493$) des plantes de fenugrec stressées a été obtenue, ce qui suggérerait l'existence d'une relation entre l'activité catalase et la conductance stomatique.

La relation entre la salinité et la nutrition minérale est très complexe, ce qui peut modifier et altérer la disponibilité et la compétition/transport des macro/micro nutriments au sein de la plante. Nos résultats ont montré une accumulation excessive des ions Na⁺ au niveau de la partie aérienne et de la partie racinaire des plantes de fenugrec sous l'effet de la salinité atteignant des concentrations 5 fois plus élevées que chez les plantes de fenugrec témoins.

Les résultats obtenus montrent que l'accumulation de Na⁺ est équivalente au niveau des feuilles et des racines sous l'effet de 100 mM de NaCl, alors que sous l'effet de 200 mM de NaCl, l'accumulation de Na⁺ est plus importante dans les racines comparativement aux feuilles. Cette distribution du Na⁺ au niveau des différents organes de la plante laisse indiquer que le fenugrec est une plante qui utilise la stratégie des plantes de type incluser et des plantes de type excluser. En effet, chez les plantes inclusers les flux de sodium sont essentiellement ascendants, et le sel est accumulé dans les parties aériennes au niveau des vacuoles par contre chez les plantes exclusers, le sodium présents dans les feuilles est re-circulé vers les racines pour y être stocké ou rejeté (Levigneron et al., 1995).

Une accumulation excessive du Na⁺ et du Cl⁻ à l'intérieur et à l'extérieur de la plante peut affecter l'homéostasie ionique des éléments essentiels, ce qui cause une déficience ou un déséquilibre nutritionnel dus à une compétition du Na⁺ avec des ions nutritionnels tels que, les ions K⁺, Ca²⁺, P, Fe²⁺ et le Mg²⁺ (Naeem et al., 2010). Une corrélation négative est observée entre la teneur en Na⁺ foliaire et la majorité des macro et micronutriments analysés. Les résultats obtenus indiquent que le stress salin affecte la nutrition minérale chez les plantes de fenugrec suite à une perturbation de l'absorption racinaire dans le sol.

D'après nos résultats, le rapport K⁺/Na⁺, Ca²⁺/Na⁺ diminuent chez les plantes de fenugrec sous l'effet du stress salin suite à l'accumulation des ions Na⁺ mais aussi la

CHAPITRE IV - DISCUSSION

diminution des ions K^+ et Ca^{2+} . Nos résultats sont en accord avec ceux retrouvés chez la tomate (Ghanem et al., 2008) et chez *Cordyline fruticosa* (Lao et Plaza, 2013). La diminution des ions K^+ et Ca^{2+} en présence de NaCl, pourrait être expliquée par une compétition entre ces ions et les ions Na^+ pour les mêmes sites de fixation apoplastiques (Haoula et al., 2006).

La diminution de la teneur en Ca^{2+} et en K^+ est associée à une réduction de la croissance des plantes (Vadez-Aguilar et al., 2009). Nos résultats montrent une corrélation positive entre la teneur en K^+ foliaire et la surface foliaire ($r = 0.890^{**}$). De même, une corrélation positive est obtenue entre la teneur en Ca^{2+} foliaire et la surface foliaire ($r = 0.856^{**}$).

Le phosphore est un macroélément essentiel pour les plantes, il intervient dans plusieurs processus métaboliques tels que le transfert d'énergie, la transduction du signal, la biosynthèse des macromolécules, la photosynthèse et la respiration (Raghothama et Karthikeyan, 2005). D'après nos résultats, l'augmentation des teneurs en phosphore sous l'effet de la forte concentration de sel (200 mM) est associée à une diminution de la croissance chez les plantes de fenugrec. D'après des travaux antérieurs une déficience en P réduit la conductance hydrique des racines et le potentiel hydrique de la plante entière (Li et al., 2009).

L'accumulation significative du Na^+ au niveau de la partie aérienne des plantes de fenugrec confrontées au sel, est due à une augmentation du transport de cet ion des racines vers la partie aérienne, provoquant ainsi une baisse du taux des pigments photosynthétiques des plantes de fenugrec. Nos résultats montrent une corrélation négative entre la teneur en Na^+ foliaire et les chlorophylles totales ($r = -0.867^{**}$).

L'accumulation des sucres chez les plantes a été largement rapportée comme une réponse à la salinité (Ashraf et Harris, 2004). Les sucres jouent un rôle important dans la régulation de l'expression des gènes impliqués dans certains processus métaboliques tels que, la photosynthèse, la respiration et le métabolisme des carbohydrates (Hare et al., 1998).

D'après nos résultats, une augmentation des sucres solubles est observée au niveau de la partie racinaire des plantes stressées. La teneur élevée en sucres solubles au niveau des racines pourrait être due à une limitation de leur utilisation suite à un ralentissement de la

CHAPITRE IV - DISCUSSION

croissance (Lawlor, 2002). Ces sucres pourraient provenir d'une modification d'activités enzymatiques liées au métabolisme glucidique (Dubey Singh, 1999).

Cependant, une diminution des sucres solubles est observée au niveau des feuilles malgré une augmentation du taux photosynthétique. L'accumulation des sucres notée au niveau des racines chez les plantes soumises à la contrainte saline pourrait être liée à un transfert plus important de ces derniers de l'organe source (feuille) vers l'organe puits (racine). Ces sucres serviraient à la fourniture d'énergie nécessaire à la croissance racinaire et à la fourniture d'énergie nécessaire au processus d'absorption/exclusion des ions sodium.

Sous l'effet d'une contrainte saline, les plantes synthétisent des acides aminés tels que la proline afin d'effectuer un ajustement osmotique de leur contenu cellulaire (Ashraf et McNeilly, 2004).

Nos résultats ont montré une augmentation de la teneur en proline au niveau des racines des plantes traitées avec la concentration en sel de 200 mM. Cette augmentation pourrait être due à une accumulation de cet acide aminé suite à une activation de sa biosynthèse et de la répression de son catabolisme dans la mitochondrie. En conditions de stress, l'accumulation de la proline est corrélée à l'activation des enzymes impliquées dans sa biosynthèse, la delta 1-pyrroline-5-carboxylate synthétase (P5CS: gamma-glutamyl kinase) ainsi qu'à l'inhibition de la proline déshydrogénase (ProDH) qui est par contre impliquée dans le catabolisme de cet acide aminé (Ben Rejeb et al., 2014).

Au niveau des feuilles des plantes de fenugrec confrontées au sel, aucune variation de la teneur en proline n'est observée. Ce résultat est en désaccords avec les nombreux travaux qui rapportent une augmentation de la teneur en proline en condition de stress (Misra et Gupta, 2005; Wang et al., 2015). Cependant, Al-Saady et al. (2012), ont montré que sous l'effet 10 dS.m⁻¹ (80 mM) de NaCl la teneur en proline diminue au niveau des feuilles. Il se pourrait que les plantes de fenugrec stressées accumulent au niveau des feuilles un autre type d'osmolyte telle que la glycine bêtaïne.

Afin d'évaluer l'état du stress salin chez les plantes de fenugrec, nous avons dosé le MDA considéré comme le produit final de la peroxydation des lipides (Møller et al., 2007). Une peroxydation lipidique sévère mène à des dommages membranaires, avec une perte de leur fonction de barrière, suivis par la désintégration des organites, l'oxydation et le

CHAPITRE IV - DISCUSSION

disfonctionnement des protéines et des acides nucléiques (Halliwell et Gutteridge, 1999; Farmer et Mueller, 2013).

Nos résultats montrent une augmentation de la concentration de MDA et de la fuite d'électrolytes chez les plantes de fenugrec stressées. Ces résultats sont en accord avec ceux de Pour et al. (2014), qui ont observé que sous l'effet de la salinité, le taux de peroxydation des lipides membranaires chez les plantes de fenugrec augmente significativement de 113% et 373%, comparativement aux plantes témoins, respectivement sous l'effet de 100 mM et 200 mM de NaCl.

L'augmentation de la teneur en MDA signifie que le stress oxydatif est installé ce qui expliquerait la diminution des teneurs en chlorophylles totales chez les plantes de fenugrec. En effet, la teneur en MDA est corrélée négativement et de manière significative avec la teneur en chlorophylles totales ($r = - 0.672^*$).

Afin de se protéger des ROS du stress oxydatif induit par le sel, les plantes mettent en place un système antioxydant enzymatique et non enzymatique (Xu et al., 2017 ; Farooq et al., 2018). La détoxification des ROS par le système de défense antioxydatif est potentiellement un critère de tolérance vis-à-vis du stress salin (Wang et al., 2016)

D'après nos résultats, l'activité des enzymes antioxydantes telles que la catalase et l'ascorbate peroxydase cytosolique augmente de manière significative sous l'effet des deux concentrations de sel appliquées, bien que la teneur en MDA foliaire chez les plantes de fenugrec stressées augmente avec l'intensité du stress. Des résultats similaires ont été observés chez *Cassia angustifolia* (Agarwal et Pandey, 2004) et *Oryza sativa* (Lee et al., 2013). L'augmentation de l'activité de la catalase et de l'APX serait probablement un caractère permettant de tolérer les dommages causés par la salinité en réduisant la teneur toxique en H₂O₂ formé au cours du métabolisme cellulaire assurant ainsi une protection contre le stress oxydatif (Bor et al., 2003). La catalase présente une faible affinité (mM) pour le H₂O₂, mais son activité est indispensable en condition de forte production des ROS (Abdallah et al., 2016).

L'APX présente quant à elle une forte affinité (μ M) pour le H₂O₂, elle permet de réduire une accumulation excessive des ROS induite par le stress salin (Lu et al., 2007 ; Bonifacio et al., 2016).

CHAPITRE IV - DISCUSSION

Bien que les réponses des plantes aux stress abiotiques dépendent de divers facteurs, les phytohormones sont considérées comme les substances endogènes les plus importantes pour moduler les réponses physiologiques et moléculaires pour la survie des plantes (Fahad et al., 2015).

Selon Velitcukova et Fedina. (1998), les phytohormones sont considérées comme des substances endogènes importantes et souvent impliquées dans les mécanismes de tolérance ou de sensibilité des plantes. De ce fait, une des stratégies de défense des plantes face à une contrainte environnementale, telle que la salinité, est le changement des teneurs et des ratios des phytohormones endogènes.

Les CKs se présentent généralement à de fortes concentrations au niveau des régions méristématiques et des tissus en croissance. Elles sont synthétisées principalement au niveau des racines puis transportées vers la partie aérienne par le xylème, elles jouent un rôle clé dans la communication entre la racine et la partie aérienne (Dodd et al., 2004 ; Ko et al., 2014).

Dans notre étude, la salinité affecte les CKs actives en particulier la tZ, qui diminue au niveau des feuilles, comme déjà observé chez les plantes de tomates sous l'effet de la salinité (Albacete et al., 2008); cependant, aucun changement significatif n'a été observé au niveau des racines.

Les CKs favorisent la croissance de la partie aérienne mais inhibent la croissance racinaire (Thomas et al., 1995). Par contre, de faibles teneurs en CKs foliaires sous des conditions salines peuvent être à l'origine d'un ralentissement de la division cellulaire au niveau des feuilles (Werner et al., 2001). En effet, la concentration en CKs actives foliaires est positivement corrélée ($r = 0.078$) avec la masse sèche de la partie aérienne par contre elle est négativement corrélée ($r = -0.337$) avec la masse sèche racinaire, indiquant une fonction inverse au niveau des deux parties aérienne et souterraine sous l'effet de la salinité. L'inhibition de la croissance foliaire et la sénescence prématurée chez les plantes de tomate cultivées en présence de sel ont été déjà associées à une diminution des teneurs en CKs actives dans la racine et à l'augmentation des taux d'ABA et d'ACC au niveau des feuilles et des racines (Albacete et al., 2009).

Il est possible que les CKs soient impliquées dans la diminution de la tolérance à la salinité chez les plantes par une interaction antagoniste avec l'hormone de stress, l'acide

CHAPITRE IV - DISCUSSION

abscissique (Javid et al., 2011). En effet, nos résultats montrent une corrélation négative entre la teneur en CKs foliaires et la teneur en acide abscissique foliaire ($r = -0.540$).

L'AIA joue un rôle clé dans la régulation des processus de croissance chez les plantes, tels que l'élongation cellulaire et la dominance apicale (Wang et al., 2001). La salinité peut influencer la teneur en AIA par l'altération de son métabolisme et de sa distribution au sein de la plante (Shopfer et al., 2002).

Nos résultats montrent que la salinité ne provoque aucune modification significative de la teneur en AIA au niveau de la plante entière. D'après Ribaut et Pilet, (1994), une augmentation en AIA est corrélée avec une diminution de la croissance en condition de stress. Cependant, Sakhabutdinova et al. (2003) ont signalé un déclin progressif des niveaux d'AIA dans le système racinaire sous l'effet de la salinité.

D'après Du et al. (2013) la variation des niveaux d'auxine peut affecter la synthèse de l'ABA et le rapport auxine/ABA joue un rôle crucial dans les réponses aux divers stress.

L'éthylène est une phytohormone gazeuse qui intervient dans plusieurs phases de croissance et de développement des plantes, notamment la maturation des fruits, la sénescence des fleurs et l'abscission des feuilles et des pétales (Upreti et Sharma, 2016). C'est une substance très importante impliquée dans la signalisation lors de stress abiotiques (Wi et al., 2010). L'éthylène diminue la teneur en chlorophylles, la teneur en réserve d'amidon et de protéines et stimule un certain nombre d'enzymes hydrolytiques telles que les chlorophyllases, les pectinases et les cellulases (Ferrante et Francini, 2006). Son rôle dans la tolérance à la salinité a été déjà étudié par Khan et al. (2012) et Iqbal et al. (2013). Sous l'effet d'un stress salin, la production d'éthylène augmente chez les plantes (Morgan et Drew, 1997).

Nous avons observé une élévation de la teneur en ACC précurseur de l'éthylène au niveau des racines des plantes de fenugrec concomitante à une réduction de la croissance de ces dernières (racines). Nos résultats sont en accord avec ceux de Albacete et al. (2008) qui ont montré une augmentation de la concentration de l'ACC racinaire ayant comme conséquence l'inhibition de la croissance des racines des plantes de tomate sous l'effet d'une salinité modérée (100 mM).

CHAPITRE IV - DISCUSSION

D'après nos résultats, la teneur en ACC racinaire est corrélée négativement et de manière significative avec la surface foliaire ($r = -0.880^{**}$), le nombre de feuilles ($r = -0.848^{**}$) et l'élongation de la partie aérienne ($r = -0.805^{**}$).

Sous l'effet du stress salin, le rôle de l'éthylène est équivoque. Selon Pierik et al. (2006), l'éthylène est connu depuis longtemps comme un inhibiteur de croissance, mais il peut également la favoriser. Une faible teneur en éthylène peut être corrélée positivement à une tolérance au stress salin (El-Iklil et al., 2000); à l'opposé, une teneur élevée d'éthylène chez le riz est perçue comme un indicateur de tolérance au stress (Khan et al., 1987).

Des études antérieures ont suggéré que l'éthylène et l'ABA peuvent inhiber la croissance des racines (Vandenbussche et Van Der Straeten, 2007). Ainsi, l'éthylène et l'ABA semblent agir de manière synergique pour contrôler la croissance et le développement des plantes (Yin et al., 2015).

L'augmentation de la teneur en éthylène serait en corrélation avec l'accumulation des formes réactives d'oxygène (ROS) (Li et al., 2014). D'après Ghanem et al. (2008) l'augmentation des teneurs en ACC coïncident avec l'accumulation de Na^+ foliaire. Ces chercheurs ont suggéré que ces changements ont été corrélés avec l'apparition du stress oxydatif (accumulation de malondialdéhyde).

L'acide abscissique (ABA) est omniprésent chez les plantes inférieures et supérieures et participe aux processus de développement tout au long du cycle de vie des plantes (Javid et al., 2011). Cette hormone est considérée comme l'un des plus importants facteurs hormonaux permettant aux plantes de survivre aux conditions environnementales défavorables comme le stress salin (Keskin et al., 2010). L'accumulation d'acide abscissique sous stress salin est un processus de signalisation cellulaire, y compris la perception du signal initial du stress, la transduction du signal cellulaire et la régulation de l'expression des gènes codant pour les enzymes clés dans la biosynthèse et le catabolisme d'ABA (Zhang et al., 2006). Cette phytohormone inhibe certains processus tels que l'ouverture stomatique et l'expansion cellulaire afin d'assurer le développement de la plante en condition de stress (Waśkiewicz et al., 2016).

D'après nos résultats, la concentration en ABA foliaire augmente chez les plantes de fenugrec stressées avec le NaCl. Cette augmentation de l'ABA foliaire est négativement

CHAPITRE IV - DISCUSSION

corrélée avec la masse sèche de la partie aérienne ($r = -0,756^*$) et la masse sèche totale ($r = -0,626$) des plantes de fenugrec stressées. D'autres études antérieures ont aussi montré qu'une augmentation de la concentration endogène en ABA au niveau des feuilles de plantes stressées avec le sel telles *Brassica carinata* et *Brassica napus* (He et Cramer, 1996), *Phaseolus vulgaris* (Cabot et al., 2009) et *Zea mays* (Cramer et Quarrie, 2002) est fortement corrélée avec l'inhibition de la croissance.

Il est admis que l'ABA agit comme signal dans la fermeture des stomates (Jae-Ung et Youngsook, 2001). En condition de stress hydrique, l'ABA induit une augmentation des ions calcium du cytosol des cellules de garde provoquant ainsi la fermeture des canaux (K^+_i) du tonoplaste (Schroeder et al., 2001; Heller et al., 2004).

En effet, nos résultats montrent une corrélation négative entre la teneur en ABA foliaire et la conductance stomatique ($r = -0,558$) des plantes de fenugrec confrontées au stress salin. Nos résultats sont en accord avec ceux de Jeschke et al. (1997), qui ont observé une augmentation de la concentration en ABA au niveau des feuilles des plantes de ricin qui est corrélée avec la réduction de la conductance stomatique et en général avec l'inhibition de la croissance foliaire.

Outre la turgescence, la diminution de la croissance des plantes de fenugrec peut être la conséquence et d'une augmentation de la concentration en acide abscissique au niveau de la partie aérienne ou d'une réduction des cytokinines (Itai, 1999). Nos résultats montrent une corrélation négative entre la teneur en acide abscissique foliaire et les paramètres de croissance tels que la surface foliaire ($r = -0,806^{**}$), le nombre de feuilles ($r = -0,840^{**}$) et l'élongation de la partie aérienne ($r = -0,812^{**}$). Une diminution significative de la teneur en cytokinines foliaires est observée chez les plantes de fenugrec soumises au stress salin.

La réduction de la croissance des plantes sous l'effet de la sécheresse ou de la salinité peut être due, au moins en partie, à la baisse de la production des gibbérellines (Llanes et al., 2016). Ainsi, ces auteurs ont montré que les niveaux endogènes des AGs ont nettement diminué sous l'effet de la sécheresse, soit par inhibition de leur biosynthèse et/ou augmentation de leur dégradation.

En effet, nos résultats montrent une diminution de la teneur en AGs des plantes de fenugrec au niveau des feuilles et des racines, en particulier sous l'effet de la forte

CHAPITRE IV - DISCUSSION

concentration de sel (200 mM). La teneur en AGs foliaire est corrélée positivement avec les paramètres de croissance et de développement tels que la surface foliaire ($r= 0.777^*$), le nombre de feuilles ($r= 0.857^{**}$) et la longueur de la partie aérienne ($r= 0.808^{**}$). Cette diminution serait due à une accumulation des protéines DELLA, protéines impliquées dans le contrôle des voies de signalisation gibbérellines, qui réduisent la croissance des plantes pour permettre d'améliorer la tolérance au stress salin (Achard et al., 2008).

D'après nos résultats, une corrélation négative entre l'acide abscissique foliaire et l'acide gibbérellique foliaire ($r = -0.871^{**}$) est observée, ceci s'explique par la relation antagoniste qui existe entre les deux phytohormones.

Les jasmonates sont des molécules de signalisation jouant un rôle de transduction du signal sous l'effet d'un stress salin (Wasternack et al., 2014).

Nos résultats montrent qu'un traitement avec une concentration en sel de 200 mM induit une augmentation de la concentration en AJ au niveau des feuilles des plantes de fenugrec. Il a été démontré qu'une accumulation de l'acide jasmonique chez des cultivars de riz tolérants à la salinité peut être une protection efficace vis-à-vis d'une forte salinité (Kang et al., 2005).

D'après nos résultats la teneur en AJ foliaire est corrélée négativement avec les paramètres de croissance tels que la surface foliaire, le nombre de feuilles et la longueur de la partie aérienne. Cela est en contradiction avec les travaux de Tsonev et al. (1998), qui ont montré qu'un pré-traitement avec de l'AJ réduit l'effet inhibiteur des fortes concentrations de sel sur la croissance et la photosynthèse des plantes d'orge.

L'AS est une phytohormone de nature phénolique associée au stress biotique mais ces dernières années il y a eu de plus en plus de rapports sur la participation de l'AS dans les réponses des plantes aux stress abiotiques, dont la salinité (Hayat et al., 2010).

L'AS stimule une multitude de processus chez les plantes, comme l'assimilation et le transport des cations (Harper et Balke, 1981), l'activité photosynthétique et le taux de croissance (Khan et al., 2003). En outre, récemment, il a été montré qu'un traitement avec de l'AS exogène augmenterait la biomasse des plantes et du rendement en graines des plantes de

CHAPITRE IV - DISCUSSION

soja en atténuant les effets négatifs de la salinité (Farhangi-Abriz et Ghassemi-Golezani, 2018).

D'après nos résultats, un traitement avec une concentration de 100 mM de NaCl augmente la concentration en AS au niveau des feuilles des plantes de fenugrec alors qu'une concentration en sel de 200 mM ne l'affecte pas. Nos résultats montrent aussi que la teneur en AS foliaire n'est pas associée avec les paramètres de croissance de la partie aérienne.

*Conclusion générale et
perspectives*

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

En condition de salinité, les plantes mettent en place des mécanismes physiologiques et biochimiques afin de survivre aux dommages causés par le stress. Ces mécanismes concernent des modifications morphologiques et anatomique, le statut hydrique, la photosynthèse, le profil hormonal, la nutrition minérale, la distribution des ions toxiques et l'ajustement biochimique (telles que les réponses antioxydatives).

Le stress salin provoque une diminution de la croissance des plantes de fenugrec en particulier à 200 mM de NaCl. Cette diminution se manifeste par une réduction de la surface foliaire, du nombre de feuilles, de la biomasse et de l'élongation de la partie aérienne.

La salinité induit un stress physiologique chez les plantes de fenugrec qui provoque une diminution de la TRE. Face à l'effet osmotique provoqué par le sel, la conductance stomatique et le taux de transpiration diminuent aussi.

Les dommages causés par le stress mènent à une diminution du taux de chlorophylles totales et des caroténoïdes, cependant, le rapport Chla/Chlb reste inchangé.

La diminution de la conductance stomatique engendre une diminution de la teneur en sucres au niveau des feuilles traitées avec le sel, par contre, cette teneur augmente au niveau des racines sous l'effet d'une forte concentration en sel (200 mM NaCl).

L'effet négatif de la salinité sur les plantes de fenugrec se traduit par la peroxydation des lipides qui mène à la formation de MDA au niveau des feuilles ainsi qu'une fuite des électrolytes qui est le résultat d'une détérioration des membranes cellulaires ce qui confirme la formation de ROS (H_2O_2) au niveau des feuilles des plantes de fenugrec. Les plantes de fenugrec font face au stress oxydatif induit par le sel en augmentant les activités de la catalase et de l'ascorbate peroxydase.

La teneur en proline et en sucres solubles augmentent de manière significative au niveau des racines des plantes de fenugrec traitées. Cependant, cette teneur ne varie pas au niveau des feuilles. Cela laisse supposer que les plantes de fenugrec utiliseraient au niveau foliaire un autre type d'osmolyte tel que la glycine bêtaïne pour faire face au stress osmotique engendré par le stress salin.

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

Sous l'effet de la contrainte saline, les plantes de fenugrec utilisent simultanément la stratégie des plantes excluders et includers en accumulant le sel de manière équivalente entre les racines et les feuilles.

La salinité diminue globalement tous les macro et micronutriments des plantes de fenugrec. Cette déficience nutritionnelle serait à l'origine d'une compétition qui s'exerce entre les nutriments et le Na⁺ et le Cl⁻. En effet, le sodium s'accumule fortement au niveau des feuilles et des racines des plantes traitées avec le sel.

L'analyse des teneurs en phytohormones de la partie aérienne et de la partie souterraine des plantes de fenugrec traitées avec le sel, a révélé une modification du profil hormonal en relation avec les paramètres de croissance.

Le déclin des teneurs en CKs actives et des gibbérellines chez les plantes traitées est associé à une réduction de la croissance de la partie aérienne, alors qu'une accumulation de tZ et de l'ACC au niveau racinaire induit une inhibition de la croissance des racines sous l'effet de la forte concentration en sel.

L'ABA foliaire augmente sous l'effet de la salinité limitant ainsi la transpiration par la fermeture des stomates pour permettre aux plantes stressées de préserver une turgescence cellulaire adéquate.

La diminution de la croissance des plantes de fenugrec confrontées au stress salin est due à une augmentation de la teneur en ABA foliaire et à une diminution de la teneur en gibbérellines. Ces deux phytohormones présentent une relation antagoniste.

Les modifications des teneurs en acide jasmonique et acide salicylique ne montrent pas de corrélation importante avec les paramètres de croissance suggérant un rôle mineur de ces hormones dans la réponse des plantes de fenugrec à la salinité.

Le seuil de tolérance d'une plante à la salinité est principalement déterminé par sa capacité à maintenir sa croissance et son développement sous l'effet des conditions salines (Al-Saady et al., 2012). Dans nos conditions expérimentales, la salinité induit de légères modifications morphologiques et physiologiques chez les plantes de fenugrec. Ces modifications n'ont pas une grande incidence sur le métabolisme du fenugrec. Les plantes de fenugrec arrivent à maintenir une stabilité grâce à un remaniement de leur profil hormonal.

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

Dans le but de mieux comprendre les mécanismes mis en place par les plantes de fenugrec en conditions de stress salin, il est souhaitable :

- D'étudier le comportement des plantes de fenugrec sous l'effet de plus fortes concentrations en sel.
- De procéder à une étude histologique et anatomique.
- D'étudier l'incidence du stress salin sur le métabolisme secondaire des plantes de fenugrec.
- De mesurer d'autres osmoprotecteurs tels que la glycine bêtaïne et les polyols.
- D'étudier les transporteurs impliqués dans le transport/exclusion du sodium.
- Etudier l'aspect moléculaire des transporteurs membranaires.

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

- Abdallah** M.S., Abdelgawad Z.A., El-Bassiouny H.M.S. (2016). Alleviation of the adverse effects of salinity stress using trehalose in two rice varieties. *South African Journal of Botany.*, 103 : 275-282.
- Abeles** F.B., Morgan P.W., Saltveit M.E.J. (1992). Ethylene in Plant Biology. *Academic Press*, San Diego, CA.
- Abu Hammad** A., Tumeizi A. (2012). Land degradation : socioeconomic and environmental causes and consequences in the eastern Mediterranean. *Land Degradation and development.*, 23(3): 216-226.
- Achard** P., Cheng H., De Grauwe L., Decat J., Schoutteten H., Moritz T., Van Der Straeten D., Peng J., Harberd N.P. (2006). Integration of plant responses to environmentally activated phytohormonal signals. *Science.*, 3(11): 91-94.
- Achard** P., Renou J.P., Berthome R., Harberd N.P., Genschik P. (2008). Plant DELLAs restrain growth and promote survival of adversity by reducing the levels of reactive oxygen species. *Current Biology.*, 18: 656-660.
- Acharya** S.N., Thomas J.E., Prasad R., Basu S.K. (2010). Diseases of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) and control measures with special emphasis on fungal disease. In : Arya A.P., Perello A.E. (eds.) Management of fungal pathogens: Current trends and progress. CABI, Newsworthy Way, Wallingford, Oxon, UK, Chapter 19. pp: 245-262.
- Addicott** F.T. (1963). On the physiology of abscisic acid. In: «Régulateurs naturels de la croissance végétale». Coll. Int. C.N.R.S., n° 123. Gif sur-Yvette, 687-703.
- Aebi** H., Sutter H. (1971). A catalasemia. *Advances in Human Genetics.*, 2:143-199.
- Agarwal** S., Pandey V. (2004). Antioxidant enzyme responses to NaCl stress in *Cassia angustifolia*. *Biologia Plantarum.*, 48: 555-560.
- Albacete** A., Cantero-Navarro E., Großkinsky D., Arias C., Balibrea M., Bru R., Fragner L., Ghanem M., González M., Hernández J., Martínez-Andújar C., van der Graaff E., Weckwerth W., Zellnig G., Pérez-Alfocea F., Roitsch T. (2015). Ectopic overexpression of the cell wall invertase gene CIN1 leads to dehydration avoidance in tomato. *Journal of Experimental Botany.*, 66: 863-878.
- Albacete** A., Ghanem M.E., Martínez-Andújar C., Acosta M., Sánchez-Bravo J., Martínez V., et al. (2008). Hormonal changes in relation to biomass partitioning and shoot growth impairment in salinized tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants. *Journal of Experimental Botany.*, 59: 4119-4131.
- Albacete** A., Martínez-Andújar C., Ghanem M.E., Acosta M., Sánchez-Bravo J., Asins M.J., Cuartero J., Dodd I.C., Pérez-Alfocea F. (2009). Rootstock-mediated changes in xylem ionic and hormonal status are correlated with delayed leaf senescence and increased leaf area and crop productivity in salinized tomato. *Plant Cell and Environment.*, 32: 928-938.
- Alia** P., Saradhi P. (1991). Proline accumulation under heavy metal stress. *Journal of Plant Physiology.*, 138: 554-558.

Références bibliographiques

- Al-Saady** N.A., Khan A.J., Rajesh L., Esechie H.A. (2012). Effect of salt stress on germination, proline metabolism and chlorophyll content of fenugreek (*Trigonella foenum graecum* L.). *Journal of Plant Sciences.*, 7: 176-185.
- Alvarez** S., Sanchez-Blanco M.J. (2015). Comparison of individual and combined effects of salinity and deficit irrigation on physiological, nutritional and ornamental aspect of tolerance in *Callistemon laevis* plants. *Journal of Plant Physiology.*, 185: 65-74.
- Anjum** S.A., Wang L., Farooq M., Khan I., Xue L. (2011). Methyl jasmonate-induced alteration in lipid peroxidation, antioxidative defence system and yield in soybean under drought. *Journal of Agronomy and Crop Science.*, 197: 296-301.
- Apse** M.P., Aharon G.S., Snedden W.A., Blumwald E. (1999). Salt tolerance conferred by overexpression of a vacuolar Na⁺/H⁺ antiport in *Arabidopsis*. *Science.*, 285: 1256-1258.
- Asada** K. (1999). The water-water cycle in chloroplasts: Scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology.*, 50: 601-639
- Asada** K. (2006). Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions. *Plant Physiology.*, 141: 391-396
- Ashraf** M., Foulad M.R. (2007). Role of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany.*, 59: 206-216.
- Ashraf** M., Harris P.J.C. (2004). Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. *Plant Science.*, 166(1): 3-16.
- Ashraf** M., McNeilly T. (2004). Salinity tolerance in Brassica oil seeds. *Reviews in Plant Sciences.*, 23(2): 157-174.
- Assadi** A.M. (2009). Investigation of salinity stress on seed germination of *Trigonella foenum graecum*. *Research Journal of Biological Sciences.*, 4(11): 1152-1155.
- Babar** S., Sidiqi E.H., Hussain I., Hayat Bhatti K., Rasheed R. (2014). Mitigating the effects of salinity by foliar application of salicylic acid in fenugreek. *Physiology Journal.*, 2014: 6.
- Banu** N.A., Hoque A., Watanabe-Sugimoto M., Matsuoka K., Nakamura Y., Shimoishi Y., Murata Y. (2009). Proline and glycine betaine induce antioxidant defense gene expression and suppress cell death in cultured tobacco cells under salt stress. *Journal of Plant Physiology.*, 166: 146-156.
- Bartel** B. (1997). Auxin biosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology.*, 48: 51-66
- Basu** S.K., Zandi P., Cetzal-Ix W. (2019). Fenugreek (*Trigonella foenum graecum*L.): Distribution, genetic diversity, and potential to serve as an industrial crop for the global pharmaceutical, nutraceutical, and functional food industries. *The Role of Functional Food Security in Global Health.*, 471-497.

Références bibliographiques

- Bates L.S.**, Waldren R.P., Teare I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil.*, 39 (1): 205-207.
- Ben Rejeb K.**, Abdelly C., Savouré A. (2014). How reactive oxygen species and proline face stress together. *Plant Physiology and Biochemistry.*, 80: 278-284.
- Benzellat B.** (2011). Contribution à l'amélioration des rendements des plantes cultivées en sols salés. Mémoire de Magister, université de Tlemcen. p. 170.
- Bernstein L.** (1975). Effects of Salinity and Sodidity on Plant Growth. *Annual Review of Phytopathology.*, 13: 295-312.
- Blackman S.A.**, Obendorf R.L., Leopold A.C. (1992). Maturation Proteins and Sugars in Desiccation Tolerance of Developing Soybean Seeds. *Plant physiology.*, 100 (1): 225-230.
- Blokhina O.**, Virolainen E., Fagerstedt K.V. (2003). Antioxydants, oxidative damage and oxygen deprivation stress : A review. *Annals of Botany.*, 91: 179-194.
- Bohnert H.J.**, Shen B. (1999). Transformation and compatible solutes. *Scientia Horticulturae.*, 78: 237-260.
- Bonifacio A.**, Carvalho F.E., Martins M.O., Neto M.C.L., Cunha J.R., Ribeiro C.W., et al. (2016). Silenced rice in both cytosolic ascorbate peroxidases displays pre-acclimation to cope with oxidative stress induced by 3-aminotriazole-inhibited catalase. *Journal of Plant Physiology.*, 201: 17-27.
- Bor M.**, Özdemir F., Türkan I. (2003). The effect of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in leaves of sugar beet *Beta vulgaris* L. and wild beet *Beta maritima* L. *Plant Science.*, 164: 77-84.
- Bowler C.**, Alliotte T., De Loose M., Van Montagu M., Inze D. (1989). The induction of manganese superoxide dismutase in response to stress in *Nicotiana plumbaginifolia*. *The EMBO Journal.*, 8: 31-38
- Boyer J.S.** (1970). Leaf enlargement and metabolic rates in corn, bean and sunflower at various leaf water potential. *Plant Physiology.*, 46: 233-235
- Bradford M.M.** (1976). A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry.*, 72: 248-254.
- Buege J.A.**, Aust S.D. (1978). Microsomal lipid peroxidation. *Methods in Enzymology.*, 50: 302-310.
- Byrt S.C.**, Munns R., Burton R.A., Gilliam M., Wege S. (2018). Root cell wall solutions for crop plants in saline soils. *Plant Science.*, 269: 47-55.
- Cabot C.**, Sibole J.V., Barcelo J., Poschenrieder C. (2009). Abscisic acid decreases leaf Na⁺ exclusion in salt treated *Phaseolus vulgaris* L. *Journal of Plant Growth Regulation.*, 28: 187-192.

Références bibliographiques

- Cassaniti C.**, Romano D., Flowers T.J. (2012). The response of ornamental plants to saline irrigation water. In *Irrigation Water Management, Pollution and Alternative Strategies*; Garcia-Garizabal I. Ed InTech Europe : Rijeka, Croatia. 132-158.
- Chakrabarti N.**, Mukherji S. (2003). Alleviation of NaCl stress by pretreatment with phytohormones in *Vigna radiata*. *Biologia Plantarum.*, 46: 589-594.
- Chari M.M.**, Nemati F., Afrasiad P., Davari A. (2012). Prediction of evaporation from shallow water table using regression and artificial neural networks. *The Journal of Agricultural Science.*, 5: 168.
- Cha-Um S.**, Kirdmanee C. (2009). Effect of salt stress on proline accumulation, photosynthetic ability and growth characters in two maize cultivars. *Pakistan Journal of Botany.*, 41 (1): 87-98.
- Chaves M.M.**, Flexas J., Pinheiro C. (2009). Photosynthesis under drought and salt stress : regulation mechanisms from whole plant to cell. *Annals of Botany.*, 103: 551-560.
- Chen Z.H.**, Zhou M.X., Newman I.A., Mendham N.J., Zhang G.P., Shabala S. (2007). Potassium and sodium relations in salinised barley tissues as a basis of differential salt tolerance. *Functional Plant Biology.*, 34: 150-162.
- Cheong J.J.**, Choi Y.D. (2003). Methyl jasmonate as a vital substance in plants. *Trends in genetics.*, 19: 409-413.
- Clarke M.J.**, McCaig T.N. (1982). Evaluation of Techniques for Screening for Drought Resistance in Wheat. *Crop Science.*, 22(3): 503-506.
- Colebrook E.H.**, Thomas G., Phillips A.L., Hedden P. (2014). The role of gibberellin signalling in plant responses to abiotic stress. *Journal of Experimental Biology.*, 217: 67-75.
- Cramer G.R.**, Quarrie S.A. (2002). Abscisic acid is correlated with the leaf growth inhibition of four genotypes of maize differing in their responses to salinity. *Functional Plant Biology.*, 29: 111-115.
- Creelman R.A.**, Mullet J.E. (1997). Biosynthesis and action of jasmonates in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology.*, 48: 55-81.
- Cutt J.R.**, Klessig D.F. (1992). Pathogenesis-related proteins. Genes Involved in Plant Defense. Springer, Vienna, pp. 209-243.
- Dangi R.S.**, Lagu M.D., Choudhary L.B., Ranjekar P.K., Gupta V.S. (2004). Assessment of genetic diversity in *Trigonella foenum-graecum* and *Trigonella caerulea* using ISSR and RAPD markers. *BMC Plant Biology.*, 4: 13.
- Daviere J.M.**, Achard P. (2013). Gibberellin signaling in plants. *Development.*, 140: 1147-1151

Références bibliographiques

- Davies M.J.** (2004). Markers of protein oxidation : Different oxidants give rise to variable yields of bound and released carbonyl products. *Free Radical Biology and Medicine.*, 36: 1175-1184.
- De Candolle A.** (1964). Origin of cultivated Plants. New York : Hafner. 468 p.
- Del Rio L.A., Sandalio L.M., Corpas F.J., Palma J.M., Barroso J.B.** (2006). Reactive oxygen species and reactive nitrogen species in peroxisomes. Production, scavenging, and role in cell signaling. *Plant Physiology.*, 141: 330-335.
- Demmig B., Winter K., Kruger A., Czygan F.C.** (1987). Photoinhibition and zeaxanthin formation in intact leaves: a possible role of the xanthophyll cycle in the dissipation of excess light energy. *Plant Physiology.*, 84 (2): 218-224.
- Demole E., Lederer E., Mercier D.** (1962). Isolement et détermination de la structure du Jasmonate de Méthyle, constituant odorant caractéristique de l'essence de jasmin. *Helvetica Chimica Acta.*, 45: 675-685.
- Desikan R., Hancock J.T., Bright J., et al.** (2005). A role for ETR1 in hydrogen peroxide signaling in stomatal guard cells. *Plant Physiology.*, 137: 831-834.
- Dietz K.J., Tavakoli N., Kluge C., et al.** (2001). Significance of the Vtype ATPase for the adaptation to stressful growth conditions and its regulation on the molecular and biochemical level. *Journal of Experimental Botany.*, 52 (363): 1969-1980.
- Dionisio-Sese M.L., Tobita S.** (1998). Antioxidant responses of rice seedlings to salinity stress. *Plant Science.*, 13 (1): 1-9.
- Djebbar R.** (2012). Effet du stress hydrique sur le métabolisme cellulaire de plantes de tabac sauvage (*Nicotiana sylvestris*) et d'un mutant mitochondrial (CMSII). Thèse Doctorat. 155p.
- Dodd I.C.** (2005). Root-to-shoot signaling : Assessing the roles of 'up' in the up and down world of long-distance signalling in planta. *Plant and Soil.*, 74: 257-275.
- Dodd I.C., Ngo C., Turnbull C.G.N., Beveridge C.A.** (2004). Effects of nitrogen supply on xylem cytokinin delivery, transpiration and leaf expansion of pea genotypes differing in xylem-cytokinin concentration. *Functional Plant Biology.*, 31: 903-911.
- Dogan M., Tipirdamaz R., Demir Y.** (2010). Salt resistance of tomato species grown in sand culture. *Plant Soil and Environment.*, 56: 499-507.
- Dorey S., Baillieul F., Saindrenan P., Fritige B., Kaufmann S.** (1998). Tobacco class I and II catalases are differentially expressed during elicitor-induced hypersensitive cell death and localized acquired resistance. *Molecular Plant-Microbe Interactions.*, 11: 1102-1109.
- Douaoui A., Hartani T.** (2007). Impact de l'irrigation par les eaux souterraines sur la dégradation des sols de la plaine du Bas-Chéliff. Economies d'eau en système irrigués au Maghreb. Actes du troisième atelier régional du projet Sirma, 5p.

Références bibliographiques

- Droillard M.J.**, Paulin A. (1990). Isozymes of superoxide-dismutase in mitochondria and peroxisomes isolated from petals of carnation (*Dianthus caryophyllus*) during senescence. *Plant Physiology.*, 94: 1187-1192
- Du H.**, Liu H., Xiong L. (2013). Endogenous auxin and jasmonic acid levels are differentially modulated by abiotic stresses in rice. *Frontier in Plant Science.*, 4: 397.
- Duarte B.**, Santos D., Marques J.C., Caçador I. (2013). Ecophysiological adaptations of two halophytes to salt stress : Photosynthesis, PS II photochemistry and antioxidant feedback-implications for resilience in climate change. *Plant Physiology and Biochemistry.*, 67: 178-188.
- Dubey R.S.**, Singh A.K. (1999). Salinity induces accumulation of soluble sugars and alters the activity of sugar metabolising enzymes in rice plants. *Biologia Plantarum.*, 42: 233-239.
- Dunlap J.**, Binzel M. (1996). NaCl reduces indole-3-acetic acid levels in the roots of tomato plants independent of stress-induced abscisic acid. *Plant Physiology.*, 112: 379-384
- Durand J.H.** (1958). Les sols irrigables. Etude pédologique. Eds. Imbert, Alger, p190.
- Eckelmann W.**, Baritz R., Bialousz S., Bielek P., Carré F., Houšková B., Jones R.J.A., Kibblewhite M., Kozak J., Bas C.L., Tóth G., Várallyay G., Halla M.Y., Zupan M. (2006). Common criteria for risk area identification according to soil threats. *European Soil Bureau Research Report No.20*, EUR 22185 EN. Office for official publications of the European Communities, Luxembourg.
- El-Iklil Y.**, Karrou M., Benichou M. (2000). Salt stress effect on epinasty in relation to ethylene production and water relations in tomato. *Agronomie.*, 20: 399-406.
- El-Iklil Y.**, Karrou M., Mrabet R., Benichou M. (2002). Effet du stress salin sur la variation de certains métabolites chez *Lycopersicon esculentum* et *Lycopersicon sheesma* Eanii. *Canadian Journal of Plant Science.*, 82: 177-183.
- Elstner E.F.** (1987). Metabolism of activated oxygen species. In : Davies D.D. (Ed.) The Biochemistry of plants. Vol. II. Biochemistry of Metabolism. *Academic Press*. Sann Diego, CA. pp : 252-315.
- Elstner E.F.** (1991). Mechanism of oxygen activation in different compartments. In: Pell E.J., Steffen K.L. (Eds.), Active Oxygen/Oxidative Stress and Plant Metabolism. *American Society of Plant Physiologists.*, Roseville, pp. 13-25.
- Enstone D.E.**, Peterson C.A. (1992). The apoplastic permeability of root apices. *Canadian Journal of Botany.*, 70: 1502-1512.
- Enstone J.E.**, Peterson C.A., Ma F.S. (2003). Root endodermis and exodermis : structure, function, and responses to the environment. *Journal of Plant Growth Regulation.*, 21: 335-351.

Références bibliographiques

- Evans** M.C.W., Nugent J.H.A., Ball R.J., Muhiuddin I., Pace R.J. (2004). Evidence for a direct manganese-oxygen ligand in water binding to the S-2 state of the photosynthetic water oxidation complex. *Biochemistry.*, 43: 989-994.
- Fahad** S., Hussain S., Matloob A., Khan F.A., Khaliq A., Saud S. *et al.* (2015). Phytohormones and plant responses to salinity stress : A review. *Plant Growth Regulation.*, 75: 391-404.
- Fan** X., Pedroli B., Liu G., Liu Q., Liu H., Shu L. (2012). Soil salinity development in the yellow river delta in relation to groundwater dynamics. *Land Degradation Development.*, 23: 175-189.
- Fang** T.K., Donaldson R.P., Vigil E.L. (1987). Electron-transport in purified glyoxysomal membranes from castor-bean endosperm. *Planta.*, 172: 1-13.
- FAO**, 2009. The state of food and agriculture. Rome, Italy.
- Farahmandfar** E., Bagheri Shirvan M., Azimi Sooran S., Hoseinzadeh D. (2013). Effect of seed priming on morphological and physiological parameters of fenugreek seedlings under salt stress. *International Journal of Agriculture and Crop Science.* 5(8): 811-815.
- Farhangi-Abriz** S., Ghassemi-Golezani K. (2018). How can salicylic acid and jasmonic acid mitigate salt toxicity in soybean plants? *Ecotoxicology Environmental Safety.*, 147: 1010-1016.
- Farmer** E.E., Mueller M.J. (2013). ROS-mediated lipid peroxidation and RES-activated signaling. *Annual Review of Plant Biology.*, 64: 429-450.
- Farooq** M., Basra S.M.A., Wahid A., Cheema Z.A., Cheema M.A., Khaliq A. (2008). Physiological role of exogenously applied glycinebetaine to improve drought tolerance in fine grain aromatic rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Agronomy Crop Science.*, 194: 325-333.
- Farooq** M.A., Li L., Ali B., Gill R.A., Wang J., Ali S., et al. (2015). Oxidative injury and antioxidant enzymes regulation in arsenic-exposed seedlings of four *Brassica napus* L. cultivars. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 22: 10699-10712.
- Favier** A. (2003). Le stress oxydant. *L'Actualité chimique.*, 108-115.
- Fazli** F.R.Y., Hardman R. (1968). The spice, fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.): Its commercial varieties of seed as a source of diosgenin. *Tropical Science.*, 10: 66-78.
- Ferrante** A., Francini A. (2006). Ethylene and leaf senescence. In: Ethylene action in plants. (eds) by Khan N.A. Springer- Verlag Berlin Heidelberg. pp, 51-67.
- Foyer** C.H. (1996). Oxygen processing in photosynthesis. *Biochemical Society Transactions.*, 24: 427-433.
- Foyer** C.H., (2005). Oxidant and antioxidant signalling in plants : a re-evaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context. *Plant Cell and Environment.*, 28 (8): 1056-1071.

Références bibliographiques

- Foyer C.H.**, Noctor G. (2005). Redox homeostasis and antioxidant signaling: a metabolic interface between stress perception and physiological responses. *Plant Cell.*, 17: 1866-1875.
- Fridovich I.** (1986). Biological effects of the superoxide radical. *Archives of Biochemistry and Biophysics.*, 247: 1-11.
- Garcia A.**, Rizzo C.A., Ud-Din J., Bartos S.L., Senadhira D., Flowers T.J., Yeo A.R. (1997). Sodium and potassium transport to the xylem are inherited independently in rice, and the mechanism of sodium : potassium selectivity differs between rice and wheat. *Plant Cell and Environment.*, 20: 1167-1174.
- Garthwaite A.J.**, von Bothmer R., Colmer T.D. (2005). Salt tolerance in wild *Hordeum* species is associated with restricted entry of Na⁺ and Cl⁻ into the shoots. *Journal of Experimental Botany.*, 56: 2365-2378.
- Gaspar T.H.**, Kevers C., Faivre-Rampant O., Crèvecoeur M., Penel C., Greppin H., Dommes J. (2003). Changing concepts in plant hormone action. *In Vitro Cellular and Development Biology Plant.*, 39: 85-106.
- Gaxiola R.A.**, Rao R., Sherman A., Grisafi P., Alper S.L., Fink G.R. (1999). The *Arabidopsis thaliana* proton transporters, AtNhx1 and Avp1, can function in cation detoxification in yeast. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA.*, 96: 1480-1485.
- George E.F.**, Hall M.A., De Klerk G-J. (2007). Plant Growth Regulators III : Gibberellins, Ethylene, Abscisic Acid, their Analogues and Inhibitors; Miscellaneous Compounds. In book Plant Propagation by Tissue Culture: Volume 1. The Background (pp.227-281).
- Ghanem M.E.**, Albacete A., Martínez-Andújar C., Acosta M., Romero-Aranda R., Dodd I.C., Lutts S., Pérez-Alfocea F. (2008). Hormonal changes during salinity-induced leaf senescence in tomato (*Solanum lycopersicum*L.). *Journal of Experimental Botany.*, 59: 3039-3050.
- Ghassemi-Golezani K.**, Hosseinzadeh-Mahootchi A., (2015). Improving physiological performance of safflower under salt stress by application of salicylic acid and jasmonic acid. *WALIA.*, 31: 104-109.
- Ghedira K.**, Goetz P., Le Jeune R. (2010). Fenugrec : *Trigonella foenum-graecum* L. (Fabaceae ex. Leguminosae). *Phytothérapie.*, 8(3): 180-184.
- Gill S.S.**, Tuteja N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry.*, 48: 909-930.
- Glenn E.P.**, Brown J.J., Blumwald E. (1999). Salt tolerance and crop potential of halophytes. *Critical Reviews in Plant Sciences.*, 18:227-255.
- Gomez J.M.**, Hernandez J.A., Jimenez A., del Rio L.A., Sevilla F. (1999). Differential response of antioxidative enzymes of chloroplasts and mitochondria to long-term NaCl stress of pea plants. *Free Radical Research.*, 31: 11-18.
- Gorham J.**, Jones R.G.W., McDonnell E. (1985). Some mechanisms of salt tolerance in crop plants. *Plant and Soil.*, 89: 15-40.

Références bibliographiques

- Granier C.**, Inzé D., Tardieu F. (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. *Plant Physiology*, 124: 1393-1402.
- Greenway H.**, Munns R. (1980). Mechanisms of salt tolerance in nonhalophytes. *Annual Review of Plant Physiology*, 31: 149-190.
- Grime J.P.** (1977). Evidence for the existence of three primary strategies in plants and its relevance to ecological and evolutionary theory. *The American Naturalist*, 111(7): 1169-1194.
- Groden D.**, Beck E. (1979). H₂O₂ destruction by ascorbate-dependent systems from chloroplasts. *Biochimica et Biophysica Acta*, 546: 426-435.
- Guo Y.**, Qiu Q.S., Quintero F.J., et al. (2004). Transgenic Evaluation of Activated Mutant Alleles of SOS2 Reveals a Critical Requirement for Its Kinase Activity and C-Terminal Regulatory Domain for Salt Tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell*, 16 (2): 435-449.
- Gupta B.**, Bingru H. (2014). Mechanism of salinity tolerance in plants : Physiological, biochemical, and molecular characterization. *International Journal of Genomics*, 18 p.
- Hafsi C.**, Falleh H., Saada M., Ksouri R., Abdelly C. (2017). Potassium deficiency alters growth performance, secondary metabolites content, and related antioxidant capacity in *Sulla carnosa* grown under moderate salinity. *Plant Physiology and Biochemistry*, 118: 609-617.
- Halliwell B.**, Gutteridge J.M.C. (1985). Free Radicals in Biology and Medicine. *Clarendon Press*, Oxford.
- Halliwell B.** (2006). Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiology*, 141: 312-322.
- Halliwell B.**, Gutteridge J.M.C. (1999). Free radicals in biology and medicine. Oxford University Press, Oxford.
- Haouala F.**, Ferdjani H., Ben El Hadj S. (2006). Effet de la salinité sur la répartition des cations (Na⁺, K⁺ et Ca²⁺) et du chlore (Cl⁻) dans les parties aériennes et les racines du ray-grass anglais et du chiendent. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 11(13): 235-244.
- Hare P.D.**, Cress W.A., Van Staden J. (1998). Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress. *Plant Cell Environment*, 21: 535-553.
- Harper J.R.**, Balke., N.E. (1981). Characterization of the inhibition of K⁺ absorption in oat roots by salicylic acid. *Plant Physiology*, 68: 1349-1353.
- Hasegawa P.M.** (2013). Sodium (Na⁺) homeostasis and salt tolerance of plants. *Environmental and Experimental Botany*, 92: 19-31.

Références bibliographiques

- Hasegawa P.M.**, Bressan R.A., Zhu J.K., Bohnert H.J. (2000). Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annual Review of Plant Physiology and Molecular Biology*, 51(1): 463-499.
- Hasni I.**, Ben Ahmed H., Bizid E., Raies A., Samson G., Zid E. (2009). Physiological characteristics of salt tolerance in Fenugreek (*Trigonella foenum graecum* L.). The *Proceedings of the International Plant Nutrition Colloquium XVI.*, UC Davis., Departement of Plant Sciences, UC Davies.
- Hauser F.**, Horie T. (2010). A conserved primary salt tolerance mechanism mediated by HKT transporters: a mechanism for sodium exclusion and maintenance of high K^+/Na^+ ratio in leaves during salinity stress. *Plant Cell Environment*, 33: 552-565.
- Hayat S.**, Mori M., Fariduddin Q., Bajguz A., Ahmad A. (2010). Physiological role of brassinosteroids: an update. *Indian Journal of Plant Physiology*, 15: 99-109.
- He T.**, Cramer G.R. (1996). Abscisic acid concentrations are correlated with leaf area reductions in two salt-stressed rapid cycling *Brassica* species. *Plant and Soil*, 179: 25-33.
- Heath R.L.**, Packer L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplast I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 125: 189-198.
- Heller R.**, Esnault R., Lance C. (2000). Physiologie végétale. Tome 1. Nutrition. Paris : DUNOD, 323p. ISBN : 2-10, 48-70.
- Heller R.**, Esnault R., Lance C. (2004). Physiologie végétale. Tome 2. Développement. Eds Dunod.
- Herández J.A.**, Almansa M.S. (2002). Short-term effects of salt stress on antioxidant systems and leaf water relations of pea plants. *Physiologia Plantarum*, 115: 251-257.
- Hernandez J.A.**, Delrio L.A., Sevilla F. (1994). Salt stress-induced changes in superoxide dismutase isozymes in leaves and mesophyll protoplasts from *Vigna unguiculata* (L) walp. *New Phytologist*, 126: 37-44.
- Hernandez J.A.**, Jimenez A., Mullineaux P., Sevilla F. (2000). Tolerance of pea (*Pisum sativum* L.) to long-term salt stress is associated with induction of antioxidant defences. *Plant Cell Environment*, 23: 853-862.
- Heyser J.W.**, DeBruin D., Kincaid M., Johnson R.Y., Rodriguez M.M., Robinson N.J. (1989). Characterisation of L[513C] –proline biosynthesis in halophytic and non halophytic suspension cultures by 13 CNMR. *Journal of Plant Physiology*, 135(4): 459-466.
- Hillel D.** (2005). Salinity; Management. In: Hillel D., Hatfield J.H., Powlson D.S., Rosenzweig C., Scow K.M., Singer M.J., Sparks D.L. (Eds.) *Encyclopedia of Soils in the Environment*. London: Elsevier/Academic Press. p.435-442.
- Hocq L.**, Pelloux J., Lefebvre V. (2017). Connecting homogalacturonan-type pectin remodeling to acid growth. *Trends in Plant Science*, 22: 20–29.

Références bibliographiques

- Horie T.**, Karahara I., Katsuhara M. (2012). Salinity tolerance mechanisms in glycophytes : An overview with the central focus on rice plants. *Rice.*, 5: 11.
- Hsiao T.C.**, Xu L.K. (2000). Sensitivity of growth of roots versus leaves to water stress : Biophysical analysis and relation to water transport. *Journal of Experimental Botany.*, 51: 1595-1616.
- Hu Y.**, Schmidhalter U. (2004). Limitation of salt stress to plant growth. In: Hoch B., Elstner EF (Eds.), *Plant Toxicology*. New York, NY: Marcel Dekker, pp. 191-224.
- Iqbal N.**, Trivellini A., Masood A., Ferrante A., Khan N.A. (2013). Current understanding on ethylene signaling in plants: the influence of nutrient availability. *Plant Physiol and Biochemistry.*, 73: 128-138.
- Iqbal N.**, Umar S., Nazar R. (2014). Manipulating osmolytes for breeding salinity-tolerant plants. In: *Emerging technologies and Management of crop stress tolerance. Vol. 2 : A sustainable Approach. Academic Press.*, 385-404.
- Ishitani M.**, Liu J., Halfter U., Kim C.S., Shi W., Zhu J.K. (2000). SOS3 function in plant salt tolerance requires N-myristoylation and calcium binding. *Plant Cell.*, 12 (9): 1667-1677.
- Itai C.** (1999). Role of phytohormones in plant responses to stresses. In: Lerner H.R (eds) *Plant responses to environmental stresses. From phytohormones to genome reorganization.* Marcel Dekker, New York-Basel. pp. 287-301.
- Ivanov B.**, Khorobrykh S. (2003). Participation of photosynthetic electron transport in production and scavenging of reactive oxygen species. *Antioxidants & Redox Signaling.*, 5: 43-53.
- Jae-Ung H.**, Youngsook L. (2001). Abscisic acid-induced actin reorganization in guard cells of day flower is mediated by cytosolic calcium levels and by protein kinase and protein phosphatase activities. *Plant Physiology.*, 125: 2120-2128.
- Jajic I.**, Sarna T., Strzalka K. (2015). Senescence, Stress, and Reactive Oxygen Species. *Plants.* 4(3): 393-411.
- Javid M.G.**, Sorooshzadeh A., Moradi F., Sanavy S.A.M.M., Allahdadi I. (2011). The role of phytohormones in alleviating salt stress in crop plants. *Australian Journal Crop Science.*, 5 (6) : 726-734.
- Jeschke W.D.** (1984). K^+ - Na^+ Exchange at cellular membranes, intracellular compartmentation of cations, and salt tolerance. Salinity tolerance in plant. *Strategies of crop improvement. Wiley-interscience publication*, New York, pp 33-76.
- Jeschke W.D.**, Peuke A.D., Pate J.S., Hartung W. (1997). Transport, synthesis and catabolism of abscisic acid (ABA) in intact plants of castor bean (*Ricinus communis* L.) under phosphate deficiency and moderate salinity. *Journal of Experimental Botany.*, 48: 1737-1747.
- Jia W.**, Wang Y., Zhang S., Zhang J. (2002). Salt -stress-induced ABA accumulation is more sensitively triggered in roots than in shoots. *Journal of Experimental Botany.*, 53: 2201-2206.

Références bibliographiques

- Kang D.J.**, Seo Y.J., Lee J.D., Ishii R., Kim K.U., Shin D.H., Park S.K., Jang S.W., Lee I.J. (2005). Jasmonic acid differentially affects growth, ion uptake and abscisic acid concentration in salt-tolerant and salt-sensitive rice cultivars. *Journal of Agronomy and Crop Science.*, 191: 273-282.
- Karahara I.**, Ikeda A., Kondo T., Uetake Y. (2004). Development of the Casparian strip in primary roots of maize under salt stress. *Planta.*, 219: 41-47.
- Karahara I.**, Shibaoka H. (1992). Isolation of Casparian strips from pea roots. *Plant and Cell Physiology.*, 33: 555-561.
- Kazan K.** (2013). Auxin and the integration of environmental signals into plant root development., *Annals of Botany.* 112: 1655-1665.
- Kazan K.**, Manners J.M. (2012). JAZ repressors and the orchestration of phytohormone crosstalk. *Trends in Plant Science.*, 17: 22-31.
- Kelly G.J.**, Latzko E. (1979). Soluble ascorbate peroxidase, detection in plants and use in vitamin C estimation. *Naturwissenschaften.*, 66: 617-619.
- Keskin B.C.**, Sarikaya A.T., Yuksel B., Memon A.R. (2010). Abscisic acid regulated gene expression in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Australian Journal of Crop Science.*, 4: 617-625.
- Khan A.A.**, Akbar M., Seshu D.V. (1987). Ethylene as an indicator of salt tolerance in rice. *Crop Science.*, 27: 1242-1248.
- Khan M.I.R.**, Asgher M., Khan N.A. (2014). Alleviation of salt-induced photosynthesis and growth inhibition by salicylic acid involves glycinebetaine and ethylene in mungbean (*Vigna radiata* L.). *Plant Physiology and Biochemistry.*, 80: 67-74.
- Khan M.I.R.**, Iqbal N., Masood A., Khan N.A. (2012). Variation in salt tolerance of wheat cultivars: role of glycine betaine and ethylene. *Pedosphere.*, 22: 746-754.
- Khan W.**, Prithviraj B., Smith D. (2003). Photosynthetic response of corn and soybean to foliar application of salicylates. *Journal of Plant physiology.*, 160: 485-492.
- Khatun S.**, Flowers T.J. (1995). Effects of salinity on seed set in rice. *Plant Cell and Environment.*, 18: 61-67.
- Khelloufi M.**, Martinez-Andujar C., Lachaâl M., Karray-Bouraoui N., Pérez-Alfocea F., Albacete A. (2017). The interaction between foliar GA₃ application and arbuscular mycorrhizal fungi inoculation improves growth in salinized tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants by modifying the hormonal balance. *Journal of Plant Physiology.*, 214: 134-144.
- Ko D.**, Kang J., Kiba T., et al. (2014). *Arabidopsis* ABCG14 is essential for the root-to-shoot translocation of cytokinin. *Proceedings of the National Academy of Sciences.*, U.S.A. 111: 7150-7155.

Références bibliographiques

- Koyro H.W.** (2006). Effect of salinity on growth, photosynthesis, water relations and solute composition of the potential cash crop halophyte *Plantago coronopus* (L.), *Environmental and Experimental Botany.*, 56: 136-146.
- Krishnamurthy P., Ranathunge K., Franke R., Prakash H.S., Schreiber L., Mathew M.K.** (2009). The role of root apoplastic transport barriers in salt tolerance of rice (*Oryza sativa* L.). *Planta.*, 230: 119-134.
- Ku H.S., Suge H., Rappaport L., Pratt A.K.** (1970). Stimulation of rice coleoptile growth by ethylene. *Planta.*, 90: 333-339.
- Lao M.T., Plaza B.M., Jiménez S.** (2013). Impact of salt stress on micronutrients in *Cordyline fruticosa* var. 'Red Edge'. *Journal of Plant Nutrition.*, 36: 990-1000.
- Lassouane N., Aid F., Lutts S.** (2016). Drought inhibits early seedling establishment of *Parkinsonia aculeata* L. under low light intensity: a physiological approach. *Plant Growth Regulation.*, 80 (2): 115-126.
- Lau S., Jurgens G., De Smet I.** (2008). The evolving complexity of the auxin pathway. *Plant Cell.*, 20: 1738-1746.
- Läuchli A.** (1984). Saltexclusion: Anadaptation of legumes for crops and pastures under saline conditions. In : Staples, R. C., Toenniessen G. H. (Eds.), *Salinity Tolerance in Plants - Strategies for Crop Improvement*. NewYork, NY: Wiley, pp. 171-187.
- Läuchli A., Epstein E.** (1990). Plant responses to saline and sodic conditions. In: Tanji K.K (Eds.), *Agricultural Salinity Assesment and Management. ASCE Manuals and reports on Engineering Practice*. New York, pp. 113-137.
- Läuchli A., Grattan S.R.** (2012). Plant responses to saline and sodic conditions. In: Wallender W., Tanji K.K. (eds.) *Agricultural Salinity Assesment Management. ASCE Manuals and Reports on Engineering Practice No. 71*. New York, NY: *American Society of Civil Engineers*. pp. 169-205.
- Lawlor D.W.** (2002). Limitation to photosynthesis in water-stressed leaves: Stomatal metabolism and the role of ATP. *Annals of Botany.*, 89: 871-885.
- Lawlor D.W., Cornic G.** (2002). Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant, Cell and Environment.*, 25: 275-294.
- Lee M.H., Cho E.J., Wi S.G., Bae H., Kim J.E., Cho J.Y., Lee S., Kim J.H., Chung B.Y.** (2013). Divergences in morphological changes and antioxidant responses in salt-tolerant and salt-sensitive rice seedlings after salt stress. *Plant Physiology and Biochemistry.*, 70: 325-335.
- Letham S.** (1994). Cytokinins as phytohormones-sites of biosynthesis, translocation, and function of translocated cytokinin. In: *Cytokinins: Chemistry, Activity and Function*. Mok D W.S., Mok M.C. editors. Boca Raton, FL: CRC. pp. 57-80.

Références bibliographiques

- Levigner** A., Lopez F., Vansuyt G., Berthomieu P., Casse– Delbart F. (1995). Les plantes face au stress salin. *Cahier d'études et de recherches Francophones /Agriculture.*, 4: 263-273.
- Levitt** J. (1980). Responses of plant to environmental stresses. 2nd. Ed. *Academic press.*, New York.
- Li** C. H., Wang G., Zhao J.L., Zhang L.Q., Ai L.F., Han Y.F., et al. (2014). The receptor-like kinase SIT1 mediates salt sensitivity by activating MAPK3/6 and regulating ethylene homeostasis in rice. *Plant Cell.*, 26: 2538-2553.
- Li** J., Li C., Smith S.M. (2017). Hormone Metabolism and Signalling in Plants. *Academic Press*, United States of America.
- Li** Y.S., Mao X.T., Tian Q.Y., Li L.H., Zhang W.H. (2009). Phosphorus deficiency-induced reduction in root hydraulic conductivity in *Medicago falcata* is associated with ethylene production. *Environmental and Experimental Botany.*, 67 : 172-177.
- Llanes** A., Andrade A., Alemano S., Luna V. (2016). Alterations of Endogenous Hormonal Levels in Plants under Drought and Salinity. *American Journal of Plant Sciences.*, 7 : 1357-1371.
- Lichtenthaler** H.K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology.*, 148: 350-382.
- Lim** T. (2012). *Trigonella foenum graecum*. Edible medicinal and non-medicinal plants. *Springer Netherlands.*, 906-924.
- Liu** J., Ishitani M., Halfter U., Kim C.S., Zhu J.K. (2000). The *Arabidopsis thaliana* SOS2 gene encodes a protein kinase that is required for salt tolerance. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.*, 97 (7): 3730-3734.
- Liu** Y., Yao Y., Hua X., Xing S., Xua L. (2015). Cloning and allelic variation of two novel catalase genes (SoCAT-1 and SsCAT-1) in *Saccharum officinarum* L. and *Saccharum spontaneum* L. *Biotechnology and Biotechnological Equipment.*, 29(3):431-440.
- Lluch** C., Tejera N., Herrera Cervera J.A., Lopez M., Barranco Gresa J.R., Palma F.J., Gozalvez M., Iribarne C., Moreno E., Oscana A. (2007). Saline stress tolerance in legumes. *Lotus Newlett.*, 37(2):76-77.
- Loew** O. (1901). Catalase, new enzyme of general occurrence, with special reference to the tobacco plant. *U.S. Department of Agriculture Report.* 68: 47.
- Long** S.P., Farage P.K., Garcia R.L. (1996). Measurement of leaf and canopy photosynthetic CO₂ exchange in the field. *Journal of Experimental Botany.* 47(304): 1629-1642.
- Lu** Z., Liu D., Liu S. (2007). Two rice cytosolic ascorbate peroxidases differentially improve salt tolerance in transgenic *Arabidopsis*. *Plant Cell Reports.*, 26: 1909-1917.
- Maas** E.V., Poss J.A. (1989). Salt sensitivity of wheat at various growth stages. *Irrigation Science.*, 10(1): 29-40.

Références bibliographiques

- Maathuis** F.J.M., Amtmann A. (1999). K⁺ nutrition and Na⁺ toxicity: the basis of cellular K⁺/Na⁺ ratios. *Annals of Botany.*, 84: 123-133.
- MADR.** (2004). Ministère de l'agriculture et du développement rural. Recensement général de l'agriculture.
- Maggio** A., Barbieri G., Raimondi G., de Pascale S. (2010). Contrasting effects of GA3 treatments on tomato plants exposed to increasing salinity. *Journal of Plant Growth Regulation.*, 29: 63-72.
- Majda** M., Robert S. (2018). The role of auxin in cell wall expansion. *International journal of molecular sciences.*, 19: 951.
- Martínez-Atienza** J., Jiang X., Garciadeblas B., et al. (2007). Conservation of the salt overly sensitive pathway in rice. *Plant Physiology.*, 143 (2): 1001-1012.
- Mateo-Sagasta** J., Burke J. (2011). Agriculture and water quality interactions: A global overview. SOLAW Backgr. *Thematic Report.* - TR08.
- Maxwell** K., Johnson GN. (2000). Chlorophyll fluorescence-a practical guide. *Journal of Experimental Botany.* 51: 659-668.
- Mc Cready** R.M., Guggolz J., Silviera V., Owes H.S. (1950). Determination of starch and amylase in vegetables. Application to peas. *Analytical Chemistry.*, 22: 1156-1158.
- Medrano** H., Escalona J.M., Bota J., Flexas J. (2002). Regulation of photosynthesis of C3 plants in response to progressive drought: stomatal conductance as a reference parameter. *Annals of Botany.*, 89: 895-905.
- Mehrfarin** A., Rezazadeh S., Naghdi Badi H., Noormohammadi Gh, Zand E., Qaderi A. (2011). A review on biology, cultivation and biotechnology of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) as a valuable medicinal plant and multipurpose. *Journal of Medicinal Plants.*, 10(37): 6-24.
- Miller** C.O., Skoog F., von Saltza M.H., Strong M. (1955). Kinetin, a cell division factor from deoxyribonucleic acid. *Journal of the American Chemical Society.*, 77: 1329-1334.
- Misra** N., Gupta A.K. (2005). Effect of salt stress on proline metabolism in two high yielding genotypes of green gram. *Plant Science.*, 169: 331-339.
- Mittler** R. (2006). Abiotic stress, the field environment and stress combination. *Trends in Plant Science.*, 11(1): 11-19.
- Mok** D.W., Mok M.C. (2001). Cytokinin metabolism and action. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology.*, 52: 89-118.
- Møller** I.M., Jensen P.E., Hansson A. (2007). Oxidative modifications to cellular components in plants. *Annual Review of Plant Biology.*, 58: 459-481.

Références bibliographiques

- Moons A.**, Prinsen E., Bauw G., Montagu M.V. (1997). Antagonistic effects of abscisic acid and jasmonates on salt stress-inducible transcripts in rice roots. *Plant Cell.*, 9: 2243-2259.
- Morgan P.W.**, Drew M.C. (1997). Ethylene and plant responses to stress. *Physiologia Plantarum.* 100(3): 620-630.
- Mundree S.G.**, Baker B., Mowla S., Peters S., Marais S., Wilingen C.V., Govender K., Maredza A., Muyanga S., Farrant J.M., Thomson J.A. (2002). Physiological and molecular insights into drought tolerance. *African Journal of Biotechnology.*, 1: 28-38.
- Munns R.** (1985). Na⁺, K⁺ and Cl⁻ in xylem sap flowing to shoots of NaCl-treated barley. *Journal of Experimental Botany.*, 36: 1032-1042.
- Munns R.** (1992). A leaf elongation assay detects an unknown growth inhibitor in xylem sap from wheat and barley. *Australian Journal of Plant Physiology.*, 19: 127-135.
- Munns R.** (2002). Comparative physiology of salt and water stress. *Plant Cell and Environment.*, 25(2): 239-250.
- Munns R.** (2005). Genes and salt tolerance: bringing them together. *New Phytologist.*, 167: 645-663.
- Munns R.**, Gilliam M. (2015). Salinity tolerance of crops-What is the cost? *New Phytologist.*, 208: 668-673.
- Munns R.**, Hare R.A., James R.A., Rebetzke G.J. (1999). Genetic variation for improving the salt tolerance of durum wheat. *Australian Journal of Agricultural Research.*, 51: 69-74.
- Munns R.**, James R.A., Läuchli A. (2006). Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. *Journal of Experimental Botany.*, 57: 1025-1043.
- Munns R.**, Schachtman D., Condon A. (1995). The significance of a two-phase growth response to salinity in Wheat and Barley. *Functional Plant Biology.*, 22(4): 561-569.
- Munns R.**, Termaat A. (1986). Whole plant response to salinity. *Australian Journal of Plant Physiology.*, 13: 143-160.
- Munns R.**, Tester M. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology.*, 59: 651-681.
- Naeem M.S.**, Jin Z.L., Wan G.L., Liu D., Liu H.B., Yoneyama K., et al. (2010). 5-minolevulinic acid improves photosynthetic gas exchange capacity and ion uptake under salinity stress in oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Plant and Soil.*, 332: 405-415.
- Nakano Y.**, Asada K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology.* 22: 867-880.
- Nawaz K.**, Ashraf M. (2007). Improvement in salt tolerance of maize by exogenous application of glycine betaine : Growth and water relations. *Pakistan Journal of Botany.*, 39(5): 1647-1653.

Références bibliographiques

- Nayidu N.**, Bollina V., Kagale S. (2013). Oilseed crop productivity under salt stress. In : Ahmed P., Azzouz M.M., Prasad M.N.V, (eds). *Ecophysiology and responses of plants under salt stress*. Heidelberg: Springer, 249-265.
- Nazar R.**, Iqbal N., Syeed S., Khan N.A. (2011). Salicylic acid alleviates decreases in photosynthesis under salt stress by enhancing nitrogen and sulfur assimilation and antioxidant metabolism differentially in two mungbean cultivars. *Journal of Plant Physiology.*, 168: 807-815.
- Netondo G.W.**, Onyango J.C., Beck E. (2004). Sorghum and salinity. II. Gas exchange and chlorophyll fluorescence of sorghum under salt stress. *Crop Science.*, 44: 806-811.
- Nisar N.**, ShanL., Nay Chi K., Pogso B.J. (2015). Carotenoid Metabolism in Plants. *Molecular Plant.*, 8(1): 68-82.
- Nishiyama R.**, Le D.T., Watanabe Y., Matsui A., Tanaka M., Seki M., Yamaguchi-Shinozaki K., Shinozaki K., Tran L.S. (2012). Transcriptome analyses of a salt-tolerant cytokinin-deficient mutant reveal differential regulation of salt stress response by cytokinin deficiency. *Plos One.*, 7(2): e32124.
- Nishiyama R.**, Watanabe Y., Fujita Y., Tien L.D., Kojima M., Werner T., Vankova R., Yamaguchi-Shinozaki K., Shinozaki K., Kakimoto T., Sakakibara H., Schmuelling T., Lam-Son P.T. (2011). Analysis of cytokinin mutants and regulation of cytokinin metabolic genes reveals important regulatory roles of cytokinins in drought, salt and abscisic acid responses, and abscisic acid biosynthesis. *Plant Cell.*, 23: 2169-2183.
- Noctor G.**, Foyer C.H. (1998). Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology.*, 49: 249-279.
- Nyathi Y.**, Baker A. (2006). Plant peroxisomes as a source of signalling molecules. *Biochimica et Biophysica Acta.* 1763(12): 1478-1495.
- Osawa T.** (1963). Studies on the salt tolerance of vegetable crops with special reference to osmotic effects and specific ion effects. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science.*, 32: 211-223.
- Parida A.K.**, Das A.B. (2005). Salt tolerance and salinity effects on plants : A review. *Ecotoxicology and environmental Safety.*, 60: 324-349.
- Pérez-Alfocea F.** (1999). Efectos de la salinidad y mecanismos de tolerancia a nivel celular y a nivel de planta en tomate. Thesis doctoral. CSIC. CEBAS. Universidad de Murcia.
- Pessaraki M.**, Szabolcs I. (1999). Soil salinity and sodicity as particular plant/ crop stress factors. In 'Handbook of plant and crop stress'. (Ed. M Pessaraki) pp. 3-21. (Marcel Dekker, Inc.: New York)
- Peterson C.A.**, Emanuel M.E., Humphreys G.B. (1981). Pathway of movement of apoplastic fluorescent dye tracers through the endodermis at the site of secondary root formation in corn (*Zea mays*) and broad bean (*Vicia faba*). *Canadian Journal of Botany.*, 59: 618-625.

Références bibliographiques

- Petersson** S.V., Johansson A.I., Kowalczyk M., Makoveychuk A., Wang J.Y., Moritz T., Grebe M., Benfey P.N., Sandberg G., Ljung K. (2009). An auxin gradient and maximum in the Arabidopsis root apex shown by high-resolution cell-specific analysis of IAA distribution and synthesis. *Plant Cell.*, 21: 1659-1668.
- Petropoulos** G.A. (2002). Fenugreek, the genus *Trigonella*. Taylor and Francis, London and New York. p : 255.
- Pierik** R., Tholen D., Poorter H., Visser E.J., Voesenek L.A. (2006). The janus face of ethylene: growth inhibition and stimulation. *Trends in Plant Science.*, 11: 176-183.
- Pospisilova** J., Vágner M., Malbeck J., Travníčková A., Bátková P. (2005). Interactions between abscisic acid and cytokinins during water stress and subsequent rehydration. *Biologia Plantarum.*, 49: 533-540.
- Potters** G., De Gara L., Asard H., Horemans N. (2002). Ascorbate and glutathione: guardians of the cell cycle, partners in crime? *Plant Physiology and Biochemistry.*, 40 (6-8): 537-548.
- Pour** A.P., Farahbakhsh H., Saffari M. (2014). Response of fenugreek to short-term salinity stress in relation to lipid peroxidation, antioxidant activity and protein content. *Ethno-Pharmaceutical Products.*, 1(1): 45-52.
- Prasad** R., Acharya S., Erickson S., Thomas J. (2014). Identification of Cercosporaleaf spot resistance among fenugreek accessions and characterization of the pathogen. *Australian Journal of Crop Science.*, 8(6):822-830.
- Price** A., Lucas P.W., Lea P.J. (1990). Age-dependent damage and glutathione metabolism in ozone fumigated barley - A leaf section approach. *Journal of Experimental Botany.*, 41: 1309-1317.
- Propham** P.L., Novacky A. (1991). Use of dimethyl sulfoxide to detect hydroxyl radical during bacteria-induced hyper-sensitive reaction. *Plant Physiology.*, 96(4): 1157-1160.
- Proseus** T.E., Boyer J.S. (2012). Pectate chemistry links cell expansion to wall deposition in *Chara corallina*. *Plant Signaling and Behavior.*, 7: 1490-1492.
- Qiu** Z., Guo J., Zhu A., Zhang L., Zhang M. (2014). Exogenous jasmonic acid can enhance tolerance of wheat seedlings to salt stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety.*, 104: 202-208.
- Quezel** P., Santa S. (1962). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome 1. Eds. Centre National de la Recherche Scientifique 15, quai Anatole-France – Paris 7^e, pp : 314-315.
- Quezel** P., Santa S. (1962). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. CNRS, Paris.
- Quintero** F.J., Ohta M., Shi H., Zhu J.K., Pardo J.M. (2002). Reconstitution in yeast of the Arabidopsis SOS signaling pathway for Na⁺ homeostasis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.*, 99 (13): 9061-9066.

Références bibliographiques

- Qureshi M.I.**, Israr M., Abdin M.Z., Iqbal M. (2005). Responses of *Artemisia annua* L. to lead and salt disposition in non-insulin dependent diabetic patients. *Environmental and Experimental Botany.*, 53: 185-193.
- Raats P.A.** (2014). Salinity management in the coastal region of the Netherlands : a historical perspective. *Agricultural Water Management.*, 157: 12-30.
- Raghavendra A.S.**, Gonugunta V.K., Christmann A., Grill E. (2010). ABA perception and signalling. *Trends in Plant Science.*, 15: 395-401.
- Raghothama K.**, Karthikeyan A. (2005). « Phosphate acquisition » in Root physiology : *From gene to function*. Eds. H. Lambers and T.D Colmer (New York : Springer), 37-49.
- Ribaut J.M.**, Pilet P.E. (1994). Water stress and indol-3yl-acetic acid content of maize roots. *Planta.*, 193 (4): 502-507.
- Ribeiro D.T.**, Deoliveira R.C., Di Mascio P., Menck C.F.M. (1994). Singlet oxygen induces predominantly G to T transversions on a single-stranded shuttle vector replicated in monkey cells. *Free Radical Research.*, 21: 75-83.
- Richards L.A.** (1954). Diagnosis and Improvement of Saline and Alkali Soils. Agriculture Handbook No. 60. Washington, DC: United States Department of Agriculture.
- Richards L.A.** (1994). Origen y naturaleza de suelos salinos y sódicos. En: “Diagnóstico y rehabilitación de suelos salinos y sódicos”. Ed. Richards, L.A., pp. 1-5.
- Roldan-Arjona T.**, Ariza R.R. (2008). Repair and tolerance of oxidative DNA damage in plants. *Mutation Research.*, 681: 169-179.
- Ruiz-Sánchez M.C.**, Domingo R., Torrecillas A., Pérez-Pastor A. (2000). Wter stress preconditioning to improve drought resistance in young apricot plants. *Plant Science.* 156: 245-251.
- Saab I.N.**, Sharp R.E. (1989). Non-hydraulic signals from maize roots in drying soil : inhibition of leaf elongation but not stomatal conductance. *Planta.*, 179(4): 466-474.
- Saeng-ngam S.**, Takpirom W., Buaboocha T.S.C. (2012). The role of the OsCam1-1 salt stress sensor in ABA accumulation and salt tolerance in rice. *Journal of Plant Biology.*, 55: 198-208.
- Sakakibara H.** (2006). Cytokinins : Activity, biosynthesis, and translocation. *Annual Review of Plant Biology.*, 57: 431-449.
- Sakhabutdinova A.R.**, Fatkhutdinova D.R., Bezrukova M.V., Shakirova F.M. (2003). Salicylic acid prevents the damaging action of stress factors on wheat plants. *Bulgarian Journal of Plant Physiology.*, 21: 314-319.
- Santos C.** (2004). Regulation of chlorophyll iosynthesis and degradation by salt stress in sunflower leaves. *Scientia Horticulturae.*, 103(1): 93-99.

Références bibliographiques

- Sattelmacher** B., Mühlhng K.H., Pennewi K. (1998). The apoplastic-its significance for the nutrition of higher plants. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science.*, 161: 485-498.
- Savé** R., Olivella C., Biel C., Adilln J., Rabella R. (1994). Seasonal patterns of water relationships, photosynthetic pigments and morphology of *Actinidia deliciosa* plants of the Haywards and Tomouri cultivars. *Agronomie.*, 2: 121-126.
- Scandalios** J.G. (1990). Response of plant antioxidant defense genes to environmental stress. *Advances in Genetics.*, 28: 1-41.
- Schopfer** P., Liskay A., Bechtold M., Frahy G., Wagner A. (2002). Evidence that hydroxyl radicals mediate auxin-induced extension growth. *Planta.*, 214: 821-828.
- Schroeder** J.I., Allen G.J., Hugouvieux V., Kwak J.M., Waner D. (2001). Guard cell signal transduction. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology.*, 52: 627-658.
- Seraphin** L. (1985). Premier cours national post-graduate sur l'irrigation, le drainage et la gestion des ressources hydriques. IICA Biblioteca Venezuela. 172 p.
- Shabala** S. (2013). Learning from halophytes : physiological basis and strategies to improve abiotic stress tolerance in crops. *Annals of Botany.*, 112: 1209-1221.
- Shabala** S., Cuin T.A., Pang J.Y., Percey W., Chen Z.H., Conn S., Eing C., Wegner L.H. (2010). Xylem ionic relations and salinity tolerance in barley. *Plant Journal.*, 61: 839-853.
- Shakirova** F.M., Sakhabutdinova A.R., Bezrukova M.V., Fatkhutdinova R.A., Fatkhutdinova D.R. (2003). Changes in the hormonal status of wheat seedlings induced by salicylic acid and salinity. *Plant Science.*, 164: 317-322.
- Shannon** M.C., Rhoades J.D., Draper J.H., Scardaci S.C., Spyres M.D. (1998). Assessment salt tolerance in rice cultivars in response to salinity problems in California. *Crop Science.*, 38 (2): 394-398.
- Shi** H., Quintero F.J., Pardo J.M., Zhu J.K. (2002). The putative plasma membrane Na⁺/H⁺ antiporter SOS1 controls longdistance Na⁺ transport in plants. *Plant Cell.*, 14 (2): 465-477.
- Shomer** I., Novacky A.J., Pike S.M., Yermiyahu U., Kinraide T.B. (2003). Electrical potentials of plant cell walls in response to the ionic environment. *Plant Physiology.*, 133: 411-422.
- Sies** H. (1985). Oxidative Stress. *Academic Press*, London, 507 p.
- Skirycz** A., Inz D. (2010). More from less : plant growth under limited water. *Current Opinion in Biotechnology.*, 21: 197-203.
- Skoog** F., Miller C.O. (1957). Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured *in vitro*. *Symposia of the Society for Experimental Biology.*, 11: 118-137.
- Smirnov** N. (2000). Ascorbate biosynthesis and function in photoprotection. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences.*, 355(1402): 455-1464.

Références bibliographiques

- Smirnoff** N., Cumbes Q.J. (1989). Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. *Phytochemical Analysis.*, 28: 1057-1060.
- Sparks** D.L. (2003). Environmental soil chemistry: An overview. Environmental Soil Chemistry (second edition). *Academic Press*. Pages 1-42.
- Staal** M., Maathuis F.J.M., Elzenga J.T.M., Overbeek J.H.M., Prins H.B.A. (1991). Na⁺ /H⁺ antiport activity in tonoplast vesicles from roots of the salt-tolerant *Plantago maritima* and the salt-sensitive *Plantago media*. *Physiologia Plantarum.*, 82: 179-184.
- Stadtman** E.R. (1992). Protein oxidation and aging. *Science.*, 257: 1220-1224.
- Steudle** E., Peterson C.A. (1998). How does water get through roots? *Journal of Experimental Botany.*, 9: 775-788.
- Sun** T.P., Gubler F. (2004). Molecular mechanism of gibberellin signaling in plants. *Annual Review of Plant Biology.*, 55:197-223.
- Sweetlove** L.J., Foyer C.H. (2004). Roles for reactive oxygen species and antioxidants in plant mitochondria. In: D.A. Day., A.H. Millar., J. Whelan (Eds.), *Plant Mitochondria: From Genome to Function, Advances in Photosynthesis and Respiration*, vol. 1. Kluwer Academic Press, Dordrecht, The Netherlands, pp. 307-320.
- Taiz** L., Zeiger E. (2009). *Plant Physiology*. Sunderland: Sinauer Associates.
- Tardieu** F., Tuberosa R. (2010). Dissection and modelling of abiotic stress tolerance in plants. *Current Opinion in Plant Biology.*, 13: 206-212.
- Tester** M., Davenport RA. (2003). Na⁺ tolerance and Na⁺ transport in higher plants. *Annals of Botany.*, 91: 503-527.
- Thomas** J.C., Smigocki A.C., Bohnert H.J. (1995). Light-induced expression of *ipt* from *Agrobacterium tumefaciens* results in cytokinin accumulation and osmotic-stress symptoms in transgenic tobacco. *Plant Molecular Biology.*, 27: 225-235.
- Tran** L.S., Shinozaki K., Yamaguchi-Shinozaki K. (2010). Role of cytokinin responsive two-component system in ABA and osmotic stress signalings. *Plant Signaling Behavior.* 5: 148-150.
- Tsonev** T.D., Lazova G.N., Stoinova Z.G., Popova L.P. (1998). A possible role for jasmonic acid in adaptation of barley seedlings to salinity stress. *Journal of Plant Growth Regulation.*, 17: 153–159.
- Tudela** D., Primo-Millo E. (1992). 1-Aminocyclopropane-1-carboxylic acid transported from roots to shoots promotes leaf abscission in Cleopatra mandarin (*Citrus reshni* Hort. Ex Tan.) seedlings rehydrated after water stress. *Plant Physiology.*, 100: 131-137.
- Turan** S., Tripathy B.C. (2012). Salt and genotype impact on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in two rice cultivars during de-etiolation. *Protoplasma.*, 250: 209-222.

Références bibliographiques

- Tuteja N.** (2007). Mechanisms of high salinity tolerance in plants. *Methods in Enzymology.*, 428: 419-438.
- Upreti K.K., Sharma M.** (2016). Role of plant growth regulators in abiotic stress tolerance. *Abiotic Stress Physiology of Horticultural Crops.*, 19-46. Springer India.
- Vadez-Aguilar L.A., Grieve C.M., Poss J., Mellano M.A.** (2009). Hypersensitivity of *Ranunculus asiaticus* to salinity and alkalinity in irrigation water in sand cultures. *Horticultural Science.*, 44: 138-144.
- Vandenbussche F., Van Der Straeten D.** (2007). One for all and all for one: Cross-Talk of multiple signals controlling the plant phenotype. *Journal of Plant Growth Regulation.*, 26: 178-187.
- Vavilov N.I.** (1926). Studies in the origin of cultivated plants. *Bulletin of Applied Botany and Plant Breeding.*, 16 (2): 1-248.
- Velitchkova M., Fedina I.** (1998). Response of photosynthesis of *Pisum sativum* to salt stress as affected by methyl jasmonate. *Photosynthetica.*, 35: 89-97.
- Wang B., Lüttge U., Ratajczak R.** (2001). Effects of salt treatment and osmotic stress on V-ATPase and V-PPase in leaves of the halophyte *Suaeda salsa*. *Journal of Experimental Botany.*, 52 (365): 2355-2365.
- Wang H., Tang X., Wang H., Shao H.B.** (2015). Proline accumulation and metabolism-related genes expression profiles in *Kosteletzkya virginica* seedlings under salt stress. *Frontier in Plant Science.*, 6: 792.
- Wang M., Xin Z., Zhen X., Yin X., Tian X., Xia G.** (2016). A wheat superoxide dismutase gene *tasod2*, enhances salt resistance through modulating redox homeostasis by promoting nadph oxidase activity. *Plant Molecular Biology.*, 91: 115-130.
- Wani S.H., Kumar P.** (2018). Fenugreek: A review on its nutraceutical properties and utilization in various food products. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences.*, 17(2): 97-106.
- Wani S.H., Kumar V., Shriram V., Kumar S.S.** (2016). Phytohormones and their metabolic engineering for abiotic stress tolerance in crop plants. *The Crop Journal.*, 4 (3): 162-176.
- Waśkiewicz A., Gładysz O., Goliński P.** (2016). Participation of Phytohormones in Adaptation to Salt Stress. In *Plant Hormones under Challenging Environmental Factors*, 75-115. Springer Netherlands.
- Wasternack C.** (2014). Action of jasmonates in plant stress responses and development applied aspects. *Biotechnology Advances.*, 32: 31-39.
- Wasternack C., Hause B.** (2002). Jasmonates and octadecanoids : signals in plant stress responses and development. *Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology.*, 72: 165-221.

Références bibliographiques

- Wendland F.**, Blum A., Coetsiers M., Gorova R., Griffioen J., Grima J., Hinsby K., Kunkel R., Marandi A., Melo T., et al. (2008). European aquifer typology : a practical framework for an overview of major ground water composition at European scale. *Environmental Geology.*, 55: 77-85.
- Werner T.**, Motyka V., Srnad M., Schmölling T. (2001). Regulation of plant growth by cytokinin. *Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A.*, 98 : 10487-10492.
- West G.**, Inze D., Beemster G.T. (2004). Cell cycle modulation in the response of the primary root of Arabidopsis to salt stress. *Plant Physiology.*, 135: 1050-1058.
- Wi S.J.**, Jang S.J., Park K.Y. (2010). Inhibition of biphasic ethylene production enhances tolerance to abiotic stress by reducing the accumulation of reactive oxygen species in *Nicotiana tabacum*. *Molecular Cell.*, 30: 37-49.
- Wichtl M.**, Anton R. (2003). Plantes thérapeutiques. EMI/Tec et Doc, Paris, 216-9.
- Willekens H.**, Langebartels C., Tire C., Vanmontagu M., Inze D., Vancamp W. (1994) Differential expression of catalase genes in *Nicotiana plumbaginifolia* (L). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA.*, 91: 10450-10454.
- Wise R.R.**, Naylor A.W. (1987). Chilling-enhanced photooxidation. Evidence for the role of singlet oxygen and superoxide in the breakdown of pigments and endogenous antioxidants. *Plant Physiology.* 83: 278-282.
- Wu Q.S.**, Zou Y.N., He X.H. (2010). Contributions of arbuscular mycorrhizal fungi to growth, photosynthesis, root morphology and ionic balance of citrus seedlings under salt stress. *Acta Physiologiae Plantarum.*, 32: 297-304.
- Xiong L.**, Schumaker K.S., Zhu J.K. (2002). Cell signaling during cold, drought, and salt stress. *Plant Cell.* 14: 165-183.
- Yadav R.**, Flowers T.J., Yeo A.R. (1996). The involvement of the transpirational bypass flow in sodium uptake by high- and low sodium-transporting lines of rice developed through intravarietal selection. *Plant Cell and Environment.*, 19: 329-336.
- Yadav S.K.**, Dhote M., Kumar P., Sharma J., Chakrabarti T., Juwarkar A.A. (2010). Differential antioxidative enzyme responses of *Jatropha curcas* L. to chromium stress. *Journal of Hazardous Materials.*, 180: 609-615.
- Yamaguchi T.**, Blumwald E. (2005). Developing salt-tolerant crop plants: Challenges and opportunities. *Trends in Plant Science.*, 10: 615-620.
- Yamane K.**, Taniguchi M., Miyake H. (2012). Salinity-induced subcellular accumulation of H₂O₂ in leaves of rice. *Protoplasma.*, 249: 301-308.
- Yemm E.W.**, Willis J. (1954). The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. *The journal of Biochemistry.*, 57: 508-514.

Références bibliographiques

Yeo A.R. (2007). Salinity. In : Yeo A.R., Flowers T.J. eds. *Plant. Solute. Transport.* Oxford : Blackwell Publishing Ltd, 340-365.

Yeo A.R., Flowers T.J. (1986). The physiology of salinity resistance in rice (*Oryza sativa* L.) and a pyramiding approach to breeding varieties for saline soils. *Australian Journal of Plant Physiology.*, 13: 75-91.

Yeo A.R., Yeo M.E., Flowers T.J. (1987). The contribution of an apoplastic pathway to sodium uptake by rice roots in saline conditions. *Journal of Experimental Botany.*, 38: 1141-1153.

Yin C.C., Ma B., Collinge D.P., Pogson B.J., He S.J., Xiong Q., et al. (2015). Ethylene responses in rice roots and coleoptiles are differentially regulated by a carotenoid isomerase-mediated abscisic acid pathway. *The Plant Cell.*, 27: 1061-1081.

Yoshida Y., Kiyosue T., Katagiri T., Ueda H., Mizoguchi T., Yamaguchi-Shinozaki K., Wada K., Harada T., Shinozaki K. (1995). Correlation between the induction of a gene for Δ 1-pyrroline-5-carboxylate synthetase and the accumulation of proline in *Arabidopsis thaliana* under osmotic stress. *Plant Journal.*, 7: 751-760.

Zandi P., Basu S.K., BazrkharKhatibani L., Balogun M., Aremu M.O., Sharma M., Kumar A., Sengupta R., Li X., Tashi S., Hedi A., Cetzal-Ix W. (2015). Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) seed: A review of physiological and biochemical properties and their genetic improvement. *Acta Physiologiae Plantarum.*, 37: 1714.

Zandi P., Basu S.K., Cetzal-Ix W., Kordrostami M., Chalaras SK., Khatibai L.B. (2017). Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) : An important medicinal and aromatic crop. Eds. El-Shemy HA., *Active ingredients from aromatic and medicinal plants.* Intech Open,pp, 207-224.

Zazimalova E., Murphy A.S., Yang H., Hoyerova K., Hosek P. (2010). Auxin transporters-why so many? *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology.*, 2(3): a001552.

Zhang J., Jia W., Yang J., Ismail A.M. (2006). Role of ABA in integrating plant responses to drought and salt stresses. *Field Crops Research.*, 97: 111-119.

Zhang S.P., Weng J., Pan J.X., Tu T.C., Yao S., Xu C.H. (2003). Study on the photo-generation of superoxide radicals in Photosystem II with EPR spin trapping techniques. *Photosynthesis Research.*, 75: 41-48.

Zhao F., McGrath S.P., Crosland A.R. (1994). Comparison of three wet digestion methods for the determination of plant sulphur by inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy (ICP-AES). *Communications in Soil Science and Plant Analysis.*, 25: 407-418.

Zhu B., Su J., Chang M., Verma D.P.S., Fan Y.L., Wu R. (1998). Overexpression of a Δ 1-pyrroline-5-carboxylate synthetase gene and analysis of tolerance to water- and salt stress in transgenic rice. *Plant Science.*, 139: 41-48.

Zhu J.K. (2001). Plant salt tolerance. *Trends in Plant Science.* 6: 66-71.

Références bibliographiques

Zhu J.K. (2002). Salt and drought stress signal transduction in plants. *Annual Review of Plant Biology.*, 53: 247-273.

Zid E., Grignon C. (1991). Les tests de selection précoce pour la résistance des plantes au stress. Cas des stress salin et hydrique. L'amélioration des plantes pour l'adaptation aux milieux arides, AUPELF-UREF. John Libbey Eurotext, Paris: 91-108.

Annexes

Tableau. Composition en macro-éléments et en oligoéléments de la solution nutritive de Hoagland et Arnon. (1950) modifiée.

Macro-éléments	Concentration (mM)	Oligo-éléments	Concentration (μM)
NH ₄ H ₂ PO ₄	1	MnSO ₄ 5H ₂ O	1
Ca (NO ₃) ₂ 4H ₂ O	5.5	H ₃ BO ₃	10
KNO ₃	5	CuSO ₄ 5H ₂ O	0.25
MgSO ₄ 7H ₂ O	0.5	Na ₂ MoO ₄ 2H ₂ O	10
		ZnSO ₄ 7H ₂ O	1
		KCl	25
Fe-EDDHA	50 mg. L ⁻¹		



Planimètre ou Appareil de mesure de la surface foliaire LI-3100C (Li-Cor, Lincoln, NB)



Appareil du type LCA-Analytical Development Company-Hoddesdon, Royaume-Uni)



Fluorimètre de type OS-30 (OptiSciences-Herts, UK)



Conductimètre AD3000 EC/TDS

Tableau. Coefficients de corrélation linéaire entre la teneur en Malondialdéhyde (MDA), la teneur relative en eau (TRE), la teneur en Na⁺ foliaire (Na_F), la teneur en Ca²⁺ foliaire (Ca_F), l'activité catalase (Catalase), la surface foliaire (SF), le nombre de feuille (NF), la longueur de la partie aérienne (LPA), la teneur en gibbérélines (AGs), la teneur en acide abscissique foliaire (ABA_F), la teneur en K⁺ foliaire, la conductance stomatique (CS), l'activité de l'ascorbate peroxydase cytosolique (APX) et la teneur en chlorophylles totales (Chl T) des plantes de fenugrec sous l'effet du stress salin.

	MDA	TRE	Na_F	Ca_F	Catalase	SF	NF	LPA	AGs_F	ABA_F	K_F	CS	APX	Chl T
MDA	1	-,850**	,745*	-,715*	,620	-,609	-,772*	-,439	-,595	,761*	-,728*	-,629*	,300	-,672*
TRE	-,850**	1	-,940**	,950**	-,745*	,881**	,822**	,763*	,829**	-,941**	,951**	,769**	-,616	,854**
Na_F	,745*	-,940**	1	-,897**	,897**	-,879**	-,629	-,794*	-,691*	,886**	-,991**	-,656	,519	-,867**
Ca_F	-,715*	,950**	-,897**	1	-,655	,856**	,858**	,875**	,910**	-,975**	,944**	,667*	-,798**	,826**
Catalase	,620	-,745*	,897**	-,655	1	-,703*	-,344	-,530	-,328	,674*	-,852**	-,493	,183	-,641
SF	-,609	,881**	-,879**	,856**	-,703*	1	,667*	,810**	,777*	-,806**	,890**	,658	-,500	,778*
NF	-,772*	,822**	-,629	,858**	-,344	,667*	1	,664	,857**	-,840**	,692*	,650	-,701	,598
LPA	-,439	,763*	-,794*	,875**	-,530	,810**	,664	1	,808**	-,812**	,843**	,528	-,754*	,752*
AGs_F	-,595	,829**	-,691*	,910**	-,328	,777*	,857**	,808**	1	-,871**	,763*	,555	-,858**	,764*
ABA_F	,761*	-,941**	,886**	-,975**	,674*	-,806**	-,840**	-,812**	-,871**	1	-,929**	-,558	,726*	-,750*
K_F	-,728*	,951**	-,991**	,944**	-,852**	,890**	,692*	,843**	,763*	-,929**	1	,647	-,613	,866**
CS	-,629*	,769**	-,656	,667*	-,493	,658	,650	,528	,555	-,558	,647	1	-,474	,695*
APX	,300	-,616	,519	-,798**	,183	-,500	-,701	-,754*	-,858**	,726*	-,613	-,474	1	-,636
Chl T	-,672*	,854**	-,867**	,826**	-,641	,778*	,598	,752*	,764*	-,750*	,866**	,695*	-,636	1

Corrélations significatives (*P < 0.05, **P < 0.01, n = 9-15).

Tableau. Coefficients de corrélation linéaire entre la teneur en cytokinines foliaires (CKs), la teneur en acide abscissique foliaire (ABA_F), la surface foliaire (SF), le nombre de feuille (NF), la longueur de la partie aérienne (LPA), la matière végétale sèche racinaire (MVS_R), la matière végétale sèche de la partie aérienne (MVS_PA), la matière végétale sèche totale (MVST), la teneur en acide aminocyclopropane-1-carboxylique racinaire (ACC_R) des plantes de fenugrec sous l'effet du stress salin.

	CKs F	ABA F	SF	NF	LPA	MVS R	MVS PA	MVST	ACC R
CKs F	1	-,540	,463	,225	,344	-,337	,078	-,051	-,261
ABA_F	-,540	1	-,806**	-,840**	-,812**	-,243	-,756*	-,626	,862**
SF	,463	-,806**	1	,667*	,810**	-,054	,460	,316	-,880**
NF	,225	-,840**	,667*	1	,664	,375	,811**	,708*	-,848**
LPA	,344	-,812**	,810**	,664	1	,079	,548	,423	-,805**
MVS_R	-,337	-,243	-,054	,375	,079	1	,548	,926**	-,047
MVS_F	,078	-,756*	,460	,811**	,548	,548	1	,962**	-,579
MVST	-,051	-,626	,316	,708*	,423	,926**	,962**	1	-,435
ACC_R	-,261	,862**	-,880**	-,848**	-,805**	-,047	-,579	-,435	1

Corrélations significatives (*P < 0.05, **P < 0.01, n = 9-15).

Abstract

Fenugreek is a legume cultivated in most regions of the world for its important uses : food, chemical industry, livestock feed and soil fertility. It is usually grown in arid and semi-arid regions in soils with high salt concentrations, which negatively affect plant growth. To gain insights about the effect of salinity on fenugreek plants (*Trigonella foenum graecum* L.), an experiment was carried out by subjecting the latter to the effect of moderate (100 mM NaCl) and high (200 mM NaCl) salt stress.

The results showed that salt stress affects the growth of fenugreek plants by decreasing the length of their aerial and underground parts, their dry mass, the leaf area and the number of leaves. It also affects physiology by decreasing the relative water content and the amount of photosynthetic pigments and soluble sugars.

At the cellular level, salt stress caused an increase in lipid peroxidation marker MDA as well as leakage of electrolytes, which indicates the installation of oxidative stress. In response, the plant increased the activity of some of its antioxidant enzymes namely, catalase and ascorbate peroxidase.

Salinity causes a nutritional deficiency and an increase of the Na content in leaves and roots. In addition, significant changes in the classes of major growth hormones have been observed, associated with reduced growth under salt stress. Thus, phytohormones such as trans-zeatin and gibberellins decrease with salinity in the leaves of fenugreek plants, while the precursor of ethylene, 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid accumulates in the roots of fenugreek especially under the effect of high levels of salinity. The amount of leaf abscisic acid increases under salinity, which limits leaf transpiration and allows plants to adapt to stressful conditions. Plant hormones appear to play a key role in fenugreek plants responses to salt stress and may be of potential interest in salt tolerance programs for this species.

Keywords: Salt stress, Fenugreek (*Trigonella foenum graecum* L.), Growth, oxidative stress, mineral nutrients, Plant hormones.

ملخص

الحلبة هي بقوليات تنمو في جميع أنحاء العالم وتستخدم في الطهي و صناعة الأدوية والثروة الحيوانية وتخصيب التربة. تزرع بشكل عام في المناطق القاحلة وشبه القاحلة التي تتميز بالتربة المالحة التي يمكن أن تؤثر على التنمية الجيدة للنباتات. من أجل فهم أفضل لتأثير الملوحة على نباتات الحلبة (*Trigonella foenum graecum* L.) ، أجريت تجربة من خلال إخضاعها لتأثير الإجهاد الملحي المعتدل (100 mM) والمرتفع (200 mM).

أظهرت النتائج أن الإجهاد الملحي يؤثر على نمو النباتات الحلبة عن طريق الحد من طول الجزء الهوائي والجذري، و الكتلة الجافة، مساحة الورقة وعدد الأوراق. كما أنه يؤثر على وظائف الأعضاء عن طريق خفض محتوى الماء النسبي ولكن أيضا كمية الصبغات

الضوئي والسكريات القابلة للذوبان. على المستوى الخلوي ، يتسبب الإجهاد الملحي في زيادة في علامة بيروكسيد دهون MDA وكذلك تسرب إلكترونوليت ، مما يدل على تركيب الإجهاد التأكسدي. واستجابة على ذلك ، يزيد النبات من نشاط بعض إنزيماته المضادة للأكسدة وهي الكاتالاز و الاسكورات البيروكسيديز.

الملوحة تسبب نقص التغذية وزيادة محتوى Na^+ في الأوراق والجذور. بالإضافة إلى ذلك ، لوحظت تغييرات كبيرة في فئات هرمونات النمو الرئيسية ، المرتبطة بانخفاض النمو تحت ضغط الملح. وهكذا، الهرمونات النباتية مثل للزياتين و gibberellins انخفاض الملوحة في أوراق النبات الحلبة، في حين أن السلائف من الاثيلين، 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid يتراكم في جذور النباتات الحلبة خاصة تحت تأثير مستويات عالية من الملوحة. تزداد كمية أوراق نبات الحمض الابسيسيك تحت الملوحة، مما يحد من نفاذ الأوراق ويسمح للنباتات بالتأقلم مع الظروف المجهدة. يبدو أن الهرمونات النباتية تلعب دورًا رئيسيًا في استجابات الحلبة لضغط الملح وقد تكون ذات أهمية محتملة في برامج تحمل الملوحة لهذا النوع.

الكلمات المفتاحية: الإجهاد الملحي ، الحلبة (*Trigonella foenum graecum* L.) ، النمو ، الإجهاد التأكسدي ، المغذيات المعدنية ، التوازن الهرموني.