

N° d'ordre...

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITÉ DJILLALI LIABES DE SIDI BEL ABBES  
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

Département des Sciences de l'Environnement  
Laboratoire de recherche d'écodéveloppement des espaces

# THESE DE DOCTORAT

*Présentée par :*

**Safia BENABDERRAHMANE**

*Spécialité : Sciences de l'environnement*

*Option : Gestion, valorisation des ressources naturelles et  
développement durable*

*Intitulé*

**Réponse biochimique et phytochimique d'une Fabacée  
soumise au stress salin, cas de *Vicia faba* L.**

*Soutenue le : 10/06/2021*

*Devant l'honorable jury composé de :*

<i>Président de jury</i>	: Dr MENADI Norredine	MCA, UDL, Sidi Bel Abbes
<i>Examineurs</i>	: Pr HASNAOUI Okacha	Professeur, UMT, Saïda
	: Dr MEGHERBI Aïcha	MCA, UDL, Sidi Bel Abbes
<i>Promoteur</i>	: Pr TOUMI-BENALI Fawzia	Professeur, UDL, Sidi Bel Abbes
<i>Co-Promoteur</i>	: Pr BENYAHIA Mohamed	Professeur, UDL, Sidi Bel Abbes

**Année universitaire 2020 - 2021**

## **Remerciements**

Mes premiers remerciements vont à ma directrice de thèse **Pr TOUMI-BENALI Fawzia**. Je vous remercie d'avoir cru en moi, de m'avoir accordé votre confiance et d'avoir investi autant de temps pour assurer la direction et l'encadrement de ce travail. Merci pour votre disponibilité, votre patience, votre bienveillance et vos précieux conseils. Votre capacité d'écoute et votre patience sont tout à votre honneur. Je garderai dans mon cœur votre générosité, votre compréhension et votre efficacité. Pour tout ce que vous m'avez donné, je vous remercie très sincèrement.

Je remercie tout spécialement mon co-encadreur **Pr BENYAHIA Mohamed** d'avoir accepté de co-encadrer ce travail. Je tiens à vous exprimer ma considération la plus respectueuse et mes remerciements les plus sincères pour l'intérêt que vous avez porté à mon égard ainsi qu'à mon travail et votre aide précieuse de laquelle j'ai bénéficiée pendant l'élaboration de ce travail.

Je tiens à remercier **Pr HAMEL Laid** ex directeur du laboratoire Eco-développement des espaces ainsi que **Dr MEGHERBI Aicha** son actuelle directrice d'avoir accepté de m'accueillir dans ce laboratoire, au sein duquel j'ai eu la chance d'effectuer une grande partie de mon travail.

Je remercie Monsieur **MENADI Norredine**, Maitre de conférences « A » à l'université de Sidi Bel Abbes de m'avoir fait l'honneur de présider le jury de soutenance. Je tiens à vous exprimer ma considération la plus respectueuse.

Je remercie également Monsieur **HASNAOUI Okacha**, Professeur à l'université de Saïda et Madame **MEGHERBI Aicha**, Maitre de conférences « A » à l'université de Sidi Bel Abbes, d'avoir bien voulu examiner ce travail. Veuillez trouver ici l'expression de ma profonde gratitude.

Pour leur contribution directe dans ce travail je tiens à remercier :

- **Dr MENADI Noredine** pour le temps et l'énergie qu'il a consacrée pour m'aider à réaliser mes dosages de protéines totales en m'initiant à la méthode de kjeldhal.
- **Dr DIF Mustapha** pour ses précieux conseils, j'ai beaucoup apprécié travailler avec toi tant sur le plan scientifique que sur le plan humain.

## *Remerciements*

---

- **Dr BENYAMINA Fethi** pour avoir toujours répondu présent, je te remercie pour ton aide extrêmement précieuse et pour tes conseils pertinents. Je me souviendrai de nos discussions constructives, de ta patience, générosité, écoute et courtoisie.
- **Dr BOUAZZA Sofiane** pour avoir réalisé l'étude statistique de ce travail. Merci pour ta précieuse aide et pour les discussions enrichissantes que nous avons eues.
- **MEKHFI Nabil** pour sa patience et son aide précieuse. Je garde toujours beaucoup de plaisir à discuter avec toi et à bénéficier de tes conseils.
- **SALEM Hanane** pour les moments passés ensemble, je te souhaite bon courage pour la finalisation de ta thèse. Tu en es capable si tu le veux vraiment.

Je n'oublie pas non plus de remercier tous ceux qui ont contribué de près ou de loin dans ce travail, je citerai :

**LAHMAR Nesrine, BENMAISSA Amina, Dr MOUMEN Faiza, Dr RAHMANI Hanane, Dr LAREDJ ZAZOU Rahma, BILEM Amel, Dr DEBAB Mokhtaria, Dr DELLAL Abbas, Dr SOLTANI Amina, Dr RAHMANI Khaled, Dr TIFOURI Zineb, Dr ZOUAOUI Sofiane, LAZRAG Fatima, Dr CHIHAB Mounir, Dr ADJOUJ Abdellatif, Youcef, Kadirou** je conserverai des souvenirs inoubliables de nos moments d'échanges d'entraide et de complicité.

Je tiens à remercier tous les membres du corps enseignant et administratif de la faculté des sciences de la nature et de la vie (UDL/ SBA), j'adresse toute ma gratitude au personnel de la bibliothèque de la même faculté pour la patience, la serviabilité et la gentillesse dont ils ont fait preuve tout au long de notre cursus universitaire.

Pour finir, je voudrais remercier tous les membres de ma famille qui m'ont soutenue durant ces longues années consacrées à la réalisation de cette thèse.

A la mémoire de mon père disparu trop tôt.  
Puisse Dieu Tout-Puissant lui accorder sa miséricorde et  
l'accueillir en son vaste paradis.

## Résumé

La salinité des sols est une contrainte environnementale majeure affectant la production agricole dans le monde. Les légumineuses alimentaires appartiennent à la famille des Fabacées, laquelle occupe une place importante dans les systèmes agricoles et dans l'alimentation humaine, on y recense une large variété d'espèces plus ou moins tolérantes voire sensibles au sel.

Les données relatives à la réponse des légumineuses au stress salin sont insuffisantes pour élaborer des stratégies adéquates permettant d'optimiser les rendements ; de ce fait, nous avons entrepris ce travail afin d'explorer quelques aspects liés à la réponse d'une légumineuse alimentaire *Vicia faba* L. à la salinité et la possibilité d'améliorer sa tolérance à cette contrainte.

Pour réaliser ce travail nous avons opté pour une culture en pots. Trois variétés de la fève *Vicia faba* L. ont fait l'objet de nos expérimentations : Aguadulce, Hystal et Super Aguadulce. La culture des plantes s'est faite sous serre dans des conditions semi-contrôlées.

Notre travail se scinde en deux parties. Dans la première partie, des doses croissantes de NaCl seul et ou combiné au CaCl<sub>2</sub> ont été apportées dans la solution d'irrigation à la variété Aguadulce au moment de la floraison, la réponse à la salinité a été évaluée à travers le dosage des composés biochimiques (sucres totaux, proline et protéines totales) et phytochimiques (phénols totaux, flavonoïdes et tannins condensés) synthétisés par la plante et accumulés dans ses feuilles et racines. Dans la seconde partie, une pulvérisation foliaire d'une solution d'acide salicylique a été appliquée aux deux autres variétés de la fève : Hystal et Super Aguadulce stressées avec deux niveaux de salinité (NaCl) et ce pendant le stade de la floraison. L'effet du NaCl seul ou combiné à l'acide salicylique a été étudié chez ces deux variétés à travers différents paramètres dont la teneur en eau relative (TER), les chlorophylles 'a' et 'b', les composés biochimiques et phytochimiques accumulés dans les feuilles et les racines.

Les résultats de la première partie ont mis en évidence la réponse de la variété Aguadulce à la nocivité du NaCl, se manifestant par une synthèse importante des composés biochimiques et phytochimiques, cependant l'ajout du CaCl<sub>2</sub> a modifié la tendance en régulant la synthèse des métabolites primaires et en augmentant davantage celle des métabolites secondaires.

Dans la seconde partie, l'application de l'acide salicylique aux deux variétés : Hystal et Super Aguadulce stressées au NaCl a amélioré la teneur en eau relative et les teneurs en chlorophylles 'a' et 'b' des feuilles, les teneurs en sucres et en protéines ont été revues à la hausse, la teneur en proline à la baisse, la tendance haussière des métabolites secondaires a été accentuée.

Ces résultats font constater que l'utilisation du calcium (CaCl<sub>2</sub>) et de l'acide salicylique (AS) pour améliorer la tolérance de la fève (*Vicia faba* L.) à la salinité est d'une efficacité avérée, leur effet bénéfique a été visible à travers les réactions biochimiques et phytochimiques élaborées par les plantes soumises à la contrainte saline.

**Mots clé :** stress salin, *Vicia faba* L., NaCl, CaCl<sub>2</sub>, composés biochimiques, composés phytochimiques, acide salicylique.

### Summary

Soil salinity is a major environmental stress affecting agricultural production worldwide. Legumes belong to the Fabaceae family, the latter occupies an important place in agricultural systems and in the human diet, there are a wide variety of species more or less tolerant or even sensitive to salt.

Data on the response of legumes to salt stress are insufficient to develop adequate strategies to optimize yields; hence, we have undertaken this work to explore some aspects related to the response of *Vicia faba* L. a food legume to salinity and the possibility of improving its tolerance.

To do this work we opted for a potted culture. Three varieties of *Vicia faba* L. bean have been the subject of our experiments: Aguadulce, Hстал and Super Aguadulce. The cultivation of plants took place in a greenhouse under semi-controlled conditions.

Our work is divided into two parts. In the first part, increasing doses of NaCl alone and or combined with CaCl<sub>2</sub> were brought in the irrigation solution to the Aguadulce variety at the time of flowering, the response to salinity was sought through the dosage of biochemical compounds (total sugars, proline and total proteins) and phytochemicals (total phenols, flavonoids and condensed tannins) synthesized by the plant and accumulated in its leaves and roots. In the second part, a leaf spray of a salicylic acid solution was applied to the other two varieties of the bean: Hстал and Super Aguadulce stressed with two levels of salinity (NaCl) during the flowering stage. The effect of NaCl alone or combined with salicylic acid has been studied through various parameters including relative water content (TER), chlorophyll 'a' and 'b', biochemical and phytochemical compounds accumulated in the leaves and roots of the two varieties studied.

The results of the first part demonstrated the response of Aguadulce to the harmful effect of NaCl, manifested by a significant synthesis of biochemical and phytochemical compounds, however the addition of CaCl<sub>2</sub> reversed the trend by regulating the synthesis of primary metabolites and increasing that of secondary metabolites.

In the second part, the application of salicylic acid to the two varieties: Hстал and Super Aguadulce stressed with NaCl improved the relative water content and chlorophyll 'a' and 'b' levels of the leaves, the sugar and protein levels were revised upwards, the proline content decreased, the upward trend of secondary metabolites increased.

These results show that the use of calcium (CaCl<sub>2</sub>) and salicylic acid (AS) to improve bean tolerance (*Vicia faba* L.) to salinity is of proven effectiveness, their beneficial effect has been visible through the biochemical and phytochemical reactions developed by plants under saline stress.

**Keywords:** salt stress, *Vicia faba* L., NaCl, CaCl<sub>2</sub>, biochemical compounds, phytochemical compounds, salicylic acid.

## ملخص

تعتبر ملوحة التربة إجهادا بيئيا كبيرا، يؤثر على الإنتاج الزراعي في جميع أنحاء العالم. تنتمي البقوليات إلى عائلة Fabaceae، وتحثل هذه الأخيرة مكانة هامة في الانظمة الزراعية وفي النظام الغذائي البشري، تضم هذه العائلة مجموعة واسعة من الأنواع تختلف من حيث تحملها أو حساسيتها للملوحة.

في ظل غياب المعطيات الكافية حول تأثير الملح واستجابة البقوليات لهذا الاجهاد الملحي ومن اجل وضع استراتيجيات ملائمة لتحسين الغلة، قمنا بهذه الدراسة لغرض استكشاف بعض الجوانب المتعلقة باستجابة أحد انواع البقوليات الغذائية *Vicia faba L.* للملوحة وإمكانية تحسين تحملها لهذا الاجهاد.

لتنفيذ هذا العمل، ثلاثة أنواع من بذور *Vicia faba L.* كانت موضوع تجاربنا Super و Aguadulce و Histal زرعت البذور في اصص ونمت داخل الدفيئة في ظل ظروف شبه خاضعة للرقابة.

ينقسم عملنا إلى قسمين. في الجزء الأول، تم إضافة جرعات متزايدة من NaCl بمفرده أو مع  $CaCl_2$  إلى محلول السقي لنوع Aguadulce في مرحلة الإزهار. في هذا الجزء تم تقييم الاستجابة للملوحة من خلال قياس كمية المواد الكيميائية الحيوية (السكريات القابلة للذوبان والبرولين والبروتينات الكلية) والمواد الكيميائية النباتية (مجموع الفينولات والفلافونويدات والعفص المكثف) التي تم تركيبها بواسطة النبات وتجميعها في الأوراق والجذور. في الجزء الثاني، تم تطبيق رذاذ ورقي من محلول حمض الساليسيليك على الصنفين الآخرين من الفول: Histal و Super Aguadulce مع مستويين من الملوحة (كلوريد الصوديوم) وهذا خلال مرحلة الازهار. تمت دراسة تأثير حمض الساليسيليك مع تأثير كلوريد الصوديوم على هذين الصنفين من خلال دراسة العديد من المعايير بما في ذلك محتوى الماء النسبي، الكلوروفيل 'ا' و'ب'، المواد الكيميائية الحيوية والمواد الكيميائية النباتية المخزنة في اوراق وجذور النباتات.

أظهرت نتائج الجزء الأول استجابة Aguadulce للتأثير الضار لكلوريد الصوديوم، والذي تجلى من خلال توليف كبير للمركبات الكيميائية والكيميائية النباتية، ولكن إضافة  $CaCl_2$  غيرت الوتيرة من خلال تنظيم تخليق المستقبلات الأولية وزيادة المستقبلات الثانوية.

في الجزء الثاني، أدى تطبيق حمض الساليسيليك على السلالتين Histal و Super Aguadulce المجهدتين ب: NaCl إلى تحسين محتوى الماء النسبي ومحتوى الكلوروفيل 'ا' و'ب' في الأوراق، ورفع تجميع السكريات والبروتينات وخفض البرولين، وكذا زيادة وتيرة تركيب المستقبلات الثانوية.

تظهر هذه النتائج فعالية استخدام الكالسيوم ( $CaCl_2$ ) وحمض الساليسيليك (AS) لتحسين تحمل نبات الفول (*Vicia faba L.*) للملوحة، وظهر تأثيرهما المفيد من خلال الاستجابات الكيميائية الحيوية والكيميائية النباتية للنباتات المعرضة للإجهاد الملحي.

**الكلمات المفتاحية:** الاجهاد الملحي، *Vicia faba L.*، NaCl،  $CaCl_2$ ، المركبات الكيميائية الحيوية، المواد الكيميائية النباتية، حمض الساليسيليك.

## **Table des matières**

**Remerciements**

**Dédicace**

**Résumé**

**Summary**

**ملخص**

**Table des matières**

**Liste des figures**

**Liste des tableaux**

**Liste des abréviations**

**Introduction générale** 1

### **Revue bibliographique**

#### **Chapitre I : Généralités sur le stress salin et réponse des plantes à ce stress abiotique**

1.	La salinité dans l'histoire	4
a.	Qu'est-ce qu'un sol salin	4
b.	Origine de la salinité du sol	4
c.	Impact de la salinité sur l'agriculture	5
2.	Le stress chez les plantes	5
2.1.	Types des stress abiotiques chez les plantes	5
2.2.	Les effets du stress salin sur les plantes	6
2.2.1.	Les effets osmotiques	6
2.2.2.	Les effets toxiques d'ions spécifiques	6
2.2.3.	Le déséquilibre dans l'absorption et l'assimilation minérale	7
2.2.4.	Réduction de la photosynthèse	7

2.2.5	La Production des ROS (stress oxydatif)	8
3.	La réponse des plantes au stress salin : mécanismes de résistance	8
3.1.	Homéostasie ionique	8
3.2.	Stratégie osmotique	11
4.	Métabolisme végétal primaire et secondaire face au stress	14
4.1.	Les composés phénoliques	15
4.2.	Les phytohormones	16
2.2.1.	Acide salicylique (AS)	18
4.2.1.1.	La biosynthèse de l'acide salicylique	18
4.2.1.2.	Le transport de l'acide salicylique dans la plante	19
4.2.1.3.	Les processus physiologiques contrôlés par l'acide salicylique durant le stress salin	20
a.	La germination	20
b.	La croissance	21
c.	La photosynthèse et la transpiration	21
d.	L'acquisition des nutriments	21

**Chapitre II : Notions générales et situation de la culture des légumineuses et de la fève (*Vicia faba* L.) en Algérie**

1.	Les légumineuses	22
1.2.	La fixation symbiotique de l'azote	23
1.3.	Les légumineuses en Algérie	23
1.4.	Les bienfaits des légumineuses sur la santé humaine	24
1.5.	La fève	25

1.5.1. Les valeurs nutritives de la fève ( <i>Vicia faba</i> L.)	25
1.5.2. Taxonomie et caractéristiques botaniques	26
1.5.3. Variétés de la fève	29
1.5.4. Exigences de la culture de la fève	29
1.5.5. Les contraintes environnementales de la production de la fève en Algérie	30

### **Partie expérimentale**

#### **Chapitre I : Evaluation de la réponse phyto-biochimique de *V. faba* var. Aguadulce au stress salin (NaCl) et (NaCl + CaCl<sub>2</sub>)**

1. Introduction	31
2. Matériels et méthodes	31
2.1. Matériel végétal	31
2.2. Conditions de culture	32
2.2.1. Germination des graines de de la variété Aguadulce ( <i>Vicia faba</i> L.)	32
2.2.2. Empotage et repiquage des plantules d'Aguadulce ( <i>Vicia faba</i> L.)	32
2.2.3. Irrigation et application du stress	33
2.2.4. Plan expérimental	34
2.2.5. Récolte du matériel végétal	34
2.2.6. Conditionnement du matériel végétal	35
2.3. Dosages des composés biochimiques (métabolites primaires)	35
2.3.1. Détermination de la teneur en sucres totaux	35
2.3.2. Dosage de la proline	37

2.3.3. Détermination de la teneur en protéines totales par la méthode de KJELDAHL	39
2.4. Dosage des composés phytochimiques (métabolites secondaires)	42
2.4.1. Extraction des composés phénoliques	42
2.4.2. Dosage des polyphénols totaux	42
2.4.3. Dosage des flavonoïdes	44
2.4.4. Dosage des tanins condensés	45
2.5. Analyses statistiques des résultats	46
3. Résultats et discussion	47
3.1 Dosage des composés biochimiques (métabolites primaires)	47
3.1.1. Teneur en sucres totaux	47
3.1.2. Teneur en proline	48
3.1.3. Teneur en protéines totales	49
3.2. Dosage des composés phytochimiques (métabolites secondaires)	50
3.2.1. Teneurs en phénols totaux	50
3.2.2. Teneurs en flavonoïdes	51
3.2.3. Teneurs en tannins condensés	52
4. Discussion	53
5. Conclusion	57

**Chapitre II : Evaluation de l'effet de l'acide salicylique (AS) sur l'amélioration de la réponse de *V. faba* var. Histal et var. Super Aguadulce au stress salin**

1. Introduction	58
2. Matériels et méthodes	58
2.1. Matériel végétal	58
2.2. Conditions de culture	59
2.3. Empotage et repiquage	59
2.4. Irrigation et application du stress	59
2.5. Plan expérimental	60
2.6. Récolte et conditionnement du matériel végétal	60
2.7. Paramètres mesurés	60
2.7.1. Teneur en eau relative TER	60
2.7.2. Chlorophylles	62
2.7.3. Sucres totaux	62
2.7.4. Proline	62
2.7.5. Protéines totales	62
2.7.6. Composés phénoliques	63
2.8. Analyses statistiques des résultats	63
3. Résultats	64
3.1. Feuilles	64
3.1.1. Teneur en eau relative des feuilles (TER) des deux variétés : Histal et Super Aguadulce de la fève ( <i>Vicia faba</i> L.)	64
3.1.2. Teneur en chlorophylle 'a' des deux variétés : Histal et Super Aguadulce de la fève ( <i>Vicia faba</i> L.)	65

3.1.3.	Teneur en chlorophylle ‘b’ des deux variétés : Histal et Super Aguadulce de la fève ( <i>Vicia faba</i> L.)	66
3.1.4.	Teneur en sucres totaux des deux variétés : Histal et Super Aguadulce de la fève ( <i>Vicia faba</i> L.)	67
3.1.5.	Teneur en proline des deux variétés : Histal et Super Aguadulce de la fève ( <i>Vicia faba</i> L.)	68
3.1.6.	Teneur en protéines totales des deux variétés : Histal et Super Aguadulce de la fève ( <i>Vicia faba</i> L.)	70
3.1.7.	Teneur en composés phénoliques des deux variétés : Histal et Super Aguadulce de la fève ( <i>Vicia faba</i> L.)	71
3.2.	Racines	74
3.2.1.	Teneur en sucres totaux des deux variétés : Histal et Super Aguadulce de la fève ( <i>Vicia faba</i> L.)	74
3.2.2.	Teneur en proline des deux variétés : Histal et Super Aguadulce de la fève ( <i>Vicia faba</i> L.)	75
3.2.3.	Teneur en protéines totales des deux variétés : Histal et Super Aguadulce de la fève ( <i>Vicia faba</i> L.)	76
3.2.4.	Teneur en composés phénoliques des deux variétés : Histal et Super Aguadulce de la fève ( <i>Vicia faba</i> L.)	77
4.	Discussion	81
5.	Conclusion	85
	<b>Conclusion générale et perspectives</b>	87
	<b>Références bibliographiques</b>	90
	<b>Annexes</b>	115

**Liste des figures**

<b>Figure 1</b> : Effet du stress salin sur la photosynthèse	<b>7</b>
<b>Figure 2</b> : les grandes lignes de la biosynthèse des principaux groupes de composés phénolique	<b>16</b>
<b>Figure 3</b> : Structures chimiques des différentes phytohormones	<b>17</b>
<b>Figure 4</b> : Structures chimiques des composés phénoliques participants dans la biosynthèse et le métabolisme de l'acide salicylique (l'acide o-hydroxybenzoïque)	<b>19</b>
<b>Figure 5</b> : La symbiose : des échanges réciproques de nutriments entre la plante et le rhizobium hébergé et transformé en bactéroïde dans le nodule	<b>22</b>
<b>Figure 6</b> : Morphologie de la fève <i>Vicia faba</i> L.	<b>28</b>
<b>Figure 7</b> : Graines de la variété Aguadulce ( <i>Vicia faba</i> L.)	<b>31</b>
<b>Figure 8</b> : Germination des graines d'Aguadulce ( <i>Vicia faba</i> L.)	<b>32</b>
<b>Figure 9</b> : Empotage et repiquage des plantules d'Aguadulce ( <i>Vicia faba</i> L.)	<b>33</b>
<b>Figure 10</b> : Récolte et séchage du matériel végétal	<b>35</b>
<b>Figure 11</b> : Extraction des sucres par macération des feuilles et racines de la variété Aguadulce ( <i>Vicia faba</i> L.) dans l'éthanol	<b>36</b>
<b>Figure 12</b> : Addition du phénol et de l'acide sulfurique à la solution à doser	<b>36</b>
<b>Figure 13</b> : Courbe d'étalonnage glucose	<b>37</b>
<b>Figure 14</b> : Apparition de deux phases après l'ajout du toluène	<b>38</b>
<b>Figure 15</b> : Lecture de la densité optique au spectrophotomètre	<b>38</b>
<b>Figure 16</b> : Courbe d'étalonnage proline	<b>39</b>
<b>Figure 17</b> : Minéralisation sulfurique de l'azote	<b>40</b>
<b>Figure 18</b> : Déplacement et distillation de l'ammoniac	<b>40</b>
<b>Figure 19</b> : Dosage de l'azote total	<b>41</b>

<b>Figure 20</b> : Extraction des composés phénoliques des feuilles et des racines de la variété Aguadulce ( <i>Vicia faba</i> L.)	<b>42</b>
<b>Figure 21</b> : Dosage des polyphénols totaux des feuilles et racines de la variété Aguadulce ( <i>Vicia faba</i> L.)	<b>43</b>
<b>Figure 22</b> : Courbe d'étalonnage phénols totaux	<b>43</b>
<b>Figure 23</b> : Dosage des flavonoïdes dans les feuilles et les racines de la variété Aguadulce ( <i>Vicia faba</i> L.)	<b>44</b>
<b>Figure 24</b> : courbe d'étalonnage flavonoïdes	<b>45</b>
<b>Figure 25</b> : Dosage des tannins condensés dans les feuilles de la variété Aguadulce ( <i>Vicia faba</i> L.)	<b>45</b>
<b>Figure 26</b> : Courbe d'étalonnage tannins	<b>46</b>
<b>Figure 27</b> : Effet des concentrations croissantes de NaCl seul et combiné au CaCl <sub>2</sub> sur les sucres totaux dans les feuilles et les racines d'Aguadulce ( <i>Vicia faba</i> L.)	<b>47</b>
<b>Figure 28</b> : Effet des concentrations croissantes de NaCl seul et combiné au CaCl <sub>2</sub> sur la proline dans les feuilles et les racines d'Aguadulce ( <i>Vicia faba</i> L.)	<b>48</b>
<b>Figure 29</b> : Effet des concentrations croissantes de NaCl seul et combiné au CaCl <sub>2</sub> sur les protéines totales dans les feuilles et les racines d'Aguadulce ( <i>Vicia faba</i> L.)	<b>49</b>
<b>Figure 30</b> : Effet des concentrations croissantes de NaCl seul et combiné au CaCl <sub>2</sub> sur les phénols totaux dans les feuilles et les racines d'Aguadulce ( <i>Vicia faba</i> L.)	<b>50</b>
<b>Figure 31</b> : Effet des concentrations croissantes de NaCl seul et combiné au CaCl <sub>2</sub> sur les flavonoïdes dans les feuilles et les racines d'Aguadulce ( <i>Vicia faba</i> L.)	<b>51</b>
<b>Figure 32</b> : Effet des concentrations croissantes de NaCl seul et combiné au CaCl <sub>2</sub> sur les tanins condensés dans les feuilles et les racines d'Aguadulce ( <i>Vicia faba</i> L.)	<b>52</b>
<b>Figure 33</b> : Graines de la fève ( <i>Vicia faba</i> L.) de gauche à droite : Histal, Super Aguadulce	<b>58</b>

<b>Figure 34</b> : Pulvérisation de la solution d'acide salicylique sur le feuillage de Histal et Super Aguadulce ( <i>Vicia faba</i> L.)	<b>59</b>
<b>Figure 35</b> : Détermination de la teneur en eau relative (TER) des feuilles de Histal et Super Aguadulce ( <i>Vicia faba</i> L.)	<b>61</b>
<b>Figure 36</b> : Effet de l'AS sur la TER (%) des feuilles de la fève ( <i>Vicia faba</i> L.) stressée au NaCl	<b>64</b>
<b>Figure 37</b> : Effet de l'AS sur la chlorophylle 'a' des feuilles de la fève ( <i>Vicia faba</i> L.) stressée au NaCl	<b>65</b>
<b>Figure 38</b> : Effet de l'AS sur la chlorophylle 'b' des feuilles de la fève ( <i>Vicia faba</i> L.) stressée au NaCl	<b>67</b>
<b>Figure 39</b> : Effet de l'AS sur les sucres totaux dans les feuilles de la fève ( <i>Vicia faba</i> L.) stressée au NaCl	<b>68</b>
<b>Figure 40</b> : Effet de l'AS sur la proline dans les feuilles de la fève ( <i>Vicia faba</i> L.) stressée au NaCl	<b>69</b>
<b>Figure 41</b> : Effet de l'AS sur les protéines totales dans les feuilles de la fève ( <i>Vicia faba</i> L.) stressée au NaCl	<b>70</b>
<b>Figure 42</b> : Effet de l'AS sur les phénols totaux dans les feuilles de la fève ( <i>Vicia faba</i> L.) stressée au NaCl	<b>71</b>
<b>Figure 43</b> : Effet de l'AS sur les flavonoïdes dans les feuilles de la fève ( <i>Vicia faba</i> L.) stressée au NaCl	<b>72</b>
<b>Figure 44</b> : Effet de l'AS sur les tanins condensés dans les feuilles de la fève ( <i>Vicia faba</i> L.) stressée au NaCl	<b>73</b>
<b>Figure 45</b> : Effet de l'AS sur les sucres totaux dans les racines de la fève ( <i>Vicia faba</i> L.) stressée au NaCl	<b>75</b>

- Figure 46** : Effet de l'AS sur la proline dans les racines de la fève (*Vicia faba* L.) stressée au NaCl **76**
- Figure 47** : Effet de l'AS sur les protéines totales dans les racines de la fève (*Vicia faba* L.) stressée au NaCl **77**
- Figure 48** : Effet de l'AS sur les phénols totaux dans les racines de la fève (*Vicia faba* L.) stressée au NaCl **78**
- Figure 49** : Effet de l'AS sur les flavonoïdes dans les racines de la fève (*Vicia faba* L.) stressée au NaCl **79**
- Figure 50** : Effet de l'AS sur les tanins condensés dans les racines de la fève (*Vicia faba* L.) stressée au NaCl **80**

**Liste des tableaux**

**Tableau 1** : Valeurs nutritives de la fève (*Vicia faba* L.) pour 100 g de graines sèches **25**

## Liste des abréviations

<b>AA:</b>	acide aminé
<b>ABA :</b>	abscisic acid
<b>APG:</b>	angiosperm phylogeny group
<b>AS :</b>	acide salicylique
<b>CE :</b>	conductivité électrique
<b>CE<sub>e</sub> :</b>	conductivité électrique de l'extrait saturé
<b>Chl a:</b>	chlorophylle a
<b>Chl b :</b>	chlorophylle b
<b>CLC:</b>	chloride channel
<b>DO :</b>	densité optique
<b>dS/m :</b>	dicisiemens par mètre
<b>EAG :</b>	équivalent acide gallique
<b>EC :</b>	équivalent catéchine
<b>GB:</b>	glycine bétaine
<b>INRA :</b>	institut national de recherche en agronomie
<b>ITGC:</b>	institut technique des grandes cultures
<b>Kcal :</b>	kilocalorie
<b>LEA :</b>	late embryogenesis abundant
<b>MADR :</b>	ministère de l'agriculture et du développement rural
<b>nm:</b>	nanomètre
<b>NRA:</b>	nitrate reductase activity
<b>PF:</b>	poids frais
<b>PS:</b>	poids sec
<b>PT:</b>	poids turgescence
<b>ROS :</b>	reactive oxygen species
<b>RSA:</b>	résistance systémique acquise
<b>SS :</b>	stress salin
<b>T:</b>	traitement
<b>TER :</b>	teneur en eau relative

---

# ***INTRODUCTION GENERALE***

---

## **Introduction générale**

La population mondiale a triplé entre 1950 (2.5 milliards) et 2020 (7.7 milliards) et devrait passer à 9.7 milliards en 2050 (ONU, 2020). L'objectif majeur de l'agriculture moderne est d'augmenter la performance des productions agricoles (Benhamou, 2009), les estimations actuelles indiquent que la production devrait augmenter de 70% d'ici 2050 (Parmentier, 2018) alors que la production des plantes cultivées est sévèrement affectée par les stress abiotiques et biotiques, notamment par le stress salin (Manchanda et Garg, 2008).

La salinité constitue un grand défi pour l'agriculture mondiale, elle touche actuellement 20% des terres cultivées et 33 % des terres irriguées (Benbrahim et *al.*, 2004). Avec des prévisions estimant que la salinisation pourrait toucher 50% des terres arables à l'horizon 2050 (Manchanda et Garg, 2008).

La salinisation des sols et des eaux d'irrigation enregistrée dans les écosystèmes arides et semi-aride, en particulier dans le bassin méditerranéen, constitue l'un des facteurs limitant de la productivité végétale et du rendement agricole (Parida et Das, 2005). Près de 10% des terres sont affectées par le sel et 10 millions d'hectares de terres agricoles sont perdues chaque année (Chaussat et *al.*, 1975).

Dans le bassin méditerranéen la culture des plantes légumineuses occupe une place importante au niveau des agrosystèmes vu leurs intérêts agronomiques, économiques et nutritionnels (Benbrahim et *al.*, 2004 ; Manchanda et Garg, 2008).

En Algérie, la culture des légumineuses alimentaires suscite dernièrement un regain d'intérêt avec des objectifs de renforcement de cette filière, d'augmentation de sa productivité et de la superficie agricole qui lui est réservée, afin de répondre à la demande croissante du marché nationale, actuellement comblée par l'importation d'environ 2 millions de quintaux par an (ITGC, 2016).

Chez les légumineuses l'effet dépressif du sel se manifeste à partir d'un seuil critique de concentration caractéristique de l'espèce et de la variété (Okçu et *al.*, 2005), cet effet se manifeste entre autres par un changement du statut hydrique (Kaymakanova, 2009), un déséquilibre nutritionnel (Okçu et *al.*, 2005) et une réduction des activités photosynthétique et enzymatique (El-Monem et Sharaf, 2008).

Les plantes ont développé des stratégies pour surmonter le stress salin, faisant appel à des mécanismes anatomiques, morphologiques et métaboliques afin d'adapter leur physiologie et leur métabolisme au stress osmotique. (Yücel et Heybet, 2016).

Sous les conditions de stress salin, les plantes ajustent leur potentiel osmotique pour maintenir une bonne hydratation de leur cellules (Coudurier et *al.*, 2013), des molécules osmotiquement actives comme les protéines et les sucres ainsi que la proline (Coudurier et *al.*, 2013 ; Graham et Vance, 2003), sont accumulées proportionnellement aux conditions osmotiques externes selon des limites propres à chaque espèce (Hasegawa et *al.*, 2000)

Une multitude de molécules issues du métabolisme secondaire sont biosynthétisées sous l'influence de la salinité, et pourraient aider la plante à survivre aux stress abiotiques (Bennett et Wallsgrove, 1994). Le stress salin est à l'origine d'une surproduction des formes actives d'oxygène (ROS) par la plante (Appel et Hirt, 2004). L'accumulation des métabolites secondaires serait un moyen de lutte contre le stress oxydatif généré par l'excès des ROS (Ashraf, 2009). De nombreuses études ont démontré une corrélation positive entre l'accumulation des composés phénoliques (Rasheed et *al.*, 2014), les flavonoïdes (Gengmao et *al.*, 2015), les tannins (Baâtour et *al.*, 2012) et la tolérance au stress salin.

Le calcium ( $\text{Ca}^{2+}$ ) est un nutriment minéral essentiel et un messager dans la signalisation cellulaire, sa teneur dans les plantes est affectée par les phytohormones. Le stress salin peut déclencher un accroissement momentané du  $\text{Ca}^{2+}$  du cytosole (Yücel et Heybet, 2016). L'apport de calcium aux plantes cultivées dans des conditions salines peut améliorer leur croissance.

L'acide salicylique (AS) est un composé phénolique synthétisé naturellement par les plantes, il est considéré comme une hormone, son rôle dans les mécanismes de défense a été bien caractérisé, l'application exogène de l'AS conduit à l'activation de nombreux gènes de défense en agissant comme une molécule signal dans la voie de transduction (Yücel et Heybet, 2016).

Bien qu'il existe beaucoup de travaux scientifiques sur les effets de la salinité sur les plantes en général et sur les légumineuses en particulier, les réactions métaboliques de ces dernières face à cette contrainte demeurent mal connues. Dans cette optique, nous avons entrepris cette étude dans laquelle, nous avons, d'une part exploré les potentialités de tolérance au stress salin de trois variétés de la fève (*Vicia faba* L.), d'autre part évalué l'effet du calcium

et de l'acide salicylique sur l'amélioration de cette tolérance, et ce à travers l'évaluation des réponses biochimiques et phytochimiques.

Pour cela trois variétés de l'espèce *Vicia faba* L. cultivées en Algérie : Aguadulce, Hystal et Super Aguadulce ont été soumises à différents traitements. Dans la première partie nous avons sélectionné la variété Aguadulce qui a été mise en culture et stressée au chlorure de sodium (NaCl) seul et combiné au chlorure de calcium (CaCl<sub>2</sub>). La réponse de cette variété à ce stress a été recherchée à travers la quantification des composés biochimiques : sucres totaux, proline et protéines totales et des composés phytochimiques : phénols totaux, flavonoïdes et tanins condensés, accumulés dans ses feuilles et ses racines. Dans la seconde partie nous avons travaillé sur les deux autres variétés : Hystal et Super Aguadulce que nous avons cultivées sous des conditions salines (NaCl) et dont les feuilles ont été pulvérisées avec de l'acide salicylique. L'effet potentiellement bénéfique de l'apport exogène de l'AS a été étudié à travers les paramètres suivants : la teneur en eau relative (TER) et les teneurs en chlorophylles 'a' et 'b' des feuilles, l'accumulation de la proline, des sucres totaux et des protéines totales, ainsi que des composés phénoliques comprenant les phénols totaux, les flavonoïdes et les tannins condensés dans les feuilles et les racines.

Notre travail se décline en deux parties :

**Une revue bibliographique** comportant deux chapitres :

- Chapitre I : Généralités sur le stress salin et réponse des plantes à ce stress abiotique
- Chapitre II : Notions générales et situation de la culture des légumineuses et de la fève (*Vicia faba* L.) en Algérie

**Une partie expérimentale** comportant également deux chapitres :

- Chapitre I : Evaluation de la réponse phyto-biochimique de *V. faba* var. Aguadulce au stress salin (NaCl) et (NaCl + CaCl<sub>2</sub>)
- Chapitre II : Evaluation de l'effet de l'acide salicylique (AS) sur l'amélioration de la réponse de *V. faba* var. Hystal et var. Super Aguadulce au stress salin

Les deux parties sont achevées par une conclusion générale et perspectives.

---

***REVUE BIBLIOGRAPHIQUE***

---

# **Chapitre I**

---

## **Généralités sur le stress salin et réponse des plantes à ce stress abiotique**

---

## Chapitre I : Généralités sur le stress salin et réponse des plantes à ce stress abiotique

### 1. La salinité dans l'histoire

La salinisation des terres arables est un phénomène vieux de 6000 ans. L'histoire nous enseigne qu'entre 2000 et 4000 av. J.-C. les Sumériens ont ruiné leur terre et leur culture dans les vallées du Tigre et de l'Euphrate dans la Mésopotamie à cause de mauvaises pratiques d'irrigation qui ont salinisé les sols et miné la production du blé et de l'orge ce qui a conduit à l'effondrement de leur civilisation (Jacobsen et Adams, 1958 ; Boyden, 1987 ; Läuchli, 1991; Gnassemi et *al.*, 1995)

#### a. Qu'est-ce qu'un sol salin

Le sol salin est défini par Ponnamperuma (1984) comme étant un sol contenant suffisamment de sels dans la rhizosphère pour compromettre la croissance des plantes. Cependant, comme les effets délétères du sel dépendent des espèces, des variétés, de l'étage de croissance, des facteurs environnementaux et de la nature des sels, il est difficile de définir avec précision les sols salins. La définition la plus largement admise est celle de la FAO (1988) selon laquelle un sol salin est celui dont la conductivité électrique (CE) de l'extrait saturé ( $CE_e$ ) est égale à  $4 \text{ dS m}^{-1}$  ( $40 \text{ mM NaCl}$  approximativement), ou plus. Le rendement de la majorité des plantes cultivées est réduit à cette ( $CE_e$ ), cependant beaucoup de plantes sont affectées par des ( $CE_e$ ) inférieures à celle-ci (Munns, 2005 ; Jamil et *al.*, 2011). Les sols avec une ( $CE_e$ ) dépassant  $15 \text{ dS m}^{-1}$  sont considérés comme fortement salins (FAO, 1988)

#### b. Origine de la salinité du sol

La salinité peut être naturelle ou induite par les activités agricoles (Bartels et Nelson, 1994; Rubio et *al.*, 1995). Les sels sont présents dans le sol sous forme d'ions, ces derniers résultent de la décomposition des minéraux. Ils peuvent également provenir de l'eau d'irrigation ou des fertilisants et quelque fois migrer vers le haut à partir des eaux souterraines peu profondes. Lorsque les précipitations sont insuffisantes pour lessiver ces sels, ils s'accumulent dans le sol causant sa salinité (Blaylock et *al.*, 1994)

### c. Impact de la salinité sur l'agriculture

La salinité des sols réduit significativement les rendements agricoles dans les zones arides et semi-arides. L'étendu et la sévérité de la salinisation devraient encore s'aggraver en raison d'un drainage inadéquat des terres irriguées, l'élévation des nappes phréatiques et le réchauffement climatique (Munns et Gilliam, 2015).

La salinité ou stress salin constitue l'un des plus sévères stress abiotiques limitant la productivité des plantes cultivées. La majorité des plantes sont sensibles à la salinité (Gnassemi *et al.*, 1995). Selon la FAO 17% des terres agricoles sont irriguées, mais elles assurent 40% de la production mondiale. La salinisation réduit les superficies irriguées de 1 à 2 % par an et frappe le plus durement les régions arides et semi-arides. Chaque minute, trois hectares de terres arables sont perdus du fait de la salinisation et ce, souvent de façon irrémédiable (Legros, 2009).

## 2. Le stress chez les plantes

D'un point de vue biologique, le stress est une déviation potentiellement nuisible, dans la physiologie, le développement et le fonctionnement de la plante pouvant lui causer des dommages irréversibles (Pareek *et al.*, 2009).

Les types de stress qui touchent les plantes cultivées peuvent être regroupés en (Pareek *et al.*, 2009) :

- **Stress biotiques** : sont déclenchés par des organismes vivants phytopathogènes qui parasitent les plantes, comme les virus, les bactéries, les champignons, les nématodes, les insectes et les plantes phanérogames.

- **Stress abiotiques** : sont causés par des choses non-vivantes dont dépendent les plantes, telles que la température, l'humidité relative, l'ensoleillement, les nutriments dans le sol et autres paramètres physico-chimiques du sol pouvant créer un stress aux plantes.

### 2.1. Types des stress abiotiques chez les plantes :

Les différents stress abiotiques auxquels sont confrontées les plantes depuis les semis jusqu'à la récolte sont (Pareek *et al.*, 2009) :

- L'excès ou le manque d'eau dans le sol
- La salinité du sol
- Les pluies hors saison
- La carence des micronutriments dans la rhizosphère
- Le gel
- Le choc thermique
- Les métaux lourds

## **2.2. Effets du stress salin sur les plantes**

### **2.2.1. Les effets osmotiques**

L'accumulation des sels dans le sol réduit l'accessibilité à l'eau du sol ce qui affecte négativement le prélèvement de l'eau par la plante et ultimement la teneur en eau dans les tissus (Munns, 2002). La forte accumulation des sels dans les sols salins réduit le potentiel osmotique de la solution du sol ce qui rend difficile l'extraction de l'eau par les plantes constituant ce que l'on appelle « le stress osmotique ». L'excès de sel réduit la croissance des plantes en augmentant l'énergie consacrée par la plante à l'acquisition de l'eau à travers les ajustements biochimiques. Cette énergie est détournée de la croissance pour être utilisée dans l'adaptation au stress osmotique (Akram et *al.*, 2002)

### **2.2.2. Les effets toxiques d'ions spécifiques**

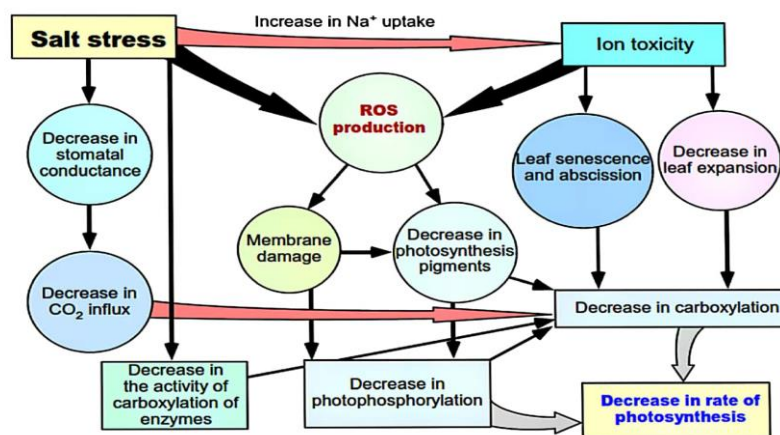
La toxicité des ions spécifiques résulte de l'absorption excessive de certains ions et conduit à une baisse de la croissance de la plante (Chinnusamy et *al.*, 2005). Les ions toxiques en stress salin sont habituellement le sodium ( $\text{Na}^+$ ), le chlorure ( $\text{Cl}^-$ ) et le sulfate ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) (Gnassemi et *al.*, 2005 ; Munns et Tester, 2008). L'accumulation du sodium cause une toxicité ionique en interférant avec le métabolisme de la plante (Munns, 2002). De nombreuses études physiologiques ont démontré que la toxicité du  $\text{Na}^+$  n'est pas due uniquement à ses effets toxiques dans le cytosol mais aussi en raison de la perturbation de l'homéostasie de l'ion potassium ( $\text{K}^+$ ) due à la capacité du  $\text{Na}^+$  d'occuper les sites de fixation du ( $\text{K}^+$ ) (Hussain et *al.*, 2016).

### 2.2.3. Le déséquilibre dans l'absorption et l'assimilation minérale

Le déséquilibre nutritionnel lié à la salinité peut affecter défavorablement les rendements agricoles (Hu et Schmidhalter, 1998). Ce déséquilibre est causé par l'effet de la salinité sur la disponibilité des nutriments, le prélèvement compétitif, le transport et/ou la compartimentation au sein de la plante dû à une demande interne accrue pour un élément essentiel (Marschner, 1995). Dans les sols affectés par la salinité, l'accumulation excessive du  $\text{Na}^+$  et  $\text{Cl}^-$  dans la rhizosphère donne lieu à de sévères déséquilibres nutritionnels en interférant avec les autres éléments minéraux essentiels comme le potassium (K), le calcium (Ca), l'azote (N), le phosphore (P), le magnésium (Mg), le fer (Fe), le Manganèse (Mn), le Cuivre (Cu), le zinc (Zn) et peut inhiber leur absorption (Hu et Schmidhalter, 1998 ; Siddiqi et al., 2011).

### 2.2.4. Réduction de la photosynthèse

La photosynthèse est négativement affectée par la salinité de diverses manières notamment via l'inhibition de l'entrée du  $\text{CO}_2$  en raison de la fermeture des stomates (Degl'Innocenti et al., 2009) ou encore la réduction des pigments photosynthétiques, chlorophylle 'a' et chlorophylle 'b' (Qados, 2011), ainsi que l'endommagement du processus photosynthétique (photosystème I et II) et des protéines transporteuses d'électrons (Sudhir et al., 2005). La réduction de la photosynthèse est en partie attribuée à la baisse de la teneur en chlorophylle. Elle est également due à l'interruption de l'expansion et le développement des feuilles ou à l'abscission précoce des feuilles, et en cas de stress prolongé à la toxicité des ions, la rupture membranaire et la fermeture totale des stomates (Figure 1) (Farooq et al., 2015).



**Figure 1** : Effet du stress salin sur la photosynthèse (Hussain et al., 2016).

### 2.2.5. La Production des ROS (stress oxydatif)

Une exposition prolongée des plantes au stress salin peut aboutir à la formation des espèces réactives de l'oxygène (ROS) appelées aussi formes réactives de l'oxygène (Chandna et *al.*, 2013), ce sont des dérivés de l'oxygène hautement réactifs, comprenant des radicaux et des non-radicaux. Les radicaux d'oxygène sont des composés chimiques dotés d'un électron non apparié : l'oxygène singulet ( $O^1_2$ ), les radicaux superoxydes ( $\cdot O_2$ ) et le radical hydroxyl (HO $\cdot$ ). Les non-radicaux sont entre autres : le peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$  et l'ozone  $O_3$  (Rodríguez et Taleisnik, 2012). Durant le stress salin les ROS participent dans la signalisation qui régule l'activité des canaux d'ions et l'expression des gènes. Cependant, l'excès de ces formes réactives d'oxygène exerce un effet nocif résultant de leur interaction avec les macromolécules comme les lipides, les protéines et les acides nucléiques (Rodríguez et Taleisnik, 2012) pouvant engendrer une peroxydation des lipides, la dégradation des protéines et la mutation de l'ADN (Vinocur et Altman, 2005 ; Pitzschke et *al.*, 2006 ; Ahmad et *al.*, 2008).

## 3. La réponse des plantes au stress salin : mécanismes de résistance

### 3.1. Homéostasie ionique

#### ▪ La compartimentation vacuolaire

Elle consiste à évacuer du cytoplasme les ions  $Na^+$  en excès vers la vacuole afin d'éviter leur effet toxique et inhibiteur à l'encontre des processus enzymatiques (Flowers et *al.*, 1977). Ainsi, grâce à ce processus de compartimentation de sodium au sein de la vacuole, la cellule parvient à maintenir une faible concentration de sodium dans le cytoplasme, minimisant ainsi son effet toxique ; et d'autre part l'augmentation concomitante de la concentration de sodium dans la vacuole va engendrer une forte pression osmotique qui va favoriser l'absorption d'eau et donc améliorer la turgescence des cellules (Glenn et *al.*, 1999 ; Apse et Blumwald, 2007).

Chez les plantes de type « incluser », les flux de sodium sont essentiellement ascendants, et le sel est accumulé dans les parties aériennes au niveau des vacuoles. Par contre chez celles de type « excluser », la plus grande partie du sodium absorbé et véhiculé vers les feuilles est réexportée vers les racines via le phloème (Levigneron et *al.*, 1995 ; Berthomieu et *al.*, 2003) ou initialement stockée dans les racines. La compartimentation du NaCl dans les vacuoles

représente le mécanisme principal de détoxification du sel chez les halophytes (Borsani et *al.*, 2003 ; Riadh et *al.*, 2010), tandis que les glycophytes ont recours au mécanisme d'exclusion du sodium des cellules (au niveau de la membrane plasmique) des parties aériennes vers les racines (Munns, 2002 ; Tester et Davenport, 2003 ; Blumwald et *al.*, 2004).

Une autre différence majeure entre les glycophytes et les halophytes repose sur le fait que ces dernières accumulent et stockent environ 90% du sodium dans la partie aérienne dont au moins 80% dans les feuilles (Flowers et *al.*, 1977 ; Tester et Basic, 2005), alors que les glycophytes limitent le mouvement d'ions vers la partie aérienne en contrôlant l'influx xylémique d'ions (Hasegawa et *al.*, 2000). Par ailleurs, les halophytes utilisent ce mécanisme de compartimentation de sodium dans la vacuole afin de pouvoir générer un potentiel osmotique au sein des cellules, nécessaire à l'absorption de l'eau au niveau des sols salés. Ainsi l'accumulation du sodium dans le compartiment vacuolaire semble avoir un double rôle, celui de la protection du cytoplasme contre la toxicité du sodium et celui de son utilisation en tant qu'osmoticum dans la vacuole ( Blumwald et *al.*, 2000 ; Bartels et Sunkar, 2005). Bien qu'on accorde peu d'attention aux ions chlorures et que la discussion sur le problème de la salinité soit généralement focalisée sur le sodium en raison de sa toxicité, les chlorures représentent pourtant les ions majeurs qui contrebalancent le sodium au niveau de la régulation osmotique (Glenn et *al.*, 1999) et ne sont pas moins toxiques que les ions Na<sup>+</sup> (Teakle et Tyerman, 2009). La compartimentation vacuolaire devrait aussi concerner ces ions Cl<sup>-</sup> afin d'éviter leur effet toxique. En 1996, Hechenberger et *al.*, ont démontré l'implication des canaux chlorures CLC dans le mécanisme de compartimentation des ions chlorures à l'intérieure de la vacuole. Les cellules des plantes tolérantes seraient alors capables d'accumuler dans leurs vacuoles des concentrations en Cl<sup>-</sup> qui peuvent atteindre 200 à 1000 mMol/L sans exigence énergétique supplémentaire à celle mise à disposition par les pompes à protons vacuolaire (Glenn et *al.*, 1999)

#### ▪ L'exclusion des ions toxiques

L'autre stratégie permettant aux plantes de survivre en condition de stress salin consiste à exclure le sodium du cytoplasme vers l'extérieur de la cellule. Dans ce cas, les plantes limitent l'entrée des éléments salins et les rejettent dans le compartiment apoplasmique (Blumwald et *al.*, 2004 ; Munns, 2005). La régulation qualitative et quantitative du transport des ions permet

de maintenir la concentration ionique dans une gamme de valeurs compatibles avec un métabolisme cellulaire normal. L'exclusion commence avec la sélectivité de la membrane racinaire, ce qui peut résulter d'une réduction de la perméabilité passive, de la présence de transporteurs sélectifs et d'un transport vers le milieu extérieur des ions déjà absorbé (Apse et Blumwald, 2007). Tous ces mécanismes ne sont pas exclusifs, et la résistance des plantes dépend souvent d'une série de mécanismes potentiellement additifs. Ces modifications provoquent une déviation du métabolisme qui entraîne une dépense énergétique. Le facteur limitant peut être la fourniture de carbone, celle d'énergie ou la vitesse de transport des ions ; ces facteurs peuvent interférer avec la concentration en phosphore inorganique nécessaire au transfert de l'énergie (Cornillon et Palloix, 1995). Il existe une corrélation positive entre l'exclusion des sels et la tolérance à la salinité chez plusieurs espèces (Storey et Walker, 1998 ; Lee et *al.*, 2003 ; Munns et James 2003 ; Zhu et *al.*, 2004 ; Munns et *al.*, 2006).

- **L'ajustement ionique**

L'augmentation des concentrations vacuolaires de sodium induit la nécessité et le besoin d'élever la pression osmotique des autres compartiments cellulaires afin de maintenir leur volume (Amtmann et Leigh, 2010). Quoique la synthèse et l'accumulation de composés solubles compatibles contribue au maintien de la croissance cellulaire en conditions de stress ionique, les plantes ont développé d'autres moyens non moins efficaces tels que l'ajustement ionique afin de réduire et d'équilibrer la concentration d'ions dans le but d'ajuster la pression osmotique au niveau du cytoplasme (Sairam et Tyagi, 2004 ; Shabala et cuin, 2008). Ce dernier objectif peut être assuré par une augmentation des concentrations de potassium, outre celle des composés osmotiques compatibles (Munns et Tester, 2008). En outre, le potassium joue un rôle également dans le contrôle de la turgescence cellulaire (Sairam et Tyagi, 2004). Afin de préserver les réactions métaboliques et de maintenir un rapport K/Na viable, les cellules végétales doivent ajuster leur teneur en potassium entre 100 et 200 mMol/L (Maathuis et Amtmann, 1999). Le rapport K/Na va dépendre de l'action conjuguée des différents systèmes de transport situés au niveau des membranes plasmiques et vacuolaire et impliquant les voies plus ou moins sélectives des ions  $K^+$  et  $Na^+$  (Maathuis et Amtmann, 1999 ; Shabala et Cuin, 2008 ; Amtmann et Leigh, 2010).

Les étapes clés du processus global d'absorption, de transport et de distribution de ces ions sont définies et déterminées au niveau des points suivants : (i) l'interface sol-racine au niveau duquel va se dérouler l'entrée des ions puis leur transport via les voies symplastique et apoplasmique, (ii) l'interface cortex racinaire-xylème médullaire à travers lequel a lieu le transfert puis la translocation des ions vers la partie aérienne, (iii) la répartition des ions aux niveaux tissulaire (p. ex. feuilles adultes versus feuilles jeunes) et cellulaire (compartmentation vacuolaire) ces mouvements et flux d'ions sont assurés par des transporteurs et canaux ioniques (Maathuis et Amtmann, 1999 ; Shabala et Cuin, 2008).

### 3.2. Stratégie osmotique

#### ▪ Osmorégulation et osmoprotection

L'ajustement osmotique ou l'osmorégulation est la clé d'adaptation des plantes au niveau cellulaire pour minimiser les effets du stress hydrique dû à la salinité durant la première phase du stress salin (Greenway et Munns 1980 ; Hoque et *al.*, 2007), et ce phénomène est considéré comme un important mécanisme de tolérance à la salinité chez la plante (Neocleous et Vasilakakis, 2007). Il requiert l'accumulation d'une gamme de molécules/ions à activité osmotique notamment les sucres solubles, la proline, la glycine bêtaïne, le calcium, le potassium etc. Ces molécules protègent la plante des différents stress environnementaux en maintenant l'équilibre osmotique et en stabilisant les membranes et les protéines (Hasegawa et *al.*, 2000).

Durant les conditions du stress les plantes ont besoin de maintenir un potentiel hydrique interne inférieur à celui du sol pour maintenir la turgescence et l'absorption de l'eau pour la croissance (Tester et Davenport, 2003)

Pour rétablir l'équilibre ionique dans les vacuoles, le cytoplasme accumule des composés à faibles poids moléculaire : les solutés compatibles, ces derniers n'interfèrent pas dans les réactions biochimiques (Zhifang et Loescher, 2003). Cependant certains osmolytes compatibles sont des éléments essentiels, comme le K<sup>+</sup>, mais la majorité sont des composés organiques (Yokoi et *al.*, 2002).

### ❖ Glucides

De nombreuses études physiologiques suggèrent que sous des conditions salines, des glucides non structuraux (saccharoses, hexoses et polyols : sucres alcools ou alditols) sont accumulés à des degrés divers selon les espèces (Streeter et *al.*, 2001 ; Taji et *al.*, 2002).

Les sucres contribuent à hauteur de 50 % du potentiel osmotique total chez les glycophytes soumises à des conditions salines (Cram, 1976). L'accumulation des sucres solubles dans les plantes en réponse à la salinité a été largement reportée, en dépit d'une baisse significative du taux de CO<sub>2</sub> assimilé (Murakeozy et *al.*, 2003). Les glucides comme les sucres (simples) (glucose, fructose, saccharose) s'accumulent sous l'effet du stress (Parida et *al.*, 2002), jouant un rôle prépondérant dans l'osmoprotection, l'ajustement osmotique, le stockage du carbone et le piégeage des radicaux libres.

### ❖ Proline

L'ajustement osmotique est accompli grâce à l'accumulation des solutés compatibles comme la proline. L'accumulation de la proline dans le cytosol contribue considérablement à l'ajustement osmotique dans le cytoplasme (Ketchum et *al.*, 1991). La proline est une molécule très active osmotiquement et contribue à la stabilité de la membrane et atténue les effets du NaCl sur la rupture membranaire (Mansour, 1998). Même à des concentrations supra-optimales la proline ne supprime pas l'activité enzymatique. La proline peut agir comme une molécule signal/régulatrice capable d'activer de multiples réponses faisant partie du processus d'adaptation (Maggio et *al.*, 2002).

### ❖ Glycine bêtaïne

Les plantes ont développé des stratégies pour atténuer les effets délétères de la salinité à travers la production d'enzymes antioxydantes comme la glycine bêtaïne (GB) (Tavallali et *al.*, 2010). Ce système permet aux plantes de croître dans des conditions salines en maintenant les ROS à un niveau très bas (Masood et *al.*, 2006). Le peroxyde d'hydrogène généré par la salinité peut être piégé par l'enzyme peroxydase (Dionisio-Sese et Tobita, 1998). La capacité des solutés compatibles et de la glycine bêtaïne en particulier et de réguler les flux nets du Na<sup>+</sup> et K<sup>+</sup> à travers la membrane plasmique a été démontrée au niveau cellulaire en réponse au NaCl et au ROS (Cuin et Shabala, 2007).

La glycine bêtaïne est présente davantage dans les chloroplastes où elle joue un rôle vital dans l'ajustement et la protection des membranes des thylakoïdes maintenant ainsi l'efficacité photosynthétique (Genard, 1991). Elle peut jouer le rôle d'un osmoprotecteur protégeant l'altération des cellules due à la déshydratation (Chen et *al.*, 2001).

### ❖ **Protéines**

Chez les plantes supérieures, le stress osmotique induit beaucoup de protéines dans les tissus végétatifs ce sont des protéines late-embryogenesis abundant (LEA) ou les protéines abondantes de l'embryogénèse tardive (Ingram et Bartels, 1996). Elles forment une large famille de protéines hydrophiles et thermorésistantes. De nombreuses protéines LEA sont exprimées en réponse à l'ABA et à différents stress (Grelet, 2004). La corrélation entre l'accumulation des protéines LEA dans les tissus végétatifs et le stress salin indiquent leur rôle protecteur dans la déshydratation provoquée par le stress (Ingram et Bartels, 1996).

Bien que les causes de l'induction de ces protéines ne soient pas encore bien déterminées, des changements conformationnels des facteurs de transcription ou des protéines membranaires intégrales dus à la perte d'eau ont été suggérés (Caramelo et Iusem, 2009). Les LEA protègent particulièrement les membranes mitochondriales contre les dommages de déshydratation (Tolleter et *al.*, 2010).

### ▪ **La synthèse des anti-oxydants**

Les formes actives d'oxygène, telle que le peroxyde d'oxygène ( $H_2O_2$ ), les radicaux superoxydes ( $O_2^-$ ) et hydroxyl ( $HO^\cdot$ ), sont produites au cours des processus cellulaires aérobies et de façon plus accrue suite au stress abiotiques, notamment la salinité (Foyer et Noctor, 2000 ; Hernández et *al.*, 2001 ; Appel et Hirt, 2004 ; Tausz et *al.*, 2004, Logan, 2008 ; Brosché et *al.*, 2010). Ces composés, lorsqu'ils sont accumulés en faible quantité, peuvent servir de signal pour induire l'expression de gènes de réponse et de défense cellulaires (Parent et *al.*, 2008). Plus de 150 gènes ont été recensés chez *Arabidopsis* pour être impliqués dans le réseau complexe de détoxification (Mittler et *al.*, 2004). La production excessive de ces composés provoque des dégâts oxydatifs, et ils deviennent toxiques pour la cellule (Mahajan et *al.*, 2008).

Le radical hydroxyle, par exemple risque d'endommager les structures chlorophylliennes, protéiques, nucléiques et lipidiques, et par conséquent entraver le métabolisme cellulaire, la physiologie de la plante et finalement la croissance et le rendement (Frankle, 1984 ; Imlay et Linn, 1988). Par conséquent la plante doit constamment déployer ses mécanismes de défense pour pallier ces dommages. De ce fait, et afin d'éliminer ces formes actives d'oxygène, les plantes possèdent des anti-oxydants ( de nature non enzymatique) de faible masse moléculaire, tels que les composés phénoliques, les flavonoïdes, les anthocyanes, et l'acide ascorbique (Ashraf, 2009), mais aussi, elles emploient une vaste panoplie d'enzymes, telles que la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT), l'ascorbate peroxydase (APX), la glutathion S-transférase (GST) et la glutathion peroxydase (GPX) (Noctor et Foyer, 1998 ; Blumwald et *al.*, 2004 ; Sairam et Tyagi, 2004 ; Munns, 2005 ; Türkan et Demiral, 2009 ; Ksouri et *al.*, 2010).

L'acide ascorbique (vitamine C) est l'anti-oxydant le plus abondant dans la nature et probablement le plus puissant composé de détoxification des formes actives d'oxygène (Ashraf, 2009). Les caroténoïdes qui sont des composés organiques lipophiles situés dans les chloroplastes jouent également un rôle dans la prévention de la formation d'oxygène singulet par dissipation de l'état triplet des molécules chlorophylle (Ashraf, 2009). Les flavonoïdes qui sont des glycosides localisés dans la vacuole affichent aussi une activité anti-oxydante (Nijveldt et *al.*, 2001). En plus de ces anti-oxydants non enzymatiques, il existe d'autres métabolites ayant des propriétés antioxydantes, tels que les alcaloïdes, les acides phénoliques, les diterpènes, et les acides aminés, mais leur fonction exacte au niveau du mécanisme de détoxification cellulaire est encore mal définie (Ashraf, 2009).

#### **4. Métabolisme végétal primaire et secondaire face au stress**

Les plantes sont de véritables usines chimiques. À partir de molécules très simples comme le dioxyde de carbone, l'eau, les ions nitrate, phosphate et sulfate, elles sont capables de synthétiser en utilisant l'énergie solaire toute une multitude de composés plus ou moins complexes (Morot-Gaudry et *al.*, 2009).

La capacité des plantes à tolérer le stress salin est déterminée par de multiples voies biochimiques qui facilitent la rétention et ou l'acquisition de l'eau, protègent les chloroplastes et maintiennent l'homéostasie ionique (Parvaiz et Satyawati, 2008).

Les principales voies sont celles responsables de la synthèse des métabolites osmotiquement actives, des protéines spécifiques et des molécules antioxydantes, pouvant assurer le control du flux de l'eau et des ions et le piégeage des radicaux d'oxygène (Parvaiz et Satyawati, 2008).

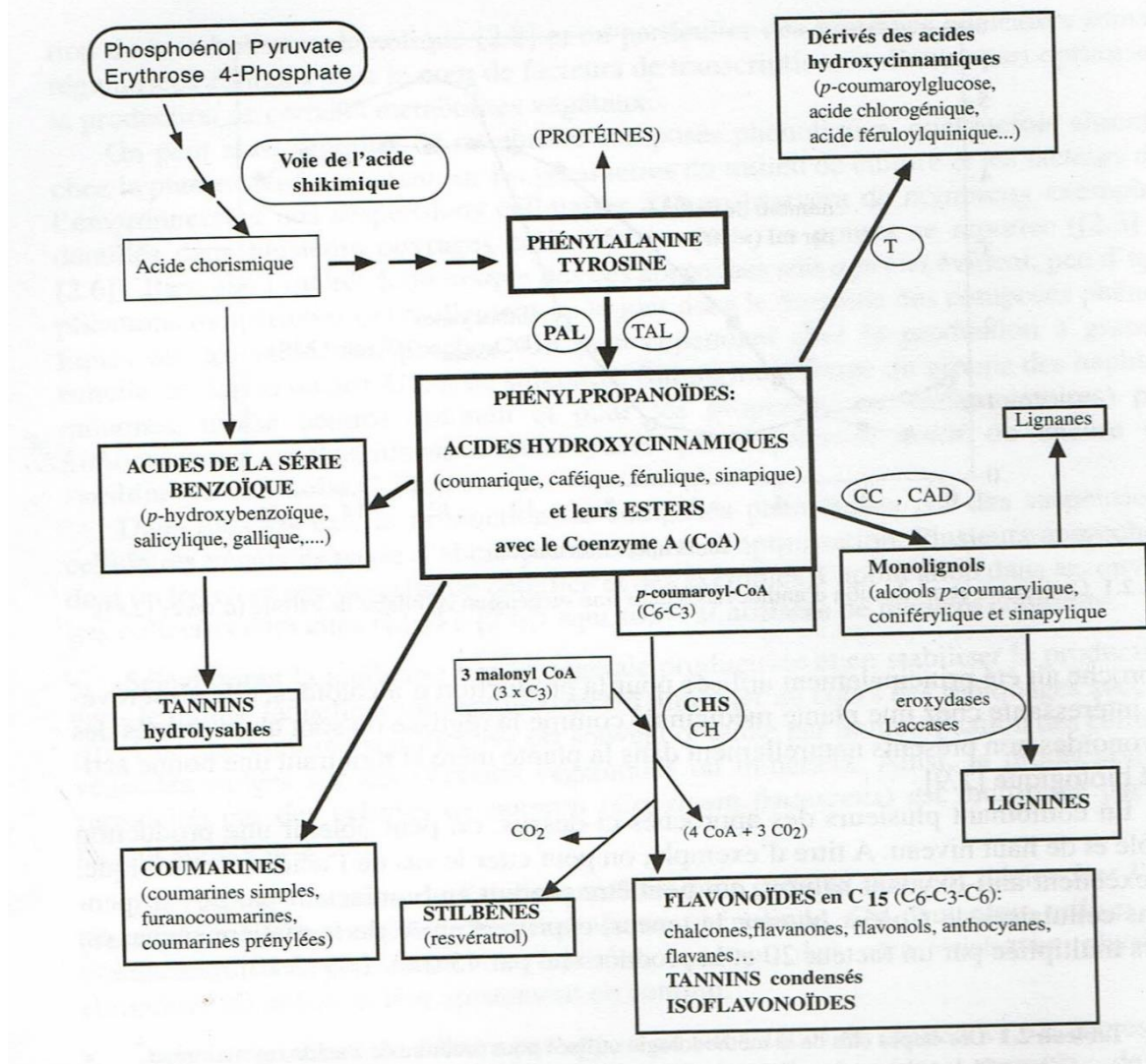
On distingue communément les métabolites primaires et les métabolites secondaires.

**Les métabolites primaires** sont produits généralement en grande quantité mais représentés par un petit nombre de molécules (glucides simples, acides aminés, organiques et nucléiques, acides gras). La majorité des métabolites primaires sont issus directement soit de la photosynthèse, soit du métabolisme oxydatif (glycolyse, respiration, etc.), et sont à l'origine des sucres polymérisés, des protéines et des lipides (Morot-Gaudry et *al.*, 2009).

**Les métabolites secondaires** sont le fruit d'un métabolisme complexe. Ils sont synthétisés en réponse aux contraintes de l'environnement et permettent à la plante de se défendre contre les pathogènes ou des prédateurs, etc. Ils appartiennent à trois familles de composés : les terpènes, les composés phénoliques et les alcaloïdes (Morot-Gaudry et *al.*, 2009).

#### **4.1. Les composés phénoliques**

Les composés phénoliques représentent une famille de composés végétaux importants qui sont synthétisés à partir de deux acides aminés aromatiques, phénylalanine et tyrosine. Ils sont eux même formés à partir de sucres simples issus du métabolisme primaire, par la voie bien connue de l'acide shikimique (Figure 2) (Macheix *et al.*, 2005)

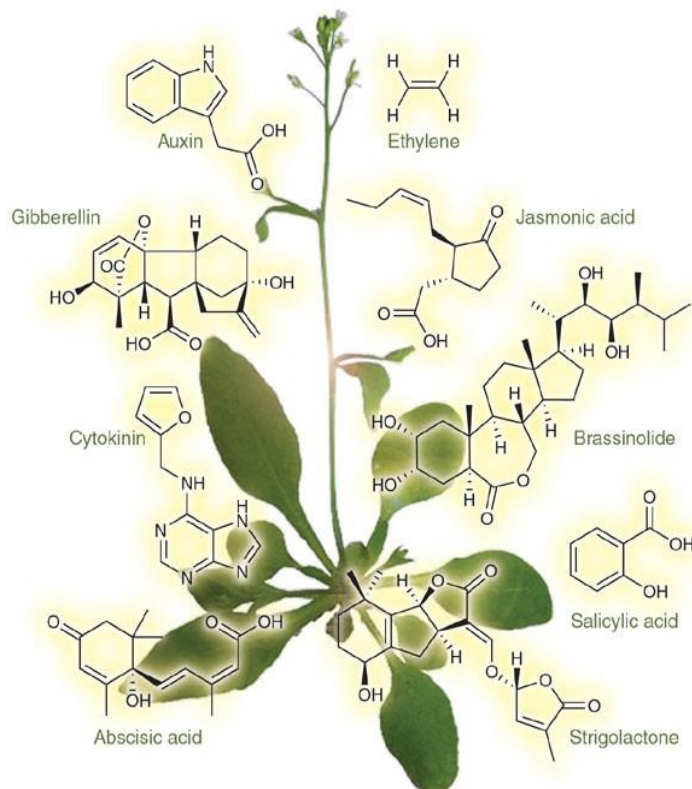


**Figure 2 :** les grandes lignes de la biosynthèse des principaux groupes de composés phénolique (Macheix *et al.*, 2005). **PAL** : phénylalanine ammonialyase ; **TAL** : tyrosine ammonialyase ; **CCR** : cinnamate CoA réductase ; **CAD** : cinnamyl alcool déshydrogénase ; **CHS** : chalcone synthase ; **CHI** : chalcone flavanone isomérase ; **PPO** : polyphénoloxydases ; **POD** : peroxydases ; **LACC** : laccases.

## 4.2. Les phytohormones

Les hormones végétales, encore appelées phytohormones, sont des substances organiques naturelles qui, agissant à faible concentrations, influencent l'ensemble des processus physiologiques de croissance, de différenciation et de développement des plantes et leur confèrent leur capacité d'adaptation aux variations des conditions de l'environnement (Morot-Gaudry *et al.*, 2009).

On en distingue les phytohormones dites de croissance dont l'auxine, les cytokinines, les gibbérellines et les brassinostéroïdes, et les phytohormones de stress comme l'acide abscissique, l'acide jasmonique, l'éthylène et l'acide salicylique qui sont impliqués dans les réponses aux contraintes biotiques ou abiotiques et qui peuvent néanmoins intervenir dans le contrôle d'étapes essentielles du développement de la plante (Morot-Gaudry *et al.*, 2009).



**Figure 3** : Structures chimiques des différentes phytohormones (Santner *et al.*, 2009)

#### • Mode d'action des phytohormones

Une phytohormone peut avoir des effets distincts voire opposés sur une même réponse en fonction de la concentration (Morot-Gaudry *et al.*, 2009).

Toute hormone est perçue par un récepteur spécifique conduisant à une réponse mesurable ou observable. Après perception par un récepteur, une cascade d'évènements, appelée cascade de transduction, se traduit le plus souvent par diverses modifications (flux d'ions, phosphorylations, libération de calcium...) et aboutit souvent à une modification de

l'expression des gènes. Ces gènes codent des protéines qui selon leur fonction vont à leur tour agir sur d'autres cibles, et ainsi de suite pour aboutir à une ou des réponses cellulaires coordonnées (Morot-Gaudry et *al.*, 2009).

#### **4.2.1. Acide salicylique (AS)**

L'acide salicylique (AS) est un composé phénolique naturel synthétisé par les plantes. Il joue un rôle clé dans la régulation de la croissance des plantes, le développement, les interactions avec les autres organismes et les réponses aux stress environnementaux (Dempsey et *al.*, 1999)

L'acide salicylique peut intervenir directement, au même titre que les autres composés phénoliques, dans la résistance des plantes aux stress, comme il joue simultanément le rôle de messenger intracellulaire déclenchant l'induction de l'ensemble des mécanismes qui permettent à la plante de se défendre vis-à-vis des stress. (Macheix et *al.*, 2005)

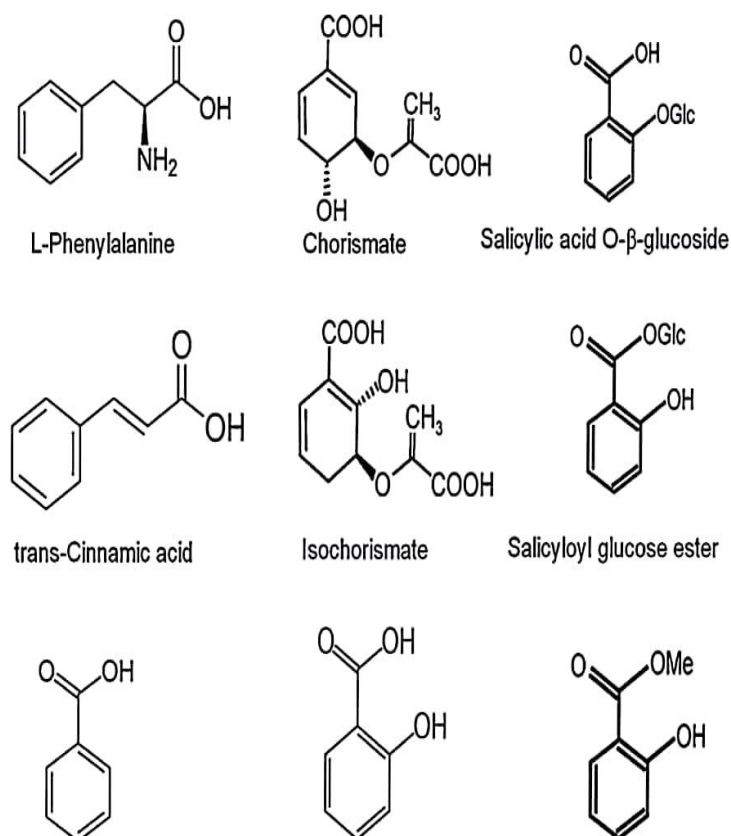
##### **4.2.1.1. La biosynthèse de l'acide salicylique**

L'acide salicylique est synthétisé via deux voies différentes (Figure 4) : la voie du phénylalanine ammonia-lyase et la voie de l'isochromate.

La voie de la phénylalanine a lieu dans le cytoplasme, l'acide salicylique est synthétisé à partir de la phénylalanine après une série de réactions. D'abord, l'acide trans-cinnamique est produit à partir du phénylalanine grâce à l'action du phénylalanine ammonia lyase (PAL). L'acide trans-cinnamique est ensuite converti en acide benzoïque (Horvath et *al.*, 2007 ; Mustapha et *al.*, 2009), la conversion de l'acide benzoïque en acide salicylique est catalysée par l'acide benzoïque-2-hydroxylase (AB2H). Il a été suggéré que la voie de la phénylalanine est à l'origine de l'élévation chez les plantes de l'acide salicylique endogène pendant le stress salin (Sawada et *al.*, 2006)

La voie de l'isochromate se déroule dans les chloroplastes, l'acide salicylique est produit à partir du chorismate via l'isochorismate comme produit intermédiaire dans un processus à deux étapes impliquant l'isochorismate synthase (ICS) et l'isochorismate pyruvate lyase (IPL)

(Verberne et *al.*, 2000). Ogawa et *al* (2005) a démontré que la biosynthèse de l'acide salicylique via la voie de l'isochorismate est cruciale pour la tolérance des plantes aux stress abiotiques.



**Figure 4 :** Structures chimiques des composés phénoliques participants dans la biosynthèse et le métabolisme de l'acide salicylique (l'acide o-hydroxybenzoïque) (Jayakannan et *al.*, 2015)

#### 4.2.1.2. Le transport de l'acide salicylique dans la plante

- **Transport long-distance**

L'acide salicylique induit la résistance systémique acquise (RSA) dans la plante et doit être transporté aux autres parties de la plante, ce transport a lieu dans le phloème (Molders et *al.*, 1996) et peut être détecté au bout de quelques minutes après l'application/induction (Ohashi et *al.*, 2004). La forme méthylée de l'acide salicylique est la seule capable de (migrer dans les

tissus) traverser localement et systématiquement les tissus suite à une attaque des pathogènes (Seskar et *al.*, 1998). Elle est également la seule à être capable à traverser la cuticule par diffusion indépendamment du pH de cette dernière (Niederl et *al.*, 1998). Etant donné que la forme méthylée est biologiquement inactive, elle n'active aucune réponse de défense systémique au cours de son transport (migration).

- **Transport intracellulaire**

Une fois synthétisé, l'acide salicylique peut être transporté à l'intérieur ou en dehors des cellules, tissus et organes (Kawano et *al.*, 2004). La forme volatile (MeSA) se déplace entre les cellules par diffusion (Shulaev et *al.*, 1997) tandis que la forme (SA) se déplace à l'intérieur de la cellule, à travers le tonoplaste et les différents organites grâce à de multiples transporteurs membranaires (Dean et *al.*, 2005).

#### **4.2.1.3 Les processus physiologiques contrôlés par l'acide salicylique durant le stress salin**

##### **a. La germination**

Des études ont suggéré que la synthèse et l'accumulation de l'acide salicylique sont vitales pour la germination des graines, notamment durant le stress salin. D'autres études ont par contre montré que l'acide salicylique inhibe la germination des graines du maïs (Guan et Scandalios, 1995) et de l'orge (Xie et *al.*, 2007) en fonction de la dose appliquée. Cette divergence dans les résultats peut être attribuée à la concentration de l'acide salicylique utilisée dans ces études. Un apport exogène de moins de 50  $\mu\text{M}$  d'AS a réduit l'effet inhibiteur du stress salin sur la germination, alors qu'une concentration d'AS excédant 100  $\mu\text{M}$  a renforcé l'effet inhibiteur du sel (Lee et *al.*, 2010).

Il a été suggéré que la régulation des ROS est le mécanisme par lequel l'acide salicylique module la germination pendant le stress salin (Lee et *al.*, 2010). Ceci pourrait être vrai, car en réponse aux divers stress biotiques et abiotiques,  $\text{H}_2\text{O}_2$  provoque l'accumulation de l'AS (Shirasu et *al.*, 1997 ; Rao et Davis, 1999).

### **b. La croissance**

L'effet de l'apport exogène de l'acide salicylique sur la croissance dépend de la concentration apportée et de l'espèce. Des concentrations relativement basses (moins de 100  $\mu\text{M}$ ) augmentent la croissance de nombreuses espèces de plantes, cependant des concentrations relativement élevées la réduisent (Rivas-San Vicente et Placencia, 2011). Une altération d'autres hormones (Shakirova, 2003) et/ou la photosynthèse, la transpiration et la conductance stomatique (Stevens et *al.*, 2006) a été suggérée comme étant à l'origine des phénomènes précités.

### **c. La photosynthèse et la transpiration**

L'effet de l'AS exogène sur la photosynthèse varie en fonction de la concentration appliquée (Ashraf et *al.*, 2010). De faibles concentrations (inférieur à 10  $\mu\text{M}$ ) préviennent la baisse du taux de la photosynthèse la fixation du carbone, la transpiration et la conductance stomatique ainsi que l'activité anti-oxydante chez de nombreuses espèces (Stevens et *al.*, 2006 ; Nazar et *al.*, 2011). Un effet opposé est noté lorsque des concentrations élevées d'AS sont appliquées (1-5 mM), la photosynthèse nette est réduite ainsi que la concentration de chlorophylle, ce qui aboutit à une augmentation du volume des chloroplastes, le gonflement des thylakoïdes et la coagulation du stroma (Uzunova et Popova, 2000).

### **d. L'acquisition des nutriments**

L'application exogène de l'AS est connue pour améliorer les effets de la salinité. Quelques études ont suggéré que le maintien d'un ratio optimal  $\text{k}^+/\text{Na}^+$  sous conditions salines est à l'origine de la tolérance des plantes à la salinité (Ashraf et *al.*, 2010). L'AS diminue l'absorption du  $\text{Na}^+$  et augmente les concentrations de  $\text{k}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ , P et S dans les tissus de nombreuses espèces de plantes (Gunes et *al.*, 2005 ; Nazar et *al.*, 2011). Cependant des résultats contradictoires ont été observés dans d'autres études, l'AS a diminué les concentrations de  $\text{K}^+$  et P dans les tiges et les racines des plantules de maïs (Gunes et *al.*, 2007) et de l'orge (El Tayeb, 2005) dans des conditions salines. De ce fait, le rôle de l'acide salicylique dans le maintien de l'homéostasie ionique demeure très peu connu.

## **Chapitre II**

---

# **Notions générales et situation de la culture des légumineuses et de la fève (*Vicia faba* L.) en Algérie**

---

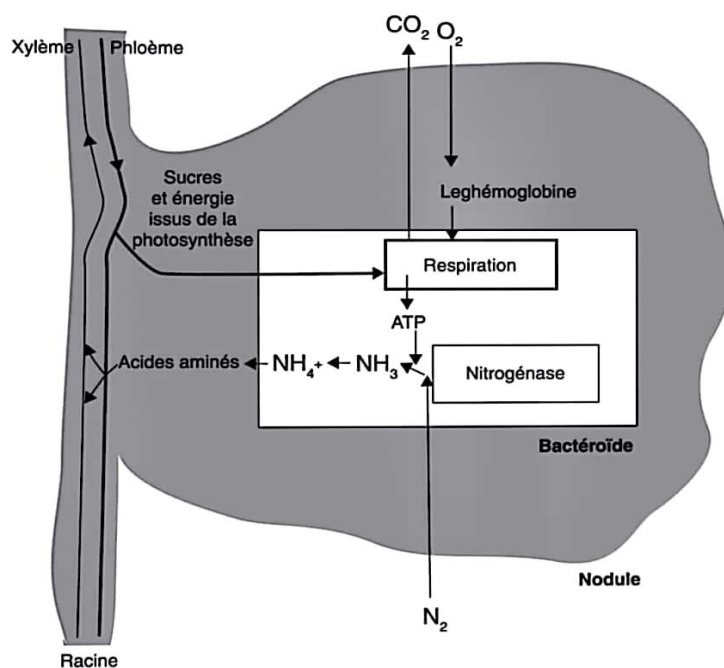
## Chapitre II : Notions générales et situation de la culture des légumineuses et de la fève (*Vicia faba* L.) en Algérie

### 1. Les légumineuses

Les légumineuses sont des plantes dicotylédones appartenant à la famille botanique des Fabacées, qui représente la troisième famille de plante par le nombre d'espèces (à savoir 18 000 référencées), après les Composées (Astéracées) et les Orchidées. La plupart des légumineuses cultivées appartiennent à une des sous familles (les faboideae ou papilionoideae) et plus précisément aux tribus des fabeae, des phadeoleae et des trifolieae (Schneider et Huyghe, 2015).

Les légumineuses sont caractérisées par :

- des fleurs papilionacées (en forme de papillon) pour la plupart des espèces cultivées,
- une gousse contenant des graines (la gousse étant le fruit issu de l'ovaire de la fleur),
- et pour la majorité des membres de cette famille, la capacité d'utiliser l'azote atmosphérique ( $N_2$ ) pour produire ses propres composants protéiques. Cette capacité est permise par la symbiose avec des bactéries du sol fixatrices de l'azote au sein d'organes spécialisés (les nodules) qui se développent sur les racines (Figure 5) (Schneider et Huyghe, 2015).



**Figure 5 :** La symbiose : des échanges réciproques de nutriments entre la plante et le rhizobium hébergé et transformé en bactéroïde dans le nodule (Schneider et Huyghe, 2015)

## 1.2. La fixation symbiotique de l'azote

De même que le carbone (C), l'azote (N) est un des éléments majeurs constituant les composants cellulaires nécessaires à la vie (notamment les acides nucléiques et les protéines indispensables à la reproduction et à la croissance). Seules certaines familles d'êtres vivants peuvent utiliser directement l'azote gazeux qui est présent dans l'air. Le mécanisme en jeu appelé fixation biologique du diazote N<sub>2</sub> (diazotrophie), est le mécanisme principal permettant l'introduction d'azote dans la biosphère. La fixation biologique de l'azote est un processus métabolique exclusivement réalisé par les organismes procaryotes : certaines bactéries et cyanobactéries libres dans le sol ou l'eau, et les bactéries symbiotiques des légumineuses (Schneider et Huyghe, 2015).

Dans le monde végétal, les légumineuses ont la capacité de mettre en place une symbiose avec certaines bactéries naturellement existantes dans le sol et qui convertissent l'azote de l'air (N<sub>2</sub>), présent dans leur environnement, en une forme intermédiaire (ammonium NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) qui est alors assimilable par la plante pour constituer les molécules organiques (notamment les protéines) (Figure 5). Cette symbiose naturelle permet à la plante d'utiliser directement l'azote de l'air environnant pour sa croissance. Ainsi, à de rares exceptions près comme la culture de haricots, il n'est pas nécessaire de fertiliser les cultures de légumineuses (Schneider et Huyghe, 2015).

## 1.3. Les légumineuses en Algérie

En Algérie, les légumineuses alimentaires occupent en termes de superficie, la troisième place après les céréales et les fourrages (Rahmani, 2018). Les espèces les plus cultivées sont dans l'ordre : la fève (*Vicia faba* L.), le pois chiche (*Cicer arietinum* L.), le pois (*Pisum sativum* L.), les lentilles (*Lens culinaris* L.) et le haricot (*Phaseolus vulgaris* L.) (MADR, 2014).

La superficie réservée à la culture des légumineuses est de 85 mille ha répartis principalement dans le plateau du Sersou, Ain Témouchent, Guelma et Médéa. Cette superficie permet de produire 1 million de quintaux toutes espèces confondues soit 35 % des besoins du marché national (APS, 2016).

L'Algérie importe actuellement presque 2 millions de quintaux pour une facture annuelle de 80 millions de dollars. Le secteur de l'agriculture mise sur le développement des légumineuses à travers l'augmentation de la superficie qui leur est affectée, cette dernière devrait être portée à 218 mille ha pour répondre aux besoins prévisionnels qui sont de l'ordre de 2 millions de quintaux (ITGC, 2016).

L'alimentation traditionnelle algérienne réserve une place de choix aux protéines végétales, les légumineuses accompagnent tous les plats traditionnels, dont le plat national « le couscous » où sont associés blé dur et pois chiches et ou fèves fraîches (Belaïd, 2018).

Le comportement alimentaire des algériens est actuellement fortement influencé par le modèle de consommation occidental qui accorde une part prédominante aux protéines d'origine animale. Or le niveau de vie ne permet pas à toute la population de consommer régulièrement des produits animaux pour assurer le besoin journalier en protéines, d'où l'intérêt de réintégrer les légumineuses dans l'alimentation quotidienne (Belaïd, 2018).

Les conditions semi-arides du milieu en Algérie ne permettent pas de fournir des protéines animales en quantités requises, car leur production consomme d'énormes quantités d'eau, 15 mille litre d'eau sont nécessaires pour produire 1 kg de viande de bœuf, 4000 litres pour 1 kg de viande de poulet et seulement quelques centaines de litre pour 1 kg de légumineuses (Belaïd, 2018). La capacité du secteur agricole à produire des légumineuses est bien meilleure d'autant plus que sur le plan environnemental, les légumineuses contribuent à fertiliser le sol via la fixation symbiotique de l'azote et l'augmentation de l'activité et de la diversité microbienne des sols.

#### **1.4 Les bienfaits des légumineuses sur la santé humaine**

Les légumineuses sont riches en antioxydants et autres composés phytochimiques bioactives qui préviennent des maladies comme les cancers du sein et de la prostate. Elles renferment des phyto-œstrogènes qui renforcent les facultés cognitives, protègent les os et diminuent les symptômes de la ménopause. Une consommation régulière de légumineuses réduit le risque de développer des maladies cardiovasculaires, grâce à leur forte teneur en potassium qui réduit la pression sanguine. Elles sont également riches en fibres responsables de la régulation des taux du sucre et du cholestérol sanguins, en plus de faciliter la digestion et le

transit intestinal. Elles contiennent également de la vitamine B9 (acide folique), importante pour : le système nerveux, la synthèse de l'ADN, ARN et des globules rouges, les personnes qui en manquent risquent de développer des dépressions, des maladies cardiaques, des problèmes d'ouïe et de vision avec l'âge. Elles constituent une excellente source de protéines non contaminées par les hormones et les antibiotiques présents dans les viandes issues des élevages industriels (FAO, 2016).

### 1.5. La fève (*Vicia faba* L.)

La fève est une légumineuse appartenant au genre *Vicia faba* L. C'est une plante potagère annuelle de la famille des Fabacées (El Habib, 2011). Elle est l'une des légumineuses les plus anciennement cultivées dans le monde (Tanno et Willcox, 2006). Son origine géographique n'est pas connue tant on a retrouvé ses traces partout dans le monde : 7000 ans avant notre ère en Thaïlande et au Mexique, 3000 ans plus tard au proche orient. La fève était également cultivée à l'époque biblique par les hébreux, les égyptiens, les grecs et les romains (Pelt, 2004).

#### 1.5.1. Les valeurs nutritives de la fève (*Vicia faba* L.)

La fève (*Vicia faba* L.) est une importante plante alimentaire, elle compte parmi les plantes les plus nourrissantes (Tableau 1).

**Tableau 1** : Valeurs nutritives de la fève (*Vicia faba* L.) pour 100 g de graines sèches (FAO, 2016).

Energie (Kcal)	Protéine (g)	Matière grasse (g)	Fibres (g)	Glucide (g)	Fe (mg)	Mg (mg)	P (mg)	K (mg)	Zn (mg)	Cu (mg)	Vit B9 (µg)
300	26,1	1,8	26,3	31,7	6,1	191	506	1080	3,1	0,82	423

### 1.5.2. Taxonomie et caractéristiques botaniques

#### ▪ Classification

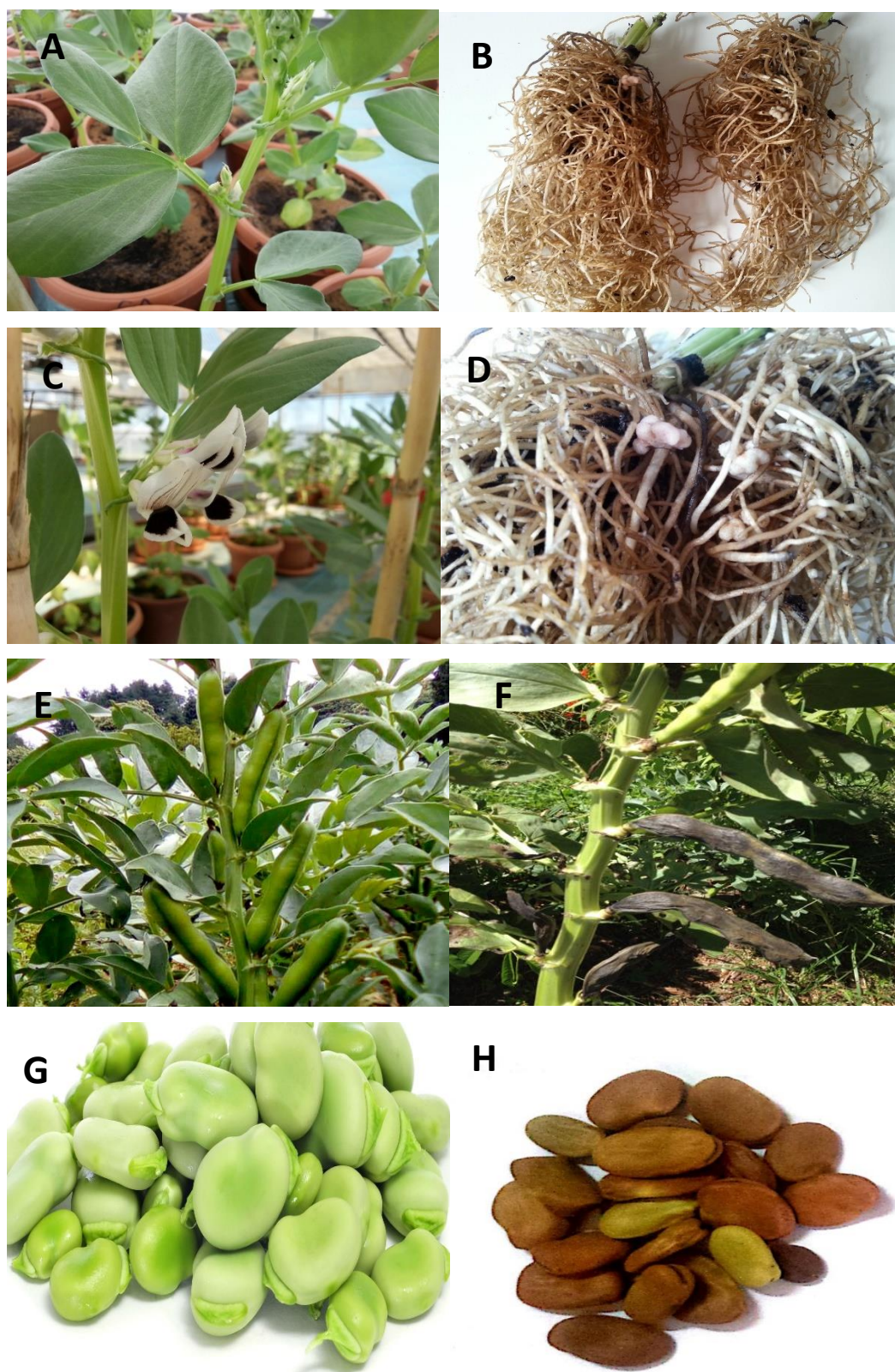
Selon la classification phylogénétique APG III la fève est classée comme suit (Telabotanica, 2020) :

Rang	Nom scientifique
Cladus	Plantae
Cladus	Plasmodesmophytes
Cladus	Embryophytes
Cladus	Stomatophytes
Cladus	Hemitracheophytes
Cladus	Tracheophytes
Cladus	Euphylllophytes
Cladus	Spermatophytes
Cladus	Angiospermes
Cladus	Eudicotyledones
Cladus	Dicotyledones Vraies Supérieures
Cladus	Rosidees
Cladus	Fabidees
Ordre	Fabales
Famille	Fabaceae
Genre	Vicia
Espèce	Vicia faba
Variété	Vicia faba var. equina
Variété	Vicia faba var. minor
Variété	Vicia faba var. faba

### ▪ Description botanique

La fève est une plante annuelle, pouvant atteindre 1,6 m de haut, herbacée dressée et robuste (Chaux et Foury, 1994).

- **Feuilles** : alternes, composées-pennées, constitués de 1-3 paires de folioles très grandes, ovales entières, sans vrille, de couleur vert glauque ou grisâtre. Les stipules larges, dentées et tachées (Chaux et Foury, 1994).
- **Racines** : racine principale pivotante et des racines secondaires portant des nodosités abritant des bactéries fixatrices d'azote (*Rhizobium leguminosarum*), très nombreuses dans les premiers 30 cm du sol (Duc, 1997 ; Chaux et Foury, 1994).
- **Tiges** : fortes, creuses quadrangulaires pouvant dépasser 1m de hauteur (Chaux et Foury, 1994).
- **Fleurs** : blanches avec ailes noires, grandes, 2-5 en petites grappes très brièvement pédonculées, bien plus courte que la feuille, le calice et à dents inégales, les deux supérieures courtes et conniventes (Boyeldieu, 1991).  
Les fleurs sont hermaphrodites et généralement autofertiles, mais allogames pour 40 à 60 % d'entre elles (Chaux et Foury, 1994).
- **Fruits** : gousses longues de 10-20 cm, renflées, charnues, non stipulées, dressées peuvent contenir 4 à 9 graines selon la variété, ridées et noire à la maturité (Brink et Belay 2006).
- **Graines** : charnues, longues de 2-3 cm, ovales-comprimées, à hile linéaire oblong. A maturité, le tégument devient épais et coriace et prend une couleur brune rougeâtre à blanc verdâtre (Duc, 1997).



**Figure 6 :** Morphologie de la fève *Vicia faba* L.

**A.** Feuille. **B.** Racines. **C.** Tige et fleurs. **D.** Nodules. **E.** Gousses immatures. **F.** Gousses matures.  
**G.** Graines fraîches. **H.** Graines séchées.

### 1.5.3. Variétés de la fève (Aoudjit, 2014) :

Il existe plusieurs sous espèces et variétés de *Vicia faba* L. dont on reconnaît essentiellement trois groupes définis par la taille des graines, qui peuvent être petites (variété minor), moyenne (variété equina) ou grosse (variété major). Le terme major désigne la variété que l'on appelle communément « fève » dont la longueur des graines est supérieure à 2 cm, alors que minor correspond à « la féverole » dont la longueur des graines est comprise entre 0,5 et 1,5 cm (Atik, 1999)

### Les principales variétés actuelles :

D'après Chauv et Foury (1994) quatre groupes sont distingués :

- **Variétés très précoces** : on rencontre dans ce groupe le type Mucahniel dont les gousses vert clair contiennent 5 à 6 grains blancs.
- **Variétés précoces** : on rencontre dans ce groupe la variété Seville, à gousse longue, renfermant 5 à 6 grains, plus volumineux que le type précédent, la plante est de hauteur moyenne (70 cm)
- **Variétés demi-précoce** : on y rencontre le type fève d'Aguadulce, elles sont plutôt hautes (1,10 à 1,20 m). Leurs gousses sont vertes, volumineuses et très longues pouvant atteindre 20 à 25 cm, renfermant 07 à 09 grains, c'est une variété très productive.
- **Variétés tardives** : elles ont une hauteur moyenne de 85 cm, elles forment de nombreuses gousses assez fines contenant 4 graines.

### 1.5.4. Exigences de la culture de la fève

#### ➤ Exigences pédologiques

- Eau : l'espèce est très exigeante en humidité du sol, notamment pendant les stades initiaux de son développement (floraison et formation de la gousse) ou elle est très sensible au stress hydrique.
- Sol : elle ne présente pas d'exigence spécifique, cependant elle a une préférence pour les sols sablo-argileux humifiés (Peron, 2006) et un pH neutre légèrement alcalin.

➤ **Exigences climatiques**

- Température : la fève supporte les faibles gelées ne dépassant pas  $-3^{\circ}\text{C}$ , les fortes chaleurs ( $22-25^{\circ}\text{C}$ ) lui sont également néfastes (Chaux et Foury, 1994)
- Lumière : la fève est une plante de jour long, elle exige une importante luminosité (Laumonier, 1979)

### 1.5.5. Les contraintes environnementales de la production de la fève en Algérie

❖ **Contraintes abiotiques** (Saxena, 1991)

- Le gel pendant la floraison qui provoque la mortalité des plantes
- La chaleur pendant le remplissage des gousses
- La salinité qui limite la productivité de la fève
- Le sirocco (vent chaud venant du sud) affectant la production des gousses.
- La sécheresse à différents stades de la croissance

❖ **Contraintes biotiques**

- Taches chocolat : c'est une maladie dont le champignon *Botrytis fabae* en est à l'origine, en formant des lésions brun foncé (Cole et al., 1998)
- Rouille : causé par *Uromyces viciae-fabae*, et conduit à l'affaiblissement des plantes, la diminution du nombre et du remplissage des gousses (Messiaen et al., 1991)
- Mildiou : l'agent responsable est *Peronospora fabae et viciae*, entraînant le nanisme et la déformation de la tige et des feuilles (Chaux et Foury, 1994).
- Anthracnose : causé par *Ascochita fabae*, cette maladie se manifeste par l'éclatement des gousses (Aoudjit, 2014)

---

***PARTIE EXPERIMENTALE***

---

## **Chapitre I**

---

**Evaluation de la réponse phyto-biochimique  
de *V. faba* var. Aguadulce au stress salin  
(NaCl) et (NaCl + CaCl<sub>2</sub>)**

---

## Chapitre I : Evaluation de la réponse phyto-biochimique de *V. faba* var. Aguadulce au stress salin (NaCl) et (NaCl + CaCl<sub>2</sub>)

### 1. Introduction

Le stress salin est dû principalement à l'excès des sels sodiques, notamment les chlorures de sodium (NaCl) (Taie et *al.*, 2013). Cependant de nombreuses études ont démontré que l'application de sels calciques tel que le CaCl<sub>2</sub> peut améliorer significativement les symptômes du stress (Cramer et *al.*, 1990).

Les effets délétères du stress salin sont enregistrés dans la plante entière. Les plantes ont cependant différents processus qui servent à ajuster la pression osmotique et à rétablir l'équilibre ionique pour combattre le stress (Chandna et *al.*, 2013).

Ces processus sont déclenchés suite à une modification dans l'expression des gènes qui à son tour provoque des changements dans le métabolisme de la plante (Chandna et *al.*, 2013).

Dans ce chapitre nous avons étudié l'effet des doses croissantes de NaCl sur l'accumulation des métabolites primaires et secondaires dans les feuilles et racines de la variété Aguadulce de l'espèce *Vicia faba* L., appliquées au moment de la floraison, nous avons également comparé l'effet du stress abiotique au NaCl seul à celui de NaCl additionné de CaCl<sub>2</sub>.

### 2. Matériels et méthodes

#### 2.1. Matériel végétal

Les graines de la variété Aguadulce de la fève (*Vicia faba* L.) ont été obtenues de l'institut national de recherche en agronomie INRA de Sidi Bel Abbes.)



**Figure 7** : Graines de la variété Aguadulce (*Vicia faba* L.)

## 2.2. Conditions de culture

La mise en culture et l'application du stress sont menées selon le protocole proposé par Belkhodja (1996).

### 2.2.1. Germination des graines de la variété Aguadulce (*Vicia faba* L.)

Des graines de taille et de couleur identiques ont été sélectionnées puis désinfectées dans une solution d'hypochlorite de sodium 2%, ensuite rincées plusieurs fois à l'eau distillée avant d'être semées dans des alvéoles contenant du terreau (Figure 8). Les graines sont arrosées régulièrement à l'eau distillée. La germination s'effectue à température ambiante.



**Figure 8 :** Germination des graines d'Aguadulce (*Vicia faba* L.)

### 2.2.2. Empotage et repiquage des plantules d'Aguadulce (*Vicia faba* L.)

Des pots en plastique à fond perforé sont d'abord tapissés d'une fine couche de gravier, ensuite remplis d'environ 5,5 kg de sable mélangé à du terreau dans les proportions volumiques 2/1 respectivement, afin d'assurer un bon drainage et prévenir la compaction. Le sable a été abondamment rincé à l'eau distillée au préalable et séché à l'air libre avant d'être mélangé au terreau.



**Figure 9** : Empotage et repiquage des plantules d'Aguadulce (*Vicia faba* L.)

Lorsque les plantules, ne dépassant pas dix jours, atteignent le stade de 3-4 feuilles, elles sont retirées des alvéoles et transférées dans les pots préalablement préparés à raison de deux plantules par pot.

La culture est réalisée dans des conditions semi-contrôlées avec une plage de température de 10-20 °C et une humidité relative de 70-80 % à la serre de la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université de Sidi Bel Abbas.

### 2.2.3. Irrigation et application du stress

L'arrosage des plantes est effectué uniformément 2 à 3 fois par semaine à 60% de la capacité au champ en alternant eau distillée et solution nutritive de Hoagland diluée au 1/1000<sup>ème</sup> (annexe 1), jusqu'à la floraison des plantes (environ 7 semaines après la germination), stade durant lequel sont appliqués les traitements salins.







Différentes solutions salines sont préparées en diluant les sels ( $\text{NaCl}$ ,  $\text{CaCl}_2$ ) dans la solution nutritive de Hoagland.

Les solutions salines sont appliquées graduellement durant huit jours jusqu'à atteindre la concentration requise afin d'éviter le choc osmotique.

### 2.2.4. Plan expérimental

L'expérimentation est conduite selon un dispositif aléatoire avec trois répétitions pour chaque lot.

Le dispositif expérimental est réparti en 6 lots, le premier lot correspond au groupe **témoin** ne recevant pas de traitement salin. Les cinq lots restants reçoivent les différents traitements salins, les trois premiers reçoivent des concentrations croissantes de NaCl : **T1** : 50 mM, **T2** : 100 mM, **T3** : 200 mM, les deux derniers lots reçoivent des concentrations de NaCl combiné au CaCl<sub>2</sub> : **T4** : 100 mM NaCl + 100 mM de CaCl<sub>2</sub>, **T5** : 100 mM NaCl + 150 mM CaCl<sub>2</sub>.

Traitement	Témoin : Solution nutritive / eau distillée	T1 : 50 mM (NaCl)	T2 : 100 mM (NaCl)	T3 : 200 mM (NaCl)	T4 : 100 mM (NaCl)+ 100 mM (CaCl <sub>2</sub> )	T5 : 100 mM (NaCl)+ 150 mM (CaCl <sub>2</sub> )
Variété Aguadulce						

### 2.2.5. Récolte du matériel végétal

Après deux semaines d'exposition aux différents traitements, les plantes sont délicatement déracinées. La partie souterraine est séparée de la partie aérienne, cette dernière est effeuillée, les feuilles sont mises à sécher à température ambiante à l'abri de la lumière et de l'humidité. La partie souterraine comprenant le système racinaire est soigneusement rincée à l'eau de robinet pour retirer toutes les particules du substrat qui y sont collées (Figure 10), elle est ensuite séchée à l'aide du papier absorbant et remise à sécher au même titre que les feuilles.



**Figure 10 : Récolte et séchage du matériel végétal**

### **2.2.6. Conditionnement du matériel végétal**

Lorsque le poids du matériel végétal est stable indiquant un séchage complet, les différentes parties ou organes de la plante sont conservés séparément à l'abri de la lumière dans des boîtes hermétiques pour les analyses ultérieures.

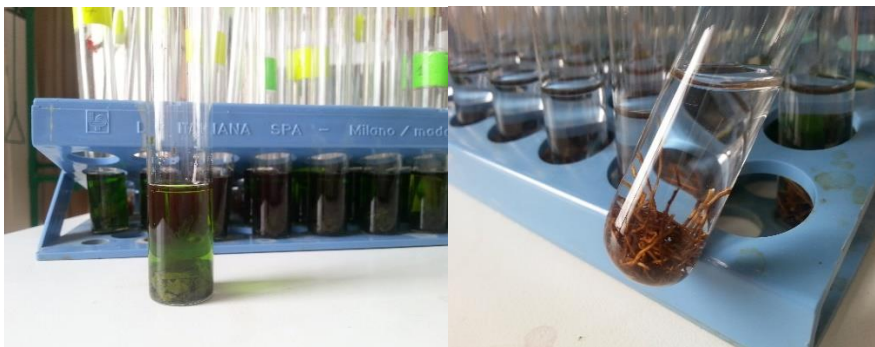
## **2.3. Dosages des composés biochimiques (métabolites primaires)**

### **2.3.1. Détermination de la teneur en sucres totaux**

Les sucres simples, les oligosaccharides, les polysaccharides et leurs dérivés, ayant une fonction réductrice libre ou potentiellement libre donnent une coloration jaune orange quand ils sont traités avec le phénol et l'acide sulfurique concentré.

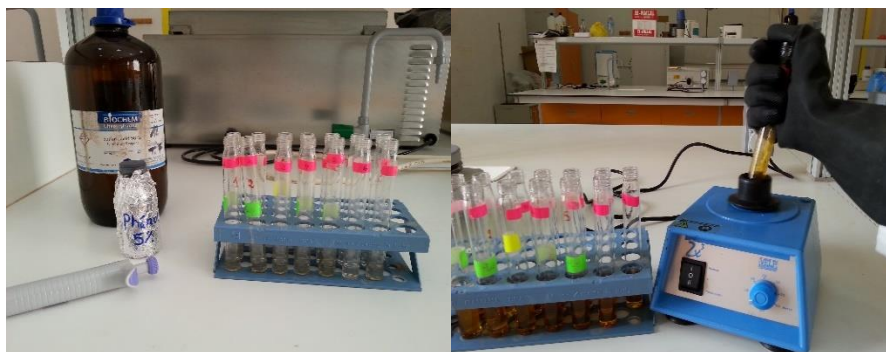
La méthode de Dubois (1956) repose sur cette réaction pour quantifier les glucides et leurs dérivés méthylés, ces derniers sont déshydratés en milieu acide sulfurique à chaud en dérivés du furfural qui se combinent avec le phénol et donnent une coloration jaune orange.

L'extraction des sucres se fait préalablement au dosage, elle est réalisée sur 100 mg de matière végétale (feuilles et racines séparément), une macération dans de l'éthanol 80% est effectuée, au bout de 48 h la solution hydroalcoolique est soumise à une évaporation à l'étuve réglée à 80°C. Après évaporation et refroidissement des tubes, 20 ml d'eau distillée est rajoutés, le tout est bien mélangé pour bien solubiliser les sucres dans l'eau.



**Figure 11 :** Extraction des sucres par macération des feuilles et racines de la variété Aguadulce (*Vicia faba* L.) dans l'éthanol

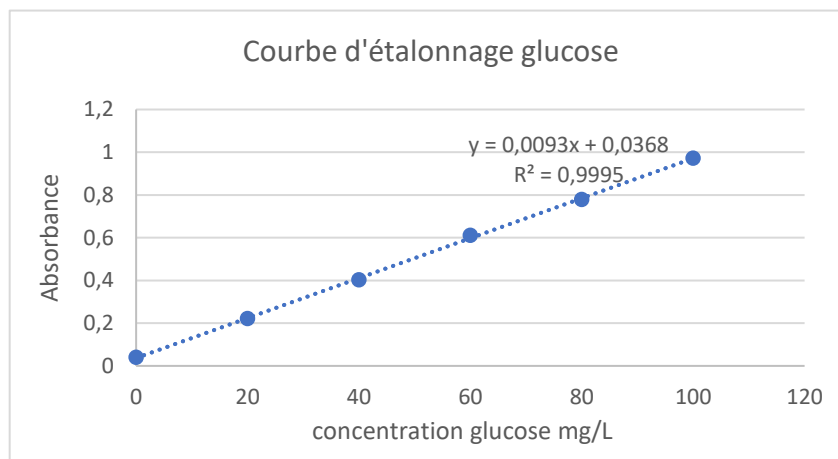
Le dosage est réalisé à partir de 1 ml de la solution obtenue, additionnée de 1 ml de phénol 5% et de 5 ml d'acide sulfurique concentrée, le tout est mélangé au vortex. Après un repos de 10 min, les tubes sont placés dans un bain marie à une température de 30°C pendant 15 min.



**Figure 12 :** Addition du phénol et de l'acide sulfurique à la solution à doser

L'absorbance est déterminée directement par spectrophotomètre à la longueur d'onde 490 nm. Le blanc est constitué de 1 ml d'eau distillée auquel tous les réactifs du dosage sont ajoutés.

La quantification des sucres est réalisée grâce à une courbe étalon établie à partir d'une solution mère de glucose à 1 g/L et qui s'étend de 0 µg/ml à 100 µg/ml (= 0 à 100 mg/L)



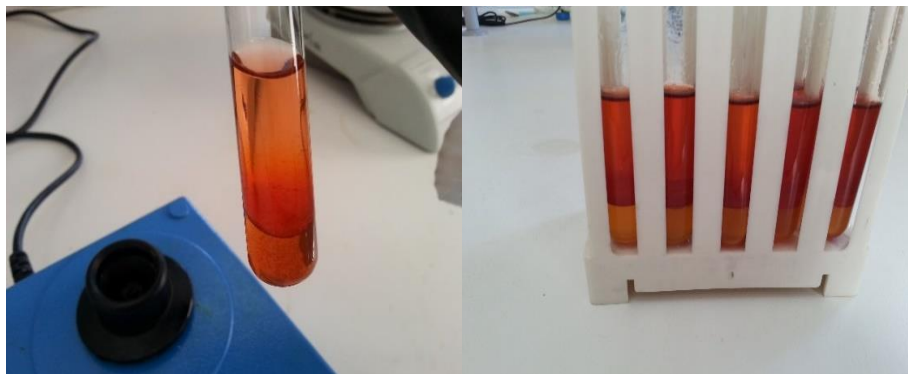
**Figure 13** : Courbe d'étalonnage glucose

### 2.3.2. Dosage de la proline

La proline est dosée en utilisant la méthode de Troll et Lindesly (1955), modifiée par Monneveux et Nemmar (1986). La couleur rouge spécifique résultant de la réaction entre la proline et la ninhydrine dans un milieu acide est utilisée pour la quantification de cet acide aminé (la proline), l'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de proline présente dans l'échantillon.

100 mg de matière végétale sèche (feuilles et racines) est introduite dans des tubes à vis et est additionnée de 5 ml de méthanol à 40%, les tubes fermés pour éviter la volatilisation de l'alcool sont chauffés dans un bain marie à 85 °C pendant 60 min. Après refroidissement, 1ml de l'extrait est prélevé de chaque tube auquel est ajouté 1 ml d'acide acétique (CH<sub>3</sub>COOH), 1 ml d'un mélange contenant : 12 ml d'eau distillée, 30 ml d'acide acétique, 8 ml d'acide ortho-phosphorique (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> densité 1.7) et 25 mg de ninhydrine.

Les tubes sont portés à ébullition au bain marie pendant 30 min, pendant lesquelles la couleur de la solution vire progressivement au rouge. Après refroidissement, 5 ml de toluène y est ajouté et les tubes agités au vortex, deux phases se forment. La phase supérieure qui contient la proline est prélevée et déshydratée par l'adjonction de 5 mg de sulfate de sodium ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhydre).



**Figure 14 :** Apparition de deux phases après l'ajout du toluène

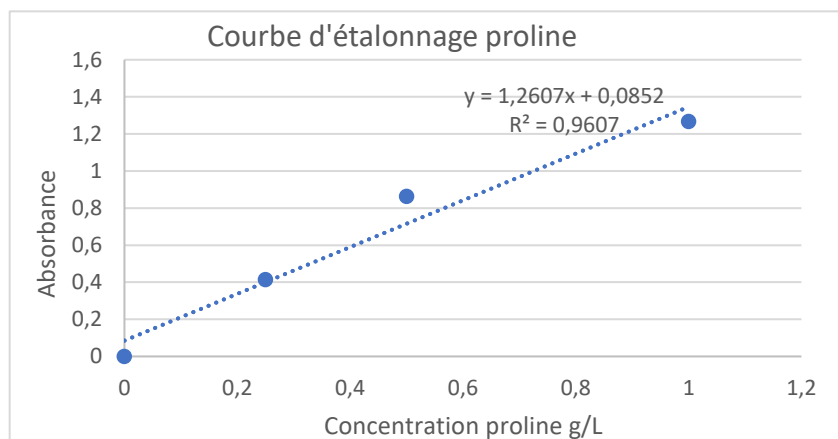
Les tubes sont maintenus au repos pendant 48 h, la densité optique des échantillons est déterminée par un spectrophotomètre à la longueur d'onde 528 nm.

Le blanc est un mélange (acide acétique, eau distillée, acide ortho-phosphorique et ninhydrine)



**Figure 15 :** Lecture de la densité optique au spectrophotomètre

Les concentrations de proline sont déterminées à l'aide d'une courbe étalon réalisée à partir d'une série de solutions de concentrations en proline allant de 0 à 1 mg/ml.



**Figure 16 :** Courbe d'étalonnage proline

### 2.3.3. Détermination de la teneur en protéines totales par la méthode de KJELDAHL

L'azote étant présent dans la matière végétale sous forme minérale et organique, son dosage dans sa totalité passe par la destruction des composés organiques du végétal de manière à obtenir tout l'azote sous une même forme minérale. Ce dernier est dosé par dosage acide base.

#### ➤ Minéralisation

L'azote organique présent dans l'échantillon végétal est transformé en sulfate d'ammonium sous l'action de l'acide sulfurique concentré à chaud et en présence de catalyseurs.



**Figure 17 :** Minéralisation sulfurique de l'azote

➤ **Déplacement et distillation de l'ammoniac**

Le minéralisât obtenu dans l'étape précédente est d'abord alcalinisé dans un excès de soude, l'azote se retrouve ainsi sous forme d'ammoniac (ammonium déplacé en ammoniac), il est ensuite isolé par distillation où il va se dégager sous forme de vapeurs, ces dernières vont être condensées et recueillies dans une solution d'acide borique.



**Figure 18 :** Déplacement et distillation de l'ammoniac

➤ **Dosage de l'azote total**

La solution d'acide borique contenant l'ammoniac est additionnée de quelques gouttes de rouge de méthyle et est rapidement titrée avec une solution d'acide sulfurique 0.1 N. La coloration passe du jaune au rouge.



**Figure 19** : Dosage de l'azote total

➤ **Calcul de la teneur en azote total**

L'azote total est calculé suivant la formule suivante :

$$N (g) = \frac{0.0014 \times V \times 100}{m}$$

V : volume de la solution d'acide sulfurique versée de la burette pendant le titrage

m : la masse en g de la prise d'essai

1 ml d'acide sulfurique (0.1 N) correspond à 0.0014 g d'azote

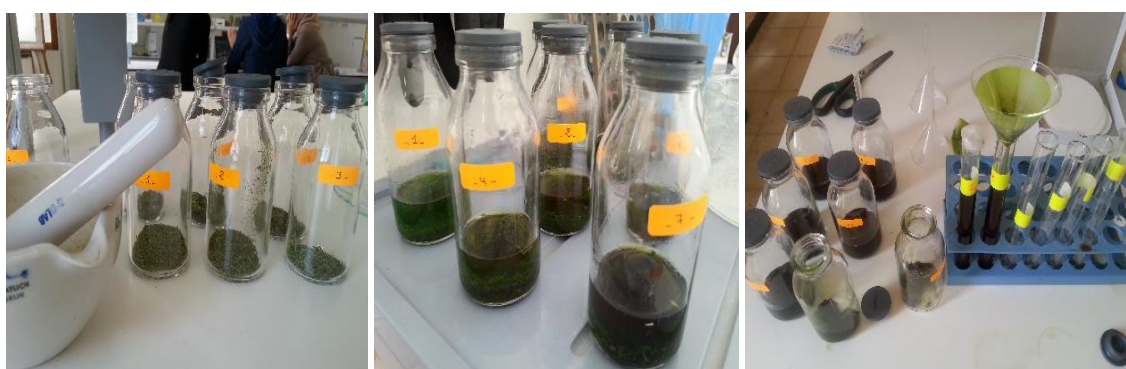
➤ **Calcul de la teneur en protéines**

La teneur en protéines totales est obtenue en multipliant la teneur en azote par le facteur de conversion : 6.25.

## 2.4. Dosage des composés phytochimiques (métabolites secondaires)

### 2.4.1. Extraction des composés phénoliques

L'extraction des composés phénoliques est faite par macération de 3 g de matière végétale sèche broyée (feuilles et racines) dans 30 ml de solvant organique (méthanol 98%) pendant 24 h. Les extraits sont filtrés avec du papier Whatmann N° 1.



**Figure 20 :** Extraction des composés phénoliques des feuilles et des racines de la variété Aguadulce (*Vicia faba* L.)

### 2.4.2. Dosage des polyphénols totaux

Les polyphénols sont dosés par le réactif de Folin-Ciocalteu comme décrit par Singleton et al (1999).

Le réactif de Folin-Ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>) et d'acide phosphomolybdique (H<sub>3</sub>PMO<sub>12</sub>O<sub>40</sub>). Il est réduit lors de l'oxydation des phénols en un complexe stable d'oxydes bleus de tungstène (W<sub>8</sub>O<sub>23</sub>) et de molybdène (Mo<sub>8</sub>O<sub>23</sub>). La coloration produite est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux.

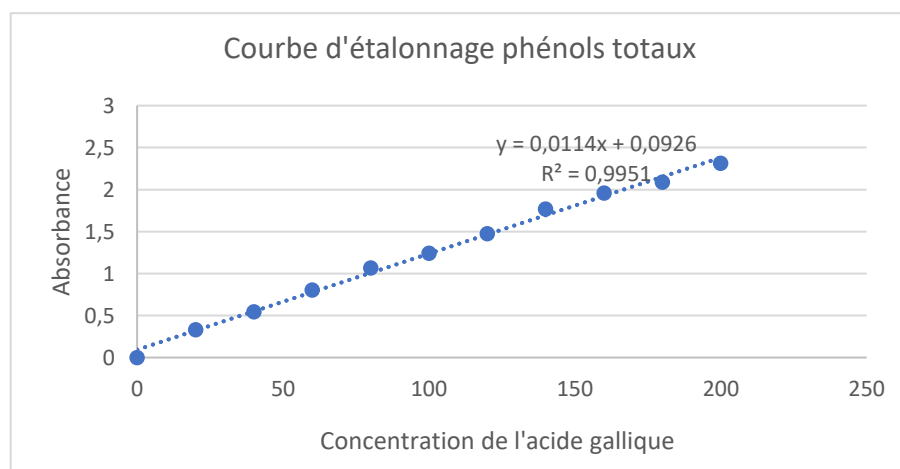
Pour réaliser le dosage, 200 µl de l'extrait alcoolique est additionné de 1mL de réactif de Folin-Ciocalteu (dilué dix fois dans l'eau distillée) et de 0,8 ml de carbonate de sodium (7.5%) afin de pourvoir un milieu alcalin favorisant le déclenchement de la réaction d'oxydo-réduction.

Le tout est agité avant d'être incubé à température ambiante pendant 30 min. L'absorbance est lue au spectrophotomètre à 765 nm contre un blanc.



**Figure 21** : Dosage des polyphénols totaux des feuilles et racines de la variété Aguadulce (*Vicia faba* L.)

Une gamme étalon est réalisée simultanément avec de l'acide gallique de 0 à 200 mg/L, les résultats sont exprimés en mg équivalent acide gallique par g de matière sèche.



**Figure 22** : Courbe d'étalonnage phénols totaux

### 2.4.3. Dosage des flavonoïdes

La quantification des flavonoïdes est réalisée selon la méthode décrite par Zhishen et al. (1999) reposant sur la formation d'un complexe stable de couleur jaunâtre entre les chlorures d'aluminium et les atomes d'oxygène présent sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes et d'un complexe de couleur rose proportionnelle à la quantité des flavonoïdes suite à l'ajout de la soude.

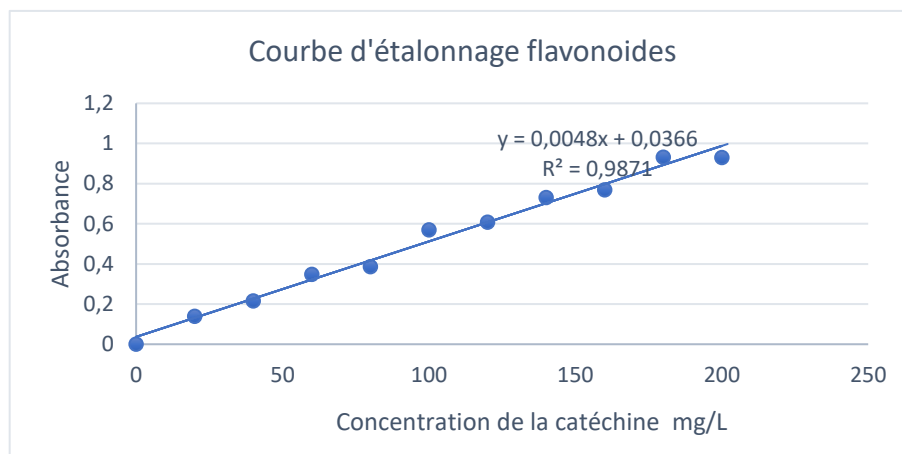
Pour réaliser les dosages, 500 µl de l'extrait est dilué dans 1500 µl d'eau distillée et est additionné de 150 µl de nitrite de sodium (NaNO<sub>2</sub>) 5%. Après 5 min, 150 µl de trichlorures d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) 10% y est rajouté, l'ensemble est mélangé au vortex. Après 6 min de repos à température ambiante 500 µl d'hydroxyde de sodium 4% est additionné. L'absorbance est immédiatement lue à la longueur d'onde 510 nm contre un blanc.



**Figure 23** : Dosage des flavonoïdes dans les feuilles et les racines de la variété Aguadulce (*Vicia faba* L.)

Une solution méthanolique de (+)catéchine est préparée parallèlement, des solutions filles sont préparées à partir de la solution mère à différentes concentrations allant de 0 et 200 mg/l.

Les résultats sont convertis en mg équivalent (+)catechin par g de matière sèche.

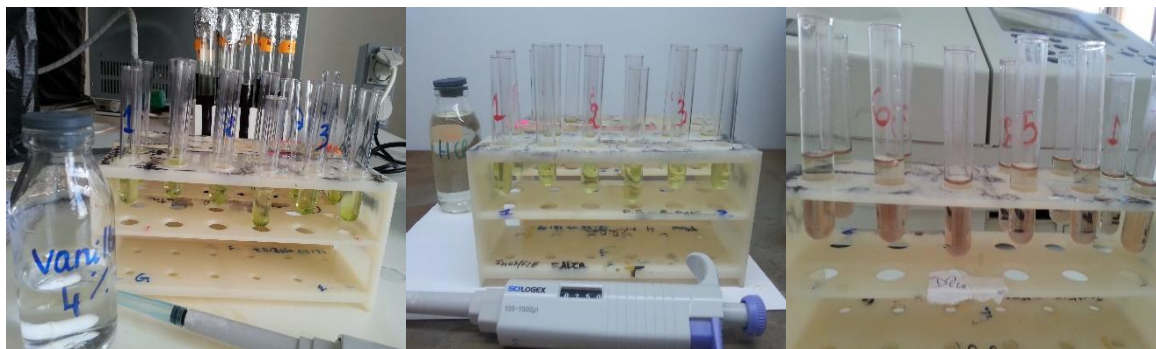


**Figure 24 :** Courbe d'étalonnage flavonoïdes

#### 2.4.4. Dosage des tanins condensés

Les tanins condensés sont quantifiés grâce à la méthode vanilline-HCl (Makkar et al.,1993) qui est basée sur la réaction de la vanilline avec le groupement flavonoïde terminal des tanins condensés aboutissant à la formation de complexes rouges. La transformation des tanins en anthocyanidols est à l'origine de cette coloration rouge.

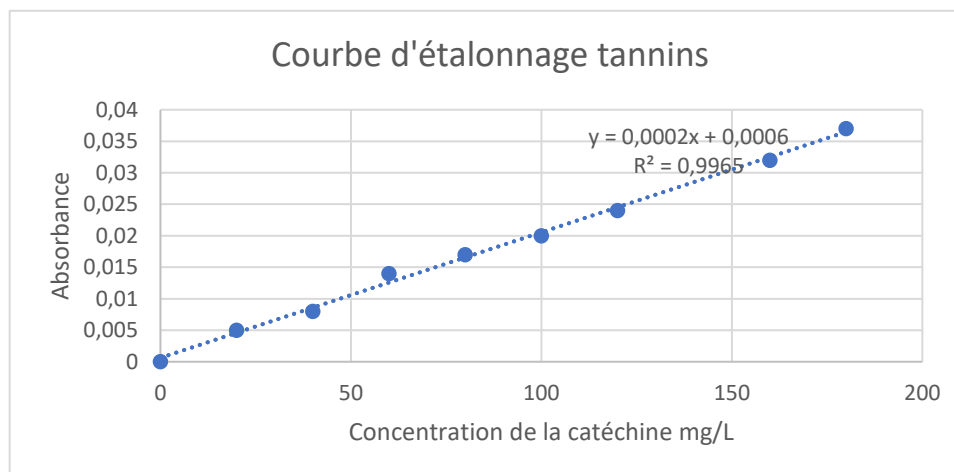
Pour doser les tanins condensés, 50  $\mu$ l de l'extrait est additionné de 1500  $\mu$ l de la solution vanilline/méthanol (4%), l'ensemble est mélangé au vortex. Un volume de 750  $\mu$ l d'acide chlorhydrique (HCl) concentré est rajouté au mélange précédent, le tout est incubé durant 20 min à température ambiante. La densité optique est lue au spectrophotomètre à 550 nm contre un blanc.



**Figure 25 :** Dosage des tannins condensés dans les feuilles de la variété Aguadulce (*Vicia faba* L.)

Une solution méthanolique de (+)catéchine est préparée parallèlement, des solutions filles sont préparées à partir de la solution mère à différentes concentrations allant de 0 et 200 mg/l.

Les résultats sont convertis en mg équivalent (+)catéchine par g de matière sèche.



**Figure 26** : Courbe d'étalonnage tannins

## 2.5. Analyses statistiques des résultats

Les analyses statistiques sont réalisées avec le logiciel IBM SPSS v 26. Les données enregistrées sont représentées en moyenne  $\pm$  écart type. Les représentations graphiques sont effectuées avec Microsoft Excel 2019. La comparaison entre les groupes est établie par les tests suivants : Student pour deux échantillons indépendants, l'analyse de la variance à un facteur, Welch, Brown Forsyth, Kruskal Wallis. Suivis si significatives par les tests *a posteriori* : Tukey, Games Howel ou le test U Mann Whitney. Le seuil de signification est de 0,05.

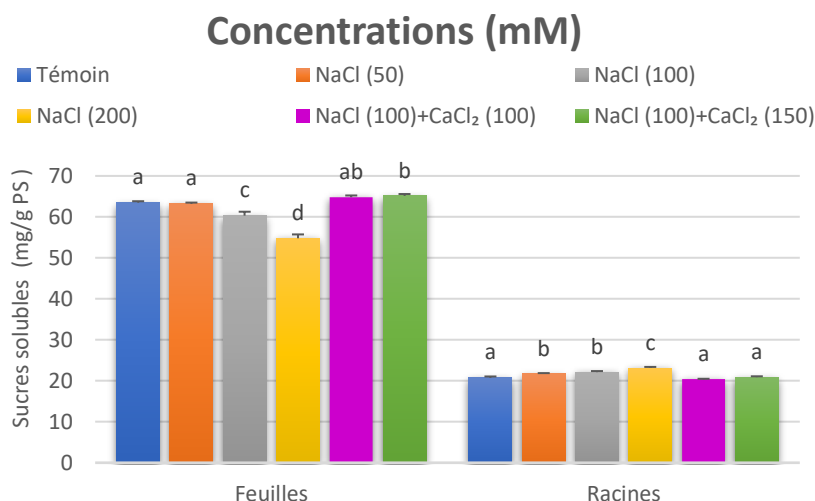
### 3. Résultats et discussion

#### 3.1 Dosage des composés biochimiques (métabolites primaires)

##### 3.1.1. Teneur en sucres totaux

Les teneurs des feuilles d'Aguadulce (*Vicia faba* L.) stressée au NaCl, en sucres totaux ont connu une baisse en comparaison aux feuilles des plantes témoins chez lesquelles on a quantifié 63,5 mg/g PS, cependant cette baisse n'est significative que pour 100 et 200 mM NaCl où on a enregistré respectivement 60,31 mg/g PS et 54,78 mg/g PS. L'ajout du CaCl<sub>2</sub> a inversé la tendance en entraînant une augmentation significative des sucres avec 64,79 mg/g PS pour 100 mM NaCl+100 mM CaCl<sub>2</sub> et 65,12 mg/g PS pour 100 mM NaCl +150 Mm CaCl<sub>2</sub>.

Inversement, dans les racines, on a enregistré une hausse significative des teneurs en sucres totaux pour 50, 100 et 200 mM NaCl avec respectivement 21,68 mg/g PS, 22,11 mg/g PS et 23,12 mg/g PS, contre seulement 20,79 mg/g PS chez les témoins, et un retour à des valeurs très proches de celles enregistrées chez les témoins lorsque le CaCl<sub>2</sub> a été combiné au NaCl avec 20,41 mg/g PS pour 100 mM NaCl+100 mM CaCl<sub>2</sub> et 20,90 mg/g PS pour 100 mM NaCl +150 Mm CaCl<sub>2</sub>.



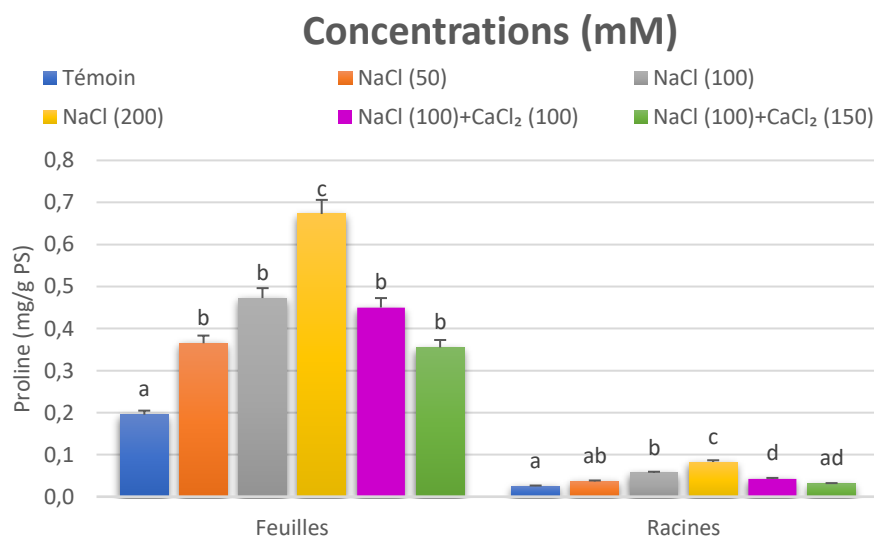
**Figure 27 :** Effet des concentrations croissantes de NaCl seul et combiné au CaCl<sub>2</sub> sur les sucres solubles dans les feuilles et les racines d'Aguadulce (*Vicia faba* L.)

Les barres surmontées de la même lettre ne présentent pas de différence significative au sein d'un même organe (P = 0,05)  
mM = millimolaire ; mg = milligramme ; g = gramme ;PS = poids sec.

### 3.1.2. Teneur en proline

Les teneurs en proline des feuilles et des racines des plantules d'Aguadulce (*Vicia faba* L.) ont augmenté significativement parallèlement à l'augmentation des doses de NaCl. Les teneurs enregistrées dans les feuilles sont 0,20 mg/l pour les témoins contre 0,37 mg/l, 0,47 mg/l et 0,67 mg/l pour 50, 100 et 200 mM NaCl respectivement. Dans les racines on a enregistré 0,03 mg/l chez les témoins contre 0,04 mg/l, 0,06 mg/l et 0,08 mg/l pour 50, 100 et 200 mM NaCl respectivement.

L'addition du CaCl<sub>2</sub> au NaCl a réduit la teneur en proline des feuilles et des racines en comparaison à l'NaCl seul, toutefois ces valeurs demeurent légèrement supérieures à celles enregistrées chez les plantes témoins. Dans les feuilles nous avons quantifié : 0,45 mg/l pour 100 mM NaCl+100 mM CaCl<sub>2</sub> et 0,36 mg/l pour 100 mM NaCl +150 Mm CaCl<sub>2</sub>, dans les racines nous avons enregistré : 0,04 mg/l sous 100 mM NaCl+100 mM CaCl<sub>2</sub> et 0,03 mg/l sous 100 mM NaCl +150 Mm CaCl<sub>2</sub>.



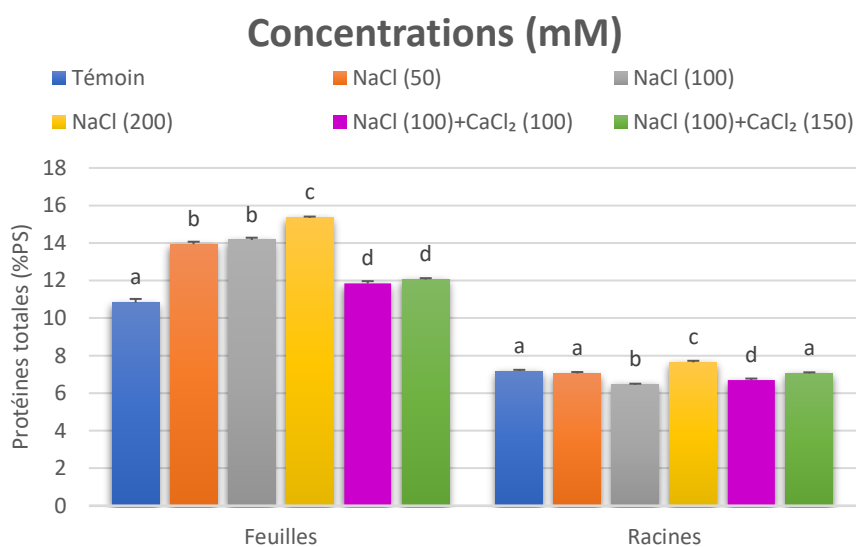
**Figure 28 :** Effet des concentrations croissantes de NaCl seul et combiné au CaCl<sub>2</sub> sur la proline dans les feuilles et les racines d'Aguadulce (*Vicia faba* L.)

Les barres surmontées de la même lettre ne présentent pas de différence significative au sein d'un même organe (P = 0,05)  
mM = millimolaire ; mg = milligramme ; g = gramme ;PS = poids sec.

### 3.1.3. Teneur en protéines totales

Le pourcentage des protéines totales a significativement augmenté dans les feuilles d'Aguadulce (*Vicia faba* L.) traitée à l'NaCl, où l'on a enregistré :13,94 % (50 mM NaCl), 14,16 % (100 Mm NaCl), 15,36 % (200 mM NaCl) contre seulement 10,82 % chez les témoins. Une légère baisse du taux des protéines a été enregistrée du fait de l'addition du CaCl<sub>2</sub> tout en demeurant significativement supérieur au témoin, avec 11,84 % (100 mM NaCl+100 mM CaCl<sub>2</sub>) et 12,06 % (100 mM NaCl +150 Mm CaCl<sub>2</sub>).

Les traitements salins qu'ils soient à base de NaCl seul ou combiné au CaCl<sub>2</sub> ont ,tous, plus ou moins réduit les teneurs en protéines des racines, avec 7,05 % (50 mM NaCl), 6,47 % (100 Mm NaCl), 6,70 % (100 mM NaCl+100 mM CaCl<sub>2</sub>) et 7,06 % (100 mM NaCl +150 Mm CaCl<sub>2</sub>) contre 7,18 % chez les témoins, excepté le traitement à 200 mM NaCl qui lui a provoqué une hausse significative des protéines avec 7,64 % de protéines totale quantifiées.



**Figure 29** : Effet des concentrations croissantes de NaCl seul et combiné au CaCl<sub>2</sub> sur les protéines totales dans les feuilles et les racines d'Aguadulce (*Vicia faba* L.)

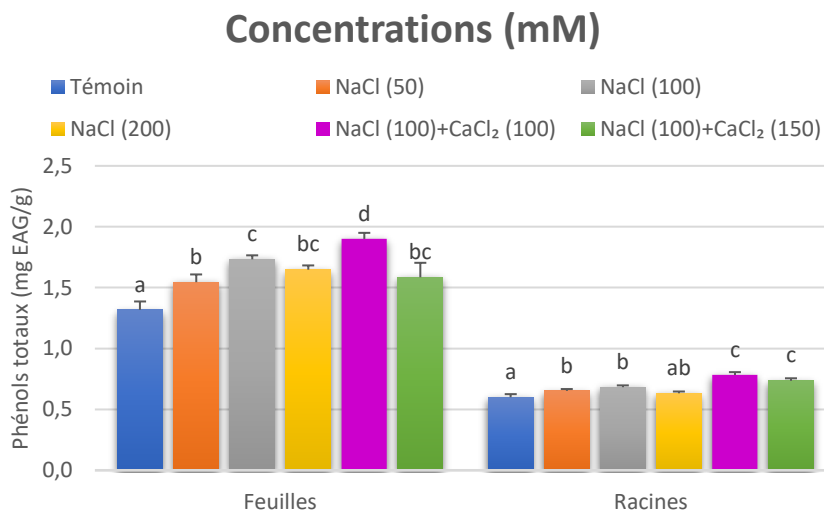
Les barres surmontées de la même lettre ne présentent pas de différence significative au sein d'un même organe (P = 0,05)  
mM = millimolaire ; PS = poids sec.

### 3.2. Dosage des composés phytochimiques (métabolites secondaires)

#### 3.2.1. Teneurs en phénols totaux

Les traitements salins à l'NaCl ont augmenté significativement les taux des phénols totaux dans les feuilles et les racines d'Aguadulce (*Vicia faba* L.). Dans les feuilles nous avons enregistré 1,55 mg EAG/g (50 mM NaCl), 1,73 mg EAG/g (100 mM NaCl), 1,65 mg EAG/g (200 mM NaCl) contre seulement 1,32 mg EAG/g chez les témoins. Dans les racines nous avons enregistré 0,65 mg EAG/g (50 mM NaCl), 0,68 mg EAG/g (100 mM NaCl), 0,63 mg EAG/g (200 mM NaCl) contre seulement 0,6 mg EAG/g chez les témoins.

L'addition du CaCl<sub>2</sub> en plus du NaCl dans la solution d'irrigation a augmenté davantage les taux des phénols totaux avec 1,90 mg EAG/g (100 mM NaCl+100 mM CaCl<sub>2</sub>) et 1,59 mg EAG/g (100 mM NaCl +150 mM CaCl<sub>2</sub>) dans les feuilles, et 0,78 mg EAG/g (100 mM NaCl+100 mM CaCl<sub>2</sub>) et 0,74 mg EAG/g (100 mM NaCl +150 mM CaCl<sub>2</sub>) dans les racines.



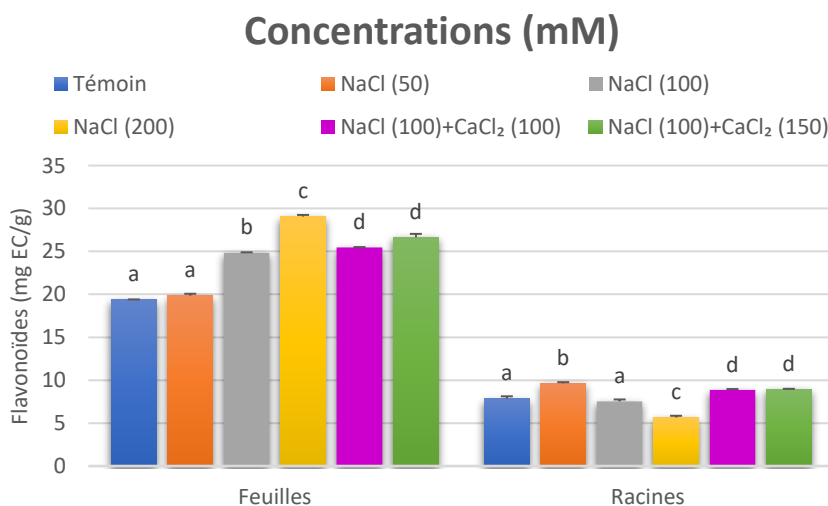
**Figure 30 :** Effet des concentrations croissantes de NaCl seul et combiné au CaCl<sub>2</sub> sur les phénols totaux dans les feuilles et les racines d'Aguadulce (*Vicia faba* L.)

Les barres surmontées de la même lettre ne présentent pas de différence significative au sein d'un même organe (P = 0,05)  
mM = millimolaire ; mg = milligramme ; EAG = équivalent acide gallique ; g = gramme.

### 3.2.2. Teneurs en flavonoïdes

Le stress salin généré par le NaCl seul ou combiné au CaCl<sub>2</sub> a entraîné une augmentation significative des flavonoïdes des feuilles d'Aguadulce (*Vicia faba* L.) avec 19,84 mg EC/g (50 mM NaCl), 24,84 mg EC/g (100 mM NaCl), 29,06 mg EC/g (200 mM NaCl), 25,44 mg EC/g (100 mM NaCl+100 mM CaCl<sub>2</sub>) et 26,65 mg EC/g (100 mM NaCl +150 mM CaCl<sub>2</sub>) contre seulement 19,37 mg EC/g chez les témoins, à noter que la concentration la plus élevée a été enregistrée dans les feuilles des plantules traitées avec 200 mM NaCl.

Les teneurs en flavonoïdes des racines ont d'abord augmenté en réponse à un traitement de 50 mM NaCl atteignant 9,64 mg EC/g contre seulement 7,84 mg EC/g chez les témoins, pour ensuite diminuer parallèlement à l'augmentation des doses salines atteignant 7,52 mg EC/g (100 mM NaCl) et 5,66 mg EC/g (200 mM NaCl). L'ajout du CaCl<sub>2</sub> a inversé la tendance baissière en augmentant la teneur en flavonoïdes des racines avec 8,86 mg EC/g (100 mM NaCl+100 mM CaCl<sub>2</sub>) et 8,91 mg EC/g (100 mM NaCl +150 mM CaCl<sub>2</sub>).



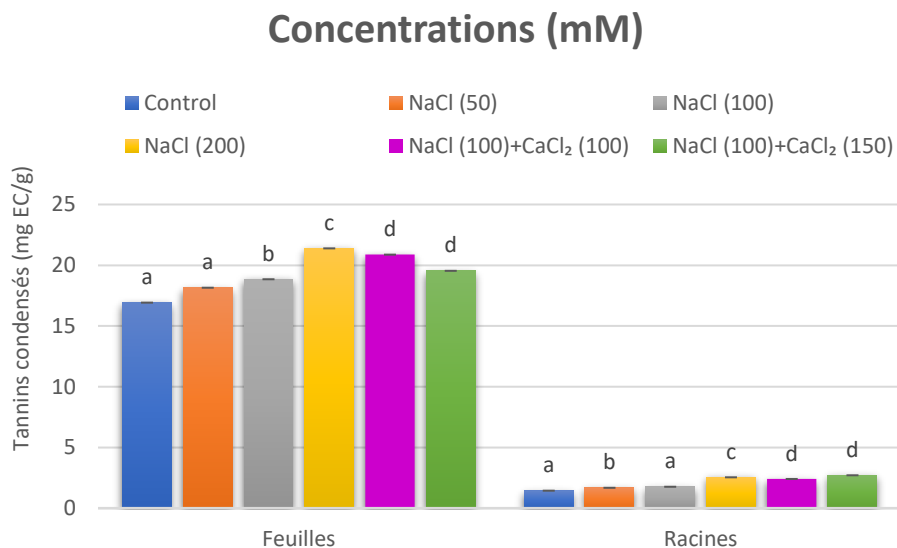
**Figure 31** : Effet des concentrations croissantes de NaCl seul et combiné au CaCl<sub>2</sub> sur les flavonoïdes dans les feuilles et les racines d'Aguadulce (*Vicia faba* L.)

Les barres surmontées de la même lettre ne présentent pas de différence significative au sein d'un même organe (P = 0,05)  
mM = millimolaire ; mg = milligramme ; EC = équivalent catéchine ; g = gramme.

### 3.2.3. Teneurs en tannins condensés

Les tannins condensés ont augmenté significativement et graduellement dans les feuilles et les racines d'Aguadulce (*Vicia faba* L.) parallèlement à l'augmentation du niveau de la salinité. Nous avons enregistré dans les feuilles des plantes stressées au NaCl seul : 18,15 mg EC/g (50 mM NaCl), 18,85 mg EC/g (100 mM NaCl) et 21,39 mg EC/g (200 mM NaCl) contre seulement 16,92 mg EC/g (témoin), dans les feuilles des plantes soumises au NaCl combiné au CaCl<sub>2</sub> on a enregistré : 20,87 mg EC/g (100 mM NaCl+100 mM CaCl<sub>2</sub>) et 19,54 mg EC/g (100 mM NaCl +150 mM CaCl<sub>2</sub>). Dans les racines des plantes soumises au NaCl seul on a quantifié : 1,68 mg EC/g (50 mM NaCl), 1,77 mg EC/g (100 mM NaCl) et 2,55 mg EC/g (200 mM NaCl) contre seulement 1,45 mg EC/g (témoin), dans les racines des plantes soumises au NaCl combiné au CaCl<sub>2</sub> on a quantifié : 2,41 mg EC/g (100 mM NaCl+100 mM CaCl<sub>2</sub>) et 2,71 mg EC/g (100 mM NaCl +150 mM CaCl<sub>2</sub>).

À noter que la valeur la plus importante des tannins a été enregistrée sous 200 mM NaCl pour les feuilles, et sous 100 mM NaCl +150 mM CaCl<sub>2</sub> pour les racines.



**Figure 32 :** Effet des concentrations croissantes de NaCl seul et combiné au CaCl<sub>2</sub> sur les tanins condensés dans les feuilles et les racines d'Aguadulce (*Vicia faba* L.)

Les barres surmontées de la même lettre ne présentent pas de différence significative au sein d'un même organe (P = 0,05)  
mM = millimolaire ; mg = milligramme ; EC= équivalent catéchine ; g = gramme.

#### 4. Discussion

Le stress salin induit chez de nombreuses espèces de plantes une augmentation de glucides (Minorsky, 2003). Dans notre étude, le stress salin a plutôt provoqué une baisse des sucres totaux dans les feuilles d'Aguadulce (*Vicia faba* L.), notamment chez les plantes qui ont été soumises aux concentrations élevées de NaCl (100 et 200 mM). Taie et *al.* (2013) ont également observé une baisse dans les sucres totaux accumulés dans les feuilles de la fève (*Vicia faba* L.) stressée à l'eau de mer. Cette baisse est attribuable à l'inhibition de la photosynthèse suite au déclin des pigments chlorophylliens sous l'effet de la salinité (Taie et *al.*, 2013).

D'autres études dont celle de Balibrea et *al* (2000) ont signalé une hausse des teneurs en sucres solubles parallèle à une baisse de la concentration des polysaccharides chez la tomate stressée à la salinité. De même, Parida et *al* (2002) ont reporté une baisse en amidon et une augmentation des teneurs en sucres réducteurs dans les feuilles de (*Bruguiera parviflora*). En effet, plusieurs études ont démontré que le stress salin stimule chez de nombreuses espèces végétales l'accumulation des sucres et des polyols suite à l'hydrolyse de l'amidon (Bartels et Sunkar, 2005). L'augmentation des composés carbonés dans les cellules soumises à la contrainte saline, permet de compenser en partie les dysfonctionnements de la photosynthèse (Vernon et Bohnert, 1992). De nombreux sucres sont toutefois connus pour leur rôle important et protecteur des plantes soumises aux conditions abiotiques sévères dont le tréhalose qui selon Singer et Lindquist (1998) est un disaccharide qui protège les membranes et les protéines des cellules exposées aux stress en réduisant l'agrégation et la dénaturation des protéines.

Par contre au niveau des racines d'Aguadulce stressée à la salinité, nous avons noté une augmentation des teneurs en sucres totaux pouvant être expliqué par l'acheminement des sucres issus de l'hydrolyse des réserves polysaccharidiques vers les cellules des racines afin de réduire leur potentiel osmotique et maintenir l'absorption de l'eau à partir du sol. En effet, selon Siringam et *al* (2012) l'accumulation des glucides solubles permet à la fois des réajustements osmotiques et la protection des cellules de la racine.

L'implication de la proline dans de nombreuses fonctions cellulaires, incluant la réponse au stress salin est maintenant bien connue (Szabados et Savoure, 2010). Selon Ahmad et Sharma (2008) la proline aide les plantes à s'adapter au stress salin en contribuant à l'ajustement osmotique et en maintenant l'intégrité et la stabilité des structures intracellulaires. En outre,

---

Szabados et Savoure (2010) ont rapporté que la proline joue le rôle d'une molécule signal influençant la voie de la défense et contribuant au rétablissement des plantes après le stress.

Nos résultats ont démontré que l'apport des doses croissantes de NaCl a entraîné une hausse significative de la proline dans les feuilles et les racines de la fève, des résultats similaires ont été reportés par d'autres chercheurs sur *Vicia faba* L. (Taie et al., 2013) et *Pisum sativum* L. (Ahmad et Jhon, 2005). Maggio et al. (2002) affirment que la proline agit à la fois comme une molécule signal qui active les mécanismes de défense et comme une molécule régulatrice faisant partie d'une réponse adéquate au stress salin.

L'accumulation de la proline sous stress chez de nombreuses espèces a été corrélée à la tolérance au stress, et sa concentration est généralement plus élevée chez les espèces tolérantes que chez les espèces sensibles (Ashraf et Foolad, 2007). Bien qu'il ait été démontré une forte corrélation entre la tolérance au stress et l'accumulation de la proline chez les plantes supérieures, l'on a constaté que chez certaines plantes son accumulation est plus un symptôme d'un dysfonctionnement causé par le stress qu'une réaction de tolérance (Ashraf et Foolad, 2007).

Dans cette étude, les doses croissantes de NaCl ont induit une augmentation des protéines totales dans les feuilles de la fève, cependant ces composés ont été entraînés à la baisse dans les racines à l'exception de NaCl (200 mM). Des taux élevés de protéines solubles ont été observés chez des variétés d'orge, tournesol, millet et riz tolérantes au stress salin (Ashraf et Harris, 2004). Ahmad et Jhon (2005) ont également rapporté que les taux de protéines augmentent avec l'augmentation des concentrations de NaCl chez *Pisum sativum* L.

Les protéines accumulées dans les plantes cultivées dans des conditions salines peuvent fournir une réserve d'azote qui pourrait être réutilisée ultérieurement (Singh et al., 1987) et peuvent jouer un rôle dans l'ajustement osmotique (Ahmad et al., 2013). Akhtar et al (2013) affirment que les protéines accumulées sous stress salin jouent un rôle dans la régulation osmotique. D'autres études ont également démontré que sous des conditions salines, les plantes synthétisent des protéines de stress (Hussain et al., 2007). L'utilisation d'approches moléculaires avancées a mis en évidence de nombreux gènes de détoxification codant pour des

---

protéines/enzymes qui jouent un rôle crucial dans la défense contre le stress (Holuigue et *al.*, 2007).

Cependant la réduction des protéines peut être expliquée par leur dégradation en acides aminés, accompagnée d'une augmentation de ces derniers (AA) dans les organes des plantes soumises au stress salin (Hussain et *al.*, 2007). La baisse des protéines pourrait également être le résultat d'une réduction de leur synthèse due à une faible activité nitrate réductase (NRA) (Akhtar et *al.*, 2013).

Dans le présent travail, la salinité a eu une incidence positive sur les teneurs en composés phénoliques des feuilles et racines d'Aguadulce (*Vicia faba* L.), des résultats similaires ont été obtenus dans d'autres études menées sur la même espèce (*Vicia faba* L.) par Taie et *al* (2013). Pareillement Rasheed et *al* (2014) ont observé une importante hausse des phénols totaux dans les feuilles de deux variétés de *Brassica napus* L. en réponse à différents niveaux de salinité. Les informations recueillies indiquent que la quantité des composés phénoliques accumulés par les plantes stressées dépendent principalement de la sensibilité des plantes au sel (Kim et *al.*, 2008), et de la concentration du sel dans la rhizosphère (Yuan et *al.*, 2010).

*Vicia faba* L. est connue pour sa tolérance modérée à la salinité (Al-Tahir et Al-Abdulsalam, 1997) ce qui pourrait expliquer le léger déclin de la teneur en phénols totaux enregistré dans les plantes traitées avec 200 mM de NaCl. Une accumulation moins importante de ces composés phénoliques peut être une indication d'une concentration trop élevée du NaCl pouvant avoir un impact négatif sur la biosynthèse des composés phénoliques.

Les teneurs des feuilles d'Aguadulce (*Vicia faba* L.) en flavonoïdes ont augmenté significativement en parallèle avec l'augmentation des doses du sel. Cependant, les concentrations des flavonoïdes dans les racines ont été affecté négativement de 100 à 200 mM NaCl. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Gengmao et *al.* (2015), qui ont démontré que le stress salin entraîne une augmentation des flavonoïdes dans les feuilles du faux safran (*Carthamus tinctorius*) L.). Les plantes exposées à la salinité produisent des espèces actives de l'oxygène (ROS) (Bernstein et *al.*, 2010). Pour diminuer l'excès des (ROS), les plantes ont développé un système de défense antioxydant (Dat et *al.*, 2000 ; Munns et Tester,

2008). La capacité des plantes à piéger les radicaux libres est attribuée aux polyphénols (Bravo, 1998). Les études menées par Posmyk et al (2009) ont prouvé l'effet neutralisant des flavonoïdes sur les (ROS). Selon Salem et al. (2014) la teneur en flavonoïdes du carthame (*Carthamus tinctorius* L.) est entraînée à la hausse par la salinité pendant le stade de floraison.

Par ailleurs, dans cette recherche, une augmentation significative des tannins condensés due au stress salin a été observée chez les plantes d'Aguadulce (*Vicia faba* L.). Les résultats présentés dans ce travail sont en conformité avec ceux publiés par Baâtour et al. (2012) qui ont démontré qu'en présence de la salinité, les tannins condensés augmentent dans *Origanum majorama* L. Hussein et Aqlan (2012) ont également démontré qu'un stress salin modéré a significativement augmenté la teneur en tannins condensés du fenugrec. Les tannins condensés ont été proposés pour jouer un rôle dans l'interaction de la plante avec son environnement biotique et abiotique (Pankhurst et al., 1979)

Le CaCl<sub>2</sub> peut constituer une source de flux calcique déclenchant une cascade d'évènements responsables de la résistance des plantes. Nos résultats ont montré que le CaCl<sub>2</sub> combiné au NaCl induit une augmentation significative de la biosynthèse des métabolites secondaires chez Aguadulce (*Vicia faba* L.), Sudha et Ravishankar (2003) ont de leur côté étudié l'effet du calcium sur les anthocyanes et ont conclu que c'est à l'origine d'une augmentation de la synthèse des anthocyanes. Un effet opposé a été enregistré dans les métabolites primaires, l'addition du CaCl<sub>2</sub> à la solution salinisée au NaCl a entraîné une baisse dans les teneurs en proline et protéines comparé au NaCl seul, cette baisse pourrait être liée au rétablissement de la balance prooxydant antioxydant grâce aux métabolites secondaires, cependant une augmentation a été observée dans les sucres totaux chez Aguadulce (*Vicia faba* L.), laquelle pourrait être due à la réouverture stomatique et le retour de l'activité photosynthétique.

Les effets opposés du CaCl<sub>2</sub> observés sur les métabolites primaires et secondaires peuvent être attribués au rôle du Ca<sup>2+</sup> comme messenger dans la signalisation cellulaire. Lorsque le sodium est en excès en milieu externe, il pénètre dans les cellules racinaires provoquant une réduction de leur turgescence et le décollement de la membrane de la paroi, ce qui engendre une activation des canaux calciques (Sanders et al., 1999). Le calcium joue le rôle d'un signal extracellulaire et intracellulaire grâce aux récepteurs calciques membranaires, ces derniers

transmettent l'information via une série de phosphorylation-déphosphorylation, qui va réguler l'expression des gènes d'adaptation au stress (Mahajan et al., 2008).

Upadhyaya (2016) a suggéré le rôle potentiel du calcium dans la tolérance aux stress abiotiques chez le riz. De nombreuses autres études ont démontré que l'application d'une dose supplémentaire de Ca<sup>2+</sup> peut améliorer significativement les symptômes du stress (Cramer et al., 1990 ; Rengel, 1992 ; Elphick et al., 2001). En effet, Le calcium joue un rôle primordial dans la réduction de l'accumulation du sodium dans la partie aérienne de la plante à travers l'activation des canaux plasmiques responsables de l'exclusion et la recirculation du Na, également dans l'ajustement osmotique et l'optimisation des rapport K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> et Cl<sup>-</sup>/NO<sub>3</sub><sup>-</sup> grâce à l'activation des systèmes de transport membranaires impliquant des voies plus ou moins sélectifs (Hanana et al., 2011).

## **5. Conclusion**

Les plantes d'Aguadulce (*Vicia faba* L.) stressées au NaCl ont répondu à la contrainte saline par une augmentation significative des composés phyto-biochimiques : les phénols, les flavonoïdes, les tanins, la proline et les protéines, excepté les sucres. Le calcium additionné sous forme de CaCl<sub>2</sub> a atténué l'effet délétère des fortes concentrations des chlorures de sodium en régulant l'accumulation des métabolites primaires et en amplifiant 'renforçant' la synthèse des métabolites secondaires.

## **Chapitre II**

---

**Evaluation de l'effet de l'acide salicylique (AS)  
sur l'amélioration de la réponse de *V. faba* var.**

**Histal et var. Super Aguadulce au stress salin**

---

## Chapitre II : Evaluation de l'effet de l'acide salicylique (AS) sur l'amélioration de la réponse de *V. faba* var. *Histal* et var. *Super Aguadulce* au stress salin

### 1. Introduction

L'acide salicylique (AS ; acide o-hydroxybenzoïque) figure parmi les molécules signal qui ont suscité une attention particulière grâce à sa capacité à réguler de multiples aspects de la réponse des plantes aux stress biotiques et abiotiques (Horvath et al., 2007). De nombreuses études ont montré qu'un apport exogène d'acide salicylique peut améliorer les symptômes de toxicité liés au stress salin chez beaucoup d'espèces de plantes (Ashraf et al., 2010).

Dans ce chapitre nous avons étudié l'effet d'un apport exogène d'acide salicylique (AS), au moyen d'une pulvérisation foliaire, sur l'atténuation des effets néfastes du sel (NaCl), deux doses d'acide salicyliques sont appliquées simultanément aux traitements salins auxquels sont soumises deux variétés de la fève (*Vicia faba* L.) : *Histal* et *Super Aguadulce* au stade de la floraison. L'effet de l'acide salicylique sur les deux variétés est évalué à travers les paramètres suivants : la teneur en eau relative (TER) et les teneurs en chlorophylles 'a' et 'b' des feuilles, l'accumulation des sucres, de la proline, des protéines ainsi que les composés phénoliques comprenant les phénols totaux, les flavonoïdes et les tannins condensés dans les feuilles et les racines des plantes des deux variétés de la fève (*Vicia faba* L.).

### 2. Matériels et méthodes

#### 2.1. Matériel végétal

Les graines des deux variétés de la fève (*Vicia faba* L.) : *Histal* et *Super Aguadulce* ont été obtenues de l'institut national de recherche en agronomie INRA de Sidi Bel Abbès.



**Figure 33** : Graines de la fève (*Vicia faba* L.) de gauche à droite : *Histal*, *Super Aguadulce*

## 2.2. Conditions de culture

Les mêmes conditions décrites dans le chapitre I sont appliquées pour la sélection et la pré-germination des graines des deux variétés *Histal* et *Super Aguadulce*.

## 2.3. Empotage et repiquage

L'empotage et le repiquage des plantules des deux variétés *Histal* et *Super Aguadulce* sont réalisés suivant les mêmes étapes décrites dans le chapitre I.

## 2.4. Irrigation et application du stress

L'arrosage des plantes de la fève est effectué uniformément 2 à 3 fois par semaine à 60% de la capacité au champ en alternant eau distillée et solution nutritive de Hoagland diluée au 1/1000ème (annexe1) jusqu'à la floraison des plantes (environ 7 semaines après la germination), stade durant lequel sont appliqués les traitements salins et la pulvérisation foliaire de l'acide salicylique.

Deux solutions salines de 100 mM et 200 mM sont préparées en diluant du NaCl dans la solution nutritive de Hoagland. Parallèlement à ça deux solutions d'acide salicylique :  $10^{-5}$ M et  $10^{-4}$ M sont préparées en diluant l'acide salicylique dans l'eau distillée.

Les solutions salines sont appliquées graduellement durant huit jours jusqu'à atteindre la concentration requise afin d'éviter le choc osmotique.















Simultanément à l'application du stress, les solutions d'acide salicylique sont pulvérisées sur le feuillage à l'aide d'un pulvérisateur manuel. Deux pulvérisations en huit jours sont appliquées, en veillant à ce que toutes les feuilles reçoivent la solution d'acide salicylique.



**Figure 34 :** Pulvérisation de la solution d'acide salicylique sur le feuillage de *Histal* et *Super Aguadulce* (*Vicia faba* L.)

## 2.5. Plan expérimental

L'expérimentation est conduite selon un dispositif aléatoire avec trois répétitions pour chaque lot. Le dispositif expérimental de chaque variété est réparti en 7 lots. Le premier lot correspond au groupe témoin (**Témoin**) ne recevant pas de traitement, les six autres reçoivent des traitements salins à l'NaCl seul ou combiné à une pulvérisation foliaire d'acide salicylique : **SS1** : 100 mM NaCl, **SS1+AS1** : 100 mM NaCl +  $10^{-5}$  M (AS), **SS1+AS2** : 100 mM NaCl +  $10^{-4}$  M (AS), **SS2** : 200 mM NaCl , **SS2+AS1** : 200 mM NaCl +  $10^{-5}$  M (AS), **SS2+AS2** : 200 mM NaCl +  $10^{-4}$  M (AS).

Traitement	Témoin	SS1 : 100 mM NaCl	SS1+AS1: 100 mM NaCl + $10^{-5}$ M (AS)	SS1+AS2: 100 mM NaCl + $10^{-4}$ M (AS)	SS2 : 200 mM NaCl	SS2+AS1: 200 mM NaCl + $10^{-5}$ M (AS)	SS2+AS2: 200 mM NaCl + $10^{-4}$ M (AS)
Variété Histal							
Variété Super Aguadulce							

## 2.6. Récolte et conditionnement du matériel végétal

Après deux semaines d'exposition aux différents traitements, les plantes sont récoltées et conditionnées en respectant les mêmes étapes décrites dans le chapitre I. Quelques feuilles fraîchement récoltées sont récupérées pour des analyses immédiates (TER et chlorophylle).

## 2.7. Paramètres mesurés

### 2.7.1. Teneur en eau relative TER

La teneur en eau relative (TER) des feuilles est mesurée avant la récolte des plantes selon le protocole adopté par Ahmad et Jhon (2005), à partir de feuilles entièrement déployées de trois plantes par répétition. Sept rondelles de feuilles sont découpées, dans l'espace internervaire de chaque feuille, à l'aide d'un perforateur de papier. Pour chaque répétition, vingt

et une rondelles sont collectées et leurs poids frais (PF) déterminé. Les rondelles sont immédiatement posées dans des boîtes de Petri remplies d'eau distillée et mises à l'obscurité pour qu'elles se réhydratent. Au bout de quatre heures, elles sont récupérées, délicatement débarrassées de l'excès d'eau (essuyées) à l'aide de papier absorbant, et repesées pour ainsi déterminer le poids turgescents (PT). Les rondelles de feuilles sont ensuite mises à sécher à 80°C durant 24 h pour déterminer le poids sec (PS).

Un test a été effectué au préalable pour déterminer le temps nécessaire (quatre heures) pour la réhydratation complète des rondelles.



**Figure 35** : Détermination de la teneur en eau relative (TER) des feuilles de Histal et Super Aguadulce (*Vicia faba* L.)

La teneur en eau relative (TER) est définie selon la formule suivante :

$$TER (\%) = \frac{PF - PS}{PT - PS} \times 100$$

### 2.7.2. Chlorophylles

La chlorophylle 'a' et 'b' sont déterminées suivant la méthode de Arnon (1949). Les feuilles fraîches des plantes sont coupées en petits morceaux et laissées une nuit entière dans de l'acétone 80% à l'obscurité et à température ambiante. Le jour suivant, les extraits sont filtrés et l'absorbance lue à 663 nm et 645 nm en utilisant un spectrophotomètre.

Les teneurs en chlorophylle 'a' (Chl 'a') et chlorophylle 'b' (Chl 'b') sont calculées selon les équations suivantes :

$$Chl 'a' = [12.7(DO\ 663) - 2.69(DO\ 645)] \times V/1000 \times M$$

$$Chl 'b' = [22.9(DO\ 645) - 4.68(DO\ 663)] \times V/1000 \times M$$

Où  $V$  c'est le volume de l'extrait (mL) et  $M$  c'est la masse des feuilles fraîches (g)

### 2.7.3. Sucres totaux

Les sucres totaux sont quantifiés dans les feuilles et les racines des deux variétés Histal et Super Aguadulce de la fève (*Vicia faba* L) en suivant la méthode de Dubois (1956) décrite dans le chapitre I.

### 2.7.4. Proline

La proline est quantifiée dans les feuilles et les racines des deux variétés Histal et Super aguadulce de la fève (*Vicia faba* L) selon le protocole de Troll and Lindesly (1955), modifié par Monneveux et Nemmar (1986) décrit dans le chapitre I.

### 2.7.5. Protéines totales

Les teneurs en protéines totales des feuilles et racines des deux variétés Histal et Super aguadulce de la fève (*Vicia faba* L) sont déterminées selon la méthode de Kjeldahl décrite dans le chapitre I.

### **2.7.6. Composés phénoliques**

- ***Extraction des composés phénoliques***

L'extraction des composés phénoliques est réalisée par macération de 3 g de matière végétale sèche (feuilles, racines) dans 30 ml de solvant organique (acétone 80%) durant 24 h. Les extraits sont filtrés avec du papier Whatmann N° 1.

#### **a) Dosage des polyphénols totaux**

Les polyphénols sont dosés par le réactif de Folin-Ciocalteu comme décrit par Singleton et *al* (1999), les étapes du dosage sont détaillées dans le chapitre I.

#### **b) Dosage des flavonoïdes**

Le protocole adopté pour le dosage des flavonoïdes est celui de Zhishen et *al.* (1999) décrit en détails dans le chapitre I.

#### **c) Dosage des tanins condensés**

La méthode adoptée pour le dosage des tanins condensés est celle de la vanilline-HCl (Makkar et *al.*,1993) décrite dans le chapitre I.

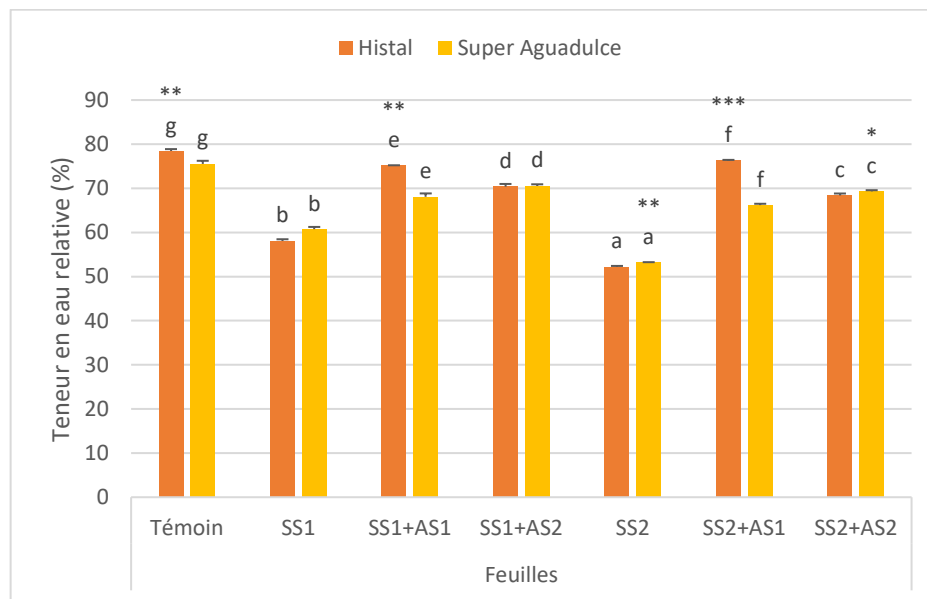
### **2.8. Analyses statistiques des résultats**

Les analyses statistiques sont réalisées avec le logiciel IBM SPSS v 26. Les données enregistrées sont représentées en moyenne  $\pm$  écart type. Les représentations graphiques sont effectuées avec Microsoft Excel 2019. La comparaison entre les groupes est établie par les tests suivants : Student pour deux échantillons indépendants, l'analyse de la variance à un facteur, Welch, Brown Forsyth, Kruskal Wallis. Suivis si significatives par les tests (*a posteriori* en italique): Tukey, Games Howel ou le test U Mann Whitney. Le seuil de signification est de 0,05.

### 3. Résultats

#### 3.1. Feuilles

##### 3.1.1. Teneur en eau relative des feuilles (TER) des deux variétés : *Histal* et *Super Aguadulce* de la fève (*Vicia faba* L.)



**Figure 36 :** Effet de l'AS sur la TER (%) des feuilles de la fève (*Vicia faba* L.) stressée au NaCl

Les barres surmontées de la même lettre ne présentent pas de différence significative au sein d'une même variété ( $P = 0,05$ )

Les astérisques indiquent une différence significative entre les deux variétés soumises au même traitement

\*:  $P < 0,05$ ; \*\*:  $P < 0,01$ ; \*\*\*:  $P < 0,001$

SS: stress salin; AS: acide salicylique

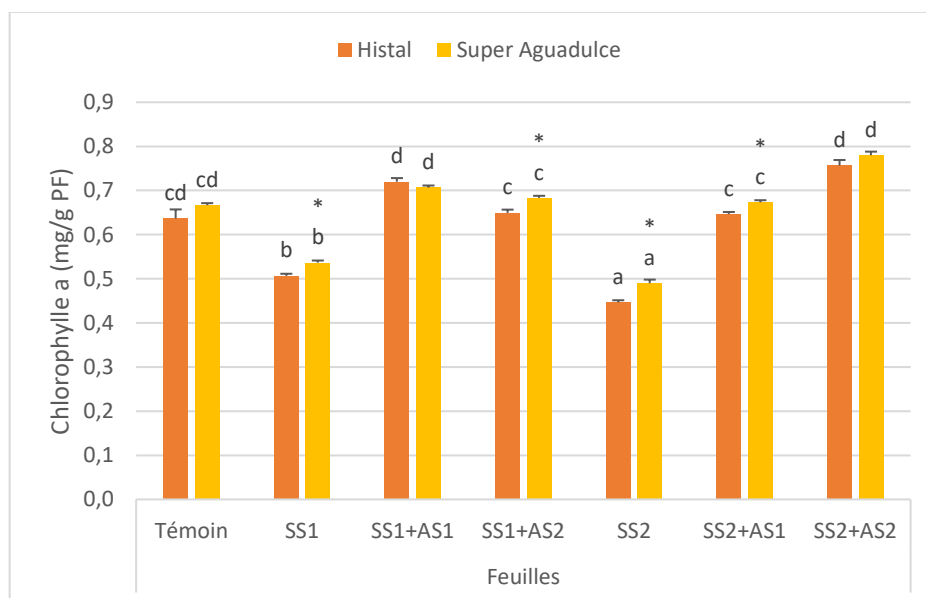
SS1: 100 mM NaCl; SS2: 200 mM NaCl; AS1 : $10^{-5}$  M AS; AS2:  $10^{-4}$  M AS

Le stress salin a sévèrement diminué la teneur en eau relative (TER) des feuilles des deux variétés de la fève, la baisse est plus importante sous (SS2) où la TER atteint les 52% et 53% pour *Histal* et *Super Aguadulce* respectivement.

Chez la variété *Histal* le traitement à l'AS1 a maintenu la TER des feuilles des plantes stressées proche de celle des plantes témoins (78%) avec environ 75% sous (SS1+AS1) et 76% sous (SS2+AS1), par contre chez la variété *Super Aguadulce* c'est le traitement à l'AS2 qui a donné les meilleures TER, 69 % (SS1+AS2) et 70% (SS2+AS2), comparées aux témoins (74%).

Les TER les plus importantes ont été enregistrées chez la variété *Histal*.

### 3.1.2. Teneur en chlorophylle 'a' des deux variétés : *Histal* et *Super Aguadulce* de la fève (*Vicia faba* L.)



**Figure 37** : Effet de l'AS sur la chlorophylle 'a' des feuilles de la fève (*Vicia faba* L.) stressée au NaCl

Les barres surmontées de la même lettre ne présentent pas de différence significative au sein d'une même variété ( $P = 0,05$ )

Les astérisques indiquent une différence significative entre les deux variétés soumises au même traitement

\*:  $P < 0,05$ ; \*\*:  $P < 0,01$ ; \*\*\*:  $P < 0,001$

SS: stress salin; AS: acide salicylique

SS1: 100 mM NaCl; SS2: 200 mM NaCl; AS1 :  $10^{-5}$  M AS; AS2:  $10^{-4}$  M AS

mM = millimolaire ; mg = milligramme ; g = gramme ;PF = poids frais.

Le stress salin a entraîné une baisse de la teneur en chlorophylle 'a' proportionnellement à la concentration du sel chez les deux variétés de la fève. Chez la variété *Histal* on a quantifié 0,51 mg/g PF (SS1) et 0,44 mg/g PF (SS2) contre 0,64 mg/g PF (témoin), chez la variété *Super Aguadulce* on a enregistré 0,54 mg/g PF (SS1) et 0,49 mg/g PF (SS2) contre 0,68 mg/g PF (témoin).

Chez les deux variétés de la fève (*Vicia faba* L.) stressées au NaCl, l'AS a augmenté la teneur en chlorophylle 'a' dans les feuilles, cependant l'AS1 a donné les meilleurs résultats chez les plantes soumises au SS1 avec 0,72 mg/g PF chez *Histal* et 0,70 mg/g PF chez *Super Aguadulce*, tandis que l'AS2 a donné les meilleurs résultats chez les plantes soumises au SS2 avec 0,76 mg/g PF chez *Histal* et 0,78 mg/g PF chez *Super Aguadulce*.

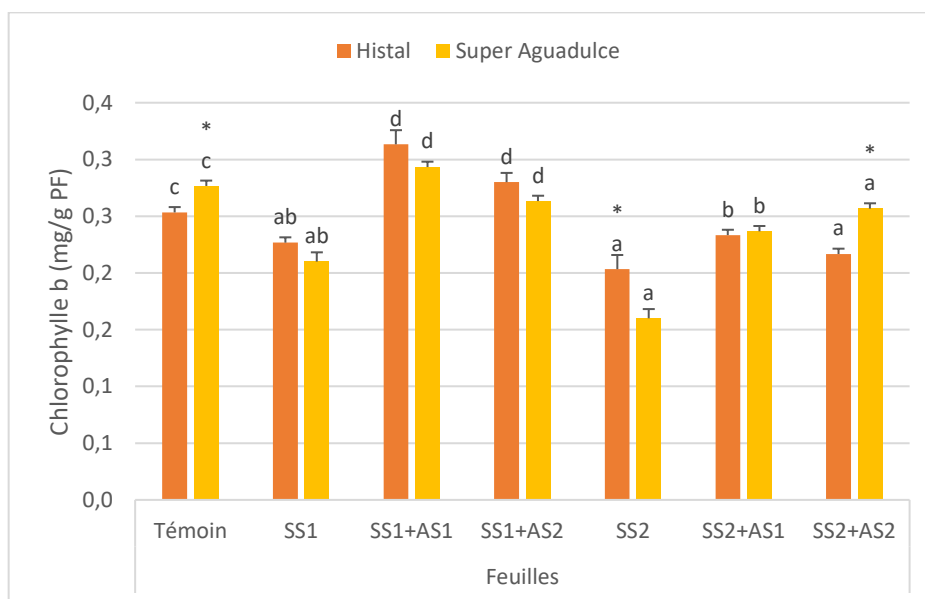
Les teneurs en chlorophylle 'a' quantifiées dans les feuilles des deux variétés sont assez proches.

### **3.1.3. Teneur en chlorophylle 'b' des deux variétés : *Histal* et *Super Aguadulce* de la fève (*Vicia faba* L.)**

La chlorophylle 'b' des feuilles de la fève a été réduite proportionnellement aux concentrations du sel appliquées, chez la variété *Histal* on a quantifié 0,23 mg/g PF (SS1) et 0,22 mg/g PF (SS2) contre 0,26 mg/g PF (témoin), chez *Super Aguadulce* on a quantifié 0,22 mg/g PF (SS1) et 0,16 mg/g PF (SS2) contre 0,28 mg/g PF (témoin).

L'AS a augmenté la chlorophylle 'b' dans les feuilles des plantes stressées. Les meilleurs résultats sont enregistrés lorsque l'AS1 et combiné au SS1 avec 0,30 mg/g PF chez *Histal* et 0,25 mg/g PF chez *Super Aguadulce*, et lorsque l'AS2 est combiné au SS2 avec 0,22 mg/g PF chez *Histal* et 0,25 mg/g PF chez *Super Aguadulce*.

Les teneurs en chlorophylle 'b' quantifiées dans les feuilles des deux variétés sont très proches.



**Figure 38** : Effet de l'AS sur la chlorophylle 'b' des feuilles de la fève (*Vicia faba* L.) stressée au NaCl

Les barres surmontées de la même lettre ne présentent pas de différence significative au sein d'une même variété (P = 0,05)

Les astérisques indiquent une différence significative entre les deux variétés soumises au même traitement

\*: P < 0,05; \*\*: P < 0,01; \*\*\*: P < 0,001

SS: stress salin; AS: acide salicylique

SS1: 100 mM NaCl; SS2: 200 mM NaCl; AS1 :10<sup>-5</sup> M AS; AS2: 10<sup>-4</sup> M AS

mM = millimolaire ; mg = milligramme ; g = gramme ;PF = poids frais.

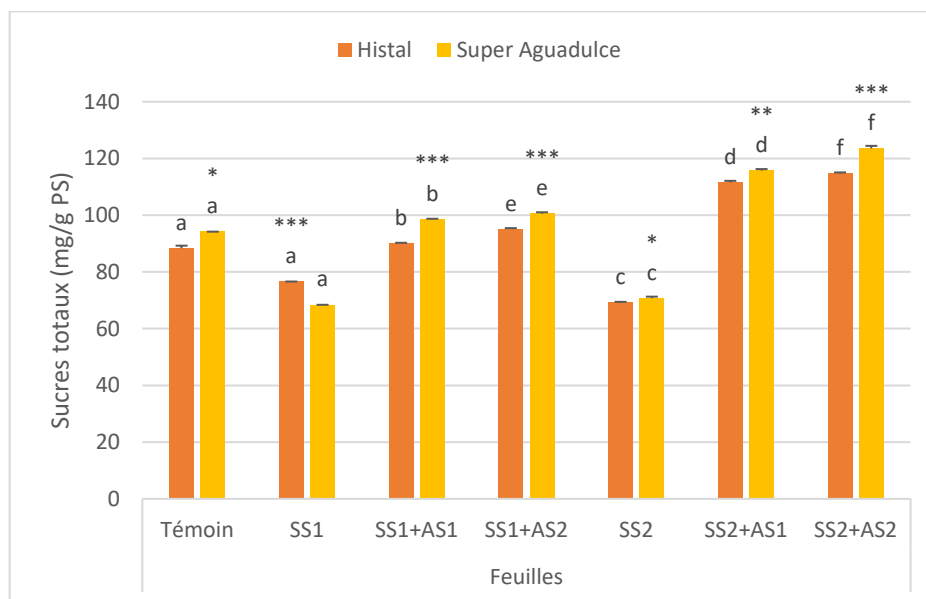
### 3.1.4. Teneur en sucres totaux des deux variétés : Histal et Super Aguadulce de la fève (*Vicia faba* L.)

Les traitements salins ont eu une incidence négative sur les sucres totaux des feuilles des deux variétés de la fève, chez la variété Histal nous avons enregistré 76,65 mg/g PS sous SS1 et 69,25 mg/g PS sous SS2 contre 88,69 mg/g PS (témoin), chez la variété Super Aguadulce nous avons quantifié 68,39 mg/g PS sous SS1 et 70,25 mg/g PS sous SS2 contre 94,07 mg/g PS (témoin).

L'acide salicylique combiné au NaCl a entraîné une augmentation de la teneur des feuilles en sucres totaux proportionnellement à la concentration de l'acide salicylique et ce chez les deux variétés. Les feuilles de la variété Histal soumise au SS1 ont accumulé 90,19 mg/g PS (AS1) et 95,39 mg/g PS (AS2), celles de la variété Super Aguadulce 98,74 mg/g PS (AS1) et

100,26 mg/g PS (AS2). Les feuilles de la variété *Histal* soumise au SS2 ont accumulé 112,07 mg/g PS (AS1) et 114,68 mg/g PS (AS2), celles de la variété *Super Aguadulce* 115,5 mg/g PS (AS1) et 123,86 mg/g PS (AS2).

Les teneurs en sucres totaux des feuilles de *Super Aguadulce* sont nettement supérieures à celles de *Histal*.



**Figure 39 :** Effet de l'AS sur les sucres totaux dans les feuilles de la fève (*Vicia faba* L.) stressée au NaCl

Les barres surmontées de la même lettre ne présentent pas de différence significative au sein d'une même variété ( $P = 0,05$ )

Les astérisques indiquent une différence significative entre les deux variétés soumises au même traitement

\*:  $P < 0,05$ ; \*\*:  $P < 0,01$ ; \*\*\*:  $P < 0,001$

SS: stress salin; AS: acide salicylique

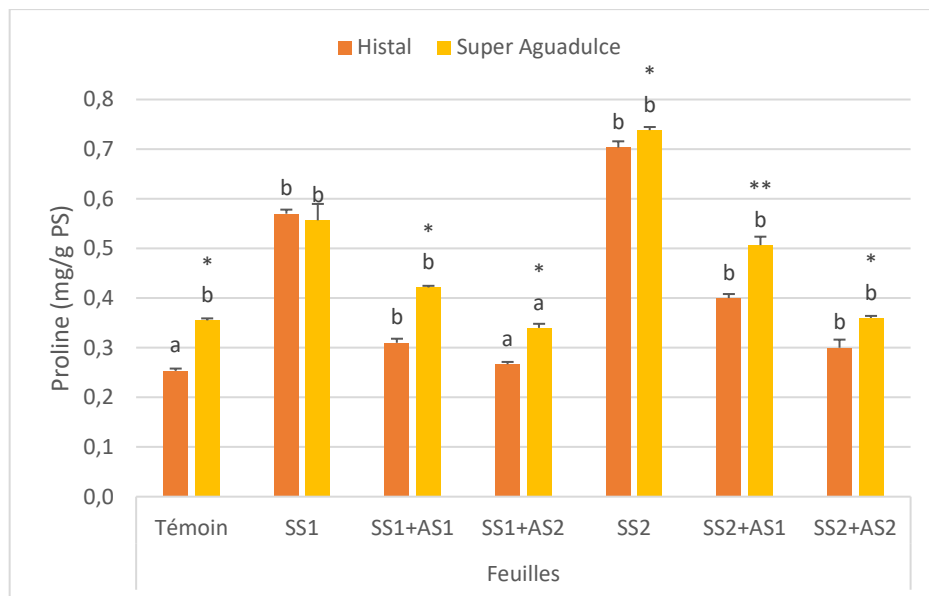
SS1: 100 mM NaCl; SS2: 200 mM NaCl; AS1 :  $10^{-5}$  M AS; AS2:  $10^{-4}$  M AS

mM = millimolaire ; mg = milligramme ; g = gramme ; PS = poids sec.

### 3.1.5. Teneur en proline des deux variétés : *Histal* et *Super Aguadulce* de la fève (*Vicia faba* L.)

Le NaCl a entraîné une augmentation significative de la proline dans les feuilles de la fève, proportionnellement aux doses du sel. Chez la variété *Histal* on a enregistré 0,57 mg/g PS (SS1) et 0,69 mg/g PS (SS2) contre seulement 0,25 mg/g PS (témoin). Chez la variété *Super*

Aguadulce on a quantifié 0,55 mg/g PS (SS1) et 0,74 mg/g PS (SS2) contre seulement 0,36 mg/g PS (témoin).



**Figure 40 :** Effet de l'AS sur la proline dans les feuilles de la fève (*Vicia faba* L.) stressée au NaCl

Les barres surmontées de la même lettre ne présentent pas de différence significative au sein d'une même variété (P = 0,05)

Les astérisques indiquent une différence significative entre les deux variétés soumises au même traitement

\*: P < 0,05; \*\*: P < 0,01; \*\*\*: P < 0,001

SS: stress salin; AS: acide salicylique

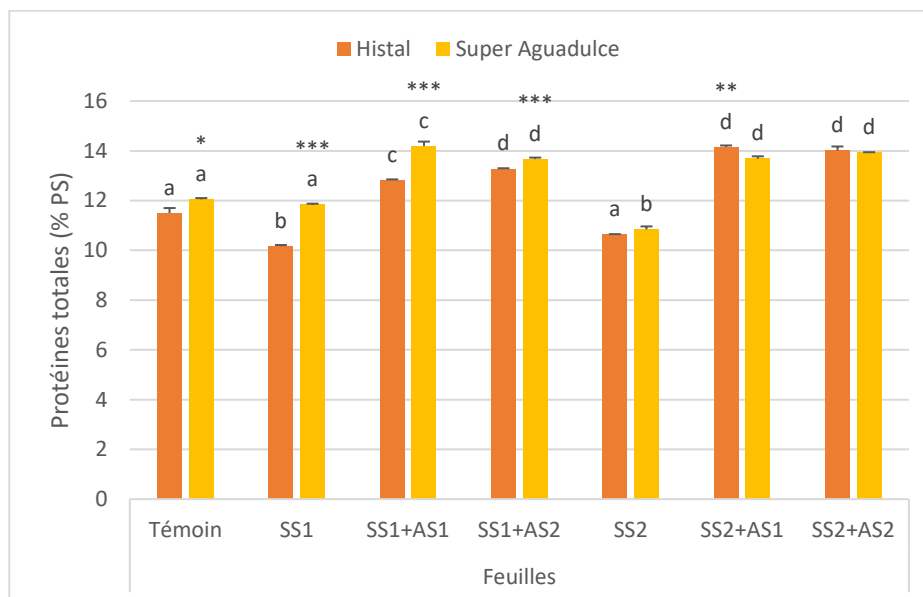
SS1: 100 mM NaCl; SS2: 200 mM NaCl; AS1 :10<sup>-5</sup> M AS; AS2: 10<sup>-4</sup> M AS

mM = millimolaire ; mg = milligramme ; g = gramme ; PS = poids sec.

L'ajout de l'AS a inversé la tendance en diminuant la teneur de la proline dans les feuilles, les plus importantes diminutions sont enregistrées chez les plantes des deux variétés Histal et Super Aguadulce traitées à l'AS2 quel que soit le niveau de la salinité, avec pour Histal 0,26 mg/g PS (SS1+AS2) et 0,32 mg/g PS (SS2+AS2), chez Super Aguadulce on a quantifié 0,34 mg/g PS (SS1+AS2) et 0,36 mg/g PS (SS2+AS2).

Les valeurs de la proline sont nettement supérieures chez la variété Super Aguadulce pour la quasi-totalité des traitements.

### 3.1.6. Teneur en protéines totales des deux variétés : *Histal* et *Super Aguadulce* de la fève (*Vicia faba* L.)



**Figure 41 :** Effet de l'AS sur les protéines totales dans les feuilles de la fève (*Vicia faba* L.) stressée au NaCl

Les barres surmontées de la même lettre ne présentent pas de différence significative au sein d'une même variété (P = 0,05)

Les astérisques indiquent une différence significative entre les deux variétés soumises au même traitement

\*: P < 0,05; \*\*: P < 0,01; \*\*\*: P < 0,001

SS: stress salin; AS: acide salicylique

SS1: 100 mM NaCl; SS2: 200 mM NaCl; AS1 :10<sup>-5</sup> M AS; AS2: 10<sup>-4</sup> M AS

mM = millimolaire ; PS = poids sec.

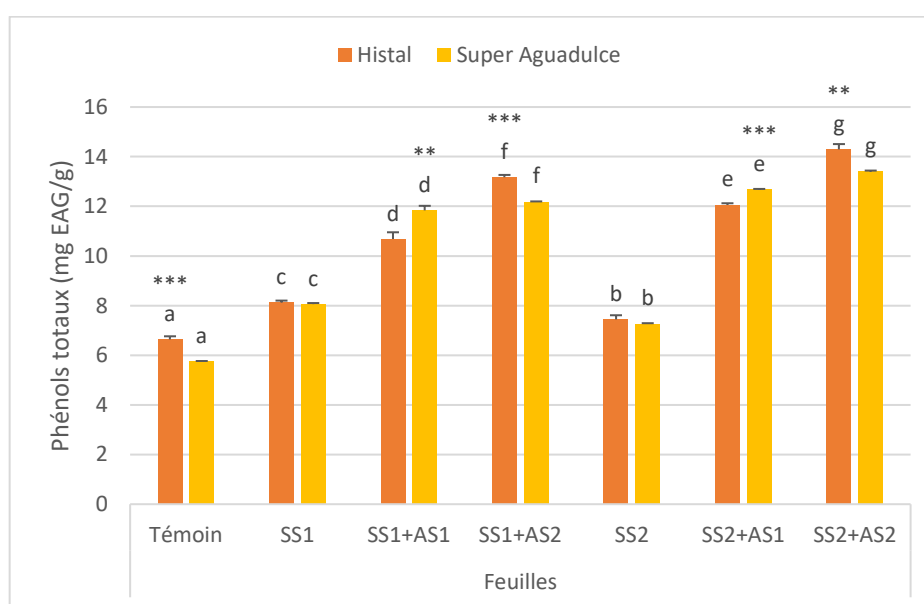
Le stress salin a entraîné une baisse des protéines totales dans les feuilles de la fève, chez la variété *Histal* on a enregistré 10,12% PS (SS1) et 10,63 % PS (SS2) contre 11.5 % PS (témoin). Chez la variété *Super Aguadulce* on a quantifié 11.87 % PS (SS1) et 10,89 % (SS2) contre 12 % (témoin).

L'acide salicylique combiné au NaCl a inversé la tendance en entraînant le taux des protéines totales à la hausse et ce chez les deux variétés étudiées. Chez la variété *Histal* soumise au SS1, l'augmentation des protéines a été proportionnelle à la dose de l'acide salicylique, on a enregistré 12.85 % PS (SS1+AS1) et 13,27 % PS (SS1+AS2). Chez la variété *Super Aguadulce* traitée à l'acide salicylique, les taux des protéines enregistrés avoisinaient les 13,8 % PS pour AS1 et AS2.

Sous SS1 la variété Super Aguadulce a accumulé plus de protéines que la variété Histal. Sous SS2 les valeurs de protéines quantifiées dans les feuilles des deux variétés étaient assez proche avec un léger avantage pour Histal.

### 3.1.7. Teneur en composés phénoliques des deux variétés : Histal et Super Aguadulce de la fève (*Vicia faba* L.)

#### a) Phénols totaux



**Figure 42 :** Effet de l'AS sur les phénols totaux dans les feuilles de la fève (*Vicia faba* L.) stressée au NaCl

Les barres surmontées de la même lettre ne présentent pas de différence significative au sein d'une même variété ( $P = 0,05$ )

Les astérisques indiquent une différence significative entre les deux variétés soumises au même traitement

\*:  $P < 0,05$ ; \*\*:  $P < 0,01$ ; \*\*\*:  $P < 0,001$

SS: stress salin; AS: acide salicylique

SS1: 100 mM NaCl; SS2: 200 mM NaCl; AS1 : $10^{-5}$  M AS; AS2:  $10^{-4}$  M AS

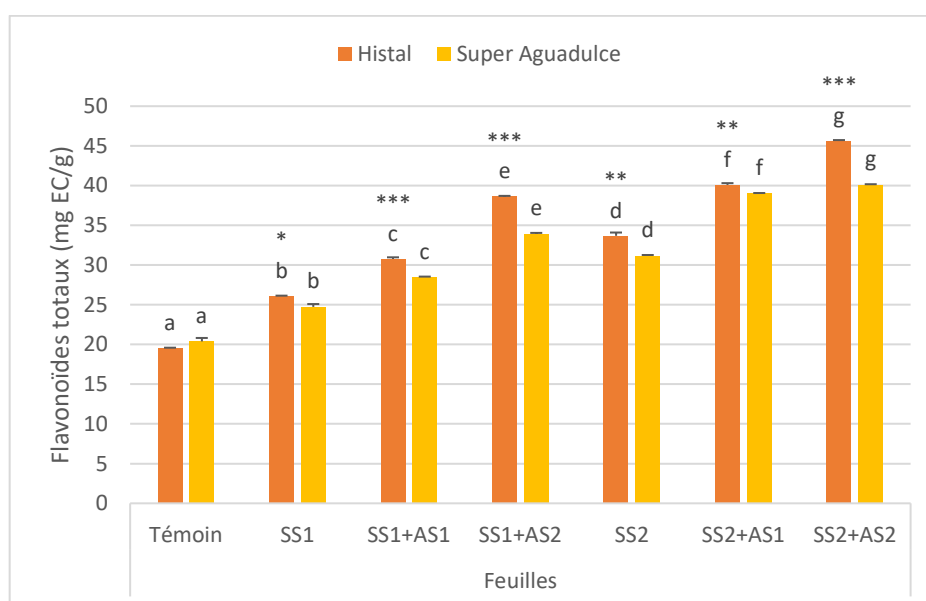
mM = millimolaire ; mg = milligramme ; EAG = équivalent acide gallique ; g = gramme.

La salinité a eu une incidence positive sur les composés phénoliques des feuilles de la fève, chez la variété Histal on a enregistré 8,15 mg EAG/g (SS1) et 7,42 mg EAG/g (SS2) contre seulement 6,62 mg EAG/g (témoin), chez Super Aguadulce on a quantifié 8,08 mg EAG/g (SS1) et 7,26 mg EAG/g (SS2) contre seulement 5,77 mg EAG/g (témoin).

Le traitement des plantules stressées avec de l'acide salicylique a augmenté davantage la teneur en composés phénoliques, la hausse est d'autant plus importante chez les plantules traitées à l'AS2 sous SS2, avec 14,38 mg EAG/g quantifiés chez la variété *Histal* et 13,45 mg EAG/g chez la variété *Super Aguadulce*.

La variété *Histal* a accumulé plus de phénols que la variété *Super Aguadulce* dans la quasi-totalité des traitements.

### b) Flavonoïdes



**Figure 43 :** Effet de l'AS sur les flavonoïdes dans les feuilles de la fève (*Vicia faba* L.) stressée au NaCl

Les barres surmontées de la même lettre ne présentent pas de différence significative au sein d'une même variété ( $P = 0,05$ )

Les astérisques indiquent une différence significative entre les deux variétés soumises au même traitement

\*:  $P < 0,05$ ; \*\*:  $P < 0,01$ ; \*\*\*:  $P < 0,001$

SS: stress salin; AS: acide salicylique

SS1: 100 mM NaCl; SS2: 200 mM NaCl; AS1 : $10^{-5}$  M AS; AS2:  $10^{-4}$  M AS

mM = millimolaire ; mg = milligramme ; EC = équivalent catéchine ; g = gramme.

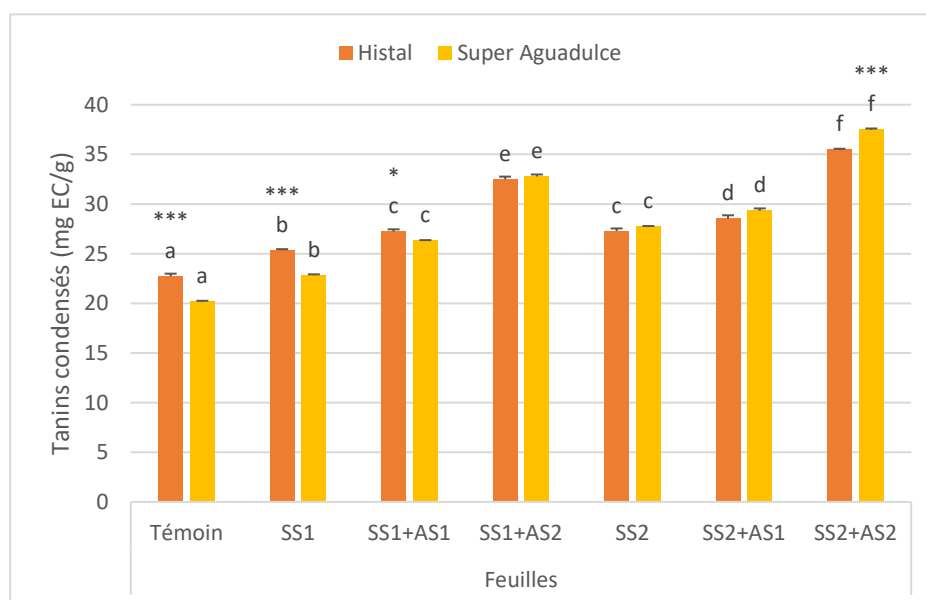
La salinité a eu un impact positif sur les flavonoïdes des feuilles de la fève chez les deux variétés *Histal* et *Super Aguadulce*, l'augmentation de la teneur en ces composés a été proportionnelle au degré de la salinité, chez *Histal* on a enregistré 26,13 mg EC/g (SS1) et 34,04 mg EC/g (SS2) contre seulement 19,56 mg EC/g (témoin), chez la variété *Super Aguadulce* on

a quantifié 24,97 mg EC/g (SS1) et 31,19 mg EC/g (SS2) contre seulement 20,13 mg EC/g (témoin).

L'acide salicylique combiné au NaCl a augmenté davantage la teneur en flavonoïdes, la plus importante hausse des flavonoïdes a été enregistrée chez les plantules traitées à l'AS2 sous SS2, avec 45,56 mg EC/g quantifiés chez *Histal* et 40,16 mg EC/g chez *Super Aguadulce*.

La variété *Histal* a accumulé plus de flavonoïdes que la variété *Super Aguadulce* dans tous les traitements.

### c) Tanins condensés



**Figure 44 :** Effet de l'AS sur les tanins condensés dans les feuilles de la fève (*Vicia faba* L.) stressée au NaCl

Les barres surmontées de la même lettre ne présentent pas de différence significative au sein d'une même variété (P = 0,05)

Les astérisques indiquent une différence significative entre les deux variétés soumises au même traitement

\*: P < 0,05; \*\*: P < 0,01; \*\*\*: P < 0,001

SS: stress salin; AS: acide salicylique

SS1: 100 mM NaCl; SS2: 200 mM NaCl; AS1 :10<sup>-5</sup> M AS; AS2: 10<sup>-4</sup> M AS

mM = millimolaire ; mg = milligramme ; EC = équivalent catéchine ; g = gramme.

La salinité a entraîné une augmentation des tannins condensés dans les feuilles des deux variétés de la fève, la hausse de ces composés est proportionnelle à la concentration du sel. Chez la variété *Histal* on a quantifié 25,23 mg EC/g (SS1) et 27,42 mg EC/g (SS2) contre seulement

22,97 mg EC/g (témoin), chez Super Aguadulce on a enregistré 22,89 mg EC/g (SS1) et 27,72 mg EC/g (SS2) contre seulement 20,10 mg EC/g (témoin).

L'acide salicylique a augmenté davantage la teneur en tanins condensés des plantes des deux variétés stressées à l'NaCl, la plus importante hausse des tanins condensés a été enregistrée chez les plantules traitées à l'AS2 sous SS2, avec 35,59 mg EC/g quantifiés chez Histal et 37,61 mg EC/g chez Super Aguadulce.

Les deux variétés de la fève : Histal et Super Aguadulce ont accumulé les tannins dans leurs feuilles dans des proportions variables.

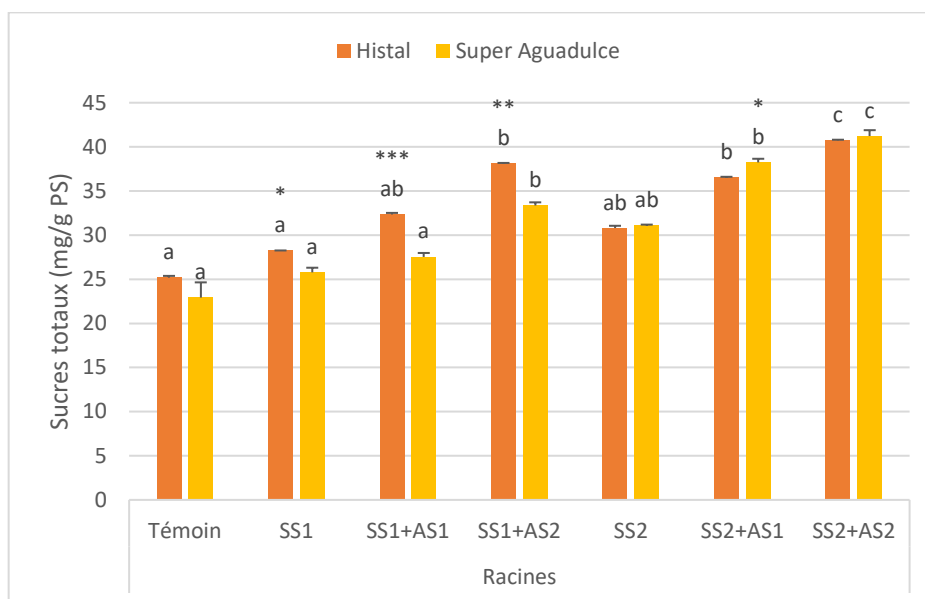
### **3.2. Racines**

#### **3.2.1. Teneur en sucres totaux des deux variétés : Histal et Super Aguadulce de la fève (*Vicia faba* L.)**

Les traitements salins ont augmenté les sucres totaux dans les racines des deux variétés de la fève étudiées, chez Histal on a enregistré 28,20 mg/g PS (SS1) et 30,67 mg/g PS (SS2) contre seulement 25,12 mg/g PS (témoin), chez Super Aguadulce on a quantifié 25,98 mg/g PS (SS1) et 31,23 mg/g PS (SS2) contre seulement 23,8 mg/g PS (témoin).

L'acide salicylique combiné au NaCl a davantage augmenté la teneur des racines en sucres proportionnellement à la concentration de l'AS. Les racines des plantes de la variété Histal soumise au SS1 ont accumulé 32,24 mg/g PS (AS1) et 38,03 mg/g PS (AS2), celles soumises au SS2 ont accumulé 36,63 mg/g PS (AS1) et 40,81 mg/g PS (AS2). Chez la variété Super Aguadulce, les racines des plantes soumises au SS1 ont accumulé 27,89 mg/g PS (AS1) et 33,67 mg/g PS (AS2), celles soumises au SS2 ont accumulé 38,51 mg/g PS (AS1) et 41,3 mg/g PS (AS2).

Sous SS1 les racines de Histal ont accumulé davantage de sucres que celles de Super Aguadulce, sous SS2 l'accumulation des sucres était assez proche pour les deux variétés avec un léger avantage pour Super Aguadulce.



**Figure 45 :** Effet de l'AS sur les sucres totaux dans les racines de la fève (*Vicia faba* L.) stressée au NaCl

Les barres surmontées de la même lettre ne présentent pas de différence significative au sein d'une même variété ( $P = 0,05$ )

Les astérisques indiquent une différence significative entre les deux variétés soumises au même traitement

\*:  $P < 0,05$ ; \*\*:  $P < 0,01$ ; \*\*\*:  $P < 0,001$

SS: stress salin; AS: acide salicylique

SS1: 100 mM NaCl; SS2: 200 mM NaCl; AS1 :  $10^{-5}$  M AS; AS2:  $10^{-4}$  M AS

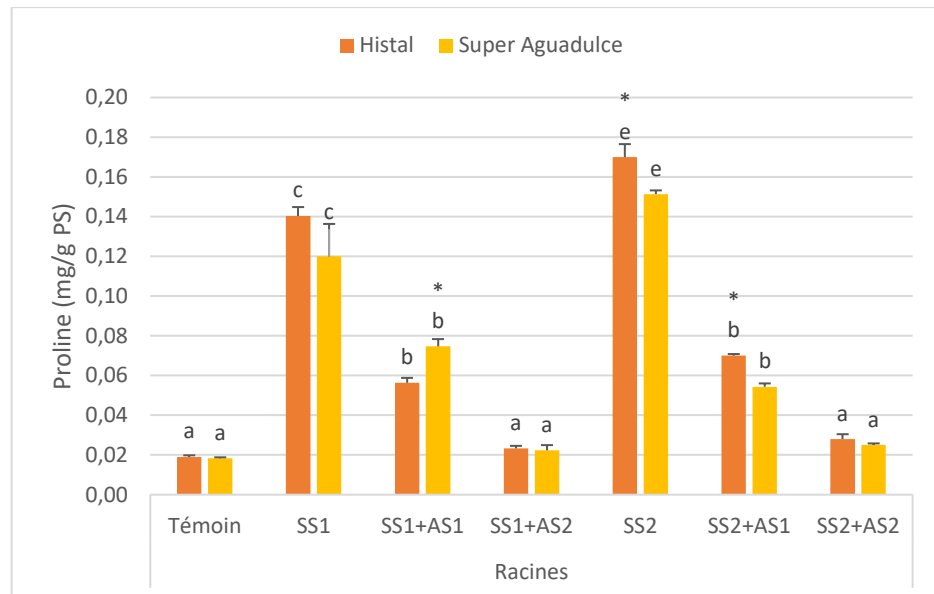
mM = millimolaire ; mg = milligramme ; g = gramme ; PS = poids sec.

### 3.2.2. Teneur en proline des deux variétés : Histal et Super Aguadulce de la fève (*Vicia faba* L.)

Le NaCl a entraîné une augmentation significative de la proline dans les racines des deux variétés de la fève, proportionnellement aux doses du sel, chez Histal on a enregistré 0,14 mg/g PS (SS1) et 0,17 mg/g PS (SS2) contre seulement 0,019 mg/g PS (témoin), chez Super Aguadulce on a quantifié 0,10 mg/g PS (SS1) et 0,15 mg/g PS (SS2) contre seulement 0,018 mg/g PS (témoin).

L'ajout de l'AS a inversé la tendance en diminuant la teneur de la proline accumulée dans les racines, les diminutions les plus importantes sont enregistrés chez les plantes des deux variétés traitées à l'AS2 quel que soit le niveau de la salinité. Chez la variété Histal, les racines ont accumulé 0,023 mg/g PS (SS1) et 0,028 mg/g PS (SS2), chez la variété Super Aguadulce, les racines ont accumulé 0,020 mg/g PS (SS1) et 0,025 mg/g PS (SS2).

Les deux variétés ont accumulé des quantités assez proches de proline avec un léger avantage pour *Histal*.



**Figure 46** : Effet de l'AS sur la proline dans les racines de la fève (*Vicia faba* L.) stressée au NaCl

Les barres surmontées de la même lettre ne présentent pas de différence significative au sein d'une même variété (P = 0,05)

Les astérisques indiquent une différence significative entre les deux variétés soumises au même traitement

\*: P < 0,05; \*\*: P < 0,01; \*\*\*: P < 0,001

SS: stress salin; AS: acide salicylique

SS1: 100 mM NaCl; SS2: 200 mM NaCl; AS1 :10<sup>-5</sup> M AS; AS2: 10<sup>-4</sup> M AS

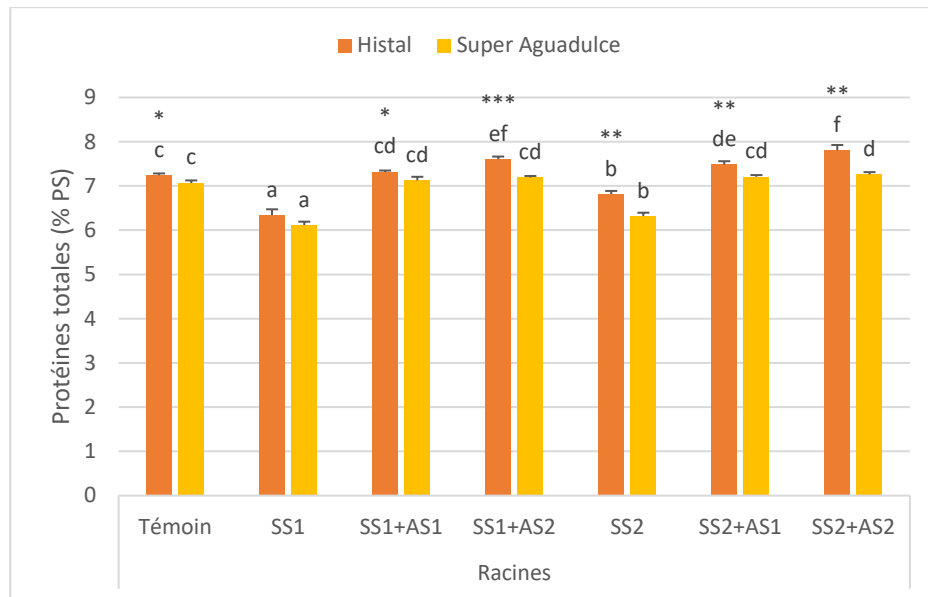
mM = millimolaire ; mg = milligramme ; g = gramme ; PS = poids sec.

### 3.2.3. Teneur en protéines totales des deux variétés : *Histal* et *Super Aguadulce* de la fève (*Vicia faba* L.)

Les traitements salins ont entraîné une baisse dans les protéines totales des racines des deux variétés de la fève étudiées. Chez la variété *Histal* on a enregistré 6.38% PS (SS1) et 6.83 % PS (SS2) contre 7.25 % PS (témoin), chez *Super Aguadulce* on a quantifié 6.05 % PS (SS1) et 6.39 % PS (SS2) contre 7 % PS (témoin).

L'acide salicylique a inversé la tendance baissière en entraînant à la hausse le taux des protéines totales. L'augmentation des protéines est proportionnelle à la concentration de l'acide salicylique quel que soit la dose du sel et ce chez les deux variétés étudiées. Les taux les plus importants ont été quantifiés lorsque l'AS2 a été combiné au SS2 avec 7,86 % PS chez *Histal* et 7.25 % PS chez *Super Aguadulce*.

La variété *Histal* a accumulé plus de protéines dans ses racines que la variété *Super Aguadulce*.



**Figure 47 :** Effet de l'AS sur les protéines totales dans les racines de la fève (*Vicia faba* L.) stressée au NaCl

Les barres surmontées de la même lettre ne présentent pas de différence significative au sein d'une même variété ( $P = 0,05$ )

Les astérisques indiquent une différence significative entre les deux variétés soumises au même traitement

\*:  $P < 0,05$ ; \*\*:  $P < 0,01$ ; \*\*\*:  $P < 0,001$

SS: stress salin; AS: acide salicylique

SS1: 100 mM NaCl; SS2: 200 mM NaCl; AS1 :  $10^{-5}$  M AS; AS2:  $10^{-4}$  M AS

mM = millimolaire ; PS = poids sec.

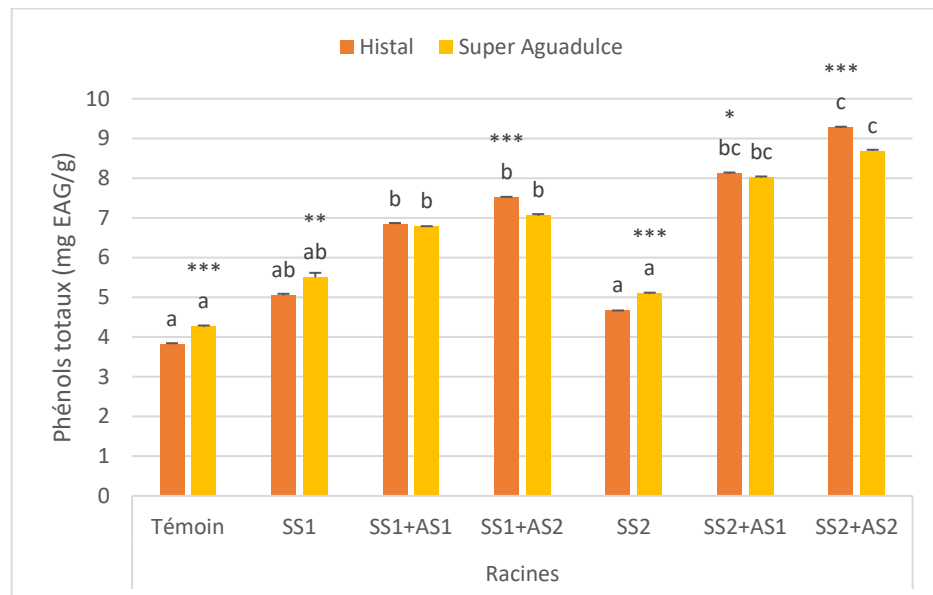
### 3.2.4. Teneur en composés phénoliques des deux variétés : *Histal* et *Super Aguadulce* de la fève (*Vicia faba* L.)

#### a) Phénols totaux

La salinité a eu une incidence positive sur les composés phénoliques des racines des deux variétés de la fève, chez *Histal*, les racines ont accumulé 5,04 (SS1) et 4,66 (SS2) contre seulement 3,85 (témoin), les racines de la variété *Super Aguadulce* ont accumulé 5,45 (SS1) et 5,09 (SS2) contre seulement 4,23 (témoin).

Le traitement des plantes stressées avec de l'acide salicylique a augmenté davantage la teneur des racines en composés phénoliques, la hausse est d'autant plus importante chez les plantes traitées à l'AS2 sous SS2 ; chez *Histal* on a enregistré 9,27 mg EAG/g (SS2+AS2), chez *Super Aguadulce* 8,64 mg EAG/g (SS2+AS2).

La variété *Super Aguadulce* stressée au SS1 et au SS2 a accumulé plus de phénols que la variété *Histal*. Le traitement à l'acide salicylique a inversé la tendance, *Histal* a pris le dessus en accumulant davantage de phénols.



**Figure 48** : Effet de l'AS sur les phénols totaux dans les racines de la fève (*Vicia faba* L.) stressée au NaCl

Les barres surmontées de la même lettre ne présentent pas de différence significative au sein d'une même variété ( $P = 0,05$ )

Les astérisques indiquent une différence significative entre les deux variétés soumises au même traitement

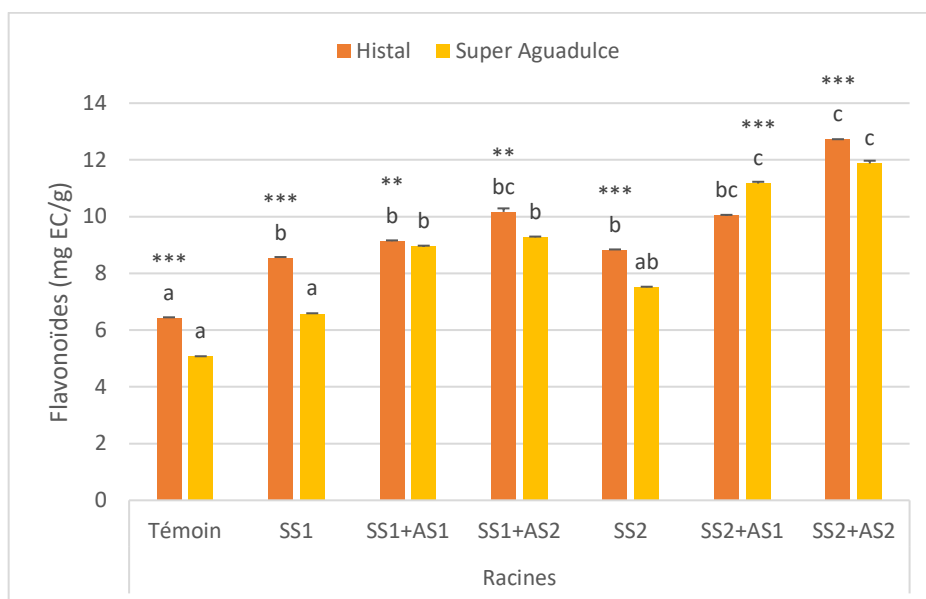
\*:  $P < 0,05$ ; \*\*:  $P < 0,01$ ; \*\*\*:  $P < 0,001$

SS: stress salin; AS: acide salicylique

SS1: 100 mM NaCl; SS2: 200 mM NaCl; AS1 :  $10^{-5}$  M AS; AS2:  $10^{-4}$  M AS

mM = millimolaire ; mg = milligramme ; EAG = équivalent acide gallique ; g = gramme.

## b) Flavonoïdes



**Figure 49 :** Effet de l'AS sur les flavonoïdes dans les racines de la fève (*Vicia faba* L.) stressée au NaCl

Les barres surmontées de la même lettre ne présentent pas de différence significative au sein d'une même variété ( $P = 0,05$ )

Les astérisques indiquent une différence significative entre les deux variétés soumises au même traitement

\*:  $P < 0,05$ ; \*\*:  $P < 0,01$ ; \*\*\*:  $P < 0,001$

SS: stress salin; AS: acide salicylique

SS1: 100 mM NaCl; SS2: 200 mM NaCl; AS1 :  $10^{-5}$  M AS; AS2:  $10^{-4}$  M AS

mM = millimolaire ; mg = milligramme ; EC = équivalent catéchine ; g = gramme.

La salinité a eu un impact positif sur les flavonoïdes des racines de la fève chez les deux variétés étudiées, l'augmentation de la teneur en ces composés a été proportionnelle au degré de la salinité. Chez la variété Histal, les racines ont accumulé 8,58 mg EC/g (SS1) et 8,82 mg EC/g (SS2) contre seulement 6,45 mg EC/g (témoin), les racines de la variété Super Aguadulce ont accumulé 6,57 mg EC/g (SS1) et 7,53 mg EC/g (SS2) contre seulement 5,08 mg EC/g (témoin).

L'acide salicylique combiné au NaCl a augmenté davantage la teneur en flavonoïdes, la plus importante hausse des flavonoïdes a été enregistrée chez les plantes traitées à l'AS2 sous SS2, où 12,73 mg EC/g ont été quantifiés chez Histal et 11,86 mg EC/g chez Super Aguadulce.

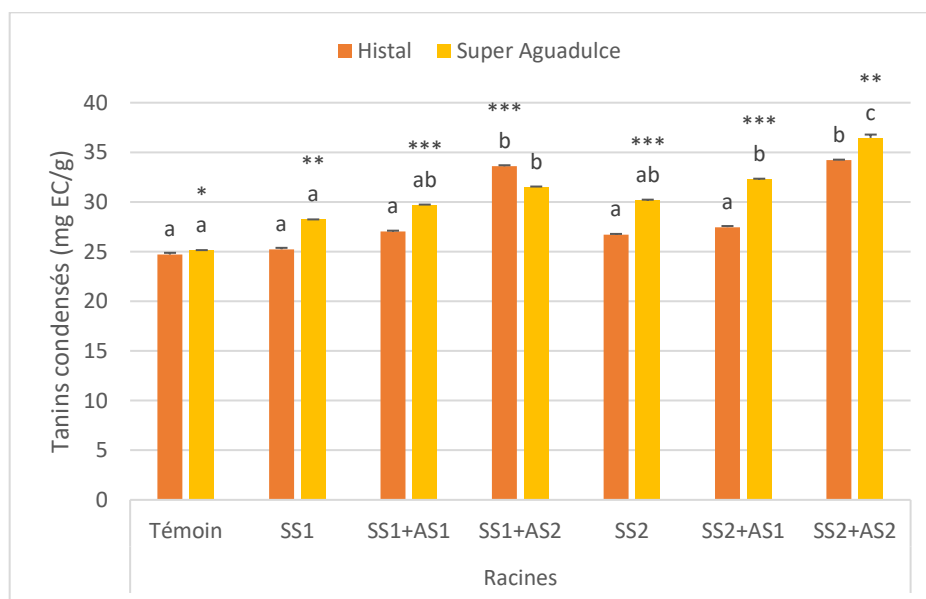
La variété Histal a accumulé plus de flavonoïdes dans ses racines que la variété Super Aguadulce sauf pour (SS2+AS1).

## d) Tanins condensés

La salinité a entraîné une augmentation des tanins condensés dans les racines des deux variétés de la fève, la hausse de ces composés est proportionnelle à la concentration du sel. Chez la variété *Histal* on a enregistré 25,14 mg EC/g (SS1) et 26,74 mg EC/g (SS2) contre seulement 24,53 mg EC/g (témoin), chez *Super Aguadulce* on a quantifié 28,23 mg EC/g (SS1) et 30,16 mg EC/g (SS2) contre seulement 25,10 mg EC/g (témoin).

L'acide salicylique a augmenté davantage la teneur en tanins condensés des plantules des deux variétés stressées à l'NaCl, la plus importante hausse des tanins condensés a été enregistrée chez les plantules traitées à l'AS2 sous SS2, où 34,28 mg EC/g ont été enregistré chez *Histal* et 36,58 mg EC/g chez *Super Aguadulce*.

La variété *Super Aguadulce* a accumulé davantage de tanins dans ses racines que la variété *Histal* sauf pour (SS1+AS2).



**Figure 50 :** Effet de l'AS sur les tanins condensés dans les racines de la fève (*Vicia faba* L.) stressée au NaCl

Les barres surmontées de la même lettre ne présentent pas de différence significative au sein d'une même variété (P = 0,05)

Les astérisques indiquent une différence significative entre les deux variétés soumises au même traitement

\*: P < 0,05; \*\*: P < 0,01; \*\*\*: P < 0,001

SS: stress salin; AS: acide salicylique

SS1: 100 mM NaCl; SS2: 200 mM NaCl; AS1 :10<sup>-5</sup> M AS; AS2: 10<sup>-4</sup> M AS

mM = millimolaire ; mg = milligramme ; EC = équivalent catéchine ; g = gramme.

#### 4. Discussion

L'un des plus importants indices qui révèlent le statut hydrique de la plante est la teneur en eau relative (TER). La TER est un paramètre physiologique qui permet d'évaluer la réponse des plantes aux stress environnementaux (Nautiyal et al., 2002). Nos résultats ont montré que le stress salin (SS) a réduit la TER des feuilles des deux variétés de la fève étudiées Histal et Super Aguadulce. La baisse de la TER a été proportionnelle à la dose du sel appliqué, elle était plus importante chez les plantes traitées au SS2 (200 mM NaCl) qu'aux plantes traitées au SS1 (100 mM NaCl) et ce chez les deux variétés. Nos résultats sont conformes à de nombreux travaux dont ceux de Hussain et al. (2011) qui ont travaillé sur (*Viola odorata*. L) et ont constaté que la TER a été réduite en dessous de 60% sous l'effet du stress salin. Yusuf et al. (2008) ont également enregistré une baisse de la TER proportionnelle à l'augmentation du NaCl chez (*Brassica juncea* .L). La réduction de la TER chez les plantes soumises au stress salin est considérée comme une réponse rapide et économique d'ajustement osmotique (Lissner et al., 1999). La baisse de la TER des plantes stressées est due à l'inaccessibilité de l'eau du sol (Chaves et al., 2002). Les dommages causés par le stress salin peuvent être attribués au stress hydrique ou une sorte de sécheresse physiologique générée par le NaCl (Hopkins, 1995).

L'acide salicylique s'est efficacement opposé à l'impact négatif du sel. Des travaux antérieurs ont soutenu cette thèse, Senaratna et al. (2000) ont prouvé que l'acide salicylique a un effet protecteur avéré chez la tomate et le haricot. D'autres résultats ont montré que le traitement des plantes du poivron soumises au stress salin avec de l'acide salicylique augmente la TER dans les feuilles de ces plantes (Amirinejad et al., 2017).

L'augmentation de la TER peut être expliquée par le rôle que joue l'acide salicylique dans l'accumulation des solutés compatibles chez les plantes soumises au stress salin. Le maintien d'une TER élevée est une caractéristique clé qui permet aux plantes d'absorber les osmolytes en dépensant moins d'énergie (Amirinejad et al., 2017).

La réduction des pigments chlorophylliens figure parmi les symptômes du stress salin. Cette réduction varie selon les espèces (Colom et Vazzana, 2001). Dans la présente étude la baisse des chlorophylles 'a' et 'b' a été enregistrée chez les plantes des deux variétés de la fève Histal et Super Aguadulce stressées au sel, avec cependant une baisse plus marquée causée par le SS2 (200 mM NaCl). Dans ce sens, il y a beaucoup d'études qui témoignent d'une baisse accrue de la chlorophylle suite à l'exposition des plantes au stress salin (Chen et al., 2011). Les

stress abiotiques entraînent une augmentation des ROS dans les cellules de la plante, ces radicaux libres causent une peroxydation et par conséquent détruisent les pigments photosynthétiques (Schütz et Fangmeier, 2001) ce qui affecte négativement la croissance des plantes.

Dans notre expérimentation, la pulvérisation foliaire de l'AS a été bénéfique pour les plantes dans la mesure où la teneur en chlorophylles 'a' et 'b' a été revue à la hausse en dépit du stress salin auquel sont soumises les plantes de la fève, cet effet positif (bénéfique) pourrait être dû au rôle que joue l'acide salicylique en favorisant l'absorption sélective et l'accumulation de plus de potassium et moins de sodium (Elwan et al Shatoury, 2014). Amirinejad et al. (2017) suggèrent que l'amélioration de la teneur en chlorophylle chez les plantes du poivron (*Capsicum annuum* L.) soumises au stress salin a lieu grâce à l'élimination des ROS par l'acide salicylique. Idrees et al. (2011) rapportent que la tolérance au stress salin induite par l'AS pourrait être associée à l'augmentation de l'activité antioxydante.

Selon Shi et al. (2006) l'acide salicylique pourrait être impliqué dans la biosynthèse de la chlorophylle. L'application de l'acide salicylique chez le maïs (Khodary, 2004), l'orge (El Tayeb, 2005), le blé (Agrawal et al., 2005) et *Brassica napus* L. (Ghai et al., 2002) a augmenté la chlorophylle 'a' dans ces plantes.

Nos résultats à l'instar de ceux précités, ont démontré que l'acide salicylique peut éliminer les effets négatifs de la salinité en augmentant les pigments chlorophylliens 'a' et 'b'.

Les sucres s'accumulent dans les plantes pour l'ajustement osmotique en réponse à la salinité. Dans notre étude le stress salin a entraîné une baisse des sucres totaux dans les feuilles de la fève chez les deux variétés étudiées, par contre un effet inverse a été enregistré dans les racines sous ces mêmes conditions.

Les résultats concernant l'effet du stress salin et hydrique sur l'accumulation des sucres diffèrent. Certains ont reporté que le taux des sucres augmente sous les conditions salines (Jones et Turner, 1980), d'autres confirment que les sucres sont plutôt réduits sous stress salin (Hanson et Hitz, 1982), d'autres encore affirment que les sucres demeurent stables sous ces conditions (Morgan, 1992).

L'application de l'acide salicylique aux plantes de la fève stressées au NaCl a entraîné une augmentation des sucres dans les deux organes étudiés : feuilles et racines (Shaki et al., 2018). L'accumulation des sucres a été observée dans beaucoup de plantes stressées au sel

(kerepesi et Galiba, 2000 ; Singh et *al.*, 2000). Les fonctions principales des glucides sont la fourniture de carbone, le piégeage des radicaux et l'ajustement osmotique dans les cellules de la plante (Parida et Das, 2005). Une forte concentration des sucres contribue à la prévention des dommages oxydatifs et au maintien de la structure des protéines sous des conditions de stress salin, leur groupe hydroxyle peut substituer l'eau pour maintenir les interactions hydrophiles des protéines et prévenir leur dénaturation (Hassanpour et *al.*, 2013). La teneur élevée en sucres induite par le traitement des plantes par l'acide salicylique pourrait être le résultat de l'accumulation de la chlorophylle et l'augmentation de l'activité photosynthétique de la plante (Singh et Gautam, 2013)

L'acide salicylique serait impliqué dans la régulation de l'ajustement osmotique en maintenant un équilibre entre le métabolisme des glucides et le stress salin chez les plantes (Singh et Gautam, 2013).

La proline est un autre composé important du système de défense de la plante contre la salinité. Le taux de la proline s'est considérablement élevé suite aux traitements par le NaCl des plantes de la fève (*Vicia faba* L.) des deux variétés et dans les deux organes étudiés. La hausse de la proline a été proportionnelle à la dose du sel (NaCl) appliquée. Ceci pourrait être expliqué par la génération d'une sécheresse physiologique par le NaCl, confirmé par la baisse de la TER, ce qui aurait activé les enzymes de biosynthèse de la proline et supprimé celles (enzymes) responsable de sa (proline) dégradation et par conséquent l'accumulation d'un taux élevé de proline (Yusuf et *al.*, 2008).

Des travaux antérieurs dont ceux de Sultana et *al.* (1999) sur le riz, Soussi et *al.* (1999) sur le pois chiche et Ghoulam et *al.* (2002) sur la betterave ont également rapporté une augmentation de la proline sous l'effet du NaCl.

L'osmoprotection est un phénomène physiologique durant lequel le potentiel osmotique des tissus de la plante stressée est réduit grâce à l'accumulation de sucres, des acides aminés (proline) et des acides organiques, ce qui assure un bon maintien de la pression de turgescence des cellules (Irigoyen et *al.*, 1992).

Dans notre étude l'acide salicylique a réduit significativement la teneur en proline dans les feuilles et les racines des deux variétés de la fève *Histal* et *Super Aguadulce* soumises au stress salin. Nos résultats sont conformes avec certains travaux sur l'effet de l'AS sur d'autres plantes stressées à la salinité dont *Carthamus tinctorius* L. (Shaki et *al.*, 2018), *Phaseolus*

*vulgaris* L. (Palma et al., 2009), *Artemisia annual* (Aftab et al., 2011). Ces travaux ont observé une réduction de la proline suite au traitement des plantes par l'acide salicylique. Cette réduction indique une amélioration des effets délétères du stress salin par l'AS qui serait responsable du maintien de la croissance des plantes sous des conditions salines.

Les protéines jouent un rôle crucial dans les mécanismes de défense contre le stress chez les plantes (Holuigue et al., 2007). Dans cette étude le taux des protéines totales dans les feuilles et les racines des deux variétés : Histal et Super Aguadulce a été réduit sous l'effet du stress salin. Ashraf et al. (2002) ont également enregistré une baisse dans les protéines solubles totales due à la salinité chez le cotonnier. Selon Ashraf et al. (2005) cette baisse peut être due à la réduction de l'activité nitrate réductase. Le métabolisme azoté pouvant être sérieusement perturbé par la salinité, ce qui empêcherait la synthèse de nombreux composés organiques comme les protéines, les enzymes et les phytohormones (Meloni et al., 2004). D'autres travaux ont abordé la réduction des protéines dans les conditions sévères de stress salin (Agastian et al., 2000) cette réduction pourrait être due à la non disponibilité des acides aminés et la dénaturation des enzymes impliqués dans la synthèse des protéines (Hassanpoor et al., 2013).

La pulvérisation foliaire de l'acide salicylique dans notre étude a induit une augmentation dans les teneurs en protéines totales des feuilles et racines des plantes stressées au sel. Les travaux de El Tayeb (2005) sur des cultures de maïs conduite sous des conditions de stress salin ont révélé que l'application de l'acide salicylique augmente les protéines et les acides aminés. Shaki et al. (2018) ont enregistré dans leur expérimentation un changement significative dans la teneur en protéines suite à l'application exogène de l'acide salicylique. Hayat et al. (2010) reportent que l'apport exogène d'acide salicylique protège et augmente les enzymes impliqués dans le métabolisme azoté dans les environnements stressants, il interfère également dans le processus de formation de nodules chez les légumineuses, par conséquent le développement des nodules n'est pas entravé. Selon ces mêmes auteurs la hausse des protéines est aussi due à l'augmentation de l'activité des enzymes antioxydantes grâce à l'acide salicylique. La neutralisation des ROS favorisée par l'acide salicylique se traduisant par la réduction de l'oxydation des acides aminés et la rupture des structures des protéines explique cette augmentation du taux des protéines chez les plantes stressées (Kabiri et al., 2014).

Les composés phénoliques sont une importante classe de métabolites secondaires qui jouent un rôle dans les mécanismes physiologiques de la résistance aidant les plantes à faire face aux différents types de stress (Mazid et al., 2011). Grâce à leurs propriétés antioxydantes

qui neutralisent les espèces réactives d'oxygène générées par les différents facteurs de stress, leur biosynthèse est déclenchée durant les stress biotiques et abiotiques (Khalil et *al.*, 2018).

Les doses croissantes de NaCl : SS1 (100 mM) et SS2 (200 mM) ont entraîné une hausse de tous les composés phénoliques étudiés, phénols totaux, flavonoïdes et tanins condensés dans les feuilles et les racines des deux variétés de la fève étudiées et l'application des différentes concentrations d'acide salicylique a davantage augmenté la synthèse de ces composés, il s'agit d'un effet additionnel. D'autres travaux dont ceux de Shaki et *al.* (2018) sur *Carthamus tinctorius* L. ont obtenu des résultats similaires, leurs travaux ont montré que la production des composés phénoliques dont les flavonoïdes a augmenté considérablement avec l'augmentation des doses du sel appliquées, l'ajout de l'acide salicylique durant la même période expérimentale a entraîné une plus grande production de flavonoïdes comparée aux plantes témoins, cette augmentation a été d'autant plus élevée chez les plantes soumises à de sévères traitements salins. Des résultats similaires sont obtenus également chez le riz (Chutipaijit et *al.*, 2009). L'acide salicylique serait à l'origine de cette surproduction de composés phénoliques à travers l'induction de l'expression de gènes d'enzymes impliquées dans le métabolisme et l'accumulation des composés secondaires incluant les flavonoïdes (Yan et *al.*, 2009)

La pulvérisation foliaire de l'acide salicylique peut atténuer le stress salin à travers une augmentation conséquente de la biosynthèse des composés phénoliques.

## 5. Conclusion

Nos résultats ont montré que l'acide salicylique aide les plantes de la fève (*Vicia faba* L.) des deux variétés *Histal* et *Super Aguadulce* à mieux gérer la contrainte saline provoquée par l'application de deux concentrations croissantes de NaCl : SS1 (100 mM) et SS2 (200 mM).

Les deux doses d'acide salicylique testées ont été bénéfiques pour les plantes stressées avec néanmoins quelque fois un meilleur effet lorsque la plus forte dose d'AS ( $10^{-4}$  M) a été combinée à la plus forte concentration de NaCl (200 mM), et la plus faible dose d'AS ( $10^{-5}$  M) associée à la plus faible concentration de NaCl (100 mM), notamment pour la teneur en eau relative et la chlorophylle.

L'acide salicylique a corrigé la tendance baissière des sucres et des protéines provoquée par le stress et a régulé le taux de proline dans les feuilles et les racines des plantes de la fève.

La quantification des métabolites secondaires a révélé que l'application de l'acide salicylique aux plantes stressées au NaCl augmente davantage l'accumulation de ces composés dans les feuilles et les racines de la fève, il s'agit d'un effet additionnel, et les plus fortes concentrations des métabolites secondaires ont été enregistrées chez les plantes soumises à la plus forte concentration de NaCl combinée à la plus forte dose d'acide salicylique (SS2+AS2).

Bien que les deux variétés aient répondu au stress salin par une accumulation des composés biochimiques et phytochimiques, il en ressort néanmoins que le mécanisme de tolérance adopté par Super Aguadulce est davantage axé sur la synthèse des métabolites primaires, dans la mesure où elle en a accumulé des taux supérieurs à ceux accumulés par Histal. Cependant, la variété Histal a accumulé préférentiellement les métabolites secondaires, ces derniers ont atteint des taux nettement supérieurs à ceux quantifiés chez Super Aguadulce. Cette tendance est d'autant plus évidente au niveau des feuilles.

---

***CONCLUSION GENERALE ET  
PERSPECTIVES***

---

## **Conclusion générale et perspectives**

Le travail réalisé pour l'élaboration de cette thèse est une contribution à l'étude de la réponse à la salinité d'une légumineuse alimentaire (*Vicia faba* L.), et l'évaluation de l'effet sur cette réponse d'un apport exogène de calcium ( $\text{CaCl}_2$ ) ou d'acide salicylique (AS) combiné à la contrainte saline ( $\text{NaCl}$ ), à travers le dosage de différents composés biochimiques et phytochimiques accumulés dans les feuilles et les racines.

Notre travail se décline en deux essais, le premier essai portant sur la variété Aguadulce de la fève (*V. faba* L.), soumise durant sa floraison à trois régimes croissants de  $\text{NaCl}$  : 50 mM, 100 mM, 200 mM et deux régimes de  $\text{NaCl}$  additionné de  $\text{CaCl}_2$  : 100 mM  $\text{NaCl}$  + 100 mM  $\text{CaCl}_2$  et 100 mM  $\text{NaCl}$  + 150 mM  $\text{CaCl}_2$ .

Les métabolites primaires comprenant les sucres totaux, la proline et les protéines totales, ainsi que les métabolites secondaires dont les phénols totaux, les flavonoïdes et les tanins condensés ont été quantifiés dans les feuilles et les racines des plantes d'Aguadulce ayant subi les différents traitements salins.

Les résultats des dosages ont révélé une augmentation considérable des concentrations de la majorité des métabolites dosés proportionnellement à l'augmentation des doses de  $\text{NaCl}$ . L'augmentation des métabolites primaires démontre le recours de la plante à la synthèse et à l'accumulation de molécules osmorégulatrices dans son cytoplasme pour augmenter sa pression osmotique afin de maintenir la turgescence cellulaire et protéger ainsi les différents organites et les fonctions nécessaires à sa croissance. La hausse des métabolites secondaires témoigne de la modification du métabolisme cellulaire pour faire face au stress oxydatif causé par la génération excessive des radicaux oxygénés dans des conditions de stress salin.

Par contre chez les plantes d'Aguadulce ayant reçu du  $\text{CaCl}_2$  en plus du  $\text{NaCl}$ , les métabolites primaires ont été plutôt revus à la baisse pendant que les métabolites secondaires ont connu dans l'ensemble une hausse encore plus marquée. La contribution du  $\text{CaCl}_2$  dans l'expression de la tolérance au sel s'est manifestée par un moindre recours de la plante à l'accumulation des métabolites primaires grâce entre autres au rôle du calcium dans l'augmentation de la sélectivité membranaire et l'exclusion des ions toxiques, mais aussi dans la signalisation et l'activation des mécanismes de défense impliquant la synthèse des métabolites secondaires.

Ces résultats confirment l'effet bénéfique du calcium sur l'amélioration de la réponse de la fève au stress salin, à travers une régulation de la synthèse des composés biochimiques et un renforcement de la biosynthèse des molécules secondaires connues pour leur capacité antioxydante et protectrice de l'intégrité cellulaire.

Le deuxième essai portant sur les deux autres variétés de la fève (*Vicia faba* L.) Histal et Super Aguadulce, subissant au moment de leur floraison, deux doses de NaCl seul : SS1 : 100 mM et SS2 : 200 mM, ou combiné à une pulvérisation foliaire de deux concentrations différentes d'acide salicylique AS1 :  $10^{-5}$  M et AS2 :  $10^{-4}$  M.

Dans ce deuxième essai la teneur en eau relative (TER) ainsi que les chlorophylles 'a' et 'b' ont été quantifiées dans les feuilles des plantes des deux variétés Histal et Super Aguadulce. Les taux des sucres, de la proline, des protéines, des phénols totaux, des flavonoïdes et des tanins condensés ont été recherchés dans les feuilles et les racines des deux variétés.

Les résultats ont mis en évidence l'effet nocif du NaCl se manifestant par un déclin de la TER et des chlorophylles 'a' et 'b', atteignant des valeurs critiques sous SS2. En effet, la première difficulté que rencontre la plante dans des conditions de stress salin est son incapacité à puiser l'eau du sol du fait de sa pression osmotique élevée, ce qui cause une déshydratation de ses cellules se traduisant par une baisse considérable de la TER. La toxicité du NaCl perturbe la synthèse de la chlorophylle et entraîne une surproduction des radicaux oxygénés responsables de l'oxydation des pigments chlorophylliens. Les sucres et les protéines ont également connu une baisse notamment dans les feuilles. En effet, les stratégies osmotiques déployées par les plantes sont énergétiquement très coûteuses, les plantes de la fève auraient puisé dans leurs réserves énergétiques pour surmonter le stress et assurer leur survie, ce qui explique en partie la baisse des sucres et des protéines. La synthèse de la proline est fortement stimulée par le stress salin d'où les teneurs très élevées quantifiées. Parallèlement, on a noté une augmentation considérable des métabolites secondaires : phénols totaux, flavonoïdes et tanins, lesquels peuvent, en retour réduire les dommages causés par le NaCl grâce à leur pouvoir antioxydant.

Les plantes ayant été traitées avec de l'acide salicylique en plus d'être stressées au NaCl, ont répondu différemment à la contrainte saline, la TER et la chlorophylle ont retrouvé des valeurs proches voire supérieures à celles des plantes témoins, la tendance a été inversée pour les sucres, la proline et les protéines, les métabolites secondaires ont augmenté davantage. L'application foliaire de l'AS a visiblement aidé les plantes à rétablir leur homéostasie

hydrique, à travers la synthèse et l'accumulation des solutés organiques assurant le maintien de l'absorption de l'eau nécessaire à la croissance des plantes. La teneur des pigments chlorophylliens a été revue à la hausse rétablissant ainsi les activités photosynthétique et enzymatique d'où l'augmentation des sucres et des protéines. La proline est revue à la baisse signalant une baisse de la toxicité du NaCl. La recrudescence des composés phénoliques fait partie d'une réponse à la signalisation de l'acide salicylique permettant à la plante de rétablir la balance prooxydant -antioxydant.

Etant donné le rôle du calcium et de l'acide salicylique dans la signalisation et la régulation du stress, leur utilisation a permis d'améliorer le comportement des trois variétés de la fève étudiées vis-à-vis du stress salin, à travers l'optimisation des réponses biochimiques et phytochimiques qui aident les plantes à contourner et à limiter les effets du sel ce qui leur a permis de poursuivre leur croissance dans un environnement stressant.

L'un des objectifs initiaux de cette thèse était d'identifier les mécanismes biochimiques et phytochimiques impliqués dans la tolérance de la fève (*V.faba* L.) au stress salin, ainsi que le rôle du calcium et de l'acide salicylique dans l'amélioration de cette tolérance, il semble maintenant indispensable de mener des études sur l'impact de ces mécanismes recrutés par la plante stressée sur son potentiel agronomique, et d'identifier à terme les mécanismes les plus pertinents qui auront un impact positif sur le rendement et la qualité de la production.

La conduite de nos expérimentations en deux essais distincts nous a permis de mesurer les effets séparés du calcium et de l'acide salicylique sur les stratégies de tolérance déployées par la fève (*V.faba* L.), il serait intéressant de mener une étude sur l'effet de l'acide salicylique combiné au chlorure de calcium et de mesurer l'effet de l'action conjointe de ces deux molécules sur l'atténuation des effets nocifs du stress salin.

L'amélioration de la tolérance des plantes cultivées aux excès de sels est un axe important de la recherche scientifique visant d'une part à maintenir une production durable des produits agricoles pour satisfaire les besoins alimentaires d'une population grandissante, d'autre part contribuant à préserver et à valoriser le patrimoine biologique et les ressources en sols. Les méthodes que nous avons testées dans le cadre de ce travail, à savoir l'apport de calcium et d'acide salicylique sont des méthodes qui allient durabilité et rentabilité dans la mesure où elles peuvent s'intégrer facilement dans les pratiques culturales tout en réduisant les coûts écologiques et économiques de la salinité.

---

***REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES***

---

Références bibliographiques

**Lettre A**

Aftab, T., Khan, M. M. A., da Silva, J. A. T., Idrees, M., & Naeem, M. (2011). Role of salicylic acid in promoting salt stress tolerance and enhanced artemisinin production in *Artemisia annua* L. *Journal of plant growth regulation*, 30(4), 425-435.

Agarwal, S., Sairam, R. K., Srivastava, G. C., & Meena, R. C. (2005). Changes in antioxidant enzymes activity and oxidative stress by abscisic acid and salicylic acid in wheat genotypes. *Biologia Plantarum*, 49(4), 541-550.

Agastian, P., Kingsley, S. J., & Vivekanandan, M. (2000). Effect of salinity on photosynthesis and biochemical characteristics in mulberry genotypes. *Photosynthetica*, 38(2), 287-290.

Ahmad, P., Azooz, M. M., & Prasad, M. N. V. (Eds.). (2013). Salt stress in plants: signalling, omics and adaptations. Springer Science & Business Media.

Ahmad, P., & Jhon, R. (2005). Effect of salt stress on growth and biochemical parameters of *Pisum sativum* L. (Einfluss von Salzstress auf Wachstum und biochemische Parameter von *Pisum sativum* L.). *Archives of Agronomy and Soil Science*, 51(6), 665-672.

Ahmad, P., & Sharma, S. (2008). Salt stress and phyto-biochemical responses of plants. *Plant Soil Environ*, 54(3), 89-99.

Akhtar, J., Ahmad, R., Ashraf, M. Y., Tanveer, A., Waraich, E. A., & Oraby, H. (2013). Influence of exogenous application of salicylic acid on salt-stressed mungbean (*Vigna radiata*): growth and nitrogen metabolism. *Pak. J. Bot*, 45(1), 119-125.

Akram, M., Hussain M., Akhtar S., Rasul E. (2002). Impact of NaCl salinity on yield components of some wheat accessions/varieties. *International Journal of Agriculture & Biology*.

Al-Tahir, O. A., & Al-Abdulsalam, M. A. (1997). Growth of faba bean (*Vicia faba* L.) as influenced by irrigation water salinity and time of salinization. *Agricultural water management*, 34(2), 161-167.

- Amede, T., Von Kittlitz, E., Schubert, S.** (1999). Differential drought responses of faba beans (*Vicia faba* L.) inbred lines. *Journal of agronomy and crop science*, 183, 35-45.
- Amirinejad, A. A., Sayyari, M., Ghanbari, F., & Kordi, S.** (2017). Salicylic acid improves salinity-alkalinity tolerance in pepper (*Capsicum annuum* L.). *Advances in Horticultural Science*, 31(3), 157-163.
- Amtmann, A., et Leigh, R.** (2010). Ion homeostasis. Chap. 12. Dans *Abiotic stress adaptation in plants: Physiological, molecular and genomic foundation*. Sous la direction de **Pareek, A., Sopory, S. K., & Bohnert, H. J.** (2009). Springer. p.245-262.
- Aoudjit, S.** (2014). Bioécologie et diapause reproductrice de la bruche de la fève *Bruchus rufimanus* dans deux parcelles de fève et féverole dans la région de Haizer (*Bouira*) (*Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri*).
- Apel, K., & Hirt, H.** (2004). Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 55, 373-399.
- APS.** (2016). « Vers l'autosuffisance en légumes secs d'ici 2020 », [En ligne], 28 novembre 2016, [<https://www.radioalgerie.dz/news/fr/article/20161128/95473.html>], 08 septembre 2020.
- Apse, M. P., & Blumwald, E.** (2007). Na<sup>+</sup> transport in plants. *FEBS letters*, 581(12), 2247-2254.
- Asensi-Fabado, M. A., & Munné-Bosch, S.** (2011). The *aba3-1* mutant of *Arabidopsis thaliana* withstands moderate doses of salt stress by modulating leaf growth and salicylic acid levels. *Journal of Plant Growth Regulation*, 30(4), 456-466.
- Ashraf, M.** (2009). Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using antioxidants as markers. *Biotechnology advances*, 27(1), 84-93.
- Ashraf, M., Akram, N. A., Arteca, R. N., & Foolad, M. R.** (2010). The physiological, biochemical and molecular roles of brassinosteroids and salicylic acid in plant processes and salt tolerance. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 29(3), 162-190.
- Ashraf, M. F. M. R., & Foolad, M. R.** (2007). Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and experimental botany*, 59(2), 206-216.

**Ashraf, M. P. J. C., Harris, P. J. C.** (2004). Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. *Plant science*, 166(1), 3-16.

**Ashraf, M. Y., Akhtar, K., Sarwar, G., & Ashraf, M.** (2005). Role of the rooting system in salt tolerance potential of different guar accessions.

**Ashraf, M. Y., Sarwar, G., Ashraf, M., Afaf, R., & Sattar, A.** (2002). Salinity induced changes in  $\alpha$ -amylase activity during germination and early cotton seedling growth. *Biologia Plantarum*, 45(4), 589-591.

**Atik, F.** (1999). *Etude des signaux chimiques impliqués dans la symbiose entre Vicia faba et Rhizobium leguminosarum* (Doctoral dissertation, Thèse de doctorat, Univ. De Tlemcen. Algérie).

### **Lettre B**

**Baâtour, O., Tarchoun, I., Nasri, N., Kaddour, R., Harrathi, J., Drawi, E., Lachaâl, M.** (2012). Effect of growth stages on phenolics content and antioxidant activities of shoots in sweet marjoram (*Origanum majorana* L.) varieties under salt stress. *African journal of biotechnology*, 11(99), 16486-16493.

**Balibrea, M. E., Dell'Amico, J., Bolarín, M. C., & Pérez-Alfocea, F.** (2000). Carbon partitioning and sucrose metabolism in tomato plants growing under salinity. *Physiologia Plantarum*, 110(4), 503-511.

**Balko, C.** 2005. Physiological parameters of drought tolerance in relation to yield and yield stability in faba beans. In: InterDrought-II. The 2nd Conf. on Integrated Approaches to Sustain and Improve Plant Production under Drought Stress. p. 5.08. Rome, Italy.

**Bartels, D., & Nelson, D.** (1994). Approaches to improve stress tolerance using molecular genetics. *Plant, Cell & Environment*, 17(5), 659-667.

**Bartels, D., & Sunkar, R.** (2005). Drought and salt tolerance in plants. *Critical reviews in plant sciences*, 24(1), 23-58.

**Bekkara-Atik, F.** (1999). *Etude des signaux chimiques Impliqués dans la symbiose entre Vicia faba et Rhizobium leguniinosarum* (Doctoral dissertation).

- Belaid, D.** (2018). « ALGERIE : auto-suffisance en légumes secs. Un programme ambitieux qui nécessite de sortir des sentiers battus. », [PDF], 2018, [<http://www.djamel-belaid.fr/1%C3%A9gumes-secs-en-alg%C3%A9rie/>], 08 septembre 2020.
- Belkhodja, M.** (1996). Action de la salinité sur le comportement physiologique, métabolique, minérale et recherche de marqueurs moléculaires chez la fève (*Vicia faba* L.). (*Doctoral dissertation*).
- Benbrahim, K. F., Ismaili, M., Benbrahim, S. F., & Tribak, A.** (2004). Problèmes de dégradation de l'environnement par la désertification et la déforestation : impact du phénomène au Maroc. *Science et changements planétaires/Sécheresse*, 15(4), 307-320.
- Benhamou, N.** (2009). La résistance chez les plantes : principes de la stratégie défensive et applications agronomiques.
- Bennett, R. N., & Wallsgrave, R. M.** (1994). Secondary metabolites in plant defence mechanisms. *New phytologist*, 127(4), 617-633.
- Bernstein, N., Shores, M., Xu, Y.** (2010). Involvement of the plant antioxidative response in the differential growth sensitivity to salinity of leaves vs roots during cell development. *Free radical biology and medicine*, 49,1161-1171.
- Berthomieu, P., Conéjéro, G., Nublat, A., Brackenbury, W. J., Lambert, C., Savio, C., ... & Gosti, F.** (2003). Functional analysis of AtHKT1 in Arabidopsis shows that Na<sup>+</sup> recirculation by the phloem is crucial for salt tolerance. *The EMBO journal*, 22(9), 2004-2014.
- Blaylock, A. D.** (1994). *Soil salinity, salt tolerance, and growth potential of horticultural and landscape plants*. University of Wyoming, Cooperative Extension Service, Department of Plant, Soil, and Insect Sciences, College of Agriculture.
- Blumwald, E., Aharon, G. S., & Apse, M. P.** (2000). Sodium transport in plant cells. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1465(1-2), 140-151.
- Blumwald, E., Grover, A., & Good, A. G.** (2004, September). Breeding for abiotic stress resistance: challenges and opportunities. In *New directions for a diverse planet*". *Proceedings of the 4th International Crop Science Congress, Brisbane, Australia*.
- Bolu, W. H., & Polle, A. N. D. R. E. A.** (2004). Growth and stress reactions in roots and shoots of a salt-sensitive poplar species (*Populus x canescens*). *Tropical Ecology*, 45(1), 161-172.

**Borsani, Omar, V. Valpuesta, and M. A. Botella.** "Developing salt tolerant plants in a new century: a molecular biology approach." *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 73.2 (2003): 101-115.

**Boyden, S. V.** (1987). *Western civilization in biological perspective: patterns in biohistory* (p. 79). Oxford: Clarendon Press.

**Boyeldieu, J.** (1991). *Produire des grains oléagineux et protéagineux* (pp. 115-152). Technique et documentation-Lavoisier.

**Bravo, L.** (1998). Polyphenols: chemistry dietary sources, metabolism and nutritional significance. *Nutrition reviews*, 56, 317-333.

**Brink, M., & Belay, G.** (2006). *Céréales et légumes secs*. Technical Centre for Agricultural and Rural Cooperation.

**Brosché, M., Overmyer, K., & Wrzaczek, M. Kangasjarvi** (2010). Stress signaling III: Reactive oxygen species (ROS). *Abiotic stress adaptation in plant*. Springer, Dordrecht, 91-102.

### Lettre C

**Caramelo, J. J., & Iusem, N. D.** (2009). When cells lose water: Lessons from biophysics and molecular biology. *Progress in biophysics and molecular biology*, 99(1), 1-6.

**Chandna, R., Azooz, M. M., & Ahmad, P.** (2013). Recent advances of metabolomics to reveal plant response during salt stress. In *Salt Stress in Plants* (pp. 1-14). Springer, New York, NY.

**Chaux, C. L., & Foury, C. L.** (1994). Cultures légumières et maraichères. *Tome III: légumineuses potagères, légumes fruit*. Tec et Doc Lavoisier, Paris.

**Chaves, M. M., Pereira, J. S., Maroco, J., Rodrigues, M. L., Ricardo, C. P. P., Osório, M. L., ... & Pinheiro, C.** (2002). How plants cope with water stress in the field? Photosynthesis and growth. *Annals of botany*, 89(7), 907-916.

**Chaussat, R., Le Deunff, Y., & Nozeran, R.** (1975). *La germination des semences* (p. 217). Gauthier-Villars.

**Chen, S., Li, J., Wang, S., Hüttermann, A., & Altman, A.** (2001). Salt, nutrient uptake and transport, and ABA of *Populus euphratica*; a hybrid in response to increasing soil NaCl. *Trees*, 15(3), 186-194.

**Chen, W., Feng, C., Guo, W., Shi, D., & Yang, C.** (2011). Comparative effects of osmotic-, salt-and alkali stress on growth, photosynthesis, and osmotic adjustment of cotton plants. *Photosynthetica*, 49(3), 417.

**Chinnusamy, V., Jagendorf, A., & Zhu, J. K.** (2005). Understanding and improving salt tolerance in plants. *Crop Science*, 45(2), 437-448.

**Chutipaijit, S., Cha-Um, S., & Sompornpailin, K.** (2009). Differential accumulations of proline and flavonoids in indica rice varieties against salinity. *Pak J Bot*, 41(5), 2497-2506.

**Cole, L., Dewey, F. M., & Hawes, C. R.** (1998). Immunocytochemical studies of the infection mechanisms of *Botrytis fabae* II. Host cell wall breakdown. *The New Phytologist*, 139(4), 611-622.

**Cornillon, P., & Palloix, A.** (1995). Influence de la salinité et de la température du substrat sur la croissance et la nutrition du piment. *Fruits*, 50, 469-471.

**Coudurier, B., Georget, M., Guyomard, H., Huyghe, C., & Peyraud, J. L.** (2013). Vers des agricultures à hautes performances.

**Cram, W. J.** (1976). Negative feedback regulation of transport in cells. The maintenance of turgor, volume and nutrient supply. In *Transport in plants II* (pp. 284-316). Springer, Berlin, Heidelberg.

**Cramer G.R., Epstein e., Lauchli A.** (1990). Effects of sodium, potassium and calcium on salt-stressed barley. I. Growth analysis. *Physiologia plantarum*, 80, 83-88.

**Cuin, T. A., & Shabala, S.** (2007). Amino acids regulate salinity-induced potassium efflux in barley root epidermis. *Planta*, 225(3), 753.

## **Lettre D**

**Dat, J., Vandenabeele, S., Vranova, E.** (2000). Dual action of the active oxygen species during plant stress responses. *Cellular and molecular life sciences*, 57, 779-795

**De Raïssac, M.** (1992). Mécanismes d'adaptation à la sécheresse et maintien de la productivité des plantes cultivées.

**Dean, J. V., Mohammed, L. A., & Fitzpatrick, T.** (2005). The formation, vacuolar localization, and tonoplast transport of salicylic acid glucose conjugates in tobacco cell suspension cultures. *Planta*, 221(2), 287-296.

**Degl'Innocenti, E., Hafsi, C., Guidi, L., & Navari-Izzo, F.** (2009). The effect of salinity on photosynthetic activity in potassium-deficient barley species. *Journal of plant physiology*, 166(18), 1968-1981.

**Dempsey, D. M. A., Shah, J., & Klessig, D. F.** (1999). Salicylic acid and disease resistance in plants. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 18(4), 547-575.

**Dionisio-Sese, M. L., & Tobita, S.** (1998). Antioxidant responses of rice seedlings to salinity stress. *Plant Science*, 135(1), 1-9.

**Dixon, R. A., & Paiva, N. L.** (1995). Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *The plant cell*, 7(7), 1085.

**DuBois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. T., & Smith, F.** (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical chemistry*, 28(3), 350-356.

**Duc, G.** (1997). Faba bean (*Vicia faba* L.). *Field Crops Research*, 53(1-3), 99-109.

El Habib, C. M. (2011). *DIPLOME DE DOCTORAT* (Doctoral dissertation, Université d'Oran).

## **Lettre E**

**El-Monem, A., & Sharaf, M.** (2008). Tolerance of five genotypes of lentil to NaCl-salinity stress. *NY Sci J*, 1, 70-80.

**Elphick C. H., Sanders D., Maathuis F. J . M.** (2001). Critical role of divalent cations and Na<sup>+</sup> efflux in *Arabidopsis thaliana* salt tolerance. *Plant, cell & environment*, 24, 733-740.

**El-Tayeb, M. A.** (2005). Response of barley grains to the interactive effect of salinity and salicylic acid. *Plant Growth Regulation*, 45(3), 215-224.

**Elwan, M. W. M., & El-Shatoury, R. S. A.** (2014). Alleviation of NaCl stress in summer squash 'Eskandrani' by foliar application of salicylic acid. *Journal of Horticultural Research*, 22(2), 131-137.

**Epron, D., Farque, L., Lucot, É., Badot, P. M.** (1999). Soil CO<sub>2</sub> efflux in a beech forest: dependence on soil temperature and soil water content. *Annals of Forest Science*, 56(3), 221-226.

### *Lettre F*

**FAO.** (1988). Bulletin d'irrigation et drainage n°29 Rév.1. La qualité de l'eau en agriculture.

**FAO.** (2016). « Légumineuses, des graines nutritives pour un avenir durable », [PDF] 01 octobre 2016, [www.fao.org/publications], 10 septembre 2020.

**Farooq, M., Hussain, M., Wakeel, A., & Siddique, K. H.** (2015). Salt stress in maize: effects, resistance mechanisms, and management. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 35(2), 461-481.

**Flowers, T. J., Troke, P. F., & Yeo, A. R.** (1977). The mechanism of salt tolerance in halophytes. *Annual review of plant physiology*, 28(1), 89-121.

**Foyer, C. H., & Noctor, G.** (2000). Tansley Review No. 112 Oxygen processing in photosynthesis: regulation and signalling. *The New Phytologist*, 146(3), 359-388.

**Frankel, E. N.** (1984). Chemistry of free radical and singlet oxidation of lipids. *Progress in lipid research*, 23(4), 197-221.

### *Lettre G*

**Genard, H.** (1991). Effect of salinity on lipid composition, glycine betaine content and photosynthetic activity in chloroplasts of *Suaeda maritima*. *Plant Physiol. Biochem.*, 29, 421-427.

**Gengmao, Z., Yu, H., Xing, S., Shihui, L., Quanmei, S., Changhai, W.** (2015). Salinity stress increases secondary metabolites and enzyme activity in safflower. *Industrial Crops and Products*, 64, 175-181.

- Ghai, N., Setia, R. C., & Setia, N. E. E. L. A. M.** (2002). Effects of paclobutrazol and salicylic acid on chlorophyll content, hill activity and yield components in *Brassica napus* L.(cv. GSL-1). *Phytomorphology*, 52, 83-87.
- Ghoulam, C., Foursy, A., & Fares, K.** (2002). Effects of salt stress on growth, inorganic ions and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in five sugar beet cultivars. *Environmental and experimental Botany*, 47(1), 39-50.
- Glenn, E. P., Brown, J. J., & Blumwald, E.** (1999). Salt tolerance and crop potential of halophytes. *Critical reviews in plant sciences*, 18(2), 227-255.
- Gnassemi, F., Jakeman, A. J., & Niz, H. A.** (1995). Salinization of Land and Water Resources. *University of New South Wales Press Ltd, Canberra, Australia*.
- Graham, P. H., & Vance, C. P.** (2003). Legumes: importance and constraints to greater use. *Plant physiology*, 131(3), 872-877.
- Greenway, H., & Munns, R.** (1980). Mechanisms of salt tolerance in nonhalophytes. *Annual review of plant physiology*, 31(1), 149-190.
- Grelet, J.** (2004). Identification et caractérisation moléculaire d'une protéine LEA (Late Embryogenesis Abundant) mitochondriale exprimée dans les semences de pois (*Doctoral dissertation, Angers*).
- Guan, L., & Scandalios, J. G.** (1995). Developmentally related responses of maize catalase genes to salicylic acid. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 92(13), 5930-5934.
- Gunes, A., Inal, A., Alpaslan, M., Cicek, N., Guneri, E., Eraslan, F., & Guzelordu, T.** (2005). Effects of exogenously applied salicylic acid on the induction of multiple stress tolerance and mineral nutrition in maize (*Zea mays* L.) (Einfluss einer Salicylsäure–Applikation auf die Induktion von Stresstoleranz sowie Nährstoffaufnahme von Mais [*Zea mays* L.]). *Archives of Agronomy and Soil Science*, 51(6), 687-695.
- Gunes, A., Inal, A., Alpaslan, M., Eraslan, F., Bagci, E. G., & Cicek, N.** (2007). Salicylic acid induced changes on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress and mineral nutrition in maize (*Zea mays* L.) grown under salinity. *Journal of Plant Physiology*, 164(6), 728-736.

**Lettre 5**

- Hanana, M., Hamrouni, L., Cagnac, O., & Blumwald, E.** (2011). Mécanismes et stratégies cellulaires de tolérance à la salinité (NaCl) chez les plantes. *Environmental Reviews*, 19(NA), 121-140.
- Hanson, A. D., & Hitz, W. D.** (1982). Metabolic responses of mesophytes to plant water deficits. *Annual Review of plant physiology*, 33(1), 163-203.
- Hasegawa, P. M., Bressan, R. A., Zhu, J. K., & Bohnert, H. J.** (2000). Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annual review of plant biology*, 51(1), 463-499.
- Hassanpour, H., Khavari-Nejad, R. A., Niknam, V., Najafi, F., & Razavi, K.** (2013). Penconazole induced changes in photosynthesis, ion acquisition and protein profile of *Mentha pulegium* L. under drought stress. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 19(4), 489-498.
- Hayat, Q., Hayat, S., Irfan, M., & Ahmad, A.** (2010). Effect of exogenous salicylic acid under changing environment: a review. *Environmental and experimental botany*, 68(1), 14-25.
- Hechenberger, M., Schwappach, B., Fischer, W. N., Frommer, W. B., Jentsch, T. J., & 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(52), 33632-33638.
- Hernández, J. A., Ferrer, M. A., Jiménez, A., Barceló, A. R., & Sevilla, F.** (2001). Antioxidant systems and O<sub>2</sub>·<sup>-</sup>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production in the apoplast of pea leaves. Its relation with salt-induced necrotic lesions in minor veins. *Plant physiology*, 127(3), 817-831.
- Holuigue, L., Salinas, P., Blanco, F., & Garretón, V.** (2007). Salicylic acid and reactive oxygen species in the activation of stress defense genes. In *Salicylic acid: a plant hormone* (pp. 197-246). Springer, Dordrecht.
- Hopkins, W. J.** (1995). The physiology of plants under stress. *Introduction to Plant Physiology*, 438.
- Hoque, M. A., Okuma, E., Banu, M. N. A., Nakamura, Y., Shimoishi, Y., & Murata, Y.** (2007). Exogenous proline mitigates the detrimental effects of salt stress more than exogenous betaine by increasing antioxidant enzyme activities. *Journal of Plant Physiology*, 164(5), 553-561.

- Horváth, E., Szalai, G., & Janda, T.** (2007). Induction of abiotic stress tolerance by salicylic acid signaling. *Journal of Plant Growth Regulation*, 26(3), 290-300.
- Hu, Y., & Schmidhalter, U.** (1998). Spatial distributions and net deposition rates of mineral elements in the elongating wheat (*Triticum aestivum* L.) leaf under saline soil conditions. *Planta*, 204(2), 212-219.
- Hussain, K., Nawaz, K., Majeed, A., Ilyas, U., Lin, F., Ali, K., & Nisar, M. F.** (2011). Role of exogenous salicylic acid applications for salt tolerance in violet. *Sarhad J. Agric*, 27(2), 171-175.
- Hussain, M. I., Lyra, D. A., Farooq, M., Nikoloudakis, N., & Khalid, N.** (2016). Salt and drought stresses in safflower: a review. *Agronomy for sustainable development*, 36(1), 4.
- Hussein, E.A., Aqlan, E.M.** (2012). Effect of mannitol and sodium chloride on some total secondary metabolites of fenugreek calli cultured in vitro. *Plant tissue culture and biotechnology*, 21(1), 35-43.
- Hussein, M. M., Balbaa, L. K., & Gaballah, M. S.** (2007). Salicylic acid and salinity effects on growth of maize plants. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 3(4), 321-328.

### *Lettre J*

- Idrees, M., Naeem, M., Aftab, T., & Khan, M. M. A.** (2011). Salicylic acid mitigates salinity stress by improving antioxidant defence system and enhances vincristine and vinblastine alkaloids production in periwinkle [*Catharanthus roseus* (L.) G. Don]. *Acta Physiologiae Plantarum*, 33(3), 987-999.
- Imlay, J. A., & Linn, S.** (1988). DNA damage and oxygen radical toxicity. *Science*, 240(4857), 1302-1309.
- Ingram, J., & Bartels, D.** (1996). The molecular basis of dehydration tolerance in plants. *Annual review of plant biology*, 47(1), 377-403.
- Irigoyen, J. J., Einerich, D. W., & Sánchez-Díaz, M.** (1992). Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Physiologia plantarum*, 84(1), 55-60.

ITGC. (2016). « Vers l'autosuffisance en légumes secs d'ici 2020 », [En ligne], 28 novembre 2016, [<https://www.radioalgerie.dz/news/fr/article/20161128/95473.html>], 08 septembre 2020.

### *Lettre J*

**Jacobsen, T., & Adams, R. M.** (1958). Salt and silt in ancient Mesopotamian agriculture. *Science*, 128(3334), 1251-1258.

**Jamil, A., Riaz, S., Ashraf, M., & Foolad, M. R.** (2011). Gene expression profiling of plants under salt stress. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 30(5), 435-458.

**Jayakannan, M., Bose, J., Babourina, O., Rengel, Z., & Shabala, S.** (2015). Salicylic acid in plant salinity stress signalling and tolerance. *Plant Growth Regulation*, 76(1), 25-40.

**Jones, M. M., & Turner, N. C.** (1980). Osmotic adjustment in expanding and fully expanded leaves of sunflower in response to water deficits. *Functional Plant Biology*, 7(2), 181-192.

### *Lettre K*

**Kabiri, R., Nasibi, F., & Farahbakhsh, H.** (2014). Effect of exogenous salicylic acid on some physiological parameters and alleviation of drought stress in *Nigella sativa* plant under hydroponic culture. *Plant Protection Science*, 50(1), 43-51.

**Kawano, T., Furuichi, T., & Muto, S.** (2004). Controlled salicylic acid levels and corresponding signaling mechanisms in plants. *Plant biotechnology*, 21(5), 319-335.

**Kerepesi, I., & Galiba, G.** (2000). Osmotic and salt stress-induced alteration in soluble carbohydrate content in wheat seedlings. *Crop Science*, 40(2), 482-487.

**Ketchum, R. E., Warren, R. S., Klima, L. J., Lopez-Gutiérrez, F., & Nabors, M. W.** (1991). The mechanism and regulation of proline accumulation in suspension cell cultures of the halophytic grass *Distichlis spicata* L. *Journal of plant physiology*, 137(3), 368-374.

**Khalil, N., Fekry, M., Bishr, M., El-Zalabani, S., & Salama, O.** (2018). Foliar spraying of salicylic acid induced accumulation of phenolics, increased radical scavenging activity and modified the composition of the essential oil of water stressed *Thymus vulgaris* L. *Plant physiology and biochemistry*, 123, 65-74.

**Khodary, S. E. A.** (2004). Effect of salicylic acid on the growth, photosynthesis and carbohydrate metabolism in salt stressed maize plants. *Int. J. Agric. Biol.*, 6(1), 5-8.

**Kim, H. J., Fonseca, J. M., Choi, J. H., Kubota, C., Kwon, D. Y.** (2008). Salt in irrigation water affects the nutritional and visual properties of romaine lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(10), 3772-3776.

**Kjeldhal, J.** (1883). A new method for estimation of nitrogen in organic compounds. *Fresenius' zeitschrift für analytische chemie*, 22, 366.

**Kolev, N.** (1976). Les cultures maraichères en Algérie. *Ministère de l'agriculture et des reformes Agricoles*: 52p.

### **Lettre L**

**Läuchli, A.** (1991). The social and scientific relevance of salt tolerance studies. In *Workshop on Salt Tolerance in Microorganisms and Plants: Physiological and Molecular Aspects* (pp. 11-12).

**Laumonier, R.** (1979). Culture légumière et maraichère, Tome III, ed, JB.

**Lee, K. S., Choi, W. Y., Ko, J. C., Kim, T. S., & Gregorio, G. B.** (2003). Salinity tolerance of japonica and indica rice (*Oryza sativa* L.) at the seedling stage. *Planta*, 216(6), 1043-1046.

**Lee, S., Kim, S. G., & Park, C. M.** (2010). Salicylic acid promotes seed germination under high salinity by modulating antioxidant activity in Arabidopsis. *New Phytologist*, 188(2), 626-637.

**Legros, J. P.** (2009). La salinisation des terres dans le monde. In *Proc. Academie des Sciences et Lettres de Montpellier Conf. n* (Vol. 4069, pp. 257-269).

**Levigneron, A., Lopez, F., Vansuyt, G., Berthomieu, P., Fourcroy, P., & Casse-Delbart, F.** (1995). Les plantes face au stress salin. *Cahiers Agricultures*, 4(4), 263-273.

**Lissner, J., Schierup, H. H., Comín, F. A., & Astorga, V.** (1999). Effect of climate on the salt tolerance of two *Phragmites australis* populations.: I. Growth, inorganic solutes, nitrogen relations and osmoregulation. *Aquatic Botany*, 64(3-4), 317-333.

**Logan, B. A.** (2008). 10 Reactive oxygen species and photosynthesis. *Antioxidants and Reactive Oxygen Species in Plants*, 250.

**Lettre M**

**Maathuis, F. J., & Amtmann, A. N. N. A.** (1999). K<sup>+</sup> nutrition and Na<sup>+</sup> toxicity: the basis of cellular K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> ratios. *Annals of botany*, 84(2), 123-133.

**Macheix, J. J., Fleuriet, A., & Jay-Allemand, C.** (2005). *Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique*. PPUR presses polytechniques.

**MADR.** (2014). *Annuaire statistique du ministère de l'agriculture et du développement rural*.

**Maggio, A., Miyazaki, S., Veronese, P., Fujita, T., Ibeas, J. I., Damsz, B., ... & Bressan, R. A.** (2002). Does proline accumulation play an active role in stress-induced growth reduction? *The plant journal*, 31(6), 699-712.

**Mahajan, S., Pandey, G. K., & Tuteja, N.** (2008). Calcium- and salt-stress signaling in plants: shedding light on SOS pathway. *Archives of biochemistry and biophysics*, 471(2), 146-158.

**Makkar, H. P., Blümmel, M., Borowy, N. K., Becker, K.** (1993). Gravimetric determination of tannins and their correlations with chemical and protein precipitation methods. *Journal of the science of food and agriculture*, 61(2), 161-165.

**Manchanda, G., & Garg, N.** (2008). Salinity and its effects on the functional biology of legumes. *Acta Physiologiae Plantarum*, 30(5), 595-618.

**Mansour, M. M. F.** (1998). Protection of plasma membrane of onion epidermal cells by glycinebetaine and proline against NaCl stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 36(10), 767-772.

**Marschner, H.** (1995). *Mineral nutrition of higher plants*, 2nd edn (Academic Press: London).

**Masood, A., Shah, N. A., Zeeshan, M., & Abraham, G.** (2006). Differential response of antioxidant enzymes to salinity stress in two varieties of *Azolla* (*Azolla pinnata* and *Azolla filiculoides*). *Environmental and Experimental Botany*, 58(1-3), 216-222.

**Mazid, M., Khan, T. A., & Mohammad, F.** (2011). Role of secondary metabolites in defense mechanisms of plants. *Biology and medicine*, 3(2), 232-249.

- Meloni, D. A., Gulotta, M. R., Martínez, C. A., & Oliva, M. A.** (2004). The effects of salt stress on growth, nitrate reduction and proline and glycinebetaine accumulation in *Prosopis alba*. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, *16*(1), 39-46.
- Messiaen, C. M., Blancard, D., & Rouxel, F.** (1991). *Les maladies des plantes maraîchères*, 3e éd. Editions Quae.
- Minorsky, P. V.** (2003). The hot and the classic. *Plant physiology*, *131*(4), 1578.
- Mittler, R., Vanderauwera, S., Gollery, M., & Van Breusegem, F.** (2004). Reactive oxygen gene network of plants. *Trends in plant science*, *9*(10), 490-498.
- Molders, W., Buchala, A., & Metraux, J. P.** (1996). Transport of salicylic acid in tobacco necrosis virus-infected cucumber plants. *Plant Physiology*, *112*(2), 787-792.
- Monneveux, P., & Nemmar, M.** (1986). Contribution à l'étude de la résistance à la sécheresse chez le blé tendre (*Triticum aestivum* L.) et chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.): étude de l'accumulation de la proline au cours du cycle de développement. *Agronomie*, *6*(6), 583-590.
- Morgan, J. M.** (1992). Osmotic components and properties associated with genotypic differences in osmoregulation in wheat. *Functional Plant Biology*, *19*(1), 67-76.
- Morot-Gaudry, J. F., Moreau, F., Prat, R., Maurel, C., & Sentenac, H.** (2009). Biologie végétale. *Nutrition et métabolisme*. Edition Dunod.
- Munns, R.** (2002). Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, cell & environment*, *25*(2), 239-250.
- Munns, R.** (2005). Genes and salt tolerance: bringing them together. *New phytologist*, *167*(3), 645-663.
- Munns, R., & Gilliham, M.** (2015). Salinity tolerance of crops—what is the cost? *New phytologist*, *208*(3), 668-673.
- Munns, R., & James, R. A.** (2003). Screening methods for salinity tolerance: a case study with tetraploid wheat. *Plant and soil*, *253*(1), 201-218.
- Munns, R., James, R. A., & Läuchli, A.** (2006). Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. *Journal of experimental botany*, *57*(5), 1025-1043.

**Munns, R., & Tester, M.** (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 59, 651-681.

**Murakeozy, E. P., Nagy, Z., Duhazé, C., Bouchereau, A., & Tuba, Z.** (2003). Seasonal changes in the levels of compatible osmolytes in three halophytic species of inland saline vegetation in Hungary. *Journal of Plant Physiology*, 160(4), 395.

**Mustafa, N. R., Kim, H. K., Choi, Y. H., Erkelens, C., Lefeber, A. W., Spijksma, G., ... & Verpoorte, R.** (2009). Biosynthesis of salicylic acid in fungus elicited *Catharanthus roseus* cells. *Phytochemistry*, 70(4), 532-539.

### **Lettre N**

**Nazar, R., Iqbal, N., Syeed, S., & Khan, N. A.** (2011). Salicylic acid alleviates decreases in photosynthesis under salt stress by enhancing nitrogen and sulfur assimilation and antioxidant metabolism differentially in two mungbean cultivars. *Journal of Plant Physiology*, 168(8), 807-815.

**Neocleous, D., & Vasilakakis, M.** (2007). Effects of NaCl stress on red raspberry (*Rubus idaeus* L. 'Autumn Bliss'). *Scientia Horticulturae*, 112(3), 282-289.

**Niederl, S., Kirsch, T., Riederer, M., & Schreiber, L.** (1998). Co-Permeability of <sup>3</sup>H-Labeled Water and <sup>14</sup>C-Labeled Organic Acids across Isolated Plant Cuticles: Investigating Cuticular Paths of Diffusion and Predicting Cuticular Transpiration. *Plant Physiology*, 116(1), 117-123.

**Nijveldt, R. J., Van Nood, E. L. S., Van Hoorn, D. E., Boelens, P. G., Van Norren, K., & Van Leeuwen, P. A.** (2001). Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *The American journal of clinical nutrition*, 74(4), 418-425.

**Noctor, G., & Foyer, C. H.** (1998). Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. *Annual review of plant biology*, 49(1), 249-279.

### **Lettre O**

**Ogawa, D., Nakajima, N., Sano, T., Tamaoki, M., Aono, M., Kubo, A., ... & Saji, H.** (2005). Salicylic acid accumulation under O<sub>3</sub> exposure is regulated by ethylene in tobacco plants. *Plant and cell physiology*, 46(7), 1062-1072.

**Ohashi, Y., Murakami, T., Mitsuhashi, I., & SEO, S.** (2004). Rapid down and upward translocation of salicylic acid in tobacco plants. *Plant Biotechnology*, 21(2), 95-101.

**Okçu, G., Kaya, M. D., & Atak, M.** (2005). Effects of salt and drought stresses on germination and seedling growth of pea (*Pisum sativum* L.). *Turkish journal of agriculture and forestry*, 29(4), 237-242.

**ONU (2020).** « La population », [En ligne], [<https://www.un.org/fr/sections/issues-depth/population/index.html>], (28 Aout 2020).

### Lettre P

**Palma, F., Lluch, C., Iribarne, C., García-Garrido, J. M., & García, N. A. T.** (2009). Combined effect of salicylic acid and salinity on some antioxidant activities, oxidative stress and metabolite accumulation in *Phaseolus vulgaris*. *Plant Growth Regulation*, 58(3), 307-316.

**Pankhurst, C. E., Craig, A. S., Jones, W. T.** (1979). Effectiveness of Lotus root nodules I. Morphology and flavolan content of nodules formed on *Lotus pedunculatus* by fast-growing Lotus rhizobia. *Journal of experimental botany*, 30(6), 1085-1093.

**Pareek, A., Singla, S. L., & Grover, A.** (1997). Short-term salinity and high temperature stress-associated ultrastructural alterations in young leaf cells of *Oryza sativa* L. *Annals of Botany*, 80(5), 629-639.

**Pareek, A., Sopory, S. K., & Bohnert, H. J.** (2009). *Abiotic stress adaptation in plants*. Springer.

**Parent, C., Capelli, N., & Dat, J.** (2008). Formes réactives de l'oxygène, stress et mort cellulaire chez les plantes. *Comptes Rendus Biologies*, 331(4), 255-261.

**Parida, A., Das, A. B., & Das, P.** (2002). NaCl stress causes changes in photosynthetic pigments, proteins, and other metabolic components in the leaves of a true mangrove, *Bruguiera parviflora*, in hydroponic cultures. *Journal of Plant Biology*, 45(1), 28-36.

**Parida, A. K., & Das, A. B.** (2005). Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and environmental safety*, 60(3), 324-349.

**Parmentier, B.** (2018). « La production agricole mondiale devra augmenter de 70% d'ici 2050 pour lutter contre la faim », [En ligne], 29 août 2020 [<http://nourrir-manger.com/2018/12/23/la->

production-agricole-mondiale-devra-augmenter-de-70-dici-2050-pour-lutter-contre-la-faim/], 23 décembre 2018.

**Parvaiz, A., & Satyawati, S.** (2008). Salt stress and phyto-biochemical responses of plants-a review. *Plant Soil and Environment*, 54(3), 89.

**Pelt, J.M.** (2004). Des légumes. *Edition Le livre de poche*.

**Peron, J. Y.** (2006). Production légumière. *Edition Lavoisier*, 198-205.

**Pitzschke, A., Forzani, C., & Hirt, H.** (2006). Reactive oxygen species signaling in plants. *Antioxidants & redox signaling*, 8(9-10), 1757-1764.

**Ponnamperuma, F. N.** (1984). Straw as a source of nutrients for wetland rice. *Organic matter and rice*, 117, 136.

**Posmyk, M.M., Kontek, R., Janas, K.M.** (2009). Antioxidant enzymes activity and phenolic compounds content in red cabbage seedlings exposed to copper stress. *Ecotoxicology and environmental safety*, 72, 596-602.

## **Lettre Q**

**Qados, A. M. A.** (2011). Effect of salt stress on plant growth and metabolism of bean plant *Vicia faba* (L.). *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 10(1), 7-15.

## **Lettre R**

**Rahmani, S.** (2018). Effet de l'antracnose du pois chiche (*Cicer arietinum* L.) sur le rendement et ses composantes en zone semi-aride (*Doctoral dissertation*).

**Rao, M. V., Lee, H. I., & Davis, K. R.** (2002). Ozone-induced ethylene production is dependent on salicylic acid, and both salicylic acid and ethylene act in concert to regulate ozone-induced cell death. *The Plant Journal*, 32(4), 447-456.

**Rasheed, R., Ashraf, M. A., Parveen, S., Iqbal, M., & Hussain, I.** (2014). Effect of salt stress on different growth and biochemical attributes in two canola (*Brassica napus* L.) cultivars. *Communications in soil science and plant analysis*, 45(5), 669-679.

**Rengel Z.** (1992). The role of calcium in salt toxicity. *Plant, cell & environment*, 16, 625-632.

**Riadh, K., Wided, M., Hans-Werner, K., & Chedly, A.** (2010). Responses of halophytes to environmental stresses with special emphasis to salinity. In *Advances in Botanical Research* (Vol. 53, pp. 117-145). Academic Press.

**Rivas-San Vicente, M., & Plasencia, J.** (2011). Salicylic acid beyond defence: its role in plant growth and development. *Journal of experimental botany*, 62(10), 3321-3338.

**Rodríguez, A. A., & Taleisnik, E. L.** (2012). Determination of reactive oxygen species in salt-stressed plant tissues. In *Plant Salt Tolerance* (pp. 225-236). Humana Press, Totowa, NJ.

**Rubio, F., Gassmann, W., & Schroeder, J. I.** (1995). Sodium-driven potassium uptake by the plant potassium transporter HKT1 and mutations conferring salt tolerance. *Science*, 270(5242), 1660-1663.

## **Lettre S**

**Sacala, E., Biegun, A., Demczuk, A., & Grzys, E.** (2005). Effect of NaCl and supplemental calcium on growth parameters and nitrate reductase activity in maize. *Acta societatis botanicorum poloniae*, 74(2).

**Sairam, R. K., & Tyagi, A.** (2004). Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. *Current science*, 407-421.

**Salem, N., Msaada, k., Dhifi, W., Limam, F., Marzouk, B.** (2014). Effect of salinity on plant growth and biological activities of *Carthamus tinctorius* L. Extracts at two flowering stages. *Acta physiologiae plantarum*, 36, 433-445.

**Sanders, D., Brownlee, C., & Harper, J. F.** (1999). Communicating with calcium. *The Plant Cell*, 11(4), 691-706.

**Santner, A., Calderon-Villalobos, L. I. A., & Estelle, M.** (2009). Plant hormones are versatile chemical regulators of plant growth. *Nature chemical biology*, 5(5), 301-307.

**Sawada, H., Shim, I. S., & Usui, K.** (2006). Induction of benzoic acid 2-hydroxylase and salicylic acid biosynthesis—modulation by salt stress in rice seedlings. *Plant Science*, 171(2), 263-270.

**Saxena, M. C.** (1991). Status and scope for production of faba bean in the Mediterranean countries. *Options Méditerranéennes*, 10(1), 5-20.

- Schneider, A., & Huyghe, C.** (2015). *Les légumineuses pour des systèmes agricoles et alimentaires*. Editions Quae.
- Schütz, M., & Fangmeier, A.** (2001). Growth and yield responses of spring wheat (*Triticum aestivum* L. cv. Minaret) to elevated CO<sub>2</sub> and water limitation. *Environmental Pollution*, *114*(2), 187-194.
- Senaratna, T., Touchell, D., Bunn, E., & Dixon, K.** (2000). Acetyl salicylic acid (Aspirin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plants. *Plant Growth Regulation*, *30*(2), 157-161.
- Serraj, R., and Sinclair, T. R.** (2002). Osmolyte accumulation: Can it really help increase crop yield under drought conditions? *Plant, cell & environment*, *25*, 333-341.
- Seskar, M., Shulaev, V., & Raskin, I.** (1998). Endogenous methyl salicylate in pathogen-inoculated tobacco plants. *Plant Physiology*, *116*(1), 387-392.
- Shabala, S., & Cuin, T. A.** (2008). Potassium transport and plant salt tolerance. *Physiologia Plantarum*, *133*(4), 651-669.
- Shaki, F., Maboud, H. E., & Niknam, V.** (2018). Growth enhancement and salt tolerance of Safflower (*Carthamus tinctorius* L.), by salicylic acid. *Current Plant Biology*, *13*, 16-22.
- Shakirova, F. M., Sakhabutdinova, A. R., Bezrukova, M. V., Fatkhutdinova, R. A., & Fatkhutdinova, D. R.** (2003). Changes in the hormonal status of wheat seedlings induced by salicylic acid and salinity. *Plant science*, *164*(3), 317-322.
- Shi, Q., Bao, Z., Zhu, Z., Ying, Q., & Qian, Q.** (2006). Effects of different treatments of salicylic acid on heat tolerance, chlorophyll fluorescence, and antioxidant enzyme activity in seedlings of *Cucumis sativa* L. *Plant growth regulation*, *48*(2), 127-135.
- Shirasu, K., Nakajima, H., Rajasekhar, V. K., Dixon, R. A., & Lamb, C.** (1997). Salicylic acid potentiates an agonist-dependent gain control that amplifies pathogen signals in the activation of defense mechanisms. *The Plant Cell*, *9*(2), 261-270.
- Shulaev, V., Silverman, P., & Raskin, I.** (1997). Airborne signalling by methyl salicylate in plant pathogen resistance. *Nature*, *385*(6618), 718.
- Siddiqi, E. H., Ashraf, M., Al-Qurainy, F., & Akram, N. A.** (2011). Salt-induced modulation in inorganic nutrients, antioxidant enzymes, proline content and seed oil composition in

safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(15), 2785-2793.

**Singer, M. A., & Lindquist, S.** (1998). Multiple effects of trehalose on protein folding in vitro and in vivo. *Molecular cell*, 1(5), 639-648.

**Singh, N. K., Bracker, C. A., Hasegawa, P. M., Handa, A. K., Buckel, S., Hermodson, M. A., ... & Bressan, R. A.** (1987). Characterization of osmotin: a thaumatin-like protein associated with osmotic adaptation in plant cells. *Plant physiology*, 85(2), 529-536.

**Singh, P. K., & Gautam, S.** (2013). Role of salicylic acid on physiological and biochemical mechanism of salinity stress tolerance in plants. *Acta Physiologiae Plantarum*, 35(8), 2345-2353.

**Singh, S. K., Sharma, H. C., Goswami, A. M., Datta, S. P., & Singh, S. P.** (2000). In vitro growth and leaf composition of grapevine cultivars as affected by sodium chloride. *Biologia plantarum*, 43(2), 283-286.

**Singleton, V. L., Orthofer, R., Lamuela-Raventós, R. M.** (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in enzymology*, 299, 152-178.

**Siringam, K., Juntawong, N., Cha-um, S., Boriboonkaset, T., & Kirdmanee, C.** (2012). Salt tolerance enhancement in indica rice (*Oryza sativa* L. spp. Indica) seedlings using exogenous sucrose supplementation. *Plant Omics*, 5(1), 52.

**Soussi, M., Ocana, A., & Lluch, C.** (1998). Effects of salt stress on growth, photosynthesis and nitrogen fixation in chick-pea (*Cicer arietinum* L.). *Journal of Experimental Botany*, 49(325), 1329-1337.

**Stevens, J., Senaratna, T., & Sivasithamparam, K.** (2006). Salicylic acid induces salinity tolerance in tomato (*Lycopersicon esculentum* cv. Roma): associated changes in gas exchange, water relations and membrane stabilisation. *Plant Growth Regulation*, 49(1), 77-83.

**Storey, R., & Walker, R. R.** (1998). Citrus and salinity. *Scientia Horticulturae*, 78(1-4), 39-81.

**Streeter, J. G., Lohnes, D. G., & Fioritto, R. J.** (2001). Patterns of pinitol accumulation in soybean plants and relationships to drought tolerance. *Plant, Cell & Environment*, 24(4), 429-438.

**Sudha, G., Ravishankar, G. A.** (2003). Elicitation of anthocyanin production in callus cultures of *Daucus carota* and the involvement of methyl jasmonate and salicylic acid. *Acta physiologiae plantarum*, 25(3), 249-256.

**Sudhir, P. R., Pogoryelov, D., Kovacs, L., Garab, G., & Murthy, S. D.** (2005). The effects of salt stress on photosynthetic electron transport and thylakoid membrane proteins in the cyanobacterium *Spirulina platensis*. *BMB Reports*, 38(4), 481-485.

**Sultana, N., Ikeda, T., & Itoh, R.** (1999). Effect of NaCl salinity on photosynthesis and dry matter accumulation in developing rice grains. *Environmental and Experimental Botany*, 42(3), 211-220.

**Szabados, L., & Savoure, A.** (2010). Proline: a multifunctional amino acid. *Trends in plant science*, 15(2), 89-97.

## *Lettre 7*

**Taie, H. A. A., Abdelhamid, M. T., Dawood, M. G., Nassar, R. M.** (2013). Pre-sowing seed treatment with proline improves some physiological, biochemical and anatomical attributes of faba bean plants under sea water stress. *Journal of applied sciences research*, 9(4), 2853-2867.

**Taji T., Ohsumi C., Iuchi S., Seki M., Kasuga M., Kobayashi M., Yamaguchi Shinozaki K, Shinozaki K** (2002) Important roles of drought- and cold-inducible genes for galactinol synthase in stress tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J* 29(4):417–426. doi:10.1046/j.09607412.2001.01227.x

**Tanno, K. I., & Willcox, G.** (2006). The origins of cultivation of *Cicer arietinum* L. and *Vicia faba* L.: early finds from Tell el-Kerkh, north-west Syria, late 10th millennium BP. *Vegetation History and Archaeobotany*, 15(3), 197-204.

**Tausz, M., Šircelj, H., & Grill, D.** (2004). The glutathione system as a stress marker in plant ecophysiology: is a stress-response concept valid?. *Journal of Experimental Botany*, 55(404), 1955-1962.

**Tavallali, V., Rahemi, M., Eshghi, S., Kholdebarin, B., & Ramezani, A.** (2010). Zinc alleviates salt stress and increases antioxidant enzyme activity in the leaves of pistachio (*Pistacia vera* L. 'Badami') seedlings. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 34(4), 349-359.

**Teakle, N. L., & Tyerman, S. D.** (2010). Mechanisms of Cl-transport contributing to salt tolerance. *Plant, cell & environment*, 33(4), 566-589.

**Tela-botanica.** (2020). « Place du taxon dans la classification APG III », [En ligne], 15 septembre 2020, [<https://www.tela-botanica.org/bdtfx-nn-71586-nomenclature>], 04 octobre 2020.

**Tester, M., & Bacic, A.** (2005). Abiotic stress tolerance in grasses. From model plants to crop plants.

**Tester, M., & Davenport, R.** (2003). Na<sup>+</sup> tolerance and Na<sup>+</sup> transport in higher plants. *Annals of botany*, 91(5), 503-527.

**Tolte, D., Hinch, D. K., & Macherel, D.** (2010). A mitochondrial late embryogenesis abundant protein stabilizes model membranes in the dry state. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1798(10), 1926-1933.

**Troll, W., Lindsley, J.** (1955). A photometric method for the determination of proline. *Journal of biological chemistry*, 215, 655-660.

**Türkan, I., & Demiral, T.** (2009). Recent developments in understanding salinity tolerance. *Environmental and Experimental Botany*, 67(1), 2-9.

## *Lettre 21*

**Upadhyaya, H.**, (2016). Effect of calcium in seedling growth in rice (*Oryza sativa* L.) cultivars. *Journal of biology and nature*, 6(1), 28-32.

**Uzunova, A. N., & Popova, L. P.** (2000). Effect of salicylic acid on leaf anatomy and chloroplast ultrastructure of barley plants. *Photosynthetica*, 38(2), 243-250.

**Lettre V**

**Verberne, M. C., Muljono, R. A. B., & Verpoorte, R.** (1999). Salicylic acid biosynthesis. In *New Comprehensive Biochemistry* (Vol. 33, pp. 295-312). Elsevier.

**Verberne, M. C., Verpoorte, R., Bol, J. F., Mercado-Blanco, J., & Linthorst, H. J.** (2000). Overproduction of salicylic acid in plants by bacterial transgenes enhances pathogen resistance. *Nature biotechnology*, 18(7), 779.

**Vernon, D. M., & Bohnert, H. J.** (1992). Increased expression of a myo-inositol methyl transferase in *Mesembryanthemum crystallinum* is part of a stress response distinct from Crassulacean acid metabolism induction. *Plant Physiology*, 99(4), 1695-1698.

**Vinocur, B., & Altman, A.** (2005). Recent advances in engineering plant tolerance to abiotic stress: achievements and limitations. *Current opinion in biotechnology*, 16(2), 123-132.

**Lettre X**

**Xie, Z., Zhang, Z. L., Hanzlik, S., Cook, E., & Shen, Q. J.** (2007). Salicylic acid inhibits gibberellin-induced alpha-amylase expression and seed germination via a pathway involving an abscisic-acid-inducible WRKY gene. *Plant molecular biology*, 64(3), 293-303.

**Lettre Y**

**Yan, X., Zhang, L., Wang, J., Liao, P., Zhang, Y., Zhang, R., & Kai, G.** (2009). Molecular characterization and expression of 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate reductoisomerase (DXR) gene from *Salvia miltiorrhiza*. *Acta physiologiae plantarum*, 31(5), 1015-1022.

**Yokoi, S., Quintero, F. J., Cubero, B., Ruiz, M. T., Bressan, R. A., Hasegawa, P. M., & Pardo, J. M.** (2002). Differential expression and function of *Arabidopsis thaliana* NHX Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> antiporters in the salt stress response. *The Plant Journal*, 30(5), 529-539.

**Yuan, G., Wang, X., Guo, R., Wang, Q.** (2010). Effect of salt stress on phenolic compounds, glucosinolates, myrosinase and antioxidant activity in radish sprouts. *Food chemistry*, 121(4), 1014-1019.

**Yücel, N. C., & Heybet, E.** (2016). Salicylic acid and calcium treatments improves wheat vigor, lipids and phenolics under high salinity. *Acta Chimica Slovenica*, 63(4), 738-746.

**Yusuf, M., Hasan, S. A., Ali, B., Hayat, S., Fariduddin, Q., & Ahmad, A.** (2008). Effect of salicylic acid on salinity-induced changes in *Brassica juncea*. *Journal of integrative plant biology*, 50(9), 1096-1102.



**Zhishen, J., Mengcheng, T., Jianming, W.** (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food chemistry*, 64(4), 555-559.

**Zhifang, G., & Loescher, W. H.** (2003). Expression of a celery mannose 6-phosphate reductase in *Arabidopsis thaliana* enhances salt tolerance and induces biosynthesis of both mannitol and a glucosyl-mannitol dimer. *Plant, Cell & Environment*, 26(2), 275-283.

**Zhu, G. Y., Kinet, J. M., & Lutts, S.** (2004). Characterisation of rice (*Oryza sativa*) F3 populations selected for salt resistance. 2. Relationships between yield-related parameters and physiological properties. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 44(3), 333-342.

**Zhu, J. K.** (2001). Plant salt tolerance. *Trends in plant science*, 6(2), 66-71.

**Zhu, J. K.** (2003). Regulation of ion homeostasis under salt stress. *Current opinion in plant biology*, 6(5), 441-445.

---

# *ANNEXES*

---

## Annexe 1 : composition de la solution nutritive de Hoagland

<b>Produit</b>	<b>Formule chimique</b>	<b>Poids en g/L</b>
<b>Nitrate de potassium</b>	<b>KNO<sub>3</sub></b>	<b>191.90</b>
<b>Nitrate de Calcium</b>	<b>(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> Ca 4H<sub>2</sub>O</b>	<b>129.80</b>
<b>Nitrate d'Ammonium</b>	<b>NO<sub>3</sub> NH<sub>4</sub></b>	<b>210</b>
<b>Sulfate de magnésium</b>	<b>SO<sub>4</sub> Mg 7H<sub>2</sub>O</b>	<b>61.5</b>
<b>Phosphate mono potassique</b>	<b>PO<sub>4</sub> H<sub>2</sub>K</b>	<b>54.40</b>
<b>Hydrogenophosphate di-potassium</b>	<b>PO<sub>4</sub> K<sub>2</sub>H 3H<sub>2</sub>O</b>	<b>34.23</b>
<b>Chlorure de manganèse</b>	<b>CL<sub>2</sub> Mn 4H<sub>2</sub>O</b>	<b>1.80</b>
<b>Sulfate de cuivre</b>	<b>Cu SO<sub>4</sub> 5H<sub>2</sub>O</b>	<b>0.176</b>
<b>Sulfate de zinc</b>	<b>Zn SO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O</b>	<b>0.219</b>
<b>Acide borique</b>	<b>H<sub>3</sub> BO<sub>3</sub></b>	<b>2.861</b>
<b>Molybdate d'ammonium</b>	<b>MO<sub>7</sub> O<sub>24</sub> (NH<sub>4</sub>) 7H<sub>2</sub>O</b>	<b>0.285</b>
<b>Complexe ferrique EDTA ferrique</b>	<b>(C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>FeN<sub>2</sub>NaO<sub>8</sub>)</b>	<b>0.050</b>