

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumédiène
Faculté de Sciences Biologiques



THÈSE

Présentée pour l'obtention du **grade** de **DOCTEUR EN SCIENCES**

En : Biologie et Physiologie Végétale

Spécialité : Eco-biologie et Amélioration Végétale

Par : M^{me} SADJI Hamida

Sujet

Effets de la salinité et du phosphore sur la physiologie
du pois chiche (*Cicer arietinum* L.)

Soutenue publiquement, le 08/03/2017, devant le jury composé de :

Mme BOUGUEDOURA. N	Professeur, USTHB Alger	Président
Mme AID. F	Professeur, USTHB Alger	Directeur de thèse
Mme BELKEBIR. A	Professeur, USTHB	Examineur
Mr KAMELI. A	Professeur, ENS Alger	Examineur
Mme ALKAMA. N	Maitre de Conférences, UMMTO	Examineur
Mme GUEMOURIS	Maitre de conférences, USTHB	Examineur

Résumé

La fixation symbiotique de l'azote et la productivité du pois chiche (*Cicer arietinum* L.) sont considérablement affectés par le stress salin qui constitue un facteur limitant de la productivité agricole. Dans ce contexte, nous avons comparé le comportement de deux variétés de pois chiche Flip 74-92C et Flip 84-79C vis-à-vis des concentrations croissantes de NaCl. Le retard de germination des graines, la réduction du rendement et la sensibilité de l'efficacité symbiotique des plantes de la variété Flip 74-92C à forte concentration de sel (150mM) nous a permis de retenir la variété Flip 84-79C afin d'appréhender sa tolérance à la salinité en présence de deux doses de fertilisants phosphatés. Les plantules ont été irriguées avec des solutions de composition chimiques différentes: un témoin sans sel et sans phosphate (T); un traitement salé S (150mM de NaCl), un traitement SP1 (90kg ha⁻¹ de P x 150mM NaCl); et un traitement SP2 (200kg ha⁻¹ de P x NaCl 150mM de NaCl). La réponse des plantes à la salinité est déterminée par les paramètres morphologiques, physiologiques, symbiotiques et les composantes du rendement. Le stress salin affecte la croissance des plantes et réduit significativement l'efficacité symbiotique par la réduction du pouvoir de nodulation et la teneur en légghémoglobine pour variété Flip 84-79C. Cependant, le mélange NaCl x phosphore et en particulier la faible dose (90 kg ha⁻¹ de phosphore) semble améliorer le rendement en grains, la biomasse végétale et l'efficacité des nodules. Les plantes SP1 ont montré une réponse similaire et/ou supérieure à celle du témoin, résultat qui laisse indiquer que cette combinaison aurait un effet positif pour atténuer les effets drastiques du stress salin et pour l'amélioration de la productivité.

MOTS CLES: Pois chiche, fertilisant phosphaté, biomasse, rendement, caractères nodulaires, stress salin, rapport K/Na

Abstract

Chickpea is considered among the most sensitive grain legumes to salinity. The improvement of tolerance of lines in combination with tolerant rhizobial strains depends on various environmental and cultural conditions such as soil properties. This investigation was undertaken to evaluate the effect of phosphorus fertilization (0, 90 and 200 kg ha⁻¹ of P₂O₅) on biomass, nodular traits and grain yield (GY) of chickpea (cv. Flip 84-79C) growing under salinity (0 and 150 mM NaCl). The trial was laid out following a randomized block design with three replicates during 2010–2012, at the experimental farm of Oued Smar (Algiers). Salinity did not significantly decrease the dry biomass of the plants but the relative shoot growth was more affected than control, P and SP1 treatments. Besides, salinity significantly reduced GY (-20%) and nodulation traits compared to the control plants while an inversely proportional relationship was found between protein, leghemoglobin and MDA content, K/Na ratio and the increase in salt concentration. Application of two P levels to saline soil enhanced growing conditions of plants. Particularly, the (90 kg ha⁻¹ of P × 150 mM NaCl) combination significantly increased leghemoglobin (92%), reduced proline content (- 69%) and protected membranes against peroxydation compared to saline conditions. A significant increase was observed in the GY (about 30%) of plants at both P doses combined with salt stress compared to other cases. Statistically, the low P level combined with salinity induced similar responses of plants and sometimes better responses to control plants. Finally, our results support the roles of phosphorus fertilizer in the alleviation of salt stress and enhancing the soil quality for better symbiosis efficiency and yield of chickpea.

KEYWORDS: P fertilizer, biomass, grain yield, nodule traits, salt stress, K/Na ratio.

المخلص

إن تثبيت النتروجين الجوي وإنتاج الحمص يتأثران بشكل كبير من التراكيز المتزايدة من الملح الذي يشكل عاملا يحد من المردود الزراعي. في هذا السياق، قمنا بمقارنة نوعين من الحمص Flip 84-79C و Flip 79-84 في كميات مرتفعة من كلوريد الصوديوم. الانتاش المتأخر للذور، انخفاض المحصول وحساسية علاقة التعايش في التركيز المرتفع للملح سمح لنا بالاحتفاظ بالنوع Flip 79-84 في المرحلة الثانية جربنا قدرتنا تحمل هذا النوع من الحمص الملوحة في وجود كميتين من الأسمدة الفوسفاتية. رويت الشتلات بمختلف المحاليل الكيميائية: بدون ملح والفوسفات (T)؛ و (S) ماء الملح (كلوريد الصوديوم)، و (PS1) بمحلول (90 كغ × 150 من كلوريد الصوديوم)؛ (PS2) بمحلول (200 كغ × 150 من كلوريد الصوديوم). يتم تحديد استجابة النبات للملوحة بقياس مكونات المعلمات المورفولوجية والفسولوجية والعيشية المردود الزراعي الناتج. يؤثر الملح الزائد في وسط نمو النبات بانخفاض كبير في تشكيل العقد البكتيرية والمحتوى يغيموغلوبين للنوع Flip 79-84. بينما المزيج كلوريد الصوديوم مع الفوسفور وخاصة في الكمية المنخفضة (90 كغ في الهكتار) يحسن الناتج من الحبوب، الكتلة الحيوية النباتية وكفاءة العقيدات البكتيرية. أظهرت النباتات SP1 استجابة مماثلة أو أحسن من النباتات، ونتيجة لذلك أن تشير النتائج أن هذا المزيج له فعالية إيجابية للتخفيف من آثار الحادة للملح وتحسين الإنتاجية الحمص.

LISTE DES ABBREVIATIONS

ICARDA	International Center for Agricultural Research in Dry Areas
ITGC	Institut Technique des Grandes Cultures
SOS	Salt Overly Sensitive
ROS	Formes actives d'oxygène
ABA	Acide abscissique
S	Stress salin
P₂O₅	Pentoxyde de phosphate
TSP	Triple super-phosphate
MDA	Malonydialdéhyde
CA	Activité de la catalase
TCA	Trichlore acétique
PUEI	Phosphorus use efficiency indexes
TRE	Teneur relative en eau
BSA	Biomasse sèche aérienne
BSR	Biomasse sèche racinaire
R/A	Partie racinaire sur partie aérienne
MVF	Matière végétale fraîche
MVS	Matière végétale sèche
Chl a	Chlorophylle (a)
Chl b	Chlorophylle (b)
Lb	Leghémoglobine

Figure 1: Répartition des sols salins du nord de l'Algérie (Insid, 2008).....	5
Figure 2: Induction des voies de signalisation et de régulation de l'homéostasie ionique par la voie SOS (Shi et Zhu 2002, Manchanda et Garg, 2008).	10
Figure 3: Les transporteurs ioniques du sodium au niveau cellulaire (Mansour et <i>al.</i> , 2003).	11
Figure 4: Photographie montrant la diversité des graines des espèces cultivées de légumineuses.....	18
Figure 5: Carte géographique représentant les zones de culture du pois chiche en Algérie (Saxena, 1996).....	20
Figure 6: Schéma montrant le dialogue moléculaire entre le Rhizobium et les racines de la plante ainsi que l'expression des gènes nod de nodulation chez le Rhizobium lors de l'établissement de la symbiose.	24
Figure 7: Structure des facteurs Nod majoritaires produits par <i>S. meliloti</i>	25
Figure 8: Infection par progression intracellulaire du cordon d'infection suite à l'hydrolyse de la paroi du poil absorbant déformé.....	26
Figure 9: Infection par progression intercellulaire du cordon d'infection par crack entry au niveau des cellules épidermiques.....	26
Figure 10: Figure 10 : Infection des poils absorbants par les Rhizobia	26
Figure 11: photographie montrant la progression des filaments d'infection (en bleu) dans la racine de la plante hôte (Oldroyd et Downie 2004).	27
Figure 12: Modèle d'endocytose et de développement des symbiosomes dans les cellules du nodule (Vernié, 2008).	28
Figure 13: Coopération entre les cellules végétales hôtes et les bactéroïdes lors de la fixation de l'azote atmosphérique. Lb : leghémoglobine.....	29
Figure 14: Représentation schématique du symbiosome au sein d'une cellule hôte infectée. (pb, membrane peribactéroïde ; s, symbiosome ; d, vacuole; PBS, espace peribactéroïde.	31
Figure 15: Effet des différentes concentrations de NaCl (0mM, 50mM, 100mM et 150mM) sur la cinétique de germination.....	42
Figure 16: Effet des différentes concentrations en NaCl (0mM, 50mM, 100mM, 150mM) sur la teneur relative en eau.....	45
Figure 17: Effet des différentes concentrations en NaCl (0mM, 50mM, 100mM, 150mM) sur le poids sec aérien.....	47
Figure 18: Effet de différentes concentrations en NaCl (0mM, 50mM, 100mM, 150mM) sur le poids sec racinaire.	47
Figure 19: Effet de différentes concentrations en NaCl (0mM, 50mM, 100mM, 150mM) sur le poids de 100 grains.....	48

Liste des figures

Figure 20: Effet des différentes concentrations en NaCl (0mM, 50mM, 100mM, 150mM) sur la teneur en proline foliaire	50
Figure 21: Effet des différents traitements sur le nombre moyen de nodule/plant.....	52
Figure 22: Effet du NaCl (0, 150 mM) et du phosphore (90, 200 kg h ⁻¹) sur le poids sec aérien.....	54
Figure 23: Effet du NaCl (0, 150 mM) et du phosphore (90, 200 kg h ⁻¹) sur la longueur des racines	55
Figure 24: Effet du NaCl (0, 150 mM) et du phosphore (90, 200 kg h ⁻¹) sur le nombre de ramifications aériennes.....	55
Figure 25: Effet du NaCl (0, 150 mM) et du phosphore (90, 200 kg h ⁻¹) sur la teneur relative en eau des feuilles.....	57
Figure 26: Effet du NaCl (0, 150 mM) et du phosphore (90, 200 kg h ⁻¹) sur l'ouverture des stomates.....	58
Figure 27: Effet du NaCl (0, 150 mM) et du phosphore (90, 200 kg h ⁻¹) sur la teneur en ion sodium des feuilles et des racines.....	61
Figure 28: Effet du NaCl (0, 150 mM) et du phosphore (90, 200 kg h ⁻¹) sur le ratio K ⁺ /Na ⁺ dans les feuilles et les racines.....	62
Figure 29: Effet du NaCl (0, 150 mM) et du phosphore (90, 200 kg h ⁻¹) sur l'accumulation des ions sodium, et phosphore (A) et des ions potassium et chlore (B) en dans les feuilles	63
Figure 30: Effet du NaCl (0, 150 mM) et du phosphore (90, 200 kg h ⁻¹) sur l'efficacité d'utilisation du phosphore des plants.....	65
Figure 31: Effet du NaCl (0, 150 mM) et du phosphore (90, 200 kg h ⁻¹) sur l'efficacité d'utilisation du phosphore des plants.....	67
Figure 32: Effet du NaCl (0, 150 mM) et du phosphore (90, 200 kg h ⁻¹) sur la teneur en protéines et en leghémoglobine des nodules.....	68
Figure 33: Effet du NaCl (0, 150 mM) et du phosphore (90, 200 kg h ⁻¹) sur la teneur en proline des nodules	70
Figure 34: Effet du NaCl (0, 150 mM) et du phosphore (90, 200 kg h ⁻¹) sur la teneur en malonyldialdéhyde et de la catalase des nodules.....	71
Figure 35: Effet du NaCl (0, 150 mM) et du phosphore (90, 200 kg h ⁻¹) sur le nombre de gousse par plante et le nombre de grain par gousse.....	74
Figure 36: Effet du NaCl (0, 150 mM) et du phosphore (90, 200 kg h ⁻¹) sur le rendement en grains	74

Tableau I: Composition chimique des grains de quelques légumineuses et du grain de blé (Pour 100 gramme de MS) (Aykroyd et Doughty, 1982).	21
Tableau II: Génotypes de pois chiche (<i>Cicer arietinum</i> L.) du type kabuli (Ben Mbarek et al., 2011)	33
Tableau III: Analyses physico-chimiques du sol de la station expérimentale d'Oued Smar (Bab Ezouar, Alger)	34
Tableau IV: Effet de différentes concentrations de NaCl (0mM, 50mM, 100mM, 150mM de NaCl) sur la capacité de germination et la durée moyenne de la germination	44
Tableau V: Effet des différentes concentrations en NaCl (0mM, 50mM, 100mM, 150mM) sur le ratio R/A.	48
Tableau VI: Effet du NaCl (0, 150 mM) et du phosphore (90, 200 kg h ⁻¹) sur les teneurs en chlorophylles et en caroténoïdes	60

Introduction	1
Chapitre I: Revue bibliographique	
1. Le stress salin.....	4
1.1 Notion du stress	4
1.2. Salinité et sodicité.....	4
1.3. Effets de la salinité sur les plantes.....	6
1.3.1. Stress ionique et stress osmotique	7
1.3.2. Déficience nutritionnelle	8
1.3.3. Effets du stress salin sur la symbiose	8
2. Mécanismes de réponse et de défense de la plante à la salinité	8
2.1. Homéostasie ionique	9
2.2. Ajustement osmotique.....	11
2.3. Régulation antioxydante.....	12
2.4. Rôle des phytohormones dans la tolérance a la salinité	12
3. Le phosphore	13
3.1. Importance du phosphore et réponse des plantes à la déficience en phosphore.....	13
3.2. Solubilisation du phosphore et bactéries solubilisant le phosphore	15
4. Le pois chiche (<i>Cicer arietinum</i> L.).....	18
4.1. Origine et position taxonomique du pois chiche	18
4.2. Importance économique du pois chiche	19
4.3. Valeur nutritive du grain de pois chiche	20
4.4. Caractéristiques botaniques	21
4.5. Exigences culturales du pois chiche	22
4.6. Maladies du pois chiche	22
4.7. Importance agronomique du pois chiche et fertilité	23
5. La symbiose <i>Rhizobium</i> - légumineuses	24
5.1. Etablissement de la symbiose	24
5.1.1. Etape de reconnaissance et d'attraction.....	24
5.1.2. Etape d'infection.....	25
5.1.3. Organogénèse du nodule.....	27
6. Types de nodules	28
7. Fonctionnement du nodule	29
8. Microsymbionte : <i>Mesorhizobiumciceri</i>	31

Chapitre II: Matériel et Méthodes

1. Matériel végétal.....	33
2. Mise en place de la culture	31
2. 1.Travail du sol.....	34
2. 2.Dispositif expérimental	34
2. 2. 1. Irrigation:	35
3. Etude de la germination des semences	35
4. Effets du stress salin avec ou sans phosphate sur la croissance et le développement des deux variétés.....	36
4. 1.Nombre de ramifications	36
4. 2.Mesure de la longueur racinaire	36
4. 3.Mesure de la biomasse sèche des plantes (PS).....	36
5. Effets du stress salin sur les composantes du rendement	36
5. 1.Nombre de gousse, le poids de 100 grains et le rendement	36
6. Effet du stress salin sur le statut hydrique des plantes.....	37
6. 1.Mesure de la teneur relative en eau des feuilles (TRE).....	37
6. 2.Mesure de l'ouverture des stomates	37
7. Dosage des pigments photosynthétiques	37
8. Caractères symbiotiques.....	38
8. 1.Paramètres symbiotiques	38
8. 1. 1. Nombre de nodules	38
8. 1. 2. Poids sec des nodules	38
8. 2.Paramètres physiologiques des nodules	38
8. 2. 1. Teneur en leghémoglobine	38
8. 2. 2. Teneur en protéines	39
8. 2. 3. Teneur en proline	39
8. 2. 4. Système antioxydant	40
8. 2. 5. Activité enzymatique de la catalase des nodules	40
9. Dosage des éléments minéraux dans la plante.....	40
9.1. Dosage du sodium et potassium	40
9. 2.Dosage du chlore	40
9. 3.Dosage du phosphore	40

9. 4. Indice de d'efficacité d'utilisation du phosphore	40
10. Analyse statistique	40
Chapitre II: Résultats et Discussion	
1. Effets du stress salin sur la germination de deux variétés de <i>Cicer arietinum</i> L...	42
2. Effets du stress salin.....	45
2.1. Effet du stress salin sur la croissance de deux variétés de pois chiche	45
2.1.1. Effet du stress salin sur la teneur relative en eau.....	45
2.1.2. Effet de la salinité sur la biomasse sèche du pois chiche	46
2.1.3. Effet du stress salin sur le poids de 100 grains	48
2.2. Effets du stress salin sur la physiologie du pois chiche	50
2.2.1. Effet de la salinité sur la teneur en proline des feuilles.....	50
2.2.2. Effets du stress salin sur la nodulation de <i>Cicer arietinum</i> L.	51
3. Effet de la salinité et du phosphate sur les plants de <i>Cicer arietinum</i> L.	54
3. 1. Effet de la salinité et du phosphate sur la croissance	54
3. 2. Effet de la salinité et du phosphate sur le statut hydrique de la plante	57
3. 3. Effet de la salinité et du phosphate sur les pigments	59
3.3.1. Teneur en chlorophylle.....	59
3. 3.2. Effet de la salinité et du phosphate sur la composition minérale des plantes (Na^+ , K^+ , Cl^- et le PO_4^{2-})	61
4. Effet de la salinité et du phosphate sur l'efficacité d'utilisation du phosphore	65
5. Effet de la salinité et du phosphate sur la symbiose	67
5.1. Effet sur la nodulation et le fonctionnement des nodules	67
5.2. Effet sur les protéines et la leghémoglobine nodulaire	68
5.3. Effet du sel et du phosphate sur la teneur en proline	64
5.4. Effets du sel et du phosphate sur la réponse anti-oxydante.....	70
5.5. Effet de la salinité et le phosphate sur les composantes du rendement.....	73
6. Conclusion générale	76
Références bibliographiques	79

Introduction

Dans le monde, des millions d'hectares de terres cultivées sont affectées par le sel, ce qui rend la salinité une contrainte majeure pour la production végétale. En effet, 10 à 15% des surfaces irriguées dans le monde souffrent, à des degrés divers, de problèmes de salinisation ; 0,5 à 1% sont perdues chaque année et près de la moitié des surfaces irriguées sont menacées à long terme (Lepri, 2006).

En réponse à la demande alimentaire croissante, les pays du Maghreb dont l'Algérie ont consenti d'importants investissements pour la construction de grands ouvrages hydrauliques afin d'irriguer davantage les cultures (Ben Mechlia et Oussar, 2002). Cependant, l'irrigation avec des eaux souvent riches en sels contribue énormément à la salinisation des terres agricoles productives.

En Algérie, les dépressions salées désignées sous le nom de sebkha et chott s'étalent sur 24% de la surface des terres cultivables (Halitim, 1973). Ce phénomène de salinisation est plus marqué sous les climats aride et semi-aride du fait des températures élevées durant pratiquement toute l'année, de la faible pluviométrie, du manque d'exutoire et de l'absence de drainage efficient (Szablocs, 1989). Ce problème est observé dans plusieurs régions du pays notamment à Relizane, Chélif, Ain Témouchent, les Hautes plaines de Sétif et de Constantine. La situation grave dans laquelle se trouvent certains périmètres irrigués de l'Oranie, illustre parfaitement les dimensions de ce phénomène (Kessiran, 2003) qui provoque la dégradation des terres qui sont soustraites chaque année du système agricole (Halitim, 1985).

La salinité, qu'elle soit du sol ou de l'eau, est l'une des contraintes majeures pouvant limiter significativement la productivité des terres agricoles (Munns et Tester, 2008). Elle diminue non seulement la production de la plupart des cultures, mais également elle influe énormément sur les propriétés physico-chimiques du sol. Face à ce problème, les plantes montrent une variabilité de réponses résultant de l'interaction complexe entre les paramètres morphologiques, physiologiques et biochimiques (Singh et Chatrath, 2001). En effet, le stress salin induit chez les plantes une réduction de la croissance et de la photosynthèse, un rabougrissement des tiges et une réduction de la taille des feuilles provoquant une réduction du rendement des cultures notamment les espèces légumineuses classées comme sensibles à la contrainte saline (Singh et Chatrath, 2001).

Cicer arietinum L. ou pois chiche est une légumineuse cultivée dans le monde entier. Elle présente un grand intérêt tant sur le plan nutritionnel, par son apport en protéines, que sur le plan agronomique par sa contribution à l'enrichissement du sol en azote grâce à la fixation symbiotique de l'azote (Duc et *al.*, 2010).

Le pois chiche présente une source très importante de protéines (25,3 à 28,9 %) pour l'alimentation humaine (Hulse et *al.*, 1991). Cette teneur élevée en protéines est dû au pouvoir de réduire l'azote atmosphérique en symbiose en interaction avec les bactéries *Mesorhizobium cicer*. Cette interaction permet d'alimenter directement la plante hôte en azote grâce à leur capacité à réduire l'azote atmosphérique. En effet, l'activité fixatrice d'azote N₂ chez les bactéries permet de satisfaire environ 90% des besoins de la plante hôte en azote (Berrada et Fkiri-Benbrahim, 2014). De même grâce à la symbiose, le couple symbiotique permet d'enrichir le sol en azote et de maintenir et/ou de restaurer la fertilité des sols réduisant ainsi l'utilisation des fertilisants azotés chimiques économiquement coûteux et écologiquement nuisibles (Berrada et Fkiri- Benbrahim, 2014).

L'interaction entre les deux symbiotes se traduit par la formation de nodules racinaires qui permettent la fixation et la réduction de l'azote en ammoniac. Cependant, l'efficacité de la fixation symbiotique de l'azote dépend du génotype de la plante hôte, de la souche de *Rhizobium*, des facteurs pédoclimatiques et de l'environnement. La symbiose chez le pois chiche, comme pour toutes les légumineuses, montre une sensibilité élevée vis-à-vis de la salinité. Une sensibilité qui s'exprime par une réduction de la survie des *Rhizobia* dans le sol, du nombre et du poids des nodules, de l'activité de la nitrogénase ; enzyme de la réduction de l'azote moléculaire et par conséquent la réduction de l'azote total dans la plante (Rai, 1992). Selon Elsheikh et Wood (1995), l'interaction symbiotique serait plus sensible au stress salin que la croissance végétale de la plante hôte.

Des méthodes efficaces sont requises pour améliorer le rendement de nombreuses variétés de plantes cultivées en présence de sel. Parmi ces méthodes, la sélection de variétés pouvant se développer et fournir de bons rendements en condition de stress salin. Toutefois, le choix des variétés tolérantes aux sels est tributaire d'une connaissance approfondie des mécanismes physiologiques et biochimiques mis en jeu par les plantes pour s'adapter à cette contrainte (Trinchant et *al.*, 2004).

Généralement, l'amélioration de la réponse des espèces végétales à la salinité du sol peut être appréhendée par deux approches, soit à partir de la sélection des géotypes résistants

au stress salin, soit par l'amélioration du milieu de culture des plantes et ceci par la modification de la composition physico-chimique du sol (Flowers et *al.*, 2010). Souvent, une approche combinée est plus efficace (Rao et Vadez, 2016). En effet, les travaux de López-Hernandez et *al.*, (2004), ont montré que l'addition de fumier d'animaux et du phosphore organique et inorganique dans le sol augmente la biomasse microbienne et améliore la qualité des sols salins .

Le phosphore est un constituant fondamental pour la vie des plantes. Il rentre dans la composition des macromolécules comme les acides nucléiques, il joue un rôle dans le transfert d'énergie des réactions métaboliques et renforce également la résistance des plantes et contribue à la croissance des racines et au contrôle de la répartition des photosynthétats entre les feuilles et les graines en formation (Marschner, 1993). Dans ce contexte, nous proposons une alternative visant à modifier et/ou corriger l'environnement salin du sol par l'apport du phosphate comme engrais utilisé pour l'amélioration du développement de la plante et le rendement de la culture.

Dans ce travail, nous proposons dans une première partie, d'évaluer le comportement de deux variétés de pois chiche soumises à un stress salin afin de sélectionner une variété qui servira de matériel pour la deuxième partie.

La deuxième partie du travail consiste à appréhender l'effet de la fertilisation phosphatée combinée à la salinité sur le couple symbiotique *C. arietinum* L - *M. ciceri*, afin d'évaluer la réponse de la variété sélectionnée de pois chiche dans différentes conditions de culture, en présence et en absence de sel et de phosphate. La réponse est estimée par la mesure de paramètres liés à la croissance des plantes, à la nodulation, ainsi qu'au rendement en grains.

L'hypothèse de départ est qu'il existerait un lien entre la nutrition phosphatée et la tolérance au stress salin dans le métabolisme cellulaire des plantes de pois chiche. Du fait de l'apport du fertilisant phosphaté dans le sol salinisé, contribue t'il à l'amélioration de l'environnement rhizosphérique des plantes ? Existerait-il une influence de cet apport sur l'efficience symbiotique des nodules et le rendement de la culture du pois chiche ?

Chapitre I: Revue bibliographique

1. Le stress salin

1. 1 Notion du stress

Claude Bernard fut le premier à dégager une notion physiologique du stress en 1868. Selon lui, les réactions déclenchées par le stress visent à maintenir l'équilibre de notre organisme. Levitt (1980) décrit le stress en l'abordant dans son aspect physique, comme étant une force exercée par unité de surface d'un objet. En réponse au stress, l'objet oppose une déformation, ou un changement de dimensions.

Pour Grime (1979), toute contrainte externe au niveau d'un écosystème qui limite la productivité en deçà de la potentialité génétique d'une plante peut être considérée comme stress. L'ensemble des réactions internes déclenchées par le stress a été nommé homéostasie par le physiologiste américain Bradford (1915). L'association des trois notions stress-homéostasie-adaptation constitue l'approche biologique du stress et permet notamment d'expliquer l'influence du stress qui est de permettre, lorsqu'il est appliqué dans certaines limites, l'adaptation à l'environnement, et donc au maintien de la vie.

Au niveau cellulaire, un stress est causé par la variation d'un paramètre environnemental qui entraîne la mise en place de mécanismes de régulation de l'homéostasie. Les organismes sont généralement soumis à deux types de stress: les stress biotiques (dus à une agression par un autre organisme) et les stress abiotiques (dus principalement aux facteurs de l'environnement dont le stress salin ou la salinisation des sols) (Zhu, 2002; Vincent, 2006).

1. 2. Salinité et sodicité

Un sol est dit salin lorsqu'il y'a une accumulation de sels dans les horizons de surface. Il est dit sodique, lorsqu'il y'a accumulation des ions sodium dans le sol.

La salinisation du sol dépend essentiellement du régime hydrique et des sources de sel. En effet, lorsque le climat est chaud et sec, les sels entraînés, par les eaux, par capillarité suivant le flux d'évaporation; s'accumulent en surface et causent ainsi le dépôt des sels dans les couches superficielles du sol. Les sels, les plus communs présents dans la solution du sol, sont les sels de calcium et les sels de sodium qui libèrent des cations Ca^{2+} , Na^+ et

des anions : SO_4^{2-} , CO_3^{2-} , NO_3^{2-} . En effet, un sol devient sodique lorsque la proportion d'ion Na^+ dépasse celle des autres ions de plusieurs ordres de grandeur (Essington, 2004).

Les principales sources de s sont la roche mère et les précipitations. Ces dernières contiennent de faibles quantités de sel, mais avec le temps, le sel déposé peut s'accumuler en quantités considérables dans le sol (Manchanda et Garg, 2008). L'irrigation des cultures avec une eau de mauvaise qualité contribue également à l'accumulation de sel dans sols irrigués. L'intrusion d'eau salée (eau de mer, le tsunami) sur la terre, peuvent déposer des quantités énormes de sels dans les sols des terres côtières (Manchanda et Garg, 2008).

De l'ensemble des sols cultivés du monde, 23% sont affectés par des problèmes de salinité (Keren, 2000). Les sols salins couvrent 397 millions d'hectares et les sols sodiques 434 millions d'hectares soit environ 800 millions dans le monde (FAO, 2008). Les données actuelles se résument dans le bassin méditerranéen à 16 millions d'hectares de sols salins dont 3,2 millions, soit 20 % des sols irrigués sont localisés aussi bien au Nord qu'au Sud de l'Algérie (Szablocs, 1989, Rouabhia et Djabri, 2010).

Actuellement, sur 1,5 milliard d'hectares de terre cultivée dans le monde, environ 20% des sols, sont atteint par ce problème et sont devenus salins, sodiques ou sujet à une teneur excessive en sel (Sheng et *al.*, 2008). Ce chiffre ne cesse d'augmenter d'une année à l'autre en raison de la mauvaise qualité de l'eau d'irrigation, de l'intensification des cultures, des systèmes de drainage non adéquat (Hamdy, 1999) (Fig. 1).

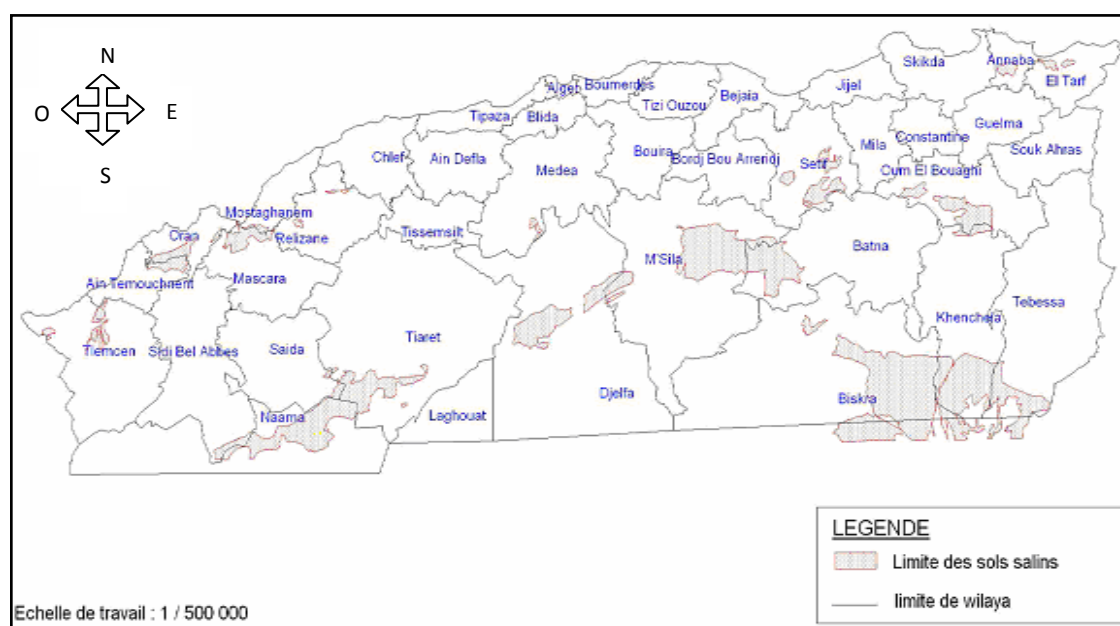


Figure 1: Répartition des sols salins du nord de l'Algérie (Insid, 2008).

La salinisation d'un sol impliquant la présence d'une source de sel qui peut être soit naturelle soit provenant de l'altération de roches contenant des minéraux sodiques, potassiques et magnésiques, soit de l'altération de roches volcaniques, est appelé salinisation primaire (Cherbuy, 1991).

La salinisation secondaire est anthropique généralement liée à l'irrigation. Le recours à l'irrigation complémentaire est limité par la qualité de l'eau d'irrigation qui est de plus en plus chargée en sels. En effet, l'irrigation avec une eau de forte concentration en minéraux avec les mauvais systèmes de drainage des sols, pour permettre le lessivage de ces minéraux, provoquent une salinisation secondaire suite à l'accumulation des sels dans le sol. L'eau stagnante s'évapore, et les minéraux s'accumulent à des concentrations qui augmentent progressivement dans le sol par la montée des sels, sous l'effet de capillarité (Rouabhia et Djabri, 2010).

L'accumulation des sels dans les couches superficielles du sol affecte, d'une part, la capacité des plantes à absorber l'eau et, d'autre part augmente l'imperméabilité du sol réduisant ainsi l'infiltration naturelle de l'eau. A très long terme, ce processus rend le sol très salin; c'est le cas des sols des Chotts et Sebkhass qui présentent une croûte de sels à la saison sèche.

La salinisation du sol constitue une contrainte majeure à la productivité et au développement agricole (Abdel Latef, 2010). En effet, elle est l'un des facteurs abiotiques majeurs qui réduit le rendement des espèces cultivées (Chamekh, 2010).

1. 3. Effets de la salinité sur les plantes

La réponse des plantes au stress est variable selon leur adaptation. Les plantes dites halophytes sont adaptées aux fortes concentrations en sel. Cependant, les glycophytes, dont les espèces cultivées, ne supportent que de très faibles teneurs en sel dans le sol.

La présence de quantités excessives de sels solubles dans le sol a des effets négatifs sur les plantes. En effet, la salinité provoque, un déséquilibre ionique et/ou une toxicité ionique, un stress osmotique et une déficience nutritionnelle.

Le potentiel hydrique et le potentiel osmotique des plantes deviennent de plus en plus négatifs avec l'augmentation de la salinité (Romeroaranda et *al.*, 2001 in Parida et Das, 2005). Durant les premières phases du stress, la capacité d'absorption de l'eau à partir des racines diminue en raison de l'accumulation des sels dans le sol ; d'où le stress salin

engendre un stress osmotique qui induit une diminution du potentiel hydrique provoquant dans un premier temps l'arrêt de la croissance cellulaire, puis de la division cellulaire (Shannon et Grieve, 1999). Dans un deuxième temps, il provoque la fermeture des stomates réduisant ainsi l'efficacité photosynthétique des plantes.

Par ailleurs, le stress entraîne une diminution de la biomasse fraîche et sèche des feuilles, tiges et racines (Chartzoulakis et Klapaki, 2000). L'effet du sel se voit aussi dans la réduction significative de la hauteur de la plante, du nombre de feuilles, de la chute des feuilles, de la longueur des racines et de la surface racinaire chez la tomate (Mohammad et al., 1998). Toutefois, chez le coton le taux élevé de NaCl se manifeste par une croissance en longueur des racines et une augmentation du ratio partie racinaire/partie aérienne (Meloni et al., 2001). Channon et Grieve (1999) ont constaté que les racines peuvent également devenir minces ou épaisses selon la sensibilité des espèces et des variétés.

1.3.1. Stress ionique et stress osmotique

Les effets néfastes de la salinité sur la croissance des plantes sont généralement associés au niveau élevé de toxicité des ions sodium et chlore et à la diminution de l'absorption de l'eau du sol du fait de sa pression osmotique élevée. Ces contraintes provoquent des perturbations multiples au niveau métabolique, moléculaire, biochimique et physiologique (Munns 2002, Yamaguchi et Blumwald 2006).

La contrainte hyperionique due à la concentration élevée en NaCl induit une augmentation du taux des ions Na^+ et Cl^- accompagnée d'une diminution des taux des ions Ca^{2+} , K^+ et Mg^{2+} chez de nombreuses plantes (Khan, 2001; Munns, 2005). De même, la salinité diminue le rapport Na^+/K^+ chez *Vicia faba* (Gadallah, 1999). Une diminution due aux fortes concentrations de Na^+ qui inhibent l'absorption des ions K^+ , un ion essentiel pour la croissance et le développement de la plante. La réduction de cet ion potassium se traduit par une faible productivité et peut même conduire à la mort du végétal (Yokoi et al., 2002).

Sur le plan métabolique, le taux de protéines solubles diminue en conditions de hautes concentrations de salinité suite à leur dégradations permettant une accumulation des acides aminés dans le cytoplasme des cellules stressées (Agastian et al., 2000). Plusieurs études physiologiques ont démontré que l'accumulation des sucres (tels que le saccharose) et leurs dérivés polyols principalement suite à l'hydrolyse de l'amidon est stimulée par un stress salin (Phillips et al., 2002, Majumder et al., 2013).

Le stress salin induit aussi un stress oxydant favorisant la production de formes actives d'oxygène ou ROS, telles que l'oxygène singulet, l'anion superoxyde, le radical hydroxyle et le peroxyde d'hydrogène, (Ahmad et Umar, 2011). L'accumulation de ces ROS induit des dommages oxydatifs au niveau du système membranaire ainsi que sur les protéines, les lipides et l'ADN perturbant ainsi les fonctions cellulaires essentielles des plantes dont la réduction de l'activité photosynthétique suite à la diminution de la protochlorophylle (Munns, 2005).

1. 3. 2. Déficience nutritionnelle

La salinité est susceptible de perturber la nutrition minérale des plantes en interférant avec le prélèvement de certains éléments essentiels comme, le phosphate, le potassium et le calcium par compétition au niveau des sites d'absorption membranaire ce qui affectent les fonctions physiologiques de la plantes (Zid et Grignon 1991, Zhu 2003).

1. 3. 3. Effets du stress salin sur la symbiose

La symbiose *Rhizobium*-légumineuse est une relation complexe nécessitant des conditions optimales pour sa réalisation. En effet, les facteurs environnementaux affectent tous les aspects de la fixation de l'azote atmosphérique, en particulier l'acidité, la température et la salinité (Zahran, 2001). Pour le bon fonctionnement de la symbiose *Rhizobium*-légumineuse, une bonne synergie entre les deux partenaires symbiotiques et les facteurs édapho-climatiques du milieu est indispensable.

La salinité affecte l'initiation, le développement et le fonctionnement des nodules. Selon Reddell (1993), l'interaction symbiotique est plus sensible à la salinité que la plante hôte et la bactérie seules. L'activité nodulaire serait plus sensible à la salinité que la formation des nodules (Bekki et al., 1987). En effet, le NaCl, inhibe l'activité de la nitrogénase et la respiration des nodules en affectant la conductance de l'oxygène dans les nodules (Serraj et Sinclair, 2002).

2. Mécanismes de réponse et de défense de la plante à la salinité

Les événements précoces de l'adaptation des plantes aux stress commencent par les mécanismes de perception puis de signalisation via une transduction de signaux et de messagers afin d'activer les diverses réponses physiologiques et métaboliques et même l'expression des gènes de réponse aux stress. Le signal du stress extracellulaire est d'abord

perçu par les récepteurs membranaires qui vont par la suite activer une cascade complexe de signaux intracellulaires dont les ions Ca^{2+} , la voie de l'acide abscissique, via le complexe protéiques SOS, activation des protéines kinases (MAPK), la signalisation par l'éthylène et finalement par la variation du pH cytoplasmique.

La stratégie adoptée par la plante pour survivre en conditions de stress salin consiste à préserver les fonctions métaboliques et physiologiques, à rétablir l'homéostasie ionique et osmotique et finalement protéger l'intégrité des structures cellulaires. Ceci est assuré par :

- ✓ le maintien d'une homéostasie ionique dans les cellules par l'absorption d'ions et la compartimentation est non seulement crucial pour la croissance normale de la plante, mais est également un processus essentiel pour la croissance au cours du stress salin. En effet, pour préserver le fonctionnement des réactions métaboliques dans le cytosol, le potentiel ionique doit être constant. Par conséquent, l'excès de sel est soit transporté vers la vacuole ou séquestré dans les tissus âgés, protégeant ainsi la plante (Zhu, 2003).
- ✓ La biosynthèse des osmoprotectants et des solutés compatibles. Les légumineuses comme toutes les plantes répondent au stress salin par une régulation osmotique en accumulant des solutés tels que la proline, les sucres, les sucres alcools, la glycine bêtaïne pour protéger la plante, maintenir l'équilibre de l'eau entre la cellule végétale et l'environnement et stabiliser les macromolécules (Chen et Murata 2002; Rontein et *al.*, 2002) ; en effet, un excès d'ions dans le cytosol provoque la dégradation des protéines et des changements dans la fluidité des membranes.
- ✓ L'activation du système antioxydant par l'activation des enzymes antioxydantes et la synthèse de composés antioxydants. (Gupta and Huang, 2014).

2. 1. Homéostasie ionique

L'augmentation de la concentration en ions sodium dans le milieu extérieur active les complexes récepteurs – canaux cationiques de la membrane plasmique des cellules racinaires. Ces complexes permettent l'augmentation de la concentration cytoplasmique en ions calcium via son entrée de l'extérieur et/ou sa libération à partir du réticulum endoplasmique. La concentration élevée en Ca^{2+} déclenche au niveau du cytoplasme une cascade de signalisation par phosphorylation et déphosphorylation des protéines intermédiaires (transduction du signal) qui aboutit à l'activation de l'expression des gènes SOS, activation des transporteurs de la membrane plasmique et du tonoplasme liés au flux

du sodium (Pardo, 2010). Cette réponse permet de limiter la concentration en Na^+ cytoplasmique via :

- La compartimentation vacuolaire du Na^+ par le transport antiport Na^+/H^+ du tonoplaste (NHX1)
- La réduction l'entrée du Na^+ via les transporteurs de la membrane plasmique HKT1 et AKT1
- L'activation de la sortie du Na^+ vers le milieu extracellulaire via le transporteur SOS1 qui à son tour est activée par le complexe protéique SOS-SOS2.

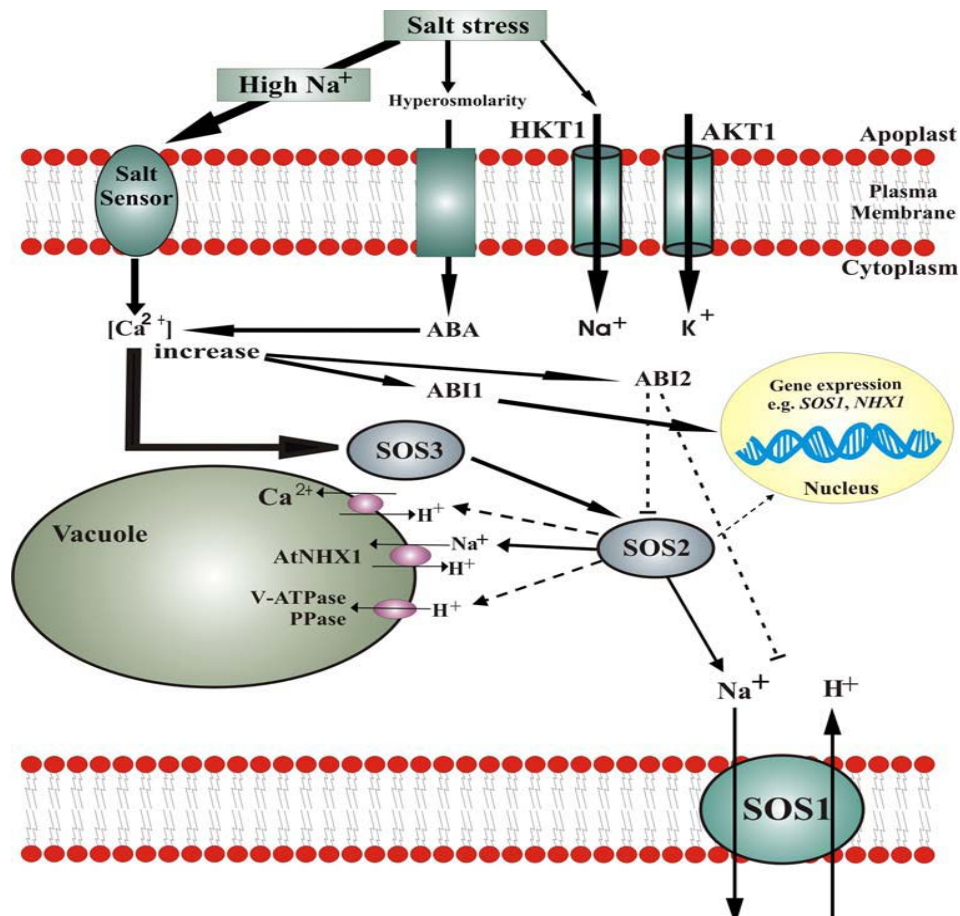


Figure 2: Induction des voies de signalisation et de régulation de l'homéostasie ionique par la voie SOS (Shi et Zhu 2002, Manchanda et Garg, 2008).

Ainsi, grâce à ces réponses, la cellule parvient à maintenir une faible concentration en sodium dans le cytoplasme, minimisant ainsi son effet toxique; de plus, l'augmentation concomitante de la concentration en sodium dans la vacuole engendre une forte pression osmotique favorisant l'absorption d'eau et donc améliorer la turgescence des cellules (Apse et Blumwald, 2007).

Selon le type de flux du sodium dans la plante lors d'un stress salin, on distingue des plantes dites «incluser», essentiellement des halophytes, caractérisées par un flux ascendant de sodium qui sera accumulé dans les parties aériennes au niveau des vacuoles et des plantes de type «excluser» caractérisant les glycophytes, chez lesquelles la plus grande partie du sodium absorbé et véhiculé vers les feuilles est réexportée vers les racines via le phloème ou initialement stockée dans les racines (Berthomieu et *al.*, 2003).

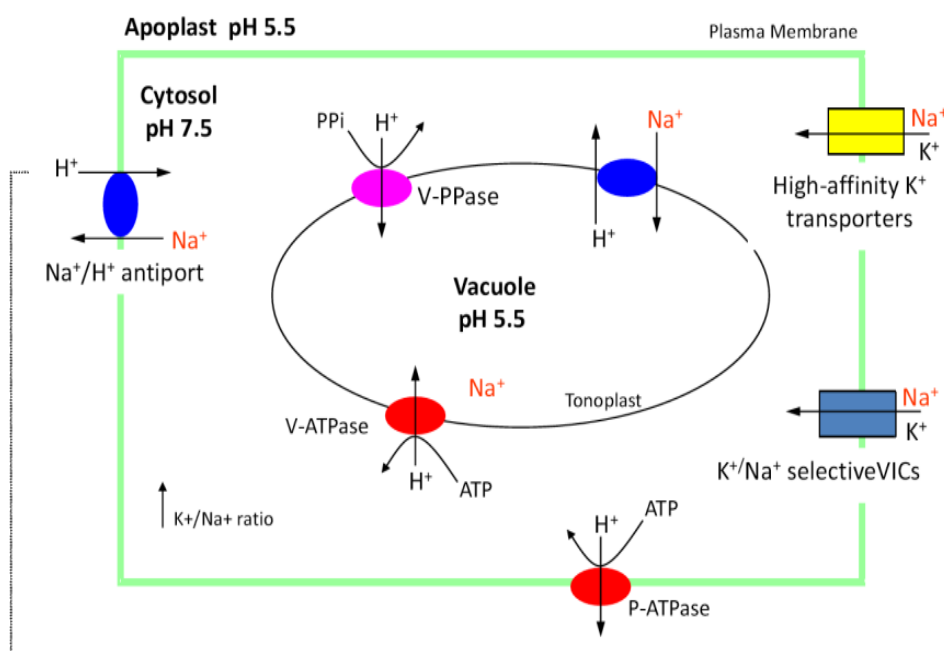


Figure 3: Les transporteurs ioniques du sodium au niveau cellulaire (Mansour et *al.*, 2003).

2.2. Ajustement osmotique

Les solutés compatibles ou les osmolytes, proline (Tahir et *al.*, 2012), glycine bêtaïne (Hoque et *al.*, 2007), sucres solubles (Kerepesi et Galiba, 2000), et polyols (Saxena et *al.*, 2013) sont des composés organiques chimiquement diversifiés non chargés, solubles, n'interférant pas avec le métabolisme cellulaire, même à haute concentration. Les osmolytes sont synthétisés et accumulés en quantités variables entre les différentes espèces de plantes. Le rôle de ces osmolytes est de protéger les structures cellulaires et de maintenir l'équilibre osmotique à l'intérieur de la cellule par l'intermédiaire d'influx continu d'eau (Hasegawa et *al.*, 2000). La proline accumulée au cours du stress ne permet pas seulement la tolérance envers le stress, mais sert également comme une réserve d'azote organique. La proline est synthétisé soit à partir du glutamate ou de l'ornithine. Cependant,

lors du stress osmotique le glutamate constitue le précurseur primaire de la proline (Gupta et Huang, 2014).

2.3. Régulation antioxydante

Les stress abiotiques dont la salinité peuvent provoquer des perturbations des chaînes de transport d'électrons dans les chloroplastes et les mitochondries. Dans ces conditions, l'oxygène moléculaire (O_2) agit comme un accepteur d'électrons, en donnant lieu à l'accumulation de ROS. L'oxygène singulet (1O_2), le radical hydroxyle ($OH^\cdot$), le radical superoxyde et le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) sont tous des composés fortement oxydants et donc potentiellement dangereux pour l'intégrité des cellules (Groß et *al.*, 2013). Le système antioxydant, y compris les enzymes antioxydantes et composés non enzymatiques, interviennent dans la détoxification des ROS. La tolérance à la salinité est positivement corrélée avec l'activité des enzymes anti-oxydantes, telles que la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT), la glutathion peroxydase (GPX), l'ascorbate peroxydase (APX), et la glutathion réductase (GR) et à l'accumulation de composés antioxydants non enzymatiques comme les composés phénoliques, les flavonoïdes et l'acide ascorbique (Asada, 1999).

2.4. Rôle des phytohormones dans la tolérance a la salinité

L'Acide abscissique (ABA) est une phytohormone clé dans la tolérance de la plante au stress. L'acide abscissique ABA est un signal cellulaire vital qui module l'expression d'un certain nombre de gènes de la réponse au de déficit hydrique et à la salinité.

L'accumulation d'ABA en conditions de stress induit la fermeture des stomates ce qui réduit la perte en eau. Cette hormone stimule l'expression des gènes impliqués dans la réduction de l'influx d'eau et d'ions dans la plante en activant les protéines aquaporines (Blumwald et *al.*, 2004). La relation positive entre l'accumulation de l'ABA et la tolérance à la salinité a été au moins partiellement attribuée à l'induction de l'accumulation d'ions (K^+ , Ca^{2+}) et de solutés compatibles, tels que la (proline et de sucres), dans racines, réduisant ainsi l'absorption de Na^+ et Cl^- (Gurmani et *al.*, 2011).

3. Le phosphore

Le phosphore (P) rentre dans la composition des macromolécules telles que les acides nucléiques et a un rôle dans les fonctions de transfert d'énergie des réactions métaboliques de biosynthèses et de dégradation. C'est donc un élément nutritif essentiel pour la croissance des végétaux et sa déficience limite sévèrement les rendements agricoles (Rao *et al.*, 2002). Le phosphate représente en moyenne 0,05% de la composition du sol dont 0,1% qui est utilisable par les plantes (Xiong *et al.*, 2002). Toutefois, la plus importante fraction du phosphore dans le sol est sous une forme minérale non soluble dans l'eau et donc inutilisable par les plantes. A la différence des nitrates et du sulfate, le phosphate n'est pas réduit dans les plantes mais reste sous sa forme oxydée (Marschner, 1993).

De nos jours, l'agriculture dépend essentiellement de l'apport régulier d'engrais phosphaté. Cet apport indispensable en P fait de cette ressource non renouvelable un produit non substituable. Le Maroc, la Chine et les États-Unis sont les trois principaux producteurs de phosphate de roche dans le monde. Ils détiennent plus que 80 % des gisements exploitables constitués de réserves et ressources potentielles mais à durée de vie limitée. Ces gisements se répartissent en deux groupes suivant leur origine géologique: les gisements magmatiques (dépôts volcaniques) et ceux sédimentaires qui tiennent leur origine des innombrables débris d'animaux marins.

Cet élément nutritif est absorbé par les plantes, en tant qu'anion orthophosphate monovalent (H_2PO_4^-) et/ou divalent (HPO_4^{2-}), chacun représentant 50% du phosphore total à un pH proche de la neutralité (pH 6 à 7). A pH 4-6, l'anion orthophosphate monovalent H_2PO_4^- représente environ 100% du phosphore total en solution et à pH 8, l'anion monovalent H_2PO_4^- ne représente que 20% et l'anion divalent HPO_4^{2-} , 80% du phosphore total.

3. 1. Importance du phosphore et réponse des plantes à la déficience en phosphore

Le phosphore est absorbé principalement pendant la croissance végétative; la majeure partie du phosphore absorbé est transférée dans les fruits et les graines pendant les étapes de reproduction. Les plantes déficientes en phosphore montrent un retard de croissance, une réduction de la croissance des cellules et des feuilles, une réduction de la respiration et de la photosynthèse et les feuilles sont souvent de couleur vert foncé (concentration plus

élevée en chlorophylle et augmentation de la production d'anthocyanes) (Zapata et Roy, 2004).

L'absence de phosphore assimilable par les plantes dans le sol est compensée par un apport de fertilisants phosphatés sous forme de P_2O_5 (tri-superphosphate). En effet, à partir du phosphore naturel sont élaborés les fertilisants minéraux après un traitement à l'acide produisant une forme dite «assimilable» car soluble dans l'eau (Black, 1986).

L'approvisionnement en phosphore pendant les étapes de la reproduction règle la répartition des photosynthétats entre les feuilles-sources et les organes reproducteurs, ceci étant essentiel pour les légumineuses fixatrices d'azote (Marschner, 1993). Le phosphore a pour rôle de renforcer la résistance des plantes, de contribuer à la croissance et au développement des racines, à la fructification et à la formation de la graine (Marschner, 1993).

La capacité d'utilisation du phosphore du sol est un paramètre important pour le développement des plantes et le rendement des cultures. En effet, La déficience en phosphore affecte la multiplication des *Rhizobia* dans la rhizosphère réduisant ainsi la probabilité d'infection, inhibe l'activité symbiotique des plantes et la croissance des nodosités (Ribet et Drevon, 1995). Il importe donc d'améliorer l'efficacité d'utilisation du phosphore P par les cultures afin de minimiser les pertes en phosphore vers les écosystèmes aquatiques.

La carence en phosphore provoque chez les légumineuses une réduction du nombre de nodules, de la biomasse nodulaire et de l'activité nitrogénasique (Vadez et *al.*, 1996; Qiao et *al.*, 2007). En réponse à la déficience en phosphore dans les sols, les plantes adoptent deux stratégies lui permettant d'équilibrer entre la demande interne en phosphore et la disponibilité de cet ion dans le sol.

Du point de vue agronomique, deux paramètres caractérisent l'efficacité avec laquelle le phosphore P est utilisé par la plante:

- ✓ *l'efficacité d'utilisation* du phosphate représente la quantité de matière sèche totale que peut produire une plante donnée pour chaque unité de phosphore P prélevée. Elle est exprimée en $kg\ MS\ (mg\ P)^{-1}$. Elle correspond à la stratégie interne des plantes qui consiste en l'optimisation métabolique du phosphore par l'amélioration de l'efficacité énergétique de l'utilisation du phosphore P

en produisant plus de biomasse végétale sèche par unité de P consommée (Alkama et *al.*, 2012)

- ✓ *l'efficacité d'acquisition du phosphate* exprime l'aptitude d'une plante à prélever son phosphate. Elle est exprimée en unité de phosphore P prélevée par (unité de surface)⁻¹ ou en mg P cm⁻¹ de racine (Marschner, 1995). Elle correspond à la stratégie externe qui d'une part consiste à développer le système racinaire, par l'augmentation de la surface, du volume des racines et l'abondance de la chevelure racinaire et d'autre part, une sécrétion des protons, d'acides organiques et de phosphatases, dont le rôle est de diminuer le pH des sols d'où l'activation du transport symport ($H^+ / H_2PO_4^-$) (Plassard et *al.*, 2015) et de dissoudre le phosphore P insoluble du sol (Tang et *al.*, 2004; Ström et *al.*, 2005)

3.2. Solubilisation du phosphore et bactéries solubilisant le phosphore

Dans les sols agricoles, la dissolution des phosphates inorganiques est assurée par les microorganismes solubilisant le phosphate (PSB) du sol (bactéries, champignons et algues) et retour les plantes fournissent de l'énergie sous forme de glucides (Goldstein, 1995). Bien que ces microorganismes soient généralement liés à la surface des particules de sol, c'est surtout au niveau de la rhizosphère que leur activité est la plus élevée (Marschner et *al.*, 1997). En effet, les exudats racinaires, (les acides organiques, acides aminés, sucres...etc) constituent d'excellentes sources d'éléments nutritifs pouvant supporter la croissance des microorganismes, expliquant leur densité plus forte au niveau du sol rhizosphérique (Hinsinger, 2001). Par ailleurs, Les champignons solubilisent plus efficacement les phosphates que les bactéries. De nombreuses recherches associent la solubilisation des phosphates à une baisse du pH du milieu.

Villegas et Fortin (2002) ; Alikhani et *al.*, (2006) ont montré que les souches de *Mesorhizobium*, *Rhizobium*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Enterobacter*...Etc, présentent toutes un potentiel de solubilisation du phosphate. De ce fait, ces souches pourraient être considérées comme bactéries promotrices de la croissance végétale PGPR (Khan, 2010). Ces bactéries augmentent la disponibilité des ions phosphates pour les plantes soit par minéralisation des phosphates organiques par l'action des phosphatases (Halder et Chakrabarty, 1993) ou bien par la dissolution des phosphates inorganiques par l'action des acides organiques (Abd-Allah, 1994). L'action des acides organiques tels que l'acide citrique, succinique et oxalique est attribuée à leur propriété chélatante qui permet la

formation des complexes stables avec les ions Ca^{++} et Mg^{2+} (Abd-Allah, 1994). En effet, ces microorganismes produisent des acides organiques et relâchent des protons, qui à travers leurs groupements carboxyliques, intègrent les cations fixés aux phosphates insolubles ce qui permet de les convertir en formes solubles (Mackey et Paytan 2009). Bien que la plupart des PSB isolés ont été auparavant isolées des sols non salins et qui s'avèrent moins approprié pour l'agriculture saline-alkaline basée sur le sol; tout récemment, de nouvelles bactéries modérément tolérantes à tolérantes au sel et solubilisant le phosphate ont été isolées à partir de sols salins de Chine *Kushneria* sp. YCWA18 (Zhu et al., 2011), et d'autres des sols salins de la Corée du Sud *Burkholderia vietnamiensis* (Parck et al., 2010) et du Pakistan *Arthrobacter* sp. and *Bacillus* sp (Banerjee et al., 2010).

Les Fabacées

La famille des légumineuses ou *Fabaceae* est la troisième grande famille d'Angiosperme; elle est composée d'environ 730 genres et 20 000 espèces herbacées et arborescentes réparties dans le monde (Lewis et *al.*, 2005). Les Fabacées sensu lato ou leguminosae est subdivisée en trois sous familles:

- sous-famille *Caesalpinioideae* avec une fleur pseudo-papilionacée ;
- sous-famille *Mimosoideae* avec une fleur régulière ;
- sous-famille *Faboideae* ou *Papilionoideae* avec une fleur typique en papillon.

Actuellement, 15% des espèces de cette famille font l'objet d'études sur différents plans, morphologiques, physiologiques et symbiotiques (Zhu, 2003). L'ensemble des Fabacées peut être regroupé en trois groupes essentiels sur la base de leurs intérêts d'utilisation :

- ✓ Les légumineuses spontanées représentées par des espèces dont l'exploitation est limitée à la réhabilitation des sols dégradés (*Acacia*, *Medicago*...etc).
- ✓ Les légumineuses fourragères qui servent à l'alimentation des ovins et des bovins; elles sont cultivées essentiellement pour leur production de matières riches en azote. Certaines légumineuses fourragères sont utilisées en culture mixte avec les céréales, comme engrais vert, en rotation ou en jachère (la luzerne, le trèfle et le pois fourrager) (Fig. 1).
- ✓ Les légumineuses alimentaires ou légumineuses à graines sont celles qui produisent des graines pour la consommation humaine; elles sont exploitées principalement pour la richesse de leurs graines en protéines; c'est le cas des lentilles, haricot, soja, fève, féverole, pois, pois chiche...etc. Elles sont cultivées sur 12-15% des terres arables disponibles et sont responsables de 25% de l'agriculture primaire du monde avec 247 millions de tonnes annuelle (Association Européenne pour la Recherche des Légumineuses à graines, 2007).



Figure 4: Photographie montrant la diversité des graines des espèces cultivées de légumineuses.

De nombreuses légumineuses à graines et fourragères des zones tempérées appartiennent à des genres botaniques assez proches du point de vue évolutif ; ce sont principalement les espèces de la tribu des *Vicieae* (pois, fèves et féveroles, lentilles, vesces, gesses), des *Trifolieae* (luzernes, trèfles, mélilots) (Duc et *al.*, 2010) et de la tribu des *Cicereae* (pois chiche) (Saxena et *al.*, 1994). Ces espèces se distinguent de celles d'origine tropicale de la tribu des *Phaseoleae* (soja originaire de Chine, haricots originaires d'Amérique), des espèces du genre *Vigna* (originaires d'Afrique et d'Asie) et de celles de la tribu des *Genisteae* à laquelle appartiennent les lupins (Young et *al.*, 2003 ; Zhu et *al.*, 2005).

Les Légumineuses à graines contribuent pour 33% aux besoins azotés de l'alimentation humaine, avec par ordre d'importance, le haricot (*Phaseolus vulgaris*), le pois (*Pisum sativum*), le pois chiche (*Cicer arietinum*), la fève (*Vicia faba*), le pois d'Angole (*Cajanus cajan*), l'haricot dolique (*Vigna unguiculata*) et *Lens culinaris* (la lentille) (Graham et Vance, 2003). Plus de 35% des huiles végétales proviennent de légumineuses avec en tête le soja et l'arachide (Vernié 2008).

4. Le pois chiche (*Cicer arietinum* L.)

4. 1. Origine et position taxonomique du pois chiche

Le pois chiche est rattaché à la famille des *Papilionacées*. *Cicer arietinum* L. C'est une espèce annuelle, à autopolinisation adaptée à différents environnements dont la région Méditerranéenne, les régions du Sud et de l'Est de l'Asie, de l'Amérique du Nord ainsi que celles du Nord et de l'Est de l'Afrique (Singh et Saxena, 1999). La Méditerranée, l'Asie Centrale, le Proche Orient, l'Inde et l'Ethiopie seraient probablement les centres d'origine du pois chiche, alors que la Turquie et l'Inde sont les deux centres majeurs de diversité de cette espèce. Le genre *Cicer* compte neuf espèces annuelles et 34 espèces vivaces (Van der Maesen, 1987).

Selon la classification des végétaux de APG III (2009) (Bock et *al.*, 2014), le pois chiche ou encore « homoss » en arabe appartient au:

Règne des *Plantae*, Embranchement des *Spermaphytes*, Sous embranchement des *Angiospermes*, Classe des *Equisetopsida*, Ordre des *Fabales*, Famille des *Fabaceae*, Tribu des *Cicereae*, Genre *Cicer* et Espèce *C. arietinum* L.

Deux types de pois chiche sont cultivés dans le monde :

Le type desi dont les grains sont petits, ridés de couleur jaune à noir et recouverts de téguments épais (le poids de mille grains est inférieur à 300g). Ce type de pois chiche représente 85% de la production mondiale (Fabre, 2008) ; il est essentiellement cultivé en Inde, Iran, Ethiopie, Canada, Mexique et Australie.	
Le type kabuli est essentiellement cultivé et consommé dans le bassin Méditerranéen dont l'Algérie. La plante donne des grains lisses à légèrement ridés, clairs (blanc à jaune pâle) moyen à assez gros. Il est recouvert d'un tégument mince et le poids de mille grains est supérieur à 300g (Fabre, 2008).	

4. 2. Importance économique du pois chiche

La production mondiale en pois chiche est estimée à 8,8 Millions de tonnes par an (Duc et *al.*, 2010). L'Inde occupe le premier rang avec 5.748.600 tonnes par an suivie de la Turquie, Pakistan, l'Australie et du Canada (FAO, 2010). Il est non seulement le plus important producteur de légumineuses alimentaires au monde, mais également le plus important consommateur. Bien que la culture des légumineuses à graines soit très ancienne en Algérie, la production nationale (45 000 tonnes environ), ne couvre en moyenne que 30% des besoins de la population (Anonyme, 2008 in Djedjai, 2011). Cette production annuelle reste tributaire de différents facteurs liés à la pratique de techniques de cultures mais également aux facteurs de l'environnement qui influent directement sur le rendement des récoltes. L'Algérie a recourt au marché extérieur pour combler le déficit en matière des besoins en consommation, avec l'importation de plus de 150 000 tonnes par an. Les trois

principaux fournisseurs de l'Algérie sont le Vietnam, l'Espagne et la Thaïlande, avec des parts de marché respectives de 49, 27 et 16,4 % (Anonyme, 2011 *in* Djedjai, 2011).

La superficie des terres cultivées en Algérie s'élève à 8.265.000 ha soit 3,5% de la superficie totale du pays. La culture du pois chiche occupe en Algérie seulement 0,3% de la superficie des terres cultivées soit 24.795 ha. Les principales zones de culture de pois chiche sont à l'Est du pays, Sétif, Constantine et Guelma, et Sidi Bel-Abbes, Ain Timouchent, Mascara et Tlemcen à l'Ouest (Djedjai, 2011) (Fig. 2).

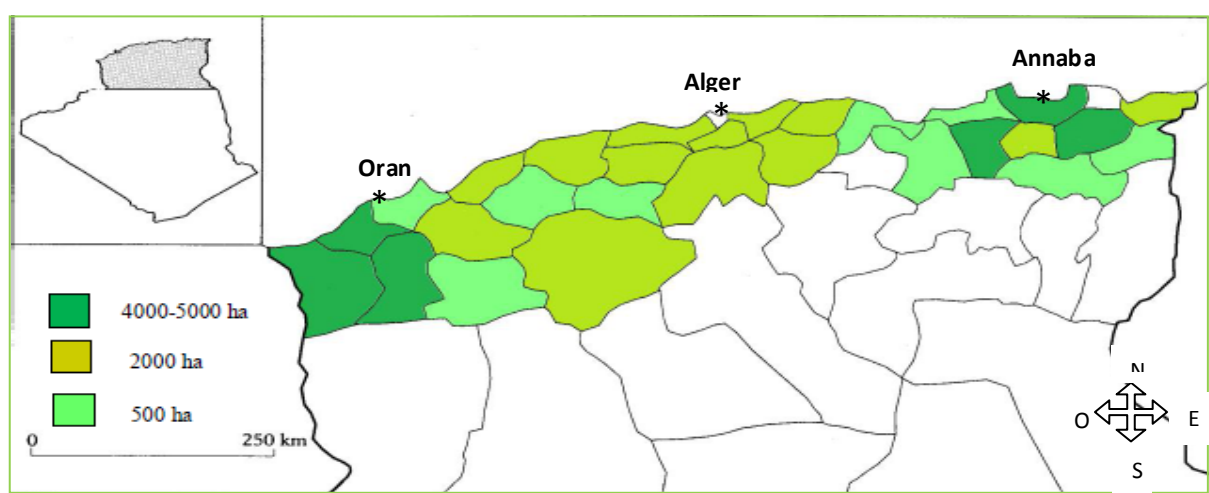


Figure 5: Carte géographique représentant les zones de culture du pois chiche en Algérie (Saxena, 1996).

4.3. Valeur nutritive du grain de pois chiche

La valeur économique des cultures de légumineuses alimentaires est liée à la valeur nutritive de leurs graines qui représentent une réserve importante en protéines, en sucre et à un degré moindre, en lipides, en composés d'intérêts nutritionnel et industriels. Le pois chiche renferme 18 à 30 % de son poids en protéines ; il est riche en fibres et en minéraux en particulier en calcium et en fer. De plus, il offre une quantité importante de vitamines B1, B2, B9 et de fer (Tab. I).

Tableau I: Composition chimique des grains de quelques légumineuses et du grain de blé (Pour 100 gramme de MS) (Aykroyd et Doughty, 1982).

Espèce	Fève	Lentille	Pois chiche	Pois	Blé
Calories (g)	343	346	358	330	370
Protéines (g)	23,4	24,2	20,1	22,20	13,0
Matière grasse (g)	2,0	1,8	4,5	1,5	2,0
Glucides (g)	60,2	60,8	61,5	60,1	68,0
Cellulose (g)	7,8	3,1	2,5	2,7	2,7
Calcium (mg)	90,0	56,0	149,0	70,0	60,0
Fer (mg)	3,6	6,1	7,00	4,3	1,0
Thiamine (mg)	0,54	0,5	0,4	0,72	0,13
Riboflavine (mg)	0,29	0,21	0,18	0,15	0,04
Vit C (mg)	4,0	3,0	5,0	4,0	-

4.4. Caractéristiques botaniques

Sur le plan botanique, *Cicer arietinum* L. est une plante diploïde à 2 n=16 chromosomes. C'est une herbacée annuelle, dressée, à l'aspect d'un petit buisson à port érigé, couverte de poils glanduleux. Sa germination est du type hypogé (les cotylédons restent souterrains). Les racines sont pivotantes et les ramifications racinaires peuvent atteindre un mètre de profondeur ; mais la plupart des ramifications se trouvent dans les premiers centimètres du sol (Duke, 1981). Ces racines forment des nodosités grâce à la symbiose avec les bactéries du genre *Rhizobium*.

Sa tige peut atteindre 1 mètre de haut et les feuilles imparipennées sont composées de 7 à 17 folioles ovales, dentées en scie

Les fleurs pédonculées peuvent être blanches, bleues ou violettes



Les gousses sont renflées terminées en bec, rousses à la maturité avec 1-2 graines ovoïdes-coniques, ridées contenant un embryon qui à la germination se développe au dépend un tissu de nourricier dit albumen riche en réserves amylacées, en gluten et en éléments minéraux



4.5. Exigences culturales du pois chiche

Le pois -chiche est une plante à climat humide. La température optimale exigée varie entre 18°C et 29°C le jour et 20°C la nuit (Verret, 1982 et Girrard, 1985). Sa capacité d'absorption d'eau dans le sol s'effectue grâce à son système racinaire très développé (Duke, 1981). Cependant, comme la plupart des légumineuses à graines, le pois chiche est sensible aux facteurs de l'environnement; il ne supporte pas les sols mal drainés qui favorisent le développement de maladies (Plancquaert et Wery, 1991).

4.6. Maladies du pois chiche

Les maladies du pois chiche, comme pour toute les plantes, constituent un stress qui se révèle par une succession de réponses (morphologique, physiologique et même biochimique) à un microorganisme phytopathogène ou à la modification d'un facteur environnemental (température, pH, humidité et disponibilité en oxygène) (Sarah et *al.*, 2008). La défense des plants de pois chiche contre ces maladies se fait par la sécrétion d'acide malique, qui induit, d'une part, une répulsion vis-à-vis des insectes et favorise d'autre part une «résistance naturelle» de la plante, limitant les applications de produits phytosanitaires (Fabre, 2008).

Cicer arietinum peut être affecté par plus de 50 maladies différentes. Les conditions climatiques Méditerranéennes avec un hiver caractérisé par une hygrométrie élevée et des températures variant entre 9 à 18°C favorisent le développement des maladies très redoutable, parmi elle:

- L'antracnose due à *Ascochyta rabiei* est la maladie la plus contraignante à la production du pois chiche dans le monde (Toker et Cançi, 2003)
- Les pourritures dues au *Botritis cinerea*, *Fusarium solani*, *Rhizoctonia bataticola*, en particulier pour les variétés sensibles de pois chiche
- Le flétrissement provoqué par *Fusarium oxysporum*
- Le noircissement des tiges par *Phoma medicagenis*

4.7. Importance agronomique du pois chiche et fertilité

L'azote est un élément minéral indispensable au développement des plantes; il entre dans la composition des acides aminés, des protéines, des acides nucléiques et des autres molécules azotées. C'est un facteur limitant la productivité agricole. Bien que le globe terrestre contienne 78,1% d'azote gazeux (N_2) (Peter et al., 2010), cette forme est inutilisable par la plante. L'agriculture moderne a eu recours à l'utilisation d'engrais chimiques pour compenser les besoins en azote des cultures afin d'augmenter les rendements agricoles.

Le pois chiche, comme toutes les légumineuses à graines de grande consommation en Algérie, est riche en protéines. Cette richesse est due à son pouvoir de fixer l'azote atmosphérique en symbiose avec les bactéries *Mesorhizobium ciceri*. La culture du pois chiche pourrait être une alternative naturelle à l'utilisation d'engrais azotés chimiques nuisibles à l'environnement.

5. La symbiose *Rhizobium* - légumineuses

Chez les légumineuses, la symbiose est, par définition, une interaction spécifique qui s'établit avec des bactéries de l'ordre des *Rhizobiales* comme *Rhizobium*, *Mesorhizobium* ou *Bradyrhizobium*. Les bactéries dites microsymbiontes vivent libres dans le sol à proximité des racines (rhizosphère). Elles reconnaissent spécifiquement l'espèce de légumineuses appelée macrosymbionte avec laquelle elles peuvent établir une symbiose. Elles pénètrent dans les racines où elles vont être stockées dans des nodules. Chaque espèce de *Rhizobia* a une série d'hôtes bien définie. Dans le nodule, les bactéries subissent une transformation irréversible et deviennent des bactéroïdes, une forme capable de fixer l'azote atmosphérique (N_2). Cette azote, une fois réduit en ammonium (NH_4^+) grâce à la nitrogénase, est destiné à la plante hôte qui en retour fournit aux bactéroïdes l'énergie nécessaire à leur survie, aux réactions physiologiques et à l'efficacité du couple symbiotique. La nitrogénase est une enzyme synthétisée par les bactéroïdes; elle est caractérisée par une sensibilité élevée à l'oxygène. Or, les bactéroïdes ont besoin de ce gaz pour leur activité respiratoire. Plante et bactéries synthétisent dans le nodule un pigment appelé leghémoglobine, qui est chargé de transporter l'oxygène jusqu'aux bactéroïdes sans entraver le fonctionnement de la nitrogénase. Selon les situations, 40 à 90% de la ressource azotée d'une légumineuse sont issus de la fixation symbiotique de l'azote atmosphérique. Le complément étant apporté par la voie de l'assimilation de l'azote minéral du sol par les

racines, une voie commune à toutes les autres espèces végétales. Le taux de fixation symbiotique peut varier rapidement en cours de culture en fonction des phases de minéralisation et réorganisation de l'azote du sol (Duc et *al.*2010).

5. 1. Etablissement de la symbiose

En présence de *Rhizobia*, la plante répond par une série d'étapes complexes qui résulte d'un dialogue moléculaire aboutissant à la formation des nodules. Le nodule est un organe à part entière ayant des caractères physiologiques et métaboliques favorables à la réduction de l'azote atmosphérique. L'établissement de la symbiose nécessite plusieurs étapes:

5.1.1. Etape de reconnaissance et d'attraction

Dans le milieu rhizosphérique, les racines de la plante exsudent des substances organiques, (sucres, acides aminés, substances du métabolisme secondaire ...etc) qui jouent le rôle de stimuli permettant la prolifération et l'attraction par chimiotactisme des bactéries de la rhizosphère dont les *Rhizoba* spécifiques.

Parmi les substances du métabolisme secondaire, les flavonoïdes induisent chez le *Rhizobium* spécifique, l'expression gènes *nod* (Fig. 3). Ces gènes *nod* plasmidiques de la nodulation sont responsables de la synthèse des facteurs Nod qui sont des déterminants clés de l'échange de signaux entre les deux partenaires plante et *Rhizobia* (Gobat et *al.*, 2003).

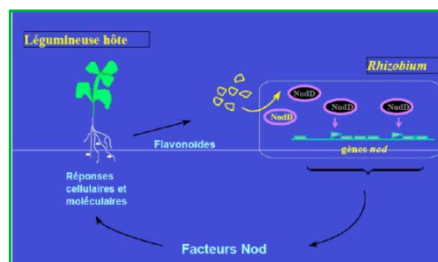


Figure 6: Schéma montrant le dialogue moléculaire entre le *Rhizobium* et les racines de la plante ainsi que l'expression des gènes *nod* de nodulation chez le *Rhizobium* lors de l'établissement de la symbiose

Chez les *Rhizobia*, les gènes *nod* forment un opéron *nod* qui regroupe trois catégories de gènes (Fischer, 1994):

- Des gènes régulateurs (*nod D*) qui régulent l'expression des gènes *nod* communs et des gènes *nod* régulateurs
- Des gènes communs (*nod A, B, C*) qui contrôlent la synthèse du squelette des facteurs Nod

- Des gènes spécifiques (*nod H*) qui assurent les substitutions spécifiques au niveau des facteurs Nod et contrôlent la spécificité de l'infection.

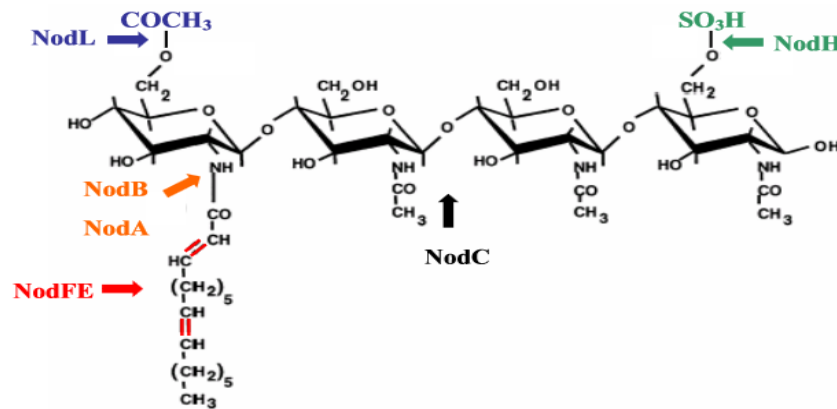


Figure 7 : Structure des facteurs Nod majoritaires produits par *S. meliloti*. (Denarie et *al.*, 1996).

La structure spécifique du facteur Nod provoque de manière concomitante des déformations, et l'incurvation de l'extrémité en forme de boucle ou crochet du poil absorbant (Gobat et *al.*, 2003). Ehrhardt et *al.*, (1996) ont mis en évidence une reprise de la croissance du poil absorbant en réponse aux facteurs Nod ainsi qu'une augmentation du gradient de calcium dans le poil dû à un influx calcique. Les facteurs Nod jouent aussi le rôle de régulateurs de croissance car ils déclenchent la division des cellules corticales de la racine de la plante hôte pour la formation d'un méristème nodulaire qui sera à l'origine des différents tissus du nodule.

5.1.2. Etape d'infection

L'infection de la plante hôte commence par l'adsorption des bactéries sur les racines grâce à une «lectine» (glycoprotéine) sécrétée par la plante. La lectine permet l'attachement réversible des *Rhizobia* à la plante grâce aux exopolysaccharides bactériens (Bisseling et Sprent, 2001). Les poils absorbants prêts à être infectés subissent des modifications cytologiques dont une organisation particulière des microtubules qui aura pour rôle d'orienter les bactéries à l'intérieur de la racine (Timmers et *al.*, 1999).

L'adhésion du microsymbionte aux poils absorbants se fait par l'intermédiaire d'une protéine d'origine bactérienne, la rhicadhésine, qui se lie à un récepteur se trouvant sur le poil absorbant (Smith et *al.*, 1987).

La deuxième étape consiste en une liaison plus forte des bactéries aux poils absorbant en présence de calcium, via une auto-agglutination des bactéries de manière irréversible en amas sur le poil absorbant qui se courbe généralement en qui de courbe en cross de berger préparant l'infection et la pénétration des bactéries à l'intérieur des racines (Fig. 8).

Un autre mode d'infection par les *Rhizobia* caractérise les espèces tropicales. Les bactéries pénètrent à travers les espaces intercellulaires des cellules épidermiques et corticales de la plante sans la formation du filament d'infection. Ce type d'infection est dénommé « Crack entry » (Fig. 9).

Des changements morphologiques au niveau des poils absorbants sont observés en réponse aux facteurs Nod qui perturbent l'organisation du cytosquelette des cellules (Figure 10) Il s'agit des phénotypes Had («root hair deformation» ou déformation des poils), Has («root hair swelling» ou gonflement des poils) et Hab («root hair branching» ou ramification des poils). Le phénotype classique observé en réponse aux *Rhizobia* (courbure du poil en crosse de berger) est dénommé Hac («root hair curling» ou courbement des poils).

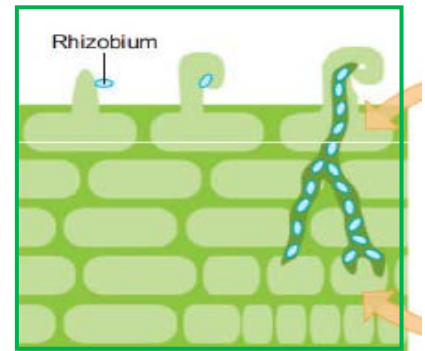


Figure 8: Infection par progression intracellulaire du cordon d'infection suite à l'hydrolyse de la paroi du poil absorbant



Figure 9: Infection par progression intercellulaire du cordon d'infection par crack entry au niveau des cellules épidermiques.

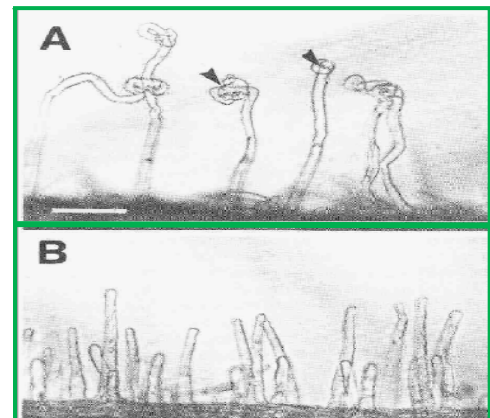


Figure 10 : Infection des poils absorbants par les *Rhizobia*
A : inoculé B : non inoculé

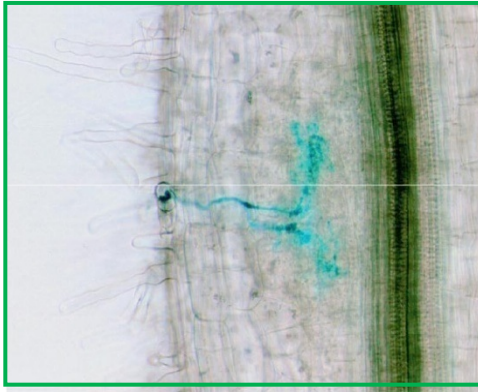


Figure 11: photographie montrant la progression des filaments d'infection (en bleu) dans la racine de la plante hôte (Oldroyd et Downie 2004).

Au niveau du site du poil absorbant, la paroi de la cellule est digérée par des enzymes lytiques (pectinases, cellulases) secrétées par la plante hôte. Les bactéries pénètrent à travers ce site et s'organisent, en un filament infectieux (cordon d'infection) engendré par la plante hôte. De façon concomitante, les facteurs Nod induisent chez la plante hôte l'expression des gènes *enod* impliqués dans l'infection et la formation des nodules. Ces gènes codent pour des nodulines précoces comme ENOD12 et ENOD5 qui interviendraient dans le processus d'infection (Fig. 11).

5.1.3. Organogénèse du nodule

Le cordon d'infection progresse par ramification à l'intérieur des racines grâce à la fragilisation des parois cellulaires sous l'action des polygalacturonases; une agrégation du cytoplasme des cellules définissent les trajectoires (Parniske, 2000). Simultanément, une organogénèse se déclenche dans le cortex racinaire suite à la dédifférenciation et à l'activation du cycle cellulaire des cellules du péricycle située près du protoxylème et des cellules corticales, pour la formation d'un méristème nodulaire. Les cellules du cortex interne se divisent et produisent une nouvelle série de cellules formant le primordium nodulaire. Ces cellules sont les premières à recevoir les bactéries. Les divisions continuent vers l'extérieur et les cellules du cortex s'activent et se divisent. Les cellules non infectées de cette zone constituent le méristème nodulaire (Gage, 2004).

L'expression des gènes *enod* 40 provoquent un changement dans la balance hormonale auxine/cytokinine en augmentant la teneur en auxine qui déclenche la division cellulaire dans le cortex (Geurts et Franssen, 1996).

A ce stade, les bactéries sont libérées par endocytose dans les cellules du primordium nodulaire qui constitue une zone d'infection dans le nodule en formation (Morot-Gaudry, 1997). Les bactéries, en prolifération et différenciation, se retrouvent séquestrées individuellement ou en groupe dans une membrane dite membrane pér bactéroïde (PBM) formée par l'invagination de la membrane plasmique. Les bactéries s'isolent du cytoplasme hôte dans des symbiosomes qui occupent plus de 80% du volume cellulaire (Parniske, 2000) (Fig. 12).

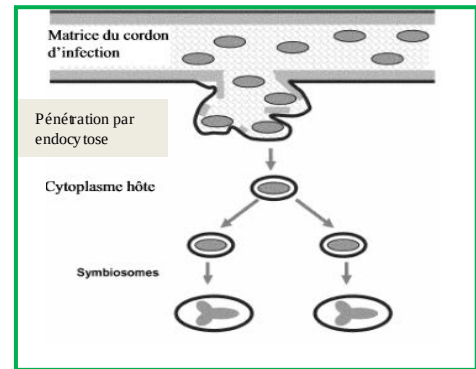


Figure 12 : Modèle d'endocytose et de développement des symbiosomes dans les cellules du nodule (Vernié, 2008).

Le symbiosome, compartiment de bactéroïdes entouré d'une membrane pér bactéroïde ou PBM, beigne dans un espace pér bactéroïde riche en enzymes hydrolytiques. La PBM est ornée de protéines et d'enzymes semblables à celles de la membrane plasmique ainsi que de protéines de nodulation comme la noduline précoce ENOD26 qui joue le rôle de transporteur assurant les échanges entre le symbiosome et le cytoplasme (Parniske, 2000).

6. Types de nodules

La différenciation du nodule aboutit à la formation de deux types de nodules déterminés par le macrosymbionte hôte. Les espèces de légumineuses des régions tropicales forment des nodules de type déterminé, celles des régions tempérées forment des nodules de type indéterminé (Geurts et Franssen, 1996).

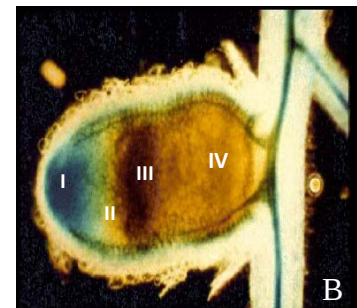
Le nodule déterminé

Les cellules externes du cortex racinaire se divisent, au moment de l'infection, pour donner naissance à un primordium nodulaire qui évolue à l'extérieur de la racine formant un nodule de forme arrondie. Ce type de nodules est caractérisé par une activité limitée du méristème nodulaire ; il est rencontré chez les légumineuses des régions tropicales (Fig. A).



Le nodule indéterminé

Ce type de nodule est rencontré chez les légumineuses des régions tempérées ; il est caractérisé par sa forme allongée. Le méristème nodulaire initié au niveau des cellules corticales internes continuent à se diviser pour former différentes zones (Fig. B):



La **zone I** située à l'apex du nodule représente le méristème nodulaire non infecté.

La **zone II** constitue la zone d'infection riche en cordon d'infection véhiculant les bactéries.

La **zone II-III** est une interzone constituée de cellules riches en amyloplast. Les cellules sont en partie infectées par les bactéries.

La **zone III** est la zone où toutes les cellules hôtes sont infectées par les bactéries qui se différencient en bacteroides. Elle correspond donc à la zone où a lieu la réduction de l'azote moléculaire. Cette zone est caractérisée par la coloration rouge due à l'accumulation de la leghémoglobine.

La **zone IV** correspond à la zone de sénescence, située à la base du nodule. Elle est constituée de cellules nodulaires désorganisées et de bacteroides non fonctionnels. Sa coloration verdâtre est le signe de la présence de leghémoglobine dégradée.

7. Fonctionnement du nodule

Dans le nodule mature, les deux symbiontes différenciés coopèrent pour la synthèse de protéines et d'enzymes dont la nitrogénase, enzyme clé de la réduction de l'azote atmosphérique (N_2). L'ammonium produit est ensuite utilisé pour la synthèse d'amides (glutamine et asparagine) dans les nodules indéterminés et d'uréides dans les nodules déterminés. En échange, les *Rhizobia* consomment l'énergie fournie par les sucres issus de la photosynthèse de la plante hôte (Fig. 13).

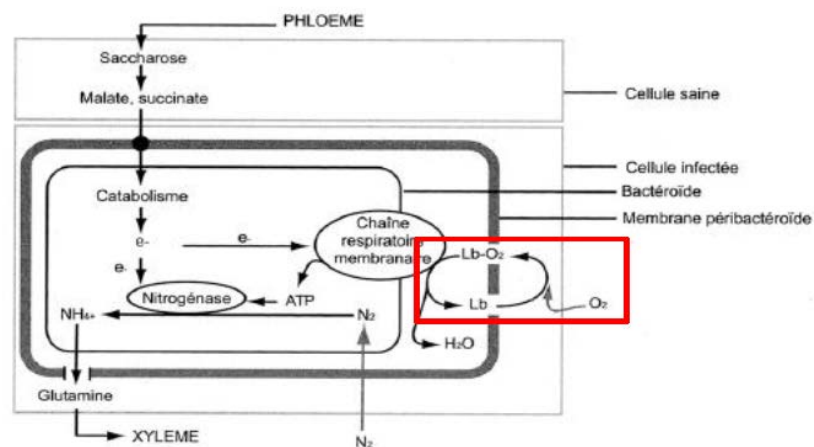


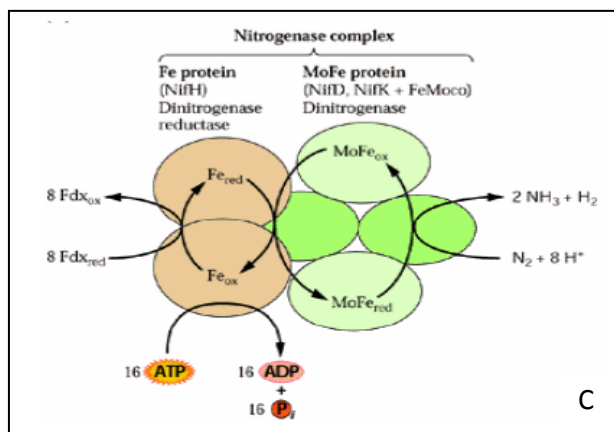
Figure 13 : Coopération entre les cellules végétales hôtes et les bactéroïdes lors de la fixation de l'azote atmosphérique. Lb: leghémoglobine.

Lors du processus de réduction biologique de l'azote moléculaire, l'azote minéral est réduit en ammonium suite à de multiples réactions de transfert d'électrons conduisant également à la libération d'hydrogène grâce à une enzyme ATP dépendante, la nitrogénase.



Le complexe nitrogénase est constitué de deux sous-unités fonctionnelles principales (Fig. C): la dinitrogénase réductase (azoferredoxine) et la dinitrogénase (molybdoferredoxine).

Les composés structuraux de ces sous-unités sont les protéines Nif (nitrogen fixation): NifH (azoferredoxine homodimérique) et NifD/K (molybdoferredoxine hétérotétramérique).



Les électrons sont transférés de la ferrédoxine (ou flaodoxine) réduite via l'azoferredoxine vers la molybdoferredoxine. Chaque molécule d'azote fixée nécessite 16 molécules d'ATP hydrolysées par la protéine NifH.

Une des caractéristiques de la nitrogénase est sa sensibilité extrême à l'oxygène. Dans les nodules, la protection de cette enzyme est assurée par une séparation spatiale des bactéroïdes et la synthèse d'une protéine végétale, la leghémoglobine, capable de piéger l'oxygène moléculaire (Kneip et al., 2007). La leghémoglobine maintient dans le cytosol une concentration basse en oxygène permettant le fonctionnement de la nitrogénase. L'ammoniac diffuse dans l'espace peribactéroïde où il est transformé en ammonium qui est ensuite exporté dans le cytoplasme végétal via un canal. Dans le cytosol, l'ammoniac est fixé sur du glutamate par la glutamine synthétase. L'ammoniac peut aussi être assimilé au niveau du bactéroïde (Day et al., 2001). Dans les nodules indéterminés, la voie principale de l'utilisation de l'azote réduit (NH₄⁺) c'est la glutamine synthétase; cependant, deux autres voies métaboliques alternatives sont possibles via l'asparagine synthétase et la glutamate déshydrogénase (Barsch et al., 2006) (Fig. 14).

de l'interaction symbiotique *Rhizobium*- Légumineuses. (Frayssé et *al.*, 2003). Trois types majeurs de polysaccharides extracellulaires sont synthétisés par les *Rhizobia*:

- ✓ les exopolysaccharides (EPS),
- ✓ les lipopolysaccharides (LPS) et
- ✓ les polysaccharides de capsule (CPS).

Ces polysaccharides extracellulaires semblent généralement être impliqués dans l'établissement de la symbiose notamment lors du processus d'inhibition des défenses des plantes permettant l'infectivité (D'Haeze et Holsters, 2004). Les *Rhizobia* sont également capables d'améliorer la croissance des plantes non légumineuses telles que les céréales, qui bénéficient de l'azote symbiotique en rotation ou en association avec les légumineuses (Snapp et *al.*, 1998). Les *Rhizobia* sont dites aussi «Bactéries promotrices de la croissance végétale» (Plant growth promoting rhizobacteria ou PGPR). L'effet PGPR des *Rhizobia* en mutualisme avec des plantes comme le blé, le maïs et le riz se traduit par leur pouvoir à solubiliser du phosphate inorganique, à synthétiser des phytohormones (telles que les auxines, les cytokinines et l'acide abscissique), des sidérophores et des vitamines (Khan et *al.*, 2001).

Chapitre II : Matériel et Méthodes

1. Matériel végétal

Le travail a été effectué sur deux variétés de pois chiche (var. Flip 74-92C et var. Flip 84-79C) (Tab II), sélectionnées par l'ICARDA (Syrie), pour leur tolérance à l'antracnose, au flétrissement et pour leur productivité. Elles nous ont été fournies aimablement par l'Institut Technique des Grandes Cultures (ITGC) d'Oued Smar. Le choix de ces variétés a été fait, suite à une faible germination des autres variétés fournies par l'ITGC d'Oued Smar.

Les semences ont subi un prétraitement avec un fongicide afin de réduire la contamination par des champignons pouvant limiter le rendement de la culture.

Tableau II. Génotypes de pois chiche (*Cicer arietinum* L.) du type kabuli (Ben Mbarek et al., 2011) utilisées.

Nom	Pedigree	Origine
Nayer	Flip 84-79C	Tunisienne
/	Flip 74-92C	ICARDA

2. Mise en place de la culture

La culture a été réalisée, en plein champ, au niveau de la station expérimentale d'Oued Smar (Alger). L'expérimentation a eu lieu pendant la période allant du mois de Mars au mois d'Août des années 2010 à 2012. Cette zone du centre du pays est caractérisée par un étage bioclimatique humide, un sol de texture argilo-limoneux avec un rapport C/N est supérieur à 7 favorisant ainsi une bonne activité biologique, à pH neutre (pH =7,2), avec une faible conductivité électrique indiquant qu'il n'est pas salin. Il se caractérise par une teneur moyenne en phosphore (Tab. III).

Tableau III: Analyses physico-chimiques du sol de la station expérimentale d'Oued Smar (Alger):

Caractéristiques physico-chimiques	Valeurs
Argile	44%
Limon	22%
Sable	7,2
pH	7,2
Conductivité électrique (mmhos cm ⁻¹)	0,18
Matière organique (%)	1,88
Rapport C/N	≥ 7
Teneur en Phosphore (mg kg ⁻¹)	15,6

Dans cette étude, aucune fumure de fond ni de fertilisation azotée n'ont été épandues avant le semis pour un meilleur contrôle des conditions de culture. Les travaux de désherbage sont effectués à la main avant et après le semis. Le précédent cultural de la parcelle d'essai est une céréale.

2. 1. Travail du sol

Pour obtenir un sol bien ameubli, un travail du sol de la parcelle a été effectué par un labour manuel à l'aide d'une houe et une réparation du lit de semence pour l'obtention d'une surface bien homogène qui permet une répartition convenable de l'eau; le nivellement du sol a été réalisé par râteau.

2. 2. Dispositif expérimental

Un dispositif en bloc aléatoire a été adopté avec trois répétitions. Dans la première partie du travail, chaque répétition comprend deux facteurs :

- ✓ Facteur 1 représente le traitement salin avec trois concentrations de NaCl (S): 50 mM, 100 mM et 150 mM ainsi que le témoin (0 mM)
- ✓ Facteur 2 représente les deux variétés: Flip 74-92C et Flip 84-79C. Le témoin correspond au traitement sans sel.

Dans la deuxième partie du travail, chaque répétition comprend de facteurs :

- ✓ Facteur 1 représente trois niveaux d'engrais phosphaté ($T=0$, $P1=90$ et $P2=200 \text{ kg} \cdot \text{h}^{-1}$ de P_2O_5), des quantités qui correspondent aux concentrations de 0mM, 37mM et 55mM respectivement. Les combinaisons (sel x phosphate) sont indiqués par SP1 ($150\text{mM} \times 90 \text{ kg} \cdot \text{h}^{-1}$) et SP2 ($150\text{mM} \times 200 \text{ kg} \cdot \text{h}^{-1}$), respectivement appliquée pour la deuxième partie du travail. Le semis est réalisé manuellement à raison de 30 plantes par traitement. Le témoin correspond au traitement sans sel et sans phosphate.

Les graines ont été semées à une profondeur 5cm de la surface du sol.

2. 2. 1. Irrigation

Au stade deux feuilles, l'arrosage des plantules témoin est effectué à l'eau courante. Les autres traitements ont été arrosés, au même stade de la croissance, avec de l'eau distillée additionnée de différentes concentrations de NaCl et/ou d'un mélange NaCl x phosphore. Afin de fixer les conditions de cultures et pour supprimer l'effet de dilution, les plantes sont irriguées avec les solutions de sel et/ ou de phosphore, après chaque pluie abondante.

3. Etude de la germination des semences

Dans le but de déterminer les effets de NaCl sur la germination des graines de pois chiche, une étude a été effectuée en utilisant différentes concentrations de chlorure de sodium (0, 50, 100, 150, 300, 400 et 500 mM de NaCl). Ce travail a été réalisé au laboratoire dans des boîtes de Petri. Dix graines sont mises dans chaque boîte et 3 répétitions pour chaque concentration en sel ont été réalisées. Ce test a permis de déterminer:

- ✓ Le pourcentage de germination exprimé par le rapport du nombre de graines germées sur le nombre total de graines semées.
- ✓ La vitesse de germination exprimée en jour a été déterminée par la durée médiane de germination (Scott et *al.*, 1984).

$$\text{Temps moyen de germination} = T_1 + (0.5 - G_1) / G_2 - G_1 (T_2 - T_1)$$

G_1 étant le pourcentage cumulé des graines germées dont la valeur est la plus proche de 50% par valeur inférieure et G_2 correspond au pourcentage cumulé des graines germées dont la valeur est la plus proche de 50% par valeur supérieure. T_1 correspond au temps au bout duquel moins de 50% des graines ont germé et T_2 est le temps correspondant au pourcentage de germination supérieur à 50%.

4. Effets du stress salin avec ou sans phosphate sur la croissance et le développement des deux variétés

Le comportement des deux variétés de pois chiche vis-à-vis des quatre concentrations de NaCl (0mM, 50mM, 100mM et 150mM), et en présence de combinaisons NaCl x phosphate, a été évalué à partir des caractères liés à la croissance, au rendement et à la symbiose.

4. 1. Nombre de ramifications

Le nombre de tiges formées par les plants de pois chiche a été déterminé par simple dénombrement sur trois échantillons de plantes de chaque traitement.

4. 2. Mesure de la longueur racinaire

Trois plants sont déterrés de chaque lot pour mesurer la longueur des racines en (cm).

4. 3. Mesure de la biomasse sèche des plantes (PS)

Au stade deux à trois feuilles, trois plantes ont été déterrées, séparées en parties aériennes et parties racinaires, puis mises à sécher dans une étuve à 70°C pendant 72 heures. La biomasse sèche est estimée par la pesée de chaque organe de la plante. Le poids sec des plantes entières, des deux parties aérienne et racinaire et la biomasse nodulaire a été déterminé pour chaque lot et pour chaque essai.

5. Effets du stress salin sur les composantes du rendement

5. 1. Nombre de gousse, le poids de 100 grains et le rendement

A maturité, les gousses sont récoltées manuellement et décortiquées afin de récupérer les grains. Le rendement en graines (RG) de chaque lot de plantes est déterminé à partir du poids de 100 graines avec une balance électronique, puis convertis en kg ha⁻¹ en utilisant la formule suivant (Inamullah et *al.*, 2011):

$$\text{RG (kg ha}^{-1}\text{)} = \{\text{RG (kg)} / \text{surface cultivée (3m x 5m)}\} \times 10000$$

6. Effet du stress salin sur le statut hydrique des plantes

6.1. Mesure de la teneur relative en eau des feuilles (TRE)

Au stade 5 feuilles, la mesure de la TRE a été réalisée selon la méthode de Clark et Mc Caig (1982). Trois feuilles de chaque lot sont prélevées aléatoirement, pesées et mises dans des boîtes de Pétri contenant de l'eau distillée pendant 24 h. Elles sont ensuite pesées pour avoir le poids en pleine turgescence. Le poids sec est déterminé après passage dans l'étuve pendant 48 heures à 70°C. La teneur relative en eau (TRE) est calculée selon la formule suivante :

$$\text{TRE} = (\text{PF} - \text{PS}) / (\text{PT} - \text{PS}) \times 100$$

PF : Poids frais (g) des feuilles ;

PS : Poids sec (g) déterminé après étuvage des folioles pendant 48h à 70°C ;

PT : Poids de pleine turgescence (g).

6.2. Mesure de l'ouverture des stomates

Une couche de vernis a été appliquée sur la face inférieure des feuilles. Au bout de quelques minutes de séchage, la couche de vernis est prélevée, mise entre une lame et une lamelle puis observée au microscope photomètre muni d'un appareil photographique. La mesure de l'ouverture des stomates est effectuée à l'aide d'une lame micrométrique et les mesures sont exprimées en μm .

7. Dosage des pigments photosynthétiques

Les teneurs en chlorophylles *a* et *b* et en caroténoïdes ont été déterminées selon le protocole d'Arnon (1949). L'extraction est réalisée par 10 mL d'acétone à 80% pour 0,1g de matière fraîche. Le broyat est centrifugé à 2000 trs/mn pendant 10 mn. L'absorbance du surnageant est lue par spectrophotométrie à des longueurs d'ondes de 645 nm, 663 nm et 470 nm respectivement pour la chlorophylle *a*, *b* et les caroténoïdes. Les concentrations en pigments sont calculées selon la méthode décrite par Lichtenthaler et Welburn (1983).

$$\text{- Chl } a = 12.25 \text{ DO (663 nm) - 2.79 DO (647 nm) } (\mu\text{g/mL})$$

$$\text{- Chl } b = 21.5 \text{ DO (647 nm) - 5.10 DO (663 nm) } (\mu\text{g/mL})$$

$$\text{-Caroténoïdes} = 1000 \text{ D0 (470 nm) - 1.82 chl } a - 85.02 \text{ chl } b / 198 (\mu\text{g/mL})$$

8. Caractères symbiotiques

L'efficacité symbiotique des plantes des deux variétés de pois chiche quelque soit les conditions est estimée par le pouvoir nodulant. Avant la floraison, trois plantes sont déterrées, leurs systèmes racinaires sont lavés à l'eau courante afin de déterminer les paramètres symbiotiques suivants :

8. 1. Paramètres symbiotiques

8. 1. 1. Nombre et taille des nodules

Le nombre de nodules formés sur les racines des plantes est obtenu, par un simple comptage, sur des plants provenant des différents traitements. La taille des nodules a été également mesurée en (cm). Trois répétitions sont effectuées pour chaque combinaison.

8. 1. 2. Poids sec des nodules

La biomasse nodulaire est effectuée par la pesée de nodules obtenus pour chaque traitement.

8. 2. Paramètres physiologiques des nodules

8. 2. 1. Teneur en leghémoglobine

Le dosage de la leghémoglobine a été réalisé suivant la méthode de Wilson et Reisenauer (1962). Cette méthode colorimétrique est basée sur l'oxydation du Fe^{2+} de l'hémoglobine en Fe^{3+} de la méthémoglobine par le ferricyanide, suivie de la formation d'un complexe très stable, la cyanméthémoglobine grâce aux ions cyanure du (KCN). L'absorbance de la cyanméthémoglobine, est directement proportionnelle à la concentration en hémoglobine.

100 mg de nodule frais sont broyés dans 3 mL du réactif de Drabkin (52 mg KCN, 198 mg $K_3 Fe(CN)_6$ et 1 mg de $NaHCO_3$ dans 1L d'eau distillée). Le broyat est centrifugé à 500 trs/mn pendant 15 mn. Le surnageant récupéré est additionné de 10 mL du réactif de Drabkin. Le mélange est centrifugé à 20 000 trs /mn pendant 30 mn. La densité optique du surnageant est lue par spectrophotométrie à une longueur d'onde de $\lambda = 540$ nm. La quantité de leghémoglobine est calculée en utilisant la loi de Beer-Lamber :

$$Abs = \epsilon \times L \times Cc$$

Abs : la valeur de l'absorbance

ϵ : coefficient d'extinction molaire de $155 \text{ mM}^{-1} \text{ Cm}^{-1}$

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

Cc : la concentration molaire

8. 2. 2. Teneur en protéines

Le dosage des protéines nodulaires a été réalisé suivant la méthode de Bradford (1976), dont le principe est basé sur la formation d'un complexe entre le bleu de Coomassie (G250) et les résidus basiques aromatiques des protéines. La formation de liaisons protéine-bleu de Coomassie est visualisée par l'apparition d'une coloration bleue.

L'extraction des protéines est réalisée à partir d'une aliquote de 0,5g de matière nodulaire fraîche, broyée dans 6 mL d'eau distillée, puis centrifugée à 5000 trs/mn pendant 15 mn. A 0,1mL du surnageant sont additionnés 3 mL d'un mélange d'acide orthophosphorique à 85%, et 25 mg de bleu de Coomassie (G250) et de 12.5 mL d'éthanol à 95%. Le volume est ensuite complété à 250 mL par de l'eau distillée. L'absorbance est lue par spectrophotométrie à $\lambda = 595 \text{ nm}$. Trois échantillons de plantes sont utilisés pour chaque lot testé. Les concentrations en protéines sont déterminées par projection des densités optiques obtenues sur la courbe d'étalonnage faite à partir d'une solution mère de BSA à 10mg/10mL.

8. 2. 3. Teneur en proline

Le dosage de la proline des feuilles et des nodules a été réalisé selon la méthode de Troll et Lindsey (1955). Cette technique est basée sur la capacité de la proline à réagir en milieu acide et à chaud avec la ninhydrine pour donner un composé de couleur rose à rouge, soluble dans les solvants organiques tel que le toluène.

L'extraction est effectuée à partir de 0,1g de matière fraîche (feuilles et nodules) additionné de 2 mL de méthanol à 40%. 1mL de l'extrait est additionné de 1mL de mélange d'acide acétique glacial et d'acide orthophosphorique (3 : 2, v/v) et de 25 mg de ninhydrine. Après 1h d'incubation à 100°C , les tubes sont refroidis et additionnés de 5mL de toluène. Après agitation au vortex deux phases se forment :

- ✓ la phase supérieure organique contenant la proline est prélevée.
- ✓ la phase inférieure aqueuse est éliminée.

L'absorbance est lue par spectrophotométrie à une longueur d'onde $\lambda = 520$ nm. Les valeurs obtenues sont ensuite reportées sur la courbe d'étalonnage réalisée à partir de concentrations croissantes en proline préparées à partir d'une solution mère de 20 $\mu\text{g/mL}$.

8. 2. 4. **Système antioxydant**

L'activité du système antioxydant des nodules a été déterminée par le dosage du malonydialdéhyde (MDA) nodulaire. La méthode utilisée pour l'estimation de la peroxydation des lipides est le dosage du malondialdéhyde par la réaction à l'acide thiobarbiturique (TBA). Ce procédé permet la formation d'un chromatophore rouge mesurable à 532 nm (Nair et Turner, 1984).

L'extraction est réalisée à partir d'une aliquote de 0,5g de matière nodulaire fraîche homogénéisés avec 1mL de TCA (10%). L'homogénat est rincé deux fois avec 5mL d'acétone et centrifugé après chaque rinçage (4000tr/mn pendant 10mn). Le culot est porté à ébullition à 100°C pendant 30mn en présence de 3mL H_3PO_4 (1%) et 1mL de TCA (0.6%) puis refroidi dans la glace. Un volume de 3mL de n-butanol est ajouté au mélange puis centrifugé à 4000 trs/mn. L'absorbance est lue par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 532 nm et 600 nm. L'absorbance non spécifique due à la turbidité est éliminée en soustrayant à la DO à 532 nm celle absorbée à 600nm. La teneur en MDA est calculée en utilisant le coefficient d'extinction molaire 155 $\text{mM}^{-1} \text{C}^{-1}$.

8. 2. 5. **Activité enzymatique de la catalase des nodules**

L'activité de la catalase des nodules est déterminée par la méthode Claiborne, (1995). Des extraits de nodules sont obtenus après un broyage des nodules dans du tampon phosphate à pH 7 et du PVP à 1% suivi d'une centrifugation à 15 000g pendant 10 minute à 4°C. L'activité de la catalase est déterminée par la lecture des DO au spectrophotomètre à 240 nm et correspond à la quantité en μM de peroxyde d'hydrogène par minute et par mg de protéine. Le coefficient d'extinction à 25C° est de $\epsilon=43,6\text{M}^{-1}.\text{cm}^{-1}$.

9. Dosage des éléments minéraux dans la plante

9.1. Dosage du sodium et du potassium

Des échantillons secs de feuilles et de racines, (0,5g) sont mis dans des tubes contenant 20 mL d'acide nitrique N/10 (El Mekkaoui, 1987). Les différents dosages se font sur le filtrat

de l'extraction acide à froid. Les cations Na^+ et K^+ sont dosés par spectrophotométrie de flamme en émission.

9. 2. Dosage du chlore

La teneur en ions chlorure de chaque lot de plantes est estimé par la méthode de Mohr. Elle consiste à introduire 10mL de l'échantillon dans un bécher auquel on ajoute 3 gouttes d'acide nitrique pur, une pincée de carbonate de calcium et 3 gouttes d'une solution de dichromate de potassium à 10%. Le titrage se fait avec une solution de nitrate d'argent jusqu'à l'apparition d'une teinte rougeâtre qui doit persister 1 à 3min.

9. 3. Dosage du phosphore

Le dosage du phosphore a été déterminé par colorimétrie après calcination de la partie aérienne des plantes. Le phosphore est déterminé par le réactif de «Barton» à base de molybdate d'ammonium et de metavanadate d'ammonium. La lecture de la DO est faite à 430 nm et la gamme étalon est préparée avec KH_2PO_4 .

9. 4. Indice de l'efficacité d'utilisation du phosphore

L'indice de l'utilisation du phosphore (PUEI) a été déterminé selon la méthode appliqué par (Siddiqi et Glass, 1981) basée sur la biomasse sèche totale (TDB) et la teneur totale en Phosphore (TPC):

$$\text{PUEI} = (\text{TDB})^2 / \text{plant TPC}$$

10. Analyse statistique

Une analyse statistique a été adoptée pour l'ensemble des résultats obtenus. L'analyse de la variance et la comparaison des moyennes significativement différentes ainsi que des corrélations ont été révélées grâce au logiciel Statistica par le test LSD au taux de risque 5%.

Chapitre III : Résultats et Discussion

1. Effets du stress salin sur la germination de deux variétés de pois chiche

L'évolution de la germination de deux variétés *Cicer arietinum* L. Flip 74-92C et Flip 84-79C en fonction du temps indique qu'en conditions témoin et stressés par 50mM de NaCl, les graines présentent une germination rapide pour les deux variétés étudiées. En effet, les graines germent au bout de 48 heures et atteignent un maximum de 100% au 3^{ème} jour de l'expérimentation. Par contre, avec l'augmentation de la salinité, la variété Flip 74-92C montre un retard de deux jours de la germination à 100mM et 150mM et ne présente 100% de germination qu'au 5^{ème} jour comparé au témoin. La variété Flip 84-79C affiche un retard d'un jour à 150mM de NaCl et enregistre un maximum de graines germées (100%) au 4^{ème} jour d'expérimentation par rapport à son témoin. Cependant, les niveaux élevés de salinité (200mM, 300mM, 400mM et 500mM de NaCl) inhibent totalement la germination et ce chez les deux variétés (Fig. 15).

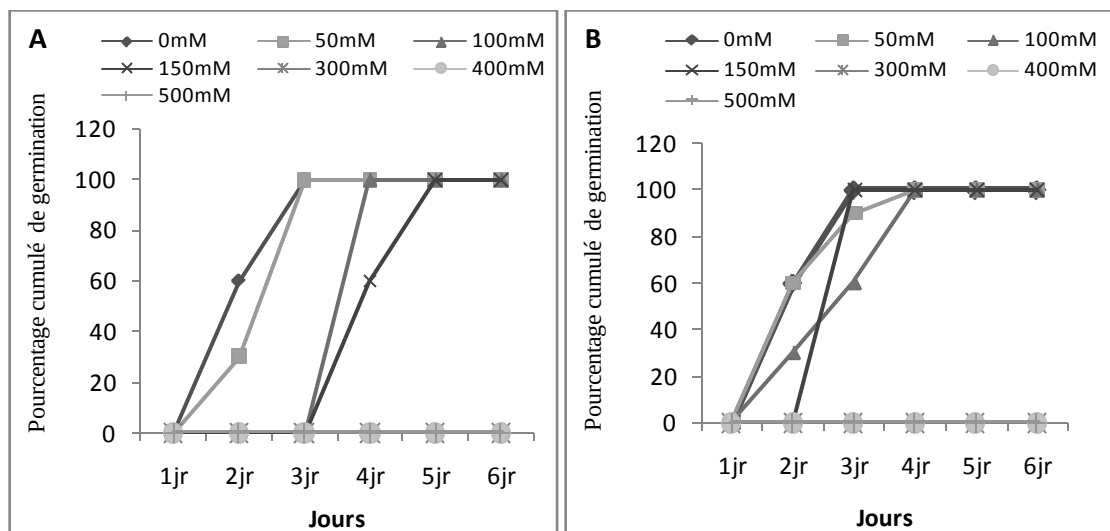


Figure 15 : Effet des différentes concentrations de NaCl (0mM, 50mM, 100mM et 150mM) sur la cinétique de germination de la variété Flip 74-92C (A) et la variété Flip 84-79C (B) du pois chiche en fonction du temps d'expérimentation.

La durée médiane de la germination des graines (t_{50}) en conditions de stress salin indique que la vitesse de germination est inversement proportionnelle à l'augmentation de la concentration en sel. En effet, 50% des graines ont germé au bout de 24 heures d'imbibition chez le témoin, le 2^{ème} jour à 50mM puis 3 et 4 jours respectivement pour des concentrations de NaCl de 100mM et 150mM. La variété 84-79C montre une durée

moyenne de la germination de 1 jour à 0mM et 50mM et de 3 jours à 100mM et 150mM. Cependant, à 150mM la vitesse de germination est plus faible (4jours) pour la variété Flip 74-92C comparée à la variété Flip 84-79C pour la même concentration de NaCl.

Tableau IV. Effet de différentes concentrations de NaCl (0mM, 50mM, 100mM, 150mM de NaCl) sur la capacité de germination et la vitesse de germination des deux variétés Flip 74-92C et Flip 84-79C.

[NaCl]	Flip 74-92C		Flip 84-79C	
	Capacité (%)	Vitesse de germination	Capacité (%)	Vitesse de germination
0 mM	100%	1	100%	1
50 mM	100%	2	100%	1
100 mM	100%	3	100%	3
150 mM	100%	5	100%	3
200 mM	0%	0	0%	0
300 mM	0%	0	0%	0
400 mM	0%	0	0%	0
500 mM	0%	0	0%	0

Discussion

La germination est considérée comme une étape critique du cycle de développement de la plante. Elle conditionne l'installation de la plantule, son enracinement et probablement sa productivité ultérieure (Tremblin et Binet, 1984).

L'évolution de la cinétique de germination des graines des deux variétés de pois chiche, Flip 74-92C et Flip 84-79C, soumises aux conditions croissantes de salinité au cours du temps, montrent 3 phases (Fig. 15):

- ✓ Une phase de latence qui correspond à la phase d'imbibition des graines et à l'apparition de la radicule. Pour nos deux variétés, cette phase est très courte chez les graines témoins et les graines traitées à 50mM de NaCl. La phase d'imbibition est plus longue en présence de concentration élevée de sel. Elle est de 72 heures pour les graines traitées par 100mM et 150mM de NaCl pour la variété Flip 74-92C et de 48 heures pour la variété Flip 84-79C pour les mêmes concentrations de sel.
- ✓ Une phase exponentielle où une augmentation linéaire du taux de germination des graines est notée. Cette phase qui évolue proportionnellement avec le temps, est plus rapide pour le traitement 100mM chez la variété Flip 74-92C et 150mM chez la variété Flip 84-79C par rapport aux autres concentrations.

- ✓ Une phase finale en plateau qui correspond à une phase stationnaire où le taux de germination est constant et maximal. C'est une phase qui traduit la capacité germinative des graines de pois chiche étudiées dans les conditions croissantes de stress salin.

La comparaison des deux variétés étudiées indique que la Flip 74-92C germe plus lentement que la variété Flip 84-79C à 100mM et 150mM. Nos résultats corroborent ceux obtenus par d'autres travaux portant sur différents variétés le pois chiche et de blé qui montrent un retard considérable du processus de germination et une réduction du pourcentage final de germination en présence du stress salin (Hajlaoui et *al.*, 2007; Kafi et *al.*, 2001; Maas, 1996).

La capacité de germination est de 100% pour les deux variétés lorsque la concentration en sel est inférieure ou égale à 150mM. Le chlorure de sodium présent dans le sol ou dans l'eau d'irrigation affecte la germination des glycophytes dont le pois chiche (*Cicer arietinum* L.) de deux manières ; il diminue à la fois la vitesse de germination et le pouvoir germinatif. Le retard de germination enregistré pour les deux variétés de pois chiche serait liée à la réduction progressive de la conductivité de l'eau dans le milieu d'imbibition et par conséquent, le ralentissement de l'activité des enzymes hydrolytiques dans les graines (Labato et *al.*, 2009).

Les fortes concentrations de NaCl (300mM, 400mM et 500mM) inhibent complètement la germination des graines de nos deux variétés. En effet, Zidan et Elewa (1995) ont noté chez quatre espèces d'Ombellifères que la concentration de (160mM) de NaCl n'a aucun effet négatif sur la germination des graines mais à un niveau plus élevé de sel (280mM) la germination est complètement inhibée. L'absence de la germination des graines en cas de forte salinité serait due à l'augmentation de la pression osmotique de la solution saline ce qui induit un stress osmotique qui ralentit l'imbibition et limite l'absorption de l'eau nécessaire au déclenchement des processus métaboliques impliqués dans la germination (Hajlaoui et *al.*, 2007). L'altération de l'activité métabolique durant le processus d'imbibition des graines serait dûes à l'accumulation toxique des ions Na^+ et Cl^- dans l'embryon ce qui conduit dans le cas extrême à la mort de l'embryon (Khan et Ungar, 1997). Bien que l'acide abscissique (ABA) est une phytohormone qui interviendrait dans l'adaptation des plantes en croissance aux stress abiotique, il a été signalé que l'augmentation de la teneur en ions Na^+ stimule le métabolisme de l'ABA dont le rôle est

de limiter l'absorption d'eau et d'inhiber la synthèse d'enzymes spécifiques pour la germination des graines (Khan et Weber, 2008).

2. Effets du stress salin

2.1. Effet du stress salin sur la croissance de deux variétés

2.1.1. Effet du stress salin sur la teneur relative en eau

La teneur relative en eau (TRE) des plants témoins des deux variétés est significativement différente ($p \leq 0,5$). En effet, la TRE de la variété 84-79C est de 83% alors qu'elle est de 50% pour la variété Flip74-92C (Fig. 16).

L'application de différents niveaux de NaCl (50, 100, 150 mM) provoque une diminution significative de la teneur relative en eau soit 60% et 30% pour les deux variétés Flip 74-92C et Flip 84-79C respectivement par rapport au témoin. Néanmoins, aucune différence significative de la TRE n'a été enregistrée à 100mM et 150mM de NaCl pour les deux variétés étudiées.

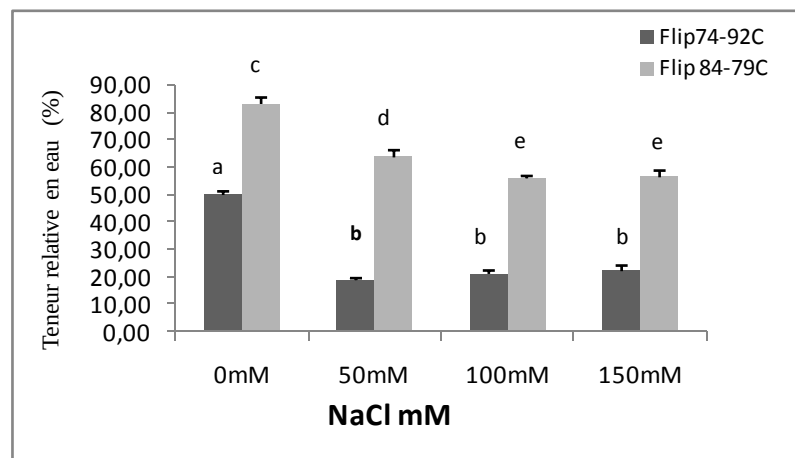


Figure 16: Effet des différentes concentrations en NaCl (0mM, 50mM, 100mM, 150mM) sur la teneur relative en eau des feuilles des deux variétés de pois chiche Flip 74-92C, Flip 84-79C. Chaque point représente la moyenne de 3 répétitions. Les barres verticales (barre d'erreur) représentent les ESM. Pour chaque variété, les histogrammes suivies de la même lettre ne sont pas différents significativement ($p \leq 0,05$).

Discussion

Les légumineuses sont des espèces généralement classées comme sensibles à la salinité (Lauchli, 1984) ; le haricot, le pois chiche et le pois étant les plus sensibles au stress salin (Cordovilla et *al.*, 1986; Soussi et *al.*, 1999).

En présence du sel, la TRE évolue de manière inversement proportionnelle à la sévérité du stress. Par ailleurs, la TRE de la variété Flip 84-79C maintient sa supériorité (60%) par rapport à la variété Flip 74-92C et ce, quelque soit la concentration en NaCl du milieu. Nos résultats corroborent ceux trouvés chez *P. vulgaris* L. (Aydi et *al.*, 2008) et *C. arietinum* L. (Singh et *al.*, 2014) qui attribuent la baisse de la TRE à une réduction de l'absorption en eau, et/ou à une forte perte en eau. La variété Flip 74-92C montre une TRE plus faible que celle de la variété Flip 84-79C en présence et en l'absence du sel, le statut hydrique des plantes serait donc affecté par le stress salin chez la variété Flip 74-92C. Selon Binzel et *al.* (1985) la capacité d'accumuler de l'eau au cours de la période de croissance végétative pourrait être un trait important pour distinguer les génotypes tolérants au sel. Les plantes qui présentent une supériorité de la TRE correspondent aux génotypes tolérants ayant une capacité de résister à la déshydratation, comparés aux variétés sensibles qui présentent une baisse importante de la teneur relative en eau (Iannuci et *al.*, 2002).

2.1.2. Effet de la salinité sur la biomasse sèche du pois chiche

La biomasse sèche aérienne des plantes est nettement supérieure chez la variété Flip 84-79C que chez la variété Flip 74-92C en conditions témoin. Elle est de 1g plante⁻¹ pour la variété Flip 84-79C et de 0,34g plante⁻¹ pour la variété Flip 74-92C (Fig. 17). En conditions de stress salin, la réponse des deux variétés varie en fonction de l'intensité du stress. La variété Flip 84-79C enregistre une augmentation non significative (50mM de NaCl) par rapport à son témoin puis diminue significativement de 20% et 40% à 100mM et 150mM de NaCl (Fig. 17). Par contre, la variété Flip 74-92C montre une augmentation significative de la biomasse à 50mM soit 0,4g plante⁻¹ puis une baisse à 100mM et 150mM de NaCl avec 0,18g plante⁻¹ et 0,12g plante⁻¹ respectivement.

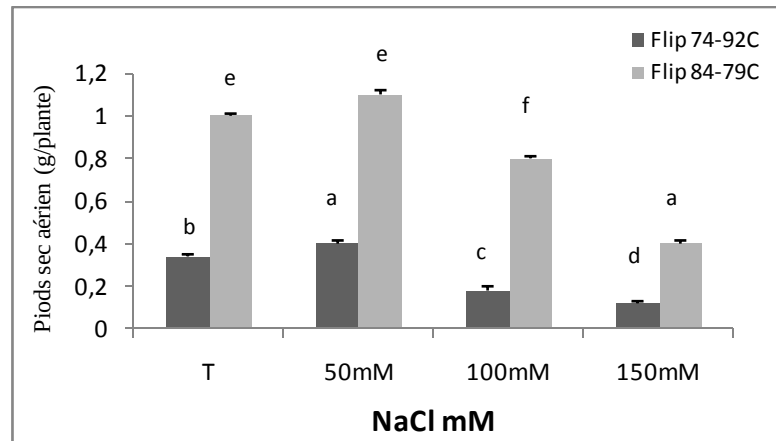


Figure 17 : Effet des différentes concentrations en NaCl (0mM, 50mM, 100mM, 150mM) sur le poids sec aérien des deux variétés Flip 74-92C, Flip 84-79C du pois chiche. Chaque point représente la moyenne de 3 répétitions. Les barres verticales (barre d'erreur) représentent les ESM. Pour chaque variété, les histogrammes suivies de la même lettre ne sont pas différents significativement ($p \leq 0,05$).

La biomasse sèche racinaire des plants témoins est de $0,14 \text{ g plante}^{-1}$ pour la variété Flip 74-92C contre $0,09 \text{ g plante}^{-1}$ pour la variété Flip 84-79C. En condition de stress salin, la biomasse racinaire, de la variété Flip 74-92C, se stabilise à $0,1 \text{ g plante}^{-1}$ et ce, quelque soit la concentration en NaCl alors que les plants de la Flip 84-79C enregistrent une légère augmentation du poids des racines à 50mM suivie d'une réduction significative de 72% à 150mM de NaCl par rapport au témoin (Fig. 18).

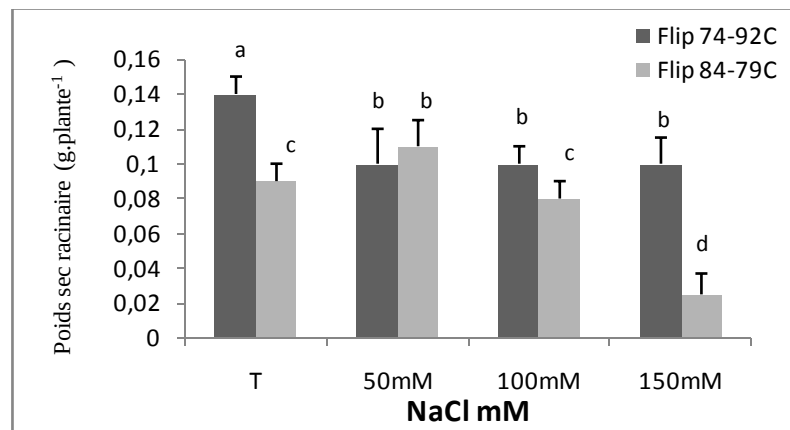


Figure 18 : Effet de différentes concentrations en NaCl (0mM, 50mM, 100mM, 150mM) sur le poids sec racinaire des deux variétés de pois chiche Flip 74-92C, Flip 84-79C. Chaque point représente la moyenne de 3 répétitions. Les barres verticales (barre d'erreur) représentent les ESM. Pour chaque variété, les histogrammes suivies de la même lettre ne sont pas différents significativement ($p \leq 0,05$).

Le ratio partie racinaire sur la partie aérienne (R/A), dans les conditions témoin, montre que la partie racinaire est plus développée que l'appareil aérien pour la variété Flip 74-92C

(Tab.V). En cas de salinité, la variété Flip 74-92C affiche une augmentation significative (26%) et (50%) à 100mM et 150mM respectivement. Inversement, aucune différence significative n'est à noter pour le ratio R/A à 50mM, 100mM et le témoin pour la variété Flip 84-79C. Cependant, pour la même variété ce rapport diminue de 31% à 150mM de NaCl comparé au témoin. Ce résultat indique que pour cette variété Flip 84-79C, les plantes maintiennent une bonne croissance aérienne laissant suggérer que cette partie serait moins affectée par la concentration de 150 mM de NaCl.

Tableau V. Effet des différentes concentrations en NaCl (0mM, 50mM, 100mM, 150mM) sur le ratio R/A des deux variétés de pois chiche Flip 74-92C, Flip 84-79C. Chaque valeur représente la moyenne de 3 répétitions. Pour chaque variété, les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas différents significativement ($p \leq 0,05$).

Variété	0mM	50mM	100mM	150mM
Flip 74-92C	0,41 ^e	0,25 ^d	0,56 ^b	0,83 ^a
Flip 84-79C	0,09 ^e	0,10 ^e	0,10 ^e	0,06 ^f

2.1.3. Effet du stress salin sur le poids de 100 grains

Le rendement des cultures estimée par le poids de 100 grains est au maximum à 35g et 32g pour les deux variétés Flip 84-79C et Flip 74-92C respectivement en conditions témoin (Fig. 19). En présence de stress salin, la variété Flip 74-92C montre une diminution significative de 25% et de 53% du poids des 100 grains respectivement à 50mM et 150mM de NaCl. Pour la variété Flip 84-79C, la réduction du poids des 100 grains est significative (en moyenne de 13%) pour toutes les concentrations en NaCl appliquées. Le rendement de la variété Flip 74-92C serait plus affecté par le stress salin que la variété Flip 84-79C.

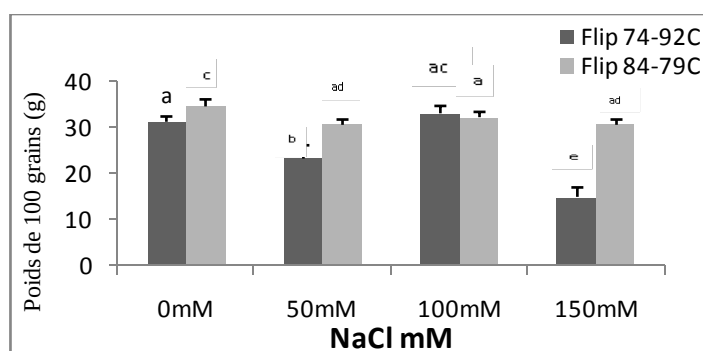


Figure 19: Effet de différentes concentrations en NaCl (0mM, 50mM, 100mM, 150mM) sur le poids de 100 grains des deux variétés Flip 74-92C, Flip 84-79C de pois chiche. Chaque point représente la moyenne de 3 répétitions. Les barres verticales (barre d'erreur) représentent les ESM. Pour chaque variété, les histogrammes suivies de la même lettre ne sont pas différents significativement ($p \leq 0,05$).

Discussion

La tolérance au sel chez les différents génotypes est généralement déterminée par le stade de croissance des plantes ou par le rendement des cultures (Maas et *al.*, 1996). La réduction de la croissance et de l'accumulation de la matière sèche en condition de stress salin a été enregistrée chez la plupart des légumineuses à graines (Delgado et *al.*, 1994), en particulier chez les différents variétés de pois chiche du type kabuli (Mugdal et *al.*, 2011 ; Tajera et *al.*, 2006). La biomasse sèche racinaire de la variété Flip 74-92C diminue par rapport à celle du témoin mais reste stable quelque soit la concentration en sel, la partie aérienne serait donc plus sensible à la salinité que la partie racinaire. Ce résultat est similaire à celui observé chez les génotypes de pois chiche (Rao et *al.*, 2002). Selon Aydi et *al.*, (2008) ; en condition de stress osmotique engendré par la salinité, les plantes allouent plus d'énergie photosynthétique vers la production des racines qui assurent la recherche en eau et donc une meilleure absorption en eau. Tajera et *al.*, (2006) suggèrent que le pois chiche augmente le rapport R/A en présence de la salinité, une augmentation qui pourrait se faire au détriment de la partie aérienne. Le ratio R/A reste, cependant, inchangé à 50mM et 100mM par rapport au témoin pour la variété Flip 84-79C ce qui indique que la croissance de la partie aérienne et la partie racinaire, évolue dans le même sens et/ou ne serait pas affectée par ces deux concentrations en NaCl. Par contre, à 150mM, la variété Flip 84-79C présente une partie aérienne significativement ($p \leq 0,05$) plus développée que la partie racinaire indiqué par la baisse du ratio R/A. De nombreux travaux sur *Vicia faba* (Abdul Qados, 2011), sur *Hordeum vulgare* L. (Movafeg et *al.* 2012), et *Kochia* (Kafi et *al.*, 2010) suggèrent que les plantes traitées par un stress salin sévère répondent par un ajustement osmotique qui pourrait améliorer le poids de leur matière sèche.

Le poids de 100 grains qui est une des composantes du rendement, est affecté par le stress salin à 150mM de NaCl essentiellement pour la variété Flip 74-92C. Pour la même concentration, la variété Flip 84-79C montre un poids de 100 grains plus élevé. Vadez et *al.*, (2007) ont signalé une baisse du rendement en grains dans des conditions de salinité à 80 mM de NaCl mais aussi les types desi sont plus résistants à la salinité que les types

Kabuli. La réduction du poids de 100 grains chez la variété Flip 74-92C pourrait être provoqué par une diminution de l'approvisionnement des graines en photosynthétats (Ahmad et *al.*, 2005 ; Mohsen et *al.*, 2013). Cette réduction serait due à une faible croissance des plantes qui se traduit par une baisse de l'offre en photoassimilats aux gousses, affectant ainsi le remplissage des graines. Cependant, la variété Flip 84-79C montre une légère baisse mais significative du poids de 100 grains avec l'augmentation de la concentration en NaCl. Mohamed et El Kramany (2005) suggèrent que la salinité accélère la maturation des graines, limitant ainsi la période de développement des grains et le remplissage des gousses, réduisant ainsi le poids de 100 graines.

2.2. Effets du stress salin sur la physiologie du pois chiche

2.2.1. Effet de la salinité sur la teneur en proline des feuilles

L'accumulation de proline dans les feuilles est variable en fonction des variétés et de la concentration en NaCl. Chez les plants témoins, la variété Flip 74-92C accumule deux fois plus de proline que la variété Flip 84-79C (Fig. 20). En conditions de stress salin, une augmentation significative de la proline foliaire en fonction de l'intensité du stress est observée chez les plants des deux variétés; elle atteint $8,30 \mu\text{g G}^{-1}$ de MVS à 100mM et $5,27 \mu\text{g G}^{-1}$ de MVS à 150mM de NaCl, une augmentation significative par rapport à son témoin pour la variété Flip 74-92C. La même tendance est enregistrée pour la variété Flip 84-79C qui montre une augmentation de $6,18 \mu\text{g G}^{-1}$ de MVS à 50mM et 100mM puis une diminution significativement de 25% par rapport au témoin.

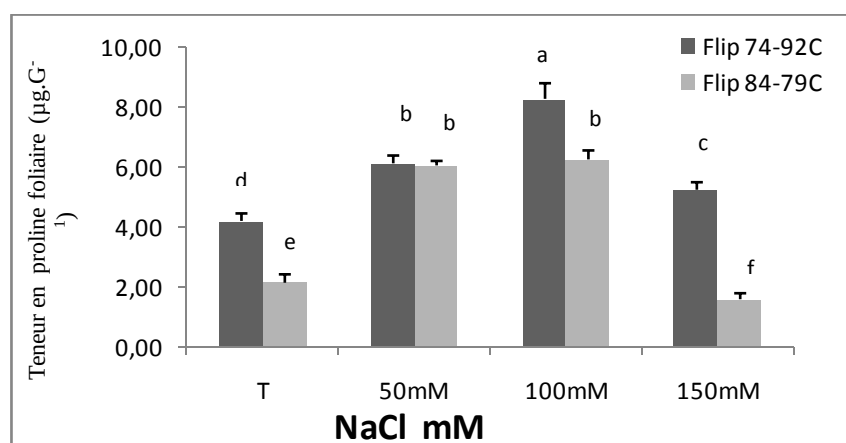


Figure 20 : Effet des différentes concentrations en NaCl (0mM, 50mM, 100mM, 150mM) sur la teneur en proline foliaire des deux variétés Flip 74-92C, Flip 84-79C du pois chiche. Chaque point représente la moyenne de 3 répétitions. Les barres verticales (barre d'erreur) représentent les

ESM. Pour chaque variété, les histogrammes suivies de la même lettre ne sont pas différents significativement ($p \leq 0,05$).

Discussion

L'osmorégulation permet une protection des membranes et des systèmes enzymatiques surtout dans les organes jeunes. La proline semble jouer un rôle dans le maintien des pressions cytosol-vacuole et de la régulation du pH (Ottow et *al*, 2005). Avec l'intensité du stress salin, la variété Flip 74-92C accumule plus de proline que la variété Flip 84-79C. L'un des principaux caractères physiologiques de tolérance aux contraintes du milieu est l'ajustement osmotique. Celui-ci est réalisé grâce à une accumulation de composés osmorégulateurs de nature organique conduisant à une augmentation de la pression osmotique permettant ainsi le maintien du potentiel de turgescence (El Midaoui et *al*, 2007). En effet, La proline agit en tant que composé soluble compatible dans l'ajustement osmotique pouvant atteindre de fortes concentrations sans exercer d'effets toxiques comme le cas des ions (Silva-Ortega et *al*, 2008). Toutefois, à 150mM, la teneur en proline foliaire diminue de 70% pour la variété Flip 84-79C par rapport à la variété Flip 74-92C. Similairement, une diminution des teneurs en proline a été observée chez des génotypes de haricot (Téjéra et *al*, 2005). Ces auteurs expliquent la baisse de la proline à une inhibition de la synthèse de son précurseur ou à une activité élevée de la proline deshydrogénase impliquée dans la dégradation de cet acide aminé (Téjéra et *al*, 2005).

2.2.2. Effets du stress salin sur le nombre de nodule

En condition témoin, les plantes de la variété Flip 84-79C forment trois fois plus de nodules que la variété Flip 74-92C, ce qui laisse indiquer que le pouvoir de nodulation chez la variété Flip 84-79C est plus élevé que celui de la variété Flip 74-92C (Fig. 21). Le nombre de nodules chez la variété Flip 84-79C augmente significativement à 50mM avec 77,7 nodules plante⁻¹ puis diminue à 62 nodules plante⁻¹ à 100mM pour atteindre 21,3 nodules plante⁻¹ à 150mM, soit une réduction de 60% par rapport au témoin. Par ailleurs, chez la variété Flip 74-92C, le plus faible nombre de nodules est noté chez le témoin et le stressé à 150mM avec en moyenne 17 nodules plante⁻¹. Cependant, la nodulation est significativement stimulée par des stress salin de faibles intensités, soit 64 nodules plante⁻¹ à 50mM et 25 nodules plante⁻¹ à 100mM.

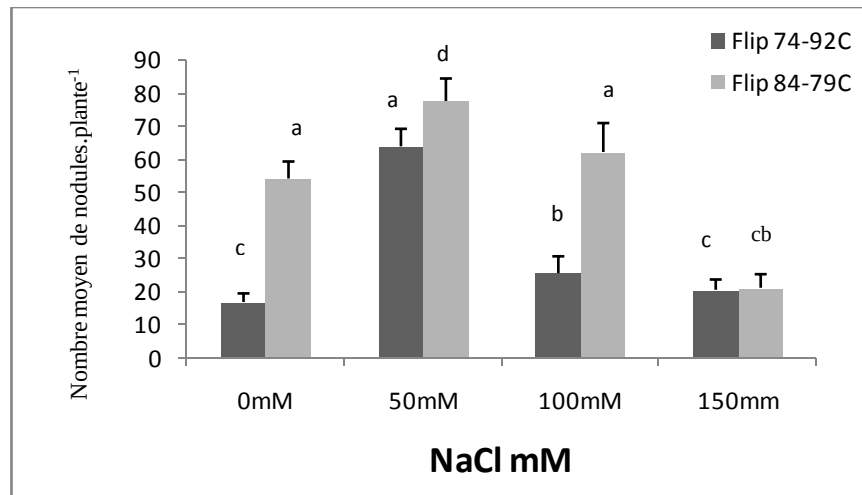


Figure 21: Effet des différents traitements sur le nombre moyen de nodule/plant des deux variétés de pois chiche, Flip 74-92C, Flip 84-79C. Chaque point représente la moyenne de 3 répétitions. Les barres verticales (barre d'erreur) représentent les ESM. Pour chaque variété, les histogrammes suivies de la même lettre ne sont pas différents significativement ($p \leq 0,05$).

Discussion

Le stress salin à 50mM et 100mM, a un effet positif sur la nodulation chez les deux variétés de pois chiche étudiées. Toutefois, un stress salin de plus forte intensité (150mM de NaCl) réduit la nodulation de 72% chez la variété Flip 84-79C. L'importante diminution de la nodulation indique que l'établissement de la symbiose chez la variété Flip 84-79C serait plus sensible à la salinité que la variété Flip 74-92C. Ce faible pouvoir nodulant serait lié à l'inhibition de l'initiation de la nodulation et/ou l'inhibition du développement de nouveaux nodules par le stress osmotique engendré par la salinité (Aydi et *al.*, 2000). De même, la salinité peut réduire les sites potentiels d'infection résultant d'une inhibition de l'émergence, de l'élongation des poils absorbants et de la croissance du système racinaire, et par conséquent une faible colonisation par les *Rhizobia* (Delgado et *al.*, 1994; Fahmi et *al.*, 2011). La réduction du nombre et de la masse des nodules fonctionnels en conditions de stress salin affecte considérablement la fixation N_2 (Nandwal et *al.*, 2007). Selon Rao et *al.*, 2002, la formation des nodules et la croissance nodulaire sont des paramètres plus sensibles à la salinité que la croissance de la plante. La salinité réduit la nodulation et l'accumulation de la matière sèche nodulaire et inhibe l'activité nitrogénasique chez le soja (Abd-Alla et *al.*, 1994).

Conclusion

Les graines des deux variétés germent à des concentrations de NaCl inférieure ou égale à 150mM. Au-delà de cette concentration, la germination est totalement inhibée. Par ailleurs, la germination de la variété Flip 74-92C semble être plus lente à 150mM avec un temps de germination supérieur à 3jours alors que pour la même concentration 100% des graines ont germé pour la variété Flip 84-79C.

La variété Flip 74-92C présente une réduction significative de la croissance végétale exprimée par la biomasse sèche aérienne et avec une augmentation de la croissance racinaire par rapport à la variété Flip 84-79C. Inversement, la variété Flip 84-79C montre une bonne croissance aérienne comparée à la biomasse racinaire ce qui permet de classer la variété Flip 74-92C comme étant une variété plus affectée par le stress salin et la variété Flip 84-79C comme moins affectée par le stress salin. Ce résultat est confirmé par l'augmentation du rapport partie racinaire/partie aérienne, la faible teneur relative en eau, de l'augmentation de la teneur en proline et de la réduction du poids de 100 grains pour la variété Flip 74-92C.

Sur la base de la réponse des deux variétés testées vis-à-vis du stress salin, et bien que la croissance de variété Flip 84-79C s'est montrée moins affectée par le stress salin que la variété Flip 74-92C, nous avons retenu la variété Flip 84-79C pour le reste du travail en raison de la sensibilité de l'établissement de la symbiose en présence de 150mM.

Dans la deuxième partie du travail, nous avons testé l'effet combiné du sel et du phosphore sur différents paramètres de croissance, de symbiose et de rendement du pois chiche variété Flip 84-79C. Les deux doses d'engrais phosphatés (90, 200 kg h⁻¹) mélangées au NaCl (0, 150 mM de NaCl) ont été appliquées dès le stade plantule et avant la formation des premiers nodules.

3. Effet de la salinité et du phosphate sur les plantes

3. 1. Effet de la salinité et du phosphate sur la croissance

La croissance des plants exprimée en poids sec total indique que les plantes témoins ont une biomasse maximale de 3,24 g plante⁻¹ suivie des plantes SP1 avec 3,04 g plante⁻¹ alors que le poids sec total est plus faible pour les plantes stressées et SP2 avec en moyenne 2,28 g plante⁻¹ soit une réduction significative de 30% par rapport au témoin et au traitement SP1 (Fig. 22).

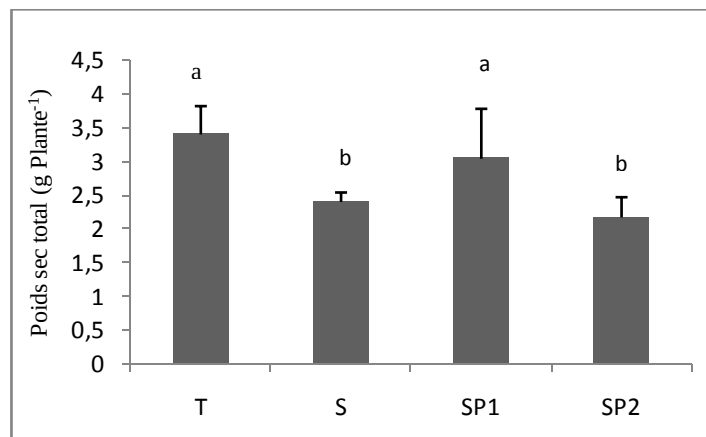


Figure 22: Effet du NaCl (0, 150 mM) et du phosphore (90, 200 kg h⁻¹) sur le poids sec aérien de la variété Flip 84-79C du pois chiche la variété Flip 84-79C (T = Témoin, S= 150mM, SP1= 90xS, SP2=200xS). Chaque point représente la moyenne de 3 répétitions. Les barres verticales (barre d'erreur) représentent les ESM. Pour chaque variété, les histogrammes suivies de la même lettre ne sont pas différents significativement ($p \leq 0,05$).

Le traitement SP2 semble induire un meilleur développement racinaire. En effet, la longueur racinaire est de 10cm pour les plants SP2 contre 8cm pour les plants témoin et SP1. Cependant, la longueur racinaire est plus faible en présence de la contrainte saline (S) avec 6,7cm soit une réduction significative de 16% et 24% par rapport au plantes témoins et SP2 respectivement. (Fig. 23).

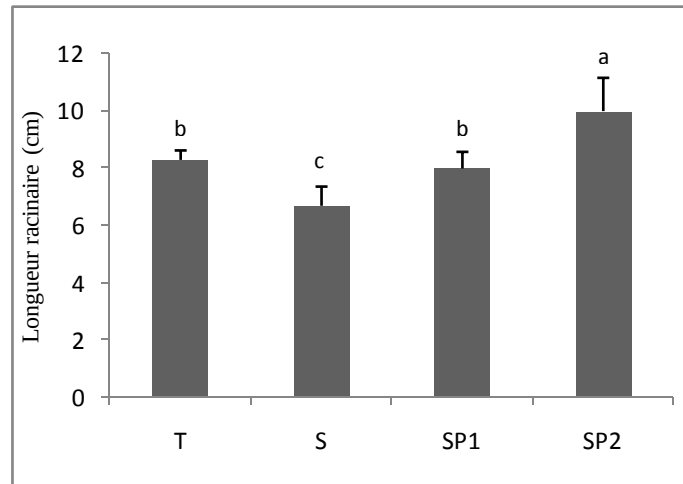


Figure 23: Effet du NaCl (0, 150 mM) et du phosphore (90, 200 kg h⁻¹) sur la longueur des racines du pois chiche la variété Flip 84-79C (T = Témoin, S=150mM, SP1= 90xS, SP2=200xS). Chaque point représente la moyenne de 3 répétitions. Les barres verticales (barre d'erreur) représentent les ESM pour chaque traitement ; témoin (T), stressé (S), sel x faible dose de P₂O₅ (SP1) et sel x forte dose de P₂O₅ (SP2). Les histogrammes suivis de la même lettre ne sont pas significativement différents ($p \leq 0,05$).

La croissance de la partie aérienne exprimée en nombre de ramifications (tiges) par plante ne montre aucune différence significative entre les plantes témoins, S et SP2 avec en moyenne 5,8 tiges plante⁻¹. Par contre, le traitement SP1 induit un bon développement de la partie aérienne avec 7,6 tiges plante⁻¹. (Fig. 24).

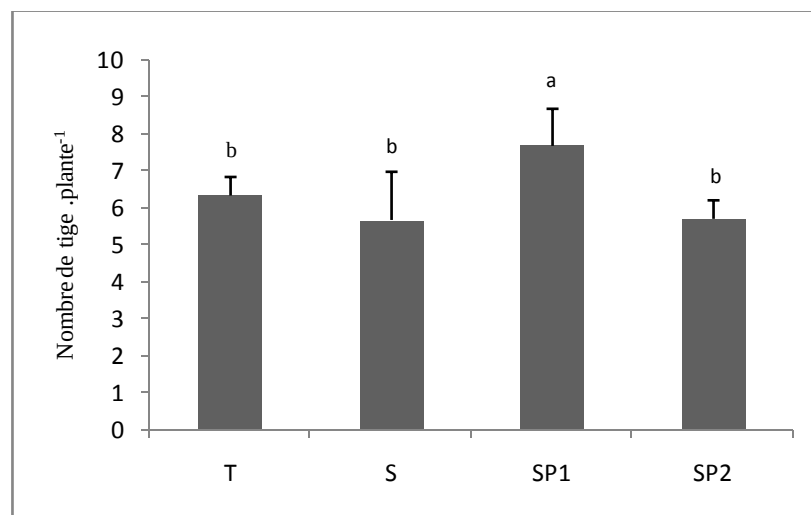


Figure 24: Effet du NaCl (0, 150 mM) et du phosphore (90, 200 kg h⁻¹) sur le nombre de ramifications aériennes du pois chiche la variété Flip 84-79C (T = Témoin, S=150mM, SP1= 90xS, SP2=200xS). Chaque point représente la moyenne de 3 répétitions. Les barres verticales (barre d'erreur) représentent les ESM pour chaque traitement ; témoin (T), stressé (S), sel x faible dose de P₂O₅ (SP1) et sel x forte dose de P₂O₅ (SP2). Les histogrammes suivis de la même lettre ne sont pas différents significativement ($p \leq 0,05$).

Discussion

Le stress salin diminue le poids sec total des plantes mais n'affecte pas le nombre de ramification aérienne comparé au témoin et SP1. Par ailleurs, le traitement SP2 favorise l'élongation racinaire alors que les plantes SP1 présentent un optimum de la biomasse sèche et de la croissance aérienne et racinaire. Bien que le pois chiche soit considéré comme une espèce sensible à la salinité, certaines variétés sont capables de contrecarrer les effets drastiques du stress salin et se développent en minimisant les répercussions dues à l'exposition au sel (Ashraf *et al.*, 2005). La baisse de la biomasse végétale serait aussi liée à l'inhibition de l'élongation de la tige principale (Maaouia-Houimli *et al.*, 2011) et/ou à une baisse du nombre de divisions cellulaires (Benamar *et al.*, 2009). Mohammad *et al.*, (1998) considèrent qu'un stress salin intense est accompagné d'une réduction significative de la biomasse racinaire, de la hauteur de la plante, du nombre de feuilles par plante, de la longueur des racines et de la surface racinaire chez la tomate.

La présence du mélange (faible dose de phosphore x NaCl), dans le sol, semble avoir un effet stimulateur de la croissance en longueur des racines et maintient une biomasse sèche élevée comparé au stress salin. Par ailleurs, la forte dose phosphore mélangé au sel (SP2) favorise l'allongement des racines tout en affectant la ramification de la partie aérienne et le poids sec total des plantes. Chez le pois chiche, une diminution significative (70%) de la croissance des plantes a déjà été enregistrée en présence de la faible concentration de NaCl (25mM) (Krouma, 2009). Néanmoins, les effets de la salinité sur la croissance et la productivité ne sont pas toujours négatifs. En effet, certains génotypes et espèces présentent des degrés d'adaptation au stress salin (Rao *et al.*, 2002). Ben Khaled *et al.*, (2003) en travaillant sur le trèfle a montré que la concentration de 2 g L⁻¹ en NaCl dans le milieu conduit à une stimulation de la production de la matière fraîche et sèche des organes aériens des plantes.

La stimulation de la croissance racinaire pour le traitement SP1 serait en faveur de l'absorption du phosphore soluble HPO₄²⁻ additionné au sol. Selon Panhawar *et al.*, (2011), l'addition de phosphore dans le sol favorise l'enracinement des plants, le développement et la croissance du blé (Panhawar *et al.*, 2011). Selon Hade (2002), une productivité trop importante en biomasse végétale pourrait être une indication de l'enrichissement par les matières nutritives et plus particulièrement en phosphore. Par contre, la déficience en P permet une augmentation de la densité et de la surface d'absorption des racines, reliée à un

développement beaucoup plus abondant des racines latérales mais non à un allongement des axes racinaires principaux, afin de permettre une meilleure exploration du volume du sol (Neumann et Römheld, 1999).

3. 2. Effet de la salinité et du phosphate sur le statut hydrique de la plante

L'état hydrique des feuilles (TRE) est fonction des traitements appliqués. En effet, la teneur relative en eau est de 58% et 53% chez les plantes témoin et SP1 respectivement. La concentration de 150mM de NaCl pour sa part provoque une diminution non significative de la TRE (47%) suivi des plantes SP2 avec 39% de teneur relative en eau (Fig. 25).

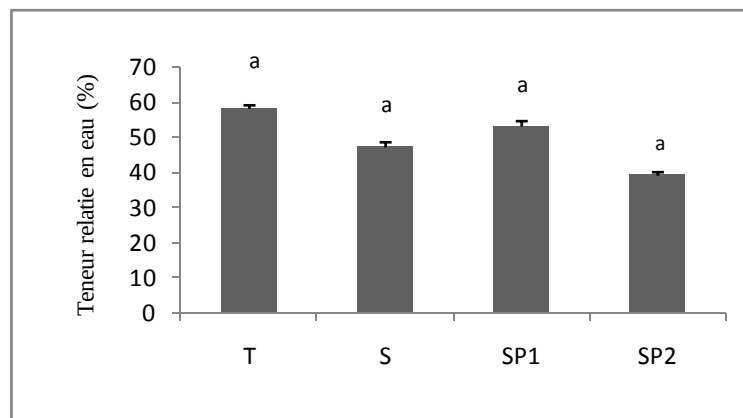


Figure 25: Effet du NaCl (0, 150 mM) et du phosphore (90, 200 kg h⁻¹) sur la teneur relative en eau des feuilles du pois chiche la variété Flip 84-79C (T = Témoin, S= 150mM, SP1= 90xS, SP2=200xS). Chaque point représente la moyenne de 3 répétitions. Les barres verticales (barre d'erreur) représentent les ESM. Pour chaque variété, les histogrammes suivies de la même lettre ne sont pas différents significativement ($p \leq 0,05$).

L'ouverture des stomates des feuilles témoin est maximale avec 20 μ m, suivi des feuilles traitées SP1 avec 15,3 μ m. Cependant, les feuilles stressées au sel montrent une réduction significative de l'ouverture de l'ostiole (60%) par rapport au témoin et de 46% par rapport au traitement SP1 (Fig. 26). La fermeture des stomates reflète la perturbation de l'alimentation en eau provoquée par la salinité.

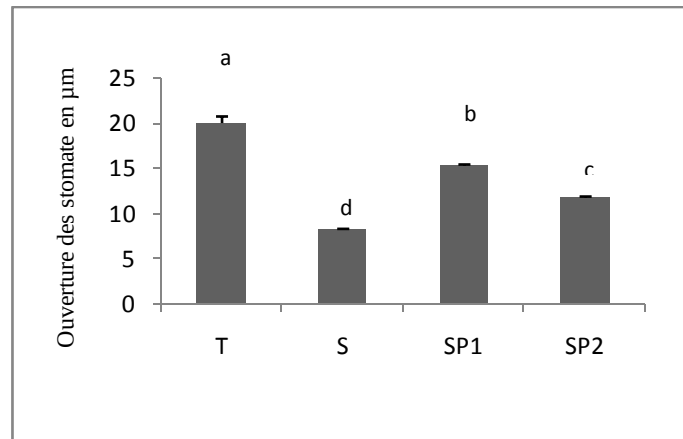


Figure 26: Effet du NaCl (0, 150 mM) et du phosphore (90, 200 kg h⁻¹) sur l'ouverture des stomates du pois chiche la variété Flip 84-79C (T = Témoin, S=150mM, SP1= 90xS, SP2=200xS). Chaque point représente la moyenne de 3 répétitions. Les barres verticales (barre d'erreur) représentent les ESM. Pour chaque variété, les histogrammes suivies de la même lettre ne sont pas différents significativement ($p \leq 0,05$).

Discussion

L'état hydrique de la plante est régulé par le mouvement des stomates (Zhu, 2002). Nos résultats indiquent que le stress salin n'a pas affecté la teneur relative en eau accompagnée d'une réduction significative de 82% de l'ouverture des stomates comparé au témoin et les traitements SP. Ceci indique un maintien d'un niveau hydrique qui permet de protéger les plantes de la déshydratation. Le maintien d'un état hydrique optimal des cellules serait en relation étroite avec l'ouverture des stomates pour les différents traitements. Cette relation est confirmée par le coefficient de corrélation positif et significatif ($r^2=0,62$) pour l'ensemble des traitements appliqués. La réduction de la turgescence des cellules suite au stress osmotique conduit à une synthèse et accumulation d'ABA qui active les mécanismes de réponse et d'adaptation au stress (Xiong et Zhu, 2002). En effet, L'ABA ajuste le statut hydrique de la cellule à travers la régulation de la fermeture des stomates et l'expression de gènes associés au transport d'ions et à la biosynthèse d'osmolytes et de protéines LEA (Zhu, 2002).

Les plantes SP1 ont une TRE et une ouverture des stomates proche du témoin; ce traitement permet à la plante d'avoir une meilleure disponibilité en eau et de surmonter les effets négatifs de la salinité. En effet, en conditions de salinité, le potentiel hydrique de la feuille et la vitesse d'évaporation diminuent significativement chez l'halophyte *Suaeda salsa* alors qu'il n'y a pas de changement dans la teneur relative en eau (Lu et al., 2002).

Selon Allem et *al.* (2002) les variétés de blé tendre qui arrivent à réduire le plus l'intensité de transpiration sont celles qui maintiennent le meilleur statut hydrique

La réduction de l'ouverture des stomates en présence du sel et du phosphore indique que ces conditions de cultures provoqueraient un abaissement du potentiel hydrique foliaire associé à une réduction du potentiel osmotique et un maintien d'une TRE relativement élevée. Une telle réponse traduit le déclenchement d'une osmorégulation par l'ajustement osmotique des cellules suite à l'accumulation des osmotocums (Hasegawa et *al.*, 2000, Garg, 2002). Selon Serraj et Sinclair (2002), la restauration de la teneur relative en eau des feuilles serait due à l'accumulation des solutés compatibles tels que les acides aminés, la glycine betaine, les sucres, les sucres alcools. Cet ajustement osmotique serait favorisé par la réduction de la transpiration et la réduction de la surface foliaire (Allem et *al.*, 2002) permettant aux cellules de maintenir leur turgescence (Wang et *al.*, 2003). De même, Shi et Zhu (2002) ont démontré que l'ABA induisait une augmentation de la transcription du gène *AtNHX1* impliqué dans la compartimentation vacuolaire via une protéine phosphatase ABI1.

3. 3. Effet de la salinité et du phosphore sur les pigments

3. 3.1. Teneur en chlorophylle

La teneur en chlorophylle *a* augmente significativement dans les feuilles stressées au NaCl (2,55 $\mu\text{g G}^{-1}$ de MVF) par rapport aux feuilles témoins (1,75 $\mu\text{g G}^{-1}$ de MVF) (Tab. IV). En effet, la chlorophylle *a* montre une augmentation significative de 30% tout en gardant la teneur en chl *b* équivalente à celle du témoin. Pour les traitements SP1 et SP2, la teneur en chlorophylle *a* est équivalente à celle du témoin alors qu'elle diminue significativement ($p \leq 0,05$) de 60% par rapport au stress salin. Toutefois, les plants traités SP1 contiennent plus de chlorophylle *b* que de chlorophylle *a*. En effet, la teneur en chlorophylle *b* augmente significativement de 44% par rapport aux autres traitements ; elle passe de 1,67 $\mu\text{g G}^{-1}$ de MVF chez le témoin et 1,93 $\mu\text{g G}^{-1}$ de MVF chez le traitement S à 3,03 $\mu\text{g G}^{-1}$ de MVF chez les plantes SP1. Par ailleurs, une augmentation significative de la teneur en chl *b* de 81% et 56% est enregistrée pour les feuilles SP1 comparé au témoin et au traitement S respectivement (Tab.VI).

Comparativement aux plantes témoins, le stress salin ne semble pas trop affecter le rapport chl *a*/chl *b*. Inversement, les traitements SP1 et SP2 cause une baisse significative du

rapport chl *a*/chl *b* par rapport aux plantes témoin et traitées S. Cette diminution du rapport s'explique par l'augmentation de la teneur en chlorophylle *b* par rapport à la chlorophylle *a* et laisse suggérer que le mélange (sel x phosphore) stimule la synthèse de la chl *b* par rapport à la chl *a*. La teneur en caroténoïdes augmente significativement en cas de stress salin par rapport aux autres traitements.

Tableau VI: Effet du NaCl (0, 150 mM) et du phosphore (90, 200 kg h⁻¹) sur les teneurs en µgG⁻¹ de MVF des chlorophylles (*a*, *b*), du rapport chl *a*/chl *b* et des caroténoïdes chez le pois chiche la variété Flip 84-79C (T = Témoin, S= 150mM, SP1= 90xS, SP2=200xS). Chaque point représente la moyenne de 3 répétitions. Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas différents significativement ($p \leq 0,05$).

Traitements	Chl <i>a</i>	Chl <i>b</i>	Chl <i>a</i> /chl <i>b</i>	Caroténoïdes
T	1,75±1,1 ^b	1,67±0,95 ^b	1,04±0,59 ^a	2,77±0,20 ^b
S	2,55±0,35 ^a	1,93±0,63 ^b	1,32±0,25 ^a	2,98±0,77 ^a
SP1	1,68±0,13 ^b	3,03±0,95 ^a	0,56±0,05 ^b	2,62±0,9 ^b
SP2	1,37±0,29 ^b	1,62±0,38 ^b	0,84±0,02 ^b	2,56±0,87 ^b

Discussion

Le stress salin augmente la teneur en chlorophylle *a* par rapport aux autres traitements alors que le traitement SP1 augmente de 30% la teneur en chlorophylle *b* par rapport aux traitements SP2, S et au témoin. Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus chez la tomate (Sharaf et *al.*, 1990) et le piment (Dali et *al.*, 1997). Ces auteurs suggèrent que la chlorophylle *b* serait plus sensible à l'effet du stress salin que la chlorophylle *a*. Une telle réponse pourrait s'expliquer par la baisse de la perméabilité des membranes thylakoïdiennes aux ions Na⁺ et Cl⁻, permettant ainsi la protection de la chlorophylle *a* contre les effets dépressifs de ces ions et le maintien d'une certaine capacité photosynthétique sous la contrainte saline (Ben Khaled et *al.*, 2003). Inversement, le traitement SP1 semble favoriser l'accumulation de la chlorophylle *b*. Nos résultats corroborent avec ceux trouvés chez l'orge (Cheikh M'Hamed et *al.*, 2008), chez les espèces de bananier (Belfakih et *al.*, 2013) et chez la luzerne (Ibriz et *al.*, 2007). Une telle réponse pourrait être expliqué par la variation dans l'activation de la biosynthèse des différentes fractions de la chlorophylle (Ali et *al.*, 2004). La réduction en chlorophylle *a* en cas du traitement SP1 serait également due à une déficience dans la synthèse de la chl *a* et/ou à la stimulation de la biosynthèse de la chlorophylle *b* ou alors à la transformation de

la chl *a* en chl *b* suite au remplacement par une oxygénase du groupement méthyle de la chlorophylle *a* par un groupement -CHO pour donner la chl *b* (Prasad, 1997 ; Folly, 2000).

3. 3.2. Effet de la salinité et du phosphate sur la composition minérale des plantes (Na^+ , K^+ , Cl^- et le PO_4^{2-})

La teneur en sodium accumulée dans les feuilles du pois chiche est nettement inférieure à celle accumulée dans les racines. Au niveau des feuilles, l'accumulation en ions Na^+ est équivalente pour les plants témoin, et les plants ayant subi un traitement S et SP2 soit une moyenne de 20 mg G^{-1} . Cependant, la teneur en Na^+ foliaire diminue significativement (30%) lors du traitement SP1. Comparativement aux feuilles, une accumulation similaire en sodium dans les racines témoin et S soit 337 mg G^{-1} alors que le traitement SP1 réduit de 30% la concentration en Na^+ suivi du traitement SP2. (Fig. 29). Parallèlement, la teneur en potassium des feuilles est en moyenne de $4,11 \text{ mg G}^{-1}$ de MVS pour le témoin et le traitement S. Cependant, l'application du traitement SP1 induit une augmentation en K^+ de 11% dans les feuilles alors que le traitement SP2 diminue significativement la quantité de potassium (de 30%) comparativement aux autres traitements (Fig. 27).

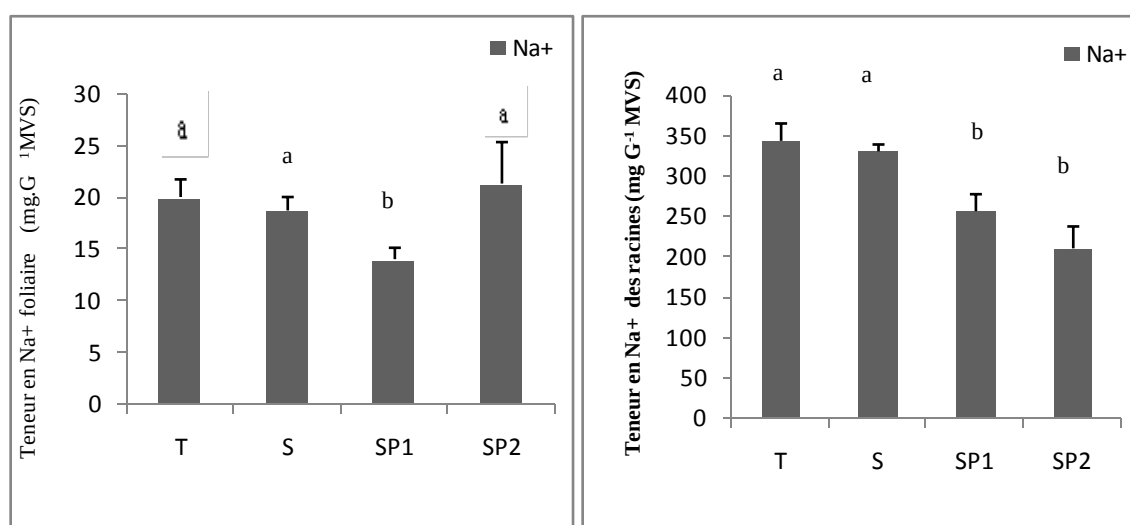


Figure 27: Effet du NaCl (0, 150 mM) et du phosphate (90, 200 kg h^{-1}) sur la teneur en ion sodium des feuilles et des racines du pois chiche la variété Flip 84-79C (T = Témoin, S= 150mM, SP1= 90xS, SP2=200xS). Chaque point représente la moyenne de 3 répétitions. Les barres verticales (barre d'erreur) représentent les ESM. Pour chaque variété, les histogrammes suivies de la même lettre ne sont pas différents significativement ($p \leq 0,05$).

La figure (29) montre que le rapport K^+/Na^+ est inférieur à 0,22 pour les feuilles témoins, stressées et SP2 alors que ce rapport est de l'ordre de 0,33 pour les feuilles SP1 ; ceci

indique qu'il y'a moins d'ions sodium dans les feuilles SP1 que les ions potassium comparé aux autres traitements. Inversement, une accumulation élevée et maximale en ion K^+ dans les racines T, SP2 et SP1 avec un rapport moyen de 0,56 contre une baisse de 50% de ce rapport K^+/Na^+ dans les racines stressées. Ce résultat indique qu'en conditions de stress salin x phosphore, les racines accumulent plus d'ions K^+ que Na^+ afin de se protéger des effets néfastes du sel.

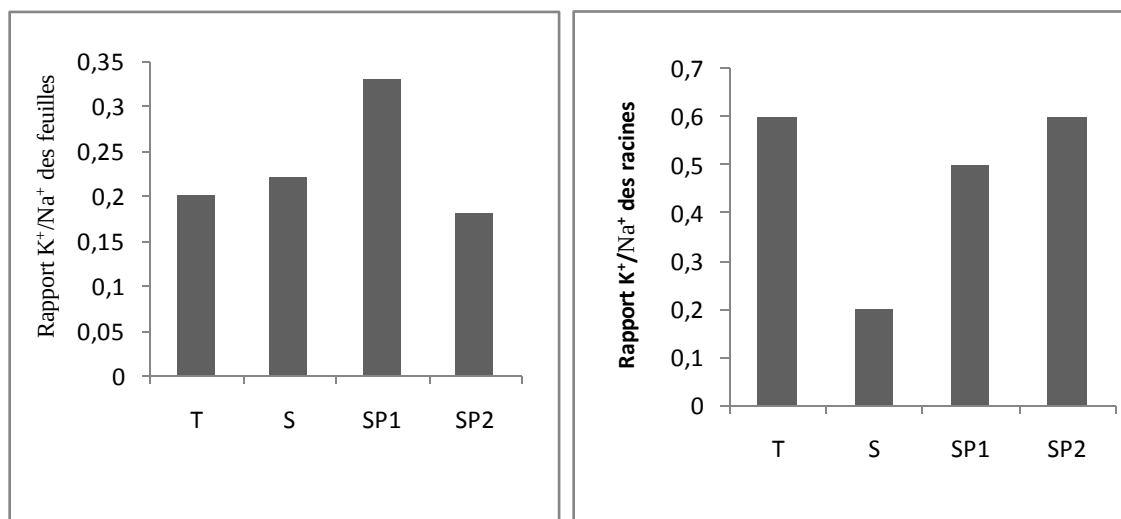


Figure 28: Effet du NaCl (0, 150 mM) et du phosphore (90, 200 kg h⁻¹) sur le ratio K^+/Na^+ dans les feuilles et les racines de la variété Fip 84-79C du pois chiche, (T = Témoin, S= 150mM, SP1= 90xS, SP2=200xS). Chaque point représente la moyenne de 3 répétitions.

Par ailleurs, les feuilles témoins et stressées accumulent des quantités équivalentes en ion phosphate P avec une moyenne de 23,95mg G⁻¹ MVS. Cependant, une augmentation maximale significative (14%) en ions phosphate (28mg G⁻¹ MVS) est enregistrée pour le traitement SP1 par rapport au témoin et traitement S alors que le traitement SP2 réduit significativement la teneur en ion phosphate dans les feuilles. L'accumulation du chlore est maximale dans les feuilles pour le traitement S avec 0,72 mg G⁻¹ de MVS soit le double de la quantité d'ions Cl⁻ accumulée chez le témoin (0,33mg G⁻¹ de MVS) (Fig. 29). Les traitements SP1 et SP2 ont réduit significativement (-44%) la teneur en ions Cl⁻ par rapport au plantes s.

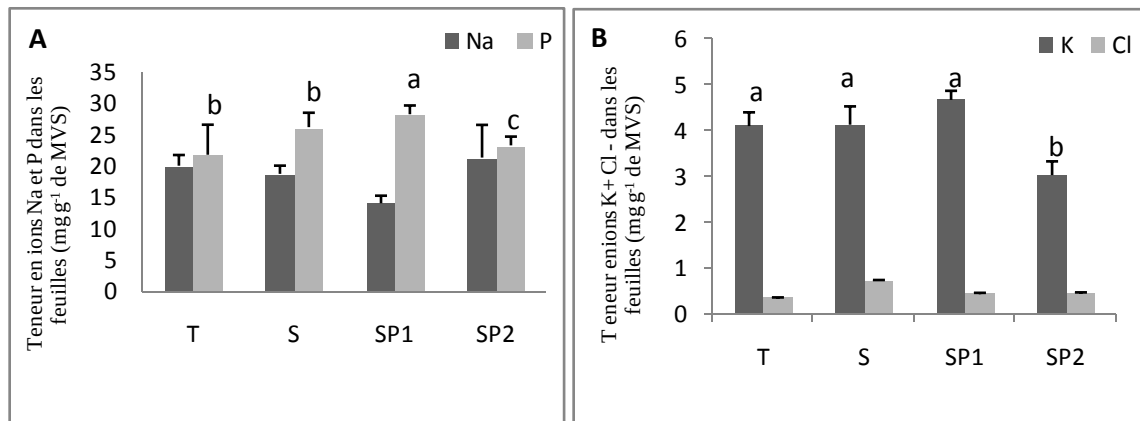


Figure 29: Effet du NaCl (0, 150 mM) et du phosphore (90, 200 kg h⁻¹) sur l'accumulation des ions sodium, et phosphore (A) et des ions potassium et chlore (B) en dans les feuilles de pois chiche la variété Flip 84-79C, (T = Témoin, S= 150mM, SP1= 90xS, SP2=200xS). Chaque point représente la moyenne de 3 répétitions. Les barres verticales (barre d'erreur) représentent les ESM. Pour chaque variété, les histogrammes suivies de la même lettre ne sont pas différents significativement ($p \leq 0,05$).

Discussion

Chez le témoin et en conditions de stress salin, les plantes absorbent plus d'ions Na⁺ que les plantes SP ; l'addition du phosphore au sel (traitement SP1) semble réduire l'accumulation de sodium dans les plantes. Les racines accumulent des teneurs plus élevées en sodium que les feuilles. Ce résultat laisse supposer que l'accumulation du sodium a tout d'abord lieu dans les feuilles, puis le compartiment racinaire semble prendre le relais et contribuer à son tour à la tolérance par une accumulation plus importante en sodium et/ou par exclusion de cet ion. Selon Hamrouni et *al.*, (2011) de nombreuses glycophytes dont le pois chiche ont une capacité de compartimentation vacuolaire limitée, et tendent à véhiculer le sodium en excès des feuilles vers les racines. Dans le cas d'un génotype tolérant, les plantes affichent des concentrations plus élevées de sodium dans les feuilles par rapport aux racines, sachant qu'elles procèdent à sa compartimentation dans la vacuole pour protéger le cytoplasme de sa toxicité (Blumwald, 2000; Mohsen et *al.*, 2011).

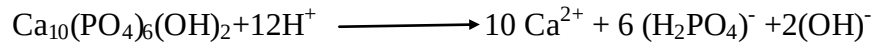
Par ailleurs, la teneur en potassium est plus élevée dans les plantes témoin et SP comparé aux plants stressés indiqué par une augmentation du rapport K⁺/Na⁺. Un résultat similaire a été enregistré dans les feuilles, racines et nodules de *Vigna radiata* L. et *Prosopis juliflora* L (Viegas et *al.*, 2004, Nandwal et *al.*, 2000). El-Iklil et *al.*, (2002) suggèrent que les plantes qui réussissent leur croissance en milieu salin sont celles qui maintiennent un rapport K⁺/Na⁺ plus élevé dans leur cytoplasme que dans la rhizosphère. La toxicité de NaCl est fréquemment associée aux teneurs foliaires élevées en ion Cl⁻ (White et Broadley, 2003). Selon nos résultats, en condition S, notre variété accumule beaucoup plus de sodium

que de chlore. Toutefois, l'accumulation des ions Cl^- est significativement élevée dans les feuilles des plants stressés comparé aux feuilles témoin, SP1 et SP2. Des travaux sur des espèces d'agrumes ont montré que les variétés sensibles au sel sont celles qui accumulent le plus de Cl^- dans leurs feuilles (Chapman et *al.*, 1968). En raison de sa toxicité, un mécanisme de compartimentation des ions Cl^- à l'intérieur de la vacuole a été mis en évidence suite à l'identification des canaux chlorure ClC (Hechenberger et *al.*, 1996).

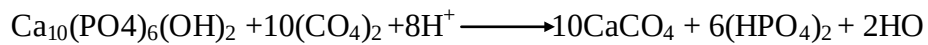
L'accumulation des ions K^+ et Cl^- , laisse suggérer une synergie dans leur absorption. En effet, le maximum de Cl^- accumulé dans les plants du traitement S et chez les plants témoin correspondant à une teneur relativement basse en K^+ , alors que l'augmentation en K^+ chez les feuilles SP1 coïncide avec une réduction de la quantité en Cl^- sauf pour les plantes SP2 où une chute en K^+ est notée. L'importance du K^+ est liée à son rôle majeur comme osmolyte et son impact sur la croissance des feuilles, le rendement des cultures, l'ouverture et la fermeture des stomates (Marschner, 1995; Shabala, 2003) et l'augmentation de la conductance de l'eau dans le xylème de la plante (Nardini et *al.*, 2010).

La diminution du stockage des ions Na^+ dans les feuilles et dans les racines coïncide avec l'augmentation de l'accumulation du phosphore chez les plantes SP1, laissant suggérer que le phosphate additionné au sol aurait un effet direct ou indirect sur l'absorption en ion Na^+ et agit de manière à réduire l'absorption du sodium en faveur de l'accumulation du potassium. Des travaux sur le niébé et la fève ont montré que l'addition de phosphore, dans le milieu de culture des plantes, augmente son acidification suite à la libération des protons H^+ par les racines des plantes (Alkama et *al.* 2009 et 2012). Les légumineuses acidifient la solution du sol par l'exsudation des substances organiques de nature acide telles que le malate, succinate, citrate ou des composés plus complexes tels que l'acide polygalacturonique (Tang et *al.*, 2001). Cette acidification du sol permet une meilleure solubilisation du phosphate, une biodisponibilité des ions phosphates et par conséquent une augmentation de l'absorption de ces ions via l'activation des transporteurs symports $\text{H}^+/\text{H}_2\text{PO}_4^-$ (Plassard et *al.*, 2015). Les ions phosphates HPO_4^{2-} en solutions dans le sol sont absorbés par la plante via un transport symport ($\text{H}^+/\text{HPO}_4^{2-}$) (Morot-Gaudry, 2013). Le phosphate est ensuite incorporé aux composés phosphorylés comme les sucres phosphates, les phospholipides et les nucléotides (Raghothama, 1999).

Dans le sol, la solubilisation du P à partir du complexe phosphate calcique en présence des protons et/ou en présence d'acides organiques est en fonction des équations suivantes (Hinsinger and Gilkes, 1997):



et



La solubilisation du phosphore permet son absorption par les racines pour un optimum de croissance végétale. Les ions orthophosphates H_2PO_4^- et HPO_4^{2-} libérés par les engrais phosphatés appliqués sont rapidement métabolisés par la plantes, seules une petite fraction s'accumule en réserve dans la vacuole (Morot-Gaudry, 2013).

4. Effet de la salinité et du phosphate sur l'efficacité d'utilisation du phosphore

La production en gramme de matière sèche par unité de phosphore appliquée est exprimée par l'indice de l'efficacité d'utilisation du phosphore (PUEI). Les résultats obtenus indiquent que le PUE le plus élevé est enregistré chez le témoin avec $0,32 \text{ g}^2.\text{mg}^{-1}$ suivi du traitement SP1 avec $0,21 \text{ g}^2.\text{mg}^{-1}$. Le stress salin et le traitement SP2 montrent un PUEI moyen de $0,13 \text{ g}^2.\text{mg}^{-1}$ soit une réduction de 55% et 30% par rapport aux plants témoin et SP1 respectivement (Fig. 30).

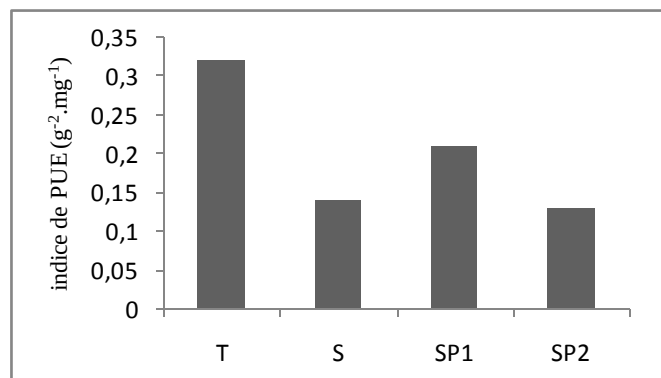


Figure 30: Effet du NaCl (0, 150 mM) et du phosphore (90, 200 kg h^{-1}) sur l'efficacité d'utilisation du phosphore des plants de pois chiche la variété Flip 84-79C (T = Témoin, S= 150mM, SP1= 90xS, SP2=200xS). Chaque point représente la moyenne de 3 répétitions.

Discussion

L'utilisation efficace du phosphore indique qu'en conditions de stress salin et de traitement SP2 les plantes bénéficient peu de phosphate existant dans le sol. Bien que l'engrais phosphaté soit additionné à forte dose (200 kg h^{-1}) lors du traitement SP2, ces conditions de culture sont inefficaces sur l'accumulation de la matière végétale chez notre variété de

pois chiche Flip 84-79C. En revanche, chez le témoin et avec l'apport de la faible dose en phosphore (90 kg h^{-1}) au sel, la quantité de matière sèche produite est plus élevée que celle des traitements S et SP2.

En plus de la demande de la plante hôte en ions phosphates, les besoins des nodules en cet ion sont plus élevés par rapport aux autres tissus végétaux (Boudanga et *al.*, 2015). En condition T est SP1, les plantes semblent exploiter plus efficacement l'engrais phosphaté que lors des autres traitements à la fois par son système racinaire et par la production de composés acides permettant une meilleure solubilisation du phosphore (Hinsinger and Gilkes, 1997). Une forte corrélation a été trouvée entre la teneur en ion phosphate dans la plante et le nodule avec l'augmentation de la biomasse sèche végétale reflétant les effets positifs du phosphore sur la croissance et la nodulation des plantes de la fève (Boudanga et *al.*, 2015). Ce besoin en P serait en relation avec la demande importante en énergie nécessaire à la croissance et au fonctionnement symbiotique des plantes (Salsac et *al.*, 1984, Alkama et *al.*, 2009). En effet, l'amélioration du rendement en matière végétale des plantes SP1 serait la conséquence de la modification de la composition minérale de la rhizosphère par l'addition du P_2O_5 . Dans le sol, les plantes montrent deux stratégies de réponses vis-à-vis du phosphate, qui permettent d'équilibrer entre les exigences interne et la disponibilité de cet élément dans la rhizosphère (Föhse et *al.*, 1988).

1 - La réponse externe consiste en :

a - l'élaboration d'un système racinaire plus développé pour augmenter l'acquisition du P soit par l'augmentation de la surface d'absorption via l'augmentation du volume racinaire et/ou du développement des mycorhizes permettant d'augmenter le volume de sol exploré.

b – la sécrétion de protons, d'acides organiques et de phosphatases qui permettent une acidification de la rhizosphère et par conséquent une augmentation de la solubilisation du P du sol (Tang et *al.*, 2004; Ström et *al.*, 2005).

2 - La réponse interne permet l'amélioration de l'efficacité d'utilisation du P absorbé par la plante en augmentant la production de matière végétale par unité de P et l'optimisation de l'efficacité d'utilisation de la symbiose à *Rhizobium* (Vadez et Drevon, 2001).

5. Effet de la salinité et du phosphate sur la symbiose

5.1. Effet sur la nodulation et le fonctionnement des nodules

Les plants témoin, S et SP2 forment un nombre de nodules équivalent avec en moyenne 62,5 nodules plante⁻¹. Le traitement SP1 augmente significativement le nombre de nodules de 39% par rapport au témoin. Comparé au témoin, la formation des nodules chez Flip 84-79C ne semble pas être affectée par la salinité alors que l'addition de la faible dose de P au sel améliore la nodulation. Cependant, le poids des nodules augmente significativement de 47% dans les conditions SP2 alors que la taille des nodules est plus élevée chez le témoin et les plantes stressées (Fig. 31). Le traitement SP a induit la formation de petits nodules comparativement à ceux produits en conditions de salinité.

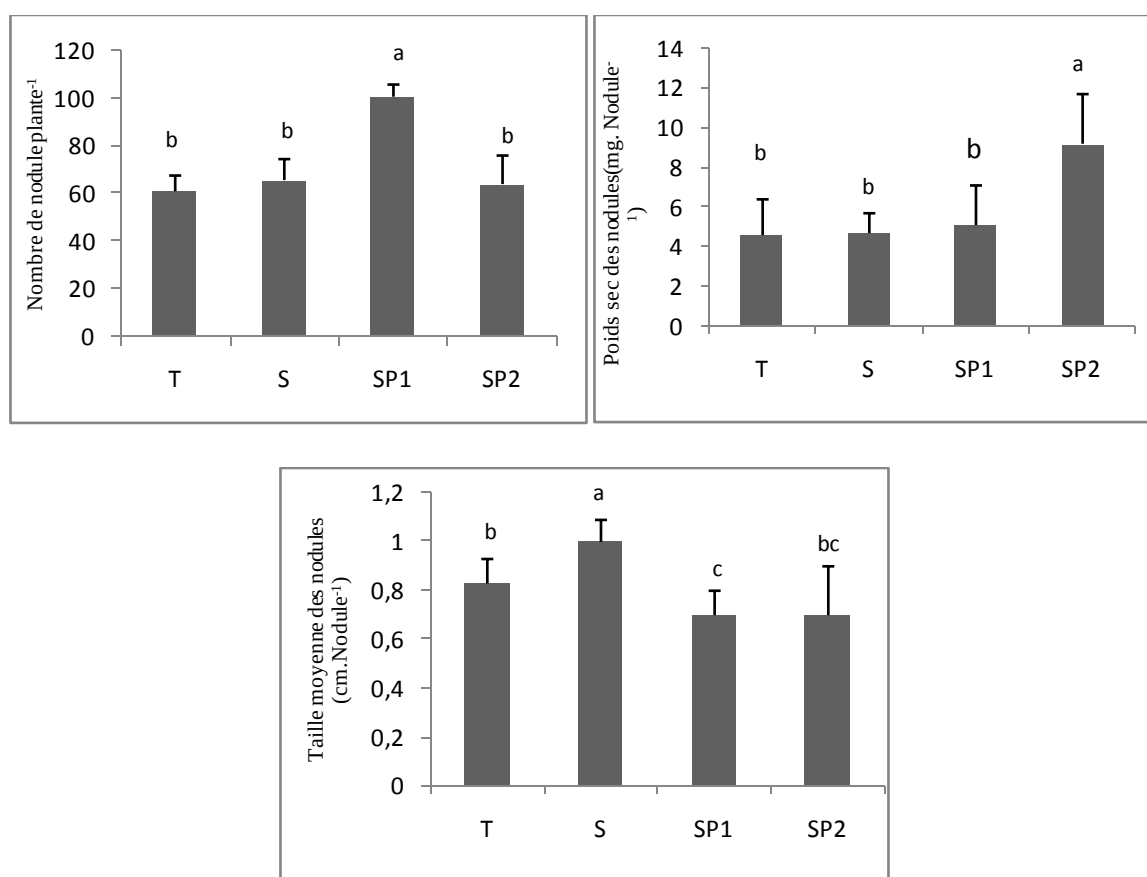


Figure 31: Effet du NaCl (0, 150 mM) et du phosphore (90, 200 kg h⁻¹) sur le nombre, le poids sec et la taille des nodules du pois chiche la variété Flip 84-79C (T = Témoin, S= 150mM, SP1= 90xS, SP2=200xS). Chaque point représente la moyenne de 3 répétitions. Les barres verticales (barre d'erreur) représentent les ESM. Pour chaque variété, les histogrammes suivies de la même lettre ne sont pas différents significativement ($p \leq 0,05$).

5.2. Effet sur les protéines et la leghémoglobine

La teneur en protéines nodulaires varie en fonction des traitements. Elle est de $0,19 \text{ mg G}^{-1}$ chez le témoin puis diminue de 36% et 52% pour les nodules S et SP2 respectivement par rapport au témoin. Néanmoins, la teneur en protéines augmente significativement dans les nodules SP1 pour atteindre $0,25 \text{ mg G}^{-1}$ de MVF, soit une augmentation de 24% par rapport au témoin (Fig. 32).

La leghémoglobine est une hémoprotéine qui régule la pression en oxygène dans le nodule pour un bon fonctionnement nodulaire. Le stress salin (S) provoque une diminution significative (83%) de la teneur en leghémoglobine par rapport au témoin (Fig. 34). La teneur en leghémoglobine est de $0,8 \mu\text{g. g}^{-1}$ de nodule en cas de stress salin alors qu'elle est de $6,2 \mu\text{g G}^{-1}$ et $7,1 \mu\text{g G}^{-1}$ de nodule pour le témoin et SP2 respectivement. Néanmoins, le traitement SP1 augmente significativement la teneur en leghémoglobine soit 39% et 92% par rapport au témoin et au stress salin respectivement.

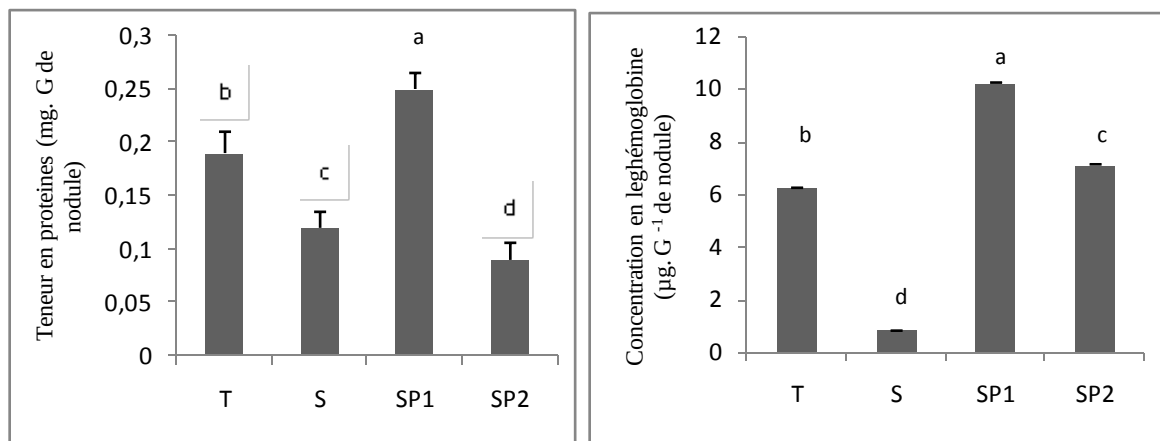


Figure 32: Effet du NaCl (0, 150 mM) et du phosphore (90, 200 kg h⁻¹) sur la teneur en protéines et en leghémoglobine des nodules du pois chiche la variété Flip 84-79C (T = Témoin, S= 150mM, SP1= 90xS, SP2=200xS). Chaque point représente la moyenne de 3 répétitions. Les barres verticales (barre d'erreur) représentent les ESM. Pour chaque variété, les histogrammes suivies de la même lettre ne sont pas différents significativement ($p \leq 0,05$).

Discussion

La teneur en protéines et en leghémoglobine (Lb) augmentent significativement dans les nodules SP1 et diminuent fortement lors du traitement S. Chez le traitement SP2, la Lb est faible mais significativement supérieure ($p \leq 0,05$) à celle du témoin. Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par Sheokands et *al.*, (2000) qui ont noté chez le pois chiche une forte réduction des teneurs en leghémoglobine accompagnée d'une baisse plus importante

de l'ARA sous l'effet de 80mM NaCl. Pladys et Rigaud (1985) et Tajera et *al.*, (2006) attribuent la diminution des teneurs en leghémoglobine à une protéolyse et/ou à une dégradation préférentielle de la leghémoglobine conduisant ainsi à une sénescence accélérée des nodules (Mugdal et *al.*, 2010). Chez le soja cultivé en condition de stress salin (200mM NaCl), la teneur en leghémoglobine et l'activité nitrogénasique diminuent de 31% et 50% respectivement (Manchanda et Garg, 2008). Par ailleurs, Manchanda et Garg (2008), ont montré que la salinité induit la sénescence nodulaire chez le haricot et par conséquent l'inhibition de la fixation symbiotique d'azote. Le stress salin provoque des changements structuraux tels que la réduction de la taille, de la zone méristématique et de l'espace intercellulaire du nodule ainsi que la dégradation du symbiosome (Sheokands et *al.*, 2000). Toutefois, l'addition du phosphore, en particulier le traitement SP1, a permis d'améliorer la teneur en leghémoglobine accompagnée d'une augmentation en protéine totale nodulaire par rapport au témoin. L'augmentation concomitante des deux paramètres laisse indiquer une préservation des protéines et de la leghémoglobine dans ces conditions, confirmée par le coefficient de corrélation positif de ($r^2 = 0,87$) entre les deux paramètres.

De même, ce résultat laisse suggérer que l'environnement intra-nodulaire serait amélioré en faveur d'une meilleure efficacité symbiotique. Une relation quantitative directe existe entre la teneur en leghémoglobine dans un nodule et la capacité à fixer l'azote atmosphérique (l'efficacité nodulaire) (Dakora et *al.* 1991). Celle-ci est liée à la respiration nodulaire, régulée par la leghémoglobine, qui fournit de l'ATP pour la réduction de l'azote atmosphérique par la nitrogénase dans la zone infectée du nodule (Ribet et Drevon, 1995).

L'étude comparative de la réponse de deux variétés de pois chiche vis-à-vis du stress salin a montré que les effets néfastes de la salinité, sur la nodulation et la fixation d'azote, sont plus prononcés chez le variété sensible (Pedrosillano) que chez le variété tolérant (ILC 1919) (Flowers, 2010); une augmentation de la masse nodulaire accompagnée d'une inhibition partielle de l'activité nitrogénasique est aussi observée (Soussi et *al.*, 1999). Cependant, notre variété de pois chiche ne montre aucune différence significative en biomasse nodulaire pour les traitements S et SP1 par rapport au témoin. Cette réponse est similaire à celle trouvée chez les plantes de *P. vulgaris* soumises au stress salin (Ashraf et Bashir 2003).

L'addition d'une concentration élevée en phosphate au sel a significativement amélioré le poids sec des nodules en favorisant la croissance tissulaire des nodules. Il a été observé chez quelques génotypes de *Vigna unguiculata* L. cultivés à différentes concentrations de phosphate, que la biomasse nodulaire chez un des génotypes est 6 fois plus importante en présence de quantités suffisantes en P qu'en déficience en P (Alkama et *al.*, 2009).

5.3. Effet du sel et du phosphate sur la teneur en proline

L'accumulation en proline dans les nodules est variable d'un traitement à l'autre. Le taux de proline est similaire entre le témoin et le traitement S avec $0,54 \text{ mg.g}^{-1}$ et $0,62 \text{ mg.g}^{-1}$ respectivement. Par contre, les traitements SP réduisent de manière significative le taux de proline nodulaire. Une réduction de 64% et 41% pour SP1 et SP2 respectivement par rapport au témoin (Fig.33).

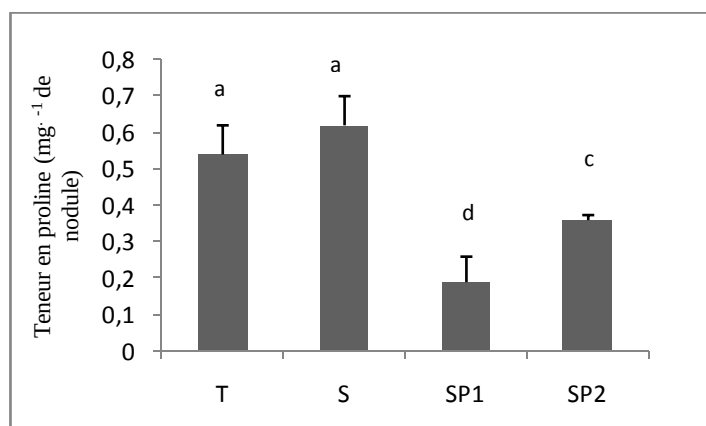


Figure 33: Effet du NaCl (0, 150 mM) et du phosphore (90, 200 kg h⁻¹) sur la teneur en proline des nodules du pois chiche la variété Flip 84-79C (T = Témoin, S= 150mM, SP1= 90xS, SP2=200xS). Chaque point représente la moyenne de 3 répétitions. Les barres verticales (barre d'erreur) représentent les ESM. Pour chaque variété, les histogrammes suivies de la même lettre ne sont pas différents significativement ($p \leq 0,05$).

5.4. Effet du sel et du phosphate sur la réponse anti-oxydante

L'effet du stress oxydatif induit par le stress salin est estimé par la production du malondialdéhyde (MDA), l'activité de la catalase (CA) et la teneur en caroténoïdes foliaire. La teneur en MDA est plus marquée dans les nodules S avec $0,02 \text{ mM}^{-1}$ par nodule que dans les nodules témoins avec $0,016 \text{ mM}^{-1}$ mais cette différence n'est pas significative. Par contre, une diminution significative du MDA est constatée dans les nodules des plantes traitées SP1 et SP2 avec en moyenne $0,012 \text{ mM}^{-1}$ de MDA.

L'activité de la catalase (CAT) nodulaire, est de $8,63 \mu\text{katal mg}^{-1}$ de protéines dans les nodules de plants T ; elle est similaire à celle des plants S ($9,58 \mu\text{katal.mg}^{-1}$ de protéines). Par contre, dans les nodules des plants traités SP1 et SP2, l'activité de la catalase diminue en moyenne de 30% par rapport au témoin (Fig.34).

Par ailleurs, aucune différence significative du taux en caroténoïdes des feuilles n'est observée entre les plantes témoins et les plantes traitées SP1 et SP2. Néanmoins, une augmentation significative en caroténoïdes est observée chez les plantes S qui atteignent $2,98 \mu\text{g G}^{-1}$ de MVF (Tab. VI).

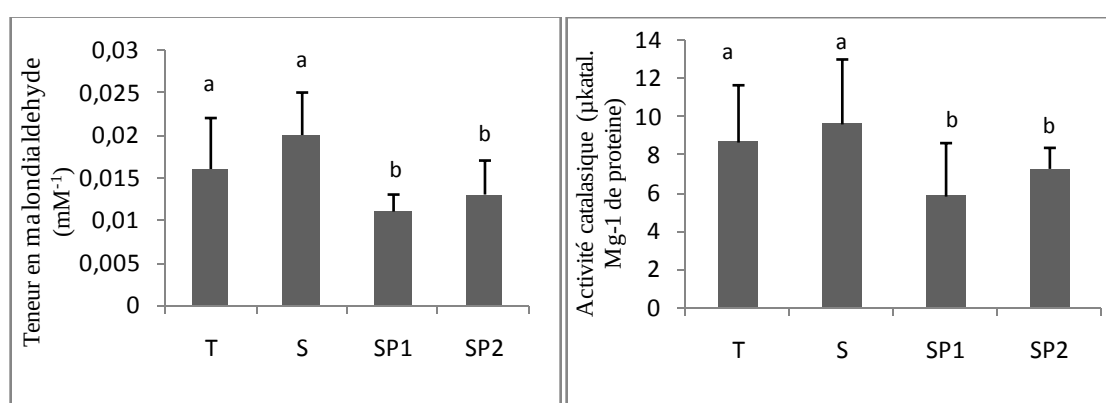


Figure 34: Effet du NaCl (0, 150 mM) et du phosphore (90, 200 kg h^{-1}) sur la teneur en malonyldialdéhyde et de la catalase des nodules du pois chiche la variété Flip 84-79C (T = Témoin, S= 150mM, SP1= 90xS, SP2=200xS). Chaque point représente la moyenne de 3 répétitions. Les barres verticales (barre d'erreur) représentent les ESM. Pour chaque variété, les histogrammes suivies de la même lettre ne sont pas différents significativement ($p \leq 0,05$).

Discussion

La teneur en proline, en MDA et l'activité de la catalase sont plus élevées dans les nodules témoin et stressés alors que le traitement SP induit une baisse de ces paramètres. Nandwal *et al.*, (2000) ont également signalé une forte accumulation en proline dans les feuilles, les racines et les nodules chez deux génotypes différents K-851 et un mutant de haricot en conditions de stress salin. Le stress salin induit un stress osmotique physiologique et en réponse, la plante synthétise des osmolytes qui augmentent la pression osmotique des cellules évitant ainsi les pertes en eau. Selon Ben Khaled *et al.*, (2003), la forte accumulation de la proline dans les nodules stressés de pois chiche serait le résultat d'une diminution de sa dégradation en condition de stress et/ou une synthèse activée (Ben Khaled *et al.*, 2003). La faible corrélation entre la teneur en protéines solubles et celle de la proline ($r^2=0,05$) en fonction des traitements suggère que la proline accumulée ne proviendrait pas

de la dégradation des protéines mais d'une synthèse de novo. Soussi et *al.* (2001) ont rapporté une augmentation de la proline dans les nodules des plants de pois chiche exposés à une forte salinité et ont suggéré que la proline pourrait jouer un rôle important comme substrats énergétiques (donneurs d'énergie en réaction) et une source de carbone pour les bactéroïdes permettant de surmonter les effets négatifs du sel sur le fonctionnement du nodule. L'accumulation significative de la proline chez les lignées d'arachides sélectionnées en présence du NaCl serait probablement associée à l'ajustement osmotique et à la protection de l'intégrité des membranes cellulaires (Jain et *al.*, 2001).

Le stress oxydatif dans l'environnement nodulaire est lié à la formation des formes réactives de l'oxygène (ROS) dont le peroxyde d'hydrogène H₂O₂. Les ROS sont produits à partir d'une altération métabolique dans le chloroplaste et la mitochondrie au cours du stress (Halliwell et Gutteridge 1989). Ces espèces causent des dommages oxydatifs aux différentes composantes cellulaires, les lipides membranaires, les protéines et les acides nucléiques (Halliwell et Gutteridge 1989). Les ROS perturbent la perméabilité cellulaire par une peroxydation des acides gras polyinsaturés membranaires (Fricke, 2004 ; Munns, 2006).

L'augmentation de la teneur en MDA, produits de la peroxydation des acides gras membranaires dans les nodules, indique que le stress oxydatif est ressenti dans les nodules soumis au stress salin. Selon Bischnoi (1997), le NaCl induit la sénescence des nodules et la diminution de l'activité réductrice d'acétylène. Par ailleurs, la réduction de la concentration en MDA dans les nodules SP1 et SP2 laisse supposer qu'une atténuation de la nocivité du stress oxydant engendré par le sel qui est amoindrie par la présence de faible dose en phosphate dans le sol suggérant que l'absorption en P aurait un effet positif sur la protection des structures membranaires et la préservation de leur intégrité.

L'augmentation de l'activité de la catalase reflète l'importance de la quantité des peroxydes d'hydrogène produite en condition de salinité. Ce résultat est en accord avec ceux trouvés sur le pois chiche (Kukreja et *al.*, 2005) et *Medicago sativa* cv. Gabes (Boughanmi et *al.*, 2005). Ces auteurs ont rapporté que l'expression des enzymes antioxydantes (SOD, APX et CAT) augmente dans les feuilles avec l'augmentation du stress ionique et le déficit hydrique au niveau des cellules. Ces enzymes antioxydantes constituent un système efficace pour la détoxification des ROS, permettant de maintenir un équilibre de croissance positif.

La réduction de l'activité de la catalase reflète la faible production en H_2O_2 en présence du phosphate. L'addition du phosphate aurait contribué à la modification de l'environnement intra-nodulaire grâce aux enzymes anti-oxydante diminuant la quantité des ROS produite et par conséquent préservant le système membranaire des nodules. Dans les conditions SP, l'effet du stress salin appliqué serait amoindri assurant une meilleure tolérance au sel pour un optimum d'efficacité symbiotique. Cette hypothèse est confirmée par l'augmentation significative de la teneur en caroténoïdes des feuilles et par conséquent la protection des nodules observés pour les plantes en cas de stress salin. En effet, Erik et *al.*, (2011) ont remarqué une stimulation de la synthèse et de l'accumulation des β carotènes qui jouent un rôle important dans la protection des cellules et des pigments chlorophylliens au niveau des feuilles. En effet, les caroténoïdes ont un rôle dans la prévention de la formation de l'oxygène singulet (O_2^-) par la dissipation de l'état triplet de la chlorophylle (Ashraf, 2008). Cette réponse permet de préserver l'efficacité photosynthétique et par conséquent, d'assurer les besoins en photosynthétats des nodules pour une meilleure efficacité symbiotique.

5.5. Effet de la salinité et le phosphate sur les composantes du rendement

Les composantes du rendement (nombre de gousse par plante, nombre de grain/gousse et rendement en kilogramme par hectare) du pois chiche la variété Flip 84-79C sont affectées par le stress salin (S). Une réduction significative, du nombre de gousse plante⁻¹, a été enregistrée dans le cas du traitement S soit en moyenne moins de deux gousses/plante comparé au témoin qui en produit un maximum de 5 gousses plante⁻¹ (Fig. 35). En présence du traitement SP1 une amélioration significative de 48% par rapport au stress salin. Une amélioration qui reste inférieure à celle du témoin. Néanmoins, les plantes SP2 produisent un minimum de gousses avec 1,3 gousse plante⁻¹.

Le nombre de grains/gousse ne montre aucune différence significative entre témoin, SP1 et SP2 avec en moyenne 2 grains gousse⁻¹ à l'exception du traitement salin qui diminue significativement le nombre à 1 grain gousse⁻¹ (Fig. 35).

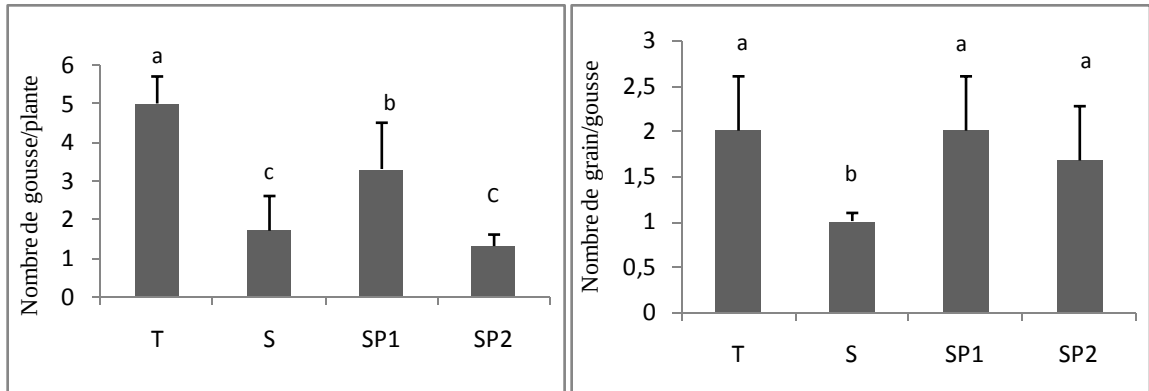


Figure 35: Effet du NaCl (0, 150 mM) et du phosphore (90, 200 kg h⁻¹) sur le nombre de gousse par plante et le nombre de grain par gousse du pois chiche la variété Flip 84-79C (T = Témoin, S= 150mM, SP1= 90xS, SP2=200xS). Chaque point représente la moyenne de 3 répétitions. Les barres verticales (barre d'erreur) représentent les ESM. Pour chaque variété, les histogrammes suivies de la même lettre ne sont pas différents significativement ($p \leq 0,05$).

Le rendement en grains est le plus élevé en présence des traitements SP avec 233kg ha⁻¹ aux traitements SP1 et SP2 suivi du témoin avec 209kg ha⁻¹. Le stress salin diminue significativement le rendement avec 167kg ha⁻¹, soit une diminution de 30% par rapport aux autres traitements (Fig. 36).

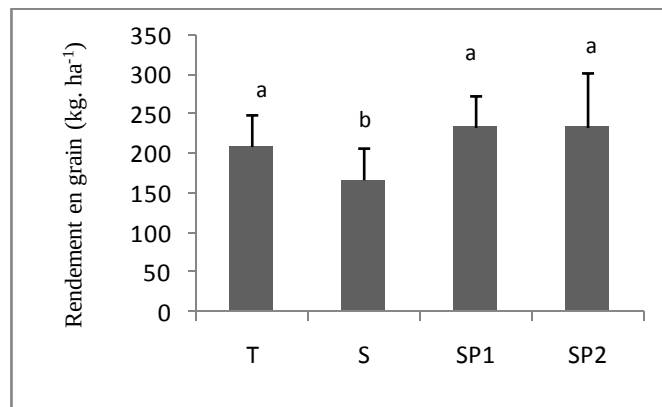


Figure 36: Effet du NaCl (0, 150 mM) et du phosphore (90, 200 kg h⁻¹) sur le rendement en grains de la variété Flip 84-79C du pois chiche, (T = Témoin, S=150mM, SP1= 90xS, SP2=200xS). Chaque point représente la moyenne de 3 répétitions. Les barres verticales (barre d'erreur) représentent les ESM. Pour chaque variété, les histogrammes suivies de la même lettre ne sont pas différents significativement ($p \leq 0,05$).

Discussion

L'excès de sel dans le sol, affecte les paramètres de croissance ainsi que le rendement (Munns, 2002). Le rendement tout comme la survie, la vigueur, les dommages foliaires, la taille des plantes, la production de métabolites spécifiques et l'accumulation d'ions, est un

critère important pour la sélection de variétés pouvant tolérer la contrainte saline (Hasegawa et *al.*, 2000).

Nos résultats indiquent que le stress salin affecte considérablement les composantes du rendement. En effet, une réduction de 40% au moins de toutes ces composantes est notée par rapport au témoin. Katerji et *al.*, (2002) attribuent la réduction du rendement en grains chez *Vicia faba* sous l'effet du stress salin à une diminution du nombre de fleurs formant les gousses, du nombre de gousses et du nombre de grains par gousse. La réduction du rendement pourrait être liée aussi à une diminution de l'approvisionnement des graines en photosynthétats (Ahmad et *al.*, 2005 ; Mohsen et *al.*, 2013). Selon Mohammed et El Kramany (2005), la salinité accélère la maturation des graines, limitant la période de développement des grains et le remplissage des gousses, réduisant ainsi le poids de 100 graines. Une corrélation négative et significative ($r^2 = -0,86$) a été obtenue entre le poids sec total des plants et le rendement sous la contrainte saline. En condition de salinité, la variété Flip 84-79C a favorisé le rendement en grains au détriment de la croissance des plantes.

Inversement, les composantes du rendement chez les plantes SP1 sont similaires et/ou parfois supérieure à celles obtenues chez le témoin. En effet, le coefficient de corrélation positif et significatif ($r^2=0,90$) entre le poids sec total et le rendement chez plantes SP1, indique que le rendement augmente avec l'augmentation du poids sec des plantes, suggérant que le traitement SP1 favoriserait la tolérance au stress salin et serait adéquat à l'amélioration de la productivité chez notre variété. De ces résultats, nous pouvons déduire que l'apport d'une fertilisation phosphatée appropriée dans des sols salés serait un moyen qui permet non seulement d'élever le rendement en grain mais aussi de maintenir un maximum de productivité des cultures en conditions de salinité.

6. Conclusion générale

L'étude de l'effet du NaCl sur la germination, la croissance, la nodulation et le rendement en grains chez deux variétés de pois chiche : Flip 74-92C et Flip 84-79C a montré que :

La réponse de la germination est similaire pour les deux variétés. En effet, les graines des deux variétés germent lorsque la concentration en NaCl ne dépasse pas 150mM de NaCl. Au-delà de ce niveau de salinité aucune germination n'a été obtenue. Les concentrations de NaCl (0mM, 50mM, 100mM et 150mM) n'ont pas d'effet inhibiteur sur la germination des graines puisque 100% des graines de pois chiche ont germé dans ces conditions de culture. Toutefois, la variété Flip 74-92C a montré une germination lente à 100mM et 150mM par rapport au témoin. Par contre, la variété Flip 84-79C semble être moins sensible car le retard de la germination n'est enregistré qu'à 150mM de NaCl et le temps de la germination est de 2 jours.

La croissance végétale exprimée par la biomasse sèche aérienne et racinaire a permis de classer la variété Flip 74-92C comme variété sensible dont la croissance est très affectée par le stress salin et la variété Flip 84-79C comme variété moins affectée par le sel. Ce résultat est confirmé par l'augmentation du rapport partie racinaire/partie aérienne, la faible teneur relative en eau et l'augmentation de la teneur en proline pour la variété Flip 74-92C. Ce classement est également appuyé par la réduction du poids de 100 grains. Néanmoins, la nodulation chez la variété Flip 84-79C semble être plus affectée, par les concentrations croissantes en NaCl, comparée à la variété Flip 74-92C.

A travers cette étude qui porte sur l'effet du stress salin en présence et en absence du fertilisant phosphaté sur la croissance, la physiologie, l'efficacité symbiotique et le rendement du pois chiche variété Flip 84-79C nous pouvons conclure que :

Le stress salin à une concentration 150mM de NaCl, affecte significativement le poids sec total des plantes et la longueur des racines et le rendement de la culture du pois chiche variété Flip 84-79C.

De même, la salinité provoque la fermeture des stomates permettant de maintenir une teneur relative en eau nécessaire à la survie des plantes. La baisse de la croissance végétative chez les plantes stressées pourrait trouver son explication dans la réduction de la croissance du système racinaire et la baisse du nombre de ramifications formées par les plantes.

Les plantes traitées SP1 présentent des paramètres de croissance proche de ceux des plantes témoin. En effet, la présence du phosphate dans ce traitement n'a pas favorisé la croissance en longueur des racines mais a permis de maintenir une biomasse sèche élevée, une teneur relative en eau et une ouverture des stomates similaire aux plantes témoins. Ces plantes ne semblent pas être affectées par le sel présent dans le traitement. De même, pour les racines des plantes traitées SP1, l'addition du phosphate au NaCl entraîne une réduction significative de la teneur en sodium des tissus comparativement aux plantes témoins et S.

L'étude comparative entre la composition en ions des deux parties de la plante indique que les racines accumulent des teneurs plus élevées en sodium par rapport aux feuilles. En présence du NaCl, les plantes absorbent beaucoup plus d'ions Na^+ et Cl^- que les autres traitements et que l'addition du phosphate au sel réduit l'accumulation en Na^+ dans les plantes. Parallèlement, la teneur en potassium est plus élevée dans les plantes témoin et SP mais diminue dans les plantes S. Toutefois, le rapport K/Na augmente dans les feuilles et les racines SP1 mais diminue fortement dans les racines S ce qui indiquerait une compétition dans l'absorption des ions K^+ et Na^+ en faveur du potassium qui permettrait de maintenir un niveau optimum de la croissance des plantes traitées SP1. Le pois chiche est donc une espèce « exculder » qui répond aux concentrations élevées en NaCl par l'exclusion des ions sodium à partir des racines en empêchant leur accumulation toxique dans les feuilles.

Une augmentation significative et maximale des ions phosphate enregistrée dans les feuilles SP1 contrairement aux feuilles témoin et stressées au NaCl qui accumulent moins de P. Les changements induits dans la composition chimique du sol par l'addition du fertilisant, en présence du NaCl, laissent suggérer que la disponibilité du P dans la rhizosphère permettrait une meilleure absorption des ions orthophosphate et par conséquent un optimum de croissance végétale. Ce résultat est confirmé par une efficacité d'utilisation du phosphore (PUE) plus importante chez les plantes témoins et en cas du traitement SP1 (faible dose P x NaCl) comparées aux plantes S et SP2.

La salinité affecte la formation des nodules, réduit la teneur en protéines nodulaires et diminue la teneur en leghémoglobine par rapport au témoin. Cependant, l'addition du phosphore au sel augmente significativement par rapport au témoin et au stressé.

Certains paramètres indicateurs du stress oxydatif induit (proline, malondialdéhyde, activité de la catalase) augmentent dans le nodule en condition de stress salin. Ce résultat

reflète les effets drastiques engendrés par le stress salin au niveau nodulaire. Les nodules SP1 montrent les plus faibles teneurs en proline, en MDA et en activité catalasique suivi des nodules SP2. En comparaison avec les nodules S, la caractérisation physiologique effectuée dans l'environnement interne des nodules SP1 et SP2 laisse suggérer que l'addition de phosphate à un sol salin à 150mM et en particulier faible dose en phosphate, a permis d'atténuer la sévérité du stress salin.

Une concentration de 150mM de NaCl affecte considérablement les composantes du rendement. L'addition de la faible concentration en phosphate, au sol salinisé, a significativement amélioré ces paramètres. Une amélioration de la production égale et/ou parfois supérieure à celle obtenue chez le témoin.

Au terme de ce travail et en réponse à notre hypothèse de départ, nous pouvons conclure que l'apport d'une fertilisation phosphatée appropriée à un sol salin pourrait être un moyen pour contrecarrer l'impact du stress salin dans le cas du pois chiche variété Flip 84-79C en permettant de :

- Atténuer les effets négatifs du NaCl
- Favoriser une meilleure tolérance des plantes au stress salin à travers une réponse optimale des paramètres physiologiques, métaboliques pour le maintien d'une bonne croissance des plantes
- Maintenir un optimum en efficacité symbiotique
- Améliorer le rendement en grain et de maintenir un niveau élevé de productivité.

Perspectives

A l'issu de ce travail, nous projetons d'affiner notre hypothèse par l'application des traitements sur des cultures à grande échelle et à différentes concentrations en sel et en phosphate.

Elargir ce travail à d'autres légumineuses alimentaires cultivées sur des sols salins ou irriguées à l'eau salée.

Etablir une étude physiologique approfondie permettant de fournir des éléments de réponse liés à la tolérance des plantes au stress salin en présence du fertilisant phosphaté.

A

- Abd-Allah MH (1994) - Use of organic phosphorus by *Rhizobium leguminosarum* biovar viceae phosphatases. Biot. Fertil. Soils 8(2): 16-21.
- Abdel Latef AA (2010) - Changes of antioxidative enzymes in salinity tolerance among different wheat variétés. *Cereal Res. Comm.* 38: 43–55.
- Abdul Qados AMS (2011) - Effect of salt stress on plant growth and metabolism of bean plant *Vicia faba* (L.). J Saudi Societ Agri Sci. 10:7–15.
- Agastian P, Kingsley S.J, Vivekanandan M. (2000) - Effect of salinity on photosynthesis and biochemical characteristics in mulberry genotypes. *Photosynthetica* 38: 287–290.
- Ahmad P, Umar S (2011) - Oxidative Stress: Role of Antioxidants in Plants, Studium Press, New Delhi, India,.
- Ahmed AE, Adlan MAM, Hukhtar NO (2005) - Effect of plant growth promoting bacterium (*Azospirillum brasilense*) and *Bradyrhizobium* on growth, yield and nitrogen fixation of groundnut (*Arachis hypogaea* L.). Gezira. J. Agric. Sci. 3: 137-147.
- Ali Y, Aslam Z, Ashraf MY, Tahir GR. (2004) - Effect of salinity on chlorophyll concentration, leaf area, yield and yield components of rice genotypes grown under saline environment. International Journal of Environmental Science and Technology. 11 (3): 221-225.
- Alkama N, Bi Bolou EB, Vailhe H., Roger L, Ounane SM, Drevon JJ (2009) - Genotypic variability in P use efficiency for symbiotic nitrogen fixation is associated with variation of proton efflux in cowpea rhizosphere. Soil Biology and Biochemistry 41: 1814–1823.
- Alkama N, Ounane G, Drevon JJ (2012) - Is genotypic variation of H⁺ efflux under P deficiency linked with nodulated-root respiration of N₂ Fixing common-bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Journal of Plant Physiology, 169:1084– 1089.
- Alikhani HA, Saleh-Rastin N, Antoun H (2006) - Phosphate solubilization of *Rhizobia* native to Iranian soils. Plant Soil, 287: 35-41.
- Allem CV, Labhilili M, Brahmi K, Jlibene M, Nasrallah N, Filali-Maltouf A (2002) - Adaptations hydrique et photosynthétique du blé dur et du blé tendre au stress salin, CR Biologies, 325 : 1097-1109.

- Arnon DI (1949) - Copper enzyme polyphenoloxides in isolated chloroplast in 24: 1-15.
- Apse MP, Blumwald E (2007) - Na⁺ transport in plants. FEBS Lett. 581(12): 2247–2254. doi:10.1016/j.febslet.2007.04.014.PMID:17459382.
- Ashraf M (2008) - Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using anitoxidants as markers. Biotechnol. Adv. 27(1): 84–93.
- Asada K. (1999) - The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygen and dissipation of excess photons. Annual Review of Plant Biology, 50: 601–639.
- Ashraf M, Bashir A (2003) - Salt stress induced changes in some organic metabolites and ionic relations in nodules and other plant parts of two crop legumes differing in salt tolerance. *Flora*, 198(6):486–498.
- Ashraf M, Shahbaz M, TMcNeilly T (2005) - Phylogenetic relationship of salt tolerance in early green Revolution CIMMYT wheats. *Envir. and Exp. Bot.* 53: 173-184.
- Aydi SS, Aydi S, Gonzalez E, Abdelly C (2008) - Osmotic stress affects water relations, growth and nitrogen fixation in *Phaseolus vulgaris* L. plants. *Acta Physiol Plant.* doi:10.1007/s11738-008-0141-y
- Aykroyd W, Doughty J (1964) - Les graines de légumineuses dans l'alimentation humaine. Etude de la nutrition de la FAO, n°19 : 1-5
- Aykroyd W, Doughty J (1982) - Les graines de légumineuses dans l'alimentation humaine. Rome. 2^{ième} édition, FAO n°20: 17.

B

- Barsch A, Carvalho HG, Cullimore JV, Niehaus K (2006) - GC-MS based metabolite profiling implies three interdependent ways of ammonium assimilation in *Medicago truncatula* root nodules. *J Biotechnol* 127:79-83.
- Bekki A, Trinchant JC, Rigaud J (1987) - Nitrogen fixation (C₂H₂ reduction) by *Medicago* nodules and bacteroids under sodium chloride stress. *Physiol Plant.*, 71, 61-67.
- Belfakih M, Ibriz M, Zouahri A (2013) -Effet de la salinité sur les paramètres morphophysiologiques de deux variétés de bananier (*Musa acuminata* L.). *Journal of Applied Biosciences* 70: 5652– 5662.
- Ben Khaled L, Gómez A M, Honrubia M, Oihabi A (2003) - Effet du stress salin en milieu hydroponique sur le trèfle inoculé par le *Rhizobium*. *Agronomie* 23: 553–560.

- Ben Mechlia N, Ouessar M (2002) - Water harvesting systems in Tunisia. In : Oweis Th. & Bruggeman A. (Edts.), Indigenous water harvesting systems, ICARDA's publications, (in press).
- Benamar B, Daguin F, Kaid-Harche M (2009) - Effet du stress salin sur la germination et la croissance in vitro du pistachier (*Pistacia vera* L.). C.R. Biol. 332: 752-758.
- Bendania F Z (2013) - Dynamique d'absorption et métabolisme du phosphore par du blé dur (*Triticum durum* var. Carioca). Mémoire d'ingénieur en agronomie saharienne. Université d'Ouargla, Algérie. Pp 1-48.
- Banerjee S (2010) - Stress induced phosphate solubilization by *Arthrobacter* sp. and *Bacillus* sp. isolated from tomato rhizosphere. Aust. J. Crop Sci., 4: 378-383.
- Ben Mbarek K, Boubaker M, Hannachi C (2013) - Modélisation du rendement grain du pois chiche (*Cicer arietinum* L.) du type « kabuli » sous les conditions édapho-climatiques du semi aride supérieur Tunisien. Rev. Mar. Sci. Agron. Vét. 2:37-49.
- Berrada H, Fikri-Benbrahim K (2014) - Taxonomy of the *Rhizobia*: current Perspectives. British Microbiology Research Journal 4(6): 616-639, Science Domain International. www.sciencedomain.org
- Berthomieu P, Conéjéro G, Nublat A, Brackenbury WJ, Lambert C, Savio C, Uozumi N, Oiki S, Yamada K, Cellier F, Gosti F, Simonneau T, Essah PA, Tester M, Véry AA, Sentenac H, Casse F (2003) - Functional analysis of AtHKT1 in Arabidopsis shows that Na⁺ recirculation by the phloem is crucial for salt tolerance. EMBO J. 22(9): 2004 – 2014. doi:10. 1093/emboj/cdg207. PMID:12727868.
- Binzel ML, Hasegawa PM, Bressan RA (1985) - Adaptation of tobacco cells to NaCl. Plant Plant Physiol. 79(1):118-25.
- Black CA (1986) - Soil-plant relationships. New York, USA, John Wiley & Sons.
- Blumwald E (2000) - Sodium transport and salt tolerance in plants. Curr. Opin. Cell Biol. 12: 431-434.
- Blumwald E, Grover A, Good AG (2004) - Breeding for abiotic stress resistance: challenges and opportunities. 2004 « New directions for a diverse planet ». In Proceedings of the 4th

- Bock D, Andrew RL, Rieseberg LH (2014) - On the adaptive value of cytoplasmic genomes in plants. Invited Reviews and Syntheses. *Molecular Ecology*. 23: 4899–4911.
- Boudanga L, Farissi M, Bouizgaren A, Ghoulam C (2015) - Growth and nodulation in faba bean-*Rhizobia* symbiosis under different soil phosphorus levels: acid phosphatase and phosphorus deficiency tolerance. *J. Mater. Environ. Sci.* 6 (4): 997-1003.
- Boughanmi N, Michonneau P, Daghfous D, Fleurat-Lessard P (2005) - Adaptation of *Medicago sativa* cv Gabe`s to long-term NaCl
- Bradford MM (1976) - A rapid and sensitive methods for quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytica Biochimisry*. 72: 248-254.

C

- Catoira R, Galera C, de Billy F, Penmetsa RV, Journet EP, Maillet F, Osenberg, C, Cook D, Gough C, Denarie J (2000) - Four genes of *Medicago truncatula* controlling components of a nod factor transduction pathway. *Plant Cell* 12: 1647-1666.
- Chamekh Z (2010) - Analyse de la réponse de quelques génotypes de blé dur (*Triticum turgidum* ssp durum) à la contrainte saline dans trois Gouvernorats du centre de la Tunisie. Thèse de Magister. Institut national agronomique de Tunisie. Master en agronomie et biotechnologie végétale.
- Chapman HD, Reuther W, Batchelor LD, Weber HJ (1968) - The mineral nutrition of *Citrus*. In: Reuther W., ed. *The Citrus industry*. Vol. 2. Berkeley, USA: University of California. pp 127-289.
- Chartzoulakis K, Klapaki G (2000) - Response of two green house pepper hybrids to NaCl salinity during different growth stages. *Sci. Hortic.* 86: 247–260.
- Chen TH, Murata N (2002) - Enhancement of tolerance of abiotic stress by metabolic engineering of betaines and other compatible solutes. *Curr Opin Plant Biol.* 5: 250–257.
- Cherbury B (1991) - Les sols salés et leur réhabilitation. Etude bibliographique, ENSA Rennes, 124 p.
- Cheikh M'hamed H, Abdellaoui R, Kadri KM, Ben Naceur, Bel hadj S (2008) - Evaluation de la tolérance au stress salin de quelques accessions d'orge (*Hordium Vulgare* L.) cultivées en Tunisie: Approche physiologique. *Sci. Tech.*, 2830 -37.

- Claiborne A (1985) - CRC handbook of methods for oxygen radical research; CRC Press: Boca Raton, F. USA..
- Clarke JM, Mc Caig TN (1982) Excised-leaf water retention capability as an indicator of drought resistance of *Triticum* genotypes. Can. J. Plant Sci. 62: 571-578.
- Colorado P, Rodriguez N (1995) - Expression of three ABA-regulated clones and their relationship to maturation processes during the embryogenesis of chickpea seeds. *Physiologia Plantarum*. 94(1):1-6.
- Cordovilla MP, Ocana A, Ligerio F, Lluch C (1995) - Salinity effect on growth analysis and nutrient composition in four grain legumes-*Rhizobium* symbiosis, J. plant Nutr. 18 1595-1609.
- Cordovilla M, Ligerio DP, Lluch C (1999) - Effect of salinity on growth, nodulation and nitrogen assimilation in nodules of faba bean (*Vicia faba* L.). *Appl. Soil Ecol.* 11: 1-7.
- Crespi M, Galvez, S. (2000) - Molecular Mechanisms in Root Nodule Development. *J Plant Growth Regul* 19:155-166.

D

- Dakora FD, Atkins CA (1991) - Adaptation of Nodulated Soybean (*Glycine max* L.Merr.) To Growth in Rhizospheres Containing Nonambient pO₂. *Plant Physiol.* 96:728-736
- Dali N, Ben Ghanem H, Mougou A, Ben Taeib T (1997) - Effet d'un stress salin sur la répartition entre amidon et sucres solubles dans les feuilles de deux lignées de tomate. *Revue de l'INAT, Journal des Sciences Agronomique* 12 (1) :131-147.
- Dasgupta N, Nandy P, Tiwaric c, Das S (2010) - Salinity-imposed changes of some isozymes and total leaf protein expression in five mangroves from two different habitats. *Journal of Plant Interactions*. 5(3): 211-221.
- Day DA, Poole PS, Tyerman SD, Rosendahl L (2001) - Ammonia and amino acid transport across symbiotic membranes in nitrogen-fixing legume nodules. *Cell Mol Life Sci* 58: 61-71.
- Delauney, AJ, Verma DPS (1993) - Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. *Plant J.* 4: 215-223.

- Delgado MJ, Ligeró F, Lluch C (1994) - Effect of salt stress on growth and nitrogen fixation by pea, Faba bean, common bean and soybeans plants. *Soil Biol. Biochem.* 26: 371-376.
- Dénarié J, Debelle F, Prome JC (1996) - *Rhizobium* lipo-chitoooligosaccharide nodulation factors: signaling molecules mediating recognition and morphogenesis. *Annu Rev Biochem* 65:503-535.
- D'Haeze W, Holsters M (2004) - Surface polysaccharides enable bacteria to evade plant immunity. *Trends Microbiol* 12:555-561.
- Dixon R, Kahn D (2004) - Genetic regulation of biological nitrogen fixation. *Nat Rev Microbiol* 2 : 621-631.
- Djediai S (2011) - Etude biochimique de l'interaction entre cals de pois chiche *Cicer arietinum* L. et le mycelium *Ascomyza rabiei* (Pass.) Lab., agent de l'antracnose. Mémoire de Magister. Département de Biologie. Faculté des Sciences. Université d'Oran. Algérie. 1-98.
- Djili K (2000) - Contribution à la connaissance des sols du Nord de l'Algérie. Thèse de doctorat. INA, Alger. 243p.
- Duc G, Mignolet C, Carrouée B, Huyghe C (2010) - Importance économique passée et présente des légumineuses: Rôle historique dans les assolements et facteurs d'évolution. *Innovations Agronomiques*. 11: 1-24.
- Duhoux M, Nicole M (2004) - *Atlas de Biologie Végétale. Associations et Interactions chez les plantes*. IRD Paris. Dunod. pp 176.
- Duke JA (1981) - *Handbook of Legumes of World Economic Importance*. Plenum Press, New York, USA. pp. 199-265

E

- Ehrhardt DW, Wais R, Long SR (1996) - Calcium spiking in plant root hairs responding to *Rhizobium* nodulation signals. *Cell*, 85, 673-681.
- El-iklil Y, Karrou M, Mrabet R, Benichou (2002) - Effet du stress salin sur la variation de certains métabolites chez *Lycopersicum esculentum* et *Lycopersicum sheesmanii*. *Can. J Plant Sci.* 82: 177-183.

- El Mekkaoui (1987) - Contribution à l'étude de la tolérance à la salinité chez le blé dur – (*Triticum durum* Desf.) et l'orge (*Hordeum vulgare* L.) Diplôme de DEA Montpellier.
- El Midaoui M, Benbella M, Aït Houssa A, Ibriz M, Talouizte A (2007) - Contribution à l'étude de quelques mécanismes d'adaptation à la salinité chez le tournesol cultivé (*Helianthus annuus* L.). Revue HTE 136: 29-34
- Elsheikh EAE, Wood M (1990) - Effect of salinity on growth, nodulation and nitrogen yield of chickpea (*Cicer arietinum* L.). J Exp Bot. 41: 1263–1269.
- Elsheikh EAE, Wood M (1995) - Nodulation and nitrogen fixation by soybean inoculated with salt tolerant *Rhizobia* or salt sensitive *Bradyrhizobia* in saline soil. Soil Biol Biochem 27(4–5): 657–661.
- Elsheikh EAE, Wood M (1995) - Nodulation and nitrogen fixation by soybean inoculated with salt tolerant *Rhizobia* or salt sensitive *Bradyrhizobia* in saline soil. Soil Biol Biochem 27(4–5):657–661.
- Erik H. Murchie K, Krishna K. Niyogi (2011) - Manipulation of Photoprotection to Improve Plant Photosynthesis. Plant Physiology. 155: 86–92.
- Essington M E (2004) - Soil and water chemistry, an integrative approach. CRC Press, USA.

F

- Fabre C (2008) - Filière oléagineux: Pois chiche. Fiche technique. Synthèse régionale « Alternatives Agricoles à l'arrachage de la vigne » Pp 1-7.
- Fahmi AI, Nagaty HH, Eissa RA., Hassan MM (2011) - Effect of salt stress on some nitrogen fixation parameters in Faba bean. Pakistan J. Biol. Sci. 14: 385-391.
- Fischer HM (1994) - Genetic regulation of nitrogen fixation in *Rhizobia*. Microbiol Rev.58: 352-386.
- FAO. (2008) - Land and Plant Nutrition Management Services.
<http://www.fao.org/agb/agl/agll/spush/>
- FAO (2010) - FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations.
<http://faostat.fao.org/default.aspx>

- Flowers TJ, Troke PF, Yeo AR (1977) - The mechanisms of salt tolerance in halophytes. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 28(1): 89–121. doi:10.1146/annurev.pp.28.060177.000513.
- Flowers TJ, Gaur PM, Gowda CLL, Krishnamurthy L, Samineni S, Siddique KHM, Turner NC, Vadez V, Varshney RK, Colmer TD (2010) - Salt sensitivity in chickpea. *Plant, Cell & Environment* 33, 490–509.
- Föhse D, Claassen N, Jung KA (1988) - Phosphorus efficiency of plants. I. External and internal requirement and P uptake efficiency of different plant species. *Plant Soil.* 110:101–9.
- Folly P (2000) - Catabolisme de la chlorophylle b Structures, mécanismes et synthèses. These grade de Docteur. Institut de Chimie Organique de l'Université de Fribourg (Suisse).
- Frayse N, Couderc F, Poinot V (2003) - Surface polysaccharide involvement in establishing the *Rhizobium*-legume symbiosis. *Eur J Biochem* 270: 1365-1380.
- Fricke W (2004) - Rapid and tissue-specific accumulation of solute in growth zone of barley leaves in response to salinity. *Planta.* 219 : 515-525.
- Frossard E, Julien P, Neyroud JA, Sinaj S (2004) - Le phosphore dans les sols. État de la situation en Suisse. Cahier de l'environnement no 368. Office fédéral de l'environnement, des forêts et du paysage, Berne. pp180.

G

- Gadallah MAA (1999) - Effects of proline and glycine betaine on *vicia fabae* responses to salt stress. *Biol plant*, 42: 249-257.
- Gage DJ (2004) - Infection and invasion of roots by symbiotic, nitrogen-fixing rhizobia during nodulation of temperate legumes. *Microbiology and Molecular Biology Reviews.* 68:280-300.
- Garcia M, Charbaji T (1993) - Effect of sodium chloride salinity on cation equilibria in grapevine. *J. Plant Nutr.* **16**: 2225-2237.

- Garg N (2002) - Salinity stress-induced changes in key metabolites in the nodules of *Glycine max* L. (soybean) and *Cicer arietinum* L. (chickpea) and the manoeuvrability of their response through plant growth regulators. *J Plant Biol* 29(2): 137–142.
- Garg N, Jasleen (2004) - Variability in response of chickpea (*Cicer arietinum* L.) variétés to salt stress in germination and early growth of the seedlings. *Ind J Plant Physiol*. 9(1): 21–28.
- Gaume A, Weidler PG, Frossard E (2000) - Effect of maize root mucilage on phosphate adsorption and exchangeability on a synthetic ferrihydrite. *Biol. Fert. Soils*. 31 :525-532.
- Geelhoed J, Hiemstra T, Van Riemsdijk WH (1997) - Phosphate and sulfate adsorption on goethite: single anion and competitive adsorption. *Cosmochimica et Geochimica Acta*. 61: 2389-2396.
- Geetanjali Manchanda AE, Garg N (2008) - Salinity and its effects on the functional biology of legumes. *Acta Physiol Plant*.30:595-618.
- Geurts R, Franssen H (1996) - Signal transduction in *Rhizobium*-induced nodule formation. *Plant Physiol* 112:447-453.
- Girard C (1985) - L'installation du pois chiche du printemps. In *Bulltin FNAMS semences*: 25-27.
- Graham, PH, Vance CP (2003). Legumes: Importance and constraints to greater use - Update on legume utilization. *Plant Physiol.*, 131.
- Gobat JM, Aragno M, Matthey W (2003) - Le sol vivant : Bases de pédologie, Biologie des sols. Presses polytechniques et universitaires romandes (Ed), 528p.
- Goldstein AH (1995) - Recent progress in understanding the molecular genetics and biochemistry of calcium phosphate solubilization by Gram negative bacteria. *Biological Agriculture and Horticulture*. 12(2):185–193.
- Grime JP (1979) - Plant strategy and vegetation processes Chichester, New York: John Wiley.
- Groß F, Durner J, Gaupels F (2013) - Nitric oxide, antioxidants and prooxidants in plant defence responses,” *Frontiers in Plant Science*. 4 : 419.

- Guerrier G. (1998) - Proline accumulation in salt-treated tomato: different proline precursors in *Lycopersicon esculentum* and *Lycopersicon pennillii*. J. Plant Nutr. 21: 505–513.
- Gupta B, Huang B (2014) - Mechanism of Salinity Tolerance in Plants: Physiological, Biochemical, and Molecular Characterization. Review International Journal of Genomics Volume 2014 (2014), Article ID 701596, 18 pages. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/701596>
- Gurmani R, Bano A, Khan SU, Din J, Zhang JL (2011) - Alleviation of salt stress by seed treatment with abscisic acid (ABA), 6-benzylaminopurine (BA) and chlormequat chloride (CCC) optimizes ion and organic matter accumulation and increases yield of rice (*Oryza sativa* L.),” Australian Journal of Crop Science. 5(10): 1278–1285.

H

- Hade A (2002) - Nos lacs – les connaître pour mieux les protéger. La chlorophylle. Éditions Fides, pp. 2 360 p.
- Halder AK, Chakrabarty PK (1993) - Solubilization of inorganic phosphate by *Rhizobium*. Folia Microbiol. 38:325–330.
- Hajlaoui H, Denden M, Bouslama M. (2007) - Etude de la variabilité intraspécifique de tolérance au stress salin du pois chiche (*Cicer arietinum* L.) au stade germination. Tropicultura. 25 (3): 168-173.
- Halitim A (1973) - Etude expérimentale de l'amélioration des sols sodiques d'Algérie en vue de leur mise en culture. Thèse de 3ème cycle. Université de Renne, 176 p.
- Halitim A (1985) - Contribution à l'étude des sols des zones arides (Hautes Plaines Steppiques d'Algérie). Morphologie, distribution et rôle des sels dans la genèse et le comportement des sols. Thèse Doct. d'Etat, Université de Rennes, 383 p.
- Halliwell B, Gutteridge JMC (1989) - Free radicals in biology and medicine. Clarendon Press, Oxford.
- Hamdy A (1999) - Saline irrigation assessment for a sustainable use. Saline irrigation. Halophyte production and utilization; Project N°IC 18 CT 960055, p.15226.
- Hamrouni L, Hanana M, Abdelly C, Ghorbel A (2010) - Exclusion du chlorure et inclusion du sodium : deux mécanismes concomitants de tolérance à la salinité chez la vigne

- sauvage *Vitis vinifera* subsp. *sylvestris* (var. 'Séjnnène'). Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement. 15 (3).
- Hanana M, Cagnac O, Zarrouk M, Blumwald E (2009). Rôles biologiques des antiports vacuolaires NHX : acquis et perspectives d'amélioration génétique des plantes. Botany. 87 (11): 1023–1035. doi:10.1139/B09-073..
- Hasegawa PM, Bressan RA, Zhu JK, Bohnert H J (2000) - Plant cellular and molecular responses to high salinity. Annual Review of Plant Biology. 51: 463–499.
- Hechenberger M, Schwappach B, Fischer WN, Frommer WB, Jentsch TJ, Steinmeyer K (1996) - A family of putative chloride channels from Arabidopsis and functional complementation of a yeast strain with a CLC gene disruption. Journal of Biological Chemistry 271, 33632–33638.
- Heller JS, Kyriakidis A, Fong WF, Canellakis ES (1977) - Orthinine decarboxylase antizyme is a normal component of uninduced H-35 cells and rat liver. Eur. J.Biochem. 81: 545-550.
- Hinsinger P (2001) - Bioavailability of soil inorganic P in the rhizosphere as affected by root induced chemical changes. Review. Plant Soil. 13: 173–95.
- Hinsinger P, Gilkes R.J (1997) - Dissolution of phosphate rock in the rhizosphere of five plant species grown in an acid, P fixing mineral substrate. Geoderma 75: 231–249
- Hoque MA, Banu MNA, Okuma E (2007) - Exogenous proline and glycinebetaine increase NaCl-induced ascorbate-glutathione cycle enzyme activities, and proline improves salt tolerance more than glycinebetaine in tobacco Bright Yellow-2 suspension-cultured cells. Journal of Plant Physiology. 164 (11): 1457–1468.
- Hotter, GS, Scott DB (1991) - Exopolysaccharide mutants of *Rhizobium loti* are fully effective on a determinate nodulating host but are ineffective on an indeterminate nodulating host. J Bacteriol. 173,: 851-859.
- Hsiao TC (1973) - Plant responses to water stress. Ann. Rev. Plant Physiol. 24: 519–570.
- Huer, B. (1993) - Osmoregulatory role of proline in water and salt stressed plants. Pages 363–381 In M. Pessarakli, ed. Handbook of plant and crop stress. Marcel Dekker, Inc., New York, NY.

Hulse J. H., Nature, composition and utilization of grain legumes (1991) - In: A. P. Patencheru, (eds), Uses of Tropical Legumes. Proceeding of Consulting Meeting, 27-30 March 1989. ICRISAT Center, ICRISAT, India, pp. 502-524.

I

Iannucci A, Mario R, Lucia A, Natale DF, Pasquale M (2002) - Water deficit effects on osmotic adjustment and solutes accumulation in leaves of annual clovers. *Eur J Agron.* 16:111–122.

Inamullah RN, Shah NH, Arif H, Siddiq M, Mian IA (2011) - Correlation among grain and yield in maize hybrids at various nitrogen levels. *Sarhad J Agric.* 27(4):531–538.

Ibriz M , Thami Alami I , Amotfi S, Al Faiz C, Rachidai A (2007) - Réponse de quelques écotypes marocains de luzerne (*Medicago sativa* L.) à différentes concentrations de chlorure de sodium. Congrès International de Biochimie. Marrakech, Maroc, 3-6 Mai 2004.

INSID (2008) - Les sols salins en Algérie. Juillet 2008. 7 Pp.

J

Jain M, Mathur G, Koul S, Sarin NB (2001) - Ameliorative effects of proline on salt stress-induced lipid peroxidation in cell lines of groundnut (*Arachis hypogea* L.). *Plant. Cell. Rep.* 2: 463-468.

Jeschke WD, Peuke AD, Pate JS, 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(314): 1737–174.

K

Kafi M, Goldani M (2001) - Effect of water potential and type of osmoticum on seed germination of three crop species of wheat, sugarbeet, and chickpea. *Agric. Sci. and Tech.* 15: 121–33

Kafi M, Asadi H, Ganjeali A. (2010) - Possible utilization of high salinity waters and application of low amounts of water for production of the halophyte *Kochia scoparia* as alternative fodder in saline agroecosystems. *Agric Water Manage.* 97:139–147.

- Katerji N, Mastrorilli M, Hamdy A, Hoorn JW (2002) - Water status and osmotic adjustment of broad-bean (*Vicia faba* L.) in response to soil salinity. *Acta Hortic.* 573: 305-310.
- Kaur P, Kaur J, Kaur S, Singh S, Singh I (2014) - Salinity induced physiological and biochemical changes in chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes. *Journal of Applied and Natural Science* 6 (2): 578-588
- Kav NNV, Srivastava S, Goonewardene L, Blade SF (2004) - Proteome-level changes in the roots of *Pisum sativum* in response to salinity. *Ann Appl Biol* 145(2):217–230.
- Keren, R (2000) - Salinity. In: *Handbook of Soil Science* pp: 3 –25. Sumner, M.E. (ed.). Boca Raton, CRC Press, New Your, USA.
- Kerepesi J, Galiba G (2000) - Osmotic and salt stress-induced alteration in soluble carbohydrate content in wheat seedling. *Crop Science.* 40(2): 482–487.
- Kessiran MM (2003) - Gestion de l'irrigation dans le milieu salin. *Recueil des journées techniques sur la qualité des eaux du sud.* Volume III, El Oued. Les 19 - 20 mai 2003.
- Khan MA, Ungar IA (1997) - Effect of temperature regime on recovery of seed germination of halophytes from saline conditions. *Am. J. of Bot.* 84: 279-283.
- Khan NM, Rastoskuev VV, Shalina EV, SatoY (2001) - Mapping Salt - Affected Soils using remote sensing Indicators:A simple approach with the use of GIS IDRISI. Paper presented at the 22 nd Asian Conference on Remote Sensing, 5-9 November, Singapore.
- Khan MA, Weber D J (2008) - *Ecophysiology of high salinity tolerant plants (tasks for vegetation science)* (1st edn.) Amsterdam, The Netherlands: Springer.
- Khan MS, Zaidi A, Ahemad M, Oves M, Wani PA (2010) - Plant growth promotion by phosphate solubilizing fungi—current perspective. *Arch Agron Soil Sci* 56:73–98.
- Khuang TQ, Huan TT, Hach CV (2008) - Study on fertilizer rates for getting maximum grain yield and profitability of rice production. *Omonrice.* 16:93-99.
- Kneip C, Lockhart P, Voss C, Maier U.G (2007) - Nitrogen fixation in eukaryotes--new models for symbiosis. *BMC Evol Biol* 7: 55.
- Krouma A (2009) - Physiological and nutritional response of chickpea (*Cicer arietinum* L.) to salinity. *Turk J Agric For.* 33:503–512.

Ksouri, R, Megdiche W, Koyro HW, Abdelly C (2010) - Responses of halophytes to environmental stresses with special emphasis to salinity. Adv. Bot. Res. 53: 117–145. doi:10.1016/S0065-2296(10)53004-0.

Kukreja S, Nandwal AS, Kumar N, Sharma SK, Unvi V, Sharma PK (2005) - Plant water status, H₂O₂ scavenging enzymes, ethylene evolution and membrane integrity of *Cicer arietinum* roots as affected by salinity. Biol Plant 49(2): 305–308.

L

Lauchli A (1984) - Salt exclusion: an adaptation of legumes for crops and pastures under saline conditions. In RC Staples, GH Toennissen, eds, Salinity Tolerance in Plants. John Wiley, New York. 171-187.

Lobato AKS, Neto MAM, Meirelles ACS, Silva LI, Marochio CA, Monteiro ER, Zeni Neto H, Maleia MP, Moiana LD, Bronzato AR, Cruz FJR (2009) - Relationship between leaf relative water content and total soluble proteins in soybean exposed to short water deficit. Res J Biol Sci 4:1061-1067.

Laus MC, Logman TJ, Lamers GE, Van Brussel AA, Carlson RW, Kijne JW (2006) - A novel polar surface polysaccharide from *Rhizobium leguminosarum* binds host plant lectin. Mol Microbiol 59: 1704-1713.

Le Houerou HN (1993) - Salt-tolerance plants for the arid region of the Mediterranean isoclimatic zone. In: H. Leith, A. Al Massoom (eds), towards the rational use of high salinity tolerant plants. 1 : 403-422.

Lepri E (2006) - La salinisation causée par l'irrigation. Les notes d'analyse du CIHEM n° 13.

Levitt J (1980) - Responses of plants to environmental stress. Vol II. Academic Press London. New York: 365-453.

Lewis G, Schrire B, Mackinder B, Lock M (2005) - Legumes of the World. The Royal Botanic Gardens editors; Kew, UK.

Lichtenthaler HK, Welburn AR (1983) - Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. Biochem. Soc. T. 11: 591-592.

Lopez CML, Takahashi H, Yamazaki S (2002) - Plant–water relations of kidney bean plants treated with NaCl and foliarly applied glycinebetaine. J Agron Crop Sci. 188: 73–80.

López-Hernández D, Araujo Y, López-Contreras AY, Hernández-Valencia I, Hernández C. (2004) - Changes in soil properties and earthworm populations induced by longterm organic fertilization of a sandy soil in the Venezuelan Amazonia. Soil Sci. 169:188–194.

Lu C, Qiu N, Lu Q, Wang B, Luang T (2002) - Does salt stress lead to increased susceptibility of photosystem II to photoinhibition and changes in photosynthetic pigment composition in halophyte *Suaeda salsa* grown outdoors? Plant Science. 163: 1063 – 1068.

M

Maaouia-Houimli S, Denden M, Dridi-Mouhandes B, Ben Mansour-Gueddes S (2011) - Caractéristiques de la croissance et de la production en fruits chez trois variétés de piment (*Capsicum annuum* L.) sous stress salin. Tropicultura 29(2): 75-81.

Maas EV (1996) Crop salt tolerance. In Agricultural Salinity Assessment and Management, Ed. K.K. Tanji, Am. Soc. Civil Eng., New York . pp. 262-304.

Mackey KRM, Paytan A (2009) - Atmospheric deposition and primary production in coastal California: Findings from MODIS and in situ monitoring. Coastal and Estuarine Research Foundation, Portland OR, November 1-5.

.

Manchanda G, Garg N (2008) - Salinity and its effects on the functional biology of legumes. Acta Physiol Plant. 30:595-618.

Mansour MMF (2000). Nitrogen containing compound and adaptation of plants to salinity stress. Biol Plantarum. 43(3):491-500.

Marschner H (1993) - Mineral nutrition of higher plants. London, Academic Press Ltd. Harcourt Brace & Co. Publishers.

Marschner H (1995) - Mineral nutrition in higher plants. Academic Press, London.

- Meloni DA, Oliva MA, Ruiz HA, Martinez CA (2001) - Contribution of proline and inorganic solutes to osmotic adjustment in cotton under salt stress. *J. Plant Nutr.* 24: 599–612.
- Mohamed MH, El Kramany MF (2005) - Salinity tolerance of some mungbean varieties. *J. Appl. Sci. Res.* 1: 78-84.
- Mohammad M, Shibli R, Ajouni M, Nimri L (1998) - Tomato root and shoot responses to salt stress under different levels of phosphorus nutrition. *J. Plant Nutr.* 21: 1667–1680.
- Mohsen H, Hamrouni L, Cagnac O, Blumwald E (2011) - Mécanismes et stratégies cellulaires de tolérance à la salinité (NaCl) chez les plantes. *Dossiers environ.* 19: 121-140.
- Mohsen AA, Ebrahim MKH, Ghoraba WFS (2013) - Response of salt-stressed *Vicia faba* plant to application of ascorbic acid on the growth and some metabolites. *Iranian J. of Plant Physiol.* 4 (2): 957-976.
- Majumder R, Shao L, Minocha R, Long S, Minocha C (2013) - Ornithine: the overlooked molecule in regulation of polyamine metabolism. *Plant Cell Physiol.* 54, 990–1004..
- Morot-Gaudry J F (2013) - Nutrition minérale des plantes : aspect moléculaire. Manuscrit de l'académie d'agriculture de France.
- Mugdal V, Madaan N, Mugdal A (2010) - Biochemical mechanisms of salt tolerance in plants. *Int. J. of Bot.* 6(2): 136-143.
- Munns R (2002) - Comparative physiology of salt and water stress. *Plant Cell Environ.* 239-250.
- Munns R (2005) - Genes and salt tolerance: bringing them together. *New Phytologist*, vol. 167(3): 645–663.
- Munns R, James RA, Läuchli A (2006) - Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. *J. Exp. Bot.* 57: 1025-1043.
- Munns R, Tester M (2008) - Mechanisms of Salinity Tolerance. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 59: 651–81.

N

- Nair V, Turner GA (1984) - The thiobarbituric acid test for lipid peroxidation: structure of the adduct with malondialdehyde. *Lipids* 19: 804–805.

Nandwal AS, Godara M, Kamboj DV, Kundu BS, Mann A, Kumar B (2000) - Nodule functioning in trifoliate and pentafoliate mungbean genotypes as influenced by salinity. *Biol Plant* 43(3):459–462.

Nandwal AS, Kukreja S, Kumar N, Sharma PK, Jain M, Mann A, Singh S (2007) - Plant water, status, ethylene evolution, N-2-fixing efficiency, antioxidant activity and lipid peroxidation in *Cicer arietinum* L. nodules as affected by short-term salinization and desalinization. *Journal of Plant Physiology* 164: 1161–1169.

Nardini A, Grego F, Trifilo P, Salleo S (2010) - Changes of xylem sap ionic content and stem hydraulics in response to irradiance in *Laurus nobilis*. *Tree Physiol.* 30: 628–35.

Neumann G, Römheld, V (1999) - Root excretion of carboxylic acids and protons in phosphorus-deficient plants. *Plant and Soil* 211: 121–130.

O

Oldroyd GE, Downie JA (2004) - Calcium kinases and nodulation signalling in legumes. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 5: 566-576.

Ottow E, Brinker M, Fritz E, Teichmann T, Kaiser W, Brosche M, Kangasjarvi J, Jiang X, Polle A (2005) - *Populus euphratica* Displays Apoplastic Sodium Accumulation, Osmotic Adjustment by Decreases in Calcium and Soluble Carbohydrates, and Develops Leaf Succulence under Salt Stress. *Plant Physiology*. 39: 1762–1772.

P

Panhwar QA, Radziah O, Zaharah AR, Sariah M, Razi MI (2011) - Role of phosphate solubilizing bacteria on rock phosphate solubility and growth of aerobic rice. *J Environ Biol.* 32:607–612.

Park KH, Lee OM, Jung HI, Leong JH, Jeon YD, Hwang DY, Lee CY, Son HI (2010) - Rapid solubilization of insoluble phosphate by a novel environmental stress-tolerant *Burkholderia vietnamiensis* M6 isolated from ginseng rhizospheric soil. *Appl Microbial Biotechnol.* 86: 947-955.

Pardo JM (2010) - Biotechnology of water and salinity stress tolerance. *Curr. Opin. Biotechnol.* 21 185–196.

- Pareek A, Singla SL, Grover A (1997) - Salt responsive proteins/genes in crop plants. In: Jaiwal PK, Singh RP, Gulati A, editors. Strategies for improving salt tolerance in higher plants. New Delhi, India: Oxford and IBH Publishing Co. pp 365-391.
- Parida AK, Das AB (2005) - Salt tolerance and salinity effect on plants: review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 60: 324-349.
- Parniske M (2000) - Intracellular accommodation of microbes by plants: a common developmental program for symbiosis and disease. *Curr.Opin. Plant. Biol.* 3:320-328.
- Peter M, Gresshoff, Ferguson BJ (2010) - Arief Indrasumunar, Satomi Hayashi, Meng-Han Lin, Yu-Hsiang Lin, Dugald E. Reid . 2010. Molecular Analysis of Legume Nodule Development and Autoregulation. *Journal of Integrative Plant Biology*. 52 (1): 61–76.
- Phillips JR, Oliver M.J, Bartels D (2002) - Molecular genetics of desiccation and tolerance systems. In: Desiccation and survival in plants: drying without dying. Eds. Black M. and Pritchard H. W., CABI Publishing, Oxfordshire, UK, pp 319–341.
- Pladys D Rigaud J (1985) - Senescence in French bean nodules: Occurrence of different proteolytic activities. *Physiol. Plant*. 63: 43-48.
- Plancquaert P, Wery J (1991) - Le pois chiche : Culture – Utilisation, Publications sur les protéagineux. ITCF. Paris. 12p.
- Plassard C, Robin A, Le Cadre E, Marsden C, Trap J, Herrmann L, Waithaisong K, Lesueur D, Blanchart E, Chapuis-Lardy L, Hinsinger P (2015) - Améliorer la biodisponibilité du phosphore : comment valoriser les compétences des plantes et les mécanismes biologiques du sol ? *Innovations Agronomiques*. 43: 115-138.
- Prasad MNV (1997) - Trace metals. In, *Plant Ecophysiology* (ed) M.N.V. Prasad. Wiley, New York, pp. 207-249.

Q

- Qiao YF, Tang C, Han XZ, Miao SJ (2007) - Phosphorus deficiency delays the onset of nodule function in soybean (*Glycine max* Murr.). *Journal Plant Nutrition* 30:1341–1353.

R

- Raghothame KG (1999) - Phosphate acquisition annu. *Revu. Plant physiol. Plant Mol. Biol.* 50: 665-693.

- Rai R (1992) - Effect of nitrogen levels and *Rhizobium* strains on symbiotic N₂ fixation and grain yield of *Phaseolus vulgaris* L. genotypes in normal and saline-sodic soils. *Biol Fertil Soils* 14:293–299
- Rao DNL, Scharma PC (1995) - Alleviation of salinity stress in chickpea by *Rhizobium* inoculation of nitrate supply. *Biol. Plant.* 37: 405-410.
- Rao DLN, Giller KE, Yeo AR, Flowers TJ (2002) - The effects of salinity and sodicity upon nodulation and nitrogen fixation in chickpea (*Cicer arietinum*). *Annals of Botany* 89: 563–570.
- Rao MV, Vadez V (2016) - Salt stress delayed flowering and reduced reproductive success of chickpea (*Cicer arietinum* L.), a response associated with Na⁺ accumulation in leaves. *J Agron Crop Sci.* 202:125–138.
- Raymond P, Broquisse R, Chevalior C, Couee I, Dieuaide M, James F, Just D, Pradet A. (1994) - Proteolysis and proteolytic activities in the acclimation to stress: The case of sugar starvation in maize root tips. In: Cherry JH, editor. *Biochemical and cellular mechanisms of stress tolerance in plants*. Berlin: Springer-Verlag, pp 325-334.
- Ribet J, Drevon JJ (1995) - Increase in permeability to oxygen and in oxygen uptake of soybean nodules under limiting phosphorus nutrition. *Physiologia Plantarum.* 94(2): 298–304.
- Rodriguez-Navarro DN, Dardanelli MS, Ruiz-Sainz JE (2007) - Attachment of bacteria to the roots of higher plants. *FEMS Microbiol Lett.* 272: 127-136.
- Rontein D, Basset G, Hanson AD (2002) - Metabolic engineering of osmoprotectant accumulation in plants. *Metabolic Engineering* 4: 49–56.
- Rouabhia AEK, Djabri L (2010) - L'irrigation et le risque de pollution saline. Exemple des eaux souterraines de l'aquifère miocène de la plaine d'El Ma Labiod. *Larhyss Journal* 8: 55-67.
- Rozema J (1975) - The influence of salinity, inundation and temperature on the germination of some halophytes and non halophytes. *Oecol. Plant*, 10 : 341-354.
- Rychter M, Randall DD (1994) - The effect of phosphate deficiency on carbohydrate metabolism in bean roots. *Physiol. Plant.* 91(10): 383-388.

- Saadalah K, Drevon JJ, Haji M, Abdelly C (2001) - Genotypic variability for tolerance to salinity of N₂-fixing common bean (*Phaseolus vulgaris*). *Agronomie*, 21: 675- 682.
- Salsac L, Drevon JJ, Zengbe M, Cleyet-Marel JC, Obaton M (1984) - Energy requirement of symbiotic nitrogen fixation. *Physiologie Végétale* 22, 509–521.
- Scott SJ, James RA, Williams WA (1984) Review of data analysis methods for seed germination. *Crop Sci.* 24:1192-1199.
- Sarah, D, Ellis SD, Boehm MJ (2008) - Plants Get Sick Too. An introduction to plant disease. Ohio state university extension. pp 401-405.
- Saxena NP, Saxena MC, Ruckebauer P, Rana RS, El-Fouly MM, Shabana R (1994) - Screening techniques and sources of tolerance to salinity and mineral nutrient imbalances in cool season food legumes. *Euphytica*. 73: 85-93.
- Saxena NP, Saxena MC, Johansen C, Virmanis SM, Harris H (1996) - Adaptation of chickpea in the West Asia and North Africa region. International Crops Research institute for the Semi-Arid tropics, India and International Center for Agricultural Research in the Dry Areas, Syria. 262 pp.
- Saxena SC, Kaur H, Verma P (2013) - Osmoprotectants: potential for crop improvement under adverse conditions. in *Plant Acclimation to Environmental Stress*. pp 197–232, Springer, New York, NY, USA.
- Shabala S (2003) - Regulation of potassium transport in leaves: from molecular to tissue level. *Ann Bot.* 92: 627–34.
- Shannon MC, Grieve CM (1999) - Tolerance of vegetable crops to salinity. *Scientia Horticulturae* 78: 5-38.
- Sharaf A, Labib S, El Massry R (1990) - Effect of kinetin on the biochemical constituents of tomato plants under different levels of salinity. *Zagazig Journal of Agricultural Research (Egypt)*.12: 417-441.
- Sheng M, Tang M, Chen H, Yang BW, Zhang FF, Huang YH (2008) - Influence of arbuscular mycorrhizae on photosynthesis and water status of maize plants under salt stress. *Mycorrhiza*. 18:287-296.

- Sheokand S, Dhandi S, Swaraj K (1995) - Studies on nodule functioning and hydrogen peroxide scavenging enzymes under salt stress in chickpea nodules. *Plant Physiology and Biochemistry* 33, 561–566.
- Sheokand S, Malik S, Babber S (2000) - Nodule structure and functioning in chickpea (*Cicer arietinum*) as affected by salt stress. *Biologia plantarum* 43(2): 269-273.
- Shi, H, Zhu, J.K. (2002) - Regulation of expression of the vacuolar Na⁺/H⁺ antiporter gene AtNHX1 by salt stress and abscisic acid. *Plant Mol. Biol.* 50(3):543–550.
- Siddiqi MY, Glass ADM (1981) - Utilization index: a modified approach to the estimation and comparison of nutrient utilization efficiency in plants. *Journal of Plant Nutrition*. New York. 4(3):289-302.
- Silva-Ortega CO, Ochoa-Alfaro AE, Reyes-Aguero JA, Aguado-Santacruz GA, Jimenez-Bremont JF (2008) - Salt stress increases the expression of p5cs gene and induces proline accumulation in cactus pear. *Plant Physiol. Biochem.* 46(1): 82–92. doi:10.1016/j.plaphy.2007.10.011.
- Singh KB, Saxena MC (1999) - Chickpeas: The Tropical Agriculturalist Series. CTA/Macmillan/ICARDA. Macmillan Education Ltd., London, UK. pp. 134
- Singh KN, Chatrath R (2001) - Salinity Tolerance. In: Reynolds MP, Monasterio JIO, McNab A (eds) *Application of physiology in wheat breeding*. CIMMYT, Mexico, DF, pp 101–110.
- Smit G, Kijne JW, Lugtenberg BJ (1987) - Involvement of both cellulose fibrils and a Ca²⁺ dependent adhesin in the attachment of *Rhizobium leguminosarum* to pea root hair tips. *J Bacteriol* 169: 4294-4301.
- Snapp SS, Aggarwal VD, Chirwa RM (1998) - Note on phosphorus and genotype enhancement of biological nitrogen fixation and productivity of maize/bean intercrops in Malawi. *Field Crops Res* 58: 205–212.
- Sofalian O, Miandoab PB, Asghari A, Sedghi M, Eshghi A (2013) - Relationship between salt tolerance related physiological traits and protein markers in soybean variétés (*Glycine max* L.) 47 Cercet ă ri Agronomice în Moldova. XLVI (4): 156.
- Soussi M, Lluch C, Ocana A (1999) - Comparative study of nitrogen fixation and carbon metabolism in two chickpea (*Cicer arietinum* L) variétés under salt stress. *J Exp Bot* 50(340): 1701–1708.

- Soussi M, Khadri M, Lluch C, Ocana A (2001) - Carbon metabolism and bacteroid respiration in nodules of chick-pea (*Cicer arietinum* L.) plants grown under saline conditions. *Plant Biosyst* 135(2): 157–164.
- Ström L, Owen AG, Godbold DL, Jones DL (2005) - Organic acid behaviour in a calcareous soil: sorption reactions and biodegradation rates. *Soil Biol Biochem.* 33: 2125–33.
- Syers JK, Curtin D (1989) - Inorganic reactions controlling phosphorus cycling. In: Phosphorus cycles in terrestrial and aquatic ecosystems. Regional workshop 1: Europe. H. Tiessen. (ed). SCOPE-UNEP. pp. 17-29.
- Szablocs I (1989) - Salt affected soils. Boca Raton: CRC Press.

T

- Tahir MA, Aziz T, Farooq M, Sarwar G (2012) - Silicon-induced changes in growth, ionic composition, water relations, chlorophyll contents and membrane permeability in two salt-stressed wheat genotypes. *Archives of Agronomy and Soil Science.* 58(3): 247–256.
- Tang C, Hinsinger P, Drevon JJ, Jaillard B (2001) - Phosphorus deficiency impers early nodule functioning and enhances proton release in roots of *Medicago truncatula* L. *Ann Bot.* 88:131–8.
- Tajéra NA, Soussi M, Lluch C (2006) - Physiological and nutritional indicators of tolerance to salinity in chickpea plants growing under symbiotic conditions. *Env. Exp. Bot.* 58: 17-24.
- Timmers AC, Auriac MC, Truchet G (1999) - Refined analysis of early symbiotic steps of the *Rhizobium*-*Medicago* interaction in relationship with microtubular cytoskeleton
- Timmers, AC, Soupen, E, Auriac MC, De Billy F, Vasse J, Boistard P, Truchet G (2000) - Saprophytic intracellular *Rhizobia* in alfalfa nodules. *Mol Plant Microbe Interact* 13:1204-1213.
- Tremblin G, Binet P (1984) - Halophilie et résistance au sel chez *Halopepelis amplexicaulis* (Vahl) Ung. *Oecol. Plant*, 5: 291-293.

- Trinchant JC, Boscari A, Spennato G, Van de Sype G, Le Rudulier D (2004) - Proline betaine accumulation and metabolism in Alfalfa plants under sodium chloride stress. Exploring its compartmentalization in nodules. *Plant Physiol*, 135: 1583-1594.
- Toker C, Çancı H (2003) - Selection of chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes for resistance to ascochyta blight [*Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr. yield and yield criteria. *Turk. J. Agric. For.* 27: 277-283.
- Troll W, Lindsely J (1955) - A photometric method for the determination of proline. *J. Biol. Chem.* 125: 655-660.
- Tuba Bicer B, Sakar D (2010) - Inheritance of pod and seed traits in chickpea. *Journal of Environmental Biology*. 31(5) 667-669.

V

- Vadez V, Drevon JJ (2001) - Genotypic variability in P use efficiency for symbiotic N₂ fixation in common-bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Agronomie*. 21: 691–9.
- Vadez V, Krishnamurthy L, Serraj R, Gaur PM, Upadhyaya HD, Hoisington DA, Varshney RK, Turner NC Siddique KHM (2007) - Large variation in salinity tolerance in chickpea is explained by differences in sensitivity at the reproductive stage. *Field Crops Research* 104: 123–129.
- Vadez V, Rodier F, Payre H, Drevon JJ (1996) - Nodule permeability to O₂ and nitrogenase respiration in bean genotype varying in the tolerance of N₂ fixation to P deficiency. *Plant Physiol Biochem*. 34(6): 871–8.
- Van Der Maesen LJG (1987) - Origin, history, and taxonomy of chickpea. In: *The chickpea* (Eds.: M.C. Saxena and K.B. Singh). CAB International, London, UK.
- Vance CP (2001) - Symbiotic Nitrogen Fixation and Phosphorus Acquisition. *Plant Nutrition in a World of Declining Renewable Resources*. American Society of Plant Physiologists. 127(2): 390-397.
- Verret F (1982) - Etude de quelques légumineuses à gousses grains adaptées au semis de printemps dans la zone méditerranéenne. Mémoire D.A.A. Montpellier, France, 72p.
- Vernié T (2008) - Analyse fonctionnelle d'EFD, Un régulateur transcriptionnel de la nodulation au cours de l'interaction symbiotique entre *Medicago truncatula* et

Sinorhizobium meliloti. These de Doctorat. Sciences de la Vie et de la Terre. Toulouse, France.

Viegas RA, Fausto MJM, Queiroz JE, Rocha IMA, Silveira JAG, Viegas PRA (2004) - Growth and total-N content of *Prosopis juliflora* (SW) D.C are stimulated by low NaCl levels. *Braz J Plant Physiol* 16(1): 65–68.

Villa-Castorena M, Ulery AL, Catalan-Valencia EA, Remmenga MD (2003) - Salinity and nitrogen rate effects on the growth and yield of Chile pepper plants. *Soil.Sci. Soc. Am. J.* 67:1781– 1789.

Villegas J, Fortin JA (2002) - Phosphorus solubilization and pH changes as a result of the interactions between soil bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi on a medium containing NO₃ as nitrogen source. *Can. J. Bot.*, 80: 571-576.

Vincent R (2006) - Recherche et étude de marqueurs moléculaires de la réponse au stress chez l'algue brune *Laminaria digitata*. Thèse de doctorat. Biologie. Université de Rennes, Pp 1- 237.

W

Wang W, Vinocur B, Altman A (2003) - Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. *Planta*. 218: 1-14.

West DW, François LE (1982) - Effects of salinity on germination, growth and yield of cowpea. *Irrig. Sci.* 3, 169-175.

White PJ, Broadley MR (2003) - Calcium in plants. *Ann. Bot.* 92: 487-511.

X

Xiong LM, Zhu JK (2002) - Salt tolerance. In: Somerville CR, Meyerowitz EM (ds) *The Arabidopsis book*. American Society of Plant Biologists. Rockville, MD.

Y

Yamaguchi T, Blumwald E. (2006) - Developing salt - tolerant crop plants: challenges and opportunities. *Trends in plant science*. 10(12): 615– 620.

Yokoi S, Ray A. Hasegawa B. P. M (2002) - Salt Stress Tolerance of Plants. *JIRCAS Working Report* 25-33.

Young ND, Mudge J, Ellis THN (2003) - Legume genomes: more than peas in a pod. *Curr Opin in Plant Biology* .6: 199-204.

Z

Zahran, HH (2001) - *Rhizobia* from wild legumes: diversity, taxonomy, ecology, Nitrogen fixation and biotechnology. *J. Biotech.* 91: 143-153.

Zakhia F, Jeder H, Domergue O, Willems A, Cleyet-Marel JC, Gillis M, Dreyfus B, De Lajudie P (2004) - Characterization of wild legume nodulating bacteria (LNB) in the infra-arid zone of Tunisia. *Syst. Appl. Microbiol.* 27: 380-395.

Zapata E, Roy EN (2004) – Utilisation des phosphates naturels pour une agriculture durable. *Bulletin FAO : Engrais et Nutrition Végétale.* 13: 25-29.

Zhu, JK (2002) - Salt and drought stress signal transduction in plants. *An. Rev. of Plant Biol.* 53: 247- 73.

Zhu JK (2003) - Regulation of ion homeostasis under salt stress. *Curr. Opin. Plant Biol.* 6: 41–45.

Zhu H, Choi HK, Cook DR, Shoemaker RC (2005) - Bridging model and crop legumes through comparative genomics. *Plant Phys.* 137: 1189-1196.

Zid E, Grignon C (1991) - Les tests de sélection précoce pour la résistance des plantes au stress. Cas de stress salin et hydrique. *L'amélioration des plantes pour l'adaptation aux milieux arides.* pp.91-108.

Zidan M A, Elewa MA (1995) - Effect of salinity on germination, seedling growth and some metabolic changes in four plant species (*Umbelliferae*). *Indian J. Plant Physiol.*, 38 (1): 57-61.