

N° d'ordre...

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



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

Département des Sciences de l'Environnement

Laboratoire de recherche de «Biodiversité végétale:  
conservation et valorisation»

# THÈSE DE DOCTORAT EN SCIENCES

Présentée par

M<sup>lle</sup> AISSAT AMAL

*Spécialité : Sciences de l'environnement*

*Option : Biodiversité végétale Méditerranéenne de l'Algérie Occidentale*

## Intitulé

Étude de quelques aspects physiologiques, biochimiques et anatomiques de *Medicago arborea* L. vis-à-vis du stress salin et hydrique

Soutenue le .....

Devant l'honorable jury composé de :

Président<sub>e</sub> M<sup>me</sup> MEGHERBI née BENALI Aicha Maitre de Conférences Classe A,  
Université Djillali Liabès S.B.A

Examineurs: Mr CHADLI Rabah Professeur, Université de Mostaganem  
Mr MEKHALDI Abdelkader Professeur, Université de Mostaganem  
Mr HASNAOUI Okkacha Professeur, Université de Saida

Promoteur : Pr. MEHDADI Zoheir Professeur, Université Djillali Liabès S.B.A

Année universitaire 2019 - 2020

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ  
الْحَمْدُ لِلَّهِ الَّذِي  
خَلَقَ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضَ  
وَالَّذِي يُضَوِّبُ الْمَوْتَاطِ  
وَالَّذِي يُضَوِّبُ الْمَوْتَاطِ  
وَالَّذِي يُضَوِّبُ الْمَوْتَاطِ

# *Dédicaces*

*A la mémoire de Mon cher Papa, l'étoile qui m'a guidé et guiderais toujours mon chemin. Vous étiez le père exemplaire, Je ne vous remercierai jamais assez pour votre éducation, votre soutien et vos sacrifices tout au long de mon parcours.*

*J'espère pouvoir faire votre fierté comme vous faites la mienne.*

*Repose en paix*

*À vous je dédie ce travail*

# Remerciements

À l'issue de ce travail, je remercie tout d'abord le bon *DIEU*, le tout puissant, pour m'avoir donné la force et le courage ainsi que l'audace pour dépasser toutes les difficultés et terminer ce travail.

Au terme de ce travail, je voudrais exprimer toute ma reconnaissance aux personnes qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

En tout premier lieu, j'exprime ma plus grande gratitude et mon profond respect pour le directeur de ma thèse, Mr. *Mehdadi Zoheir*, professeur à l'université Djillali Liabes de Sidi Bel Abbès. Je le remercie particulièrement pour la disponibilité, la patience, la confiance et la compréhension qu'il m'a accordées durant six ans de labeur.

Je tiens à exprimer ma gratitude à Mme MEGHERBI née BENALI Aïcha, Maître de conférences classe A, à l'université Djillali Liabès Sidi Bel Abbès, de m'avoir fait l'honneur de présider le jury de cette thèse. Soyez assuré de tous mes respects.

Que Monsieur Mr CHADLI Rabah, Professeur à l'université de Abd Elhamid Ibn Badis, Mostaganem, trouve ici l'expression de mes respectueuses considérations de m'avoir honoré pour l'expertise de ce manuscrit.

Je tiens à remercier Mr MEKHALDI Abdelkader, Professeur à l'université de Abd Elhamid Ibn Badis, Mostaganem, d'avoir accepté de juger notre travail. Veuillez accepter mes sincères remerciements pour votre honorable présence dans ce jury.

Je voudrai remercier également Mr HASNAOUI Okkacha, Professeur à l'université de Saida, de m'avoir fait l'honneur d'accepter de juger ce travail. Veuillez croire en l'expression de mes respectueuses considérations.

J'adresse mes vifs remerciements à Mr. Le professeur LATRECHE Ali ainsi que Mme BENDIMRED Fatima Zohra et Mr Chérifi Kouider, Maitres de Conférences classe A à l'Université Djillali Liabes, Sidi Bel Abbès.

J'exprime toute ma reconnaissance à Mr BELKHODJA Moulay, Professeur à l'Université d'Oran-1, ainsi qu'à l'équipe du laboratoire de Physiologie Végétale, Université d'Oran-1.

Je tiens à remercier Mr Mastrorelli Marcello, Directeur de l'institut de recherche C.R.E.A de Bari, Italie ; Mlle Leogrande Rita et Mlle Anna Mari Stellacci, Techniciennes à l'institut de recherche C.R.E.A de Bari, Italie pour leur collaboration et leur sympathie au cours du stage réalisé au sein du Laboratoire de chimie en 2017. Veuillez acceptez mon plus profond respect et considération.

Mes vifs remerciements à Mr Badiani Maurizio, Directeur du département d'Agronomie et Professeur à l'Université Mediterranea de Reggio Calabria, Italie et Mr SCERRA Manuelle, Professeur à l'Université Mediterranea de Reggio Calabria, Italie, pour l'aide et la collaboration qu'ils m'ont apportées durant le stage universitaire réalisé au sein du Laboratoire de Production végétale en 2019.

Et bien sûr, je remercie énormément mon amie et ma collègue Dr Hakemi Zahra pour son aide, son soutien morale et pour l'intérêt qu'elle a porté à mon travail.

**Dédicaces**

**Remerciements**

**Liste des abréviations**

**Liste des figures**

**Liste des planches**

**Liste des tableaux**

**Résumés (Arabe, français, anglais)**

**Pages**

**Introduction**..... 1

*Partie I : Synthèse bibliographique*

*Chapitre I : Données générales sur *Medicago arborea* L.*

I. Caractères botaniques.....	4
I.1. Étymologie et Nomenclature.....	4
I.2. Taxonomie et classification.....	5
I.3. Description botanique.....	7
I.3.1. Habitus général.....	7
I.3.2. Racines.....	8
I.1.3. Tronc.....	8
I.1.4. Feuillage.....	8
I.1.5. Inflorescence, fleurs.....	8
I.1.6. Fruit, graines.....	9
II. Caractères biologiques.....	11
II.1. Cycle de développement.....	11
II.1.1. Stades végétatifs.....	11
II.1.2. Stades reproductifs.....	11
II.2. Régénération.....	12
II.3. Maladies et pathogènes.....	13
III. Origine et répartition géographique.....	13
IV. Exigences climatiques et édaphiques.....	14
IV.1. Habitat (Altitude et Sol).....	14
IV.2. Climat.....	15
IV.3. Association symbiotiques.....	15
IV.4. Intérêts et usages.....	16

IV.4.1. Intérêt écologique.....	16
IV.4.2. Intérêts économique.....	18

**Chapitre II : Physiologie des stress**

I. Le stress : vocabulaire et conception/ approche conceptuelle du stress.....	22
II. Salinité et sécheresse, majeures contraintes environnementales pour les plantes.....	23
III. Stress hydrique.....	25
III.1. Définitions.....	25
III.2. Effets du stress hydrique sur les plantes.....	26
III.2.1. Effets sur l'état hydrique de la plante.....	26
III.2.2. Effets sur l'intégrité membranaire.....	27
III.2.3. Effets sur l'activité photosynthétique.....	27
III.2. 4. Effets sur la croissance.....	27
III.2.5. Effet sur le développement phénologique.....	28
III.2. 6. Effet sur le rendement et la production.....	29
IV. Stress salin.....	31
IV.1. Définition.....	31
IV.2. Effets du stress salin.....	32
IV.2.1. Effets sur l'état hydrique de la plante.....	32
IV.2.2. Effet sur le métabolisme et la nutrition.....	33
IV.2.3. L'effet sur la photosynthèse.....	34
IV.2.4. Effet sur la germination.....	35
IV.2.5. Effet sur la croissance, le développement et la production.....	36
V. Tolérance/Réponse aux stress.....	37
V.1. Mécanismes de tolérance au stress hydrique.....	38
V.1.1. L'esquive (échappement).....	38
V.1.2. L'évitement (avoidance).....	39
V.1.3. La tolérance à la déshydratation et ajustement osmotique.....	40
V.2. Mécanismes de tolérance au stress salin.....	41
V.2.1. Homéostasie cellulaire.....	42
V.2.2. Compartimentation vacuolaire.....	51
V.2.3. Régulation de la croissance et induction hormonale.....	51
V.2.4. Adaptation à la salinité.....	52

**Partie II : Étude expérimentale**

**Chapitre I : Physiologie de la germination**

<b>I. Matériel et méthodes</b> .....	55
I.1. Matériel biologique.....	55
I.2. Méthodes d'étude.....	55
I.2.1. Sélections et préparation des graines.....	55
I.2.2 Déroulement des essais de germination.....	55
I.2.3. Application des stress.....	56
I.2.3.1. Stress salin.....	56
I.2.3.2. Réversibilité de l'action du sel.....	56
I.2.3.3. Stress hydrique.....	57
I.3. Expression des résultats.....	57
I.4. Analyse statistique.....	58
<b>II. Résultats</b> .....	59
II.1. Effet du stress salin.....	59
II.1.1. Cinétique de germination.....	59
II.1.2. Capacité de germination et coefficient de vitesse.....	60
II.1.3. Temps moyen de germination et temps de latence.....	61
II.1.4. Réversibilité de l'effet du NaCl.....	62
II.2. Effet du stress hydrique.....	63
II.2.1. Cinétique de germination.....	63
II.2.2. Capacité de germination et coefficient de vitesse.....	64
II.2.3. Temps moyen de germination et temps de latence.....	65
<b>III. Discussion</b> .....	66
<b>IV. Conclusion</b> .....	70

*Chapitre II* : Caractérisation de la croissance sous stress

<b>I. Matériel et méthodes</b> .....	71
I.1. Matériel végétal.....	71
I.2. Méthodes d'étude.....	71
I.2.1. Lieu du déroulement des expérimentations.....	71
I.2.2. Préparation du substrat.....	71
I.2.3. Rempotage/ Mise en pots de culture.....	72
I.2.4. Mise en culture.....	72
I.2.4.1. Germination des graines.....	72
I.2.4.2. Repiquage des plantules.....	72
I.2.4.3. L'arrosage des plantules.....	72
I.2.5. Application du stress.....	73
I.2.6. Paramètres évalués.....	75
I.2.6.1. Paramètres morphométriques.....	75
I.2.6.2. Paramètres physiologiques.....	76
I.2.6.3. Paramètres biochimiques.....	76
I.2.7. Analyses statistiques.....	77
<b>II. Résultats</b> .....	80
II.1. Effet de la salinité et du stress hydrique sur les paramètres biométriques.....	80
II.1.1. Longueur finale de l'axe aérien/tige.....	81
II.1.2. Vitesse moyenne de la croissance.....	81
II.1.3. Nombre des entre- nœuds.....	81
II.1.4. Longueur de l'axe racinaire.....	81
II.1.5. Nombre final des feuilles formées et tombées.....	81
II.1.6. Surface foliaire.....	81
II.2. Effet de la salinité et du stress hydrique sur les paramètres physiologiques.....	82
II.2.1. Teneur relative en eau.....	83
II.2.2. Biomasse fraîches/sèches aérienne et racinaire (BFA, BSA, BFR, BSR).....	83
II.2.3. Ratio.....	83
II.3. Effet de la salinité et du stress hydrique sur les paramètres biochimiques.....	84
II.3.1. Teneurs en pigments chlorophylliens.....	85
II.3.2. Teneur en proline.....	85
II.3.3. Teneur en sucres solubles.....	85
<b>III. Discussion</b> .....	87

---

<b>IV. Conclusion</b> .....	93
 <i>Chapitre III : Réponses anatomiques de M. arborea aux stress hydrique et salin</i>	
<b>I. Matériel et méthodes</b> .....	94
I.1. Matériel végétal.....	94
I.2. Méthodes d'étude.....	94
I.2.1. Réalisation des coupes.....	94
I.2.2. Coloration des coupes.....	94
I.2.3. Observation microscopique.....	95
I.2.4. Conservation des coupes.....	95
I.2.5. Mensuration/biométrie des tissus.....	95
I.2.6. Analyse statistique.....	95
<b>II. Résultats</b> .....	96
II.1. Caractérisation anatomique de <i>Medicago arborea</i> .....	96
II.1.1. Anatomie des racines.....	96
II.1.2. Anatomie des tiges.....	96
II.1.3. Anatomie des feuilles.....	97
II.2. Effet du stress salin et hydrique sur la structure anatomique des différents organes.....	100
II.2.1. Effet sur l'anatomie de la racine.....	100
II.2.2. Effet sur l'anatomie de la tige.....	101
II.2.3. Effet sur l'anatomie de la feuille.....	101
<b>III. Discussion</b> .....	106
<b>IV. Conclusion</b> .....	107
<b>Conclusion générale et perspectives</b> .....	108
<b>Références bibliographiques</b> .....	110

## الملخص

يهدف هذا العمل إلى دراسة أليات تحمل الإجهاد الملحي و المائي عند شجيرة الفصّة (*Medicago arborea*).

في هذا السياق ، ومن أجل توضيح المعلومات حول صلاحية بذورها وفهم آلية الإحياء الطبيعي بشكل أفضل عن طريق البذر، قمنا بتقييم سلوكهم الإنتاشي تحت ظروف مراقبة من الإجهاد الملحي و المائي. لهذا الغرض، فقد تم جمع البذور من منطقة الجلفة (الجزائر) لاختبار الإنتاش في الحاضنة في درجة حرارة مستمرة مثلى تبلغ 20 درجة مئوية. في حالة الإجهاد الملحي ، خضعت البذور لتركيزات مختلفة من كلوريد الصوديوم (34 ، 68 ، 102 ، 136 ، 170 ، 204 ، 238 و 272 ملي مول) ، أما بالنسبة للضغط المائي ، عدد من الضغط الأسموزي تم اختبارها (-0.01، -0.02، -0.05، -0.1 و -0.2 ميغا باسكال) ، الناجم عن تركيزات مختلفة من البولي إيثيلين جليكول 6000 (PEG6000).

أظهرت النتائج أن عملية الإنتاش تأثرت بشكل كبير بالإجهاد الملح العالي ( $P < 0.05$ ). أدت الزيادة في الملوحة إلى انخفاض قدرة وسرعة الإنتاش، مع زيادة وقت الكمون ومتوسط وقت الإنتاش. تفاعلت البذور بطريقة مشابهة تحت تأثير الإجهاد المائي، حيث انخفض معدل إنتاشها مع زيادة تركيز PEG6000 في الوسط. كما تبين أن تركيز كلوريد الصوديوم بمقدار 204 ملي مول والضغط الأسموزي -0.05 ميغا باسكال يشكلان الحدود الفسيولوجية أو عتبات الإنتاش للبذور المدروسة. تجدر الإشارة إلى أنه عندما تكون البذور التي تمت معالجتها باستخدام كلوريد الصوديوم والتي لم تتمكن من الإنتاش ، قد تمكنت من استعادة قدرتها على الإنبات بمجرد نقلها إلى وسط غير ملحي، في وجود الماء المقطر. فهذا يشير إلى أن تثبيط الإنتاش مرتبط بالإجهاد الأسموزي ، ولكن أيضاً بالسمية الأيونية حيث تقل القدرة على الإنتاش مقارنة بالتجربة الشاهدة.

يتكون الجزء الثاني من هذا العمل من دراسة استجابة نباتات *M. arborea* الإجهاد الملحي و المائي في مرحلة متقدمة من نمو. تزرع شتلات *M. arborea* في أصص في الدفيئة وتعرض بشكل منفصل إلى الإجهاد المائي بنسبة 20 % ، 40 % ، 60 % ، 80 % و 100 % من سعة الحقل ، وإلى الإجهاد الملحي، وذلك بإضافة كلوريد الصوديوم في مياه الري في التركيزات التالية: 0 ، 50 ، 100 ، 150 و 200 ميلي مكافئ لتر<sup>-1</sup>. تم تحديد آثار الإجهاد على الكتلة الحيوية الطازجة والجافة، والمحتوى المائي النسبي ، ومحتوى أصباغ الكلوروفيل في الأوراق (الكلوروفيل والكاروتينات) ، بالإضافة لمحتوى البرولين والسكريات المذابة الكاملة. أظهرت النتائج أن الإجهاد المائي والملحي أثر على نمو الشتلات ، ولا سيما النظام المائي المنخفض (20 % من سعة الحقل) مما قلل بشكل كبير الكتلة الحيوية الطازجة والجافة ومحتوى الماء النسبي ، في حين أن الشتلات المعرضة للملوحة حافظت على نسبة ماء جيدة (<70%).

لم يظهر الكلوروفيل أ و ب وكذلك محتوى الكاروتين أي فروق ذات دلالة إحصائية بين المعالجات ، في حين زادت مستويات البرولين و السكريات المذابة الكلية (الأمولات الرئيسية المساهمة في الضبط الأسموزي) بشكل كبير و ذلك حسب زيادة شدة الإجهاد المائي والملحي. تؤكد النتائج على أن *M. arborea* لديها قدرة ملحوظة لتحمل الإجهاد المائي والملحي، وذلك عن طريق إشراك مجموعة من الاستراتيجيات الفسيولوجية للتعامل مع الإجهاد ، وبالتالي تنظيم نشاط التمثيل الغذائي والحفاظ على إنبات الخلية.

أخيراً ، تمت دراسة تأثير الإجهاد المائي والملحي على التركيب التشريحي للأعضاء النباتية الرئيسية وهي جذور الشتلات الشابة ل *M. arborea* وسيقانها وأوراقها. أجرينا يدويا مقاطع عرضية على هذه الأعضاء المختلفة ، ملونة بواسطة تقنية التلوين المزدوج " أخضر الميثيل - أحمر الكونغو " وتمت ملاحظتها بتقنية المجهر الضوئي التقليدية.

أظهرت نتائج العوامل المختلفة التي تم قياسها زيادة قصوى ( $P > 0.05$ ) في سطح المقطع العرضي للجذر، وقطر المسلة الجذرية بالإضافة إلى قطر النسيج الخشبي، تحت مستوى عالي من الملوحة (200 متر مكعب / ل) و كذلك تحت الإجهاد المائي الشديد (20%). علاوة على ذلك، وعكسا عن الإجهاد المائي يبدو أن للملوحة تأثير محفز كبير على المقطع العرضي للساق، بينما لوحظ التأثير المعاكس بالنسبة لقطر أوعية النسيج الخشبي. تشير النتائج التي توصلنا إليها أن *M. arborea* يعتبر من الأنواع النباتية التي تتحمل الإجهاد المائي والملحي ، وذلك بأخذ اعتبار للتغيرات التشريحية الناتجة من أجل الحفاظ على النمو والتوصيل الجيد للمياه.

البيانات التي تم الحصول عليها تشير أن *M. arborea* يمثل قدرة نباتية واحدة تتميز بخصائص مورفو فسيولوجية، بيوكيميائية وتشريحية تسمح له بالنمو في الظروف القاحلة وشبه القاحلة، وبالتالي إمكانية استخدامه في إعادة تأهيل و تشجير الأراضي المتدهورة.

## الكلمات المفتاحية

*Medicago arborea*، الإنتاش ، النمو ، التشريح ، الأنسجة ، الإجهاد الملحي ، الإجهاد المائي ، التحمل/التكيف .

## Résumé

La présente étude a pour but de caractériser les mécanismes de tolérance au stress salin et hydrique chez la luzerne arborescente (*Medicago arborea*).

Dans ce contexte, et afin d'élucider les connaissances sur la viabilité de ses graines et mieux comprendre le mécanisme de régénération naturelle par semis, nous avons évalué leur comportement germinatif dans des conditions contrôlées de stress hydrique et salin. Pour cela, des graines ont été collectées de la région de Djelfa (Algérie) pour tester leur germination dans un incubateur à la température optimale continue de 20°C. Pour le stress salin, les graines ont été soumises à différentes concentrations molaires de NaCl (34 mM, 68 mM, 102 mM, 136 mM, 170 mM, 204 mM, 238 mM, 272 mM) et pour le stress hydrique, différents potentiels osmotiques ont été testés (-0,01 Mpa, -0,02 Mpa, -0,05 Mpa, - 0,1 Mpa, -0,2 Mpa), induits par différentes concentrations de polyéthylène glycol<sub>6000</sub> (PEG<sub>6000</sub>).

Les résultats ont montré que la germination était significativement affectée par un stress salin élevé ( $p < 0,05$ ). L'augmentation de la salinité a diminué la capacité de germination et la vitesse de germination, tout en allongeant le temps de latence et le temps moyen de germination. Les graines réagissent de manière comparable face au stress hydrique, puisque leur taux de germination a diminué en fonction de l'augmentation de la concentration de PEG6000 dans l'environnement. Il a été révélé que la concentration 204mM de NaCl et la pression osmotique -0,05 Mpa constituaient les limites ou seuils physiologiques de germination des graines étudiées. Il est à noter que lorsque les graines traitées par le NaCl et n'ayant pas pu germer ont pu récupérer leur aptitude à germer une fois transférées sur milieu non salin, en présence d'eau distillée. Cela indique que l'inhibition de la germination est liée au stress osmotique, mais aussi à une toxicité ionique puisque la capacité de germination a diminué par rapport au témoin.

La seconde partie de ce travail consiste à étudier la réponse des plantes de *M. arborea* au stress hydrique et salin au stade juvénile de croissance. Les plantules de *M. arborea* ont été cultivées en pots sous serre et soumises séparément au stress hydrique à 20%, 40%, 60%, 80% et 100% de la capacité au champ du substrat, et au stress salin, par addition de NaCl à l'eau d'irrigation aux concentrations suivantes : 0, 50, 100, 150 et 200 meq<sup>l</sup><sup>-1</sup>. Les effets du stress ont été déterminés sur la biomasse fraîche et sèche, la teneur relative en eau, la teneur en pigments chlorophylliens des feuilles (chlorophylle et caroténoïdes), la proline et la teneur en sucres solubles totaux. Les résultats ont montré que les stress hydrique et salin affectaient la croissance des plantules, notamment le plus faible régime hydrique (20% de la capacité au champ) qui a réduit de manière significative la biomasse fraîche et sèche et la teneur relative en eau, tandis que les plantules soumises à la salinité ont maintenu une bonne teneur en eau (> 70%).

La chlorophylle a et b ainsi que la teneur en caroténoïdes n'ont pas montré de différences significatives entre les traitements, tandis que les teneurs de proline et de sucres solubles totaux (principaux osmolytes impliqués dans l'ajustement osmotique) augmentent de manière significative en fonction de l'intensité du stress hydrique et salin. Les résultats soulignent que *M. arborea* a un potentiel remarquable de tolérance au déficit hydrique et à la salinité, en impliquant une gamme de stratégies physiologiques pour faire face au stress régulant ainsi l'activité métabolique et le maintien de la turgescence cellulaire.

Finalement, une dernière partie anatomique a été entreprise pour étudier l'effet du stress salin et hydrique sur la structure des certains tissus des principaux organes végétatifs, à savoir les racines, tiges et feuilles des jeunes plantules de *M. arborea*. Des coupes transversales à main levée ont été effectuées sur ces différents organes, puis colorées par la technique de la double coloration «vert de méthyle-rouge Congo» et examinées sous microscope photonique.

Les résultats des différents paramètres histologiques mesurés ont montré une augmentation maximale de la surface de la section transversale de la racine, du diamètre de la stèle et du diamètre du xylème à un niveau de salinité élevé (200 meq / l), ainsi qu'à un stress hydrique sévère (20% CC) ( $P < 0,05$ ).

De plus, et contrairement au stress hydrique, la salinité semble avoir un effet significatif sur la surface de la section transversale de la tige, tandis que pour le diamètre des vaisseaux du xylème, l'effet inverse a été observé.

Nos résultats suggèrent que *M. arborea* est considéré comme une espèce tolérante au stress salin et hydrique, compte tenu des changements anatomiques manifestés afin de maintenir la croissance et une bonne conductivité hydrique.

L'ensemble des données obtenues dénotent que *M. arborea* est un potentiel végétal prometteur qui présente des aptitudes morpho-physiologiques, biochimiques et anatomiques lui permettant de prospérer dans les conditions semi-arides et arides et donc la possibilité de son utilisation dans la réhabilitation des parcours dégradés.

### Mots clés

*Medicago arborea*, germination, croissance, anatomie, stress salin, stress hydrique, tolérance.

## Abstract

The purpose of this study is to characterize the mechanisms of tolerance to salt and water stress in alfalfa tree (*Medicago arborea*). In this context, and in order to elucidate knowledge on the viability of its seeds and better understand the mechanism of natural regeneration by sowing, we evaluated their germinative behavior under controlled conditions of water and saline stress. For this, seeds were collected from the Djelfa region (Algeria) to test germination in an incubator at an optimal continuous temperature of 20 ° C. For salt stress, the seeds were subjected to different molar concentrations of NaCl (34, 68, 102, 136, 170, 204, 238 et 272 mM) and for water stress, different osmotic potentials have been tested (-0.01, -0.02, -0.05, - 0.1 et -0.2 Mpa), induced by different concentrations of polyethylene glycol 6000 (PEG<sub>6000</sub>).

The results showed that germination was significantly affected by high salt stress ( $p < 0.05$ ). The increase in salinity decreased the germination capacity and the germination speed, while increasing the latency time and the average germination time. The seeds react in a comparable way to water stress, since their germination rate has decreased with the increase in the concentration of PEG<sub>6000</sub> in the environment. It was revealed that the 204mM NaCl concentration and the osmotic pressure -0.05 Mpa constituted the physiological limits or thresholds of germination for the studied seeds. It should be noted that when the seeds treated with NaCl and having been unable to germinate have been able to recover their ability to germinate once transferred to a non-saline environment, in the presence of distilled water. This indicates that the inhibition of germination is linked to osmotic stress, but also to ionic toxicity since that the capacity for germination has decreased comparing to the control.

The second part of this work consists on studying the response of *M. arborea* plants to water and saline stress at the juvenile stage of growth. The plants were grown in pots in a greenhouse and subjected separately to water stress at 20%, 40%, 60%, 80% and 100% at the field capacity of the substrate, and to salt stress, by adding NaCl to irrigation water at the following concentrations: 0, 50, 100, 150 and 200meqL<sup>-1</sup>. The effects of stress were determined on the fresh and dry biomass, the relative water content, the content of leaves pigments (chlorophyll and carotenoids), proline and total soluble sugar contents. The results showed that water and salt stress affected the growth of plants, in particular the lower water regime (20% of the field capacity) which significantly reduced the fresh and dry biomass and the relative water content, while that the plants subjected to salinity maintained a good water content (> 70%).

Chlorophyll a and b as well as the carotenoids content did not show any significant differences between the treatments, while the content of proline and total soluble sugars (the main osmolytes involved in osmotic adjustment) significantly increased according to the intensity of water and salt stress. The results emphasize that *M. arborea* has a remarkable potential for tolerance to water deficit and salinity, by involving a range of physiological strategies to cope with stress, thus regulating metabolic activity and the maintenance of cell turgor.

Finally, a cytological part was undertaken to study the effect of salt and water stress on the anatomical structure of the main vegetative organs: roots, stems and leaves of the young plants of *M. arborea*. We carried out freehand cross sections on these different organs, colored by the technique of double coloring "Methyl green-Congo Red" and observed by photonic microscopy techniques.

The results of the different measured parameters showed a maximum increase in the root cross section diameter, the stele diameter and the xylem vessels diameter at a higher level of salinity (200 meqL<sup>-1</sup>), thus to severe water stress (20% FC) ( $P > 0.05$ ). In addition, and unlike water stress, salinity seems to have a significant stimulating effect on the stem cross section diameter, while for the xylem vessels diameter, the opposite effect was observed.

Our results suggest that *M. arborea* is considered a species tolerant to salt and water stress, considering the occurred anatomical changes in order to maintain growth and good water conductivity. The obtained findings indicate that *M. arborea* is regarded as a promising plant potential providing many morpho-physiological, biochemical and anatomical aptitudes which allow the species to prosper in arid and semi-arid conditions and thus the possibility to use it for the rehabilitation and reforestation of damaged lands.

## Keywords

*Medicago arborea*, germination, growth, anatomy, salt stress, water stress, tolerance.

**Liste des abréviations**

**%** : pourcentage

**°C** : degré Celsius.

**ADN** : Acide Désoxyribonucléique

**Alt** : altitude

**APG** : Angiosperm Phylogeny Group

**ATP** : adénosine triphosphate

**Beauv.** : Ambroise Marie François Joseph Palisot de Beauvois

**C3** : Métabolisme de fixation de carbone C3

**Ca<sup>2+</sup>** : ion de calcium

**CaCl<sub>2</sub>** : chlorure de calcium

**CAM** : Métabolisme Acide Crassulacéen

**CC** : capacité au champ

**Cl<sup>-</sup>** : ion de chlore

**cm** : centimètre

**CO<sub>2</sub>** : gaz dioxyde de carbone

**dS/m** : déci-siemens par mètre

**E'** : Est

**EURISCO** : European Search Catalogue for Plant Genetic Resources

**FAO** : Food and agriculture organisation

**g** : gramme

**g/l** : gramme par litre.

**ha** : hectare

**K<sup>+</sup>** : ion de potassium

**L.** : Carl Von Linné.

**m** : mètre

**meq/L** : milliéquivalent par litre

**mg** : milligramme

**Mg<sup>2+</sup>** : ion de Magnésium

**ml** : millilitre

**mM** : milli Mole

**mm** : millimètre

**mM/l** : milli Mole par litre.

**mn** : minute

**Mpa** : méga pascal.

**N**: Azote

**N'** : Nord

**Na<sup>+</sup>** : ion de sodium

**NaCl** : chlorure de sodium

**NADPH** : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate

**nm** : nanomètre

**OH** : hydroxyde

**P** : phosphore

**pH** : potentiel hydrique

**Presl.** : Jan Svatopluk Presl.

**t/ha** : tonne par hectare

**T°** : température

**UF/ha** : unité fourragère par hectare

**UV** : ultra violet

**µg.mg<sup>-1</sup>** : microgramme par milligramme

**µm** : micromètre

**Liste des tableaux**

	<b>Pages</b>
<b>Tableau 1 :</b> Différentes dénominations de <i>M. arborea</i> .....	4
<b>Tableau 2 :</b> Classification classique et récente (APG II) de <i>M. arborea</i> .....	7
<b>Tableau 03 :</b> Sécheresse, définitions et significations (Passioura, 2007).....	25
<b>Tableau 4 :</b> Paramètres de germination relatifs aux graines soumises à différentes concentrations de NaCl).....	61
<b>Tableau 5 :</b> Effet du stress hydrique sur les différents paramètres de germination.....	64
<b>Tableau 6 :</b> Composition minérale de la solution nutritive de Hoagland (1938).....	72
<b>Tableau 7 :</b> Composition des solutions salines utilisées à base de NaCl+CaCl <sub>2</sub> .....	73
<b>Tableau 8 :</b> Effet du stress salin sur les paramètres morphologiques des plantules de <i>M. arborea</i> .....	80
<b>Tableau 9 :</b> Effet du stress hydrique sur les paramètres morphologiques des plantules de <i>M. arborea</i> .....	80
<b>Tableau 10 :</b> Effet du stress salin sur les paramètres physiologiques des plantules de <i>M. arborea</i> .....	82
<b>Tableau 11 :</b> Effet du stress hydrique sur les paramètres physiologiques des plantules de <i>M. arborea</i> .....	82
<b>Tableau 12 :</b> Effet du stress salin sur les paramètres biochimiques des plantules de <i>M. arborea</i> .....	84
<b>Tableau 13 :</b> Effet du stress hydrique sur les paramètres biochimiques des plantules de <i>M. arborea</i> .....	84
<b>Tableau 14 :</b> Effet du stress salin sur les paramètres anatomiques de la racine et tige de <i>M. arborea</i> .....	100
<b>Tableau 15 :</b> Effet du stress hydrique sur les paramètres anatomiques de la racine et tige de <i>M. arborea</i> .....	100

Liste des planches

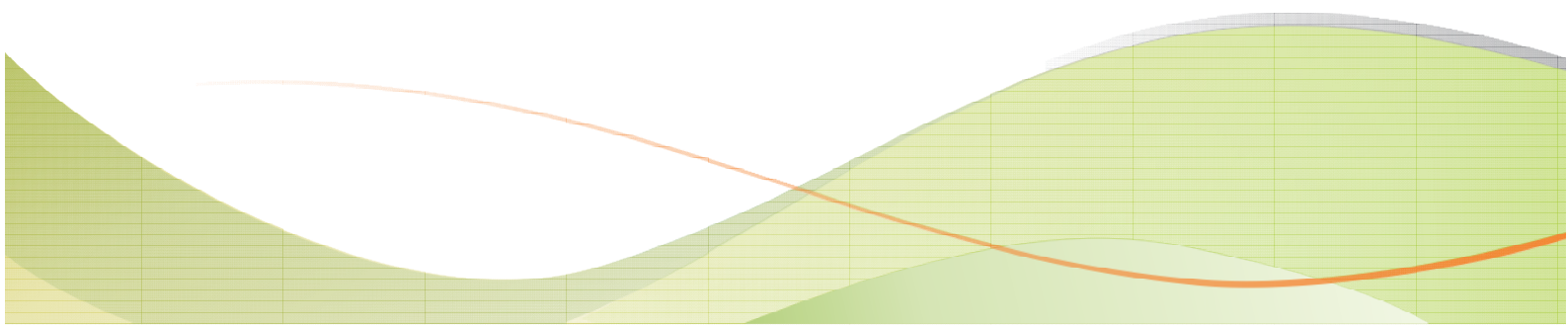
*Pages*

<b>Planche I</b> : Les différentes organes de <i>M. arborea</i> L. ....	10
<b>Planche II</b> : Mise en culture des plantules de <i>M. arborea</i> L. ....	74
<b>Planche III</b> : Caractérisation histologique de la racine, la tige et la feuille de <i>M. arborea</i> .....	99
<b>Planche IV</b> : Effet du stress salin sur la structure anatomique de la racine de <i>M. arborea</i> .....	102
<b>Planche V</b> : Effet du stress salin sur la structure anatomique de la tige de <i>M. arborea</i> .....	103
<b>Planche VI</b> : Effet du stress hydrique sur la structure anatomique de la racine de <i>M. arborea</i> .....	105
<b>Planche VII</b> : Effet du stress hydrique sur la structure anatomique de la tige de <i>M. arborea</i> .....	107

## Liste des Figures

	<i>Pages</i>
<b>Figure 1:</b> Cycle de développement chez le <i>Medicago arborea</i> (Prolea, 2002) .....	12
<b>Figure 2 :</b> Stratégies de résistance des plantes aux conditions salines (Levigneron <i>et al.</i> , 1995).....	43
<b>Figure 3 :</b> Les voies de biosynthèse de la proline (Parvaiz <i>et Satyawati</i> , 2008).....	48
<b>Figure 4 :</b> Graines de <i>M. arborea</i> L. (Cliché Aissat 2015).....	55
<b>Figure 5 :</b> Mise en germination des graines en boîtes pétri (Cliché Aissat, 2015).....	56
<b>Figure 6 :</b> Suivi de la germination d'une graine de <i>Medicago arborea</i> (Cliché Aissat 2015).....	59
<b>Figure 7 :</b> Effet du NaCl sur la cinétique de germination.....	60
<b>Figure 8 :</b> Effet du NaCl sur la capacité de germination et le coefficient de vitesse.....	61
<b>Figure 9 :</b> Effet du NaCl sur le temps moyen de germination et temps de latence.....	62
<b>Figure 10 :</b> Effet réversible du NaCl sur la capacité de germination .....	63
<b>Figure 11:</b> Effet des différentes concentrations de PEG <sub>6000</sub> sur la cinétique de germination .....	63
<b>Figure 12 :</b> Effet du stress hydrique sur la capacité de germination et le coefficient de la vitesse.....	64
<b>Figure 13 :</b> Effet des différentes concentrations de PEG <sub>6000</sub> sur le temps moyen de germination et temps de latence.....	65
<b>Figure 14 :</b> Dosage de la proline chez <i>M. arborea</i> (cas de stress salin).....	78
<b>Figure 15 :</b> Dosage des sucres solubles chez <i>M. arborea</i> (cas de stress hydrique).....	79
<b>Figure 16 :</b> Teneurs en proline foliaire (A) et sucres solubles totaux (B) sous les différentes concentrations salines chez les plantules de <i>M. arborea</i> .....	85
<b>Figure 17 :</b> Teneurs en proline foliaire (A) et sucres solubles totaux (B) sous les différents régimes hydriques chez les plantules de <i>M. arborea</i> .....	86

# ***INTRODUCTION***



## Introduction

Les terres arides et semi-arides de la région méditerranéenne se caractérisent par la variabilité climatique principalement l'irrégularité des précipitations, la sécheresse et les variations thermiques associées à une importante évaporation, favorisant l'accumulation de sel dans le sol et conduisant à la salinisation du sol et des eaux d'irrigation (Lachiheb *et al.*, 2004). En Algérie, ces terres couvrent plus de 216 000 km<sup>2</sup> de surface (Le Houérou, 1995).

La sécheresse et la salinité sont parmi les principaux stress abiotiques caractérisant ces zones, qui affectent négativement la croissance et la productivité des plantes (Tuteja, 2010; Kyani et Niknam, 2015). De plus, la disponibilité de l'eau dans le sol est le principal facteur limitant de la production pastorale méditerranéenne et constitue un défi à la régénération des espèces végétales (Medrano *et al.*, 1998).

Afin de faire face à ces conditions environnementales, différentes stratégies pourraient être adoptées, notamment, le choix idéal de la végétation appropriée pour les conditions précédentes qui constituent l'une des approches les plus pratiques qui pourrait résoudre les problèmes de réhabilitation des sols endommagés dans la région méditerranéenne (Wang *et al.*, 2004).

Pour cela, de nombreuses recherches ont été orientées vers l'introduction d'espèces ligneuses de légumineuses, en raison des énormes potentiels qu'elles pourraient offrir principalement la tolérance aux stress abiotiques, la valeur socio-économique comme la production de fourrage, la nutrition humaine, la protection des sols endommagés et le maintien de leur fertilité (Morandini, 1987).

Parmi la flore méditerranéenne, la luzerne arborescente (*Medicago arborea* L.) est l'une des espèces indigènes les plus importantes des régions méditerranéennes arides et semi-arides (Hickman, 1993). C'est un arbuste légumineux, hautement nutritif et pourrait agir comme une espèce stratégique soutenant les ressources conventionnelles autochtones dans les systèmes fourragers pour l'élevage ovin en milieux arides (Papanastasis *et al.*, 1998; Amato *et al.*, 2004). Il est adapté à la sécheresse périodique et à tous les types de sols, capable de protéger les zones fragiles de l'érosion éolienne et hydrique, et donc utilisé dans de nombreux programmes de valorisation et de restauration des zones steppiques endommagées (Lapeyronie, 1982; De Koning et Duncun, 2000).

Nonobstant son rôle crucial, l'installation de plantes est une phase initiale critique de développement qui dépend de la disponibilité de l'eau et des nutriments (Lefi *et al.*, 2004), dans la mesure où elle détermine l'établissement du semis, son acclimatation dans l'environnement et probablement sa productivité ultérieure (Tremblin et Binet, 1984).

La tolérance des plantes à la sécheresse et à la salinité implique des mécanismes aux niveaux morphologique, physiologique, biochimique et moléculaire de la plante entière (Farooq *et al.*, 2009).

Plusieurs études ont couvert divers aspects des similitudes et des contrastes de la réponse des plantes à la sécheresse et au stress salin. La salinité réduit la capacité des plantes à absorber l'eau, ce qui entraîne rapidement des réductions du taux de croissance, ainsi qu'une série de changements métaboliques similaires à ceux causés par le stress hydrique (Munns, 2002 ; Bartels et Sunkar, 2005).

La photosynthèse et la croissance des plantes sont parmi les principaux processus affectés par la sécheresse (Chaves, 1991) et la salinité (Munns *et al.*, 2006). Sous stress salin et hydrique, les plantes accumulent une gamme d'osmolytes y compris la proline et les sucres solubles, afin de réaliser un ajustement osmotique (Zhu, 2002 ; 2007). Selon l'espèce impliquée et l'intensité et la durée du stress, la concentration de proline peut atteindre un niveau de plusieurs centaines de fois supérieur à sa valeur de base (KaviKishor et Sreenivasulu, 2014).

De nombreuses études ont révélé qu'une salinité élevée provoque principalement des altérations anatomiques telles que la réduction du nombre de stomates (Hwang et Chen 1995; Çavuşoğlu *et al.*, 2007), l'épaisseur des feuilles (Shennan *et al.*, 1987; Çavuşoğlu *et al.*, 2008), la distance entre les faisceaux vasculaires et le nombre de cellules de l'épiderme (Çavuşoğlu *et al.* 2007). D'autres changements structurels se sont produits dans les plantes stressées par le sel, comme une différenciation inhibée, un diamètre et un nombre de vaisseaux de xylème modifiés. En fait, ce changement dans la structure du xylème peut affecter la capacité de transport de l'eau (Tyree *et al.*, 1994; Hacke *et al.*, 2006). La capacité du xylème à supporter une pression négative varie en fonction des contraintes environnementales particulières (Sperry et Tyree 1990).

La plupart des études écologiques suggèrent que les plantes poussant sous stress ont tendance à posséder des feuilles avec plus de trichomes et de stomates enfoncés que celles cultivées dans des conditions normales (Amzat *et al.*, 2009). Les stomates et les trichomes sont donc de possibles indicateurs de carence en eau chez les plantes (Adulrahman, 2009). La sécheresse peut influencer la formation des trichomes et les structures des stomates (Nagata *et al.*, 1999; Höglund et Larsson, 2005). Le stress hydrique entraîne une variation de la taille des cellules du mésophylle des accessions avec une stabilité du nombre de zones de faisceaux vasculaires (Hammed *et al.*, 2002).

La plupart des plantes ont donc une certaine adaptation ou réponse pour améliorer la croissance et le taux de survie pendant la sécheresse et ou la salinité et la récupération ultérieure.

Dans ce contexte et compte tenu du manque de données sur la tolérance de *M. arborea* à la salinité et à la sécheresse en Algérie, cette étude a été menée d'abord afin de comprendre davantage

le mécanisme de régénération naturelle par semis de *M. arborea* et à se concentrer sur la connaissance de la viabilité de ses graines par l'évaluation de leur comportement germinatif dans des conditions contrôlées de stress salin et hydrique.

D'un autre côté, une étude sur les réponses morphologiques, physiologiques et biochimiques a été réalisée sous serre dans des conditions contrôlées de stress salin et hydrique, afin de comprendre les mécanismes de tolérance de l'espèce.

Étant donné que la résistance au stress est un trait complexe impliquant plusieurs propriétés en interaction, il existe un intérêt croissant pour étudier le comportement anatomique de l'espèce afin d'identifier et de comprendre les mécanismes de tolérance au stress salin et hydrique.

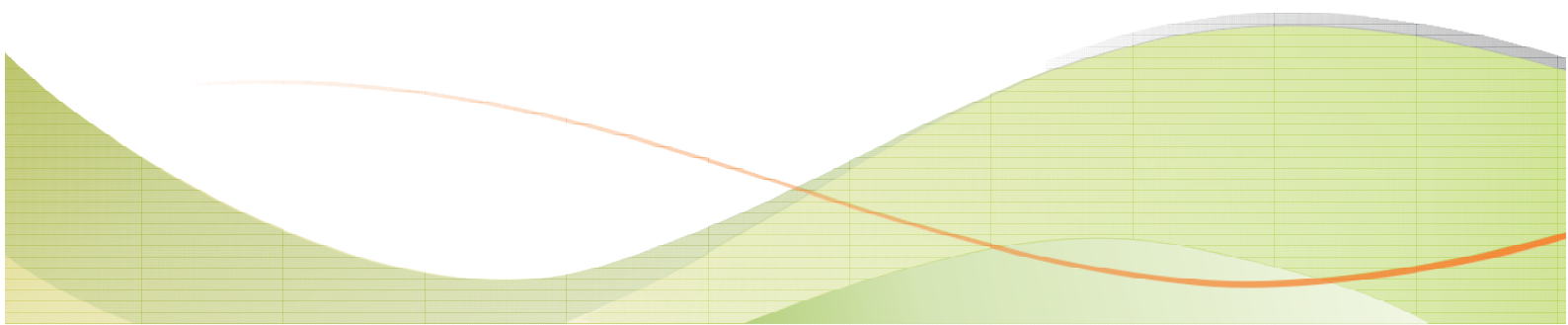
Cependant, peu d'informations sont disponibles sur les réponses anatomiques chez cette espèce.

Notre thèse est scindée en deux parties :

- ✓ une première partie bibliographique comprenant deux chapitres consacrés aux connaissances de la littérature sur l'espèce *Medicago arborea* et l'autre sur la physiologie des stress environnementaux.
- ✓ une deuxième partie expérimentale contenant trois chapitres :
  - le premier chapitre : consacré à l'étude de l'effet du stress hydrique et salin sur la germination des graines de *M. arborea*,
  - le deuxième chapitre : caractérisation de la croissance sous stress, dans le but d'évaluer les réponses morpho-physiologiques et biochimiques de l'espèce sous conditions hydriques et salines contraignantes au cours des premiers stades de la croissance,
  - le troisième chapitre : réponses anatomiques de *M. arborea* aux stress hydrique et salin dans le but de faire ressortir les principales caractéristiques d'adaptation anatomique à ces deux contraintes abiotiques.

Enfin, cette thèse est terminée par une conclusion générale avec des perspectives ainsi que le listing des différentes références bibliographiques utilisées.

# ***Synthèse Bibliographique***



### I. Caractères botanique

#### I.1. Étymologie et Nomenclature

Le terme "*Medicago*" vient du mot latin "*Medica*" ou «herbes de Médic» (Fournier, 1961), modifié par Dalechamps en 1587, et devient *Medicago*. L'épithète *arborea* du latin, signifie arbre par référence à son port buissonnant (Small, 2011).

Le nom scientifique du genre *Medicago* n'est pas lié à ses propriétés médicinales, mais selon "Théophraste", au fait que la luzerne serait originaire de Médie (région allant du Nord-Ouest de l'Iran à l'Azerbaïdjan). D'après le rapport de Pline, cette plante précieuse était inconnue pour les Grecs, et elle a été communiquée par les Perses, lorsque le roi Darius conquerra la Grèce (Duhamel, 1809).

Quant au nom vernaculaire du genre 'Luzerne' (**tab. 1**), attesté depuis le 17<sup>ème</sup> siècle, est une réfection de **Lauserne** emprunté au provençal (l'occitan) **luzerno** qui désigne une petite lumière ou le ver luisant, et issu du latin **Lucerna** qui veut dire lampe ou lanterne en raison de l'aspect brillant des graines de la plante (Pline l'ancien, 1669).

Le nom anglais et espagnol 'alfalfa' proviendrait du nom arabe « al-faç-façah », qui signifie « le père des aliments » car il servait autrefois de fourrage aux chevaux. Selon Montresquieu (1835), les anciens Grecs et Romain sont référés à la luzerne en arbre ou *M. arborea* par le *Cytisus* des anciens ou cytise de Virgile. Jusqu'au 18<sup>ème</sup> siècle, beaucoup de botanistes européens ont encore référée à cette espèce par le *Cytisus*, pour être enfin classée et nommée de *Medicago arborea* par Linné en 1753 (Small, 2011).

**Tableau 1:** Différents dénominations de *M. arborea*

Noms vernaculaires	Noms scientifiques	Synonymes taxonomiques
<b>FR</b> : luzerne arborescente, luzerne en arbre ; <b>ANG</b> : shrub medic, moon trefoil, alfalfa tree, tree luzerne ; <b>ESP</b> : alfalfa arborea (Small, 2011)	<i>Medicago arborea</i> L. (1753) (Small, 2011).	<i>Medica arborea</i> (L.) Mill. (1768) <i>Rhodussia arborea</i> (L.) Vassilez (1972) (Small, 2011). <i>Medicago arborescens</i> C. Presl. (1986) (Aymonin et Timbal, 1986)

### I.2. Taxonomie et classification systématique

*Medicago arborea* appartient aux *Fabaceae* ; anciennement *leguminosea* ; est le plus grand ensemble angiospermien, cosmopolite, prédominant en individus et en espèces (12 000 espèces) dans de nombreux biomes, famille ou superfamille composée de plantes herbacées, arbres et arbustes ou lianes, annuelles ou vivaces, et caractérisée particulièrement par la symbiose rhizobiale à capacité fixatrice de l'azote atmosphérique (Judd *et al.*, 2002 ; Spichiger *et al.*, 2004).

Comme les Fabacées se subdivisent en 3 sous-familles : *Caesalpinioideae*, *Mimosoideae* et *Faboideae* (Ex-papilionacées), cette dernière dont fait partie *M. arborea*, est la sous-famille la plus importante numériquement et la plus diversifiée avec 440-500 genres, 12000 espèces, particulièrement adaptées aux conditions méditerranéennes (Spichiger *et al.*, 2004).

Le genre *Medicago* est proche du genre *Melilotus* et *Trigonella*. Il comprend : 55 espèces herbacées, 34 annuelles et 21 pérennes, parmi lesquelles une dizaine est cultivée dont la plupart sont présentes dans les pâturages, notamment méditerranéens (Halmi, 2010).

La plupart des espèces du genre *Medicago* sont connues depuis le XVIème siècle, ainsi décrites par Linné en 1753 dans « *Species Plantarum* », dont il a réuni le genre *Medica* de Tournefort (Prosperi *et al.*, 1995).

Le nombre de chromosome au sein du genre est assez variable avec  $2n= 14, 16, 18, 28, 32$  et  $48$  dont le nombre de base prédominant dans le genre est  $X=8$ , ceci est également trouvé chez plusieurs genres de *Fabaceae* (*Astragalus*, *Melilotus*, *Trigonella* et *Trifolium*) (Agarwal, 1979 ; Agarwal et Gupta, 1983).

*M. arborea* est la seule espèce du genre avec un habitus buissonnant. Pour cela, il peut être phyllogénétiquement considéré comme l'espèce la plus ancienne (ancestrale, archaïque) du genre *Medicago* en raison de son port arbustif (Lesins et Lesins, 1979).

Il a été reporté par plusieurs auteurs que l'espèce est tétraploïde ou hexaploïde  $2n= 32, 48$  (Ghimpu, 1930; Mariani, 1963; Raven *et al.*, 1965).

Il présente une très large variabilité phénotypique et est dispersé dans tout le bassin méditerranéen (Martiniello *et al.*, 1994).

La caractéristique morphologique qui distingue cette espèce des autres espèces du genre est sa structure florale où le carène est égale ou plus long que l'étendard.

Quelques ascendances sont caractérisées par une autopolinisation, ce qui paradoxalement suggère que *M. arborea* est proche du point de vue phyllogénétique des espèces annuelles récentes où dominent l'autogamie et la mutation. Toutefois, l'hybridation de l'espèce avec *M.*

## Chapitre I : Données générales sur *Medicago arborea* L.

---

*sativa* n'a pas réussi, dont l'obstacle principale à l'échange des gènes c'est la ploïdie, avec  $2n=16$  pour *M. sativa* (Armour *et al.*, 2008 ; Lesins et Lesins, 1979).

On en connaissait peu de variétés de *M. arborea*, cependant, Maire (1953) avait rapporté d'Espagne une forme à fleur sulfurique, qui est conservée au jardin botanique de l'université d'Alger. En 1943, Meunissier a signalé également l'existence d'un type à folioles plus larges qui aurait été introduit de Grèce. Trois types à port (habitus) et à feuillage différents ont été aussi distingués au jardin d'essai d'Alger (Laumont et L'Hermite, 1953).

Font Quer (1924) a également décrit dans l'île de Baléare, Espartar, une variété *M. arborea* var. *citrina* caractérisée par de grandes gousses et fleurs jaune-citron, rapporté diploïde ( $2n = 16$ ) par Fernandes et Santos de Fatima (1971).

Différents avis ont été proposés concernant l'espèce-type du genre *Medicago*, en considérant *M. radiata*, *M. sativa* ou *M. arborea* (Scofield, 1908; Britton et Browns, 1913; Grossheim, 1945). Récemment, *M. sativa*, l'espèce la plus répandue dans le monde a été finalement proposée comme l'espèce-type (Gunn *et al.*, 1978).

Concernant la conservation *ex-situ* de l'espèce, EURISCO (2013) signale 28 accessions détenues dans des banques de gènes européennes, dont deux sont d'origine sauvage et 23 à origine non déterminées.

Plusieurs classifications de l'espèce *Medicago arborea* furent proposées par différents botanistes et taxonomistes. En effet, selon la littérature ancienne et récente, deux différentes classifications existent (**tab. 2**).

**Tableau 2 : Classification classique et récente (APG II) de *Medicago arborea***

<b>Classification classique</b> (Crété, 1965)	<b>Classification APG III (2009)</b> (Chase et Reveal, 2009)
<p><b>Règne</b> <i>Plantae</i></p> <p><b>Embranchement</b> Spermaphytes</p> <p><b>Sous Embranchement</b> Angiospermes</p> <p><b>Classe</b> Dicotylédones</p> <p><b>Sous Classe</b> Dialypétales</p> <p><b>Série</b> Caliciflores</p> <p><b>*Périgynes prédominantes</b></p> <p><b>Sous série</b> diplostémones</p> <p><b>Ordre</b> <i>Rosales</i></p> <p><b>Famille</b> <i>Leguminoseae</i></p> <p><b>Sous Famille</b> Papilionoïdae</p> <p><b>*Androcée monadelphes parfois polyadelphes</b></p> <p><b>Tribu</b> <i>Trifolieae</i></p> <p><b>Genre</b> <i>Medicago</i></p> <p><b>Espèce</b> <i>Medicago arborea</i> L.</p>	<p><b>Règne</b> <i>Plantae</i></p> <p><b>Classe</b> <i>Magnoliophyta</i></p> <p><b>Sub-Classe</b> Euangiospermes</p> <p><b>Classe</b> Eudicotylédones</p> <p><b>Sous/Classe</b> <i>Fabidae</i> (Eurosidiées I)</p> <p><b>Super-Ordre</b> <i>Rosanae</i></p> <p><b>Ordre</b> <i>Fabales</i></p> <p><b>Famille</b> <i>Fabaceae</i></p> <p><b>Genre</b> <i>Medicago</i></p> <p><b>Espèce</b> <i>Medicago arborea</i> L.</p>

### **I.3. Description botanique**

#### **I.3.1. Habitus général**

*Medicago arborea* L. est un arbuste pérenne, seule espèce du genre ayant le port buissonnant atteignant de 1-4 m de haut dans les conditions favorables (**fig. A**) (Lesins et Lesins, 1979).

C'est une espèce nanophanérophite cespiteux, très polymorphe (Blamey et Grey-Wilson, 2009 ; De Konning, 2000). Dans la région méditerranéenne, il a une longévité qui peut aller plus de plus de 30 ans (Andreu *et al.*, 1994).

Sa caractéristique particulière, qu'il est densément recouvert de poils soyeux sur toutes les parties végétatives (sauf les côtés supérieurs des feuilles), en donnant à la plante un aspect vert grisâtre à blanchâtre (tomenteux), et qui en vieillissant deviennent glabres (Lesins et Lesins, 1979).

### I.3.2. Racines

Les racines de *M. arborea* sont pivotantes dont la racine principale pouvant atteindre jusqu'à deux mètres de profondeur, très ramifiées en réseau dense de racines latérales souvent superficielles, portant des galles noduleuses hébergeant des bactéries rhizobiacées. Ce type de système racinaire permet de stabiliser le sol et grâce à la capacité de fixer l'azote, il peut se développer rapidement dans des sols appauvris en fournissant une biomasse élevée (Andreu *et al.*, 1994) (**fig. B**).

### I.3.3. Tronc

C'est un arbuste caractérisé par de nombreuses tiges, ramifiées à stries longitudinales, à poils soyeux, pubescents blanchâtres (Laumont et L'Hermite, 1953 ; Bayer *et al.*, 1990).

### I.3.4. Feuillage

*M. arborea* est caractérisé par un feuillage dense, en bouquets. Les feuilles sont alternes, trifoliées, pourvues de deux stipules lancéolées à triangulaires, entières, soudées avec le pétiole pour former une gaine. Folioles sensiblement égales, les deux latérales subsessiles, la supérieure pétiolée, de 10-20 mm x 8-18 mm, obovales, mucronées à leur extrémité parfois terminées par une petite pointe, pubescentes à leur face inférieure à poils soyeux blanchâtres et glabres d'un vert plus ou moins foncé en dessus et à nervures peu visibles (**fig. C**).

La foliole impaire présente au niveau du point d'attachement au pétiolule, un rétrécissement poilu, véritable point d'articulation lui permettant de modifier son inclinaison suivant les conditions atmosphériques ambiantes. Les folioles latérales peuvent également rapprocher leur faces supérieures l'une de l'autre (Laumont et L'Hermite, 1953 ; Lesins et Lesins, 1979 ; Bayer *et al.*, 1990).

### I.3.5. Inflorescence, fleurs

*M. arborea* généralement fleuris deux ans après culture. L'inflorescence est en grappes axillaires lâches, longuement pédonculées (pédoncule pubescent de 2 à 5 cm de long), solitaires (une seule inflorescence par bourgeon) (Laumont et L'Hermite, 1953 ; Bayer *et al.*, 1990) (**fig. D**).

Les fleurs sont plus ou moins de couleur jaune foncé (orangé), riche en flavonoïdes et caroténoïdes. Le pédoncule porte de 7 à 14 fleurs de 12-15 mm de long, pédicellées. Pédicelles pubescents de 5 à 10 mm et munis chacun d'une bractée poilue, ciliée à leur base (**fig. E**).

Le calice fait la moitié ou moins de la longueur de la fleur, formé de 5 sépales aigües pubescents de 5 à 8 mm soudés entre eux. Corole papilionacée de 10 à 15 mm de long, formée de 5 pétales jaunes d'or répartis en : un pétale antérieur ou étendard ; deux pétales latéraux ou

ailés ; deux postérieurs soudés formant le carène. L'étendard elliptique, plus court ou aussi long que la carène (Laumant et L'Hermite, 1953; Lesins et Lesins, 1979 ; Bayer *et al.*, 1990). Les étamines sont diadelphes, au nombre de neuf à filets filiformes, soudés en un tube staminal fendu devant et enfermant le pistil et une fibre antérieure, diplostémones (anthères placées en deux rangées), disposition visible seulement chez les jeunes fleurs non épanouies et disparaît chez les adultes (Laumant et L'Hermite, 1953). Grains de pollen cylindriques tri-aperturés, à exine lisse (Quiros et Bauchaux, 1988).

### **I.3.6. Fruits, graines**

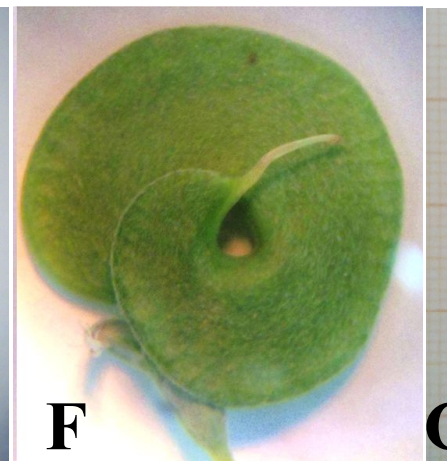
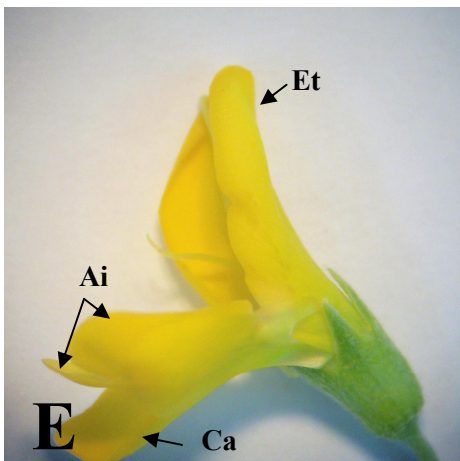
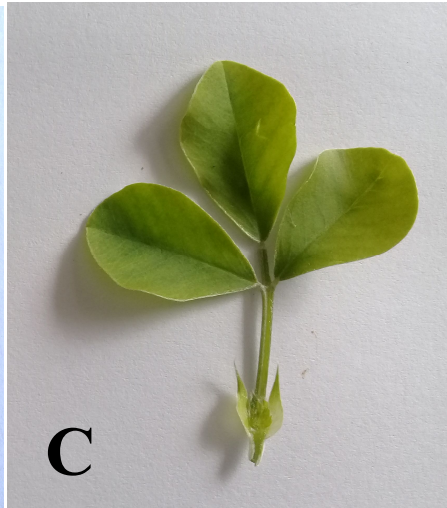
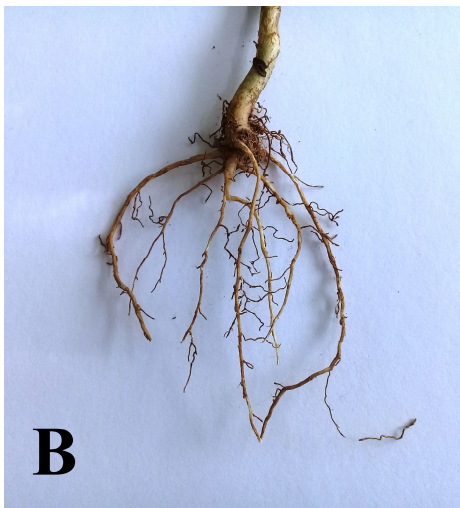
Les fruits sont des gousses minces, stipulées, aplaties, bivalves, déhiscentes, d'un jaune de paille à sombre (noir), de 10-15 mm en long, enroulées en 1-1,5 tour en spire lâches ou falciformes, avec un trou central, glabres, à nervation nette réticulée (**fig. F**).

La spiralisation/l'enroulement commence à un stade précoce de développement du fruit où le nombre de tour (spire) par gousse est une caractéristique de l'espèce.

La gousse contient 2 à 4 graines, lisses, aplaties, réniformes (forme générale d'haricot), de 3-4.5 mm x 2-3 mm, pesant 6-9.5 mg, de couleurs variées du jaune à brun, riches en polyphénols (**fig. G**). Elles sont caractérisées par des téguments lisses, radicule égale ou légèrement plus longue que la moitié de la graine et l'épicotyle est renfermé entre les cotylédons (Laumant et L'Hermite, 1953 ; Lesins et Lesins, 1979 ; Blamey et Grey-Wilson, 2009).

# Chapitre I : Données générales sur *Medicago arborea* L.

Planche I : Les différents organes de *Medicago arborea* (Cliché Aissat, 2018, Sidi bel Abbas)



## Légendes de la planche I

**Figure A:** Arbuste de *Medicago arborea* L.

**Figure B :** Racines de plantule de *M. arborea* âgée de six mois

**Figure C :** Feuille trifoliée de *M. arborea*

**Figure D :** Inflorescence en grappes de *M. arborea*

**Figure E :** Fleur de *M. arborea* (Et : étendard ; Ca : carène ; Ai : ailes)

**Figure F :** Gousse de *M. arborea*

**Figure G:** Graines de *M. arborea*

## II. Caractères biologiques

### II.1. Cycle de développement

Au cours de leur développement, les espèces du genre *Medicago* passe par différents stades (fig. 8)

#### II.1.1. Stades végétatifs

**Stade 1 :** après une germination hypogée, l'émergence des deux cotylédons.

**Stade 2 :** émission des premières feuilles cotylédonaires ou unifoliées.

**Stade 3 :** au cours du développement de la plante, la première tige croit en produisant des feuilles trifoliées, pédicellées et alternes, puis multifoliées.

**Stade 4 :** pendant la période de végétation active, la plante émet de jeunes pousses pubescentes qui son munies d'innovations latérales distiques (bourgeons). Chaque innovation est formée fondamentalement d'une feuille trifoliée stipulée, à l'aisselle de laquelle se trouve un bourgeon axillaire formateur de tiges.

**Stade 5 :** croissance des bourgeons en tiges feuillées et développement des tiges suit un ordre bien précis : tiges primaires, secondaires et tertiaires.

Le bourgeon axillaire de la première feuille unifoliée se développe pour donner une tige secondaire. Sur une pousse âgée, les bourgeons donnent naissance, suivant leur position : à la base, à des feuilles II<sup>aires</sup> ; sur la partie médiane, à des feuilles II<sup>aires</sup> et des rameaux latéraux (chaque rameau latérale ressemble au rameau principal) et en partie supérieure, à des feuilles II<sup>aires</sup>, des rameaux latéraux et des inflorescences.

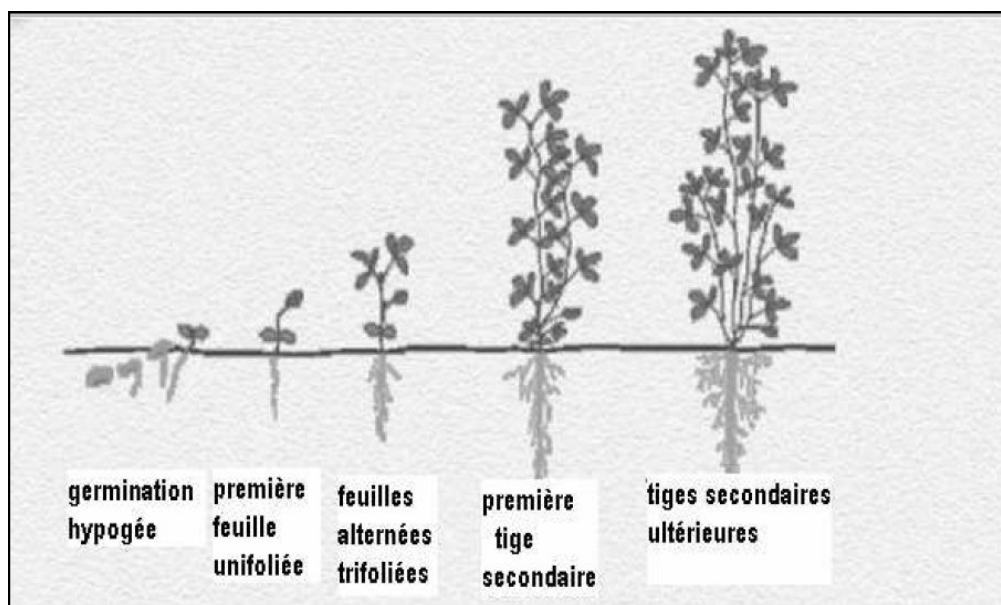
**Stade 6 :** élongation des entre-nœuds avec croissance rapide. Dès l'apparition des boutons floraux, l'élongation sera ralentie.

#### II.1.2. Stades reproductifs

**Stade 1 :** apparition des boutons floraux : "stade bourgeonnement". Les fleurs apparaissent entre le 6<sup>ème</sup> et le 14<sup>ème</sup> entre-nœud en fonction des conditions du milieu et de leur déterminisme génétique.

**Stade 2** : mise en floraison, fécondation et maturité des graines.

(Laumant et L'Hermitte, 1953 ; Hireche, 2006).



**Figure 1** : Cycle de développement chez *Medicago* (Prolea, 2002)

### II.2. Régénération

La pollinisation de *M. arborea* est entomophile par les hyménoptères dont la couleur vive des pétales et la présence de nectar attirent les insectes. Ces derniers assurent une pollinisation croisée (le pollen d'une fleur étant transporté sur le stigmate d'une autre fleur) ; plante entomogame (Small, 2011).

*M. arborea* a la fleur la plus large des espèces du genre qui peut être naturellement associée à différents abeilles pollinisatrices. Ricciardelli-D'Albore (1984) a observé les abeilles : *Anthophora acervorum* L., *Osmia ruficornigera* Rossi, *Andrena ovatula* K., *Xylocopa violacea* et *Bombus* spp., celles-ci sont plus présentes que les abeilles domestiques.

Certaines lignées de *M. arborea* qui ont été étudiées par Lesins et Lesins (1979), ont pu donner des gaines sous serre par autopolinisation, ceci indique qu'elles ont été éteintes d'une sorte de stress qui nécessite une autopolinisation pour survivre. Cela peut avoir lieu lors des périodes de dessiccation dans la région méditerranéenne.

La propagation de l'espèce est facile par semis, bien que les graines soient peu abondantes et difficiles à récolter (Dommergues *et al.*, 1990).

Le semis s'effectue de préférence au printemps, comme il peut se faire sous serre en automne.

La germination est caractérisée par une vitesse et un taux de germination très élevés. Les

jeunes plantules repiquées restent sous serre jusqu'au début de l'hiver suivant, ensuite, la transplantation s'effectue à la fin du printemps ou au début de l'été. Il a été noté dans le sud de l'Italie que l'espèce entre en dormance pendant l'été (Martiniello et Lamascese, 1993).

La multiplication par voie végétative, marcottes ou boutures est ainsi envisageable dont l'installation est rapide après repiquage (Dictionnaire d'histoire naturelle, 1807 ; Bonciarelli *et al.*, 1984 ; Papanastasis, 1985).

La transplantation des plants de préférence au printemps à des densités de plantation de 1000 à 2500 plants par hectare en fonction de la pluviométrie et de la texture ou structure des sols, bien que El Hamrouni et Sarson (1976) ont recommandé une densité de 2860 pieds/ha alors que Saadani (1989) a rapporté une densité de 400 à 950 pieds/ha.

La culture des plants de *M. arborea* peut se réaliser par différents systèmes de plantation notamment soit par ensemencement direct des semences à l'aide de semoir, soit le repiquage des plantules âgées de quatre mois, ou des boutures enracinées âgées de cinq mois (Crete et Rossini, 1994).

### II.3. Maladies et pathogènes

De nombreuses maladies fongiques peuvent affecter *M. arborea*, les plus graves sont celles qui causent un dépérissement des jeunes plantules, citant : la verse (*verticillium*), le mildiou (*Perenospora trifoliorum*), la rouille (*Uromyces striatus*) et l'oidium (*Erysiphe trifolii*) (Yaeger et Stuteville, 2002 ; EURISCO Catalogue, 2013).

L'antracnose causé par *Colletotrichum trifolii* affectant le rendement, est la pathologie fongique majeure chez *Medicago arborea* dont il est résistant particulièrement en Australie et les États Unies (Irwin *et al.*, 2001 ; Elgin et Ostazeski, 1982). Il est ainsi résistant au flétrissement bactérien (*Corynebacterium insidiosum*) (Renfro et Sprague, 1959).

Les principaux ravageurs sont : la petite limace grise (*Deroceras reticulatum*), le phytonome (*Hypera postica*) et la capsidé (*Exolygus*). Les coléoptères, les punaises et les pucerons sont ainsi des ennemis de l'espèce (Yaeger et Stuteville, 2002 ; Wortham, 2009).

Le lièvre sauvage attaque les pieds de *M. arborea* en les endommageant au niveau des collets et préfèrent les rameaux souples non lignifiés. Pour cela, Crête et Rossini (1994) ont recommandé les boutures pour une meilleure installation dans les bois, les garrigues ou dans les maquis car elles sont plus résistantes avec un taux de lignification plus élevé.

### III. Origine et répartition géographique

Les pays de l'Afrique du nord en général et du Maghreb en particulier, sont considérés comme centre de diversité génétique pour plusieurs espèces de grande importance pour l'agriculture et l'alimentation-fourrage, notamment les luzernes/espèces du genre *Medicago*.

Il existerait en Algérie près d'une vingtaine d'espèces du genre *Medicago* (Chouaki, 2006). *Medicago arborea* est un arbuste, parmi les légumineuses ligneuses, adapté et susceptible d'être introduit avec succès dans les régions méditerranéennes subhumides et couramment cultivé pour son fourrage (Dommergue *et al.*, 1990 ; Prosperi *et al.*, 1995).

Au premier siècle de cette ère, Pline (1669) a écrit que *Medicago arborea* a été découvert dans l'île de Cythnus d'où sa dénomination : **arbuste de Cytisus**, et à partir de là il a été transporté vers d'autres îles adjacentes de l'archipel égéen et la partie continentale grecque (Lesins et Lesins, 1979).

Selon Aubin (1980, 1981), la luzerne arborescente est originaire de la Grèce et des îles grecques « Huxley ». Elle se trouve à l'état indigène dans la Grèce et en Albanie, citée aussi indigène en Italie dans *Flora Europea* (Tutin et coll., 1964).

Signalé par Burnat (1892) dans la flore des Alpes Maritimes pour la première fois en sud de France, l'espèce est présente sur tout le pourtour du bassin méditerranéen, en Italie, Sardaigne, Sicile, Albanie, Grèce, Turquie, Crète, Algérie, Espagne et Portugal. Actuellement, elle est distribuée dans les îles Canaries et Baléares le long du sud de l'Europe jusqu'en Asie Mineure.

Post (1896) a aussi noté qu'elle a été introduite aux alentours de Jérusalem et naturalisée dans l'Australie, le nord américain et le proche Orient, à l'occasion des différents courants des colonisations humaines. Bien que son utilisation comme plante décorative dans les régions mentionnées a brouillé son aire de répartition naturelle (Lesins et Lesins, 1979)

#### **IV. Exigences climatiques et édaphiques**

L'ensemble du pourtour méditerranéen comprend une flore très riche en légumineuses adaptées aux diverses conditions pédoclimatiques de ces régions. *Medicago arborea* est parmi cette flore méditerranéenne. Les luzernes s'accommodent à des sécheresses périodiques et sont adaptées à tous les types de sols qui ne sont pas trop humides (Lapeyronie, 1982).

##### **IV.1. Habitat (Altitude et Sol)**

La luzerne arborescente est originaire de la région Méditerranéenne, elle s'accommode naturellement aux milieux rocheux et pierreux, particulièrement aux falaises, flancs des coteaux (collines) avec une altitude de 50 à 1000 m et cultivée dans les jardins (Lesins et Lesins, 1979 ; Blamey et Grey-Wilson, 2009).

Cet arbuste pousse sur les sols calcaires relativement arides, mais préfère les terres profondes perméables, très bien drainées, riches en calcaire, sols superficiels, argileux gypseux à texture fine, où elle donne de meilleurs rendements sans obstacles à son enracinement, dont le pH est

inférieur à 6,5. Toutefois, elle est mal adaptée aux sols lourds et engorgés d'eau qui limitent le développement des nodules (De Konning, 2000 ; Papanastasis, 1998).

Il est bien adapté aux sols infertiles, alcalins et sablonneux relativement arides et supporte également une légère salinité de sol (Dear *et al.*, 2003).

Le travail de Mastrorilli *et al.* (1986) a montré chez cette espèce, cultivée dans une zone marginale en sud de l'Italie (Murgia), zone montagneuse caractérisée par des sols peu profonds, une bonne adaptation aux conditions environnementales défavorables notamment, un sol argileux, accessibilité d'eau par les plantes limitée (effective water storage) et rareté des précipitations même en hivers tout en donnant un rendement important de 2t/ha par an.

### IV.2. Climat

*M. arborea* est un arbuste qui s'accommode bien aux climats méditerranéens subhumides, semi-arides et arides, chauds à tempérés (Kadik, 1974 ; Papanastasis, 1998).

C'est une espèce exigeant l'humidité atmosphérique pour accomplir sa croissance mais elle résiste généralement aux hivers rigoureux et aux gelées (Papanastasis, 1998), ainsi qu'à la chaleur, raison pour laquelle Lesins et Lesins (1979) supposent qu'elle date du début du tertiaire (période initiale de l'ère tertiaire) avant que les conditions climatiques changent et deviennent plus fraîches. Dans ce contexte, Rivas-Martinez *et al.* (1986) ont noté qu'elle appartient à l'étage bioclimatique Méso- méditerranéen (température annuelle de 13-17°C, min de T° au mois le plus froid de 1°C- 4°C, gel en Novembre) à Thermo-méditerranéen (T° annuelle de 17-19°C, min de T° au mois le plus froid de 4°-10°C, gel en Décembre-Février).

En termes de pluviométrie, elle exige un optimum de précipitations annuelles de 400 mm par an, mais elle reste encore productive à 300-350 mm et même à 200-300 mm (Dommergues *et al.*, 1990 ; Papanastasis, 1998).

D'après Travlos et Economou (2006), *M. arborea* a une bonne tolérance aux températures relativement élevées, jusqu'à 30°C, au froid et gelée pendant l'hiver, où il a réussi à survivre pendant 66 jours de gelée à Tripolis- Liban et 44 jours à Tel Hadya-Syrie ; il est ainsi très résistant à la sécheresse (< 250 mm précipitations annuelles) (ICARDA Annual Report 1997). Il a été choisi comme espèce prometteuse pour les zones arides et semi-aride méditerranéennes, où il montre un potentiel très élevé comme espèce fourragère de valeur pour ces régions, avec un climat méditerranéen à faibles précipitations (De Konning, 2000).

### IV.3. Association symbiotiques

Les associations symbiotiques fixatrices d'azote est une caractéristique des légumineuses (rhizobium-légumineuse). Celles-ci produisent des protéines en abondance sans fertilisation azotée (Zakhia *et al.*, 2004 ; Dommergue, 2006).

La formation des nodosités se fait au cours des différentes étapes: colonisation de la rhizosphère, infection, développement des bactéroïdes dont elle exige une relation génétique intime entre les bactéries et la plante (Baulieu, 2004).

*M. arborea*, une légumineuse arbustive nodulée, très spécifique comme les autres espèces du genre, est hôte d'une rhizobiacée nommée : *Sinorhizobium medicae* (Dommergues *et al.*, 1990), ou *Ensifer* (Mousavi *et al.*, 2014), alors que Valdenegro *et al.* (2001) montre une compatibilité avec une symbionte *Rhizobium melliloti* et il peut même s'associer avec des champignons mycorrhiziens arbusculaires.

Une caractérisation phénotypique des bactéries isolées à partir des racines de la luzerne arborescente cultivées dans des sols arides provenant du Nord et l'Est du Maroc, a révélé une bonne compatibilité respectivement avec *Ensifer melliloti* et *Sinorhizobium melliloti*, des rhizobiacées appartenant aux alpha-protéo-bactéries. Il ressort ainsi que les phénotypes de ces rhizobiacées peuvent être considérées comme des modalités adaptatives aux conditions des régions arides et semi-arides. En effet, la diversité phénotypique des rhizobiacées nodulant *M. arborea* peut être envisagée comme un critère d'importance écologique particulière dans la mesure où elle permet l'installation d'une symbiose fonctionnelle même si les conditions climatiques et édaphiques sont sévères (l'humidité du sol, variation du pH et salinisation, température et salinisation) (Guerroudj *et al.*, 2013 ; 2016).

La symbiose rhizobiale constitue le principal mécanisme biologique d'apport d'azote dans les systèmes de production agricole, elle apparaît d'un intérêt stratégique renforcé aussi pour sa capacité plus économe énergétiquement et plus respectueuse à fournir de l'azote aux systèmes de culture que pour ses répercussions environnementales (Thiebeau *et al.*, 2001 ; Germon, 2013).

#### **IV.4. Intérêts et usages**

L'intérêt des légumineuses réside dans leur capacité de fixation symbiotique de l'azote qui leur permet de produire en abondance des protéines en l'absence de fertilisation azotée (Ramirez-Suero, 2009).

##### **IV.4.1. Intérêt écologique**

Selon Andreu *et al.* (1994, 1995 et 1998), *M. arborea* a réduit l'érosion hydrique et éolienne du sol en Espagne. Sa plantation est très utile pour créer des haies brise-vent et pour la fixation mécanique de mouvement des dunes dans les zones semi-aride et aride (Kadik, 1983 ; De konning, 2000). L'espèce est aussi très résistante aux feux (Mollison, 1981).

C'est un arbuste fourrager qui a fait l'objet d'utilisation importante au niveau de certaines régions de mise en valeur et de restauration des parcours steppiques (Chouaki, 2006). Il joue

aussi un rôle très important à propos de la régénération des terres marginales arides (Gallego *et al.*, 2014).

Dans ce contexte, et dans le cadre d'un aménagement global et la restauration de la région de l'Aurès (Algérie) pour mettre fin aux processus de dégradation intense des formations végétales, le service forestier l'O.N.T.F a testé le *M. arborea* qui a donné dans les conditions steppiques des rendements intéressants de l'ordre de 1250 UF/ha (Abdessemed, 1985).

Dans le cadre de l'aménagement des zones marginales du sud de l'Italie (Murgia-les pouilles), *M. arborea* a montré une grande capacité à s'adapter aux conditions environnementales défavorables notamment les sols superficiels argileux légers et précipitations annuelles peu abondantes et fréquentes. Ainsi, il a été suggéré comme espèce capable de maintenir l'équilibre écologique dans la région méditerranéenne, enrichir les sols pauvres en azote et supporter les ressources fourragères existantes (Losavio *et al.*, 1991).

Les symbioses végétales sont une composante fondamentale de la stabilité et de la durabilité des écosystèmes. L'introduction de légumineuses (associées à leurs auxiliaires microbiens fixateurs d'azote) indigènes du pourtour méditerranéen semble être une condition indispensable pour la restauration des sites dégradés fortement appauvris en éléments nutritifs. À ce titre, et en 2001, une stratégie de végétalisation des écosystèmes dégradés a été testée dans le sud de la France, cas des carrières de granulats calcaires et les anciens sites miniers incapables de se régénérer naturellement, basée sur l'ingénierie microbiologique de plantes adaptés aux conditions locales en utilisant 15 espèces arbustives notamment *M. arborea* ce qui a donné un fort taux de croissance, trois ans après. L'accumulation progressive d'une litière riche en azote améliore la biodisponibilité d'éléments nutritifs et favorise l'installation d'une flore plus riche et diversifiée dans ces sites détériorés (Brunel *et al.*, 2007).

Au nord de la France, la plantation de *M. arborea* est réputé comme un arbuste ornemental pour sa beauté et sa résistance à la sécheresse, il est vivement encouragé pour créer des « jardins méditerranéens sans invasives », alors que cette même espèce est parfois répertoriée comme invasive à éviter dans le sud de la France. De ce fait, elle représente un cas exemplaire de l'ambiguïté concernant l'invasion versus la migration de certaines espèces d'une région à autre (Filippi et Aronson 2010).

Les associations symbiotiques fixatrices d'azote " rhizobium-légumineuse " sont parfaitement adaptées à la revégétalisation de sites dégradés soumis à de fortes contraintes hydriques et pauvres en azote. Celles-ci constituent un véritable support d'une végétation pérenne et d'une réhabilitation durable (Dommergue, 2006).

### IV.4.2. Intérêt économique

➤ **Alimentation humaine et de bétail** : les légumineuses constituent une source majeure de l'alimentation humaine et du bétail grâce à leurs graines et gousses riches en protéines (Domergue, 2006). Elles ont fait l'objet d'une attention particulière en raison de l'importante valeur agronomique caractéristique des espèces ligneuses. *M. arborea* est couramment intégré dans les systèmes prairiaux, et dont la nature des réserves séminales est aussi une spécificité qui fait l'objet d'une importante valorisation dans l'alimentation humaine et animale (Abdelguerfi, 2008).

De plus, un travail porté sur la Luzerne (cas de *Medicago sativa*), a révélé que les extraits des feuilles (graines) peuvent être utilisés comme complément alimentaire pour les personnes souffrant d'une carence nutritionnelle, particulièrement les enfants (Halmi, 2010).

Les jeunes rameaux peuvent être consommés et sont très riches en protéines et leur digestibilité est plus forte (De Konning, 2000).

Cette espèce fournit un excellent fourrage, très apprécié par le bétail, dont la digestibilité est nettement élevée et comparable à celle de *Chamaecytisus albidus* (originaire du sud ouest du Maroc) mais moins résistante à la sécheresse que cette espèce (Brunel, 2008).

La bonne qualité du fourrage du *M. arborea* a été reconnue anciennement par les Romains et les Grecques. Il a fourni une source tangible de fourrage pour les bétails (chèvres) (Lesins et Lesins 1979), ainsi pour sa valeur nutritive élevée et sa préférence par les petits ruminants (Amato *et al.*, 2004).

Il a le potentiel pour fournir un fourrage vert de meilleure qualité (feuilles et gousses riches en protéines et digestibilité élevée) pendant la fin d'été et début d'automne, période de disette alimentaire caractérisant le climat méditerranéen avec un hiver froid et humide et un été chaud et sec. Également, l'utilisation de *M. arborea* va diversifier les entreprises-fermes dans les régions où peu d'options sont disponibles pour les producteurs débutants (De Konning, 2000).

Une nouvelle technique de sa production a été expérimentée, consiste en une culture similaire à celle de l'osier et récolte des jeunes tiges et rameaux avant qu'ils se lignifient servant comme fourrage, dont la teneur en fibres est très élevée notamment la cellulose brute (Lesins et Lesins, 1979).

➤ **Agronomie** : dans une politique désireuse de promouvoir l'agriculture durable et de réduire les nitrates, la culture de cette plante fixatrice de l'azote, trouve un regain justifié et répond à la problématique croissante du coût et de l'impact environnemental de l'amendement azoté nécessaire à l'agriculture intensive (Bollingue, 2009).

De plus, *M. arborea* figure dans l'Annexe 1 du Traité international sur les ressources phylogénétiques pour l'alimentation et l'agriculture (ITPGRFA) de la FAO en 2009 qui vise à garantir une agriculture durable et une sécurité alimentaire via la conservation et l'utilisation durable des ressources phylogénétiques pour l'alimentation et l'agriculture et le partage juste et équitable des avantages découlant de leur utilisation.

L'agriculture exploite cette particularité en alternant la culture des légumineuses avec d'autres végétaux cultivés qui bénéficient de leur apport ainsi et dans les terres pauvres en humus.

Avant la floraison, *M. arborea* est une des espèces destinées à produire un "engrais vert" ; dont les micro-organismes du sol les transforment en éléments directement assimilables par les plantes (Marouf, 2007).

*M. arborea* a été récemment utilisée dans le nord de l'Algérie comme un arbuste mellifère, dont les miels produits sont de haute qualité (Barbouche, 2009).

➤ **Production de bois :** Duhamel (1809) a signalé que le bois de *M. arborea* a été anciennement utilisé par les Turcs pour produire des poignées aux sabres ainsi pour construire des meubles prestigieux.

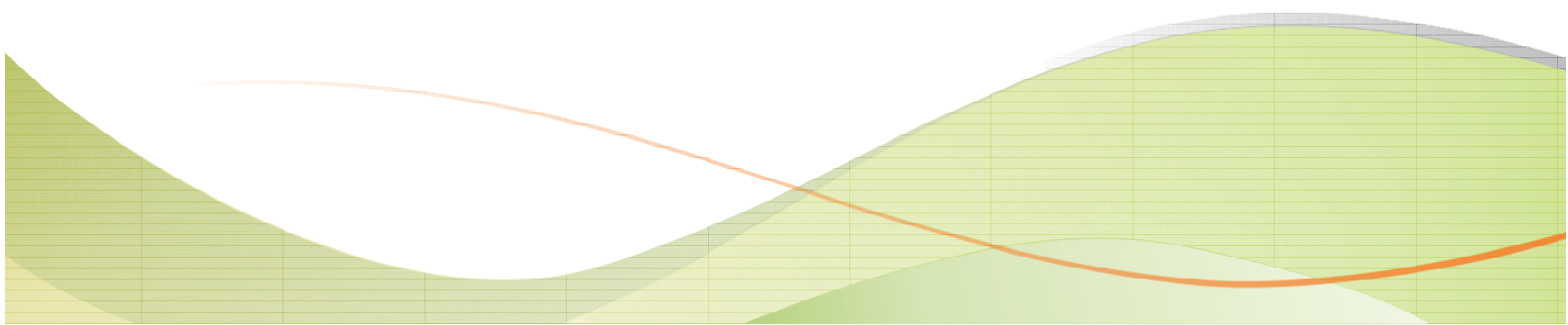
En régions semi-arides à hivers tempérés de la Tunisie, Saadani (1988) a rapporté une production de bois frais par arbuste de 9.94 kg et a indiqué que le rapport bois/biomasse foliaire est de l'ordre de 4,7. Les teneurs en matières azotées totales restent voisines de 20 % MS durant toute l'année et ne chutent vers 15 % MS.

➤ **Propriétés médicinales :** le genre *Medicago* est caractérisé par la présence des métabolites secondaires tels que les coumarines, les iso-flavones, les alcaloïdes et les saponines (Barne *et al*, 2002).

Les saponines particulièrement chez *Medicago sativa* ou elles manifestent une activité microbienne contre des phytopathogènes et des levures pathogènes à l'homme (Zehavi et Polachek, 1996 ; Gruittz, 1996). Elles disposent de diverses propriétés biologiques notamment l'inhibition de la croissance des cellules leucémiques humaines et joue un rôle d'agents anti-tumeurs (Tava et Odoardi, 1996).

Les propriétés des saponosides ont été bien étudiées par Avato *et al.* (2006) chez *M. arborea* d'où l'activité antibiotique, l'activité antimicrobienne contre des bactéries Gram+ notamment *Bacillus cereus*, *B. subtilis* et *Enterococcus faecalis* qui est liée à la présence de l'acide Medicagenique, ainsi qu'une activité antifongique discrète contre *Saccharomyces cerevisiae*. Ces propriétés peuvent être mises en évidence pour une possible application de ces métabolites comme agents antimicrobiens.

# ***Chapitre II :*** ***Physiologie des stress***



### Introduction

Les plantes, organismes fixés, sont dépendantes des ressources de leur environnement immédiat pour pouvoir se développer. Elles se trouvent rarement dans des conditions environnementales optimales, mais souvent dans des conditions extrêmes de températures, de potentiel hydrique, de salinité ainsi que d'autres facteurs biotiques qui amènent les plantes à la limite de la survie (microorganismes pathogènes, insectes ravageurs, herbivores).

Tout facteur de l'environnement qui peut provoquer une situation de contrainte permanente ou temporaire ou limiter la croissance et le développement des végétaux et les rendements des récoltes, est un facteur de stress.

Ces conditions lorsqu'elles atteignent des valeurs extrêmes peuvent exercer des impacts importants sur la physiologie, le développement et la survie des plantes. L'étude des plantes placées dans de telles conditions est appelée physiologie des stress (Hopkins, 2003 ; Morot-Gaudry et Prat, 2009).

Les plantes sont souvent confrontées à des facteurs environnementaux défavorables comme la sécheresse, les températures extrêmes, la salinité...etc., qui par leur excès génèrent des stress abiotiques (physico-chimiques).

Tous les stress impliquent des réactions de signalisation capables d'aboutir à la mise en place de défense ou de déclencher une mort cellulaire programmée (Morot-Gaudry et Prat, 2009).

### **I. Le stress : vocabulaire et conception/ approche conceptuelle du stress**

La terminologie utilisée dans la description d'un environnement stressant et les réponses qu'une plante peut y apporter a fait l'objet de controverses pendant plusieurs années.

Du point de vue physique, le stress est fondamentalement un concept mécanique, il est défini comme étant une force exercée par unité de surface d'un objet. En réponse au stress, l'objet oppose une déformation ou un changement de dimensions (Hopkins, 2003).

Selon Levitt (1980), le stress est un facteur de l'environnement induisant une contrainte potentiellement néfaste sur un organisme vivant.

En biologie, le stress n'est pas facile à définir et la définition la plus adéquate serait « une force ou une influence hostile qui tend à empêcher un système normale de fonctionner » (Jones *et al.*, 1989).

D'un autre côté, il est considéré en écologie comme toute contrainte externe qui limite la productivité (gain en carbone) en deçà de la potentialité génétique d'une plante.

Ainsi, selon Laval-Martin et Mazliak (1995), le stress est toute pression dominante exercée par un paramètre de l'environnement perturbant le fonctionnement habituel de la plante.

Au niveau cellulaire, un stress est causé par la variation d'un paramètre environnemental qui entraîne la mise en place des mécanismes de régulation de **l'homéostasie**<sup>1</sup> (Levitt, 1989).

Les principaux stress confrontés par les plantes sont d'origine biotiques (pathogènes, compétition) ou abiotiques, résultat des différentes conditions environnementales climatiques ou édaphiques défavorables à la croissance des plantes et se sont les températures élevées (chaleur) et basses (froid et gel), l'excès d'eau (inondation, anoxie), le déficit hydrique (sécheresse, faible potentiel hydrique), le stress salin (salinité), les radiations (lumière visible, ultraviolet), les produits chimiques (pesticides, métaux lourds, polluants atmosphériques).

Le stress aussi bien biotique qu'abiotique, peut réduire la productivité des plantes de 65% à plus de 87% (Munne-Bosch et Alegre, 2004 ; Hopkins, 2003).

### **II. Salinité et sécheresse, majeures contraintes environnementales pour les plantes**

Les plantes doivent affronter différents types d'agressions ou de stress abiotiques et s'y adapter : le manque ou l'excès d'eau, les fortes ou faibles luminosités, la pollution de l'air, la

---

<sup>1</sup>**Homéostasie** : processus du maintien de l'équilibre des cellules.

salinité des sols, les températures extrêmes et le vent. Elles subissent également d'autres types d'agressions par des organismes vivants, on parle alors de stress biotiques (Sauvion, 2013).

En écologie ou agronomie, les bouleversements climatiques actuels et la dégradation des milieux naturels et agricoles rendent particulièrement aigüe la question de la compréhension des relations entre les plantes et leur environnement fluctuant.

Les changements climatiques deviennent de plus en plus contraignants pour la croissance et le développement des plantes notamment dans les zones semi-arides et arides. Ces terres arides et semi arides représentent un tiers de la surface du globe. Dans la région méditerranéenne, elles sont caractérisées par des fluctuations climatiques notamment des précipitations irrégulières et imprévisibles, sécheresses et les variations thermiques associées à une importante évaporation favorisant l'accumulation des sels dans le sol d'où la salinité des sols et des eaux d'irrigation (Higazy *et al.*, 1995 ; Lachhab *et al.*, 2013).

La sécheresse et la salinité sont deux phénomènes abiotiques majeurs déterminants qui deviennent particulièrement préoccupantes à l'échelle du globe (Wang *et al.*, 2009) en raison de la l'ampleur de leur impact et leur large occurrence (Bartels et Sunkar, 2005).

Selon la FAO et les estimations récentes, approximativement 7% des terres émergées du globe sot affectées par la salinité, correspondant à 950 millions ha, et une surface d'environ 77 millions ha en menace gravement dans les 50 prochaines années (Lehouerou, 1986 ; FAO, 1988 ; Ghassemi *et al.*, 19995). En Afrique du nord et au Moyen-Orient, elle couvre près de 15 millions d'hectares, dont 15% sont dépourvus de toute végétation. En Algérie, les zones semi-arides et arides couvrent près de 95% du territoire où les sols salés sont très répandus, représentant environ 25% de la surface, soit 3,2 millions d'hectares (Hamdy, 1999).

Plusieurs auteurs ont défini la salinité des sols comme étant la présence de concentration excessive de sels solubles notamment le sodium, chlorures, carbonates ou sulfates. La prédominance de ces ions peut être toxique ; le pH élevé souvent enregistré dans les sols salés peut induire des carences en fer et autres oligo-éléments. La salinité des sols et des eaux constitue un obstacle majeur sur la croissance des végétaux, dans les régions arides et semi-arides (Laval-Martin et Mazliak, 1995).

La salinité des sols est non seulement liée aux conditions climatiques mais également aux recours souvent mal contrôlé de l'irrigation (Rhoades *et al.*, 1992). Cette situation est aggravée par l'usage abusif des engrais et la raréfaction des réserves en eau douce. En effet, la fertilisation et l'irrigation localisées conduisent à élever exagérément la concentration des sels dans les substrats de culture (Mouhouche et Boulassel, 1999 ; Abdelly, 2004).

Globalement, 35% de la superficie cultivable peut être classée comme aride ou semi aride et, sur ce qui reste 25% des superficies au moins sont régulièrement soumises à des périodes de sécheresse (Richards, 1997).

La sécheresse est un terme météorologique, définie généralement comme étant une période de pluie insuffisante qui conduit le plus souvent à un stress hydrique (Hermez, 1996) **(Tab. 3)**.

Cependant, le risque de sécheresse ne dépend pas seulement du volume des précipitations, ni de leurs répartitions, il dépend également de la profondeur du sol, de sa capacité de rétention et d'échange. En outre, la température extérieure, le degré d'humidité relative de l'air et l'importance des vents modifient les besoins en eau des plantes (Auriau, 1978).

L'insuffisance ou l'irrégularité des précipitations et la fréquence des températures élevées souvent associées à la salinisation du sol viennent aggraver les contraintes par stress hydrique pour les plantes, une situation rencontrée dans les régions désertiques, arides et semi-arides (Levitt, 1980).

Sécheresse sévère et forte salinité pourraient favoriser la désertification et la salinisation des terres, processus qui augmente rapidement à l'échelle mondiale: plus de 10% des terres arables sont désertifiées ou salinisées, et plus de 50% des rendements moyens des principales cultures ont été réduites (Boyer, 1982).

L'Algérie fait partie des pays méditerranéens où la sécheresse, observée depuis longtemps, a conduit actuellement à une aridité qui a couvert de grandes surfaces ; évolution écologique irréversible caractérisée par un passage du régime semi-aride à aride ; conduisant ainsi au processus de salinisation des sols (Gaucher *et al.*, 1974 ; Daoud et Halitim, 1994)

Actuellement, les stress environnementaux notamment le stress salin et le stress hydrique, limitent sérieusement la croissance des plantes, réduisent considérablement les rendements des grandes cultures et des pâturages de plus de 50% particulièrement en régions méditerranéennes, et combinés, ces deux stress représentent une menace pour l'équilibre alimentaire des régions arides et semi-arides (Boyer, 1982 ; F.A.O., 1988 ; Dutuit, 1999 ; Wang *et al.*, 2003).

De telles conditions environnementales stressantes imputées de dégradation du couvert végétal, se traduit par des effets de plus en plus néfastes sur les plans économique et écologique (désertification) (Kennenni *et al.*, 1990). Dans ce cas, la recherche de plantes plus adaptées aux stress abiotiques est un enjeu fondamental pour assurer la production agricole dans les prochaines décennies et résoudre les problèmes de régénération de certaines plantes en zones arides (Blum, 1996 ; Turner *et al.*, 2001).

**Tableau 03** : Sécheresse, définitions et significations (Passioura, 2007)

Praticien	Echelle de temps considérée	Sens commun de la sécheresse	Signification
Géologue, Paléontologue	Millénaire	Aridité	Changement climatique majeur
Historien, géographe	De la décennie au siècle	Série de plusieurs années de précipitations inférieures à la moyenne	Migration, désertification, famine
Météorologiste, agriculteur	Année	Evènement rare (l'année sur dix où les précipitations sont les plus faibles)	Gestion du risque
Agriculteur, agronome, généticien, améliorateur	De la semaine au mois, saison végétative	Rendement fortement limité par le manque d'eau	Productivité
Physiologiste	Jours	Pots non irrigués	Cycle de dessèchement, survie
Biochimiste, biologiste moléculaire	Plusieurs heures	Stress osmotique rapide	Déficit hydrique sévère, survie

### III.1. Définitions

D'un point de vue physique, le stress hydrique résulte d'un abaissement du potentiel hydrique dans l'air et/ou dans le sol en dessous d'une certaine valeur, dépendant des caractéristiques du milieu (type de sol, température, vent, etc.) (Lamaze *et al.*, 1994).

On parle de stress ou de déficit hydrique lors de situations entraînant un déficit de turgescence des cellules végétales. En termes plus simples, le stress survient quand le taux de transpiration excède celui d'absorption d'eau par les racines (Hsiao, 1973).

Pour les physiologistes, le stress hydrique a été défini comme étant les circonstances dans lesquelles les plantes accusent une réduction de croissance et/ou de sa reproduction par rapport au potentiel du géotype suite à une alimentation hydrique insuffisante. Certains auteurs limitent la définition du stress hydrique aux seules conditions correspondant à une hydratation sub-optimale des tissus (Hopkins, 2003 ; Passioura, 2004)

Un stress hydrique peut se produire aussi bien sous l'effet d'un excès que d'un manque d'eau ; exemple : l'inondation, dans ce cas le stress est habituellement provoqué par une réduction de l'apport d'oxygène aux racines, qui limite à son tour la respiration, l'absorption des nutriments et d'autres fonctions racinaires cruciales, mais en réalité, la notion de stress hydrique renvoie le plus souvent au stress de carence hydrique (Lamaze *et al.*, 1994).

Le statut hydrique de la plante passe progressivement par trois principales phases, selon le développement du stress hydrique. Au cours de la phase initiale, le stress est d'une valeur faible, seulement détectable par les instruments de mesure, la transpiration et l'assimilation se déroulent comme si la plante dispose de l'eau à volonté. A un seuil de réserve utile du sol e 50% un flétrissement est observé, où le niveau d'absorption racinaire ne peut plus satisfaire la demande climatique que subit le feuillage, la plante entre dans la seconde phase où le métabolisme est réduit relativement au potentiel, et pour rétablir l'équilibre entre la demande climatique et l'offre du sol elle réagit de façon dynamique faisant intervenir certains mécanismes dont le développement du système racinaire, la régulation stomatique et/ou l'ajustement osmotique. Quand le déficit hydrique devient plus intense la plante entre dans la troisième phase au cours de laquelle les stomates se ferment complètement, annulant toutes activités photosynthétiques entraînant le flétrissement permanent avec mort par dessèchement. (Tardieu, 2005 ; El Hassan, 2015).

Comme la plante perçoit la sécheresse du sol par une augmentation de la concentration des sels autour de la surface des racines et/ou une augmentation de la pression osmotique des cellules racinaires, le stress hydrique semble donc intervenir dans les stress salin et osmotiques (Morot-Gaudry, 2012).

### **III.2. Effets du stress hydrique sur les plantes**

L'eau est un élément tellement essentiel pour la vie des plantes que les effets d'un déficit hydrique sur leur fonctionnement sont extrêmement néfastes.

Chez une plante l'eau compose environ 70 à 80 % de sa matière fraîche, les différents organes renferment entre 80 à 90 % (Heller *et al.*, 1998 ; Bethenod, 1980).

Au niveau de l'organisme végétal l'eau a des rôles multiples qui en font le premier facteur limitant son fonctionnement et sa survie. Elle contribue au maintien de la structure et la turgescence des cellules et intervient dans les réactions métaboliques. L'eau joue un rôle essentiel dans la photosynthèse, le transport et l'accumulation des éléments nutritifs et les produits du métabolisme, dans la division cellulaire et la régulation thermique, ainsi que la croissance et le développement des plantes (Riou, 1993 ; Heller *et al.*, 1998 ; Laberche, 2004).

#### **III.2.1. Effets sur l'état hydrique de la plante**

Quand la plante subit une alimentation hydrique insuffisante, les cellules perdent de l'eau et le volume de la vacuole diminue (plasmolyse). Aussi, la première remarque d'une déshydratation se traduit par la perte de turgescence qui conduit au flétrissement.

L'une des conséquences du déficit hydrique est l'abaissement du potentiel osmotique et du potentiel hydrique accompagnée par une chute de la pression de la turgescence cellulaire et par conséquent provoquer une perte de la quantité d'eau contenue dans les cellules.

Suite à des manifestations de stress, une augmentation de la fuite d'ions est observée au niveau cellulaire qui pourrait être aussi bien une conséquence de la réduction de la teneur en eau dans les feuilles, que de la dégradation de la chlorophylle suite à la sénescence des feuilles (McDonald et Archbold, 1998).

### III.2.2. Effets sur l'intégrité membranaire

Les dommages provoqués par un stress hydrique résultent de la dessiccation du protoplasme. La sortie d'eau rompt la structure de la bicouche lipidique de la membrane provoquant une augmentation de la concentration des solutés, et les membranes deviennent très poreuses quand elles sont desséchées. L'intégrité et la stabilité des protéines membranaires sont également affectées par la dessiccation en provoquant la perte de la sélectivité des membranes et des enzymes membranaires, ce qui entraîne des dysfonctionnements métaboliques (Hopkins, 2003 ; Morot-Gaudry et Prat, 2012).

### III.2.3. Effets sur l'activité photosynthétique

Le déficit hydrique affecte l'activité physiologique de la feuille, particulièrement la photosynthèse en diminuant le potentiel hydrique foliaire (Lowlor, 2002).

La réduction de l'intensité photosynthétique est supposée dépendre à la fois de la fermeture des stomates suite à une diminution de la conductance à la diffusion du CO<sub>2</sub> vers l'intérieur de la feuille (Oosterhuis, 1987 ; Tardieu et Simoneau, 1998). Elle découle ainsi d'une limitation biochimique due à une diminution d'efficacité photochimique de photosystème (PSII) et du transport d'électron (Giardi *et al.*, 1996), avec une réduction de la carboxylation, de la régénération de l'accepteur primaire du CO<sub>2</sub> de la production de NADPH et de la photophosphorylation et la production d'ATP (Berkowitz et Gibbs, 1983 ; Casals, 1996 ; Hopkins, 2003).

De plus, il a été montré que le stress hydrique est à l'origine d'une réduction de la teneur en chlorophylle dans les feuilles par la suite de la réduction de la surface foliaire (Hanks et Rasmussen, 1982 ; Ben Ahmed *et al.*, 2010).

### III.2.4. Effets sur la croissance

La croissance se fait par division cellulaire, agrandissement cellulaire et différenciation, et implique des événements génétiques, physiologiques, écologiques et morphologiques. La croissance cellulaire est l'un des processus physiologiques les plus sensibles à la sécheresse en raison de la réduction de la pression de turgescence (Taiz et Zeiger, 2006).

La diminution de la turgescence réduit l'expansion cellulaire et la vitesse d'élongation des cellules à cause de l'accumulation de l'acide abscissique (Eckhart, 2002 ; Rasmusson et Moss, 1972).

En fait la turgescence cellulaire, conditionnée par l'extensibilité de la paroi, a une valeur seuil pour laquelle l'expansion est stoppée et sous stress plus sévère, la perte de turgescence peut conduire à la sénescence foliaire (Gimeno *et al.*, 2009 ; Masmoudi *et al.*, 2010 ; Deng *et al.*, 2012).

Dans les cas de déficience hydrique grave, l'élongation cellulaire des plantes supérieures peut être inhibée par l'interruption du débit d'eau du xylème vers les cellules allongées environnantes (Nonami, 1998)

La réduction de la croissance végétative fait partie des premières réponses phénotypiques observées au moyen/ long terme sous déficit hydrique (Davies et Zhang 1991 ; Chaves *et al.*, 2002).

La contrainte hydrique affecte fortement le développement de l'appareil végétatif des plantules notamment elle réduit la hauteur des tiges, leur nombre, diminue le poids des racines, de l'ensemble feuilles et des tiges (Mathieu, 2003)

Selon Nemmar (1983), la réduction de la disponibilité en eau réduit la hauteur et le diamètre de la tige, la longueur des entre-nœuds, le nombre des feuilles ainsi que la surface foliaire chez les plantes d'une manière générale.

Certaines modifications morphologiques sont observées lors du stress hydrique, telles que la réduction de la vitesse d'élongation foliaire et l'abscission des feuilles ce qui entraîne une diminution de la surface foliaire et de la biomasse accumulée de l'appareil végétatif (Rodrigues *et al.*, 1995 ; Tardieu *et al.*, 2000 ; Masmoudi *et al.*, 2010).

La réduction de la surface foliaire peut provenir d'une diminution de l'expansion foliaire et/ou d'une sénescence accélérée de la feuille. À un seuil de potentiel hydrique (-0,4 Mpa) de turgescence, la croissance foliaire est stoppée très rapidement (Kramer et Boyer, 1995).

Le déficit hydrique sévère aboutit en fin de compte à un arrêt de la croissance avant même de percevoir aucun abaissement notable dans le contenu relatif en eau, et à la mort par dessèchement.

La période de survie d'une plante dépend du rythme de la transpiration et de la tolérance à la dessiccation des tissus vivant restants (Kameli et Losel, 1996 ; Chenafi *et al.*, 2006).

### III.2.5. Effet sur le développement phénologique

La sécheresse ou manque d'eau peut survenir à différentes périodes du cycle de la vie de la plante, elle est à l'origine de plus de dégâts au végétal à certains stades de développement,

appelés stades critiques, qu'à d'autres. Ces stades coïncident notamment avec la germination des graines, une étape initiale cruciale dans le cycle de développement des plantes qui conditionne leur installation, leur acclimatation sur le milieu et probablement leur productivité ultérieure (Tremblin et Binet, 1984 ; Chaves *et al.*, 2002; Jaleel *et al.*, 2008).

Le premier et principal effet de la sécheresse est la diminution de la germination et la mauvaise mise en place des peuplements des semis (Harris *et al.*, 2002).

Dans une étude sur le pois, le stress hydrique inhibe la germination et la croissance précoce des semis de cinq cultivars testés (Okcu *et al.*, 2005). De plus, chez les luzernes (*Medicago sativa*), le déficit hydrique réduisait le potentiel de germination et la longueur des hypocotyles (Zeid et Shedeed, 2006). Cependant, chez le riz, le stress hydrique durant le stade végétatif a considérablement réduit la croissance et le développement de la plante (Tripathy *et al.*, 2000). En effet, la vitesse de développement phénologique des plantes peut augmenter ou diminuer selon le degré de sévérité du stress. Plusieurs auteurs ont montré qu'avec des déficits moyens (-5 à -10 bars de potentiel en eau des feuilles), le développement s'accélérait alors qu'avec des déficits hydriques sévères (-28 à -34 bars), le développement prenait du retard.

Outre, la floraison, stade où les organes reproducteurs sont formés et quand surviennent la pollinisation et la fertilisation. Un stress modéré appliqué à la phase floraison – nouaison provoque un avortement des organes fructifères et des graines. Des travaux sur le blé ont montré que la phase « floraison - maturité » semble être la plus sensible au déficit hydrique (Hopkins, 2003).

Néanmoins, elle peut entraîner une amélioration de la qualité des productions végétales comme, par exemple, chez les cultures fourragères (El Hassan, 2015)

À propos du rythme de développement, Steiner *et al.* (1985) ont montré que la durée du cycle « semis – floraison » se raccourcit au fur et à mesure qu'augmente le déficit en eau.

### III.2.6. Effet sur le rendement et la production

La sécheresse est à l'origine des pertes de production agricole dans de nombreuses régions (Witcombe *et al.*, 2009). En résumé, le déficit hydrique réduit la croissance et le développement des plantes, ce qui entrave la production de fleurs et le remplissage des grains qui se produit en raison de la réduction du partage des assimilats et des activités des enzymes de synthèse du saccharose et de l'amidon (Tuteja, 2009).

Un stress hydrique appliqué au moment de la floraison entraîne généralement la stérilité, alors que lors de la pré-anthèse il réduit le temps d'anthèse, tandis qu'à la fin de l'anthèse, il raccourci la période de remplissage du grain (Yadav *et al.*, 2004 ; Estrada-Campuzano *et al.*, 2008).

Selon la sévérité et de la durée de stress, la réduction du rendement a été signalée dans beaucoup espèces. Pour une culture de fève, un stress modéré appliqué à la phase floraison – nouaison provoque un avortement des organes fructifères et des graines (Mouhouche, 1993).

Chez quatre populations de *Medicago truncatula*, le stress durant la phase végétative et la phase floraison provoque une réduction plus importante durant la floraison et entraîne la chute de la production de gousses et de graines (Chebouti et Abdelguerfi, 2000).

La conséquence visuelle d'une sécheresse ou d'un déficit en eau est l'échaudage qui provoque une diminution importante du rendement. Il est à signaler également que selon l'intensité de la contrainte, celle-ci influence la composition biochimique des graines des cultures oléo-protéagineuses, dont un déficit modéré en phase post-florale chez le haricot et le soja permet d'augmenter significativement la teneur en protéines et en huile par le jeu des mobilisations azotées des feuilles vers les graines au détriment du maintien de la photosynthèse (Bensari *et al.*, 1990).

Le déficit hydrique est à l'origine de la réduction de la taille des fruits des agrumes (Rodriguez-Gamir *et al.*, 2010)

Chez le blé, la diminution de la vitesse de croissance des grains résulte de l'activité réduite de saccharose dans la synthèse (Ahmadi et Baker, 2001).

Alors que chez le maïs, le déficit hydrique au cours de la pollinisation a augmenté la fréquence de l'avortement du grain et réduit le rendement en retardant l'ensemencement, réduisant ainsi en particulier le nombre d'épis et de noyaux par plante (Cattivelli *et al.*, 2008).

Le déficit hydrique affecte significativement les composantes du rendement en augmentant le rapport poids des racines/ poids des tiges les plantes exposées à cause de la croissance racinaire au détriment de la partie aérienne (Benmahammed *et al.*, 2008).

Moursi *et al* (1979) ont constaté que l'épuisement d'eau dans le sol a causé une réduction du poids de la matière sèche chez la fève (*Vicia faba*), et a freiné le rythme de synthèse de la matière sèche chez le tournesol (Nemmar, 1983).

## IV. Stress salin

### IV.1. Définition

Le terme salinité est défini par le processus pédologique par lequel le sol ou l'eau s'enrichit anormalement en sels solubles acquérant ainsi un caractère salin (Servant, 1975 ; Parida et Das, 2005).

Pour Munns *et al.* (2006), la salinité représente l'accumulation des sels dissouts dans la solution du sol à un niveau qui inhibe la croissance et le développement des plantes. Il existe deux formes de salinité: primaire, qui résulte de l'accumulation des sels dans le sol à travers un long processus naturel de dégradation des roches salines et des apports éoliens des sels des mers et océans et secondaire d'origine anthropique, résultant des activités humaines, notamment pratiques d'utilisation des terres et d'irrigation avec des eaux chargées de sels qui contribuent considérablement à la salinisation du sol en modifiant l'abondance et l'écoulement de l'eau et des sels dans la rhizosphère.

En effet, un sol salé est caractérisé par la présence d'un excès de l'ion sodium dans le profil (Schut, 1996). Ce dernier peut exister sous deux formes : la forme saline neutre, généralement marquée par les chlorures de sodium, et la forme échangeable liée au complexe argilo-humique qui donne le caractère alcalin de la solution du sol (Duchaufour, 1983).

Généralement, les sols salins sont caractérisés par un niveau toxique des chlorures et sulfates de sodium avec une conductivité électrique saturés supérieure à 4 dS/m, l'équivalent de 40mM NaCl (Shirokova *et al.*, 2000).

Dans l'environnement d'une plante, la concentration en sel varie énormément, elle peut être insuffisante ou excessive. Le stress salin se génère d'un excès d'ions, en particulier, mais pas exclusivement, aux ions  $\text{Na}^+$  et  $\text{Cl}^-$  qui conduit d'une part, à un afflux plus élevé d'ions dans la cellule suite à la chute de la concentration du milieu externe ; d'autre part, à une perte d'eau souvent par une baisse importante du potentiel hydrique (Kinet *et al.*, 1998 ; Drevon *et al.*, 2001 ; Ben Hebreche et Djafour, 2011).

Le stress salin déclenche à la fois un stress osmotique et stress ionique en rendant l'acquisition de l'eau et de nutriments difficile pour la plante et, en modifiant l'équilibre hydrique et ionique des tissus (Flowers *et al.*, 1988 ; Hopkins, 2003).

Les concentrations de NaCl supérieures à 50 mM dans les sols sont, en général, défavorables/toxiques à la plupart des espèces végétales, en particulier celle que l'on regroupe sous le nom de glycophytes (Kinet *et al.*, 1998).

Le stress salin constitue un obstacle majeur à la survie des végétaux. En effet, il peut limiter ou arrêter complètement la croissance suite à une augmentation du potentiel osmotique du sol (Gouny et Cornillon, 1973 ; Lauchli et Epstein, 1990).

### IV.2. Effets du stress salin

Le plus souvent, le stress salin est causé par de fortes concentrations de  $\text{Na}^+$  et de  $\text{Cl}^-$  dans la solution du sol ; ces deux ions ont généralement un rôle mineur pour les plantes car ils sont utilisés en très fines quantités mais suffisamment nécessaires pour le métabolisme et le développement des plantes. Cependant, une situation de stress est appréciée par les plantes lorsque ces éléments se présentent excessivement dans leur environnement et deviennent même toxiques (Guerrier, 1983 ; Tuteja, 2009).

L'impact de la salinité est aussi bien sur le plan agronomique en affectant la croissance et la productivité agricole, sur le plan biochimique et moléculaire (Zekri, 1993 ; Cerezo *et al.*, 1997 ; Gueta-Dahan *et al.*, 1997).

Généralement le stress salin a un triple effet: il réduit le potentiel hydrique, cause un déséquilibre ionique et provoque une toxicité ionique. Cet état hydrique altéré affecte tous les processus majeurs de la plante tels que : la photosynthèse, la synthèse des protéines et le métabolisme énergétiques. Les plantes répondent au stress en tant que cellules individuelles et en synergie comme un organisme entier et dont les niveaux de tolérance à la salinité sont très variables (Parida et Das, 2005 ; Rabie et Almadini, 2005).

#### IV.2.1. Effets sur l'état hydrique de la plante

La présence d'une forte teneur de sels solubles dans le sol diminue son potentiel hydrique ce qui réduit l'approvisionnement de l'eau pour la plante ; d'où le terme sécheresse physiologique, et inhibe sa capacité d'absorption racinaire d'eau (Maricle *et al.*, 2007).

Toutefois, le potentiel osmotique ne suffirait pas à lui seul à caractériser l'état hydrique des plantes soumises à la salinité, la connaissance de la turgescence s'impose pour établir le bilan hydrique, pour le contrôle de la résistance stomatique et de la transpiration, de ce fait le potentiel hydrique foliaire baisse aussi (Munns, 1993).

En effet, le potentiel hydrique et le potentiel osmotique des plantes deviennent de plus en plus faibles avec l'augmentation de la salinité ainsi que la pression de la turgescence et perturbant donc le statut hydrique de la plante (Greenway et Munns, 1980 ; Romeroaranda *et al.*, 2001).

Le contrôle de la régulation stomatique fait intervenir la turgescence cellulaire mais également des messagers racinaires, comme l'acide abscissique (ABA) (Verslues *et al.*, 2006).

Sous l'effet de NaCl, la concentration des solutés des cellules augmente et réduit la teneur relative en eau (RWC) (Rampino *et al.*, 2012). Outre, ce paramètre peut avoir une signification physiologique directe de l'état hydrique du végétal, étant relié au volume vacuolaire, il peut permettre de connaître durant le stress, la concentration en solutés ou une accumulation active des composants osmotiques. Il est largement utilisé pour évaluer l'état de l'eau de la plante (Lafitte, 2004).

Lorsque l'ajustement osmotique n'est pas suffisant, l'eau a tendance à quitter les cellules, ce qui provoque la perte de la turgescence (Redondo-Gomez *et al.*, 2006). Le sel entre en compétition avec les systèmes de transport des nutriments indispensables, et soumet les plantes à un déséquilibre osmotique qui peut aboutir à un déficit hydrique (Niu *et al.*, 1995).

Dans une telle situation, l'altération de l'état hydrique de la feuille peut conduire à augmenter la sensibilité des stomates à l'acide abscissique (ABA) (Verslues *et al.*, 2006).

### IV.2.2. Effet sur le métabolisme et la nutrition

La salinité induit la dessiccation du protoplasme et entraîne des conséquences sérieuses et sur le plan structurel et sur le plan métabolique. L'intégrité des membranes et de leurs composantes lipidiques et protéiques est également affectée, ce qui entraîne des dysfonctionnements métaboliques (Laval-Martin et Mazliak, 1995 ; Hopkins, 2003).

Généralement, la salinité affecte les plantes selon trois processus majeurs : une réduction du potentiel hydrique de la solution du sol, une toxicité des ions particulièrement  $\text{Na}^+$  et  $\text{Cl}^-$  absorbés en excès, et un déséquilibre ionique (Greenway et Munns, 1980).

La présence de fortes concentrations de sels dans le milieu crée un stress ionique car les ions  $\text{Na}^+$  et  $\text{Cl}^-$  engendrent une compétition avec l'absorption d'autres ions, ce qui conduit à une carence en certains ions tels que  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$  et le  $\text{Mg}^{2+}$  en provoquant une altération de la nutrition minérale chez de nombreuses plantes (Hamza, 1980 ; Khan, 2001).

Les effets nutritionnels de la salinité incluent les deux actions primaires du sel sur les plantes: la toxicité directe due à l'accumulation excessive des ions dans les tissus et un déséquilibre nutritionnel provoqué par l'excès de certains ions nécessaires à l'activité enzymatique de la plante (Levitt, 1980).

La forte concentration en sel dans le milieu provoque la perturbation des activités métaboliques notamment la synthèse des protéines et des acides nucléiques, le taux de respiration et la photosynthèse et ses interactions (Alam, 1994).

Chez les légumineuses, le métabolisme azoté et la synthèse protéique sont sévèrement affectés par le stress salin, limitant ainsi fortement la productivité et le développement normal des plantes (Pessaraki *et al.*, 1989).

La salinité provoque aussi la diminution de l'activité de la nitrogénase et d'autres enzymes impliquées dans l'assimilation de l'azote et peut même affecter la vie microbienne du sol et donc la minéralisation de l'azote (Delgado *et al.*, 1993 ; Flores *et al.*, 2000). Chez le soja et l'haricot, une exposition à courte durée des racines nodulées au NaCl diminue l'activité de la nitrogénase et cause une réduction rapide de la croissance végétale (Serraj *et al.*, 1998).

Vu que le stress salin sévère augmente la transpiration, il a un effet direct sur les fonctions enzymatiques associées à la respiration (Zhao *et al.*, 2007).

### IV.2.3. L'effet sur la photosynthèse

Le stress salin a des effets à long et à court terme sur la photosynthèse. Les effets à court terme se manifestent après quelques heures jusqu'à un à deux jours de l'exposition au stress, et la réponse est importante ; il y a complètement arrêt de l'assimilation du carbone. L'effet à long terme s'exprime après plusieurs jours et la diminution de l'assimilation du carbone est due à l'accumulation du sel dans les feuilles où il peut provoquer même la suppression de la photosynthèse (Munn et Termatt, 1986 ; Kao *et al.*, 2001).

La salinité réduit la vitesse de la photosynthèse suite à une diminution de la conduction stomatique de CO<sub>2</sub> (Santiago *et al.*, 2000). Ainsi James *et al.* (2002) mentionnent que la photosynthèse diminue de 50% pour une concentration de Na<sup>+</sup> du feuillage de 350 mM.

Cette diminution est due à : la déshydratation des membranes cellulaires, la toxicité du sel, la réduction de l'approvisionnement en CO<sub>2</sub> à cause de la fermeture des stomates et la réduction de surface foliaire, la sénescence accrue des feuilles et le changement dans l'activité enzymatique (Iyengar et Reddy, 1996 ; Munns *et al.*, 2000). Bien que la photosynthèse n'est pas toujours ralentie par la salinité mais elle est également stimulée par des basses concentrations en sels chez quelques espèces (Kurban *et al.*, 1999).

Il a été récemment montré que la contrainte saline a un effet négatif sur l'activité du photosystème II (PSII) (Ghanem *et al.*, 2008). Sous un stress sévère, la structure du thylacoïde du chloroplaste devient désorganisée, le nombre et la taille des plastoglobules augmentent et le taux d'amidon diminue (Hernandez *et al.*, 1999).

La salinité réduit le contenu chlorophyllien selon l'intensité du stress et du degré de tolérance de la plante (Ashraf et McNeilly, 1988 ; Zhao *et al.*, 2007), donc le taux de la chlorophylle et des caroténoïdes des feuilles diminue en général. Les feuilles les plus âgées commencent à développer une chlorose et finissent par tomber pendant une période prolongée de stress salin (Agastian *et al.*, 2000).

Des perturbations fonctionnelles au niveau de la photosynthèse apparaissent lorsque la concentration en sel excède le niveau de tolérance de la plante, notamment dans le stroma des

chloroplastes qui perturbe le transport des électrons. La phosphorylation et la photorespiration sont aussi affectées. L'acquisition de nutriments minéraux, comme le potassium, les nitrates ou le calcium est également réduite. Les feuilles deviennent sclérosées avant même d'avoir fini leur croissance, et l'organisme tout entier risque de dépérir assez vite (Piri *et al.*, 1994).

#### **IV.2.4. Effet sur la germination**

Selon Neumann (1997), le degré de sensibilité au stress salin dépend du stage végétatif au cours duquel la plante subit le stress. Chez certaines espèces, c'est le stage juvénile qui est le plus sensible, alors que chez d'autres espèces c'est le stade adulte (Greenway et Munns, 1980).

La capacité d'une graine à développer un embryon viable dépend des conditions du milieu de germination et en particulier de sa teneur en sel. La plupart des plantes sont plus sensibles à la salinité durant les phases de germination (Maillard, 2001).

La salinité affecte tout les processus de germination suite à la baisse du potentiel hydrique autour des graines, ce qui rend l'eau inaccessible à cette dernière pour la réhydratation et la reprise de la vie active de l'embryon (Maas et Poss, 1989). Elle réduit significativement la précocité de germination des semences et le taux de germination. Cet effet varie selon l'intensité du stress et les espèces végétales (Debez *et al.*, 2001 ; Devron et Sifi, 2003)

La présence excessive des sels solubles peut inhiber la germination des graines en réduisant sa capacité à retenir l'eau et la vitesse de son absorption entraînant des conséquences sur l'activité métabolique (Munns, 2002 ; Belkhodja et Bidai, 2004), soit par l'accroissement de la pression osmotique de l'eau d'imbibition qui est trop élevée pour permettre la germination (Katembe *et al.*, 1998 ; M'barek *et al.*, 2001), ou en augmentant la pénétration d'ions qui peuvent s'accumuler dans la graine et deviennent toxiques.

Une autre cause de l'inhibition de la germination en présence de sel, c'est la variation de l'équilibre hormonal (Ungar, 1978 ; Kabar, 1986).

Toutefois, la salinité peut présenter des effets stimulateurs sur la germination et la croissance de quelques espèces à des niveaux très faibles de sels (Asloum, 1990).

### IV.2.5. Effet sur la croissance, le développement et la production

La salinité est un facteur environnemental très important qui limite la croissance et la productivité (Allakhverdiev *et al.*, 2000). Durant le début et le développement du stress salin à l'intérieur de la plante, tous les processus majeurs tels que : la photosynthèse, la synthèse des protéines, le métabolisme énergétique sont affectés (Parida et Das, 2005).

Le NaCl peut augmenter la croissance et le développement des plantes, mais à un certain seuil, et il peut aussi nuire et inhiber la croissance à cause du changement du potentiel osmotique, du déséquilibre ionique et de la toxicité ionique dans les cellules (Guerrier, 1983).

La salinité affecte la croissance de la plante de plusieurs manières. Munns (1993) a proposé un modèle bi-phasique pour la réduction de la croissance. La première phase de la réduction de la croissance apparaît rapidement. Au cours de cette phase, l'inhibition de la croissance n'est pas due à l'effet du stress ionique mais plutôt à l'effet du stress hydrique occasionné par la baisse du potentiel osmotique de la solution du sol (Munns *et al.*, 2006). La seconde phase de réduction de la croissance se développe plus tardivement et engendre des dommages dus à l'accumulation des sels dans les tissus cellulaires. Le degré de réduction de la croissance au cours de cette phase est lié au degré de dommages causés au feuillage.

La réduction de la croissance est une conséquence de plusieurs réponses d'ordre physiologiques, dont le statut hydrique, le déséquilibre ionique, la répartition et l'utilisation des hydrates de carbone (Termatt et Munns, 1986; Munns, 1993 ; Zhao *et al.*, 2007).

Sous salinité, la pression de turgescence des tissus diminue conduisant à l'inhibition de l'élongation et la croissance cellulaire (Greenway et Munns, 1980 ; Zhao *et al.*, 2007).

De plus, le stress salin génère l'accumulation dans les tissus cellulaires des composés toxiques tels que les espèces réactives d'oxygène (ROS) (peroxydes, superoxydes et radicaux hydroxyles). Ces molécules endommagent les membranes cellulaires, les enzymes et l'ADN mitochondrial et chloroplastique, perturbant la croissance voire la survie de la plante (Allen, 1995 ; Shen *et al.*, 1997; Tsugane *et al.*, 1999 ; Munns *et al.*, 2006).

La présence de concentration élevée de NaCl s'accompagne d'une réduction de l'absorption des ions tels que  $Mg^{2+}$ ,  $K^+$ ,  $N$ ,  $P$  et  $Ca^{2+}$  dans la plante (Levitt, 1980). Ce déséquilibre nutritionnel est une cause possible de la réduction de croissance (Soltani, 1988).

Sous un stress salin intense, la production des auxines, des gibbérellines et des cytokinines dans les tissus cellulaires se diminuent, alors que la concentration de l'acide abscissique (ABA) augmente. Ces changements hormonaux sont suspectés d'être à l'origine de la réduction de la croissance (Moorby et Besford, 1983).

Généralement, la salinité accrue induit une diminution dans la croissance de l'appareil végétatif notamment la hauteur et le diamètre des tiges, le nombre de feuilles, ainsi que la longueur des racines et la biomasse racinaire (Mohammad *et al.*, 1998 ; M'barek *et al.*, 2001).

Quoique la salinité induit une réduction rapide de la croissance du système racinaire, la croissance de la tige est proportionnellement plus réduite, reflétant un ratio de biomasse racine/tige plus élevé (Neumann, 1995 ; Zhao *et al.*, 2007). Le stress salin résulte aussi dans la diminution de la biomasse sèche et fraîche des feuilles (Chartzoulakis et Klapaki, 2000).

Selon Levigneron *et al.* (1995), une augmentation brutale de la salinité du sol se traduit par une réduction immédiate de la croissance foliaire et de la vitesse d'extension de la surface foliaire, suivi par l'arrêt de l'extension avec l'intensification du stress, cela peut être expliqué par un changement de la balance hormonale entre les racines et la tige (Zhao *et al.*, 2007).

Chez la plupart des glycophytes, un retard de croissance important est signalé dès 50 mM/l de NaCl dans la solution du sol (Parida et Das, 2005).

Le stress salin provoque le plus souvent un retard dans le développement des différentes espèces. Il influence également la croissance, la grosseur et la qualité des fruits dont l'aspect (nécrose) et la qualité organoleptique sont modifiés, et dont la valeur marchande devient médiocre (Gill, 1979).

La salinité est un facteur limitatif majeur de la productivité agricole, ces charges en sels soumettent les plantes à un stress permanent. Chez les plantes fourragères qui ont une productivité mesurée en biomasse, celle-ci peut être réduite de 40% en présence d'une concentration en sel de 12 g/l (Levigneron *et al.*, 1995).

### **V. Réponse aux stress (Tolérance)**

Généralement, la distinction entre les notions d'**adaptation** et de **résistance** aux stress confronte une ambiguïté, elles sont parfois employées l'une à la place de l'autre. L'adaptation se traduit, en réponse à la contrainte, par une succession de modifications aux niveaux cellulaire et moléculaire qui sont dépendantes des potentialités génétiques de l'espèce (Demarly, 1984).

Ces modifications métaboliques aboutissent à des transformations morphologiques et physiologiques déterminant une résistance plus ou moins efficace de l'individu à la contrainte. L'adaptation correspond donc à une dynamique réactionnelle dont la résultante est la résistance (Vartanian et Lemée, 1984).

Donc d'une manière globale, pour achever la tolérance, la plante combine toute une gamme de réponses biochimiques, physiologiques, morphologiques et anatomiques complexes, qui interagissent pour maintenir sa croissance, son développement et sa production (Passioura, 1996).

### **V.1. Mécanismes de tolérance au stress hydrique**

La tolérance d'une plante vis-à-vis du stress hydrique peut être définie, du point de vue physiologique, par sa capacité d'assurer ses fonctions physiologiques malgré une dégradation de son état hydrique, du point de vue agronomique, par l'obtention d'un rendement plus élevé que celui des plantes sensibles (Passioura, 2004)

Face à la contrainte hydrique, les plantes développent des réponses physiologiques adaptatives qui constituent les mécanismes de résistance à la sécheresse, varient en fonction de l'espèce et des conditions du milieu et permettent aux plantes leur survie dans des régions de faible pluviosité et dont la teneur en eau des sols est peu élevée (Lamaze, 1994 ; Gate, 1995). Les mécanismes de tolérance à la sécheresse ont été détaillés par Chaves *et al.* (2003) ; ils sont groupés en trois catégories :

#### **V.1.1. L'esquive (échappement)**

Sous stress hydrique, les plantes subissent des lésions et montrent des dysfonctionnements métaboliques. Si le stress est léger et de courte durée, la lésion peut être temporaire et la plante peut guérir lorsqu'il est éliminé. Les plantes échappent aux stress, les évitent en accomplissant leur cycle de développement lors des périodes où les stress sont peu importants.

L'échappement ou l'esquive permet à la plante de réduire ou d'annuler les effets de la contrainte hydrique par une bonne adaptation de son cycle de culture à la longueur de la saison des pluies, dont le principe correspond à un décalage entre le cycle de développement, de reproduction et la phase climatique de limitation (la plante parvient à boucler son cycle avant que le déficit hydrique ne s'installe véritablement).

Le développement phénologique rapide notamment pendant des périodes pluvieuses avec une floraison précoce, permet à la plante d'éviter les périodes sèches. C'est le cas des plantes des régions arides et de désert qui sont éphémères autrement dit dont la durée de vie est courte.

Ces éphémérophytes effectuent leur cycle de développement durant une période humide favorable et produisent des graines dormantes et supportent de longue période de sécheresse.

Cette stratégie peut être appliquée aux espèces cultivées, et menant à décaler la date de semis et/ou à sélectionner des variétés plus précoces permettant d'éviter les déficits hydriques de fin de cycle. On réduit alors le risque de perte de rendement, en échange d'une réduction du rendement maximum atteignable (Tardieu *et al.*, 2006).

Le rendement de nombreuses variétés a été amélioré grâce au raccourcissement des longueurs de cycle (précocité) et ceci chez pratiquement toutes les espèces cultivées annuelles (Turner *et al.*, 2001).

### V.1.2. L'évitement (avoidance)

Il peut être défini comme la capacité d'une plante à supporter une sécheresse en évitant la déshydratation des tissus par le maintien d'un potentiel hydrique interne satisfaisant en présence de contrainte hydrique (Levitt, 1985 ; Turner, 1986).

C'est une stratégie conservatrice, consiste à la fois de minimiser le risque de dégâts de rendement en réduisant les pertes en eau et d'optimiser l'absorption de l'eau, mais elle a le plus souvent un coût en terme de rendement maximum (Tardieu, 2003 ; Jean-pierre *et al.*, 2006).

Les mécanismes d'évitement sont de type morphologique et physiologique notamment :

➤ **Le maintien de l'absorption hydrique** : l'aptitude des racines à exploiter les réserves en eau du sol sous stress figure parmi les types d'adaptation permettant à la plante d'éviter ou, plus exactement, de retarder la déshydratation de ses tissus (Turner *et al.*, 2001).

L'augmentation de l'absorption peut être due à l'extension de l'absorption en profondeur et en surface, à la vitesse de croissance et de ramification des racines (Laurent et Sané, 2007).

L'absorption de l'eau est optimisée par une allocation vers le développement du système racinaire (Jackson *et al.*, 2000).

Un système racinaire capable d'extraire l'eau du sol est un facteur essentiel de résistance à la sécheresse. Cette caractéristique revêt une importance particulière sur les cultures qui subissent régulièrement des déficits hydriques de fin de cycle. Son impact sur le rendement est particulièrement élevé car elle intervient directement dans l'efficacité de l'utilisation de l'eau en conditions de stress et peut être considérée comme réponse particulièrement efficace pour l'élaboration de la production de graines (Passioura, 1977 ; Khalfaoui, 1990 ; Subbarao *et al.*, 1995).

Un bon développement de l'axe principal racinaire a permis d'exploiter l'eau des horizons profonds du sol chez le blé (Monneveux, 1991) et l'arganier (Tazi, 2003).

➤ **Réduction de la surface foliaire** : le ralentissement de la croissance tissulaire, l'enroulement foliaire, le jaunissement, la sénescence et la chute des feuilles âgées ou la présence de cire à la surface des feuilles, sont souvent des réponses observées chez les plantes soumises à la sécheresse. Ces phénomènes sont des mécanismes d'évitement afin de réduire la surface transpirante et maintenir un potentiel hydrique adéquat. Ils ont été observés chez

plusieurs espèces des régions arides notamment le maïs, le sorgho, l'olivier et le riz (Turner, 1979 ; Kramer, 1983 ; Clark, 1986).

➤ **La régulation stomatique** : les stomates, de minuscules orifices situés à l'interface des tissus foliaires et jouent un rôle fondamental dans les échanges gazeux entre les feuilles et l'atmosphère et la régulation des pertes en eau de l'appareil foliaire.

Généralement, le contrôle de l'ouverture et de la fermeture des stomates dépend du potentiel hydrique foliaire et de l'humidité de l'air au champ, dont une faible conductance conduit à une fermeture des stomates. La fermeture des stomates est une des réponses précoces au déficit hydrique de façon à régler la perte d'eau par transpiration des feuilles par rapport à la vitesse d'absorption d'eau par les racines (Turner, 1997 ; Hopkins, 2003).

La régulation stomatique constitue un mécanisme majeur qui intervient à court terme pour protéger la plante contre la déshydratation en limitant les pertes d'eau: le potentiel hydrique foliaire sera maintenu d'autant plus longtemps que la fermeture des stomates est précoce (Maury *et al.*, 2011) .

Une faible conductance stomatique est généralement proposée comme un signe d'adaptation à la sécheresse (Turner, 1986 ; Jones, 1987).

La fermeture des stomates est contrôlée par un signal hormonal, l'acide abscissique (ABA) en réponse à l'assèchement du sol, quoique certains auteurs attribuent ce mécanisme ainsi au cytokinine (Tardieu, 1996).

La régulation stomatique a pour but de préserver rapidement l'état hydrique de la plante mais en même temps elle réduit l'assimilation du carbone et de l'eau ce qui conduit à une réduction de l'activité photosynthétique et par conséquent la croissance et la productivité des cultures (Turner, 1997 ; Benhamou, 2009).

### **V.1.3. La tolérance à la déshydratation et ajustement osmotique**

La tolérance à la déshydratation implique des mécanismes intracellulaires qui visent à préserver l'intégrité structurale et fonctionnelle des tissus lorsque le potentiel hydrique diminue. Dans ce cas, le phénomène d'ajustement osmotique apparaît comme un mécanisme clé dans la tolérance à la déshydratation (Laurent et Sané, 2007).

L'ajustement osmotique permet la préservation de plusieurs fonctions physiologiques de la plante par le maintien d'une turgescence cellulaire positive et induit une baisse du potentiel par l'augmentation de la concentration des solutés intracellulaires d'une manière active (Turner *et al.*, 1997; Bamoune ,1997 ; Hopkins, 2003). Il permet aussi une protection des membranes et des systèmes enzymatiques (Santarius, 1993).

L'ajustement osmotique consiste en la synthèse des molécules solubles, appelées osmolytes ou osmoticum qui s'accumulent le plus souvent dans le cytoplasme. Cette forte accumulation de solutés se traduit par une plus grande capacité d'attraction et de rétention des molécules d'eau et provoque une diminution du potentiel osmotique (Nabors, 2008).

Les solutés accumulés sont très variés et appartiennent à diverses familles biochimiques tels que les acides aminés (proline, arginine, alanine, etc.), les amides (glutamines et asparagine), les polyamines, les acides organiques (citrate, glutamate, malate, etc.), les sucres (saccharose, fructanes, sorbitol, mannitol, glycérol, etc.), les ions quaternaires (glycinebétaine, proline-bétaïne, pinitol) et les sels minéraux ( $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Cl^-$ ) (Lamaze *et al.*, 1994 ; Hopkins, 2003).

L'effet de l'ajustement osmotique dans l'adaptation à la sécheresse a été démontré chez différentes espèces telle que l'olivier et les arbres fruitiers telles que le trèfle (Wyn Jones *et al.*, 1984), les lentilles (Hurkman *et al.*, 1991), la vigne (Rodriguez *et al.*, 1993), le tournesol (Ashraf, 1994), le melilot (Ashraf, 1995), le blé (Abebe *et al.*, 2003) et l'orge (Wimmer *et al.*, 2003).

De plus, l'ajustement osmotique peut intervenir à tous les stades de développement, il est lié à la capacité des plantes d'accumuler au niveau symplasmique certains solutés de manière active (Blum, 1988).

Les solutés organiques ne perturbent généralement pas ou peu le métabolisme des cellules et sont qualifiés à ce titre d'osmoticum compatibles (Radhouane, 2011).

L'importance relative de l'ajustement osmotique dans l'adaptation au déficit hydrique des plantes est encore soumise à discussion (Hare *et al.* 1998).

### **V.2. Mécanismes de tolérance au stress salin**

La tolérance/ résistance des plantes à la salinité s'exprime par sa capacité à survivre, à croître et à produire et compléter leur cycle de vie dans un substrat contenant une forte concentration de sels solubles (Piri *et al.*, 1994 ; Parida et Das, 2005)

Le maintien des processus vitaux des plantes dans les conditions de stress salin passe par une résistance à la déshydratation, une adaptation du potentiel osmotique afin de rétablir les relations hydriques et d'assurer une alimentation en eau convenable, ainsi que par un contrôle efficace des flux ioniques intracellulaires (Chretien, 1992).

Les plantes réagissent en mettant en œuvre différents mécanismes physiologiques et biochimiques de tolérance, groupés en une homéostasie cellulaire, une limitation des dégâts de stress par contrôle et compartimentation des sels ou détoxication, et une régulation de la croissance (Zhu, 2001).

### V.2.1. Homéostasie cellulaire

Selon Levitt (1980), c'est le processus de maintien de l'équilibre hydrique de la cellule, regroupant l'homéostasie ionique et l'homéostasie osmotique ou ajustement osmotique

➤ **L'homéostasie ionique** : contribue au maintien d'un taux constant et faible des espèces ioniques dans le cytoplasme des cellules afin de limiter les effets du Na et Cl sur la fonctionnalité des enzymes. Elle est atteinte sous stress salin par les stratégies suivantes:

**a. L'exclusion** des sels représente la capacité de la plante à restreindre l'absorption des ions toxiques vers la tige (Munns, 2002).

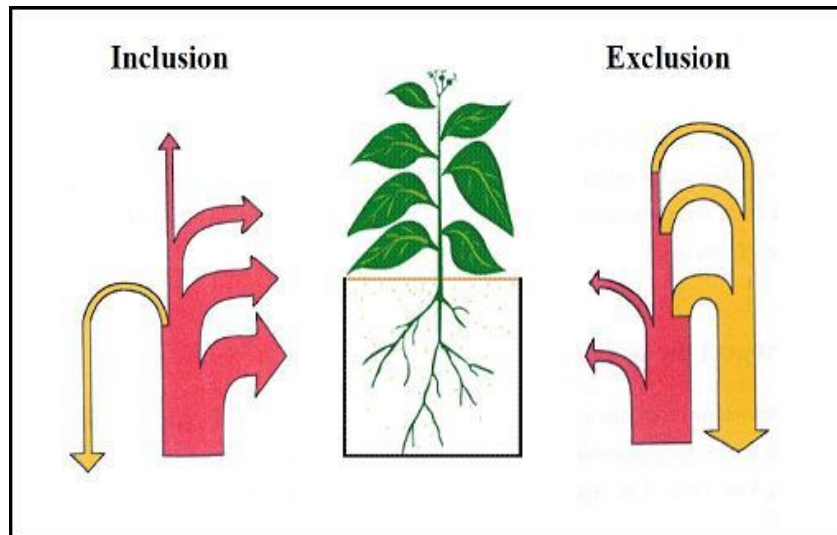
Chez les plantes sensibles au NaCl, le Na<sup>+</sup> s'accumule dans les racines, puis s'exclue des feuilles. Ces plantes sont dites « excluders ». Elles absorbent indifféremment les sels dans la sève du xylème, puis transfèrent ces sels toxiques dans les tissus conducteurs du phloème et pour enfin les diluants par croissance active avec entrée d'eau importante les excréant des racines vers la solution du sol. La plante empêche le sel de remonter dans la sève jusqu'aux feuilles. La présence de l'endoderme dans les racines ainsi que le transport sélectif, leur permet d'absorber les ions nutritifs utiles et de réexcréter les ions Na<sup>+</sup> (Laval-Martin et Mazliak, 1995 ; Ashraf, 2002) (**fig. 2**).

La plante a la capacité de réexpédier aussitôt l'excès de sel parvenu jusqu'aux feuilles vers ses racines, par l'intermédiaire de sa sève descendante par le phloème. Les racines peuvent ensuite réexcréter le sel à l'extérieur et l'éliminer vers le sol (Berthomieu *et al.*, 2003).

**b. L'inclusion** : représente la capacité de la plante à accumuler des quantités de sels, à des niveaux toxiques, dans la tige. Cette capacité est associée à une faible accumulation des ions toxiques dans le cytoplasme, qui est un mécanisme clé dans la tolérance au stress salin (Ashraf, 2002).

A l'inverse, les plantes tolérant le NaCl, sont dites « includers » car elles ont en général des feuilles plus chargées en Na<sup>+</sup> que les racines lorsqu'elles sont en milieu salé.

La plante retient le sel qui parvient aux feuilles au même titre que l'eau, par le mouvement ascendant de la sève dans les vaisseaux. A l'intérieur des cellules, le sel est alors stocké dans les vacuoles grâce à des systèmes de pompes moléculaires, le sel est ainsi isolé des constituants cellulaires vitaux ou excrété par des glandes vers l'extérieur (Alem et Amri, 2005) (**fig. 2**).



**Figure 2:** Stratégies de résistance des plantes aux conditions salines (Levigneron *et al.*, 1995)

➤ **L'homéostasie osmotique ou ajustement osmotique**

Ce mécanisme joue un rôle crucial dans la tolérance ou la résistance à la contrainte saline (Munns, 2002).

Les végétaux sont capables de supporter le stress salin, en maintenant un gradient de potentiel hydrique entre la plante et le milieu extérieur (salin) (Chinnusamy *et al.*, 2005).

L'ajustement osmotique permet le maintien de nombreuses fonctions physiologiques (photosynthèse, transpiration et croissance) (Martinez *et al.*, 2007). L'osmorégulation permet la protection des membranes et des systèmes enzymatiques et le maintien des pressions cytosol- vacuole (Ottow *et al.*, 2005).

On parle d'ajustement osmotique quand les concentrations des solutés à l'intérieur de la cellule augmentent pour maintenir une pression osmotique cellulaire élevée.

La cellule accumule alors activement dans le cytoplasme des composés appelés des solutés compatibles (osmolytes), car elles n'interagissent pas avec les enzymes, comme réponse à la chute du potentiel osmotique permettant le flux d'eau à l'intérieur de la cellule, dont la composition varie en fonction des espèces. Ce sont des solutés non chargés qui tendent à être neutres au pH physiologique et non ionique. Les porteurs et transporteurs associés aux membranes sont eux probablement qui assurent les différentes distributions d'osmolytes à l'intérieur de la cellule (Bohnert et Shen, 1999 ; Tester et Bacic, 2005).

Les osmolytes facilitent la rétention de l'eau dans le cytoplasme et permettent la séquestration du NaCl dans la vacuole ou l'apoplaste. Elles ont des caractéristiques de liaisons d'hydrogène

qui leurs permettent de protéger des macromolécules des effets néfastes de l'augmentation de la force ionique dans les milieux avoisinant.

Ces solutés protègent la structure cellulaire en interagissant avec les complexes protéiques des membranes (Parida et Das, 2005).

Ces composés peuvent être aussi bien d'origine organique tels les sucres, les acides organiques et les acides aminés, ou d'origine inorganique comme les ions, en particulier les ions potassium (Shabala et Cuin, 2006).

Parmi ces osmolytes, on trouve la proline, la glycine bêtaïne, les sucres totaux et alcools tels que le sorbitol ou le mannitol, et qui sont considérés comme les principaux marqueurs biochimiques de stress associés à la tolérance au stress (Shabala et Cuin, 2006).

### ➤ La glycine- bêtaïne

Ce sont de petites molécules (amine) quaternaires ultra solubles impliquées dans l'ajustement osmotique, permettent ainsi un fonctionnement normal du métabolisme dans les cellules (McNeil *et al.*, 1999 ; Ashraf et Foolad, 2007).

Le terme bêtaïne est utilisé invariablement pour désigner les composés suivants: la glycine bêtaïne, la  $\beta$ -alanine bêtaïne et la hydroxyproline bêtaïne. La synthèse de la bêtaïne augmente considérablement lorsque l'organisme est exposé à des facteurs environnementaux tels le froid, la chaleur, la salinité et le gel (Krall *et al.*, 1989 ; Zhao *et al.*, 1992).

Il apparaît que les plantes sont capables de synthétiser la glycine Bêtaïne comme un osmolyte secondaire sous stress salin ou hydrique sévère (Al Hassan *et al.*, 2015).

La bêtaïne agirait comme un "capteur d'eau" qui permettrait de stabiliser la conformation quaternaire des protéines, leur permettant ainsi d'être fonctionnelles lorsque les conditions sont nuisibles (McNeil *et al.*, 1999).

De plus son rôle dans l'osmorégulation, il est aussi mentionné dans la littérature que la bêtaïne pourrait agir aussi comme une chaperonne à faible poids moléculaire, co-régulateur lors du repliement d'enzymes et de certaines autres protéines, et contribue dans la désintoxication des ROS (Reactive Oxygen Species) (Chen et Murata, 2002).

Ce composé est suggéré pour contribuer à arranger davantage la structure des membranes souvent mises à dommages lors du stress (Gorham, 1955).

Il peut être aussi impliqué, directement ou indirectement dans le signal et la régulation de l'expression des gènes durant le stress (Munns et Tester, 2008; Szabados et Savouré, 2010).

L'accumulation de la glycine-betaine se produit dans diverses algues marines et dans approximativement 10 familles de plantes à fleurs.

La famille des Chenopodiaceae renferme plusieurs espèces qui accumulent la glycine-betaine, telles que la betterave à sucre (*Bêta vulgaris*, d'où le nom bêtaïne et, les épinards ainsi que d'autres espèces telles que le tournesol, le blé et le maïs (Levigneron *et al.*, 1995 ; McNeil *et al.*, 1999

### ➤ La proline

La proline est un acide aminé protéinogène dont le groupe  $\alpha$ -amino est présent en tant qu'amine secondaire et qui est essentielle au métabolisme primaire (Szabados et Savouré, 2010).

Cette petite molécule non chargée, très soluble dans l'eau avec un pH physiologique, ce qui lui permet de s'accumuler à des concentrations élevées dans le cytosol des cellules végétales sans endommager les structures cellulaires (Low, 1985; Trovato *et al.* 2008).

L'accumulation de la proline se produit chez les eubactéries, les protozoaires, les invertébrés marins et les plantes sous l'effet de différents stress. Chez les plantes, la proline est considérée comme d'importance majeure (phytoprotecteurs), et s'accumule sous l'effet de la salinité, la sécheresse, les températures extrêmes, les métaux lourds, l'infection pathogène, la déficience nutritionnelle, la pollution atmosphérique et la radiation UV (Hare et Cress, 1997; Saradhi *et al.* 1995).

Généralement, la teneur en proline à l'état libre s'accroît rapidement chez de nombreuses monocotylédones et dicotylédones soumises à un stress salin, remarquée également sous stress hydrique et osmotique (Levigneron *et al.*, 1995).

La particularité dans l'accumulation de la proline par les plantes hautement stressées peut être un des paramètres pour caractériser le développement de la tolérance à la salinité chez les glycophytes (Paquin et Pelleter, 1978).

Aspinall et Paleg (1992) proposent de l'utiliser comme critère de tolérance à la sécheresse chez l'orge. Plusieurs sélectionneurs et physiologistes ont utilisé la capacité de son accumulation dans le criblage des génotypes résistants au déficit hydrique et la salinité sur le blé tendre (Dorfling et Askman, 1989) et sur le blé dur (Benlaribi et Monneveux, 1998).

Une fois accumulée, la proline ajuste la pression osmotique cellulaire en deçà des valeurs externes, entraînant (ou préservant) l'eau dans la cellule en maintenant ainsi la pression de turgescence suffisamment élevée pour soutenir la croissance (Trovato *et al.*, 2008).

### • Biosynthèse

Sous conditions de stress, le métabolisme des acides aminés est largement altéré et la synthèse des protéines augmente comme une conséquence à ces conditions métaboliques ; la synthèse

de la proline est provoquée par une augmentation des concentrations des métabolites accompagnée d'une production de précurseurs de proline (Silveira *et al.*, 2002) .

Dans les plantes, il existe deux voies de synthèse différentes pour la proline (**fig. 3**) :- la première voie provient du glutamate, qui est converti en proline par deux réductions successives catalysées par la pyrroline-5-carboxylate synthetase (P5CS) et la pyrroline-5-carboxylate réductase (P5CR) respectivement. P5CS est une enzyme bifonctionnelle catalysant d'une part l'activation du glutamate par phosphorylation et d'autre part la réduction du phosphate c-glutamyle, intermédiaire labile en semi-aldéhyde de glutamate (GSA), en équilibre avec la forme P5C (Hu *et al.* 1992 ; Gill et Tuteja, 2010) ; - le deuxième précurseur de la biosynthèse de proline est l'ornithine (Orn), qui peut être transaminée en P5C par l'Orn-d-aminotransférase (OAT), une enzyme située au niveau des mitochondries. La voie du glutamate est la voie principale du stress osmotique (Roosens *et al.*, 1998).

Le gène *P5CS* est induit par le stress hydrique et son induction est généralement corrélée à l'accumulation de la proline. La tolérance induite par la surexpression du gène inclut l'ajustement osmotique au niveau du cytosol et la mobilisation des radicaux libres oxygénés. La surexpression du *P5CS* a été décrite au départ chez le tabac et puis l'étude s'est étendue sur l'ensemble des agrumes. Il a été démontré que la surexpression d *P5CS* chez la tomate transgénique entraîne l'augmentation du taux de cette molécule sous conditions de stress salin (Hamida-Sayari *et al.*, 2005 ; Gimeno *et al.*, 2009 ; Gill et Tuteja, 2010).

Les cellules végétales ont le potentiel de l'accumuler rapidement et de le dégrader rapidement en cas de besoin (Trovato *et al.* 2008). La dégradation de la proline est le processus inverse de la biosynthèse de proline et est catalysée par la proline déshydrogénase (PDH) et la déshydrogénase P5C (P5CDH).

La biosynthèse de proline se produit dans le cytosol, dans les plastides et les mitochondries, et non dans les vacuoles, ceci suggère que les chloroplastes et les mitochondries importent la proline et la vacuole a une activité exportatrice du moment que la concentration de la proline est faible à son niveau par rapport au cytosol au cours du stress (Bellinger et Lahrer, 1989).

Par ailleurs la dégradation de proline se produit dans les mitochondries (Szoke *et al.*, 1992).

De plus, l'équilibre entre la biosynthèse et la dégradation de proline est également considéré comme essentiel dans la détermination des fonctions osmoprotectrices et développementales de la proline (Tuteja, 2010).

- **Rôles**

En comparant avec la majorité d'autres acides aminés, la synthèse de la proline a un avantage métabolique en tant que produit terminal d'une voie relativement courte et hautement régulée (Silveira *et al.*, 2002).

La proline est l'osmolyte le plus commun parmi les plantes, son accumulation est crue de jouer un rôle adaptatif dans la tolérance au stress (Verbruggen *et al.*, 1996). Elle participe à la rétention de l'eau dans le cytoplasme et protège contre la dessiccation des membrane et la dénaturation des protéines (Ben Ahmed *et al.*, 2010).

La proline peut agir comme un osmoticum dont l'accumulation cytoplasmique permet de neutraliser les effets ioniques et osmotiques de l'accumulation du sel dans la vacuole, en facilitant l'exclusion des sels des sites métaboliques (Silveira *et al.*, 2002).

La biosynthèse de la proline peut être associée à la régulation du pH cytosolique ou la production de NADPH pour la stimulation de la voie des pentoses-phosphates (Lutts *et al.*, 1996)

La proline a également été proposé pour fonctionner en tant que chaperonne moléculaire stabilisant la structure des protéines membranaires et des protéines libres, et son accumulation peut fournir un moyen d'équilibrer le statut redox des cellules (Dar *et al.*, 2016).

Il très connues que la salinité et la sécheresse induisent un stress oxydatif, cet osmoprotecteur non enzymatique possède un bon potentiel inhibiteur et il peut être considéré comme un piègeur de ROS afin de controverser leurs effets (détoxication) (Cumbes et Smirnoff, 1989 ; Gill et Tuteja, 2010).

De plus, il a été proposé que la proline agit comme un moyen de transférer et stocker le carbone et l'azote, et réduire le potentiel de développement des fleurs et des graines (Hare et Cress, 1997)

Selon un autre point de vue, l'accumulation de la proline n'est pas toujours une réaction d'adaptation au stress, mais plutôt le signe d'une perturbation métabolique ou signal de stress (Hanson *et al.*, 1990 ; Maggio *et al.*, 2002).

Enfin, le dosage de l'accumulation de la proline est considéré comme un critère de sélection de la tolérance au stress. La teneur de proline accumulée par les plantes varie selon les espèces, et peut être 100 fois plus que dans les conditions contrôlées (Verbruggen et Hermans, 2008).

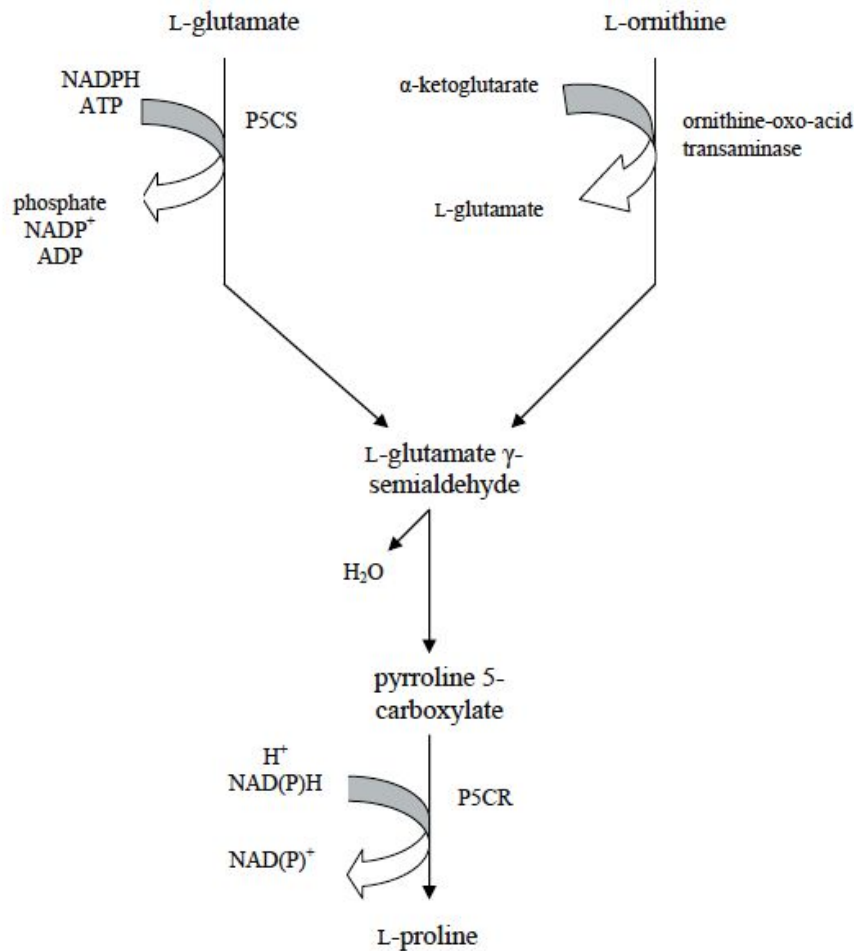


Figure 3: Les voies de biosynthèse de la proline (Parvaiz et Satyawati, 2008)

➤ **Les sucres totaux**

Ces composés qui jouent un rôle central dans la structure et le métabolisme de la plante sont aussi qualifiés d'osmolytes compatibles qui s'accumulent principalement dans le cytosol et sont impliqués dans les réponses aux stress (Sulmon *et al.*, 2004; Tuteja, 2008)

Cette catégorie de solutés organiques comprend les sucres simples (glucose, fructose et saccharose), les sucres alcools (mannitol, sorbitol, glycérol et inositols méthylés) et les sucres complexes raffinose et fructanes) (Bohnert et Jensen, 1996).

La sécheresse, la salinité, les basses températures et les inondations, en général, augmentent les concentrations de sucres solubles, alors que les irradiations lumineuses élevées (UVBR), les métaux lourds, la déficience de nutriments et l'ozone diminuent les concentrations de sucres (Strand *et al.*, 1999 ; Gill *et al.*, 2001) et varient en fonction du génotype des plantes et du facteur de stress (Castonguay *et al.*, 1995 ; Almodares *et al.*, 2008)

L'accumulation de sucres solubles dans les plantes a été largement rapportée en réponse au stress salin et au stress hydrique malgré une diminution significative du taux d'assimilation nette en CO<sub>2</sub>. Ces sucres sont considérés comme des bons osmorégulateurs qui jouent un rôle important dans l'ajustement osmotique (Murakeozy *et al.*, 2003).

Généralement, il est admis que l'accumulation des sucres solubles peut avoir comme origine l'hydrolyse des réserves en particulier l'amidon mais aussi une modification du métabolisme carboné (Lepoivre, 2003).

Rosa *et al.* (2009) ont démontré que dans des conditions de stress, le métabolisme des sucres solubles est un processus dynamique impliquant simultanément des réactions de dégradation et de synthèse.

- **Rôle**

Chez les glycophytes, les sucres contribuent jusqu'à 50% du potentiel osmotique total sous des conditions salines (Cram, 1976).

Ces composés aident les cellules végétales à maintenir leur état hydraté, et donc à fonctionner, permettant une résistance contre la sécheresse et la déshydratation cellulaire.

Les groupes hydroxyles des sucre-alcools substituent le groupe OH de l'eau pour maintenir les interactions hydrophiles avec les lipides membranaires et les protéines, et donc aider à maintenir l'intégrité structurelle des membranes (Tuteja, 2008).

Beaucoup d'auteurs ont mis en évidence le rôle protecteur des sucres sur les membranes, en particulier mitochondriales. Leur présence permettrait le maintien des réactions de phosphorylation et de production d'énergie. En outre, les hydrates de carbone protègent les processus par lesquels les enzymes sont synthétisés ce qui impliquerait une meilleure tolérance de la plante à la dessiccation et une meilleure résistance à la sécheresse (Parker, 1968 ; Todd, 1972).

Dans des conditions de froid, l'accumulation des sucres semble induire la gélification du contenu cellulaire en saturant le milieu intracellulaire. Ce phénomène permet d'éviter la cristallisation des molécules contenues dans la cellule, et donc limite les dommages au niveau des structures cellulaires (Dubos, 2001).

Hare et Cress, (1997) remarquent que parmi les principaux sucres accumulés sont le glucose, le saccharose, le fructose et le fructane qui représentent des osmoticums beaucoup moins puissants que la proline, et ils participent eux aussi au maintien de la balance de la pression osmotique et de la pression de turgescence. Ainsi, les enzymes liés au métabolisme des sucres semblent avoir une importance majeure dans la tolérance au stress hydrique (Geigenberger *et al.*, 1997) et le stress salin (Parida *et al.*, 2002).

Le stress hydrique tend à induire une augmentation caractéristique de la teneur en saccharose dans les feuilles (Parida *et al.*, 2002) il est préférentiellement accumulé dans les tissus en déshydratation (Déjardin *et al.*, 1999)..

Les phénomènes de tolérance inductibles par le saccharose sont liés à des mécanismes de régulation plutôt qu'à un effet nutritionnel strict des sucres solubles. En effet, il a été montré que le saccharose confère une forte tolérance chez *Arabidopsis*, qui se traduit par un maintien de la croissance et du développement (Sulmon *et al.*, 2004).

Les fructanes constituent des composés majeurs de réserve de polysaccharides (Hisano *et al.*, 2008), naturellement présents en solution dans les cellules des feuilles (Pavis *et al.*, 2001), les racines (Prud'homme *et al.*, 1992) et dans les tiges (Smith, 1967). Les niveaux de fructanes ont été associés à la capacité de tolérance aux stress abiotiques notamment le froid et la sécheresse (Hisano *et al.*, 2004 ; Kawakami *et al.*, 2008). Ils sont liés à la stabilisation des membranes cellulaires (Livingston *et al.*, 2009) et participeraient également aux fonctions antioxydantes de la plante par le piégeage chimique des ROS au niveau du tonoplaste (Peshev *et al.*, 2013). Ils pourraient aussi jouer un rôle en tant que signaux de stress (Van den Ende, 2013).

Le stress salin induit une accumulation du mannitol qui semble être régulée par le catabolisme du mannitol lui-même. L'accumulation du mannitol entraîne la diminution du potentiel osmotique dans le cytoplasme, il aide à retenir l'eau et par conséquent atténuer l'effet de sécheresse physiologique que cause la salinité (Tester et Bacic, 2005).

Le tréhalose, un disaccharide qui s'accumule sous divers stress abiotiques et protège les membranes et les protéines des cellules exposées au stress qui entraînent un déficit en eau et une agrégation réduite des protéines dénaturées (Singer et Lindquist, 1998). Selon Yamada *et al.* (2003), le tréhalose a un effet suppressif sur la mort cellulaire.

Une accumulation de la teneur en sucres a été mise en évidence chez le sorgho (Jones *et al.*, 1980) et le blé (Tari *et al.*, 2000). Elle pourrait contribuer à la réalisation d'une pression osmotique qui limite la transpiration. En effet, Le niveau d'ajustement osmotique réalisé par les légumineuses est modeste comparé à celui des céréales (Subbarao, 1995).

Dans les feuilles de tomate, la teneur en sucres solubles augmente considérablement, mais la teneur en amidon n'est pas affectée (Khavarinejad et Mostofi, 1998).

Ashraf et Tufail (1995) ont déterminé la teneur en sucres solubles totaux de cinq accessions de tournesol présentant une tolérance au sel différente dont les lignées tolérantes au sel avaient généralement des sucres solubles plus importants que ceux sensibles au sel.

En conclusion, les sucres solubles ont un double rôle dans les plantes. Elles sont impliqués dans les divers événements métaboliques et agissent en tant que signaux moléculaires régulant différents gènes, en particulier ceux impliqués dans la tolérance au stress (Rosa *et al.*, 2009).

### V.2.2. Compartimentation vacuolaire

La stockage ou séquestration du sodium dans la vacuole est la stratégie la plus efficace chez les plantes pour éviter la toxicité de  $\text{Na}^+$  sur des sites métaboliques dans le cytoplasme (Jebnoue, 2008).

La plante utilise en effet le sel pour ajuster la pression osmotique de ses cellules. Elle capte le sel qui parvient aux feuilles, au même titre que l'eau, par le mouvement ascendant de la sève dans les vaisseaux. A l'intérieur des cellules, le sel est alors stocké dans les vacuoles grâce à des systèmes de "pompes" moléculaires. Les vacuoles étant des compartiments fermés au sein de la cellule; le sel est ainsi isolé dans des constituants cellulaires vitaux (Berthomieu et Sentenac, 2003).

De plus, la compartimentation contribuent également à une échelle plus large à limiter aussi l'accès de  $\text{Na}^+$  aux cellules photosynthétiques (Zhang *et al.*, 2001).

La vacuole est le compartiment cellulaire le plus volumineux qui permet un stockage massif des ions sans dommage sur le fonctionnement de la cellule. Lorsque la capacité d'accumulation (vitesse, quantité) de la vacuole est saturée, les ions qui continuent à parvenir aux parties aériennes s'accumulent soit dans le cytoplasme, soit dans les parois cellulaires (Munns, 1993). D'autres organites, tels que les plastes et les mitochondries, peuvent également accumuler ces ions et contribuer ainsi à la compartimentation intracellulaire de ces ions toxiques (Blumwald, 2000; Dietz *et al.*, 2001).

Le déplacement des ions au travers des membranes implique un transport actif, qui utilise différents transporteurs (en densité variable) à la surface des membranes cellulaires. Le processus est donc coûteux en énergie pour la plante (Orcutt et Nilsen 2000 ; Zhang *et al.*, 2001).

### V.2.3. Régulation de la croissance et induction hormonale

La présence d'une contrainte saline entrave le développement racinaire, la plante tend toujours à rétablir son équilibre. Il paraît donc que le maintien de la croissance racinaire constitue un caractère adaptatif dans un environnement de faible disponibilité en eau tel que le milieu salin. L'allongement racinaire peut être dû à une augmentation d'activité des enzymes impliquées dans la construction du cytosquelette ou de l'accumulation de proline (Ober et Sharp, 1994 ; Wu *et al.*, 1994). En effet, la réduction de la croissance aérienne des plantes

peut être expliqué par des augmentations des taux de certains régulateurs de croissance, notamment l'acide abscissique et les cytokinines induites par le sel (Benmahioul *et al.*, 2009). La concentration élevée du sel déclenche une augmentation du taux de ces hormones végétales (Meloni *et al.*, 2004).

La fonction principale de l'acide abscissique est de réguler la tolérance au stress osmotique via des gènes de tolérance à la déshydratation cellulaire et régule la balance de l'eau dans la plante à travers les cellules de garde. L'ABA est aussi induit par la salinité (Kaur et Gupta, 2005).

Chez *Arabidopsis thaliana*, les régulations de la division cellulaire et de l'élongation cellulaire sous stress salin sont effectuées par l'intermédiaire de l'ABA (Wang *et al.*, 1993).

Spollen *et al.* (2000) suggèrent que l'élongation racinaire par l'intermédiaire de l'ABA doit être causée par une inhibition de biosynthèse d'éthylène.

Pendant le stress salin, il y a une augmentation au niveau de la production de l'ABA et l'éthylène chez *Citrus sinensis*, il s'est avéré que l'ABA vient alléger l'effet inhibiteur du NaCl sur la photosynthèse, la croissance et la translocation des assimilats (Meloni *et al.*, 2001). Il a été reporté que l'ABA réduit la libération de l'éthylène et l'abscission foliaire en conditions de stress chez le citrus, probablement en diminuant l'accumulation de l'ion toxique dans les feuilles (Ashraf et Foolad, 2007).

L'ABA favorise le passage de la forme C3 à la forme CAM pendant le stress chez quelques espèces. Il favorise la fermeture des stomates en changeant le flux des ions dans les cellules de gardes sous les conditions de stress salin. Dans le cas du stress salin, l'augmentation de l'absorption de  $Ca^{2+}$  est liée à l'augmentation de l'ABA et donc contribue au maintien de l'intégrité membranaire, ce qui permet aux plantes de réguler l'absorption et le transport dans le cas d'excès de la salinité à long terme (Ashraf et Foolad, 2007).

### V.2.4. Adaptation à la salinité

D'une façon générale, la tolérance au sel n'est pas constante pour une même espèce ou variété. Elle peut changer en fonction de l'espèce, du génotype, de l'âge et de l'état physiologique de l'organe (El-Mekkaoui, 1990). À cet égard, les plantes peuvent être regroupées en deux catégories principales en se basant sur leur comportement vis-à-vis aux contraintes salines (Thomson, 1975).

➤ **Les halophytes** : se sont les plantes qui croissent sur des sols très salins. Les halophytes les plus tolérantes continuent de croître à des concentrations comprises entre 200 et 500 mM de NaCl. Elles présentent des adaptations morphologiques (xéromorphoses) et des adaptations physiologiques marquées d'abord par une pression osmotique internes très élevée. Les halophytes possèdent des structures spécialisées, appelées « glandes à sel », situées au

niveau des cellules épidermiques des feuilles et des tiges, ayant le rôle d'excréter le sel, lorsque la charge minérale des tissus est excessive.

La succulence est l'un des caractères les plus communs aux halophytes, elle se traduit par une accumulation d'eau dans les cellules constitutives des tissus des organes aériens et une augmentation de l'épaisseur des feuilles qui est l'une des modifications qui apparaît de façon plus importante chez les espèces les plus tolérantes.

On note de plus, la réduction de la surface foliaire, par exemple chez *Cressa cretica* et *Tamarix gallica* ; la présence d'une cuticule épaisse et l'apparition plus précoce de la lignification de quelques organes à la fin de leur cycle de vie (Raache et Karboussa, 2004).

➤ **Les glycophytes** : à l'autre extrémité se trouvent ces plantes sensibles, qui ne peuvent tolérer que de faibles concentrations de sels et peuvent subir des dommages irréparables par des concentrations de NaCl inférieures à 50 mM.

Beaucoup d'espèce cultivées importantes comme les haricots, le soja, le riz et le maïs sont des glycophytes . Des modifications s'observent sous l'effet de la salinité comme la raréfaction des stomates, la présence de tissus de soutien et l'abondance du parenchyme aquifère (Laval-Martin et Mazliak., 1995).

Il est souvent difficile de séparer les effets de la salinité de ceux engendrés par un faible potentiel hydrique ou par des interactions complexes avec d'autres ions.

La présence des sels dans la zone racinaire abaisse le potentiel osmotique (négatif), ce qui réduit le potentiel hydrique du sol. La balance hydrique de la plante entière en est affectée. Le maintien d'un gradient de potentiel hydrique est nécessaire aux mouvements d'eau du sol vers la partie aérienne de la plante. Cet effet osmotique induit par la présence de sel est similaire à celui induit par le déficit hydrique.

L'ensemble des stress, qu'ils soient de nature hydrique ou saline, provoquent des modifications de l'état physique des membranes cellulaires. L'intégrité membranaires est rompue ce qui entraîne la décompartmentation et la fuite de solutés. L'assemblage des protéines des systèmes respiratoires, des photosystèmes et des systèmes métaboliques est déstructuré (Cattivelli *et al.*, 2008).

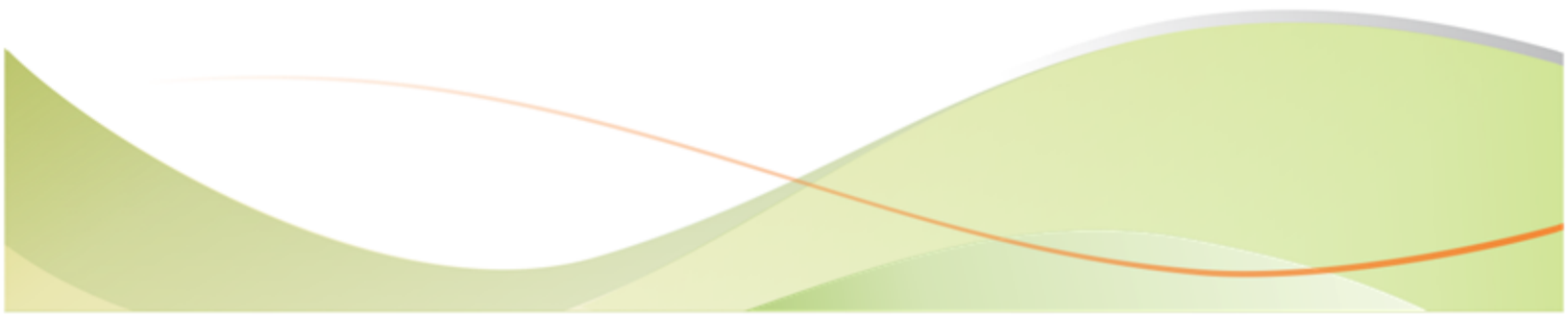
Cependant, une différence essentielle existe entre l'effet induit par un stress salin et un déficit hydrique : la quantité totale en eau disponible. Lors d'un déficit hydrique, l'assèchement du sol permet à la plante de prélever qu'une quantité finie d'eau disponible suivant le profil du sol, diminuant ainsi son potentiel hydrique. A l'inverse, lors d'un stress salin, une grande quantité d'eau est généralement disponible, mais à un faible potentiel hydrique. De ce fait, la plante peut assurer sa croissance, bien que ralentie, sous contrainte

saline par ajustement osmotique : la turgescence est maintenue malgré le fléchissement de la croissance cellulaire et le potentiel hydrique est abaissé pour faciliter l'absorption d'eau à la racine (Campos et Assuncao, 1990 ; Munns, 2002 ; Kaviani, 2008; Ma *et al.*, 2008).

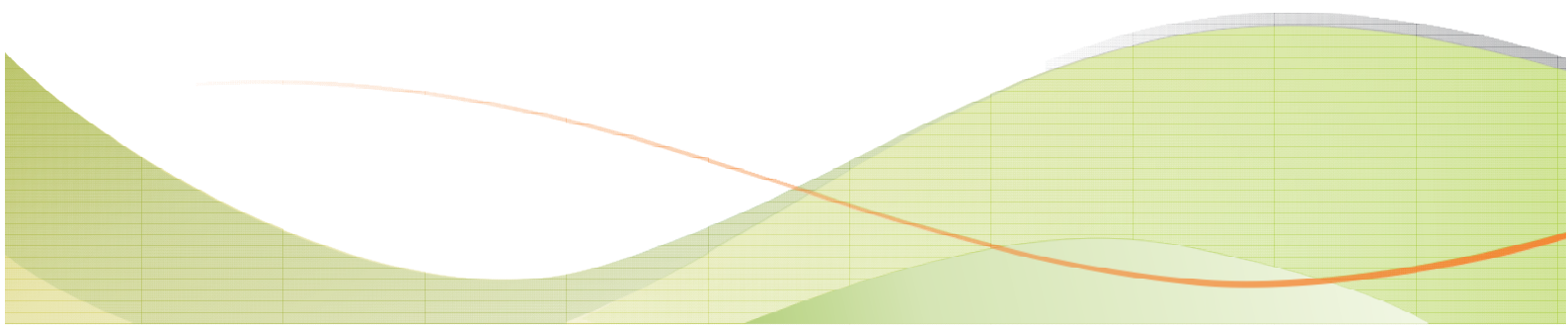
La synthèse et l'accumulation de nouveaux métabolites connus de solutés compatibles constituent une réponse connue à ces stress, pour éviter la perte d'eau et maintenir l'homéostasie cellulaire (Ford, 1984). L'accumulation de la proline est une réponse physiologique commune à différents stress multiples dont elle est crue de jouer un rôle important dans l'ajustement osmotique (Tuteja, 2010).

Les substances qui contribuent à l'ajustement osmotique chez les halophytes sont les mêmes solutés dont la proline, la bétaine et le sorbitol qui s'accumulent en réponse au stress hydrique (Yeo et Flowers, 1983).

# Étude Expérimentale



# ***Chapitre I : Étude de la germination***



Ce chapitre consiste à déterminer l'effet du stress hydrique et salin sur la germination des graines de *Medicago arborea* L. afin de comprendre davantage les facteurs qui régissent la germination de l'espèce dans des conditions contrôlées (*in vitro*) et de faire le point sur les connaissances de la viabilité de ses graines.

## **I. Matériel et méthodes**

### **I.1. Matériel biologique**

Nos essais de germination portent sur des graines de *Medicago arborea* L. (**fig. 4**), fournies par la station INRF (Institut National de Recherche Forestière) de la Wilaya de Djelfa, région des hauts plateaux du centre d'Algérie (Alt. : 346.66 m ; 34°40' N ; 3°54' E).

Les graines ont été récoltées en juin 2011 puis conservées dans des sachets en papier à la température ambiante du laboratoire et à l'abri de l'humidité jusqu'à leur utilisation en 2015.



**Figure 4 :** Graines de *Medicago arborea* L. (Cliché Aissat 2015)

### **I.2. Méthodes d'étude**

#### **I.2.1. Sélections et préparation des graines**

Les graines de *Medicago arborea* employées ont été soigneusement triées et seules les graines saines, complètes et mûres ont été sélectionnées.

Elles ont été désinfectées afin d'éviter leur contamination par les champignons au cours du processus de germination, par trempage dans l'hypochlorite de sodium à 5%, pendant 10 min puis rincées à l'eau distillée plusieurs fois pour éliminer toute trace de chlore.

#### **I.2.2. Déroulement des essais de germination**

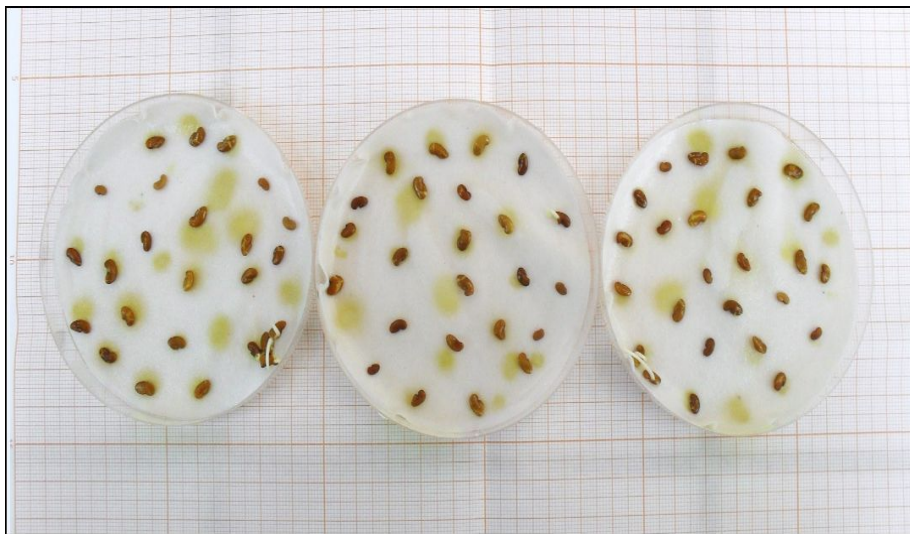
Les graines ont été placées dans des boîtes de Pétri en verre de 90 mm de diamètre, stérilisées, tapissées de deux couches de papier filtre, imbibé quotidiennement selon la nature des essais par :

- des solutions salines de différentes concentrations préparées à partir du Chlorure de Sodium (NaCl) pour le stress salin,
- les solutions de différentes concentrations de polyéthylène glycol (PEG<sub>6000</sub>) pour le stress hydrique) et,
- l'eau distillée pour le témoin.

Elles ont été ensuite mises à germer dans un incubateur de type Memmert, à l'obscurité, à la température optimale continue de 20°C (Aissat, 2014) (**fig. 5**).

Le dispositif expérimental est randomisé avec trois répétitions, à raison de 25 graines par lot.

Le pourcentage de germination est noté quotidiennement pendant toute la période du processus.



**Figure 5** : Mise en germination des graines en boîtes pétri (Cliché Aissat, 2015)

### **I.2.3. Application des stress**

#### **I.2.3.1. Stress salin**

Pour évaluer l'effet du stress salin sur la germination des graines de *M. arborea*, nous avons utilisé des solutions d'arrosages présentant différentes concentrations molaires de NaCl : 34 mM, 68 mM, 102 mM, 136 mM, 170 mM, 204 mM, 238 mM, 272 mM correspondant respectivement à 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 et 16 g/l.

Un lot témoin est également conduit dont les graines sont arrosées par l'eau distillée.

#### **I.2.3.2. Réversibilité de l'action du sel**

Afin de déterminer l'origine de l'effet dépressif du sel, s'il est de nature osmotique et ou toxique, les graines sont mises à germer en présence de solutions salines ayant inhibé le processus de germination (238 mM, 272 mM de NaCl) pendant 4 jours, puis disposées dans

des boîtes de pétri, sur papier filtre imbibé d'eau distillée et mises à germer à l'obscurité à une température continue de 20°C (Hajlaoui, 2007).

### I.2.3.3. Stress hydrique

Les graines sont arrosées par des solutions préparées à base de polyéthylène glycol (PEG<sub>6000</sub>) à différentes concentrations : 4g/l, 8g/l, 12g/l, 16g/l, 32g/l correspondent respectivement aux potentiels hydriques suivants: -0.01 Mpa, -0.02 Mpa, -0.05 Mpa, -0.1 Mpa et -0.2 Mpa. Les graines du lot témoin sont arrosées par l'eau distillée.

Le PEG est une molécule de grand poids moléculaire relativement stable, inerte, bien soluble dans l'eau et non toxique même à de fortes concentrations. Il est employé comme un *Osmoticum* ou agent osmotique abaissant le potentiel de l'eau pour simuler l'effet du stress hydrique sur les plantes d'une manière semblable au séchage du sol (Ranjbarfordoei *et al.*, 2000).

**Remarque :** pour l'ensemble des essais réalisés, le comptage des graines germées a été effectué quotidiennement toutes les 24 heures. Le critère de germination retenu est la percée des enveloppes de la graine par la radicule (Mehdadi *et al.*, 2013).

### I.3. Expression des résultats

Les résultats de germination sont exprimés par les paramètres suivants :

➤ **Capacité de germination (CG %)** ou taux de germination final.

Ce paramètre constitue le meilleur moyen d'identification du seuil du traitement effectué qui présente la limite physiologique de germination des graines. Il est exprimé par le rapport du nombre des graines maximum germées sur le nombre total des graines utilisées (Hajlaoui, 2007).

➤ **Vitesse de germination ou coefficient de vitesse (CV) :** c'est le nombre des graines germées par unité de temps, exprimé par la formule suivante (Mazliak, 1982) :

$$CV = \frac{(N_1 + N_2 + N_3 + \dots + N_n)}{(T_1N_1 + T_2N_2 + T_3N_3 + \dots + T_nN_n)} * 100$$

Avec :  $N_1$  : nombre des graines germées au temps  $T_1$

$N_2$  : nombre des graines germées entre  $T_1$  et  $T_2$ , etc.

$T_1$  : premier jour de germination

$T_2$  : deuxième jour de germination, etc.

$T_n$  : n<sup>ème</sup> jour de germination

➤ **Temps moyen de germination (TMG):** correspond au temps nécessaire à la germination de 50 % des graines (T50), il est exprimé par la formule suivante (Mazliak, 1982) :

$$\mathbf{Tm} \frac{(T1N1+ T2N2+ T3N3+\dots+TnNn)}{(N1+N2+N3+\dots.Nn)} * \mathbf{100} = \frac{\mathbf{1}}{\mathbf{CV}}$$

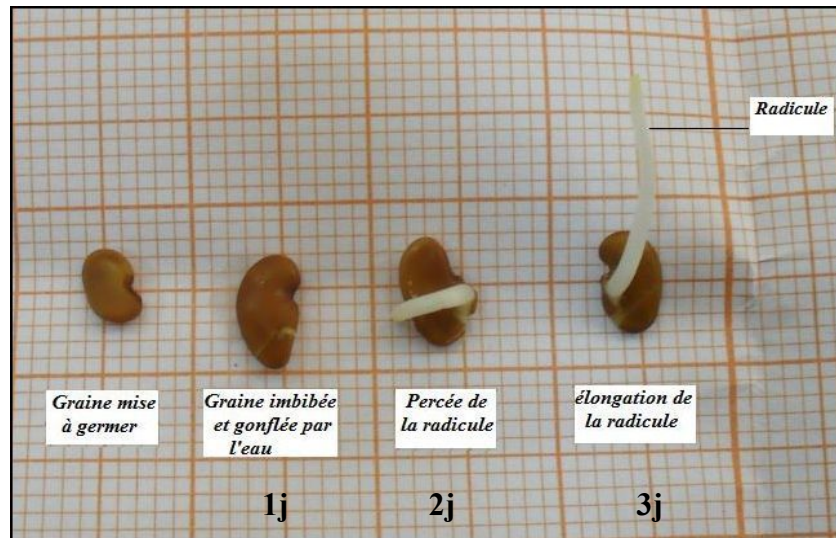
➤ **Temps de latence :** c'est le temps nécessaire pour permettre la germination de la première semence.

#### **I.4. Analyse statistique**

Les valeurs moyennes des différents paramètres évalués relatifs à la capacité de germination, la vitesse de germination, le temps moyens de germination et au temps de latence, ont été soumises à une analyse de variance à un seul facteur (**ANOVA I**) au seuil 5% à l'aide du logiciel SPSS (version 2015).

### II. Résultats

Le suivi quotidien des essais de germination nous a permis de percevoir le processus de germination des graines (**fig. 6**) et d'obtenir les résultats présentés ci-dessous.



**Figure 6 :** Suivi de la germination d'une graine de *Medicago arborea* (Cliché Aissat 2015)

#### II.1. Effet du stress salin

##### II.1.1. Cinétique de germination

La figure 7 montre l'effet de différentes concentrations de NaCl sur l'évolution du pourcentage de germination des graines de *M. arborea* au cours du temps. L'examen des courbes permettent de distinguer trois phases :

- une phase de latence, nécessaire pour obtenir les premières germinations. La durée de cette phase varie en fonction des concentrations salines, elle est courte de l'ordre de **1** jour pour les graines du lot témoin et celles soumises aux concentrations **34** et **68mM**. Elle s'étend en accentuant la salinité, jusqu'à **10** jours à **204mM** de NaCl.
- une deuxième phase exponentielle correspondant à une augmentation rapide du pourcentage de germination proportionnelle au temps.
- une dernière phase stationnaire, sensiblement linéaire, représente le pourcentage final de germination, traduisant la capacité germinative des graines qui s'affaiblit avec l'augmentation du stress salin.

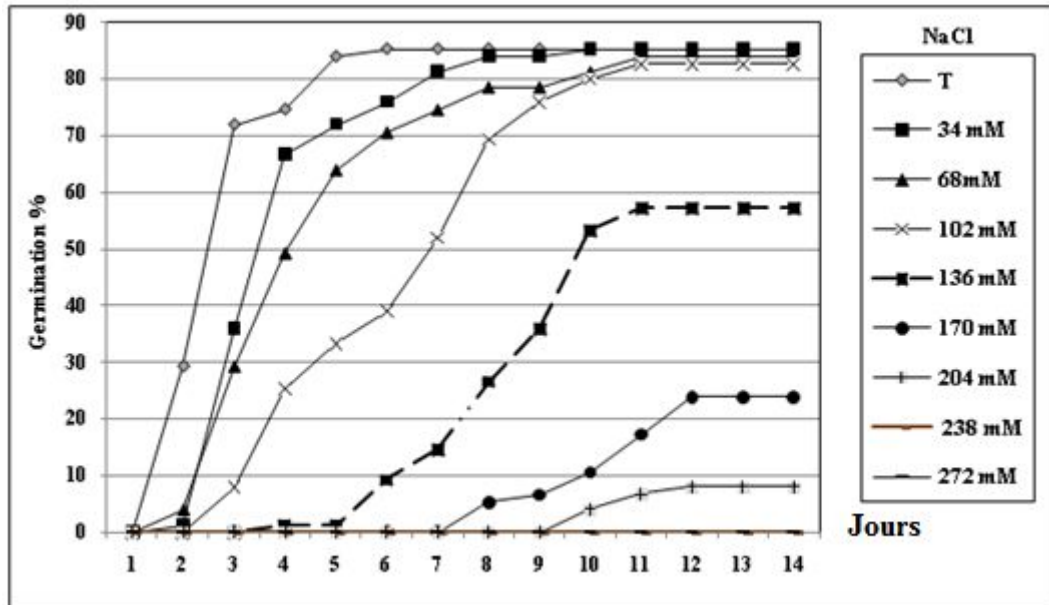


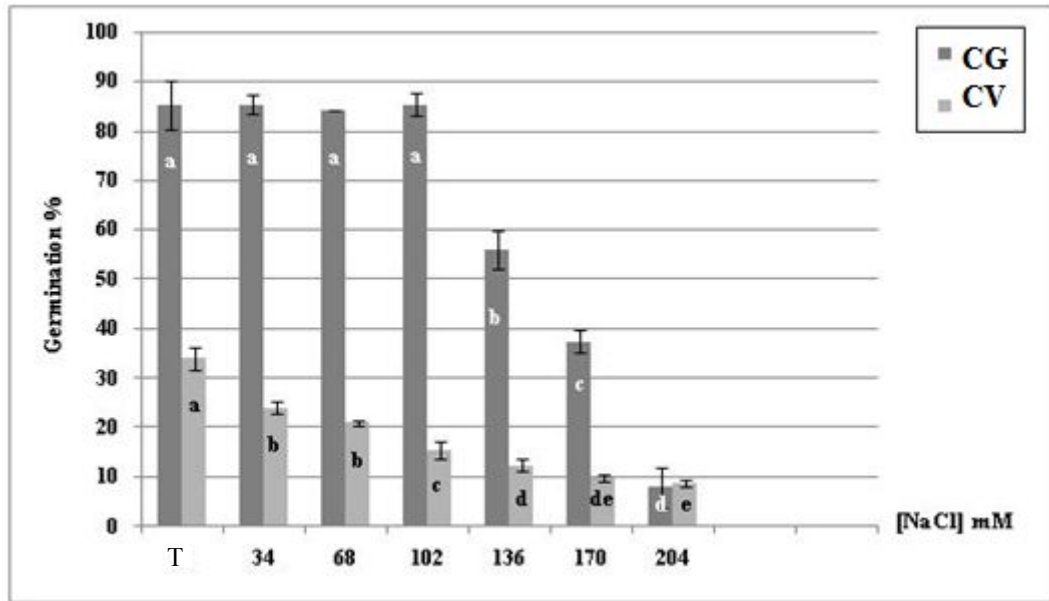
Figure 7: Effet du NaCl sur la cinétique de germination

### II.1.2. Capacité de germination et coefficient de vélocité

Les capacités de germination moyennes et les coefficients de vélocité moyens ou vitesses de germination évalués sous les différentes concentrations salines sont représentés par la figure 8 et dans le tableau 4.

Aux concentrations 34, 68 et 102mM de NaCl, la capacité germinative des graines n'a pas été affectée et reste comparable au témoin, atteignant un taux maximum de 85,33%. À partir de 136 mM, elle chute significativement avec l'augmentation de la concentration en NaCl pour s'inhiber à 238 et 272mM de NaCl.

Par ailleurs, la vitesse de germination diminue en fonction de la concentration en NaCl par rapport au témoin qui présente une vitesse maximale de germination (34%). Cette vitesse s'annule à 238mM et 272mM. Cela été confirmé par l'analyse de la variance ( $P < 0.05$  et  $P < 0.01$ ).



**Figure 8:** Effet du NaCl sur la capacité de germination et le coefficient de la vélocité

\* les lettres différentes indiquent une différence significative entre les moyennes au seuil 5%.

**Tableau 4: Paramètres de germination relatifs aux graines soumises à différentes concentrations de NaCl**

Source de variation	CG (%)	CV (%)	TMG (j)	TL (j)
<b>Probabilité</b>	<0.01*	<0.01**	<0.01**	<0.01*
T	85,33	34	3	2
34 mM	85,33	24	4	3
68 mM	84,00	21	5	2
102 mM	82,67	16	6	3
136 mM	52,00	11	9	6
170 mM	21,33	8	12	11
204 mM	5,00	6	8	7
238 mM	0	0	0	0
272 mM	0	0	0	0

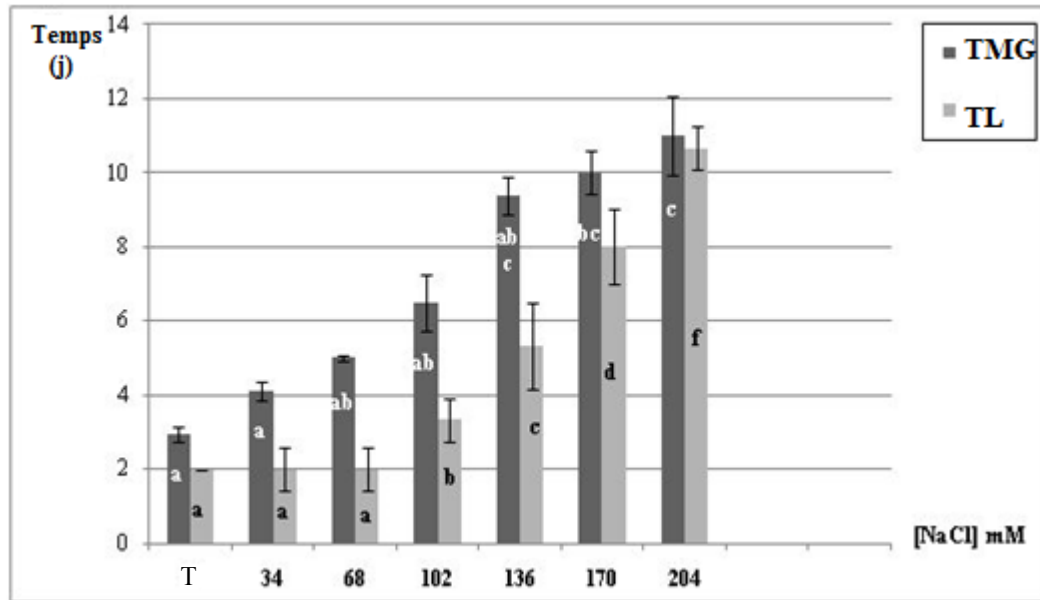
\*, \*\* indiquent respectivement des différences à  $P \leq 0.05$  et  $P \leq 0.01$

CG : capacité de germination ; CV : coefficient de vélocité ; TMG : temps moyen de germination ; TL : temps de latence ; T : témoin

### II.1.3. Temps moyen de germination et temps de latence

La figure 9 montre l'effet du NaCl sur le temps moyen de germination et le temps de latence. Nous avons remarqué une diminution du temps moyen de germination proportionnelle à l'intensité du stress, puis s'annule aux concentrations salines élevées 238 et 272 mM.

À partir des résultats de la figure 34, il ressort que la germination a débuté le deuxième jour pour les graines témoins et pour celles soumises à de faibles concentrations salines (34 et 68 mM). Le temps de latence s'amplifie en augmentant la concentration saline en atteignant une durée de 10 jours à 204mM. L'analyse de variance a confirmé cette variabilité ( $P < 0.05$  et  $P < 0.01$ ).



**Figure 9:** Effet du NaCl sur le temps moyen de germination et le temps de latence

\*les lettres différentes indiquent une différence significative entre les moyennes au seuil 5%.

#### II.1.4. Réversibilité de l'effet du NaCl

Ce test a été réalisé pour déterminer l'origine de l'inhibition de la germination des graines par les fortes concentrations de NaCl. Selon Hajlaoui (2007), si cette inhibition de germination est d'origine osmotique, le résultat prévu est une reprise de la germination après levée de la contrainte saline, et si des phénomènes de toxicité ionique qui interviennent, nous assistons à une absence de la germination. Le suivi de l'évolution de cet essai a permis d'enregistrer les résultats représentés par la figure 10.

Les graines qui n'ont pas germées sous stress sévères de 238 mM et 272mM de NaCl (concentrations ayant inhibé la germination) ont repris leur aptitude à germer une fois transférés dans de l'eau distillée. La germination est précoce et se déclenche dès le premier jour de transfert ; le taux de germination augmente rapidement atteignant 81,33% à 238mM et 66.67% à 272mM of NaCl.

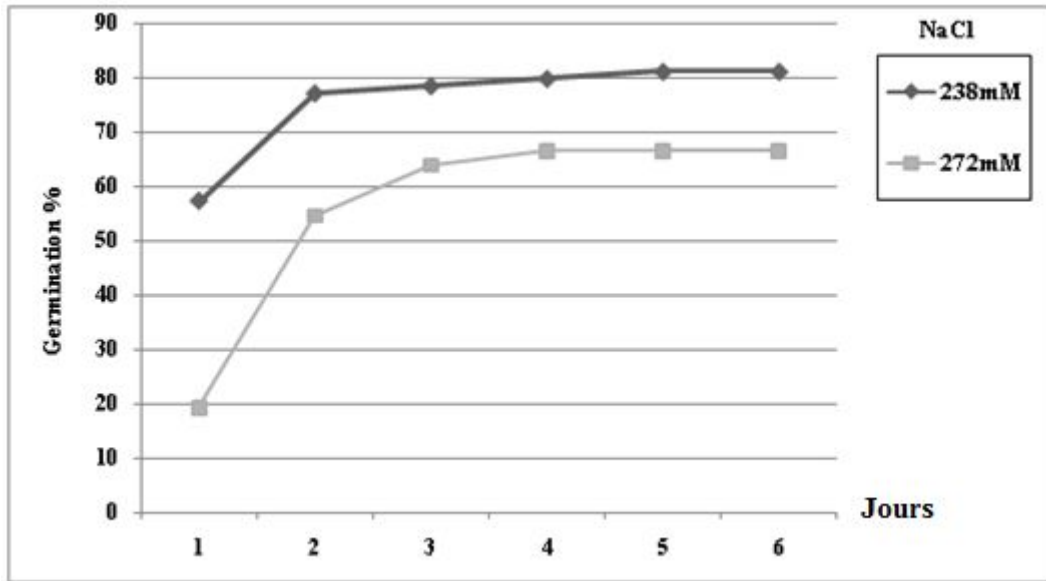


Figure 10 : Effet réversible du NaCl sur la capacité de germination

## II. 2. Effet du stress hydrique

### II.2.1. Cinétique de germination

Les résultats de l'évolution de la germination des graines sous stress hydrique sont illustrés par les courbes de la figure 11, et permettent de distinguer trois phases de germination :

- phase de latence qui dure 2 à 3 jours pour l'ensemble des pressions osmotiques testées,
- une deuxième phase correspond à une accélération de la germination notamment pour les graines témoins et celles exposées aux faibles pressions osmotiques (-0.01 and -0.02Mpa),
- une troisième phase de stabilité de la germination indiquant la capacité germinative.

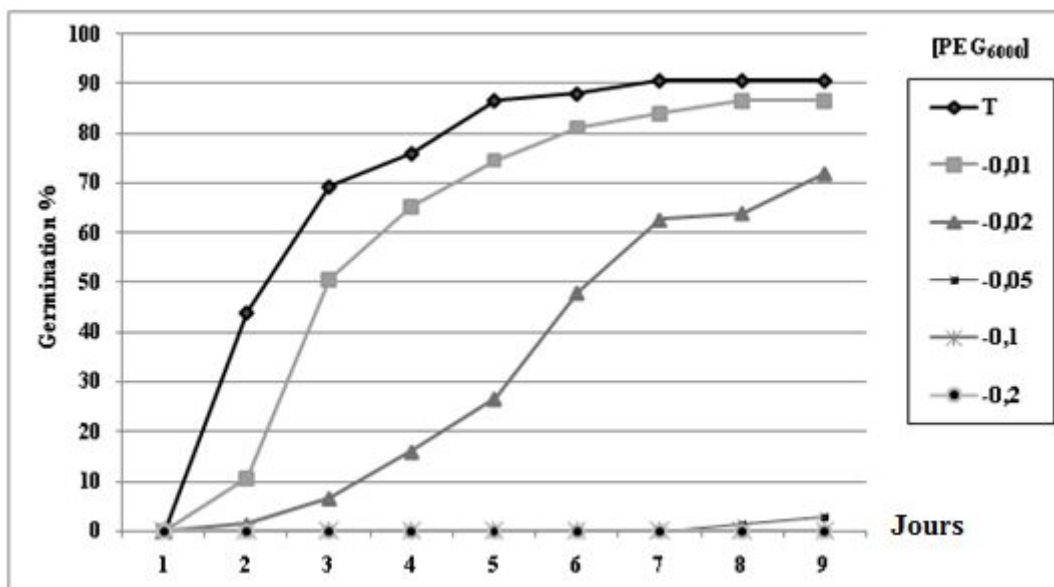
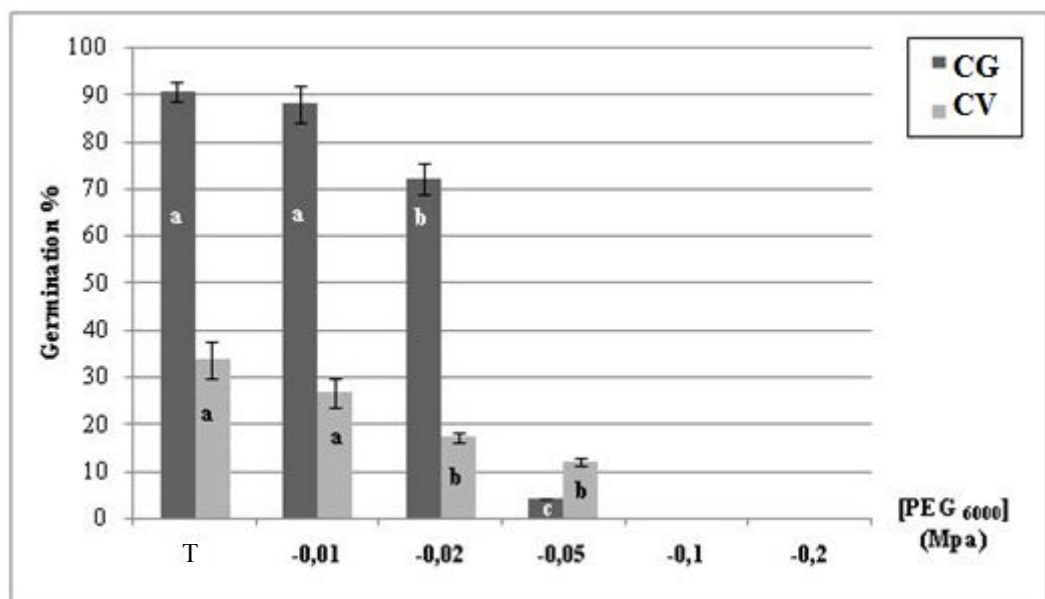


Figure 11: Effet des différentes concentrations de PEG<sub>6000</sub> sur la cinétique de germination

**II.2.2. Capacité de germination et coefficient de vélocité**

Les résultats de la figure 12 et du tableau 5 ont révélé que les graines testées peuvent maintenir leur capacité germinative aux pressions osmotiques de -0.01Mpa (86,67%), -0.02Mpa (72%) et -0.05Mpa (12,00%). Toutefois, cette capacité de germination reste significativement inférieure à celle des graines témoins (90,67%) ( $P < 0.05$  et  $P < 0.01$ ). La germination est inhibée à -0.1Mpa et -0.2 Mpa.

Il est aussi à signaler que les différents potentiels hydriques ont induit une réduction significative de la vitesse de germination des graines par rapport au témoin ( $P < 0.05$ ), pour s'annuler à -0.1Mpa et -0.2 Mpa.



**Figure 12:** Effet du stress hydrique sur la capacité de germination et le coefficient de la vélocité

\*les lettres différentes indiquent une différence significative entre les moyennes au seuil 5%.

**Tableau 5 :** Effet du stress hydrique sur les différents paramètres de germination

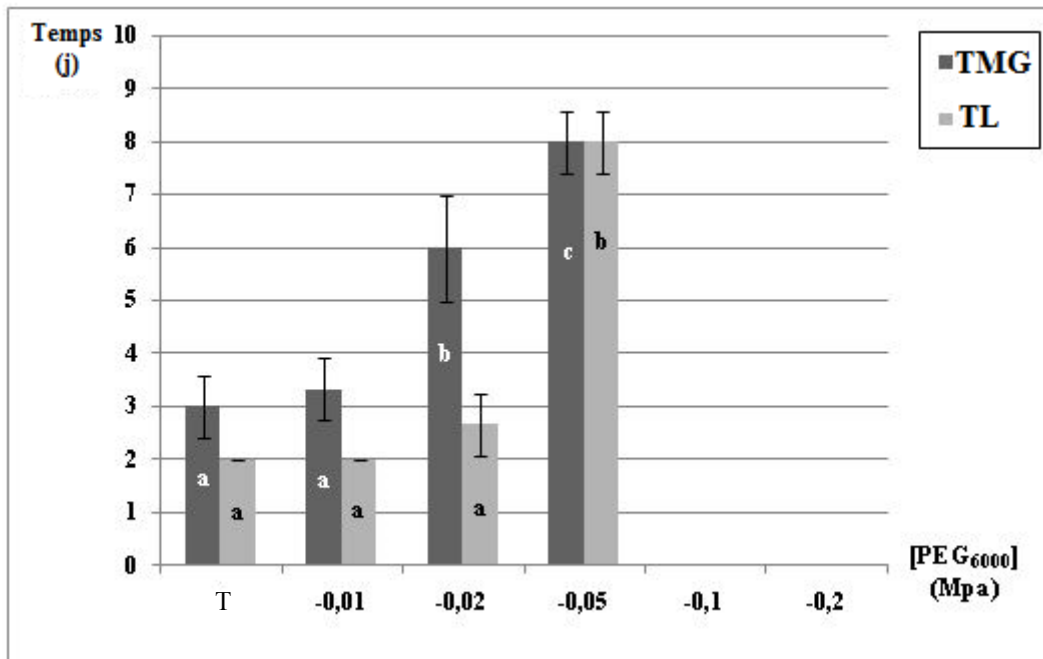
Source de variation	CG (%)	CV (%)	TMG (j)	TL (j)
<b>Probabilité</b>	$<0.01^{**}$	$<0.01^{**}$	$<0.01^{**}$	$<0.01^{**}$
<b>T</b>	90,67	33	3	2
<b>-0.01 Mpa</b>	86,67	28	4	2
<b>-0.02 Mpa</b>	72	17	6	3
<b>-0.05 Mpa</b>	12	15,33	7	3
<b>-0.1 Mpa</b>	0	0	0	0
<b>-0.2 Mpa</b>	0	0	0	0

\*, \*\* indiquent respectivement des différences à  $P \leq 0.05$  et  $P \leq 0.01$

CG : capacité de germination ; CV : coefficient de vélocité ; TMG : temps moyen de germination ; TL : temps de latence ; T : témoin

### II. 2.3. Temps moyen de germination et temps de latence

La figure 13 montre un allongement du temps moyen de germination et du temps de latence en fonction de l'intensité du stress hydrique, jusqu'à 7 jours à -0.05Mpa. La comparaison des résultats a indiqué une différence significative au seuil 5%.



**Figure 13:** Effet des différentes concentrations de PEG<sub>6000</sub> sur le temps moyen de germination et temps de latence

\*les différentes lettres indiquent une différence significative entre les moyennes au seuil 5%.

### III. Discussion

*M. arborea* constitue un potentiel végétal capital pour le maintien de l'équilibre de la région méditerranéenne. L'introduction de cette espèce dans un programme de réhabilitation offre une solution de développement durable dans de nombreux écosystèmes arides et semi-arides où elle peut agir comme une espèce fourragère stratégique supportant les ressources naturelles dans les systèmes de pâture des environnements arides (Travlos et Economou, 2006).

Le présent travail consiste à exploiter ce potentiel végétal en évaluant les réponses germinatives de ses graines en fonction de différentes conditions hydriques et salines.

Les résultats obtenus montrent que la germination des graines de *M. arborea* est particulièrement affectée par les concentrations élevées de NaCl, étant donné que les meilleurs taux de germination sont enregistrés chez les graines soumises à faibles concentrations (de 34 mM à 136 mM) comparativement au témoin. À partir de 102.6 mM, la capacité de germination diminue graduellement jusqu'à 204 mM, où elle est inhibée. De plus, l'augmentation de NaCl dans le milieu a aussi ralenti la vitesse de germination et a induit un allongement du temps moyen de germination et le temps de latence.

La concentration saline 204 mM constitue un seuil de tolérance pour les graines de *M. arborea* où la germination est maintenue jusqu'à cette concentration. Au-delà de cette concentration, elle est inhibée.

L'augmentation de la pression osmotique du milieu en présence de NaCl provoque un retard de l'imbibition des graines en limitant l'absorption d'eau nécessaire au déclenchement des processus métaboliques de germination, ce qui explique la diminution du taux de germination en présence de sel. En fait, il a été reporté par Slama (1992) et Botia *et al.*, (1998) que la salinité perturbe les systèmes enzymatiques impliqués dans les différentes fonctions physiologiques de la graine en germination tels que la diminution de l'activité de polyphénol oxydase et amylase.

Nos résultats rejoignent ceux obtenus par Guan *et al.* (2009) chez les graines de *Medicago ruthenica*, par de Chérifi *et al.* (2011) chez *M. polymorpha* et *M. ciliaris*, et par Lachhab *et al.* (2013) chez *M. sativa*, ainsi chez les graines de Jojoba (*Simmondsia chinensis*) (Berrichi *et al.*, 2010).

Lachiheb *et al.* (2004) ont noté que la concentration de 200 mM de NaCl (12g/l) constitue une limite physiologique (seuil de tolérance) de germination pour les espèces suivantes : *Ammophila arenaria*, *Corynephorus articulatus*, *Koeleria phleoides* et *Aeluropus litoralic*.

Selon Nedjimi *et al.* (2014), à des températures alternées (10-20°C, 15-25°C et 20-30°C), le seuil de tolérance à la salinité des graines de *M. arborea* est de 150 mM de NaCl; bien que,

dans nos tests, le seuil atteint 204 mM sous une température de germination continue de 20°C. Ces observations seront peut-être considérées comme un signe de l'existence d'une relation entre l'effet de la température et la réponse germinative de cette espèce à la salinité.

Les résultats de Bouda et Haddioui (2011) se rapprochent de ceux que nous avons notés, où ils indiquent une limite de tolérance de 170 mM de NaCl chez les graines d'*Atriplex halimus* (halophyte) avec une inhibition de germination à une forte concentration (255mM). Cela montre que les semences des glycophytes et des halophytes répondent d'une même manière comparable au stress salin, en réduisant le nombre total des graines germées et en induisant un retard de déclenchement du processus de la germination (Ismail, 1990).

Cependant, certaines espèces de la famille des *Fabaceae* sont nettement influencées par les faibles concentrations de NaCl qui semblent réduire respectivement la vitesse et la capacité de germination à partir de 51 mM of NaCl, c'est le cas des graines de *Glycine max* et *Phaseolus vulgaris* (Taffouo *et al.*, 2009) et de *Spartidium saharae* (Derbel et Chaieb, 2007).

Les réponses germinatives des graines à la contrainte saline doivent être interprétées avec prudence, car un taux élevé de germination sous l'effet de NaCl n'est pas inévitablement corrélé avec la tolérance à la salinité à des étapes de développement plus tardives (Almansouri *et al.*, 2001). Néanmoins elles sont révélatrices d'un potentiel génétique de tolérance des espèces et des variétés, au moins à ce stade physiologique de germination (Zid et Grignon, 1991 ; Levigneron *et al.*, 1995). Dans ce sens, Neffati (1994) signale que la connaissance de la tolérance de la salinité pendant la germination est une information utile mais non suffisante pour expliquer la distribution des espèces et leur développement dans les milieux salés.

Dans le but de compléter les connaissances qui se rapportent au comportement de notre espèce vis-à-vis de la salinité, un transfert a été effectué des graines traitées par de fortes concentrations de NaCl vers un milieu témoin pour préciser ou clarifier la nature de l'action du sel sur la germination. Dans ce contexte, les résultats obtenus montrent que les effets sont d'abord de nature osmotique, en raison de la reprise précoce de la germination une fois la contrainte saline est supprimée en notant des taux considérables car l'accès de l'eau aux graines permet de régler la pression osmotique et de maintenir un équilibre osmotique. Néanmoins, des phénomènes de toxicité se sont également manifestés en raison de la l'accumulation d'ions Na<sup>+</sup> et Cl<sup>-</sup>, puisque la capacité germinative diminue par rapport au témoin, même après avoir été transféré vers un milieu témoin.

Ces observations ont été démontrées dans les travaux de Hajlaoui (2007) chez *Cicer arietinum*, qui a noté que dans le cas où le sel a un effet osmotique sur la germination, l'absorption de l'eau par les graines est alors affectée et par la suite son accès aux embryons

est limité et lorsque le sel exerce un effet toxique, cela s'explique par une accumulation des ions dans l'embryon ce qui conduit à l'altération des processus métaboliques et dans le cas extrême, la mort de l'embryon.

Selon EL-Keblawy et Al-Shamsi (2008), la plupart des graines peuvent rester viables et maintiennent leur aptitude à germer lorsque la contrainte saline est levée.

La réversibilité de l'effet du sel a été démontrée chez plusieurs espèces du genre *Medicago* : *Medicago ruthenica* (Guan *et al.*, 2009), *Medicago sativa* (Dianati Tilaki *et al.*, 2009), *Medicago ciliaris* et *Medicago polymorpha* (Chérifi *et al.*, 2011).

Khan et Ungar (1984) ont signalé que la reprise de la germination n'est pas évidemment un critère de tolérance au sel, permettant de distinguer les halophytes des glycophytes. Dans ce sens, Neffati (1994) a noté que la connaissance de la tolérance à la salinité pendant la germination est une information utile mais insuffisante pour expliquer la distribution des espèces et leur développement dans les environnements salés.

Nos résultats montrent également que la germination des graines de *M. arborea* est significativement affectée par le stress hydrique. En effet le taux de germination diminue considérablement avec l'augmentation de la pression osmotique induite par le PEG.

Effectivement, le PEG est une molécule de grand poids moléculaire, relativement stable, inerte, très soluble dans l'eau et non toxique même à des fortes concentrations. Il est utilisé comme agent osmotique (osmoticum) diminuant le potentiel hydrique afin de simuler l'effet du stress hydrique sur les plantes de la même manière que la dessiccation du sol (Whalley *et al.*, 1998 ; Ranjbarfordoei *et al.*, 2000).

La valeur limite de la pression osmotique, pour laquelle la germination des graines devient sensible se situe à -0,05Mpa, puis s'annule sous un stress sévère (-0,1 et -0,2 MPa). Cela explique que la capacité de maintenir un potentiel hydrique élevé est considérée comme un mécanisme permettant à la plante d'esquiver la déshydratation (Levitt, 1980).

Des corrélations similaires ont été mises en évidence par Jaouadi *et al.* (2010) sur les graines d'*Acacia tortilis*.

Le stress hydrique peut réduire le taux de germination en limitant l'absorption d'eau par les graines (Dodd et Donovan, 1999) et en affectant la mobilisation des réserves (Lin et Kao, 1995), ou directement en affectant la structure et la synthèse des protéines dans l'embryon (Ramagopal, 1990).

Selon Lapeyronie (1982), la luzerne arborescente s'accommode bien aux sécheresses périodiques, et elle est adaptée à tous les types de sols qui ne sont pas trop humides.

Dans d'autres travaux, il a été montré aussi que le stress hydrique engendre une réduction du taux de germination. C'est le cas de quelques espèces du genre *Acacia* (*A. salicina*, *A. pendula*, *A. cyanophylla*, *A. floribunda*, *A. tortilis* et *A. raddiana*) (Jaouadi *et al.*, 2009).

Par contre, une bonne aptitude à germer a été décrite chez d'autres *Fabaceae* dans des conditions sévères de déficit hydrique; c'est le cas de six cultivars de *Medicago sativa* L. (Hamidi et Safarnejad, 2010), d'*Eremosparton songoricum* (Litv.) Vass., une espèce endémique du désert chinois (Li *et al.*, 2013) et de *Spartidium saharae* (Derbel et Chaieb, 2007).

Les résultats obtenus ont mis en évidence que *M. arborea* est moyennement exigeante en eau au stade de germination, bien que cela ne signifie pas que les espèces tolérantes au stress hydrique lors de la germination sont nécessairement adapté à la sécheresse au stade adulte (Claworthy, 1984).

De ce fait, et afin d'expliquer l'adaptation de cette espèce à la sécheresse, il est important d'étudier en détail les effets du stress hydrique sur les autres stades de développement qui succèdent la germination.

---

## Conclusion

L'objectif de ce chapitre a consisté à évaluer l'effet du stress salin et hydrique sur le comportement germinatif des graines de *Medicago arborea* et leur viabilité.

À la lumière des résultats obtenus, il ressort que les graines de *M. arborea* peuvent maintenir leur aptitude à germer jusqu'à une concentration de 204 mM de NaCl.

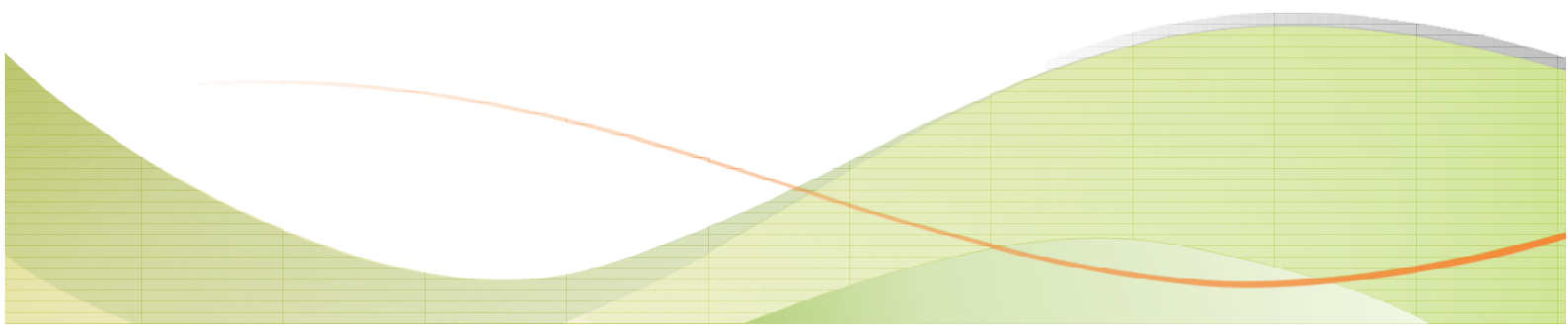
La reprise de la germination après suppression de la contrainte saline montre que le NaCl exerce une inhibition temporaire de nature osmotique qui s'élimine avec la levée de cette contrainte. À cet effet, les graines de la luzerne arborescente peuvent être classifiées comme modérément à moyennement tolérantes à la salinité pendant la germination.

En outre, l'effet du stress hydrique a révélé que les graines de *M. arborea* sont moyennement tolérantes au stress hydrique en maintenant leur aptitude à germer jusqu'à une pression osmotique de -0.05Mpa.

Les données que nous avons obtenues permettront de comprendre davantage les mécanismes de régénération de l'espèce et de faire le point sur les connaissances de la viabilité des graines de *M. arborea*. Elles serviront certainement dans le cadre de la conservation de l'espèce étudiée et dans la production *in-situ* des plants pour la réhabilitation des zones arides.

Afin compléter ce travail, nous envisageons d'étudier le comportement de notre espèce "*in situ*" et élucider ses réponses à l'égard de ces deux contraintes aux stades ultérieurs de son cycle de développement pour pouvoir se prononcer efficacement sur les possibilités de l'utilisation de cette ressource naturelle dans les projets de restauration et de conservation des parcours steppiques dégradés en Algérie.

***Chapitre II***  
***Caractérisation de la***  
***croissance sous stress***



### **Effet du stress hydrique et salin sur les caractères morpho-physiologiques et biochimiques de *M. arborea* au cours des premiers stades de croissance**

Dans ce chapitre, nous avons évalué les réponses de cette espèce sous conditions hydriques et salines contraignantes au cours des premiers stades de la croissance. La présente étude va permettre de comprendre davantage le comportement de cette espèce vis-à-vis du stress ainsi que son seuil de tolérance au stress hydrique et salin des points de vue morphologique, biochimique et hydrique.

#### **I. Matériels et méthodes**

##### **I.1. Matériel végétal**

Les graines de *M. arborea* ont été utilisées pour la culture des plantules nécessaires pour les différentes expérimentations.

##### **I.2. Méthodes d'étude**

###### **I.2.1. Lieu du déroulement des expérimentations**

Des essais de germination ont été réalisés au niveau du laboratoire de recherche de biodiversité végétale : conservation et valorisation (Université Djillali Liabès, Sidi Bel Abbès), pour obtenir les plantules destinées aux expérimentations. La culture des plantules a été menée par la suite dans la serre de la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'Université Djilali Liabès, sous une photopériode de 16h jour /8h nuit, une humidité de 70-80%, des températures diurnes et nocturnes de 25/15°C ( $\pm 3^\circ\text{C}$ ). Les températures sont maintenues par une climatisation artificielle.

###### **I.2.2. Préparation du substrat**

Le substrat utilisé dans la culture est composé d'un mélange de sable et de terreau commercial, présentant l'avantage de se comporter comme un élément neutre par rapport à la terre. Le sable utilisé est récupéré de la région de Sfizef (Wilaya de Sidi Bel Abbès) ayant subi les préparations suivantes :

- plusieurs tamisages afin d'éliminer toute impureté et obtenir un sable fin ;
- lavage à l'eau courante pour dissoudre les sels ;
- rinçage répété à l'eau déminéralisée ;
- séchage naturel du sable à l'air libre, sur une couche de papier journal.

Ainsi préparé, le sable constitue un support inerte à la plante, aère les racines et présente l'avantage de ne pas fixer les ions (Demolon, 1968).

### I.2.3. Rempotage

Nous avons utilisé des pots en plastiques de 9cm de diamètre et 15cm de hauteur, perforés à leur base, tapissé d'une couche mince de gravier pour permettre l'évacuation de l'eau en excès d'ou le drainage, puis remplis d'un mélange de sable et terreau commercial à des proportions respectives (2Volume/1Volume) (Belkhodja *et al.*, 2010).

Nous avons déterminé la capacité au champ de 350g de substrat, qui est de l'ordre de 33ml. Cette caractéristique hydrique est nécessaire pour le calcul de la quantité de solution nutritive à apporter lors de l'arrosage.

### I.2.4. Mise en culture

#### I.2.4.1. Germination des graines

Les graines saines ont été sélectionnées, désinfectées à l'hypochlorite de sodium (5%) puis disposées dans des boîtes de pétri en verre de 19 cm de diamètre sur deux couches de papier filtre, dans une étuve de type Memmert à une température optimale 20°C (Aissat, 2014). Les graines sont imbibées quotidiennement par l'eau distillée.

#### I.2.4.2. Repiquage des plantules

Après dix jours de germination, des plantules portant deux feuilles cotylédonaires sont repiquées soigneusement et mises en pots à raison de deux par pot à une profondeur de 2cm, immédiatement arrosées avec de l'eau distillée pour permettre un bon contact sol-plantules.

L'expérimentation est réalisée sur 100 plants répartis sur deux traitements de stress, contenant chacun cinq lots à raison de 10 répétitions par lot.

#### I.2.4.3. L'arrosage des plantules

L'arrosage est effectué trois fois par semaine à l'eau distillée substituée une fois par une solution nutritive équilibrée de Hoagland (1938) diluée au 1/1000ème pendant deux mois (**tab. 3**). Cet apport est conçu pour éviter l'épuisement des éléments nutritifs et l'accumulation de sels dans le substrat de culture par évaporation de l'eau.

**Tableau 6** : Composition minérale de la solution nutritive de Hoagland (1938)

Composants	Poids en g/l
<b>Macroéléments</b>	
Nitrate de potassium (KNO <sub>3</sub> )	191.9
Nitrate de calcium(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> Ca <sub>4</sub> H <sub>2</sub> O	129.8
Nitrate d'ammonium (NO <sub>3</sub> NH <sub>4</sub> )	210
Sulfate de magnesium (SO <sub>4</sub> Mg <sub>7</sub> H <sub>2</sub> O)	61.5
Phosphate monopotassique (PO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> K)	54.43
Hydrogénophosphate dipotassium (PO <sub>4</sub> K <sub>2</sub> H <sub>3</sub> H <sub>2</sub> O)	4.23

<b>Oligoéléments</b>	
Chlorure de manganèse ( $\text{Cl}_2 \text{ Mn } 4\text{H}_2\text{O}$ ) Sulfate de	1.80
civre ( $\text{Cu SO}_4 5\text{H}_2\text{O}$ )	0.176
Sulfate de zinc ( $\text{Zn SO}_4 7\text{H}_2\text{O}$ )	0.219
Acide borique ( $\text{H}_3 \text{ BO}_3$ )	2.861
Molybdate d'ammonium ( $\text{MO}_7 \text{ O}_{24} (\text{NH}_4) 7\text{H}_2\text{O}$ )	0.285
Complexe ferrique EDTA ( $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{FeN}_2\text{NaO}_8$ )	0.05

### I.2.5. Application du stress

Après deux mois de croissance, les plantules ont été soumises à deux types de stress : stress salin et stress hydrique, effectués séparément durant un mois.

#### ➤ Le stress salin

Les plantules sont alimentées par des solutions salines à base de solution Hoagland et de NaCl et de  $\text{CaCl}_2$  à différentes concentrations : 50, 100, 150, 200 meq/L (**tab. 7**).

En effet, l'utilisation de ces deux sels combinés a pour but de produire un milieu salin (Lesaos, 1978) car la solution avec seulement du NaCl est plutôt sodique (Hoffman *et al.*, 1989 ; Belkhodja, 1996).

Les plantules stressées sont alimentées avec la même fréquence d'arrosage, irriguées trois fois par semaine par les solutions salines, substituée une fois par la solution Hoagland jusqu'à la fin de l'expérimentation.

Les plantules du lot témoin sont irriguées par l'eau distillée substituée une fois sur trois par la solution nutritive.

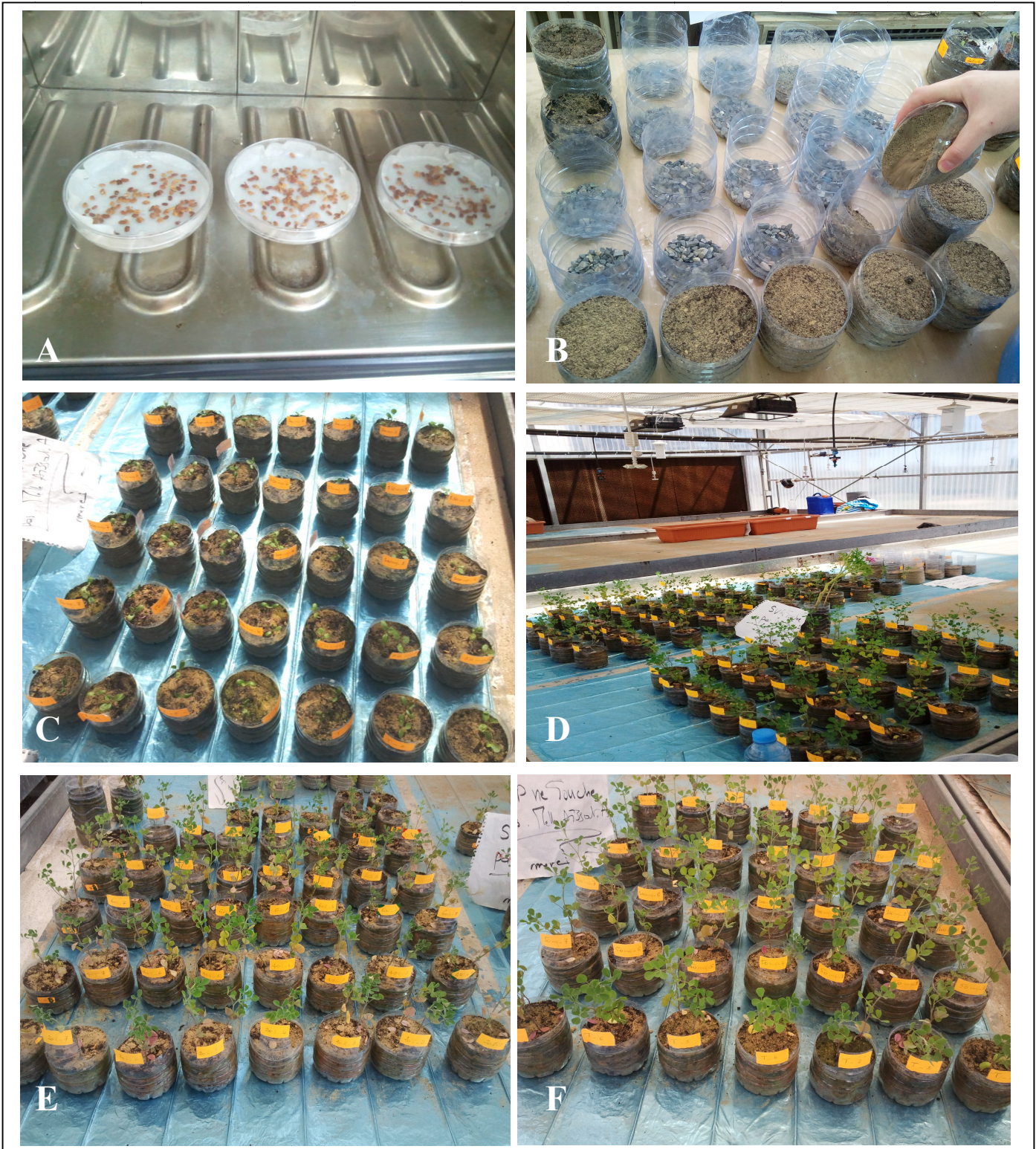
**Tableau 7** : Composition des solutions salines utilisées à base de NaCl+ $\text{CaCl}_2$

	<b>Témoin</b>	<b>50meq.l<sup>-1</sup></b>	<b>100meq.l<sup>-1</sup></b>	<b>150meq.l<sup>-1</sup></b>	<b>200meq.l<sup>-1</sup></b>
<b>NaCl g. l<sup>-1</sup></b>	0	2.92	5,84	8,76	11.68
<b>CaCl<sub>2</sub> g. l<sup>-1</sup></b>	0	2.77	5,54	8,31	11.08

#### ➤ Le stress hydrique

Les plantules stressées sont arrosées par quatre régimes hydriques, respectivement : 80%, 60%, 40%, 20% de la capacité au champ. Les plantes du lot témoin reçoivent 100% de la capacité au champ.

Planche II : Mise en culture de plantules de *M. arborea* (Cliché Aissat 2015)



**Figure A** : Mise en germination des graines à l'étuve à 20°C

**Figure B** : Remplissage des pots de substrat

**Figure C** : Plantules de *M. arborea* repiquées en pots âgées de 7 jours

**Figure D** : Dispositif expérimental : culture sous serre

**Figure E** : Plantules de *M. arborea* soumises au stress salin âgées de 90 jours

**Figure F** : Plantules de *M. arborea* soumises au stress salin âgées de 90 jours

### I.2.6. Paramètres évalués

Les paramètres morphométriques ont été mesurés sur les plantules mises en culture et durant toute la période de l'expérimentation.

À la fin des expérimentations, les plantules ont été déterrées. Les différents organes (feuilles, tiges, racines) sont soigneusement séparées, les racines ont été rincées à l'eau de robinet puis séchées rapidement à l'aide du papier filtre. A l'état frais, chaque organe est pesé puis enveloppé au papier aluminium numéroté et séché à l'étuve à 80°C pendant 48h. Ensuite, les échantillons séchés sont pesés. Des analyses physiologiques ont été effectuées à partir de la matière végétale (fraîche et sèche) ainsi récoltée.

#### I.2.6.1. Paramètres morphométriques

Les paramètres morphométriques mesurés sont :

➤ **la longueur de la tige** : ce paramètre est évalué une fois par semaine et ce depuis le repiquage des plants, à l'aide d'une règle graduée.

➤ **la vitesse de croissance** : la vitesse de croissance moyenne ( $V_m$ ) s'exprime par la formule suivante

$$V_m = \Delta L / \Delta t$$

où :  $\Delta L$  est la différence entre deux longueurs successives des tiges ;

$\Delta t$  est l'intervalle du temps entre deux mesures successives ;

➤ **Le nombre moyen des feuilles**, en comptant le nombre final des feuilles par pied.

➤ **La surface foliaire moyenne** ( $cm^2$ ), est estimée par la méthode de Paul *et al.* (1979) : en plaçant une feuille sur du papier calque, puis découper ses contours et peser la partie du calque représentant le poids de la feuille ( $P_f$ ). Déterminer par pesée le poids ( $P_q$ ) correspondant à une surface ( $S_q$ ) connue d'un carré du même papier calque. Déduire la surface de la feuille  $SF$  par la formule suivante :

$$SF (cm^2) = (P_f \times S_q) / P_q$$

➤ **Le nombre des entre-nœuds par tige** ; en comptant le nombre total des entre-nœuds sur la tige principale.

➤ **La longueur de l'axe racinaire principal**, déterminée à l'aide d'une règle graduée.

#### I.2.6.2. Paramètres physiologiques

➤ **La détermination des biomasses fraîches/sèches aérienne et racinaire** ; la biomasse fraîche est récupérée par section des plantes au niveau du collet, en pesant la partie aérienne et

racinaire séparément à l'état frais, puis la biomasse sèche est déterminée en pesant l'échantillon sec après passage à l'étuve à 80°C pendant 48 heures.

➤ **Rapport de biomasse (Ratio)**; c'est le rapport du poids sec racinaire sur le poids sec aérien PSR/PSA.

➤ **La teneur relative en eau (TRE)**, ce paramètre permet le suivi de l'évolution de l'état hydrique de la plante. Il est mesuré selon la méthode de Barrs et Weatherley (1962), sur une feuille bien développée, excisée à sa base et immédiatement pesée pour déterminer le poids frais (Pf), ensuite placée dans un tube à essai contenant de l'eau distillée et placé à l'obscurité pendant 24 heures. La pesée de la feuille après réhydratation donne un poids de réhydratation (Pr). Le poids sec (Ps) est déterminé après passage des échantillons dans l'étuve à 80°C pendant 48 heures. La TRE est calculée à partir de l'équation suivante:

$$\text{TRE (\%)} = (\text{Pf-Ps}) / (\text{Pr-Ps}) \times 100$$

➤ **Dosage de la chlorophylle et des caroténoïdes.** Les teneurs en chlorophylle a, b et caroténoïdes sont déterminées selon la méthode utilisée par Shabala *et al.* (1998). Un échantillon frais de 100mg de l'avant dernière feuille est mis dans un tube à essai en présence de 10ml d'acétone à 95% à 4°C dans l'obscurité pendant 48heures, puis on procède à la lecture des densités optiques des solutions avec un spectrophotomètre (UV. JENWAY. Vis 6700), à deux longueurs d'ondes 645, 663 et 470 nm. Le calcul des quantités des pigments chlorophylliens (mg/ml) se fait à l'aide des formules suivantes :

$$\text{Chl a} = 9,78 \text{ DO663} - 0,99 \text{ DO645};$$

$$\text{Chl b} = 21,42 \text{ DO645} - 4,65 \text{ DO663}$$

$$\text{Chlorophylle totale} = \text{Chl a} + \text{Chl b}$$

$$\text{Caroténoïdes} = [1000. \text{DO}(470) - 1,90. \text{Chl.a} - 63,14. \text{Chl.b}] / 214$$

### I.2.6.3. Paramètres biochimiques

➤ **Le dosage de la proline** est fait par la technique de Bergman et Loxley (1970). Le principe est la quantification de la réaction proline-ninhydrine par mesure spectrophotométrique. La proline se couple avec la ninhydrine en formant un complexe coloré. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de proline dans l'échantillon.

- **Extraction**

Elle consiste à broyer 100 mg de matériel végétal dans un mortier, dans 5 ml d'éthanol à 95% suivi de trois rinçages et lavages avec 5 ml d'éthanol à 70%. La solution finale est recueillie

dans un tube à essai puis laissée reposer pendant une heure. Ensuite, 5 ml des surnageants est récupéré auquel sont ajoutés 2 ml de chloroforme et 3 ml d'eau distillée. Après agitation, la solution est maintenue au repos pendant 24 heures au froid (0°C) pour une bonne décantation. Deux phases se distinguent : une phase supérieure incolore, contenant des acides aminés. Une phase inférieure jaune verdâtre ou marron.

- **Le dosage**

Dans un tube à essai, 1 ml de la partie de la phase supérieure d'extrait est recueilli, auquel sont ajoutés 2 ml de chlorure de sodium à une concentration 5M et 5 ml d'eau distillée, puis le tout est mis sous agitation. 2 ml de cette solution est prélevée dans un autre tube à essai auxquels sont ajoutés 2ml de solution tampon (à pH=3, composée de NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>O (phosphate monosodique) à la concentration 3,88 M et H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (acide orthophosphorique) à la concentration 5,32 M) et 4 ml de ninhydrine (0, 125g de ninhydrine dans 2 ml de H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> de concentration 6 M dans 3 ml d'acide acétique glacial).

Après agitation et chauffage au bain marie à 100°C pendant 60 min, les tubes à essai sont laissés à la température ambiante pour refroidir durant 30 mn à l'obscurité (**fig. 14**).

À la fin, la lecture de l'absorbance des échantillons est faite avec un spectrophotomètre (UV-JENWAY. Vis 6700) à une longueur d'onde de 528 nm.

Les résultats sont exprimés en  $\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$  de matière végétale sèche en référence à une courbe étalon obtenue à partir de solutions pures de proline à concentrations croissantes préparées dans les mêmes conditions que les solutions à doser (0-100  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ).



**Figure 14** : Dosage de la proline chez *M. arborea* (cas de stress salin)

➤ **Le dosage des sucres solubles totaux**, déterminé par la technique de Shields et Burnet (1960) améliorée par Lewicki (1993). Les oses (glucose, fructose et saccharose) sont extraits par un solvant capable de les solubiliser et bloquer les activités enzymatiques susceptible de les dégager.

- **Extraction**

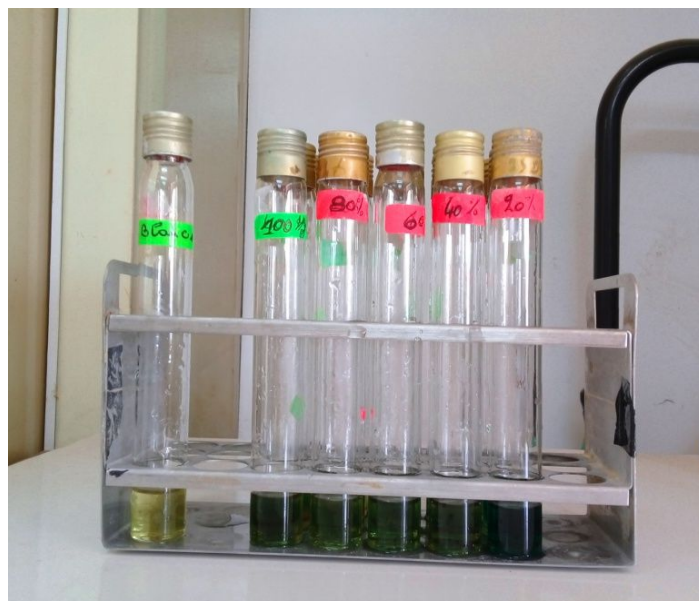
100mg de matériel végétal est broyé dans 5.25 ml d'éthanol à 80% puis laissé décanter pendant 24 heures à l'obscurité et à une température ambiante. Préalablement, l'extrait obtenu est dilué 10 fois avec l'éthanol 80% (l'extrait A).

- **Dosage**

On prélève 2ml de l'extrait A et on ajoute 4 ml de réactif B préparé à partir de 2 g d'anthrone pure additionnés à 11 d'acide sulfurique ( $H_2SO_4$ ). Le mélange est maintenu dans la glace fondante pendant 5 min. Ensuite, les tubes sont placés au bain marie à 92 °C pendant 8mn, puis sont refroidis pendant 30mn à l'obscurité.

L'absorbance est lue par un spectrophotomètre (UV- JENWAY. Vis 6700) à une longueur d'onde de 585 nm.

Enfin, les résultats des concentrations en sucres solubles sont déduits à partir d'une courbe étalon de solutions de glucose à différentes concentrations ( $0-100 \mu g.ml^{-1}$ ) exprimés en  $\mu g.mg^{-1}$  de matière végétale (**fig. 15**).



**Figure 15** : Dosage des sucres solubles chez *M. arborea* (cas du stress hydrique)

### **I.2.7. Analyses statistiques**

Les résultats relatifs aux paramètres morphologiques, physiologiques et biochimiques sont présentés sous forme d'histogrammes et de courbes.

L'analyse des données a été réalisée à l'aide du logiciel SAS/STAT, toutes les données ont été soumises à une analyse de variance (ANOVA I) en considérant un plan complètement randomisé. Les moyennes des traitements expérimentaux ont été comparées à l'aide du test post-hoc de Student Newman Keuls (SNK) à  $P = 0,05$ .

### II. Résultats

#### II.1. Effet de la salinité et du stress hydrique sur les paramètres biométriques

Les résultats relatifs aux différents caractères morphologiques des plantules de *M. arborea* soumises au stress salin et hydrique sont rapportés dans les tableaux 8 et 9.

**Tableau 8 :** Effet du stress salin sur les paramètres morphologiques des plantules de *M. arborea*

Source de variation	LR	NFF	NFT	VM	SF	LFT	NEN
<b>Probabilité</b>	2.29 <sup>NS</sup>	0.57 <sup>NS</sup>	0.93 <sup>NS</sup>	0,77 <sup>NS</sup>	4.01 <sup>HS</sup>	0.52 <sup>NS</sup>	0,72 <sup>NS</sup>
<b>T</b>	8,38	12	1	0,155	1,69	14,85	8,40
<b>50 meql<sup>-1</sup></b>	6,93	11	1	0,152	1,55	14,51	8,20
<b>100 meql<sup>-1</sup></b>	6,45	11	1	0,147	1,51	14,37	8,20
<b>150 meql<sup>-1</sup></b>	6,40	10	2	0,140	1,46	13,48	7,70
<b>200 meql<sup>-1</sup></b>	6,26	9	2	0,140	1,26	13,22	7,60

**Tableau 9 :** Effet du stress hydrique sur les paramètres morphologiques des plantules de *M. arborea*

Source de variation	LR	NFF	NFT	VM	SF	LFT	NEN
<b>Probabilité</b>	3.44 <sup>S</sup>	0.39 <sup>NS</sup>	1.11 <sup>NS</sup>	0,108 <sup>NS</sup>	5.01 <sup>HS</sup>	1.67 <sup>NS</sup>	0,61 <sup>NS</sup>
<b>100%</b>	9,36	10	1	0,138	1.740	13,15	7,60
<b>80%</b>	9,18	10	2	0,134	1.653	12,85	7,50
<b>60%</b>	9,09	9	2	0,128	1.532	11,67	7,00
<b>40%</b>	8,19	9	2	0,109	1.514	10,6	6,90
<b>20%</b>	7,25	9	3	0,106	1.316	10,56	6,60

**HS :** hautement significatif ; **NS :** Non significatif ; \*, \*\* : Significative respectivement au seuil de 5% et 1% ; les moyennes suivies des mêmes lettres ne sont pas significativement différentes selon le test SNK (P=0.05)

**LR :** longueur de la racine principale ; **VR :** volume racinaire ; **NFF :** nombre final des feuilles formées ; **NFT :** nombre final des feuilles tombées ; **VM :** vitesse moyenne de

croissance ; **SF** : surface foliaire ; **LFT** : longueur finale de la tige ; **NEN** : nombre des entre-nœuds

### II.1.1. Longueur finale de la tige

Les données des tableaux 8 et 9 montrent une faible réduction des longueurs des tiges des plantules en fonction des différentes concentrations salines et régimes hydriques, respectivement de 10,98% et 19,69% comparativement par rapport au témoin. Cependant cette réduction n'a pas été confirmée au seuil de 5%.

### II.1.2. Vitesse moyenne de la croissance

A partir des résultats obtenus (**tab. 8**), une légère diminution est enregistrée de la vitesse moyenne de la croissance des plantules sous l'action de stress, en notant des valeurs comparables entre les différentes concentrations salines et hydriques par rapport au témoin ( $P > 0,05$ ).

### II.1.3. Nombre des entre-nœuds

Sous des concentrations salines croissantes, les plantules présentent un nombre moyen d'entre-nœuds comparable à celui du témoin (**tab. 8-9**), également sous des régimes hydriques décroissants ( $P > 0,05$ )

### II.1.4. Longueur de l'axe racinaire

De manière générale, les longueurs moyennes des racines des plantules diminuent légèrement quand la concentration saline augmente (tableau1) ( $P > 0,05$ ). Tandis que cette diminution est significative ( $P < 0,05$ ) lorsque les plantules sont soumises à un stress hydrique grandissant avec un taux de diminution de 22,54% au régime le plus faible 20% (**tab. 9**).

### II.1.5. Nombre final de feuilles formées et tombées (fanées)

Pour l'ensemble des traitements salins et hydriques, nous n'avons pas apprécié une différence remarquable du nombre final des feuilles formées par plantule par rapport au témoin ( $P > 0,05$ ). Hormis, à un stress salin sévère de 200 meq.l<sup>-1</sup> de NaCl+CaCl<sup>2</sup>, la différence est de 25%.

En outre, le nombre de feuilles tombées par plantule n'a pas été affecté par le stress salin et hydrique ( $P > 0,05$ ) (**tab. 8-9**).

### II.1.6. Surface foliaire

L'analyse de la variance indique une différence hautement significative entre les plantes stressées aux différents traitements salins et hydrique par rapport au témoin, et qui correspond à une réduction nette de la surface foliaire moyenne des plantes avec des taux de réduction moyen de 14,49% et 11,75% respectivement sous stress salin et hydrique (**tab. 8, 9**).

## Chapitre II : Caractérisation de la croissance sous stress

### II.2. Effet de la salinité et du stress hydrique sur les paramètres physiologiques

Les tableaux 10 et 11 présentent les moyennes des différents paramètres physiologiques des plantules de *M. arborea* évalués sous l'effet du stress salin et hydrique.

**Tableau 10** : Effet du stress salin sur les paramètres physiologiques des plantules de *M. arborea*

Source de variation	BFA (gplant <sup>-1</sup> )	BSA (gplant <sup>-1</sup> )	BFR (gplant <sup>-1</sup> )	BSR (gplant <sup>-1</sup> )	Ratio	TRE (%)
<b>Probabilité</b>	0.21 <sup>NS</sup>	0.70 <sup>NS</sup>	0.01*	0.47 <sup>NS</sup>	0.20 <sup>NS</sup>	0.10 <sup>NS</sup>
<b>T</b>	0.943	0.272	0.481 a	0.083	0.306	84.79
<b>50 meql<sup>-1</sup></b>	0.868	0.268	0.418 ab	0.076	0.294	78.44
<b>100 meql<sup>-1</sup></b>	0.851	0.249	0.387 ab	0.081	0.368	75.78
<b>150 meql<sup>-1</sup></b>	0.720	0.258	0.358 ab	0.081	0.358	74.41
<b>200 meql<sup>-1</sup></b>	0.705	0.223	0.303 b	0.066	0.302	72.93

**Tableau 11** : Effet du stress hydrique sur les paramètres physiologiques des plantules de *M. arborea*

Source de variation	BFA (gplant <sup>-1</sup> )	BSA (gplant <sup>-1</sup> )	BFR (gplant <sup>-1</sup> )	BSR (gplant <sup>-1</sup> )	Ratio	TRE (%)
<b>Probabilité</b>	0.008**	0.23 <sup>NS</sup>	0.0001**	0.004**	0.79 <sup>NS</sup>	0.0001**
<b>100%</b>	0.556 a	0.205	0.417 a	0.117 a	0.586	89.83 a
<b>80%</b>	0.505 a	0.200	0.388 a	0.100 ab	0.556	86.31 a
<b>60%</b>	0.504 a	0.167	0.354 a	0.080 b	0.499	78.83 a
<b>40%</b>	0.442 a	0.147	0.325 a	0.064 b	0.549	72.18 a
<b>20%</b>	0.238 b	0.147	0.109 b	0.064 b	0.717	43.11 b

**HS** : hautement significatif ; **NS** : Non significatif ; \*, \*\* : Significative respectivement au seuil de 5% et 1% ; les moyennes suivies des mêmes lettres ne sont pas significativement différentes selon le test **SNK** (P=0.05)

**BFA** : biomasse fraîche aérienne ; **BSA** : biomasse sèche aérienne ; **BFR** : biomasse fraîche racinaire ; **BSR** : biomasse sèche racinaire ; **Ratio** : rapport de biomasse sèche racinaire et biomasse sèche aérienne ; **TRE** : teneur relative en eau ; **g plant<sup>-1</sup>** : gramme par plante.

### II.2.1. Teneur relative en eau

Les résultats obtenus montrent que les différentes modalités de stress salin ont réduit la teneur relative en eau moyenne des plantes par rapport au témoin (**tab. 10**) ; cependant cela n'a pas été confirmé statistiquement. Alors que les plantes irriguées aux différents régimes hydriques ont révélé une différence significative (**tab. 11**). Il est à noter que les plantes stressées ont maintenu un bon état hydrique ( $TRE > 70\%$ ) dont les valeurs s'étendent respectivement de 78,44-72,93% à 50-200meq $l^{-1}$  et 86,30-72,18% à 80-40% CC. Toutefois, un stress hydrique sévère de 20% CC réduit la teneur relative en eau de 47%.

### II.2.2. Biomasse fraîches/sèches aérienne et racinaire (BFA, BSA, BFR, BSR).

Les résultats relatifs aux biomasses fraîches et sèches de la partie aérienne (feuilles et tiges) et racinaire sous les différents niveaux de stress salin et hydrique sont représentés dans les tableaux 10 et 11.

Nous avons remarqué sur l'ensemble des paramètres qu'il n'y a pas de différence importante de la production de biomasses entre les concentrations de NaCl+CaCl $^2$  testées par rapport au témoin ( $P > 0,05$ ) sauf pour la biomasse fraîche des racines qui diminue graduellement en augmentant la concentration saline, avec une réduction de 37% à 200 meq/l ( $P < 0,05$ ).

Les différents régimes hydriques agissent significativement sur la production de biomasses de la partie aérienne et racinaire par une diminution importante comparativement au témoin à l'exception de la biomasse sèche des racines qui montre des valeurs comparables.

### II.2.3. Ratio

L'étude du rapport biomasse sèche souterraine/aérienne est nécessaire pour analyser les relations entre la croissance de ces deux parties et pour déterminer laquelle des deux est plus sensible au stress. Ce rapport présente une caractéristique fortement discutée.

Chez l'ensemble des plantes étudiées, le ratio est inférieur à l'unité, c'est-à-dire que la croissance pondérale de la partie aérienne est plus importante que celle de la partie souterraine (**tab. 10-11**). Nous avons noté des fluctuations de la valeur moyenne du ratio, avec des valeurs maximales respectivement de 0,368 et 0,717 à 100meq $l^{-1}$  et 20% CC, néanmoins l'effet du stress salin et hydrique sur ce rapport en comparaison avec le témoin reste faible ( $P > 0,05$ ). Ceci permet de déduire que la production de biomasse des différents organes est peu dépendante de la présence de NaCl.

## Chapitre II : Caractérisation de la croissance sous stress

### II.3. Effet de la salinité et du stress hydrique sur les paramètres biochimiques

Les résultats se rapportant à l'effet du stress salin et hydrique sur les paramètres biochimiques sont consignés dans les tableaux 12 et 13.

**Tableau 12** : Effet du stress salin sur les paramètres biochimiques des plantules de *M. arborea*

Source de variation	Chl-a ( $\mu\text{gmg}^{-1}$ )	Chl-b ( $\mu\text{gmg}^{-1}$ )	Cards ( $\mu\text{gmg}^{-1}$ )	Pr ( $\mu\text{gmg}^{-1}$ )	SST ( $\mu\text{gmg}^{-1}$ )
<b>Probabilité</b>	0.21 <sup>NS</sup>	0.15 <sup>NS</sup>	0.96 <sup>NS</sup>	0.0001 <sup>**</sup>	0.0001 <sup>**</sup>
<b>T</b>	1.98	1.41	0.85	4.843 d	584.33 e
<b>50 meql<sup>-1</sup></b>	2.51	1.85	1.07	6.510 c	752.67 d
<b>100 meql<sup>-1</sup></b>	2.25	1.65	0.94	8.683 b	851.67 c
<b>150 meql<sup>-1</sup></b>	1.96	1.31	0.93	9.530 b	922.63 b
<b>200 meql<sup>-1</sup></b>	1.17	0.78	0.93	11.137 a	1046.88 a

**Tableau 13** : Effet du stress hydrique sur les paramètres biochimiques des plantules de *M. arborea*

Source de variation	Chl-a ( $\mu\text{gmg}^{-1}$ )	Chl-b ( $\mu\text{gmg}^{-1}$ )	Cards ( $\mu\text{gmg}^{-1}$ )	Pr ( $\mu\text{gmg}^{-1}$ )	SST ( $\mu\text{gmg}^{-1}$ )
<b>Probabilité</b>	0.65 <sup>NS</sup>	0.67 <sup>NS</sup>	0.09 <sup>NS</sup>	0.0001 <sup>**</sup>	0.0001 <sup>**</sup>
<b>100%</b>	1.86	1.16	0.41	4.31 d	584.47 d
<b>80%</b>	1.79	1.44	0.73	5.22 d	670.65 c
<b>60%</b>	1.79	1.13	0.84	11.45 c	742.89 b
<b>40%</b>	1.11	0.89	0.96	23.88 b	765.46 b
<b>20%</b>	1.02	0.81	1.87	42.33 a	943.83 a

**HS** : hautement significatif ; **NS** : Non significatif ; \*, \*\* : Significative respectivement au seuil de 5% et 1% ; les moyennes suivies des mêmes lettres ne sont pas significativement différentes selon le test **SNK** (P=0.05) ; **Chl-a** : chlorophylle a ; **Chl-b**: chlorophylle b ; **Cards**: caroténoïdes ; **Pr** : proline ; **SST** : sucres solubles totaux ;  $\mu\text{gmg}^{-1}$  : microgramme par gramme.

### II.3.1. Teneurs en pigments chlorophylliens

D'une manière générale, les plantules soumises aux différents traitements salins et hydriques n'ont pas montré une différence significative parmi les teneurs moyennes en chlorophylles a et b, correspondant à une diminution faible selon les régimes hydriques. Par contre, nous avons noté une augmentation par rapport au témoin sous stress salin modéré à faible (50 et 100 meql<sup>-1</sup>), puis elles diminuent graduellement quand la concentration saline augmente.

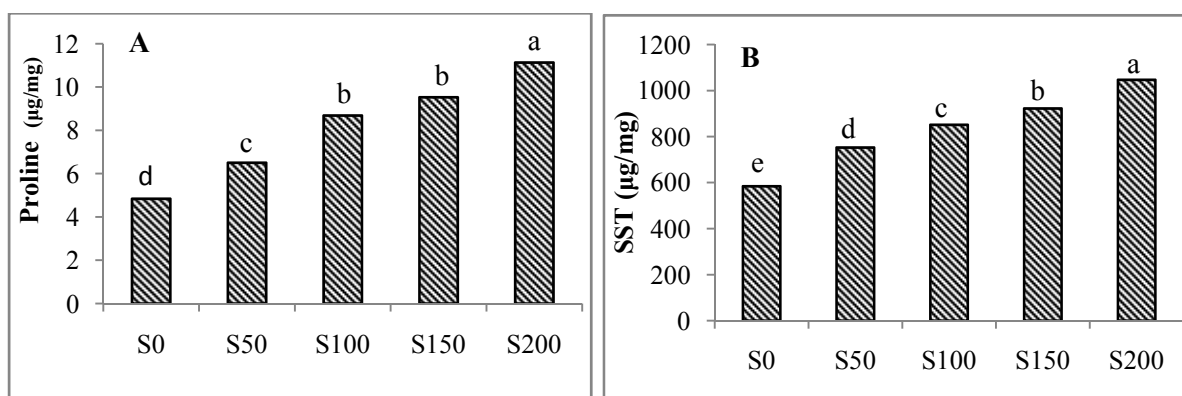
Par ailleurs, les caroténoïdes ont montré des teneurs moyennes comparables en augmentant le stress salin et hydrique ( $P > 0,05$ ).

### II.3.2. Teneur en proline

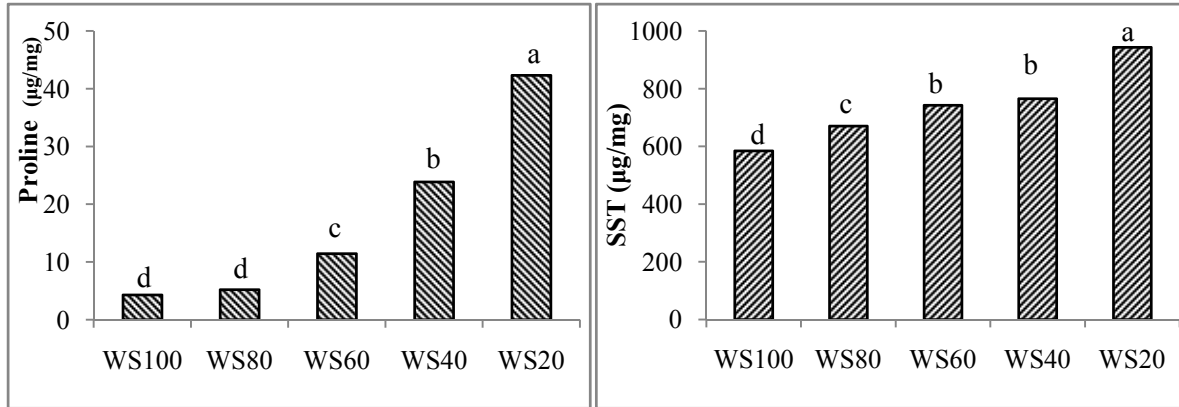
Les résultats relatifs aux teneurs moyennes en proline foliaire consignés dans les tableaux 12, 13 et représentés par les figures 16.A-17.A, révèlent une augmentation hautement significative liée à l'intensité des concentrations salines et des régimes hydriques. Cette accumulation de la proline foliaire est plus importante sous stress hydrique atteignant une teneur maximale de 42,33 $\mu\text{gmg}^{-1}$  à 20% CC, alors que sous stress salin elle est de 11.137  $\mu\text{gmg}^{-1}$  à 200meql<sup>-1</sup>.

### II.3.3. Teneur en sucres solubles

Les plantes soumises aux différentes concentrations saline et modalités hydriques accumulent significativement des teneurs croissantes en sucres solubles totaux dans leurs feuilles. Il est à noter que sous la contrainte saline, le taux accumulé est de 1046.88 $\mu\text{gmg}^{-1}$  à 200meql<sup>-1</sup>, en revanche sous contrainte hydrique il est de 943.83 $\mu\text{gmg}^{-1}$  à 20% (tab 12, 13, fig. 16.B, 17.B).



**Figure 16:** Teneurs moyennes en proline foliaire (A) et sucres solubles totaux (B) sous les différentes concentrations salines chez les plantules de *M. arborea*



**Figure 17:** Teneurs moyennes en proline foliaire (A) et sucres solubles totaux (B) sous les différents régimes hydriques chez les plantules de *M. arborea*

### III. Discussion

L'inhibition de la croissance et du rendement des plantes due à la salinité du sol et au déficit hydrique, engendre des déséquilibres osmotiques, ioniques, oxydants et hormonaux. Pour faire face au stress dû au sel et à la sécheresse et pour pouvoir s'adapter et survivre aux conditions de croissance limitantes, les plantes ont développé plusieurs voies de signalisation sensibles au stress et des mécanismes de défense sophistiqués (Huang *et al.*, 2012). Ces mécanismes de réponse se traduisent par des changements morphologiques, physiologiques, biochimiques et moléculaires et peuvent avoir des effets positifs et négatifs importants sur la croissance des plantes et leur productivité.

La réponse au stress dépend des espèces, des génotypes et des stades de développement, ainsi que du niveau de sel et d'eau dans le sol et du moment de l'exposition (Wang *et al.*, 2001 ; Forni *et al.*, 2017).

A travers les résultats obtenus, et sous les conditions salines hydriques contraignantes, nous avons constaté que la croissance aérienne des plantes de *M. arborea* est légèrement influencée, d'où une légère diminution de la longueur finale des tiges et du nombre moyen d'entre-nœuds, corrélée également à une faible réduction de la vitesse moyenne de la croissance des plantes.

La croissance est moins sensible au stress salin qu'au stress hydrique et montre un profil comparable à celui du lot témoin. Cela peut indiquer une certaine résistance au stress en maintenant une croissance en longueur quasiment normale.

Conformément à nos résultats, Ben Naceur *et al.* (2001) ont montré que la salinité pouvait réduire la hauteur de la plante, cette réduction de la croissance peut être attribuée à une accumulation excessive de  $\text{Na}^+$  et / ou de  $\text{Cl}^-$  dans la tige. Aussi, l'accumulation de ces ions perturbe la nutrition minérale des plantes (Elboutahiri *et al.*, 2008).

La réduction du taux de croissance peut être expliquée par une diminution de la biosynthèse de la biomasse soit par une photosynthèse inadéquate en raison de fermeture des stomates et par conséquent la limitation de l'absorption de dioxyde de carbone, soit directement par inhibition de l'expansion cellulaire (Munns et Termatt, 1986 ; Zhu, 2001 ; Parida et Das, 2005). Également, la croissance des entre-nœuds peut être affectée suite à un dysfonctionnement hormonal (Ross et Reid, 2010).

Nos résultats sont cohérents avec ceux de Mezni *et al.* (1999), qui ont rapporté que la salinité réduit la croissance aérienne de *Medicago sativa*. Néanmoins, Wang *et al.* (2009) ont constaté que la longueur des tiges de deux cultivars de luzerne était significativement inhibée par un traitement au NaCl à 200 mM.

Le raccourcissement de la hauteur de la tige, de la longueur et du nombre des entre nœuds chez les plantes, est une caractéristique générale des plantes soumises à une contrainte hydrique plus ou moins forte (Nemmar, 1983). Cela a été observé chez *Medicago sativa* (Duru et Langlet, 1993).

La salinité réduit la capacité des plantes à absorber de l'eau, ce qui entraîne rapidement une réduction du taux de croissance, ainsi qu'une série de changements métaboliques identiques à ceux causés par le stress hydrique (Zhu, 2001).

Dans la nature, l'ampleur de la tolérance au sel ou à la sécheresse semble souvent être inversement liée au taux de croissance. A cet effet, le ralentissement de la croissance semble être une caractéristique adaptative pour la survie des plantes soumises au stress, car il permet aux plantes d'adopter de multiples stratégies pour lutter contre le stress (Zhu, 2001).

En outre, le stress salin n'a pas exercé un effet notable sur la longueur de l'axe racinaire principal. Ceci n'est pas le cas pour le déficit hydrique qui a induit une diminution significative de cette longueur.

Des résultats similaires ont été trouvés par Hamoud (2015) chez la fève (*Vicia faba*) et par Karoune *et al.* (2017) chez *Acacia albida*.

Selon Munns (2002), les racines semblent être la partie de la plante la plus vulnérable car elles sont directement exposées au sel ou à un déficit hydrique, mais elles sont étonnamment robustes.

Cette diminution observée chez les plantes est expliquée par le fait que NaCl agit en augmentant la pression osmotique du milieu, ce qui empêche l'absorption en eau par le système racinaire et entraîne par conséquent, une réduction de la croissance (Navarro *et al.* 2002).

Hamrouni *et al.* (2011) ont indiqué que la plante s'adapte au stress salin en réduisant en premier lieu son système racinaire préservant ainsi la partie aérienne afin de maintenir et d'assurer la production des photosynthétats.

Par ailleurs la réduction de la disponibilité en eau affecte fortement la croissance de jeunes plantules notamment des racines car le taux d'élongation des racines, ramification et leur poids dépend fortement du processus d'hydratation (Gingrich et Russell, 1956, 1957 ; Mauries, 1998).

A travers les résultats obtenus, nous avons aussi observé une modification morphologique de l'architecture des racines secondaires, où on assiste à une ramification horizontale, que nous suggérons une forme d'adaptation afin d'assurer une meilleure absorption de l'eau superficielle.

Les effets du traitement salin et hydrique appliquées aux plantes de *M. arborea* semblent ne pas affectés le nombre final des feuilles formées ainsi que le nombre des feuilles fanées/tombées (baisse non significative). En effet, les feuilles ont montré une certaine tolérance face aux stress, en maintenant un nombre de feuilles vivantes relativement comparable entre les plants témoins et les plants stressés, impliquant un équilibre entre le taux de formation des feuilles et le taux de leur chute.

Des réponses similaires ont été observées par Leye et al. (2012) chez *Jatropha* qui tolère le stress salin jusqu'à 200 mM, alors qu'une relation négative entre la salinité et la croissance végétative, notamment celle des feuilles, a été mise en évidence chez le pistachier (Rahneshan, 2018).

Selon Terry et Waldron (1984), la salinité affecte la croissance totale des feuilles de la plante, plutôt par la réduction de l'expansion de surface des feuilles individuelles que par le taux de production de nouvelles feuilles. Cette réduction est bénéfique pour les plantes car elle réduit la surface exposée à la transpiration, minimisant ainsi les pertes en eau (Tuteja, 2010).

Les effets de toxicité saline deviennent remarquables avec le temps, et des lésions peuvent être visibles, notamment le dépérissement des tissus sous forme de chlorose et de nécrose marginales, suivies par une perte de turgescence et la chute des feuilles les plus anciennes (inférieures) plutôt que les plus jeunes, celles qui ont transpiré le plus longtemps et accumulant les ions  $\text{Na}^+$  et  $\text{Cl}^-$  le plus (Colmer *et al.*, 1995 ; Zid, 1982). La plupart de ces événements sont communs à ceux observés sous stress hydrique (Munns, 2002).

La réponse la plus précoce au stress est une réduction du taux d'expansion de la surface des feuilles suivie d'une cessation d'expansion lorsque le stress s'intensifie, mais la croissance reprend lorsque le stress est réduit (Parida et Das, 2005).

Par ailleurs, les résultats montrent une relation négative entre l'expansion des feuilles et le stress salin et hydrique traduite par une réduction nette de la surface foliaire moyenne des plantes.

En effet, le déficit hydrique a causé des réductions significatives de la surface foliaire, chez six populations de *M. truncatula* (Mefti *et al.*, 2001) et *Acacia auriculiformis* (Patel *et al.*, 2009).

La réponse immédiate au stress salin est la réduction de la vitesse de l'expansion de la surface foliaire, et quand le sel atteint éventuellement des teneurs toxiques, il conduit à l'arrêt de l'expansion et la réduction de la surface assimilatrice ainsi que la sénescence prématurée des feuilles (Munns, 2002 ; Wang et Nil, 2000).

Le stress salin réduit la croissance foliaire par raccourcissement de la zone d'élongation de la feuille (Bernstein *et al.*, 1993). La réduction de la surface foliaire est considérée comme une réponse adaptative au manque d'eau (sécheresse). Cette stratégie tend à minimiser les pertes en eau en réduisant la surface transpirante, mais elle peut aussi provoquer une diminution du rendement à cause de la réduction de la capacité photosynthétique (Slama *et al.*, 2005 ; Blum, 1996). Par contre, et selon (Johanson *et al.*, 1973), les plantes à surface foliaire plus grande peuvent tolérer la déshydratation et maintenir un potentiel hydrique élevé.

Les plantes tolérantes à la salinité peuvent réduire les effets néfastes des teneurs élevées du sel en mettant en œuvre une série de réponses adaptatives notamment une réduction de la croissance en terme de surface foliaire (Monteverdi *et al.*, 2008).

De plus, la sensibilité de la croissance de la surface foliaire à un déficit hydrique modéré peut être considérée comme un mécanisme adaptatif intervenant dans le transfert des assimilats qui favoriseraient la croissance de la racine, améliorant ainsi l'état hydrique de la plante (Nemmar, 1983).

Dans cette étude, une relation négative a été observée entre la croissance végétative des plantules de *M. arborea* et la salinité ainsi que déficit hydrique. Ce dernier a réduit de manière significative la biomasse végétale et la teneur en eau relative, en particulier dans des conditions de stress extrêmes (20% CC). Nos résultats sont en accord avec ceux de Elboutahiri *et al.* (2008) chez *Medicago sativa* et de Laouar *et al.* (2001) chez des populations de *Medicago intertexta*. L'inhibition de la croissance dans des conditions sévères de salinité du sol et de déficit hydrique peut être attribuée à une diminution de l'assimilation du carbone en raison d'une limitation stomatique et / ou d'une altération métabolique (Hajiboland *et al.*, 2014). De plus, la réduction de la croissance de la plante dans les deux conditions de stress peut être le résultat d'une inhibition directe de la division et de l'expansion cellulaires (Munns, 2002). En fait, la croissance cellulaire est l'un des processus physiologiques les plus sensibles à la sécheresse, en raison de la réduction de la pression de turgescence (Taiz et Zeiger, 2006).

La croissance des feuilles et des tiges est généralement plus sensible au stress osmotique que la croissance des racines. Une surface réduite des feuilles est généralement considérée comme bénéfique pour les plantes dans des conditions de déficit en eau en raison du taux réduit de transpiration, même s'il peut avoir un impact sur le taux de photosynthèse.

Il est souvent rapporté que les racines jouent un rôle clé dans la tolérance au déficit salin et hydrique des plantes car elles représentent les premiers organes qui contrôlent l'absorption et la translocation de l'eau, des nutriments et des sels dans toute la plante. Malgré l'exposition directe de ces organes à une faible disponibilité en eau et au sel, la croissance des racines est moins vulnérable que celle des tiges (Munns, 2002). Les plantes, soumises au stress hydrique et salin, ont tendance à augmenter l'épaisseur de leur racines afin d'explorer un volume de sol plus important et de faciliter l'absorption d'eau par les couches les plus profondes du sol (Tuteja, 2010 ; Forni *et al.*, 2017).

Dans notre étude, le rapport de biomasse sèche racinaire/biomasse sèche aérienne était indifférent à la contrainte saline et hydrique. Dans l'ensemble, les plantes soumises à 20% CC présentaient le ratio le plus élevé. De ce fait, dans des conditions extrêmes de manque d'eau, la biomasse aérienne des plants de *M. arborea* a diminué plus que les racines, promettant une plus grande distribution de la biomasse vers les racines. La réduction de l'expansion des organes aériens a été également observée chez les espèces les plus résistantes (telles que Luzerne, Fétuque, Sorgho) ce qui peut être considéré comme une stratégie d'adaptation requise pour la survie des plantes soumises à un stress abiotique (Lefi *et al.*, 2004; Durand, 2007)

Dans notre étude, la salinité et le déficit hydrique n'ont pas affecté la teneur relative en eau qui reste supérieure à 70% au niveau de tous les traitements, sauf au régime hydrique 20% CC, où la valeur de la TRE était inférieure à 50%. Ces données montrent un bon état hydrique des tissus végétaux malgré les concentrations salines élevées et le déficit hydrique appliqué. Cette réponse des plantes peut être considérée comme un mécanisme adaptatif permettant d'éviter les pertes d'eau, en maintenant l'absorption d'eau à un niveau suffisant afin d'éviter la déshydratation des tissus végétaux, de diluer les sels présents dans les cellules et de garantir la continuité du processus métabolique (Bissati *et al.*, 2011).

De manière générale, la diminution de la TRE sous stress salin modéré et sévère limite la photosynthèse, par la fermeture des stomates (Kicheva *et al.*, 1994) et la suppression de la conductance du mésophylle (Flexas *et al.*, 2004).

La photosynthèse est parmi les processus primaires affectés par la sécheresse (Chaves, 1991) et la salinité (Munns *et al.*, 2006). Le stress hydrique et salin peuvent affecter la synthèse ou la dégradation des pigments photosynthétiques, notamment la chlorophylle a et la chlorophylle b (Ashraf, 2002). Le stress dû à la sécheresse peut directement altérer le métabolisme photosynthétique en endommageant le fonctionnement du système photochimique, la carboxylation et la régénération de l'accepteur de dioxyde de carbone I (Lawlor et Cornic, 2002; Hopkins, 2003). La teneur en chlorophylle a généralement diminué sous stress hydrique important (40 à 20% CC), ce qui peut être considéré comme un mécanisme adaptatif de protection destiné à empêcher l'absorption excessive de photons (Ait Said *et al.*, 2013).

L'excès d'ions  $\text{Na}^+$  et  $\text{Cl}^-$  induit une altération de la machinerie photosynthétique (Munns *et al.*, 2006): le sodium affecte la voie de la biosynthèse de la chlorophylle b (Tewari et Singh, 1991) et le chlore inhibe la synthèse de Rubisco (Ashraf et Harris, 2013).

Dans notre étude, les teneurs en chlorophylle a et b ont légèrement changé entre les traitements. Sous déficit hydrique, ces pigments ont diminué avec l'augmentation du stress, alors qu'une légère augmentation inattendue de la teneur en chlorophylle était observée lorsque le stress salin était faible (S50 et S100), ce qui pourrait s'expliquer par un choc brusque du métabolisme photosynthétique lors d'un stress léger (Kurban *et al.*, 1999). De plus, la teneur en caroténoïdes n'a pas changé sous stress salin, mais a augmenté avec l'augmentation du déficit hydrique. Les caroténoïdes sont considérés comme des pigments auxiliaires et des antioxydants efficaces qui protègent et stabilisent les processus photochimiques de la photosynthèse dans les conditions de stress (Ashraf et Harris, 2013).

De plus, leur augmentation sous stress salin et hydrique peut être utilisée comme critère de tolérance fiable indiquant une certaine résistance de l'appareil photosynthétique (Kebbas *et al.*, 2015),

Alors que dans le cas de stress sévère, les feuilles commencent à développer une chlorose et finissent par tomber (Agastian *et al.*, 2000).

Le stress salin et hydrique ont entraîné une augmentation significative de la proline et des sucres solubles totaux dans les feuilles de *M. arborea*. La synthèse et l'accumulation de composés organiques tels que les sucres et les acides aminés dans le cytoplasme interviennent comme une réponse métabolique aux conditions de stress et jouent un rôle important dans l'ajustement osmotique chez les plantes (Ashraf et Foolad, 2007; Per *et al.*, 2017). L'augmentation de la concentration en proline et en sucres réduit le potentiel hydrique à l'intérieur de la cellule et l'eau continue de passer des sites à potentiel hydrique élevé vers le potentiel hydrique bas, ce qui permet d'éviter la perte d'eau intracellulaire (Tuteja, 2010) et maintenir la pression de turgescence dans les tissus végétaux (Chen *et al.*, 2011).

La proline est reconnue comme un acide aminé multifonctionnel, capable de protéger les cellules contre les dommages en agissant à la fois comme agent osmotique et piègeur de radicaux (Verbruggen et Hermans, 2008). Il est bien connu que dans des conditions de stress, de nombreuses espèces végétales accumulent de la proline comme réponse adaptative. Ainsi, la proline peut servir d'indicateur possible de blessure par sécheresse (Irigoyen *et al.*, 1992). Dans des conditions de stress, la proline semble avoir divers rôles, tels que la stabilisation des protéines, des membranes et des structures cellulaires, et la protection des fonctions cellulaires en piégeant les espèces réactives de l'oxygène (Szabados et Savourée, 2010). Sanchez *et al.* (1998) ont suggéré qu'il existait une controverse sur l'augmentation de la proline, s'il s'agisse d'une réponse adaptative visant à minimiser les dommages causés par la déshydratation ou d'un changement biochimique consécutif à ces dommages.

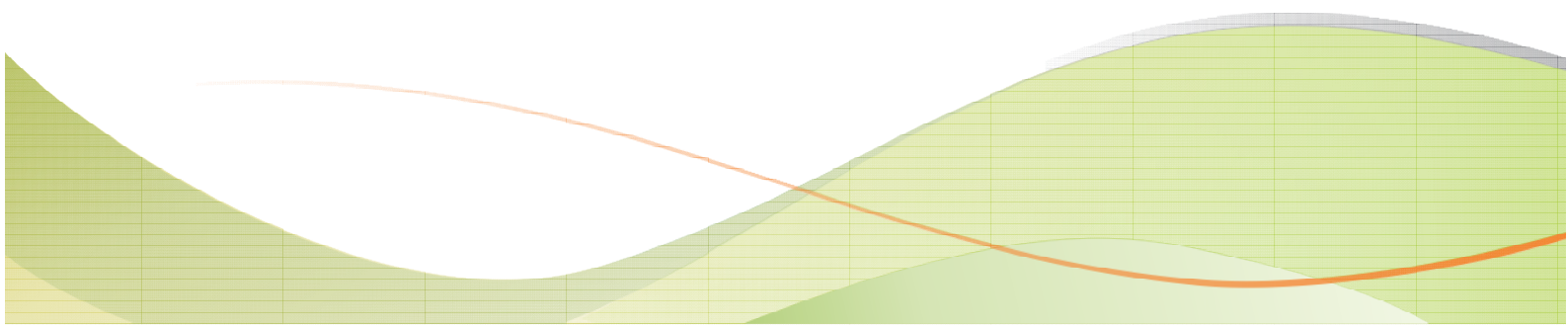
L'accumulation de sucre pourrait apporter une contribution plus importante à l'ajustement osmotique que la proline, comme a été révélé également chez l'agrostide par Liu *et al.* (2015). Les niveaux élevés de sucres totaux dans les tissus montrent l'aptitude des plantes à tolérer les conditions de stress abiotiques, telles que la sécheresse et la salinité. De plus, l'accumulation des sucres indique un bon état métabolique et favorise la croissance et le stockage des glucides (Rosa *et al.*, 2009; Chen *et al.*, 2011). L'augmentation des sucres solubles totaux en présence de stress hydrique pourrait également résulter d'une translocation partielle à partir de la feuille et d'une consommation plus lente due à une diminution de la croissance ou à l'hydrolyse de l'amidon (Kameli et Loésel, 1996). Kebbas *et al.* (2015) ont noté que l'accumulation de sucres peut être attribuée à un processus de déshydratation passif plutôt qu'à une stimulation active de leur synthèse.

### Conclusion

Conformément à nos résultats, les plantules de *M. arborea* se sont révélées capables de mettre en œuvre des mécanismes spécifiques sous forme de changements morphologiques, physiologiques et biochimiques pour faire face aux stress salin et hydrique en vue de protéger l'intégrité membranaire et maintenir une bonne osmorégulation dans leurs tissus.

Bien que la sélection des plantes tolérantes à l'aridité et au sel soit un processus très complexe et que des études plus approfondies soient nécessaires pour élucider les différentes stratégies impliquées dans la tolérance, nos résultats ont montré que *M. arborea* semble tolérer la sécheresse et le sel à un stade précoce de croissance. Cette tolérance doit être élucidée au niveau des autres stades phénologiques, *ex-situ* et *in situ*, pour pouvoir se prononcer sur la possibilité d'utiliser cette espèce dans les programmes de réhabilitation des parcours dégradés d'Algérie, sachant que ses avantages écosystémiques comme la protection contre l'érosion éolienne et la dégradation des sols ont été déjà signalés dans certain nombre de travaux scientifiques.

***Chapitre III : Réponses  
anatomiques de *M. arborea*  
aux stress hydrique et salin***



Ce chapitre consiste à décrire les différentes structures histologiques racinaires, caulinaires et foliaires. Il s'agit aussi de faire ressortir essentiellement les principales caractéristiques anatomiques et histologiques d'adaptation de cette espèce à la contrainte saline et hydrique, en utilisant les techniques classiques de la microscopie photonique.

### **I. Matériels et méthodes**

#### **I.1. Matériel végétal**

À la fin de l'expérimentation, les plantules soumises aux stress salin et hydrique à une concentration de 200 meq/l et 20% CC, sont déterrées de leurs pots de culture. Les parties aériennes et souterraines (tiges et racines) sont découpées par une lame de rasoir. Les racines sont rincées à l'eau distillée pour se débarrasser du substrat. Seules les sections médianes sont prises en compte dans cette étude.

#### **I.2. Méthodes d'étude**

##### **I.2.1. Réalisation des coupes**

Nous avons effectué des coupes transversales à main levée sur les tiges, les racines et les feuilles à l'aide de lame de rasoir en utilisant des cylindres de moelle de Sureau comme support. Les coupes les plus fines sont sélectionnées pour l'examen histologique.

##### **I.2.2. Coloration des coupes**

Les coupes sont colorées par la technique de la double coloration\_« vert de Méthyle-rouge Congo » (Chaker, 2003), suivant les étapes suivantes :

- Traitement à l'hypochlorite de sodium dilué à 8% pendant 10-15mn, puis rinçage soigneux à l'eau distillé plusieurs fois. Cette étape permet la dépigmentation des échantillons et entraîne la destruction du contenu cellulaire tout en conservant les parois cellulaires.
- Mordantage dans l'acide acétique dilué à 70% pendant 2-5 mn afin de neutraliser l'excès de l'eau de javel et favoriser la réceptivité et la fixation des colorants dans les étapes à venir.
- Coloration au vert de Méthyle en solution aqueuse diluée à 1% pendant 5mn, ce qui met en évidence les parois lignifiées. Les échantillons sont ensuite rincés à l'eau distillée.
- Une deuxième coloration au rouge Congo à 2% pendant 10 mn puis rinçage à l'eau distillée pour la révélation des parois cellulosesiques.

### **I.2.3. Observation microscopique**

Les coupes sont immédiatement montées dans une goutte d'eau distillée entre lame et lamelle pour être observées au microscope optique de type ZEISS-West Germany, équipé d'un appareil photo (Sony) permettant une meilleure prise de vue et de microphotographies.

### **I.2.4. Conservation des coupes**

Les coupes sont ensuite conservées au réfrigérateur (5°C) dans des piluliers contenant de l'eau distillée pour une utilisation ultérieure.

### **I.2.5. Mensuration/biométrie des tissus**

Dans le but de mettre en évidence l'effet du stress salin et hydrique sur l'architecture histologique et anatomique de la racine et de la tige, nous avons évalué certains paramètres (Boughalleb et Denden, 2009), à savoir :

- le diamètre total de la section ( $\mu\text{m}$ ),
- le diamètre du cortex et de la stèle ( $\mu\text{m}$ ),
- le diamètre des vaisseaux du métaxylème ( $\mu\text{m}$ ).

Ces mensurations ont été réalisées au moyen d'un micromètre oculaire (ZEISS-West Germany-Kpl W 12,5/18 pol) installé au niveau du porte-objectif du microscope. Des valeurs exactes des différents paramètres suscités sont calculées en utilisant un coefficient, dérivé de la superposition du micromètre et d'une lame graduée permettant ainsi la calibration du microscope.

### **I.2.6. Analyse statistique**

Pour toutes les mesures effectuées, chaque résultat correspond à la moyenne de trois répétitions sauf pour le diamètre des vaisseaux du métaxylème dont la valeur correspond à une moyenne de 10 mesures.

Le traitement statistique des résultats a été réalisé à l'aide du logiciel IBM SPSS Statistics 20. Toutes les données ont été soumises à une analyse de variance à un facteur (ANOVA I) et les moyennes ont été comparées deux à deux par le test post-hoc de Student Newman Keuls (SNK) au seuil de probabilité 5 %.

## II. Résultats

### II.1. Caractérisation anatomique de *M. arborea*

#### II.1.1. Anatomie des racines

Les coupes effectuées au niveau des racines de *M. arborea* (**planche III, Fig. A et B**) ont mis en évidence une structure histologique caractéristique des racines des dicotylédones, présentant de l'extérieur vers l'intérieur l'existence de deux zones principales :

➤ **L'écorce** : cette partie est constituée du **rhizoderme**, assise pilifère de cellules rhizodermiques portant les poils absorbants ; d'un **parenchyme cortical**, formé de cellules épaisses, jointives, allongées dans le sens de l'axe de la racine. Plus profondément s'ajoute un cadre subérifié, autrement dit la dernière couche de cellules de parenchyme cortical, et forme une sorte de barrière de contrôle des molécules circulant dans la racine, c'est **l'endoderme** (couche peu claire sur la figure).

➤ **Le cylindre central (Stèle)** : de type actinostèle, cette partie renferme **l'endoderme** couche de cellules étroitement jointives entourant le péricycle. Les parois tangentielles externes et internes de ces cellules sont cellulósiques, tandis que les autres possèdent une bande imprégnée de subérine, substances entre l'écorce et les tissus conducteurs. Le **péricycle** est formé par une couche de cellules jointives à paroi mince, à partir de laquelle vont se former les ramifications de la racine.

Plus au centre, viennent les deux types des tissus conducteurs, le **xylème** et le **phloème** qui s'alternent régulièrement sur un seul cercle, et assurent la circulation de la sève brute (xylème) et la sève élaborée (phloème). Les cellules de xylème ont des tailles différentes selon leur emplacement dans le cylindre central. Prés du péricycle, elles sont jeunes et petites ; **protoxylème**. Vers le centre, elles sont grandes et âgées ; **métaxylème**. La différenciation du xylème est centripète. **Des fibres du sclérenchyme** se localisent au tour des vaisseaux conducteurs.

Enfin, au centre de la racine, la moelle, composée de parenchyme médullaire qui a une fonction de remplissage.

#### II.1.2. Anatomie des tiges

L'observation des coupes transversales de jeunes tiges de *M. arborea* (**planche III, Fig. C et D**) montre que leur structure anatomique se rapproche étroitement de celle des racines, elle comprend :

**L'épiderme**, formée d'une assise de cellules jointive, dépourvue de chloroplastes, dont la face externe est recouverte d'une fine cuticule pourvue de stomates. **L'écorce (parenchyme cortical)**, relativement réduite et composée de grandes cellules polyédriques, laissant entre elles des méats.

**Le cylindre central**, situé sous l'écorce et réunit dans un parenchyme médullaire, des faisceaux **cribrovasculaires** (faisceaux libéro-ligneux) répartis sur un même cycle, présentés sous forme de tissus conducteurs rassemblés en amas superposés de **xylème** et de **phloème** dont le xylème est vers

le centre de la tige, coiffé vers l'extérieur par le phloème. Chaque faisceau cribrovasculaire est surmonté d'un petit massif de **sclérenchyme**. Le xylème montre une différenciation centrifuge dont le **protoxylème** est près du centre et le **métaxylème** près de la périphérie. Il est aussi possible de distinguer du **protophloème** et **Métaphloème**. La différenciation du phloème est centripète. **La moelle** de la tige est remplie par des cellules de parenchyme médullaire.

#### II.1.3. Anatomie des feuilles

L'analyse des coupes transversales des feuilles de *M. arborea* (**planche III, Fig. E et F**) montre l'existence de plusieurs tissus notamment : **l'épiderme supérieur, l'épiderme inférieur** recouvert de cuticule (substance cireuse imperméable), parsemé de stomates permettant les échanges gazeux. **Le mésophylle**, tissu fondamental qui effectue la photosynthèse, formé de parenchyme palissadique, riche en chloroplastes et de parenchyme lacuneux (aériefère). Les tissus conducteurs sont organisés en **nervures (faisceaux cribrovasculaires)**, composés d'un ou plusieurs faisceaux libéro-ligneux superposés. Le **phloème** est tourné vers le bas, et le **xylème** vers le haut.

Légende de la planche III

**Figure A. (Gx100)** : Coupe transversale de la racine

**Figure B. (Gx400)** : Structure microscopique détaillée d'une portion de la coupe transversale de la racine

**Ec** : écorce, **CC** : cylindre central, **Rz** : rhizoderme, **PM** : parenchyme médullaire, **Ed** : endoderme, **Pc** : parenchyme cortical, **GSC** : gaine sclérenchymateuse, **C** : cambium, **FCV** : faisceaux cribrovasculaires, **X** : xylème, **MX** : métaxylème, **Ph** : phloème.

**Figure C. (Gx100)** : Coupe transversale de la tige

**Figure D. (Gx400)** : Structure microscopique détaillée de la coupe transversale de la tige

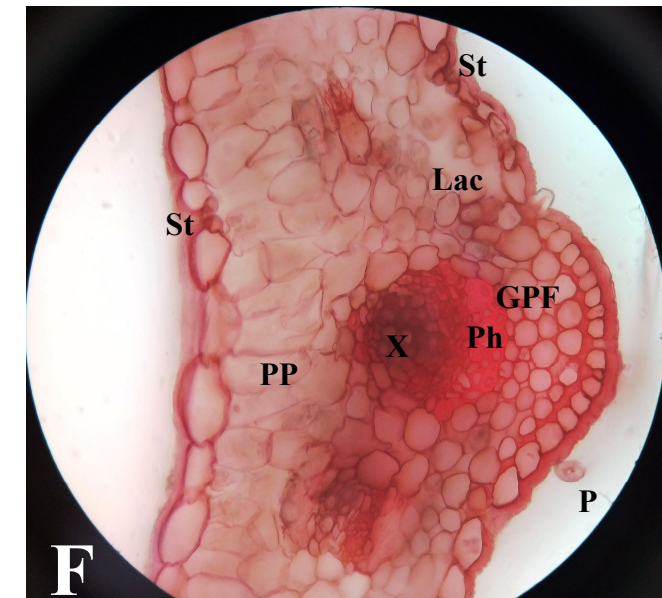
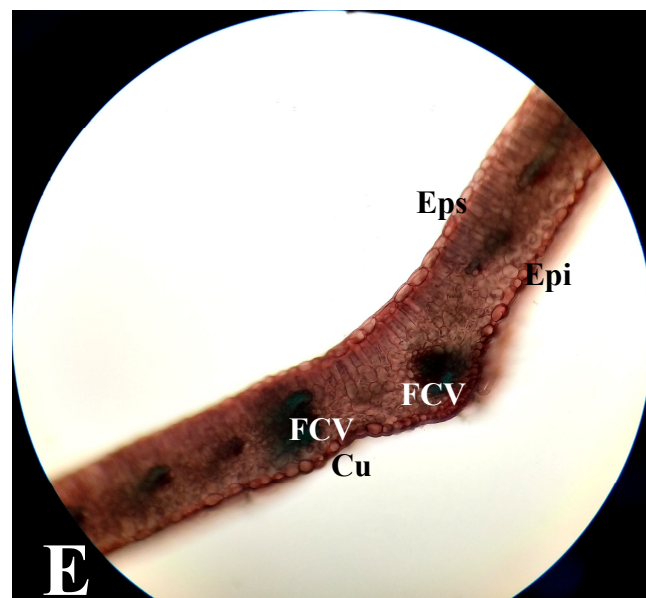
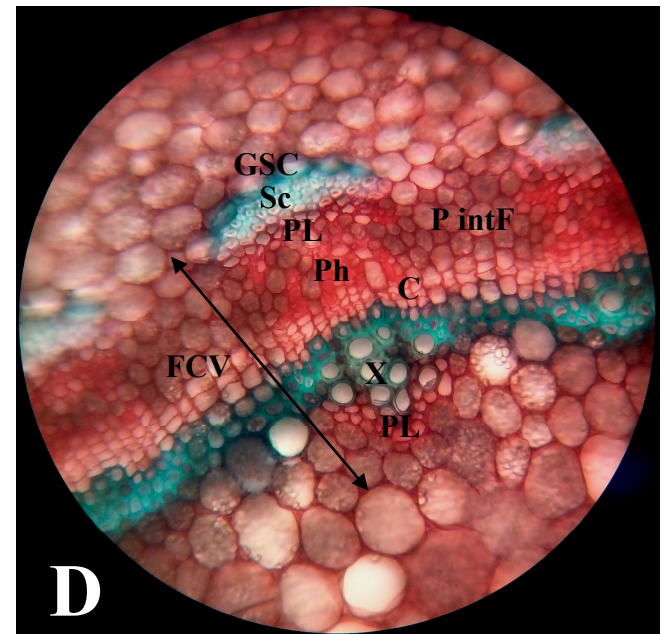
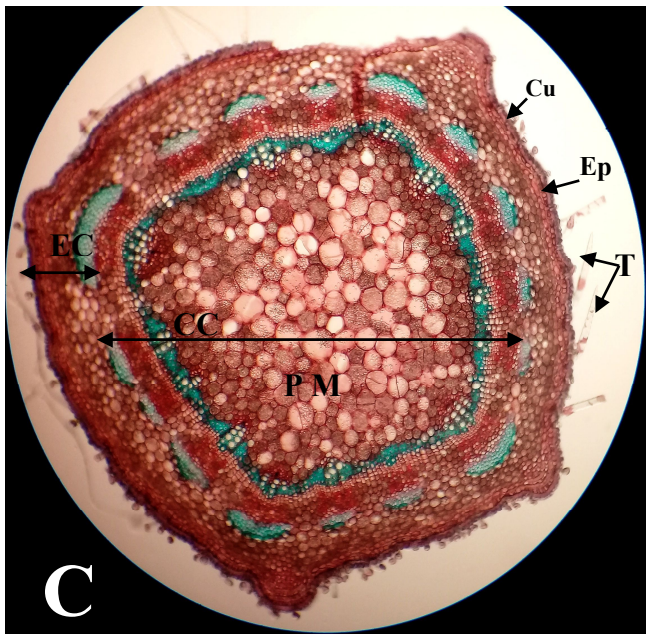
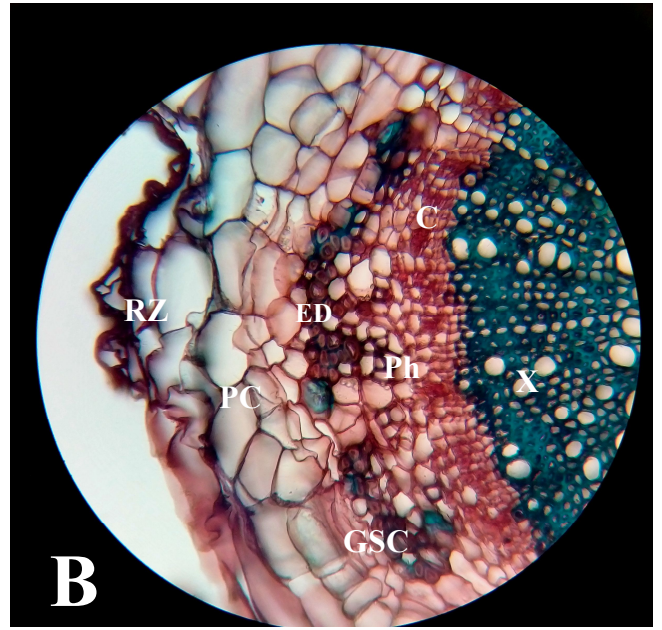
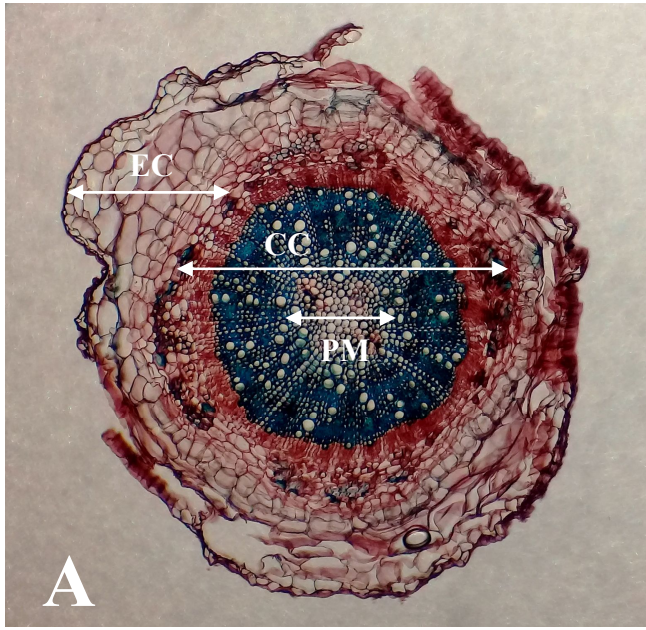
**Ec** : écorce, **CC** : cylindre central, **Cu** : cuticule, **EP** : épiderme, **PM** : parenchyme médullaire, **T** : trichomes, **GPF** : gaine périfasciculaire, **Sc** : sclérenchyme, **PL** : parenchyme lignifié, **Ph** : phloème, **X** : xylème, **C** : cambium, **F CV** : faisceaux cribrovasculaires, **P int** : parenchyme inter fasciculaire.

**Figure E. (Gx100)** : Coupe transversale de la feuille

**Figure F. (Gx400)** : Structure microscopique détaillée de la coupe transversale de la feuille

**Eps** : épiderme supérieur, **Epi** : épiderme inférieur, **Cu** : cuticule, **St** : stomates, **P** : poils, **PP** : Parenchyme palissadique, **M** : mésophylle, **FCV** : faisceaux cribrovasculaires, **Lac** : lacune **GPF** : gaine périfasciculaire, **X** : xylème, **Ph** : phloème.

Planche III : Caractérisation histologique de la racine, la tige et la feuille) de *M. arborea*



## II.2. Effet du stress salin et hydrique sur la structure anatomique des différents organes

Les résultats de l'effet du stress salin et hydrique sur les structures anatomiques de la racine et la tige de *M. arborea* sont illustrés par les figures des planches IV, V, VI et VII et les tableaux 14 et 15.

**Tableau 14** : Effet du stress salin sur les paramètres anatomiques de la racine et tige de *M. arborea*

M	Tige			Racine		
	T	St	ANOVA	T	St	ANOVA
Diamètre moy. total ( $\mu\text{m}$ )	135,67	146,96	S	97,01	176,27	S
Diamètre moy. de la stèle ( $\mu\text{m}$ )	105,45	110,56	NS	38,85	63,49	S
Diamètre moy. des vaisseaux de xylème ( $\mu\text{m}$ )	2,60	2,82	NS	2,35	4,39	S

**Tableau 15** : Effet du stress hydrique sur les paramètres anatomiques de la racine et tige de *M. arborea*

M	Tige			Racine		
	T	St	ANOVA	T	St	ANOVA
Diamètre moy. total ( $\mu\text{m}$ )	132,76	141,41	NS	154,51	185,59	S
Diamètre moy. de la stèle ( $\mu\text{m}$ )	100,57	106,12	NS	59,05	70,82	S
Diamètre moy. des vaisseaux de xylème ( $\mu\text{m}$ )	2,79	3,36	S	3,60	4,60	S

T : témoin ; St : stressé ; moy. : moyen ; S : significatif au seuil 5% ; NS : non significatif au seuil 5% ;

### II.2.1. Effet sur l'anatomie de la racine

La comparaison des coupes anatomiques réalisées au niveau des racines témoins et des racines stressées montre ce qui suit :

- Existence des mêmes structures histologiques énumérées ci-dessus (**planche III**).
- Augmentation de l'épaisseur de la racine stressée par rapport à celle du témoin. Ceci est confirmé par les mesures du diamètre total ( $P < 0.05$ ).
- Élargissement de la stèle chez la racine stressée se traduisant par un rétrécissement de l'écorce. Ceci est démontré par les mesures du diamètre de la stèle ( $P < 0.05$ ).
- Augmentation du diamètre des vaisseaux du xylème, notamment ceux du métaxylème avec épaississement de la paroi. Ceci est également vérifié statistiquement ( $P < 0.05$ ).

Il est à noter chez la racine stressée une présence marquée de fibres sclérenchymateuses et une lignification du centre de la racine.

### II.2.2. Effet sur l'anatomie de la tige

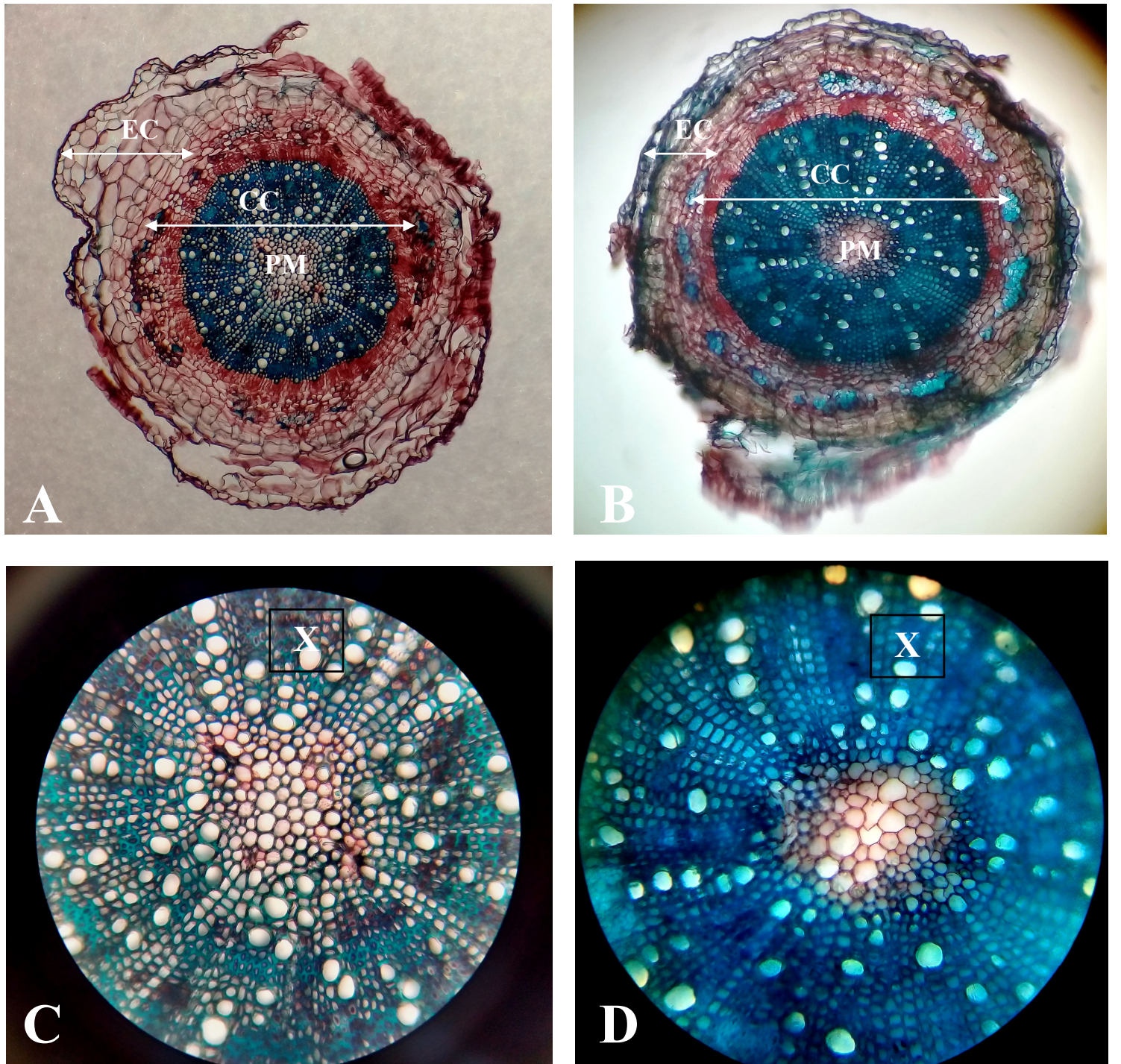
La comparaison des coupes anatomiques réalisées sur les tiges témoins et les tiges stressées montre ce qui suit :

- Élargissement de la tige stressée par la salinité par rapport à la tige témoin, confirmée statistiquement par les mesures de diamètre total ( $P<0.05$ ), par contre sous stress hydrique ceci n'a pas été vérifié.
- Une lignification accrue, notamment sur le pourtour (bande vasculaire) du parenchyme médullaire et au sein du parenchyme cortical, avec rétrécissement de la moelle.
- Légère augmentation du diamètre de la stèle de la tige stressée par rapport à la tige témoin si bien que ceci n'a pas été vérifié statistiquement ( $P>0.05$ ).
- Augmentation du diamètre des vaisseaux du xylème de la tige sous stress hydrique ( $P<0.05$ ), notamment ceux du métaxylème avec des parois plus épaisses. Cependant sous stress salin ceci n'a pas été confirmé statistiquement ( $P>0.05$ ).

### II.2.3. Effet sur l'anatomie de la feuille

Sur l'ensemble des coupes effectuées sur les feuilles nous n'avons pas pu mettre en évidence l'impact du stress sur leurs structures histologiques.

Planche IV : Effet du stress salin sur la structure anatomique de la racine de *M. arborea*



Légende de la planche IV

Figure A. (Gx100) : Coupe transversale d'une racine témoin

Figure C. (Gx400) : Structure microscopique détaillée d'une portion de la coupe transversale de la racine témoin

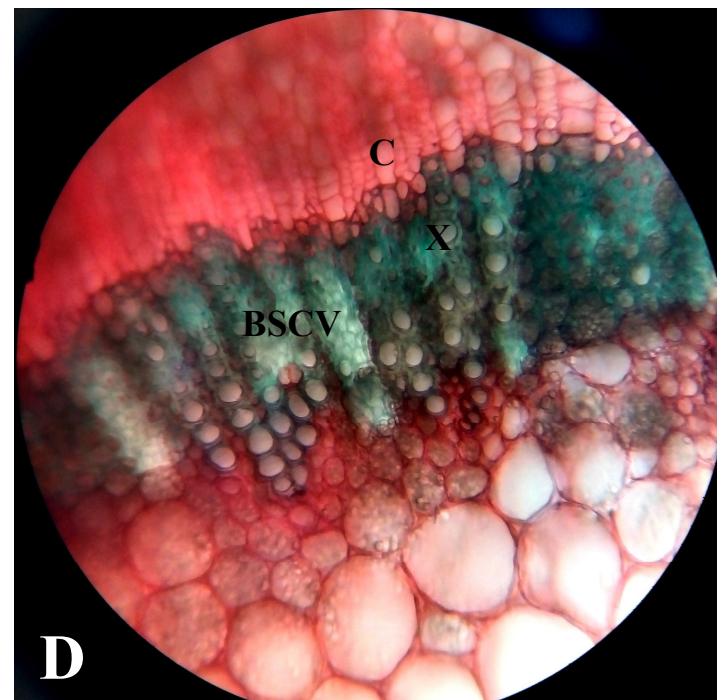
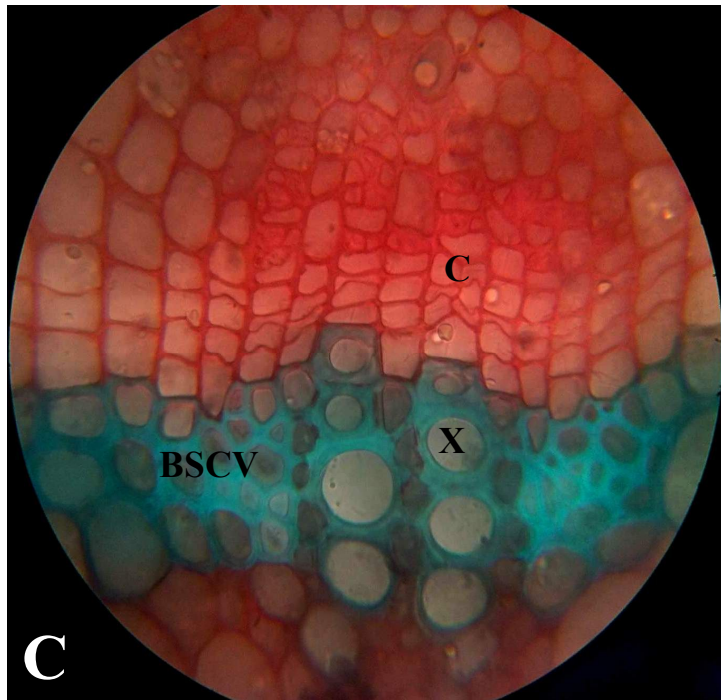
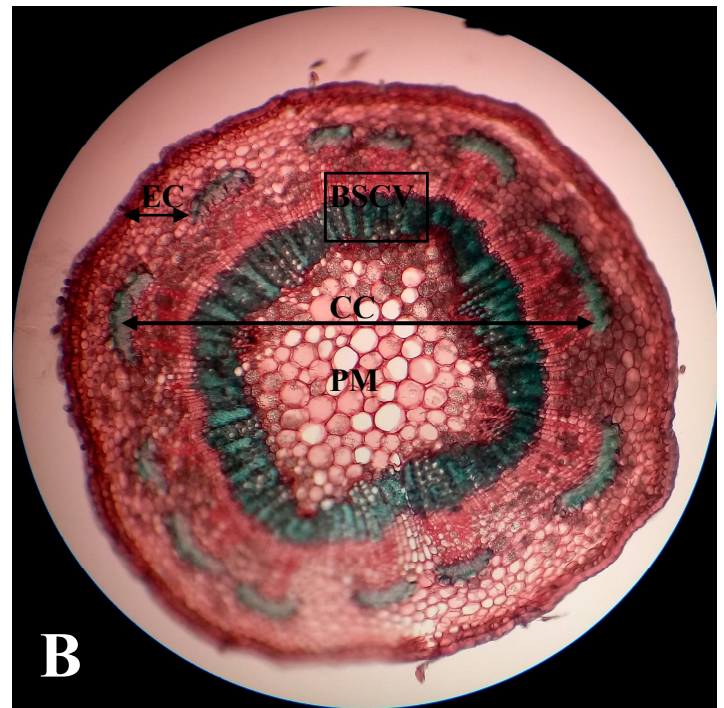
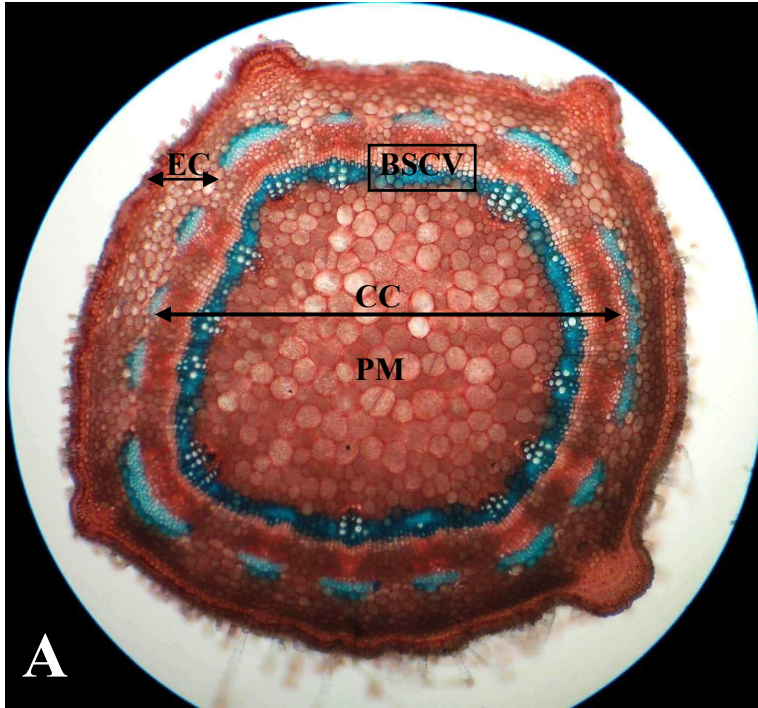
Ec : écorce, CC : cylindre central, PM : parenchyme médullaire, vasculaire, X : xylème

Figure B. (Gx100) : Coupe transversale d'une racine stressée par salinité

Figure D. (Gx400) : Structure microscopique détaillée de la coupe transversale d'une racine stressée par salinité

Ec : écorce, CC : cylindre central, PM : parenchyme médullaire, vasculaire, X : xylème

Planche V : Effet du stress salin sur la structure anatomique de la tige de *M. arborea*



Légende de la planche V

**Figure A (Gx100) :** Coupe transversale d'une tige témoin

**Figure C (Gx400) :** Structure microscopique détaillée de la coupe transversale d'une tige témoin

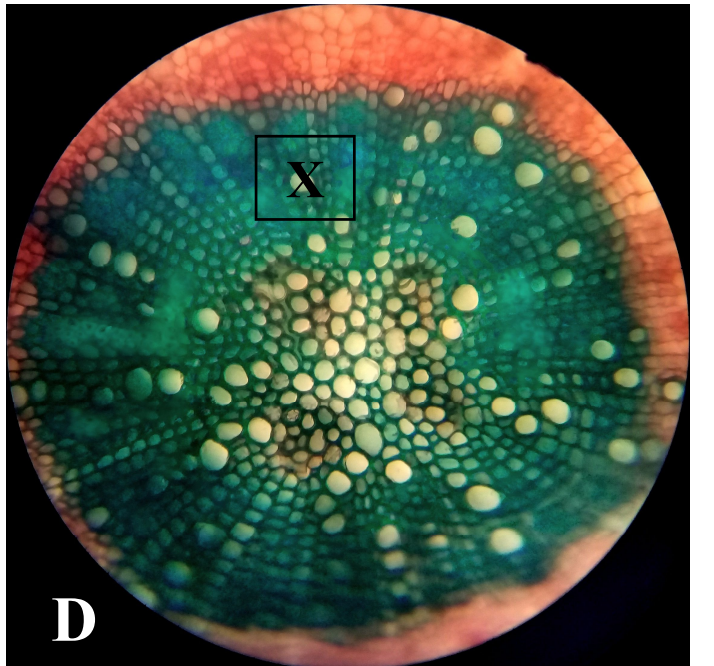
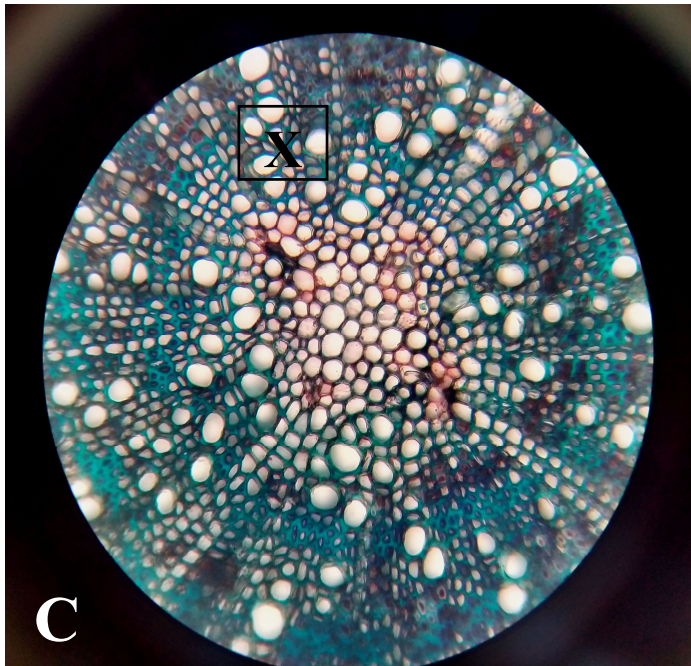
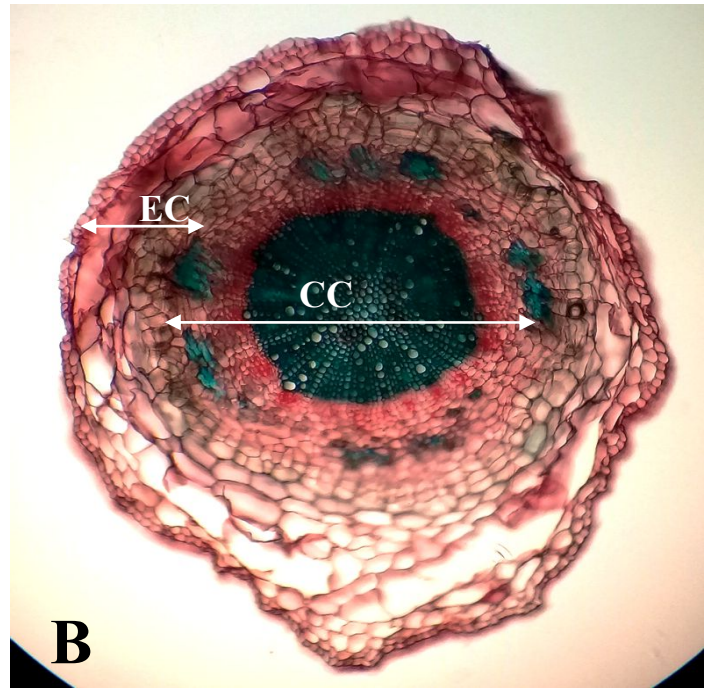
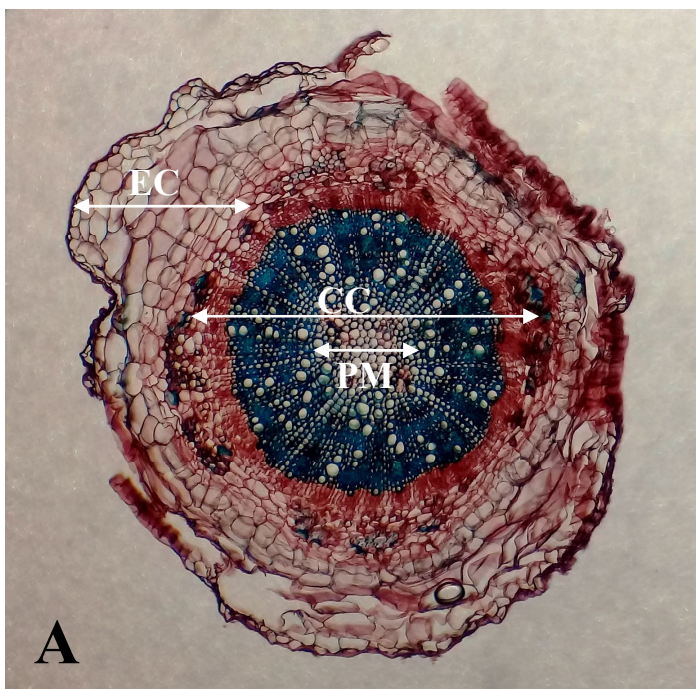
Ec : écorce, CC : cylindre central, PM : parenchyme médullaire, BSCV: bande sclérenchymateuse vasculaire, X : xylème, C : cambium

**Figure B (Gx100) :** Coupe transversale d'une tige stressée par salinité

**Figure D (Gx400) :** Structure microscopique détaillée de la coupe transversale d'une tige stressée par la salinité

Ec : écorce, CC : cylindre central, PM : parenchyme médullaire, BSCV: bande sclérenchymateuse vasculaire, X : xylème, C : cambium.

Planche VI : Effet du stress hydrique sur la structure anatomique de la racine de *M. arborea*



Légende de la planche VI

Figure A. (Gx100) : Coupe transversale d'une racine témoin

Figure C. (Gx400) : Structure microscopique détaillée d'une portion de la coupe transversale de la racine témoin

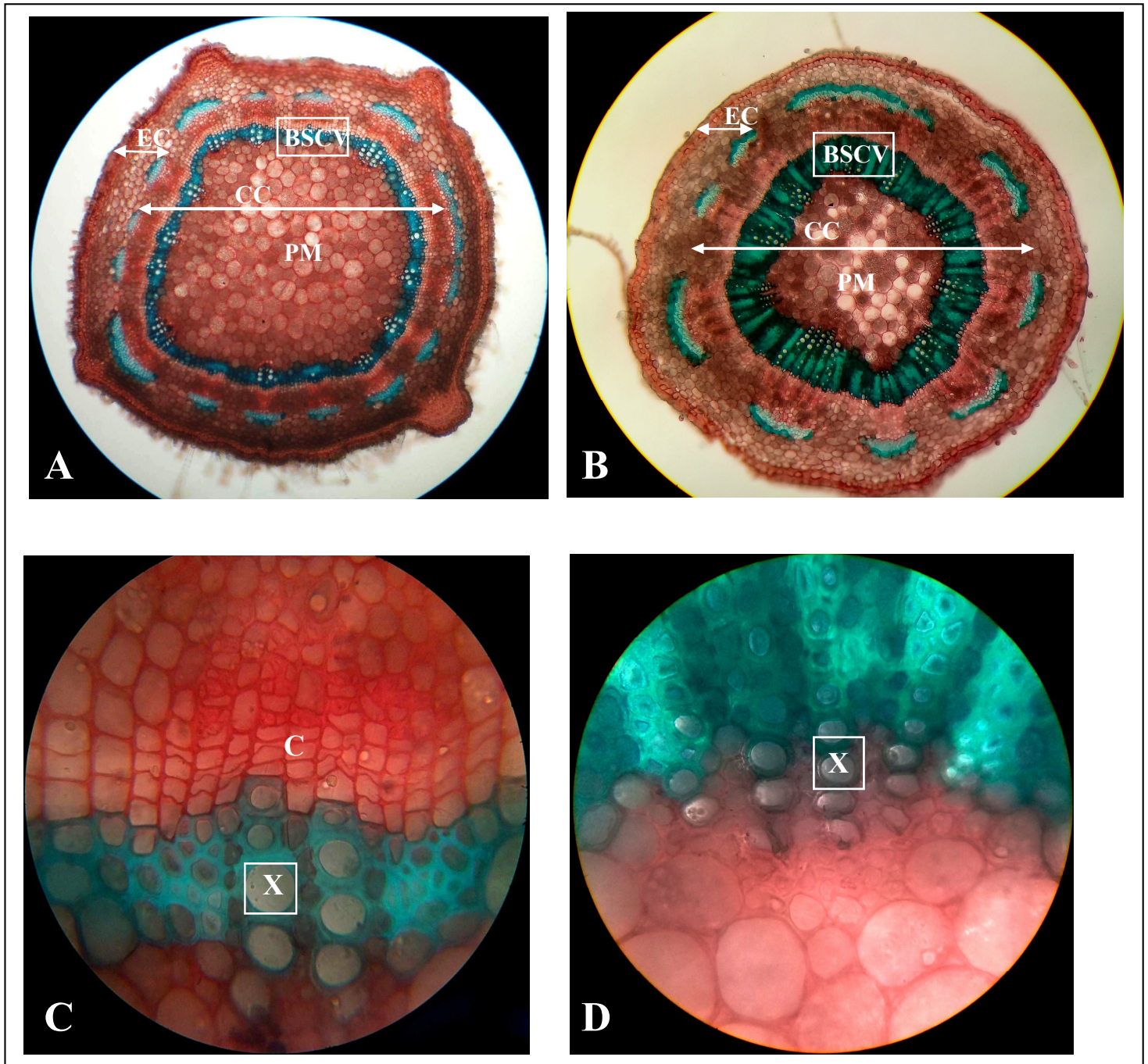
Ec : écorce, CC : cylindre central, PM : parenchyme médullaire, X : xylème

Figure B. (Gx100) : Coupe transversale d'une racine stressée par le stress hydrique

Figure D. (Gx400) : Structure microscopique détaillée de la coupe transversale d'une racine stressée par le stress hydrique

Ec : écorce, CC : cylindre central, PM : parenchyme médullaire, X : xylème

Planche VII : Effet du stress hydrique sur la structure anatomique de la tige de *M. arborea*



Légende de la planche VII

Figure A. (Gx100) : Coupe transversale d'une tige témoin

Figure C. (Gx400) : Structure microscopique détaillée de la coupe transversale d'une tige témoin

Ec : écorce, CC : cylindre central, PM : parenchyme médullaire, BSCV: bande sclérenchymateuse vasculaire, X : xylème, C : cambium

Figure B. (Gx100) : Coupe transversale d'une tige stressée par le stress hydrique

Figure D. (Gx400) : Structure microscopique détaillée de la coupe transversale d'une tige stressée par le stress hydrique

Ec : écorce, CC : cylindre central, PM : parenchyme médullaire, BSCV: bande sclérenchymateuse vasculaire, X : xylème, C : cambium.

### III. Discussion

Sur le plan anatomique, et à travers l'examen des coupes histologiques effectuées au niveau des racines et tiges de *M. arborea* soumises aux stress salin et hydrique, nous avons montré l'existence des mêmes structures histologiques que celles décrites chez les témoins. Par contre, nous avons remarqué un effet significatif du stress salin et hydrique sur les dimensions des différents paramètres pris en compte dans les racines. Cet effet a été également significativement observé sur la tige seulement sous stress salin.

En effet, une augmentation du diamètre total de la racine et de la tige s'est manifestée sous stress, ainsi qu'un élargissement du diamètre de la stèle qui s'est traduit par un rétrécissement de celui de l'écorce. Ces modifications et variations anatomiques peuvent être considérées comme des caractères adaptatifs adoptés par l'espèce vis-à-vis du stress salin et hydrique.

L'épaisseur de la racine et la zone corticale joue un rôle crucial dans la conservation de l'eau pour tolérer la sécheresse (Bahaji *et al.*, 2002 ; Ahadiyat et Haarachchi, 2008).

Selon Shabala *et al.* (2012), la salinité induit une augmentation de l'épaisseur épidermique qui permet d'améliorer non seulement l'efficacité d'utilisation de l'eau des plantes, mais fournit également un espace supplémentaire pour une séquestration efficace de  $\text{Na}^+$  dans l'épiderme des feuilles. Par contre, une sécheresse prolongée entraîne un rétrécissement des racines, des déformations anatomiques et un faible contact racine-sol qui limite l'approvisionnement en eau et en ions (Lipiec *et al.*, 2013), ainsi qu'une salinité aggravée peut entraîner une inhibition de l'activité des cellules cambiales e/ou réduit la division et l'expansion cellulaire (Selim et El-Nady, 2011).

Nos résultats montrent également une sclérisation et une lignification accrue dans la racine et la tige, notamment sur la bande vasculaire (tissu xélymien) et au sein du parenchyme cortical et une présence marquée de fibres sclérenchymateuses, avec rétrécissement de la moelle des tiges stressées.

Dans les travaux de Cachorro *et al.* (1993), il a été noté que la salinité a été associée à un plus grand dépôt de lignine dans les tissus vasculaires. Ceci a été supposé comme un facteur qui inhibe la croissance des racines et, par conséquent, représente un mécanisme d'adaptation pour résister au stress salin.

Cette adaptation anatomique contribue à améliorer la rigidité des tissus racinaires et empêche également la perte d'eau par la surface des tiges et peut entraîner une meilleure absorption de l'eau et des minéraux en période de sécheresse (Shabala et Cuin, 2008 ; Mustapha *et al.*, 2019).

Les racines des plantes tolérantes montrent une subérisation précoce et ou une lignification des cellules endodermiques ainsi qu'une activité hâtive du péricycle (Reinoso *et al.*, 2004).

De plus, une augmentation importante du diamètre des vaisseaux du xylème a été aussi révélée au niveau des racines et des tiges de *M. arborea*, notamment du métaxylème avec des parois plus épaisses.

Sibounheuang *et al.* (2006) ont rapporté que le diamètre des vaisseaux de xylème est lié au maintien de la conductivité de l'eau. Ils ont noté aussi que les espèces vivant dans des environnements où la disponibilité en eau est irrégulière présentent des vaisseaux de xylème plus grands pour maximiser l'absorption d'eau lorsqu'elle est disponible. De ce fait, la modification des vaisseaux de xylème de *M. arborea* peut être considérée comme un caractère anatomique d'adaptation aux conditions de déficit hydrique.

En effet, la plante augmente souvent le diamètre du vaisseau lorsque l'eau est limitée pour augmenter le flux d'eau à travers les éléments du xylème.

Stiller *et al.* (2003) ont signalé que la cavitation se produit lorsque l'écoulement de l'eau dans les vaisseaux du xylème ne peut pas maintenir le taux de transpiration.

Selon Boughalleb *et al.* (2009), la structure anatomique des vaisseaux de xylème est optimisée pour assurer le transport continue de l'eau à partir des racines jusqu'aux feuilles sous des conditions variable d'approvisionnement en eau.

Nos résultats corroborent avec d'autres travaux menés sur plusieurs espèces notamment : *Nitraria retusa*, *Atriplex halimus* et *Salicornia freitagii* en présence de salinité (Boughalleb *et al.*, 2009 ; Akcin *et al.*, 2017) et *Phaseolus vulgaris*, *Glycine max* et *Setaria italica* L. Beauv. sous stress hydrique (Pëna-Valdivia *et al.* 2010 ; Dolatabadian *et al.*, 2011 ; Karjunita *et al.*, 2017).

Contrairement à nos résultats, l'espèce *M. arborea* d'une provenance du Maroc a montré moins de tolérance à la salinité (Boughalleb *et al.*, 2009).

L'effet dépressif du stress hydrique a été aussi observé chez *Vigna radiata*, *Stipa lagascae* et *Astragalus gombiformis* (Rashid *et al.*, 2004 ; Boughalleb *et al.*, 2014 , 2015).

### Conclusion

Les modifications anatomiques des différents paramètres cités ci-dessus sont considérées comme des mécanismes adaptatifs adoptés par *M. arborea* vis-à-vis du stress salin et hydrique. De plus, les tissus vasculaires plus développés peuvent être considérés comme une modification anatomique efficace dans les régions arides à désertiques. Elles contribuent à une absorption d'eau efficace et au maintien de la turgescence et de l'humidité dans des conditions environnementales sèches et difficiles (Souza *et al.*, 1999).

Les réponses histologiques *M. arborea* révélées à travers la présente étude sont essentielles pour comprendre les stratégies adoptées par cette espèce pour résister aux conditions stressantes, et de se prononcer sur la tolérance de l'espèce.

## Conclusion Générale

À la lumière des résultats obtenus, il ressort que les graines de *M. arborea* peuvent maintenir leur aptitude à germer jusqu'à une concentration de 204 mM de NaCl. La reprise de la germination après la suppression de la contrainte saline indique que le chlorure de sodium exerce une inhibition temporaire de nature osmotique qui est éliminée après levée de la contrainte. Par conséquent, les graines de *M. arborea* peuvent être classées comme modérément tolérantes à la salinité pendant la germination. L'effet du stress hydrique a révélé que les graines sont modérément tolérantes au stress hydrique en maintenant leur aptitude à la germination jusqu'à une pression osmotique de -0,05 MPa.

Les données obtenues ont permis d'acquérir des connaissances sur la viabilité des graines de *M. arborea*. Ils serviront certainement dans le cadre de la préservation de l'espèce étudiée et dans la production de plants «*in situ*» pour la réhabilitation des zones arides dégradés. Afin de compléter ce travail, nous recommandons d'étudier le comportement germinatif de notre espèce «*in situ*».

Nos résultats ont fait ressortir aussi que les plantules de *M. arborea* ont manifesté des changements physiologiques et biochimiques sous stress hydrique et salin. En particulier, la croissance morphologique des plantes en matière de longueur et biomasse des racines, tiges et feuilles, ainsi la teneur relative en eau qui ont considérablement diminué sous stress hydrique extrême. De plus, une légère augmentation du ratio racine /tige a été observée sous stress hydrique accentué. Les pigments chlorophylliens foliaires n'ont pas été significativement affectés par les contraintes salines et hydriques malgré que celles-ci aient induit une diminution progressive de la teneur en chlorophylle associée à une augmentation des caroténoïdes.

De plus, l'exposition des plantules de *M. arborea* à la salinité et à la sécheresse a induit une accumulation importante de proline et de sucres solubles dans les feuilles. L'augmentation de ces composés organiques permettent de maintenir une bonne osmorégulation dans les tissus végétaux, car il est bien connu que la proline est un acide aminé multifonctionnel qui peut également assurer la stabilisation des protéines, des membranes, des structures subcellulaires et la protection des fonctions cellulaires. Par conséquent, les plantules se sont montrées capables de mettre en œuvre, de manière rapide et efficace, des mécanismes spécifiques pour faire face au stress osmotique et protéger l'intégrité membranaire.

Bien que la sélection des plantes tolérantes au sel et à la sécheresse est un processus très complexe et nécessite des études plus approfondies pour élucider les stratégies biochimiques impliquées dans la tolérance, nos résultats ont montré que *M. arborea* semble tolérer le stress salin et hydrique durant les premiers stades de croissance.

L'approche anatomique a fait ressortir que *M. arborea* est une espèce qui met en œuvre des stratégies d'adaptation anatomiques pour contrecarrer les effets néfastes du stress salin et hydrique.

Cette adaptation s'est traduite par : une augmentation du diamètre total de la racine et de la tige, un élargissement du diamètre de la stèle qui s'est traduit par un rétrécissement de celui de l'écorce, ainsi qu'une augmentation importante du diamètre des vaisseaux du xylème au niveau des racines et des tiges, notamment du métaxylème avec des parois plus épaisses. Également, une sclérification et une lignification accrue dans la racine et la tige, notamment sur la bande vasculaire (tissu xélymien) et au sein du parenchyme cortical et une présence marquée de fibres sclérenchymateuses, avec rétrécissement de la moelle des tiges stressées.

De ce fait, *M. arborea* peut être considéré comme une espèce tolérante au stress salin et hydrique compte tenu des stratégies adaptatives développées afin de maintenir la croissance et assurer une bonne conductivité hydrique.

Dans l'ensemble, en considérant toutes les réponses physiologiques, biochimiques et anatomiques de cette espèce vis-à-vis du stress salin et hydrique qui révèlent des caractères typiques en relation avec la tolérance aux conditions stressantes pour une régulation hydrique et osmotique efficaces ; nous pouvons se prononcer sur les possibilités d'utilisation de cette ressource naturelle dans le cadre des programmes menés pour la réhabilitation et le reboisement des terres arides et semi-arides dégradées de l'Algérie. Néanmoins, il serait aussi judicieux de suivre le comportement de ce potentiel végétal dans les conditions naturelles.

De plus, cette espèce est un arbuste parmi les légumineuses ligneuses qui peuvent fournir d'autres services écosystémiques clés, comme la protection contre l'érosion éolienne caractérisant en particulier les Hauts-Plateaux d'Algérie, fournissant ainsi une barrière contre l'expansion du désert.

## Références bibliographiques

- Abdelguerfi A., Laouar M., M'Hammedi Bouzina M., 2008. Les productions fourragères et pastorales en Algérie : Situation et 14 Possibilités d'Amélioration. *Revue Semestrielle Agriculture et développement*, 6:14-25.
- Abdelly C., 2004. Effet du déficit hydrique sur la croissance et l'accumulation de la proline chez *Sesuvium portulacastrum*. *Revue des régions Arides*, 1: 234-241.
- Abdessemed K., 1985. Les problèmes de la dégradation des formations végétales dans l'Aurès (Algérie). 2<sup>ème</sup> partie : les mesures à prendre. *Forêt Méditerranéenne*. 7(1) :43-52.
- Abebe T., Guenzi A.C., Martin B., Cushman J.C., 2003. Tolerance of mannitol- accumulating transgenic wheat to water stress and salinity. *Plant physiology*, 131:1748-1755.
- Adulrahaman A.A., 2009. Morphology and epidermal adaptation to water stress in some ornamental plant species. PhD Thesis, University of Ilorin, Nigeria.
- Agarwal K., 1979. Cytogenetic studies in *Trifolieae* and *Galegeae* with special emphasis on *Indigofera* L. PhD Thesis, Meerut University, Meerut.
- Agarwall K., Gupta P.K., 1983. Cytological Studies in the Genus *Medicago* L. *Cytologia*, 48:781-793.
- Agastian P., Kingsley S.J., Vivekanandan M., 2000. Effect of salinity on photosynthesis and biochemical characteristics in mulberry genotypes. *Photosynthetica*, 38:287-290.
- Ahadiyat Y.R. Haarachchi S.L.R., 2008. Effects of tillage and intercropping with grass on soil properties and yield of rain fed maize. *International Journal of Agriculture and Biology*, 10:133-139.
- Ahmadi A., Baker D.A., 2001. The effect of water stress on the activities of key regulatory enzymes of the sucrose to starch pathway in wheat. *Plant Growth Regulation*, 35:81-91.
- Aissat A., Mehdadi Z., 2016. Effect of Salinity and water Stress on the Germination of *Medicago arborea* L. Seeds. *Journal of Applied Environmental and Biological Sciences*, 6(2):113-121.
- Ait Said S., Torre F., Derridi A., 2013. Gender, Mediterranean drought, and seasonality: photosystem II photochemistry in *Pistacia lentiscus*. *Photosynthetica*, 51:552-564.
- Akcin T.A., Akcin A, Yalcin E., 2017. Anatomical changes induced by salinity stress in *Salicornia freitagii* (Amaranthaceae). *Brazilian Journal of Botany*, 40:1013-1018.
- Al Hassan M., Martínez Fuertes M., Ramos Sánchez F.J., Vicente O., Boscaiu M., 2015. Effects of Salt and Water Stress on Plant Growth and on Accumulation of Osmolytes and Antioxidant Compounds in Cherry Tomato. *Notulae Botanicae Horticulturae Agrobotanici*, 43(1):1-11.
- Alem C., Amri A., 2005. Importance de la stabilité des membranes cellulaires dans la tolérance à la salinité chez l'orge. *Reviews in biology and biotechnology*, 4:20-31.
- Allakhverdiev S.I, Sakamoto Y., Nishiyama M., Inaba M., Murata N., 2000. Ionic and osmotic effects of NaCl-induced inactivation of photosystem I and II in *Synechococcus* spp. *Plant Physiology*, 123:1047-1056.
- Allen R., 1995. Dissection of oxidative stress tolerance using transgenic plants. *Plant Physiology*, 107:1049-1054.

- Almansouri M., Kinet J.M., Lutts S., 2001. Effect of salt and osmotic stress on germination in durum wheat (*Triticum durum*). *Journal of Plant and Soil*, 231(2):243-254.
- Almodares A., Hadi M.R., Ahmadpour H., 2008. Sorghum stem yield and soluble carbohydrates under different salinity levels. *African Journal of Biotechnology*, 7:4051-4055.
- Amato G, Stringi L., Giambalvo D., 2004. Productivity and canopy modification of *Medicago arborea* as affected by defoliation management and genotype in a Mediterranean environment. *Grass Forage Science*, 59:20-28.
- Amzat R., Haider S., Nasreen H., Aziz F., Riaz M., 2009. A viable alternative mechanism in adapting the plants to heavy metal environment. *Pakistanian Journal of Botany*, 41(6):2729-2738.
- Andreu V., Rubio J.L., Cerni R., 1994. Use of a shrub (*Medicago arborea*) to control water erosion on steep slopes. *Soil Use and Management*, 10(3): 95-99.
- Armour D.J., Mackie J.M., Musial J.M., Irwin J.A.G., 2008. Transfer of anthracnose resistance and pod coiling traits from *Medicago arborea* to *M. sativa* by sexual reproduction. *Theoretical and Applied Genetics*, 117:149.
- Ashraf M, Foolad M.R., 2007. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany*, 59:206-216.
- Ashraf M., 2002. Salt tolerance of cotton: some new advances. *Critical Review in Plant Science*, 21:1-30.
- Ashraf M., 1994. Breeding for salinity tolerance in plants-critical. *Review in Plant Science*, 13:17-42.
- Ashraf M., Harris P.J.C., 2004. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. *Plant Sciences*, 166:3-16.
- Ashraf M., Harris P.J.C., 2013. Photosynthesis under stressful environments: An overview. *Photosynthetica*, 51(2):163-190.
- Ashraf M., McNeilly T., 1988. Variability in salt tolerance of nine spring wheat cultivars. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 160:14-21.
- Ashraf M., Tufail M., 1995. Variation in salinity tolerance in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Journal of Agronomy and Crop Science*, 174:351-362.
- Asloum H., 1990. Elaboration d'un système de production maraîchère (Tomate, *Lycopersicon esculentum* L.) en culture hors sol pour les régions sahariennes. Utilisation de substrats sableux et d'eaux saumâtres. Thèse de doctorat, Université de Nice Sophia- Antipolis, pp24-32.
- Aubin P., 1980. Herborisation hivernale en Provence. C.R. de la Société Scientifique Naturelle de l'Ouest de la France.
- Aubin P., 1981. Sur la progression de *Medicago arborea* en France. Bulletin de la Société Linnéenne de Lyon, 50(4) : 123-124.
- Auriau P., 1978. Sélection pour le rendement en fonction du climat sur le blé. *Annales de l'INA*, 8 (2):4-15.
- Avato P., Bucci R., Tava A., Vitali C., Rosato A., Bialy Z., Jurzysta M., 2006. Antimicrobial activity of saponins from *Medicago* sp.: structure-activity relationship. *Phytotherapy Research*, 20:454-457.
- Aymonin G., Timbal J., 1986. Guide des arbres et arbustes. Éd. Sélection du Reader's digest. 352p.

- Bahaji A., Mateu I., Sanz A., Cornejo M.J., 2002. Common and distinctive responses of rice seedlings to saline and osmotically generated stress. *Plant Growth Regulation*, 38:83-94.
- Barbouche N. 2009. La filière apicole en Tunisie : situation, contraintes et perspectives. pp1-53 (available online, accessed on 18 March 2016)
- Barnes J., Anderson L.A., Phillipson J.D., 2002. Herbal Medicines. *Pharmaceutical Press*, 38-41.
- Barrs H.D, Weatherley P.E., 1962. A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficits in leaves. *Australian Journal of Biological Sciences*, 15:413-428.
- Bartels D., Sunkar R., 2005. Drought and Salt Tolerance in Plants. *Critical Review in Plant Science*, 24:23-58.
- Bayer E., Buttle K.P., Finkensteller X., Grau J., 1990. Guide de la flore méditerranéenne. Éd. Delachaux et Niestlé, Paris. 287p.
- Belkhouja M., 1996. Action de la salinité sur le comportement physiologique, métabolique, minérale et recherche de marqueurs moléculaires chez la fève (*Vicia faba* L.). Thèse de Doctorat d'État en Sciences Naturelles, Université d'es-Senia, Oran, 255p.
- Belkhouja M., Bidai Y., 2004. Réponse des graines d'*Atriplex halimus* L. à la salinité au stade de la germination. *Sécheresse*, 4(15):331-334.
- Belkhouja M., Djerroudi Z.O., Bissati S. and Hadjadj S., 2010. Effet du Stress Salin sur l'accumulation de Proline Chez Deux Espèces d'*Atriplex Halimus* L. et *Atriplex Canescens* (Pursh) Nutt. *European Journal of Scientific Research*, 41(2):248-259.
- Bellinger Y., Bensaoud A., Larher F., 1989. Physiology breeding of winter cereals for stress environments. Colloque N°3, Montpellier, France.
- Ben Ahmed C., Ben Rouina B., Sensoy S., Boukhriss M., Ben Abdullah F., 2010. Exogenous proline effects on photosynthetic performance and antioxidant defense system of young olive tree. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(7):4216-4222.
- Ben Naceur M., Rahmoune C., Sdiri H., Meddahi M.L., Selmi M., 2001. Effet du stress salin sur la croissance et la production en grains de quelques variétés maghrébines de blé. *Science et changements planétaires / Sécheresse*, 12(3):167-174.
- Benhamou N., 2009. La résistance chez les plantes. Principes de la stratégie défensive et applications agronomiques. Éd. TEC et DOC. Lavoisier, Paris. 376p.
- Benhassaini H., Fetati A., Hocine A.K., Belkhouja M., 2012. Effect of salt stress on growth and accumulation of proline and soluble sugars on plantlets of *Pistacia atlantica* Desf. subsp. *atlantica* used as rootstocks. *Biotechnological Agronomy and Sociological Environment*, 16:159-165.
- Benmahammed A., Kribaa M., Bouzerzour H., Djekou A., 2008. Relationships between F2, F3 and F4\_ derived lines for above ground biomass and harvest index in three barley crosses in a Mediterranean type environment. *Agricultural Journal*, 3:313-318.
- Benmahammed A., Nouar H., Haddad L., Laala Z., Oulmi A., Bouzerzour H., 2010. Analyse de la stabilité des performances de rendement du blé dur (*Triticum durum* Desf.) sous conditions semi-arides. *Biotechnological Agronomy and Sociological Environment*, 14:177-186.
- Benmahioul B.F., Daguin A., Harche K., 2009. Effet du stress salin sur la germination et la croissance in vitro du pistachier (*Pistacia vera* L.). *Comptes Rendus Biologies*, 332(8):752-758.

- Bensari M., Calme S.J., Viala G., 1990. Répartition du carbone fixé par photosynthèse entre l'amidon et le saccharose dans la feuille de soja : influence d'un déficit hydrique. *Plant Physiology and Biochimie*, 28:113-124.
- Bergman I., Loxley R., 1970. New spectrophotometric method for the determination of proline in tissue hydrolyzates. *Anal of Chemistry*, 42(7):702-706.
- Berkeley C.A., Hireche Y.A., 2006. Reponse de la luzerne (*Medicago sativa* L.) au stress hydrique et à la profondeur de semis. Mémoire de Magister, Université Al Hady Lakhdar, Batna, 83p.
- Berkowitz G.A., Gibbs M., 1983. Reduced osmotic potential effects on photosynthesis. Identification of stromal acidification as a mediating factor. *Plant Physiology*, 71:905-911.
- Bernstein N., Läuchli A., Silk W.K., 1993. Kinematics and dynamics of sorghum (*Sorghum bicolor* L.) leaf development at various Na<sup>+</sup>/Ca<sup>++</sup> salinities: Elongation and growth. *Journal of Plant Physiology*, 103:1107-1111.
- Berrichi A., Tazi R., Bellirou A., Kouddane N., Bouali A., 2010. Role of salt stress on seed germination and growth of jojoba plant (*Simmondsia chinensis* Link Schneider). *Journal of Botany*, 69(1):33-39.
- Berthomieu P., Conejero G., Nublat A., Brachenbury W.J., Lambert C., Savio C., Uozumi N., Oiki S., Yamada K., Cellier F., Gosti F., Simonneau T., Essah P.A., Tester M., Very A.A., Sentenac H., Casse F., 2003. Functional analysis of AtHKT1 in *Arabidopsis* shows that Na<sup>+</sup> recirculation by the phloem is crucial for salt tolerance. *EMBO Journal*, 22:2004-2014.
- Bethenod T., 1980. L'eau et les hormones. Éd. INRA, Paris. pp150-152.
- Bissati S., Djerroudi O., Mehani M., Belkhodja M., 2011. Effet du stress salin sur deux paramètres hydriques (turgescence et transpiration) de jeunes plants de *Atriplex halimus* et *Atriplex canescens*. *Review in Biological Research*, 1:31-38.
- Blamey M., GreyWilson C., 2009. Toutes les fleurs de Méditerranée. Éd. Delachaux et Niestlé, Paris. 560p.
- Blum A., 1988. Salinity resistance. In Plant Breeding for Stress Environments. *Florida: CRC Press*, 163-179.
- Blum A., 1996. Crop responses to drought and interpretation of adaptation. *Plant growth Regulation*, 20:135-148.
- Blumwald E., 2000. Salt transport and salt resistance in plants and other organisms. *Current Opinion in Cell Biology*, 12:431-434.
- Bohnert H.J., Jensen R.G., 1996. Strategies for engineering water stress tolerance in plants. *Trends in Biotechnology*, 14:89-97.
- Bohnert H.J., Shen B., 1999. Transformation and compatible solutes. *Scientia Horticultorae*, 78:237-260.
- Bolingue W., 2009. Rôle de la protéine MtSNF4b dans la post-maturation des graines de *Medicago truncatula*. Thèse de Doctorat, Université d'Anger, 362p.
- Bonciarelli F., Talamucci P., Pazzi G., Santilocchi R., 1984. Regolarizzazione del calendario di produzione foraggera nelle aree marginal. *CNR Advances: Terre margina*, 18-39.

- Botia P., Carvagal M., Cerda A., Martinez V., 1998. Response of eight *Cucumis melo* cultivars to salinity during germination and early vegetative growth. *Journal of Agronomy*, 18(9):503-13.
- Bouda S., Haddioui A., 2011. Effet du stress salin sur la germination de quelques espèces du genre *Atriplex*. *Journal of Nature and Technology*, 5:72-79.
- Boughalleb F., Abdellaoui R., Ben-Brahim N., Neffati M., Hadded Z., 2015. Anatomical adaptations of the desert species *Stipa lagascae* against drought stress. *Biologia*, 70(8):1042-1052.
- Boughalleb F., Abdellaoui R., Ben-Brahim N., Neffati M., 2014. Anatomical adaptations of *Astragalus gombiformis* Pomel. under drought stress. *Central European Journal of Biology*, 9(12):1215-1225.
- Boughalleb F., Denden M., Ben Tiba B., 2009. Anatomical changes induced by increasing NaCl salinity in three fodder shrubs, *Nitraria retusa*, *Atriplex halimus* and *Medicago arborea*. *Acta Physiologiae Plantarum*, 31:947-960.
- Boughalleb F., Denden M., Ben Tiba B., 2009. Photosystem II photochemistry and physiological parameters of three fodder shrubs, *Nitraria retusa*, *Atriplex halimus* and *Medicago arborea* under salt stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 31:463-476.
- Boulghalagh J., Berrichi A., El Halouani H., Kouddane N.E., 2008. Impact de la salinité sur la germination et la croissance in vitro du Jojoba (*Simmondsia chinensis* Link Schneider). *Cahiers UAE*, 2(3):25-30.
- Boyer J.S., 1982. Plant productivity and environment. *Science New series*, 218:443-448.
- Brunel B., Domergue O., Maure L., Brahic P., Galiana A., Josa R., De Lajudie P., Attallah T., Risk H., El-Hajj S., Cleyet-Marel J.C., 2007. Potentialité des associations symbiotiques plantes-micro-organismes pour réhabiliter des sites fortement dégradés en milieu méditerranéen. *Cahiers Agricultures*, 16(4):324-329.
- Brunel S., 2008. Caractérisation écophysiological de différents génotypes de *Medicago truncatula* au cours des phases de germination et de croissance hétérotrophe. Thèse de Doctorat, Université d'Anger, 278p.
- Burnat É., 1892. Flore des Alpes-Maritimes. Flore des Alpes maritimes; ou, Catalogue raisonné des plantes qui croissent spontanément dans la chaîne des Alpes maritimes. Éd. Georg et Cie, Genève. 316p.
- Cachorro P., Ortiz A., Barcelo A.R., Cerda A., 1993. Lignin deposition in vascular tissues of *Phaseolus vulgaris* roots in response to salt stress. *Phyton : annales rei botanicae*, 33:33-40.
- Campos I.V., Assuncao M.V., 1990. Saline and hydric stress in the germination and vigour of rice. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 25:857-862.
- Casals M.L., 1996. Introduction des mécanismes de résistance à la sécheresse dans un modèle dynamique de croissance et de développement du blé dur. Thèse de doctorat, INRA Paris-Grignon, 93p.
- Castanon J.I.R., Flores M.P., Ventura M.R., 1999. Nutritive value of forage shrubs: *Bituminaria bituminosa*, *Acacia salicina* and *Medicago arborea*, in Etienne M. Dynamics and sustainability of Mediterranean pastoral systems. *CIHEAM, Cahiers Options Méditerranéennes*, 39:171-173.
- Castonguay Y., Nadeau P., Lechasseur P., Chouinard L., 1995. Differential Accumulation of Carbohydrates in Alfalfa Cultivars of Contrasting Winterhardiness. *Crop Physiology and Metabolism*, 35(2):509-516.

- Cattivelli L., Rizza F., Badeck F.W., Mazzucotelli E., Mastrangelo A.M., Francia E., Mare C., Tondelli A., Stanca M., 2008. Transcriptome analysis of cold acclimation in barley *Albina* and *Xantha* mutants. *Plant physiology*, 141:257-270.
- Çavuşoğlu K., Kılıç S., Kabar K., 2007. Some morphological and anatomical observations during alleviation of salinity (NaCl) stress on seed germination and seedling growth of barley by polyamines. *Acta Physiologia Plantarum*, 29(6):551-557.
- Çavuşoğlu K., Kılıç S., Kabar K., 2008. Effects of some plant growth regulators on stem anatomy of radish seedlings grown under saline (NaCl) conditions. *Plant, Soil and Environment*, 54(10):428-433.
- Cerezo M., Garcia-Agustin P., Serna M.D., Primo-Millo E., 1997. Kinetics of nitrate uptake by *Citrus* seedlings and inhibitory effects of salinity. *Plant Science*, 126(1):105-112.
- Chaker A., 2003. Etude de l'effet des stress thermiques (chaleur et froid) sur quelques paramètres physiologiques et biochimiques du blé dur (*Triticum durum* Desf). Thèse de Doctorat d'État en Sciences, Université Badji Mokhtar, Annaba, 25-62.
- Chartzoulakis K., Klapaki G., 2000. Response of two greenhouse pepper hybrids to NaCl salinity during different growth stages. *Scientia Horticultura*, 86:247-260.
- Chase M.W., Reveal J.L., 2009. A phylogenetic classification of the land plants to accompany APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 161:122-127.
- Chaves M.M., 1991. Effect of water deficits on carbon assimilation. *Journal of Experimental Botany*, 42:1-16.
- Chaves M.M., Maroco J.P., Pereira J.S., 2003. Understanding plant responses to drought - from genes to the whole plant. *Functional Plant Biology*, 30:239-264.
- Chaves M.M., Pereira J.S., Maroco J.P., Rodrigues M.L., Ricardo C.P.P., Osório M.L., Carvalho I., Faria T., Pinheiro C., 2002. How plants cope with water stress in the field. *Photosynthesis and growth Annals of Botany*, 89:907-916.
- Chebouti A., Abdelguerfi A., 2000. Effet du stress hydrique sur la production de gousses et de graines chez quelques populations de *Medicago truncatula* (L) Gaertn. Institut National Agronomique EI-Harrach, Algérie. pp237-240.
- Chen M., Tang H., Ma H., Holland T.C., Kys N.G., Salley S.O., 2011. Effect of nutrients on growth and lipid accumulation in the green algae *Dunaliella tertiolecta*. *Bioresource Technology*, 102:1649-1655.
- Chen T.H.H., Murata N., 2002. Enhancement of tolerance of abiotic stress by metabolic engineering of betaines and other compatible solutes. *Current Opinion in Plant Biology*, 5:250-257.
- Chenafi H., Aïdaoui A., Bouzerzour H., Saci A., 2006. Yield response of durum wheat (*Triticum durum* Desf.) cultivar Waha to deficit irrigation under semi-arid growth conditions. *Asian Journal of Plant Science*, 5:854-860.
- Chérifi K., Boufous E.H., El Mousadik A., 2011. Diversity of salt tolerance during germination in *Medicago ciliaris* L. and *Medicago polymorpha* L. *Atlas Journal of Plant Biology*, 1(1):6-12.
- Chinnusamy V., Jagendorf A., Zhu J.K., 2005. Understanding and improving salt tolerance in plants. *Crop Science*, 45:437- 448.
- Chinnusamy V., Schumaker K., Zhu J.K., 2004. Molecular genetics perspectives on cross-talk and specificity in abiotic stress signalling in plants. *Journal of Experimental Botany*, 55:225-236.

- Chouaki S., Bessedik F., Chebouti A., Maamri F., Oumata S., Kheldoun S., Hamana M. F., Douzene M., Bellah F., Kheldoun A., 2006. Deuxième rapport national sur l'état des ressources phytogénétiques, INRAA. 92p.
- Chretien D., 1992. La résistance au sel chez le Jojoba (*Simmondsia chinensis* LS.) : croissance et modifications du contenu lipoprotéique de calcs cultivées en présence d'une teneur élevée en NaCl. Thèse de Doctorat, Université de Paris-VI, 144p.
- Clarke J.M., 1986. Effect of leaf rolling in leaf water loss in *Triticum* ssp. *Canadian Journal of Plant Science*, 66:885-891.
- Clarke J.M., Mc.Caig T.N., 1982. Excised leaf water retention capability as an indicator of drought resistance of *Triticum* genotypes. *Canadian Journal of Plant Science*, 62:571-576.
- Claworthy J.N., 1984. Recherche sur le pâturage au Zimbabwe. Recherche sur l'amélioration des pâturages en Afrique Orientale et australe. Comptes rendus d'un atelier tenu à Harara, Zimbabwe, 17-21 septembre 1984. Publication du CRDI Canada, pp25-61.
- Colmer T.D., Epstein E., Dvorak J., 1995. Differential solute regulation in leaf blades of various ages in salt sensitive wheat and salt tolerant wheat X *Lophopyrum elongatum* (Host). *Plant Physiology*, 108:1715-1724.
- Cram W.J., 1976. Negative feedback regulation of transport in cells. The maintenance of turgor, volume and nutrient supply. In: Luttge U., Pitman M.G., 1994. *Encyclopaedia of Plant Physiology*, Springer-Verlag, BerlinCrete et Rossini.
- Crété P., 1965. Précis de botanique, Tome II : Systématique des Angiospermes. Éd. Masson, Paris. 429p.
- Dalechamps J., 1587. *Historia generalis plantarum in libros XVII*. Éd. Apud G. Rovillum, Lugduni.
- Daoud Y., Halitim A., 1994. Irrigation et salinisation au Sahara Algérien. *Sécheresse*, 5:151-161.
- Davies W.J., Zhang J., 1991. Root signals and the regulation of growth and development of plants in drying soil. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 42:55-76.
- De Bomare V., Christophe J., 1807. Dictionnaire d'histoire naturelle des animaux, des végétaux et des minéraux, Tome IV. Éd. Brunet, Paris. 708p.
- De Koning C.T., Huches S., Lachlan D.M<sup>c</sup>, Duncan A.J., 2000. *Medicago arborea*- a leguminous fodder shrub for low rainfall farming systems. *Cahiers Options Méditerranéennes*, 435-438.
- Dear B.S., Moore G.A., Huges S.J., 2003. Adaptation and potential contribution of temperate perennial legumes to the southern Australian Wheatbelt: a review. *Australian Journal of Experimental Agricultural*, 43:1-18.
- Debez A., Chaibi W., Bouzid S., 2001. Effet du NaCl et de régulateurs de croissance sur la germination d'*Atriplex halimus* L. *Cahiers d'Agriculture*, 10:135-8.
- Déjardin A., Sokolov L.N., Kleczkowski L.A., 1999. Sugar/osmoticum levels modulate differential abscisic acid-independent expression of two stress-responsive sucrose synthesis genes in *Arabidopsis*. *Biochemistry Journal*, 344:503-509.
- Delgado M.J., Garrido J.M., Ligeró F., Liuch C., 1993. Nitrogen fixation and carbon metabolism by nodules and bacteroids of pea plants under sodium chloride stress. *Plant Physiology*, 89(4):824-829.

- Demarly Y., 1984. Mécanismes génétiques de l'adaptation chez les végétaux. *Bulletin of Social Botany*, 131:125-137.
- Demolon A., 1968. Croissance des végétaux. Éd. Dunod, Paris. 584p.
- Deng B., Du W., Liu C., Sun W., Tian S., Dong H., 2012. Antioxidant response to drought, cold and nutrient stress in two ploidy levels of tobacco plants: low resource requirement confers polytolerance in polyploids. *Plant Growth Regulation*, 66(1):37-47.
- Derbel S., Chaieb M., 2007. Germination behavior and seedling establishment of two desert shrubs, *Calligonum polygonoides* (*Polygonaceae*) and *Spartidium saharae* (*Fabaceae*) under experimental conditions. *Acta Botanica Gallica*, 154(4):533-544.
- Devron J., Sifi B., 2003. Fixation symbiotique de l'azote et développement durable dans le bassin méditerranéen. Éd. Quae. 417p.
- Dianati Tilaki G.A., Behzad B., Behnam B., 2009. Effect of salt and water stress on the germination of Alfalfa (*Medicago sativa* L.) seeds. *African Journal of Agronomy*, 2:158-164.
- Dietz K.J., Tavakoli N., Kluge C., Mimura T., Sharma S., Harris G., Chardonnens A., Golldack D., 2001. Significance of the V-type ATPase for the adaptation to stressful growth conditions and its regulation on the molecular and biochemical level. *Journal of Experimental Botany*, 52:1969-1980.
- Dodd G.L., Donovan L.A., 1999. Water potential and ionic effects on germination and seedling growth of two cold desert shrubs. *American Journal of Botany*, 86(8):1146-1153.
- Dolatabadian A., Sanavy S.A.M., Ghanati F., 2011. Effect of abiotic stress, Salinity on growth, xylem structure and anatomical characteristics of soybean. *Notulae Scientia Biologicae*, 3:41-45.
- Dommergues Y., Duhoux E., Dien H.G., 1990. Les arbres fixateurs d'azote. CIRAD, ESPACES, FAO-IRD, pp132-134.
- Dörfling K., Askman A., 1989. Relationship between frost tolerance and formation of proline, abscisic acid and specific proteins in cold hardened winter abscisic acid and specific proteins in cold hardened winter wheat (*Triticum aestivum*) varieties. XII Eucarpia wheat (*Triticum aestivum*) varieties, XII Eucarpia Congress.
- Dreier W., Göring M., 1974. Der Einfluss hoher Salzkonzentration auf verschiedene physiologische Parameters von Maiswurzeln. *Wiss. Z. Humboldt Universität Berlin, Reihe/Math. Naturwiss*, 23:641-644.
- Drevon J.J., Abdelly C., Amarger N., Aouani E.A., Aurag J., Gherbi H., Jebara M., Liuch C., Payre H., Schump O., Soussi M., Sifi B., Trabelsi M., 2001. An interdisciplinary research strategy to improve symbiotic nitrogen fixation and yield of common bean (*Phaseolus vulgaris*) in salinised areas of the Mediterranean basin. *Journal of Biotechnology*, 91:257-268.
- Dubos C., 2001. Rse moléculaire de jeunes plants de pin maritime soumis à un stress hydrique en milieu hydroponique. Thèse de doctorat, Université Henri Poincaré, Nancy-I, France.
- Duchaufour P., 1983. Pédologie. Pédogénèse et classification. Éd. Masson. pp468-470.
- Duhamel., 1809. Traité des arbres et arbustes que l'on cultive en France. Éd. Étienne M. Tome IV, Paris. 250p.
- Durand J., 2007. Les effets du déficit hydrique sur la plante : aspects physiologiques. *Fourrages*, 190:181-195.

Duru M., Langlet A., 1993. Effets de la compétition pour la lumière et du déficit en eau sur l'évolution du rapport feuille/tige de la luzerne. *Revue Fourragères*, 134:199-204.

Dutuit P., 1999. Étude de la diversité biologique de l'*Atriplex halimus* pour le repérage *in vitro* et *in vivo* d'individus résistants à des conditions extrêmes de milieu et constitution de clones. Thèse de doctorat, Université Paris-Sud, 138p.

Eckhart N.A., 2002. Abscisic acid biosynthesis gene underscores the complexity of sugar, stress, and hormone interaction. *Plant cell*, 14:2645-2649.

EL Boutahiri N., Alami Thami I., Ibriz M., Alfaiz C., 2002. The effect of salinity and high temperature on biomass production of some alfalfa landraces. *Options Méditerranéennes*, 79:293-297.

El Hamrouni A., Sarson M., 1976. Results of an experiment on the carrying capacity of a plot of *Medicago arborea* L. INRF, Note de Recherche N°14, Tunis. INFR.

El Keblawy A., Al Shamsi N., 2008. Salinity, temperature and light affect seed germination of *Haloxylon salicornicum*, a common perennial shrub of the Arabian deserts. *Journal of Seed Science and Technology*, 36(3):679-688.

El Mekkaoui M., 1990. Étude des mécanismes de tolérance à la salinité chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.) et l'orge (*Hordium vulgare* L.) : recherches des tests précoces de sélection. Thèse de doctorat d'État en Sciences Agronomiques, Université de Montpellier, 191p.

Elboutahiri N., Thami Alami I., Ibriz M., and Alfaiz C., 2008. The effect of salinity and high temperature on biomass production of some alfalfa landraces. In : Porqueddu C., Tavares de Sousa M.M. Sustainable Mediterranean grasslands and their multi-functions. Zaragoza : CIHEAM / FAO / ENMP / SPPF, pp293-297. (Options Méditerranéennes : Série A. Séminaires Méditerranéens; N°79). 12. Meeting of the Sub- Network on Mediterranean Forage Resources of the FAO-CIHEAM Inter-regional Cooperative Research and Development Network on Pastures and Fodder Crop, 2008/04/09-12, Elvas, Portugal.

Elgin J.H., Ostazeski S.A., 1982. Evaluation of selected Alfalfa Cultivars and related *Medicago* species for resistance to Race 1 and 2 of Anthracnose. *Crop Science*, 22(1):39-42.

Estrada-Campuzano G., Miralles D.J., Slafer G.A., 2008. Genotypic variability and response to water stress of pre and post anthesis phases in triticale. *European Journal of Agronomy*, 28:171-177.

EURISCO. 2013. FAQs. What is a NI? [Online <http://eurisco.ipk-gatersleben.de/apex/f?p=103:8:0::NO::>]

F.A.O., 1988. Programme de coopération technique. Programme de développement des productions fourragères et de l'élevage. Rapport de synthèse, 45p.

Farooq M., Wahid A., Kobayashi N., Fujita D., Basra S.M.A., 2009. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agronomy for Sustainable Development*, 29(1):185-212.

Fernandes A., Santos de Fatima M., 1971. Contribution a la connaissance cytotoxonomique des spermatophyta du Portugal. IV. Leguminosae. *Boletim da Sociedade Broteriana*, 45:177-225.

Filippi O., Aronson J., 2010. Plantes invasives en région méditerranéenne : quelles restrictions d'utilisation préconisée pour les jardins et les espaces verts ? *Ecologia Mediterranea*, Montpellier. 36p.

Flexas J., Bota J., Loreto F., Cornic G., Sharkey T.D., 2004. Diffusive and metabolic limitations to photosynthesis under drought and salinity in C3 plants. *Plant Biology*, 6(3):269-279.

- Flores P., Botella M.A., Martinez V., Cedra A., 2000. Ionic and osmotic effects on nitrate reductase activity in tomato seedlings. *Journal of Plant Physiology*, 156:552-557.
- Flowers T.J., Salama F.M., Yeo A.R., 1988. Water use efficiency in rice (*Oryza sativa* L.) in relation to resistance to salinity. *Plant, Cell and environment*, 11(6):453-459.
- Font Quer P., 1924. Formes Noves de Plantes. Memòries Museu Ciències Naturals Barcelona, Sèrie Botànica, Barcelona.
- Ford C.W., 1984. Accumulation of low molecular weight solutes in water stressed tropical legumes, *Phytochemistry*, 23:1007-1015.
- Forni C., Duca D., Glick B.R., 2017. Mechanisms of plant response to salt and drought stress and their alteration by rhizobacteria. *Plant Soil*, 410:335-356.
- Fournier P., 1961. Mechanisms of infection thread elongation in root hairs of *Medicago truncatula* and dynamic interplay with associated rhizobial colonization. *Plant Physiology*, 148:1985-1995.
- Francisco J.S., Manzanares M., De Andres E.F., Tenorio J.L., Ayerbe L., 1998. Turgor maintenance, osmotic adjustment and soluble sugar and proline accumulation in 49 pea cultivars in response to water stress. *Field Crops Research*, 59:225-235.
- Gate P., 1995. Écophysiologie du blé. Éd. Lavoisier. Technique et Documentation, Paris. 419p.
- Gaucher G., Burdin., 1974. Géologie, géomorphologie et hydrologie des terrains salés. Presses Universitaire de France, 230p.
- Geigenberger P., Reimholz R., Geiger M., Merlo L., Canale V., Stitt M., 1997. Resolution of sucrose and starch metabolism in potato tubers in response to short-term water deficit. *Planta*, 201:502-518.
- Ghanem M.E., Albacete A., Martínez-Andújar C., Acosta M., Romero-Aranda R., Dodd I.C., Lutts S., Pérez-Alfocea F., 2008. Hormonal changes during salinity-induced leaf senescence in tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *Journal of Experimental Botany*, 59:3039-3050.
- Ghassemi F., Jakeman A.J., Nix H.A., 1995. Salinization of land and water resources: human causes, extent, management, and case studies. University of New South Wales, Sydney.
- Ghimpu M.V., 1930. Étude cariologique des espèces de *Medicago*. *Archives d'anatomie microscopique et de morphologie expérimentale*, 26:207-215.
- Giardi M.T., Cona A.B., Geiken T., Kucera J., Masojidek A.K., Mattoo., 1996. Long- term drought stress induces structural and functional reorganization of Photosystem II. *Planta*, 199:118-125.
- Gill K.S., 1979. Effects of soil salinity on grain filling and grain development in barley. *Biologia Plantarum*, 21:241-244.
- Gill S.S., Tuteja N., 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48:909-930.
- Gimeno J., Gadea J., Forment J., Pérez-Valle J., Santiago J., Martínez-Godoy M., Yenush L., Bellés J., Brumós J., Colmenero-Flores J., Talón M., Serrano R., 2009. Shared and novel molecular responses of mandarin to drought. *Plant Molecular Biology*, 70:403-420.
- González-Andrés F., Chávez J., Montañez G., Ceresuela J-L., 1999. Characterisation of woody *Medicago* (sect. *Dendrotelis*) species, on the basis of seed and seedling morphometry, *Genetic Resources and Crop Evolution*, 46:505-519.

- Gorham E., 1955. Vegetation and the alignment of Environmental Forces. *Ecology*, 36(3):514-515.
- Gouny P., Cornillon P., 1973. La salinité, aspects théoriques, modes de contrôle. *Revue Horticole*, 142:3-7.
- Greenway H., Munns R., 1980. Mechanisms of salt tolerance in non-halophytes. *Annual Review of Plant Physiology*, 31:149-190.
- Grossheim A.A., 1945. *Medicago borealis*. In Komarov. Éd. Fl. Russ, 11:391.
- Guan B., Zhou D., Zhang H., Tian Y., Japhet W., Wang P., 2009. Germination responses of *Medicago ruthenica* seeds to salinity, alkalinity and temperature. *Journal of Arid Environments*, 73(1):135-138.
- Guerrier G., 1983. Capacité germinative des semences en fonction des doses graduelles en NaCl. Importance des transferts sur milieux sodés ou témoin. *Agricultural Salinity Assessment and Management*, 113-137.
- Guerrouj K., Bouterfas M., Abdelmoumen H., El Idrissi M.M., 2016. Diversity of Bacteria Nodulating *Medicago arborea* in the Northeast Area of Morocco. *Chiang Mai Journal of Science*, 43(3):440-451.
- Gueta-Dahan Y., Yaniv Z., Zilinskas B.A., Ben-Hayyim G., 1997. Salt and oxidative stress: similar and specific responses and their relation to salt tolerance in *Citrus*. *Planta*, 203(4):460-469.
- Gulias J., Lefi E., Medrano H., Ribas-Carbó M. Soil water deficit effects on photosynthesis, water use efficiency and growth of three Mediterranean shrubs: *Medicago arborea*, *Medicago citrina* and *Medicago strasserii*. In : Ferchichi A. (comp.), Ferchichi A. (collab.). Réhabilitation des pâturages et des parcours en milieux méditerranéens. Zaragoza : CIHEAM, 2004. pp65-68 (Cahiers Options Méditerranéennes, N°62)
- Gunn C.R., Skrdla W.H., Spencer H.C. 1978. Classification of *Medicago sativa* L. Using legume characters and flower colors. *US Department of Agriculture, Agricultural Research Service-Technology Bulletin*, 1574.
- Hacke U.G., Sperry J.S., Wheeler J.K., Castro L., 2006. Scaling of angiosperm xylem structure with safety and efficiency. *Tree Physiology*, 26:689-701.
- Hajiboland R., Norouzi F., Poschenrieder C., 2014. Growth, physiological, biochemical and ionic responses of pistachio seedlings to mild and high salinity. *Trees*, 28:1065-1078.
- Hajlaoui H., Denden M., Bouslama M., 2007. Étude de la variabilité intraspécifique de tolérance au stress salin du pois chiche (*Cicer arietinum* L.) au stade de germination. *Tropicultura*, 25(3):168-173.
- Halmi S., 2010. Contribution à l'étude cytogénétique de quelques espèces du genre *Medicago* L. Mémoire de magister, Université de Constantine, 57p.
- Hamdy A., 1999. Saline irrigation assessment for a sustainable use. Saline irrigation. Halophyte production and utilization. Project N°. 18 CT 96-0055, pp152-26.
- Hamida-Sayari A.R., Gargouri-Bouziid A., Bidani L., Jaoua A., Savoure A., Jaoua S., 2005. Overexpression of pyrroline-5-carboxylate synthetase increases proline production and confers salt tolerance in transgenic potato plants. *Plant Science*, 169:746-752.
- Hamidi H., Safarnejad A., 2010. Effect of Drought Stress on Alfalfa Cultivars (*Medicago sativa* L.) in Germination Stage. *American-Eurasian Journal of Agriculture and Environmental Sciences*, 8(6):705-709.

- Hammed M., Mansoor U., Ashraf M., Rao R., 2002. Variation in Leaf Anatomy in Wheat Germplasm from Varying Drought-Hit Habitats. *International Journal of Agriculture and Biology*, 4(1):12-16.
- Hamoud M., 2015. Evaluation of Faba Bean Core Collection under Heat Prone Environment.
- Hamoud M., 2015. Impact of Molecular Technologies on Faba Bean (*Vicia faba* L.) (2012). *Breeding Strategies*, 132-166.
- Hamrouni L., Mohsen H., Abdelly C., Ghorbel A., 2011. Exclusion du chlorure et inclusion du sodium : Deux mécanismes concomitants de tolérance à la salinité chez la vigne sauvage *Vitis vinifera* subsp. *sylvestris* (var. Séjnéne). *Base*, 15:387-400.
- Hamza M., 1980. Réponse des végétaux à la salinité. *Physiologie Végétale*, 18(1):69-81.
- Hanks R.J., Rasmussen V.P., 1982. Predicting crop production as related o plant water stress. *Advanced Agronomy*, 35:193-205.
- Hanson A.A., Barnes, D.K., Hill J.R., 1988. Alfalfa and alfalfa improvement. Éd. Agronomy. 1084p.
- Hare P.D., Cress W.A., 1997. Metabolic implications of stress- induced proline accumulation in plants. *Plant Growth Regulation*, 21:79-102.
- Hare P.D., Cress W.A., Van Staden J., 1998. Dissecting the role of osmolyte accumulation during stress. *Plant, Cell and Environment*, 21:535-553.
- Harris D., Tripathi R.S., Joshi A., 2002. On-farm seed priming to im- prove crop establishment and yield in dry direct-seeded rice, in: Pandey S., Mortimer M., Wade L., Tuong T.P., Lopes K., Hardy B. Éd. Direct seeding: Research Strategies and Opportunities, International Research Institute, Manila, Philippines, pp231-240.
- Hassani A., Dellal A., Belkhdja M., Kaid- Harche M., 2008. Effet de la Salinité Sur L'eau et Certains Osmolytes Chez L'orge (*Hordeum Vulgare*). *European Journal of Scientific Research*, 23(1):61-69.
- Heller R., Esnault R., Lance C., 1998- Physiologie végétale, Tome II: Nutrition, Éd. Dunod. 323p.
- Hermez F., 1996. Étude du comportement de quelques variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf.) et l'orge (*Hordum vulgare* L.) Vis-à-vis du stress hydrique. INA. EL Harrach, Alger. pp5-21.
- Hernandez P., Martin A., Dorado G., 1999. Development of SCARs by directs sequencing of RAPD products: A practical tool for the introgression and marker-assisted selection of wheat. *Molecular Breeding*, 5:245-253.
- Hickman S.C., 1993. The Jepson Manual: Higher Plants of California. University of California Press.
- Higazy M., Shehata M., Allam A., 1995. Free proline relation to salinity of three sugar beet varieties. *Egyptian Journal of Agricultural Research*, 73:175-89.
- Hireche Y.A., 2006. Réponse de la luzerne (*Medicago sativa* L) au stress hydrique et à la profondeur de semis. Mémoire de Magister, Université Al Hady Lakhdar, Batna, 83p.
- Hisano H., Kanazawa A., Kawakami A., Yoshida M., Shimamoto Y., Yamada T., 2004. Transgenic perennial ryegrass plants expressing wheat fructosyltransferase. *Plant Science*, 167(4):861-868.
- Hisano H., Sampaio F.G., Barros M.M., 2008. Composição nutricional e digestibilidade aparente da levedura íntegra, da levedura autolisada e da parede celular pela tilápia-do-nilo. *Ciência Animal Brasileira*, 9(1):43-49.

- Hoagland D.R., Arnon D.I., 1938. The water-culture method for growing plants without soil. College of Agriculture, Berkeley, University of California. USA.
- Hoffman G.J., Catlin P.B., Mead R.M., Johnson R.S., Francois L.E., Goldhhhamer D., 1989. Yield and foliar injury responses of mature plum trees to salinity. *Irrigation Science*, 10:215-219.
- Höglund S., Larsson S., 2005. Abiotic induction of susceptibility in insect-resistant willow. *Entomology Experimental Application*, 115:89-96.
- Hopkins W.G., 2003. Physiologie végétale. Éd. De Boeck, Paris. 514p.
- Hsiao T.C., 1973. Plant responses to water stress. *Annual Review of Plant Physiology*, 24:519-570.
- Huang G.T., Ma S.L., Bai L.P., Zhang L., Ma H., Jia P., Liu J., Zhong M., Guo Z.F., 2012. Signal transduction during cold, salt, and drought stresses in plants. *Molecular Biology Report*, 39:969-987.
- Hurkman W.J., Rao H.P., Tanaka C.K., 1991. Germin-like polypeptides increase in barley roots during salt stress. *Plant Physiology*, 97:366-374
- Hwang Y.H., Chen S.C., 1995. Anatomical responses in *Kandelia candel* L. Druce seedlings growing in the presence of different concentrations of NaCl. *Botanical Bulletin-Academia Sinica*, 36:181-188.
- ICARDA Annual Report., 1997. Performance of some forage shrubs in cold environments. pp43-44.
- Iqbal N., Umar S., Khan N.A., Khan M.I.R., 2014. A new perspective of phytohormones in salinity tolerance: regulation of proline metabolism. *Environmental and Experimental Botany*, 100:34-42.
- Irigoyen J.J., Emerich D.W., Sanchez-Diaz M., 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Plant Physiology*, 84:55-60.
- Irwin J.A.G., Loyd D.L., Lowe K.F., 2001. Lucerne biology and genetics improvement: an analysis of past activities and future goals in Australia. *Australian Journal of Agricultural Research*, 52:699-712.
- Ismail A.M.A., 1990. Germination ecophysiology in populations of *Zygophyllum quatarense* from contrasting habitats: Effect of temperature, salinity and growth regulators with special reference to fuscococcin. *Journal of Arid Environments*, 18(2):185-194.
- Iyengar E.R.R., Reddy M.P., 1996. Photosynthesis in highly salt-tolerant plants. In: Pesserkali M., Éd. Handbook of photosynthesis. Marshal Dekar, Baten Rose, USA. pp897-909.
- Jabnoute M., 2008. Adaptation des plantes au stress Salin : caractérisation de la transporteur de sodium et potassium de la famille HKT chez le riz. Thèse doctorat, Université de Montpellier II.
- Jackson R.B., Sperry J.S., Dawson T.E., 2000. Root water uptake and transport: using physiological processes in global predictions. *Trends in Plant Science*, 5:482-488.
- Jaleel C.A., Sankar B., Sriaharan R., Panneerselvam R., 2008. Soil salinity alters growth, chlorophyll content, and secondary metabolite accumulation in *Catharanthus roseus*. *Turkish Journal of Biology*, 32:79-83.
- James R.A., Rivelli A.R., Munns R., Von Caemmerer S., 2002. Factors affecting CO<sub>2</sub> assimilation, leaf injury and growth in salt-stressed durum wheat. *Functional Plant Biology*, 29:1393-1403.
- Jaouadi W., Hamrouni L., Hanana M., Khouja M.L., 2009. Analyse de la capacité germinative de quelques espèces d'acacia exotique. *Journal of Plant Physiology*, 51:914-916.

- Jaouadi W., Hamrouni L., Souayah N., Khouja M.L., 2010. Étude de la germination des graines d'*Acacia tortilis* sous différentes contraintes abiotiques. *Biotechnology. Agronomy. Sociology. Environment*, 14(4):643-652.
- Johanson D.A., Richards R.A., Turner N.C., 1973. Yield water relation gas exchange and surface reflectance on near- isogenic wheat lines differing in glaucousness. *Crop Science*, 23:318-325.
- Jones H.G., Jones M.B., 1989. Introduction: some terminology and common mechanisms, in *Plants under Stress*. Cambridge University Press, Cambridge. pp1-10.
- Jones M.M., Osmond B., Turner N.C., 1980. Accumulation of solutes in leaves of sorghum and sunflower in response to water deficits. *Australian Journal of Plant Physiology*, 7:193-205.
- Jones R.A., 1987. Genetic advances in salt tolerance. In Evans D.J., Jones R.A. *Tomato Biotechnology*. Éd. A. R. Liss, New York. pp125-137.
- Judd W.S., Campbell C.S., Kellogg E.A., Stevens P.F., Donoghue M.J., 2002. *Plant Systematics, A Phylogenetic Approach*. Éd. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, USA.
- Kabar K., 1986. Alleviation of salinity stress by growth regulators on seed germination. *Journal of Plant Physiology*, 128:79-83.
- Kadi Z., 2012. Selection de l'orge (*Hordeum vulgare* L.) pour la tolérance aux stress abiotiques. Doctorat en Sciences, Université Ferhat Abbas, Sétif, 126p.
- Kadik B., 1974. Les plantations semi-forestières et leurs possibilités dans l'aménagement pastoral. I.N.R.F. 18p.
- Kameli A., Losel D.M., 1996. Growth and sugar accumulation in durum wheat plants under water stress. *New Phytology*, 132:57-62.
- Kao R.K., Jaiswal W., Kolch., Landreth G.E., 2001. Identification of the mechanisms regulating the differential activation of the mapk cascade by epidermal growth factor and nerve growth factor in pc12 cells. *Journal of Biology and Chemistry*, 276:18169-18177.
- Karoune S., Kechebar M.S.A., Halis Y., Djellouli A., Rahmoune C., 2017. Effet du stress salin sur la morphologie, la physiologie et la biochimie d'*Acacia albida*. *Journal Algérien des Régions Arides*, 14:60-73.
- Kategile J.A., 1984. Recherche sur l'amélioration des pâturages en Afrique orientale et australe. Comptes rendus d'un atelier tenu à Harare, Zimbabwe, 545p.
- Katembe W.J., Ungar I.A., Mitchell J.P., 1998. Effect of Salinity on Germination and Seedling Growth of Two *Atriplex* Species (*Chenopodiaceae*). *Annal of Botany*, 82:167.
- Kaur N., Gupta A.K., 2005. Signal transduction pathways under abiotic stress in plants. *Current Science*, 88(11):1771-1779.
- Kavi Kishor P.B., Sreenivasulu N., 2014. In proline accumulation per se correlated with stress tolerance or is proline homeostasis a more critical issue? *Plant, cell and environment*, 37:300-311.
- Kaviani B., 2008. Proline accumulation and growth of soybean callus under salt and water stress. *International Journal of Agriculture and Biology*, 10:221-223.
- Kawakami K., Umenab Y., Kamiyab N., Shen J., 2009. Location of chloride and its possible functions in oxygen-evolving photosystem II revealed by X-ray crystallography. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106:8567-8572.

- Kebbas S., Lutts S., Aid F., 2015. Effect of drought stress on the photosynthesis of *Acacia tortilis* subsp. *raddiana* at the young seedling stage. *Photosynthetica*, 53(2):1-11.
- Kennenni L., Van Der Maarel E., 1990. Population ecology of *Acacia tortilis* in the semi-arid region of the Sudan. *Journal of Vegetal Science*, 1(3):419-424.
- Khalifaoui J.L.B., 1990. Genetic adaptation to drought of cultivated species and consequences on plant breeding. *Bulletin de la Société Botanique Française*, 137:125-37.
- Khan M., Ungar I., 1984. The effect of salinity and temperature on the germination of polymorphic seeds and growth of *Atriplex triangularis* Willd. *American Journal of Botany*, 71(4):481-489.
- Khan M.A., 2001. Experimental assessment of salinity tolerance of *Ceriops tagal* seedlings and saplings from the Indus delta. *Pakistanian Journal of Botany*, 70:259-268.
- Khavarinejad R.A., Mostofi Y., 1998. Effects of NaCl on photosynthetic pigments, saccharides and chloroplast ultrastructure in leaves of tomato cultivars. *Photosynthetica*, 35:151-154.
- Kicheva M.I., Tsonev T.D., Popova L.P., 1994. Stomatal and non-stomatal limitations to photosynthesis in two wheat cultivars subjected to water stress. *Photosynthetica*, 30:107-116.
- Kinet J.M., Benrebiha F., Bouzid S., Lailhacar S., Dutuit P., 1998. Le réseau Atriplex. Allier biotechnologies et écologie pour une sécurité alimentaire accrue en régions arides et semi-arides. *Cahiers Agricultures*, 7(6):505-509.
- Kondracka K., 2013. Effect of drought and heat stresses on plant growth and yield: a review. *International Agrophysics*, 27:463-477.
- Krall J.P., Edward G.E., Andreo C.S., 1989. Protection of pyruvate, Pi-dikinase from maize against cold ability by compatible solutes. *Plant Physiology*. 89:280-285.
- Kramer J., Boyer J.S., 1995. Water Relation of Plants and Soils. Elsevier Science, Academic Press, San Diego. 495p.
- Kramer P.J., 1983. Water reactions of plants. Éd. Academic Press, New York. pp360-364.
- Kurban H., Saneoka H., Nehira K., Adilla R., Premachandra G.S., Fujita K., 1999. Effect of salinity on growth, photosynthesis and mineral composition in leguminous plant *Alhagi pseudoalhagi* Bieb. *Soil Science and Plant Nutrition*, 45:851-862.
- Kyani A., Niknam V., 2015. Comparative responses of two *Trigonella* species to salinity and drought stresses *in vitro*. *Progress in Biological Sciences*, 5(2):233-248.
- Laberche J.C., 2004. La nutrition de la plante In Biologie Végétale. Éd. Dunod, Paris. pp154-163.
- Lachhab I., Louahlia S., Laamarti M., Hammani K., 2013. Effect of salt stress on germination and enzyme activity in two genotypes of *Medicago sativa*. *International Journal of Innovative Applied Studies*, 3(2):511-516.
- Lachiheb K., Neffati M., Zid E., 2004. Aptitudes germinatives de certaines graminées halophytes spontanées de la Tunisie méridionale. *Options Méditerranéennes*, 62:89-93.
- Lafitte H., Price A., Courtois B., 2004. Yield response to water deficit in an upland rice mapping population: associations among traits and genetic markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 109:1237-1246.

- Lahrer F., Leport L., Petrivalsky M., Chappart M., 1993. Effectors for the osmo-induced proline response in higher plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 31:911-922.
- Lamaze T., Tousch D., Sarda X., Grignon C., Depigny-This D., Monneveux P., Belhassen E., 1994. Résistance de plantes à la sécheresse : mécanismes physiologiques. *Le sélectionneur Français*, 45:75-85.
- Laouar M., Kies N., Abdellaoui K., Bennour A., Bettahar N., Kadi S., Bouzza L., and Abdelguerfi A., 2001. Effet du stress hydrique sur le comportement physiologique de dix populations de *Medicago intertexta*. In : Delgado I., Loveras J., Quality in lucerne and medics for animal production. Zaragoza : CIHEAM, pp167-171. (Options Méditerranéennes : Série A. Séminaires Méditerranéens; N°45). 14. Réunion Eucarpia du Groupe *Medicago* spp. Zaragoza and Leida, Spain.
- Lapeyronie A., 1982. Les productions fourragères méditerranéennes-technique agricole et production méditerranéenne. Maisonneuve et Larose. pp307-315.
- Lauchli A., Epstein E., 1990. Plant responses to saline and sodic conditions. *Agricultural salinity assessment and management*, 71:113-137.
- Laumont P., L'Hermite M., 1953. Note sur la luzerne arborescente (*Medicago arborea*). *Annales de L'Institut National Agronomique-El Harrach*, 7(7):1-11.
- Laurent H., SANÉ P., 2007. Bioclimatologie : concept et application-Transfert d'eau et d'énergie. Éd. Quae, Paris. 246p.
- Lawlor D.W., 2002. Limitation to photosynthesis in water stressed leaves: stomata versus metabolism and the role of ATP. *Annales of Botany*, 89:1-15.
- Lawlor D.W., Cornic G., 2002. Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant, Cell and Environment*, 25:275-294.
- Le Houérou H.N., 1986. Salt-tolerant plants of economic value in the Mediterranean Basin. *Reclamation and Revegetation Research*, 5:319-341.
- Le Houérou H.N., 1995. Bioclimatologie et biogéographie des steppes arides du Nord de l'Afrique : diversité biologique, développement durable et désertisation. In : Le Houérou H.N. Éd. Bioclimatologie et biogéographie des steppes arides du Nord de l'Afrique : diversité biologique, développement durable et désertisation. Montpellier : CIHEAM, pp1-396. (Options Méditerranéennes : Série B. Etudes et Recherches; N°10)
- Lefi E., Gulias J., Ribas-Carbó M., and Medrano H., 2004. Soil water deficit effects on photosynthesis, water use efficiency and growth of three Mediterranean shrubs: *Medicago arborea*, *Medicago citrina* and *Medicago strasseri*. In : Ferchichi A. (comp.), Ferchichi A. (collab.). Réhabilitation des pâturages et des parcours en milieux méditerranéens. Zaragoza : CIHEAM, pp65-68. (Cahiers Options Méditerranéennes; N°62). 11. Réunion du Sous-Réseau Ressources Fourragères Méditerranéennes du Réseau Coopératif Interrégional FAO-CIHEAM de Recherche et Développement sur les Pâturages et les Cultures Fourragères, 2002/10/29- 2002/11/01, Djerba, Tunisia
- Lepoivre P., 2003. Phytopathologie. Éd. De Boek. 427p.
- Lesins K., Lesins I., 1979. Genus *Medicago* (*Leguminosae*). A taxonomic study, Junk. The Hague, Netherlands.
- Levigneron A., Lopez F., Vansuyt G., Berthomieu P., Fourcroy P., Casse-Delbart F., 1995. Les plantes face au stress salin. *Cahier Agriculture*, 4(4):263-273.

- Levitt J, 1980. Responses of plants to environmental stresses. Water radiation, salt and others stresses. Academic Press. pp365-406.
- Levy Y., Shalhevt J., 1990. Ranking the tolerance of *Citrus* rootstocks by juice analysis. *Scientia Horticulturae*, 45:89-98.
- Lewicki S.D., 1993. Évaluation des paramètres liés à l'état hydrique chez le blé dur et l'orge, soumis à un déficit hydrique modéré, en vue d'une application à la sélection de génotype tolérants. Thèse de Doctorat, Université de Montpellier-ENSA, France, 87p.
- Leye M.E.H., Macoumba D., Ndiaye F., Bassirou D., Maiguizo D.H., Tahir D., 2012. Effet de la mycorhization et de la salinité sur la croissance, les réponses biochimiques et la productivité de *Jatropha curcas* L., cultivée sous serre. *International Journal of Biological and Chemical Science*, 6(4):1741-1760.
- Li H., Li X., Zhang D., Liu H., Guan K., 2013. Effects of drought stress on the seed germination and early seedling growth of the endemic desert plant *Eremosparton songoricum* (Fabaceae). *Journal of Experimental and Clinical Sciences*, 4(12):89-101.
- Lichtenthaler H.K., 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methodes in Enzymology*, 148:350-382.
- Lin C.C., Kao C.H., 1995. NaCl stress in rice seedling: starch mobilization and the influence of gibberellic acid on seedling growth. *Botanical Bulletin-Academia Sinica*, 36:169-173.
- Linnaeus C., 1753. *Trigonella, Medicago*. *Plant Species*, 776-781.
- Lipiec J., Doussan C., Nosalewicz A., Kondracka K., 2013. Effect of drought and heat stresses on plant growth and yield: a review. *International-Agrophysics*, 27:463-477.
- Liu N., Shen Y., Huang B., 2015. Osmoregulants involved in osmotic adjustment for differential drought tolerance in different Bentgrass genotypes. *Journal of the American Society of Horticultural Science*, 140(6):605-613.
- Livingston D.P., Hinch D.K., Heyer A.G., 2009. Fructan and its relationship to abiotic stress tolerance in plants. *Cellular Molecular Life Science*, 66:2007-2023.
- Losavio N., Mastrorilli M., Rana G., Venezian Scarscia M.E., 1991. Un método per valutare la produzione foraggera di *Medicago arborea* L. *Rivista di Agronomia*, 2(2):350-355.
- Low P.S., 1985. Molecular basis of the biological compatibility of nature's osmolytes. *Transport Processes, Iono- and Osmoregulation*. 469-477.
- Lutts S., Kinet J.M., Bouharmont J., 1996. NaCl induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. *Annal of Botany*, 78:389-398.
- M'barek B., Chaabane R., Sdiri H., Meddahi M.L., Selmi M., 2001. Effet du stress salin sur la germination, la croissance et la production en grains de quelques variétés maghrébines de blé. *Sécheresse*, 12(3):167-74.
- Ma C., Zhang W.H., Liu X.C., 2008. Effects of iso-osmotic potential salt and water stress on the seed germination of *Periploca*. *Bulletin of Botanical Research*. 28:465-470.
- Maas E.V., Poss J.A., 1989. Salt sensitivity of cowpea at various growth stages. *Irrigation Science*, 10(2):313-320.

- Maggio A., Miyazaki S., Veronese P., Fujita T., Ibeas J.I., Damsz B., Narasmhan M.L., Hasegawa P.M., Joly R.J., Bressan R.A., 2002. Does proline accumulation play an active role in stress-induced growth reduction? *Plant Journal*, 31:699-712.
- Maillard J., 2001. Le point sur l'irrigation et la salinité des sols en zone sahélienne. Risques et recommandations. *Handicap International*, 34.
- MAIRE R., 1953. Flore de l'Afrique du nord. Volume II. Éd. Lechevalier, Paris. 172p.
- Mariani A., 1963. Determinazione del numero cromosomico di alcune specie di *Medicago*. *Caryologia*, 6:139-142.
- Maricle B.R., Douglas R.C., Campbell C.S., 2007. Biophysical and morphological leaf adaptations to drought and salinity in salt marsh grasses. *Environmental and Experimental Botany*, 48(1):16-20.
- Marouf A., Reynaud J., 2007. La botanique de A à Z 1662 définitions. Éd. Dunod.
- Martínez J.P., Silva H., Ledent J.F., Pinto M., 2007. Effect of drought stress on the osmotic adjustment, cell wall elasticity and cell volume of six cultivars of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *European Journal of Agronomy*, 26:30-38.
- Martiniello P., Baviello G., Lamascese N., 1994. Phenotypic variability for morphological and yield parameters in woody forage accessions of saltbush (*Atriplex halimus* L.) and tree-medic (*Medicago arborea* L.). *Journal of Genetic Breeding*, 48:175-182.
- Martiniello P., Lamascese N., 1993. Phenotypic variability for morphological and agronomic traits in *Atriplex* and *Medicago* shrubs accessions. Proceeding Of the XVII International Grasslands Congress, New Zealand, pp220-221.
- Masmoudi C.C., Ayachi M.M., Gouia M., Laabidi F., Reguaya S.B., Amor A.O., Bousnina M., 2010. Water relations of olive trees cultivated under deficit irrigation regimes. *Scientia Horticulturae*, 125(4):573-578.
- Mastrorilli M., Losavio N., Rana G., 1986. Fodder yield of *Medicago arborea* L. in Mediterranean environment in southern Italy. In: Fodder trees and shrubs in the Mediterranean production systems. Agriculture Report, commission of the European Communities, Bari, Italy. pp181-186.
- Mathieu M., 2003. Luzerne: culture, récolte, conservation, utilisation. *France agricole*, 11-16.
- Mauriès M., 1998. Module de production et gestion du système fourrage. *Cahier luzerne*, C.E.E.
- Maury P., Langlade N., Grieu P., Rengel D., Sarrafi A., Debaeke P., Vincourt P., 2011. Écophysiologie et génétique de la tolérance à la sécheresse chez le tournesol. *Innovations Agronomiques*, 14 :123-138.
- Mazliak P., 1982. Physiologie végétale : croissance et développement. Éd. Hermann, Paris. 465p.
- Mazliak P., Laval Martin D., 1995. Physiologie végétale I: Nutrition et métabolisme. Éd. Hermann, Paris. 539p.
- McDonald S.S., Archbold D.D., 1998. Membrane competence among and within *Fragaria* species varies in response to dehydration stress. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 123(5):808-813.
- McNeil S.D., Nuccio M.L., Hanson A.D., 1999. Betaines and related osmoprotectants: targets for metabolic engineering of stress resistance. *Plant Physiology*, 120:945-949.

- Medrano H., Chaves M.M., Porqueddu C., Caredda S., 1998. Improving forage crops for semi-arid areas. *Outlook on Agriculture*, 27:89-94.
- Mefti M., Abdelguerfi A., Chebouti A., 2001. Etude de la tolérance à la sécheresse chez quelques populations de *Medicago truncatula* (L.) Gaertn. In : Degado I., Loveras J. Quality in lucerne and medics for animal production. Zaragoza : CIHEAM. pp173-176 (Options Méditerranéennes : Série A. Séminaires Méditerranéens; N° 45).
- Mehdadi Z., Latreche A., Boukafha R., Bouchergui F., Bekkal F., Bendjafar A., 2013. Effects of temperature and salinity on the germination of *Medicago arborea* L. 3rd International Conference on Chemical, Biological and Environment Sciences (ICCEBS'2013) January 8-9, 2013, Kuala Lumpur, Malaysia. pp45-48.
- Meloni D.A., Gulotta M.R., Martinez C.A., Oliva M.A., 2004. The effects of salt stress on growth, nitrate reduction and proline and glycinebetaine accumulation in *Prosopis alba* Braz. *Journal of Plant Physiology*, 16:1-8.
- Meloni D.A., Oliva M.A., Ruiz H.A., Martinez C.A., 2001: Contribution of proline and inorganic solutes to osmotic adjustment in cotton under salt stress. *Journal of Plant Nutrition*, 24:599-612.
- Mohammad M., Shibli R., Ajouni M., Nimri L., 1998. Tomato root and shoot responses to salt stress under different levels of phosphorus nutrition. *Journal of Plant Nutrition*, 21:1667-1680.
- Mollison B., 1981. Arid Land Permaculture II, Practical design for town and country in permanent agriculture. Éd. Équilibres. 1881p.
- Monneveux Ph., 1991. Quelles stratégies pour l'amélioration génétique de la tolérance au déficit hydrique des céréales d'hiver ? L'amélioration des plantes pour l'adaptation au milieu arides. *John Libbey Eurotext Paris*, 165-185.
- Monteverdi C.M., Lauteri M., Valentini R., 2008. Biodiversity of plant species and adaptation to drought and salt conditions. Selection of species for sustainable reforestation activity to combat desertification. *Biosaline agriculture and high salinity tolerance*, 197-206.
- Montesquieu., 1835. Dictionnaire de la conservation et de la lecture, Tome XVIII. Éd. Bellin Mondar, Paris.
- Moorby J., Besford R.T., 1983. Mineral nutrition and growth. In: Encyclopedia of Plant Physiology, New Series: I organic Plant Nutrition. Jauchli A., Bielecki R.L. Springer-Verlag, Berlin, 15:481-515.
- Morandini, R., 1987. Les espèces ligneuses à usages multiples des zones arides méditerranéennes. Recueil des communications. Commission des Communautés Européennes, Saragosse, Espagne. CD-NA-11770-3A-C.
- Morot-Gaudry J.F., 2012. Biologie végétale, croissance et développement. Éd. Dunod, Paris. 237p.
- Morot-Gaudry J.F., Prat R., 2009. Biologie végétale : croissance et développement. Éd. Dunod, Paris. 235p.
- Mouhouche B., Boulassal M., 1999. Contribution à une meilleure maîtrise des pertes en eau d'irrigation et de la salinisation des sols en zones arides. *Recherche Agronomiques*, 4:15-23.
- Mouhouche B., 1993. Effets de l'intensité du stress hydrique sur les composantes du rendement de la culture de fève (*Vicia faba* L.). *Revue Céréales et Culture*, 29:27-30.
- Moursi M.A., El Habbacha K.M., Shaheen A.M., 1979. Photosynthetic efficiency, water and nitrogen contents of *Vicia faba* plant as influenced by water deficit. *Field Crop Abstracts*, 32(10):733.

- Mousavi S.A., Willems A., Nesme X., de Lajudie P., Lindström K., 2015. Revised phylogeny of Rhizobiaceae: proposal of the delineation of *Pararhizobium* gen. nov., and 13 new species combinations. *Systematic and Applied Microbiology*, 38:84-90.
- Munné-Bosch S., Alegre L., Diez L., 2004. Leaf senescence contributes to plant survival under drought stress. *Functional Plant Biology*, 31:203-216.
- Munns R., 1993. Physiological processes limiting plant growth in saline soils: some dogmas and hypotheses. *Plant, Cell and Environment*, 16:15-24.
- Munns R., 2002. Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, Cell and Environment*, 25:239-250.
- Munns R., Hare R.A., James R.A., Rebetzke G.J., 2000. Genetic variation for salt tolerance of *durum* wheat. *Australian Journal of Agricultural Research*, 51:69-74.
- Munns R., James R.A., Lauchli A., 2006. Approches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. *Journal of Experimental Botany*, 57(5):1025-1043.
- Munns R., Termatt A., 1986. Whole-plant responses to salinity. *Australian Journal of Plant Physiology*, 13:143-160.
- Munns R., Tester M., 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, 59:651-681.
- Murakeozy E.P., Nagy Z., Duhaze 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*, 160:395-401.
- Mustafa F., Ahmad F., Hameed M., Sadia B., 2019. Anatomical Adaptations for Drought Tolerance in *Lasiurus scindicus* Henr. in Punjab, Pakistan. *International Journal of Agriculture and Biology*.
- Nabors M., 2008. Biologie végétale. Éd. Pearson Éducation, France. 614p.
- Nagata T., Todoriki S., Hayashi T., Shibata Y., Mori M., Kanegae H., Kikuchi S., 1999. Gamma-radiation induces leaf trichome formation in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 120:113-119.
- Naidu B., Aspinall D., Paleg G.L., 1992. Variability in proline-accumulating ability of barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars induced by vapor pressure deficit. *Plant Physiology*, 98:716-722.
- Navarro J.M., Garrido C., Carvajal M., Martinez V., 2002. Yield and fruit quality of pepper plants under sulphate and chloride salinity. *The Journal of Horticultural science and Biotechnology*, 77(1):52-57.
- Nedjimi B., Mohammedi N., Belkeiri S., 2014. Germination responses of medic tree (*Medicago arborea*) Seeds to Salinity and Temperature. *Journal of Agricultural Research*, 3(4):308-312.
- Neelam., Kumar N., 2018. Physiological responses of chickpea genotypes under varying salinity levels. *International Journal of Current Microbiologic Applied Science*, 7(1):2086-2090.
- Neffati M., 1994. Caractérisation morpho-biologique de certaines espèces végétales nord africaines : implication pour l'amélioration pastorale. Thèse de doctorat, Université de Gand, Belgique.
- Nemmar M., 1983. Contribution à l'étude de la résistance à la sécheresse chez les variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf) et de blé tendre (*Triticum durum* L.). Évolution des teneurs en proline au cours du cycle de développement. Thèse de doctorat, Université de Montpellier-ENSA, 142p.

- Neumann P.M., 1997. Salinity resistance and plant growth revisited. *Plant, Cell and Environment*, 20:1193-1198.
- Nike K., Nurul K., Sintho W.A., 2019. Different Root Anatomical Changes in Salt-tolerant and Salt-sensitive Foxtail Millet Genotypes. *Journal of Agricultural Science*, 41(1):88-96.
- Niu X., Bressan R.A., Hasegawa P.M., Pardo J.M., 1995. Ion homeostasis in NaCl stress environments. *Plant Physiology*, 109:735-742.
- Nonami H., 1998. Plant water relations and control of cell elongation at low water potentials. *Journal of Plant Research*, 111:373-382.
- Ober S., Sharp P., 1994. Polyphasic chlorophyll fluorescence transients in plants and cyanobacteria. *Photosynthesis research*, 29:147-150.
- Okcu 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*, 29:237-242.
- Oosterhuis D.M., Walker S., 1987. Stomatal resistance measurement as indicator of water deficit stress in wheat and soybean. *South African Journal of plant and soil*, 4(3):113-126.
- Orcutt D.M., Nilsen E.T., 2000. The physiology of plants under stress-soil and biotic factors. John Wiley and Sons, New York. 684p.
- Ottow E., Brinker M., Fritz E., Teichmann T., Kaiser W., Brosche M., Kangasjarvi J., Jiang X., Polle A., 2005. *Populus euphratica* Displays Apoplastic Sodium Accumulation, Osmotic Adjustment by Decreases in Calcium and Soluble Carbohydrates, and Develops Leaf Succulence under Salt Stress. *Plant Physiology*, 139:1762-1772.
- Papanastasis V., 1985. Performance of certain fodder shrubs in a semidry environment in Greece. FAO Sub-Network on Mediterranean Pastures 4th Meeting, Elvas. pp137-145.
- Papanastasis V.P., Platis P.D., Dini-Papanastasiou O., 1998. Effects of age and frequency of cutting on productivity of Mediterranean deciduous fodder tree and shrub plantations. *Forest Ecology Management*, 110:283-292.
- Paquin R., Pelleter R., 1978. Effet des bases temperatures sur la résistance au gel de luzerne (*Medicago media* Pers.) et son contenu en proline libre. *Physiology of Vegetation*, 15(4):657-665.
- 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*, 45:28-36.
- Parida A.K., Das A.B., 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: A review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 60(3):324-349.
- Parker J., 1968. Drought resistance mechanisms: Water deficits and plant growth, Volume I. Academic press, New York. pp195-234.
- Parvaiz A., Satyawati S., 2008. Salt stress and phyto-biochemical responses of plants: a review. *Plant, Soil and Environment*, 54:89-99.
- Passioura J., 2004. Increasing crop productivity when water is scarce: from breeding to field management. Proceedings of the 4th International Crop Science Congress: New directions for a diverse planet, Brisbane, Australia. 12p.
- Passioura J., 2007. The drought environment: physical, biological and agricultural perspectives. *Journal of Experimental Botany*, 58:113-117.

- Passioura J.B., 1977. Grain yield, harvest index and water use of wheat. *Journal of the Australian Institute of Agricultural Science*, 43:117-120.
- Patel N.T., Pandey A.N., 2009. Effect of soil salinity on growth, water status and nutrient accumulation in seedlings of *Suaeda nudiflora* (Chenopodiaceae). *Anales de Biología*, 31:61-70.
- Paul M.H., Planchton C., 1979. Étude des relations entre le développement foliaire, le cycle de développement et la productivité chez le soja. *Annal d'Amélioration des plantes*, 29:479-492.
- Pavis N., Boucaud J., Prud'homme M.P., 2001. Fructans and Fructan-metabolizing enzymes in leaves of *Lolium perenne* L. *New Phytologist*, 150(1):97-109.
- Peña-Valdivia C.B., Sánchez-Urdaneta A.B., Rangel J.M., Muñoz J.J., García-Nava R., Velázquez R.C., 2010. Anatomical root variations in response to water deficit: wild and domesticated common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Biological Research*, 43:417-427.
- Penuelas J., Biel C., Estiarte M., 1993. Changes in biomass, chlorophyll content and gas exchange of beans and peppers under nitrogen and water stress. *Photosynthetica*, 29(4):535-542.
- Per T.S., Khan N.A., Reddy P.S., Masood A., Hasanuzzaman M., Khan M.I.R., Anjum N.A., 2017. Approaches in modulating proline metabolism in plants for salt and drought stress tolerance: Phytohormones, mineral nutrients and transgenics. *Plant Physiology and Biochemistry*, 115:126-140.
- Peshev D., Vergauwen R., Moglia A., Hideg E., Van Den Ende W., 2013. Towards understanding vascular antioxidant mechanisms: a role for fructans? *Journal of Experimental Botany*, 64(4):1025-1038.
- Pessaraki M., Huber J.T., Tucker T.C., 1989. Protein synthesis in green beans under salt stress with two nitrogen sources, *Journal of Plant Nutrition*, 12:261-1377.
- Piedad G., Luisa M., Blazquez A., Guerra H., Villalobos N., 2014. Involvement of peroxidase activity in developing somatic embryos of *Medicago arborea* L. Identification of an isozyme peroxidase as biochemical marker of somatic embryogenesis. *Journal of Plant Physiology*, 171(2):78-84.
- Piri K., Anceau C., El Jaafari S., Lepoivre P., Semal J., 1994. Sélection in vitro de plantes androgénétiques de blé tendre résistantes à la salinité : l'amélioration des Plantes. Éd. AUPELF-UREF, John Libbey, Paris. pp311-320.
- Plinii Secundi C., 1669. *Naturalis Historiae. Tomus Primus. Apud Hackios. A, Imperium Rōmānum.*
- Post G.E., 1896. *Medicago*. Fl. Syria, Palestine, Sinai, 1<sup>st</sup> edition. pp226-231.
- Prolea D., 2002. Espèces et utilisations, des ressources en protéines à redécouvrir : les plantes fourragères prairiales – la luzerne. Institut du Végétal et de l'Élevage. GNIS, Paris. pp4-7.
- Prosperi J M., Guy P., Genier G., Angervian M., 1995. Ressources génétiques des plantes fourragères et à gazon. Éd. INRA, Paris.
- Prud'homme M.P., Gonzalez B., Billard J.P., Boucaud J., 1992. Carbohydrate content, fructan and sucrose enzyme activities in roots, stubble and leaves of ryegrass (*Lolium perenne* L.) as affected by source/sink modification after cutting. *Journal of Plant Physiology*, 140:282-291.
- Quick W.P., Chaves M.M., Wendler T.R., David M., Rodrigues T.M.L., Passaharinho T.J.A., Pereira J.S., Adcock T.M.D., Leegood R.C., Stitt M., 1992. The effect of water stress on photosynthetic carbon metabolism in four species grown under field conditions. *Plant, Cell and Environment*, 15:25-35.

- Quiros CF., Bauchan GR., 1988. The genus *Medicago* and the origin of the *Medicago sativa* complex. *Alfalfa and alfalfa improvement*, 93-124.
- Rabie G., Almadini A., 2005. Role of bio-inoculants in development of salt-tolerance of *Vicia faba* plants under salinity stress. *African Journal of Biotechnology*, (4):210-222.
- Rahneshan Z., Nasibi F., Moghadam A.A., 2018. Effects of salinity stress on some growth, physiological, biochemical parameters and nutrients in two pistachio (*Pistacia vera* L.) rootstocks. *Journal of Plant Interactions*, 13(1):73-82.
- Ramagopal S., 1990. Imbibition of seed germination by salt and its subsequent effect on embryonic protein synthesis in barley. *Journal of Plant Physiology*, 136(5):621-625.
- Rampino P., Mita G., Fasano P., Borrelli G.M., Aprile A., Dalessandro G., Perrotta C., 2012. Novel durum wheat genes up-regulated in response to a combination of heat and drought stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 56:72-78.
- Ranjbarfordoei A., Samson R., Lemeur P.V.D., Lemeur R., 2000. Effect of drought stress induced by polyethylene glycol on pigment content and photosynthetic gas exchange of *Pistacia Khinjuk* and *P. mutica*. *Photosynthetica*, 38(3):443-447.
- Rashid P., Karmoker J.L., Chakroborty S., Sarker B.C., 2004. The effect of salinity on ions accumulation and anatomical attributes in mungbean (*Phaseolus radiatus* L. cv. BARI-3) seedlings. *International Journal of Agriculture and Biology*, 6:495-498.
- Raven P.H., Evert R.F., Eichhorn S.E., 2005. *Biologie végétale*. 6ème Éd. De Boeck, Paris. 913p.
- Redondo-Gomez S., Wharmby C., Castillo J.M., Mateos-Naranjo E., Luque C., De Cires A., Luque T., Davy A.J., Figueroa M.E., 2006. Growth and photosynthetic responses to salinity in an extreme halophyte: *Sarcocornia fruticosa*. *Physiologia Plantarum*, 128:116-124.
- Reinoso H.L.S., Ramírez L., Luna V., 2004. Salt-induced changes in the vegetative anatomy of *Prosopis strombulifera* (Leguminosae). *Canadian Journal of Botany*, 82(5):618-628.
- Renfro B.L., Sprague E.W., 1959. Reaction of *Medicago* species to alfalfa pathogens. *Agronomy Journal*, 51:481-483.
- Rhoades J.D., Kandiah A., Mashali A.M., 1992. *The use of Saline Waters for Crop Production*. Irrigation and Drainage Paper, FAO, Rome. 48p.
- Ricciardelli-D'albore G.C., 1984. Osservazione sugli insetti pronubi di alcune Leguminose (*Onobrychis viciifolia* Scop., *Lotus corniculatus* L., *Medicago arborea* L., *Medicago sativa* L.) in un areale specializzato. *Redia*, 67:145-155.
- Richards R.A., Rebtzke G.J., Van Herwardlen A.F., Duggan B.L., Condon A.G., 1997. Improving yield in rainfed environments through physiological plant breeding. *Dryland Agriculture*, 36:254-266.
- Riou C., 1993. L'eau et la production végétale. *Sécheresse*, 4:75-83.
- Rivas-Martinez S., Gandullo Gutierrez J.M., Serrada R., Allue Andrade J.L., Monter De Burgos J.L., Gonzalez Rebollar J.L., 1986. Mapas de series de vegetación de España. Memoria, Ministerio de Agricultura Pesca y Alimento, Madrid, 268p.

- Rodrigues M.L., Pacheco C.M.A., Chaves M.M., 1995. Soil-plant relations, root distribution and biomass partitioning in *Lupinus albus* L. under drought conditions. *Journal of Experimental Botany*, 46:947-956.
- Rodriguez M., Chaves M., Wenlder R., David M., Stitt M., Pereira J.S., 1993. Osmotic adjustment in water stressed grapevine leaves in relation to carbon assimilation. *Australian Journal of Plant Physiology*, 20:309-321.
- Rodríguez-Gamir J., Primo-Millo E., Forner J.B., Forner-Giner M., 2010. *Citrus* rootstock responses to water stress. *Scientia Horticulturae*, 126(2):95-102.
- Romeroaranda R., Soria T., Cuartero J., 2001. Tomato plant water uptake and plant-water relationships under saline growth conditions. *Plant Science*, 160:265-272p.
- Roosens N.H., Thu T.T., Iskandar H.M., Jacobs M., 1998. Isolation of the ornithine-d-aminotransferase DNA and effect of salt stress on its expression in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiology*, 117:263-271.
- Rosa M., Prado C., Podazza G., Interdonato R., González J.A., Hilal M., Prado F.E., 2009. Soluble sugars—Metabolism, sensing and abiotic stress: A complex network in the life of plants. *Plant Signaling and Behavior*, 4(5):388-393.
- Ross J.J., Reid J.B., 2010. Evolution of growth-promoting plant hormones. *Functional Plant Biology*, 37(9):795-805.
- Saadani Y., Kayouli C., Narjisse H., 1989. Valeur nutritive d'un parcours mixte à *Acacia cyanophylla*, *Atriplex nummularia* et *Medicago arborea*. XVeme Congrès International des Herbages, Nice, France. pp943-944.
- Sanches F.J., Manzaranes M., De Andres., 1998. Turgor maintenance osmotic adjustments and soluble sugar and praline accumulation in 49 pea cultivars in response to water stress. *Field Crops Research*, 59:225-35.
- Santiago L.S., Lau T.S., Melcher P.J., Steele O.C., Goldstein G., 2000. Morphological and physiological responses of hawaiian *Hibiscus tiliaceus* populations to light and salinity. *International Journal of Plant Science*, 161:99-106.
- Saradhi P.P., Arora S., Prasad K.V.S.K., 1995. Proline accumulates in plants exposed to UV radiation and protects them against induced peroxidation. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 290:1-5.
- Sauvion N., Calatayud P-A., Thiéry D., Marion-Pol F., 2013. Interractions insectes-plantes. Éd. Quae, Marseille. 749p.
- Schut P., 1996. Manual acidity, salinity and solonetzic soil. Canola responses to acidity, salinity and solonetzic soil. Éd. John Libbey. Eurotext, Canada. 8-23.
- Scofield C.S., 1908. The botanical history and classification of alfalfa. *Plant Industry Bulletin*, 131(2):11-19.
- Selim H., El-Nady M., 2011. Physio-anatomical responses of drought stressed tomato plants to magnetic field. *Acta Astronomica*, 2:1-9.
- Serraj R., Sinclair T.R., Allen L.H., 1998. Soybean nodulation and N<sub>2</sub> fixation response to drought under carbon dioxide enrichment. *Plant, Cell and Environment*, 21:491-500.

- Servant J.M., 1976. La salinité dans le sol et les eaux. Caractérisation et problèmes d'irrigation drainage. S.E.S-N°310, Montpellier. 27p.
- Shabala L., Mackay A., Tian Y., Jacobsen S.E., Zhou D., Shabala S., 2012. Oxidative stress protection and stomatal patterning as components of salinity tolerance mechanism in quinoa (*Chenopodium quinoa*). *Plant Physiology*, 146:26-38.
- Shabala S., Cuin T.A., 2006. Osmoregulation versus osmoprotection: re-evaluating the role of compatible solutes, (Advances and Topical Issues, Volume I. Floriculture, *Ornamental and Plant Biotechnology*, 1:405-416.
- Shabala S., Cuin T.A., 2008. Potassium transport and plant salt tolerance. *Physiologia Plantarum*, 133:651-669.
- Shabala S.N., Shabala S.I., Martynenko A.I., Babourina O., Newman I.A., 1998. Salinity effect on bioelectric activity, growth, Na<sup>+</sup> and chlorophyll fluorescence of maize leaves - a comparative and prospects for screening. *Australian Journal of Plant Physiology*, 25:609-616.
- Shen B., Jensen R.G., Bohnert H.J., 1997. Mannitol protects against oxidation by hydroxyl radicals. *Plant Physiology*, 115:527-532.
- Shennan C., Hunt R., Macrobbe E.A.C., 1987. Salt tolerance in *Aster tripolium* L. and the effect of salinity on growth. *Plant, Cell and Environment*, 10:59-65.
- Shields R., Burnett W., 1960. Determination of protein bound carbohydrate in serum by a just modified anthrone method. *Annals of Chemistry*, 32:885-886.
- Shirokova Y., Forkutsa I., Sharafutdinova N., 2000. Use of electrical conductivity instead of soluble salts for soil salinity monitoring in Central Asia. *Irrigation and Drainage Systems*, 14:199-205.
- Sibounheuang V., Basnayake J., Fukai S., 2006. Genotypic consistency in the expression of leaf water potential in rice (*Oryza sativa* L.). *Field Crops Research*, 97:142-154.
- Silveira P., Meloar B., Viegras R.A., 2002. Effets salinité induits sur l'assimilation d'azote liée à la croissance aux usines de doliques de Chine. *Experimental Botany*, 46:171-179.
- Singer M.A., Lindquist S., 1998. Multiple effects of trehalose on protein folding *in vitro* and *in vivo*. *Molecules and Cells*, 1:639-648.
- Slama A., Salem M., Ben Naceur M., Zid E., 2005. Les céréales en Tunisie : production, effet de la sécheresse et mécanisme de résistance. *Sécheresse*, 16:225-229.
- Slama A.D., Afifi W.M., Mousa A.Z., Shams El Dine., 1992. Biochemical study on the effect of salinity on cucumber seedlings. *Annals of Agricultural Science*, 37(2):339-349.
- Small E., 2011. Alfalfa and relatives: Evolution and classification of *Medicago*. NRC Research Press, Ottawa. Canada.
- Smirnoff N., Cumbes Q.J., 1989. Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. *Phytochemistry*, 28:1057-1060.
- Smith S., 1967. Carbohydrate translocation in orchid mycorrhizas. *New Phytologist*, 66(3).
- Soltani A., 1988. Analyse des effets de NaCl et de la source d'azote sur la nutrition minérale de l'orge. Thèse de Doctorat d'État, Université de Tunis, Tunisie, 322p.

- Souza, G.M., Nova N.A.V., Goncalves A.N., 1999. Entropy, information and water stress in *Eucalyptus camaldulensis* In vitro. *Revista Brasileira de Biologia*, 59:471-476.
- Sperry J.S., Tyree M.T., 1990. Water-stress-induced xylem embolism in three species of conifers. *Plant, Cell and Environment*, 13:427-436.
- Spichiger R.E., Savolainen V.V., Figeat M., Jeanmonod D., 2004. Botanique Systématique des plantes à fleurs. Éd. P.P.U.R, France. 413p.
- Spollen W.G., Le Noble M.E., Bernstein N., Sharp R.E., 2000. Abscisic acid accumulation maintains maize primary root elongation at low water potentials by restricting ethylene production. *Plant Physiology*, 122:967-976.
- Steiner K.G., 1985. Cultures associées dans les petites exploitation agricoles trpicales, en partilier en Afrique de l'Ouest. Éd. GTZ Eschborn RFA. 347p.
- Stepien P., Johnson G.N., 2009. Contrasting responses of photosynthesis to salt stress in the glycophyte *Arabidopsis* and the halophyte *Thellungiella*: role of the plastid terminal oxidase as an alternative electron sink. *Plant Physiology*, 149:1154-1165.
- Stiller V., Lafitte H.R., Sperry J.S., 2003. Hydraulic properties of rice and the response of gas exchange to water stress. *Plant Physiology*, 132:1698-1706.
- Strand A., Hurry V., Henkes S., Huner N., Gustafson P., Gardestrom P., Sûn M., 1999. Acclimation of *Arabidopsis* Leaves developing at low temperatures: Increasing cytoplasmic volume accompanies increased activities of enzymes in Calvin cycle and in the sucrose-biosynthesis pathway. *Plant Physiology*, 119:1387-1397.
- Subbrarao G.V., Johansen C., Sunkard A.E., Nageswara-Rao R.C., Saxena N.P., Chauhan Y.S., 1995. Strategies for improving drought resistance in grain legume. *Critical Review in Plant Science*, 14:469-523.
- Sulmon C., Gouesbet G., Couée I., El Amrani A., 2004. Sugar-induced tolerance to atrazine in *Arabidopsis* seedlings: interacting effects of atrazine and soluble sugars on psbA mRNA and D1 protein levels. *Plant Science*, 167:913-923.
- Szabados L., Savoure A., 2010. Proline: a multifunctional amino acid. *Trends in Plant Science*, 15(2):89-97.
- Szoke A., Miao G.H., Hong Z., Verma D.P.S., 1992. Subcellular location of D1-pyrroline-5-carboxylate reductase in root/nodule and leaf of soybean. *Plant Physiology*, 99:1642-1649.
- Taffouo V.D., Meguekam L., Kenne M., Magnitsop A., Akoa A., Ourry A., 2009. Salt stress effects on germination, plant growth and accumulation of metabolites in five leguminous plants. Conference Proceedings of the 9<sup>th</sup> African Crop Science, Cape Town, South Africa.
- Taiz L., Zeiger E., 2006. Plant physiology. 4<sup>th</sup>. Ed. Sunderland, USA: Sinauer Associates Inc. Publishers, Massachusetts. 764p.
- Tardieu F., 1996. Drought perception by plants: Do cells of droughted plants experience water stress? *Plant growth regulation*, 20:93-104.
- Tardieu F., 2003. Virtual plants: modeling as a tool for the genomic of tolerance to water deficit, *Trends in Plant Sciences*, 8:9-14.
- Tardieu F., 2005. Plant tolerance to water deficit: Physical limits and possibilities for progress. *Geoscience*, 337:57-67.

- Tardieu F., Cruiziat P., Durand J-L., Triboi E., Zivy M., 2006. Réduire la vulnérabilité de l'agriculture à un risque accru de manque d'eau. *Sécheresse et agriculture*, 1:49-67.
- Tardieu F., Reymond M., Hamard P., Granier C., Muller B., 2000. Spatial distributions of expansion rate, cell division rate and cell size in maize leaves: a synthesis of effects of soil water status, evaporative demand and temperature. *Journal of Experimental Botany*, 51:1505-1514.
- Tardieu F., Simonneau T., 1998. Variability among species of stomatal control under fluctuating soil water status and evaporative demand: modelling isohydric and anisohydric behaviours. *Journal of Experimental Botany*, 49:419-432.
- Tava A., Odoardi M., 1996. Saponins from *Medicago* ssp.: chemical characterization and biological activity against insects. Plenum Press, New York. pp97-109.
- Tazi R., 2003. Effect du polyéthylène glycol sur la germination et la croissance *in vitro* de l'arganier. *Sécheresse*, 14:23-7.
- Terry N., Waldron L.J., 1984. Salinity, photosynthesis and leaf growth. *California Agriculture*, 38:38-39.
- Tester M., Bacic A., 2005. Abiotic stress tolerance in grasses- From model plants to crop plants. *Plant Physiology*, 137:791-793.
- Tewari T.N., Singh B.B., 1991. Stress studies in lentil (*Lens esculenta* Moench.): Sodicity-induced changes in chlorophyll, nitrate and nitrite reductase, nucleic acids, proline, yield and yield components in lentil. *Plant and Soil*, 136(2):225-230.
- Thiebeau P., Justes E., Vanloot P., 2001. Filière luzerne en France. Des atouts en faveur de l'environnement. *Perspectives Agricoles*, 266 :32-36.
- Thomson W.W., 1975: The structure and function of salt glands. *Plants in Saline Environments. Ecological Studies*, 15:118-46.
- Todd G.W., 1972. Water deficit and enzymatic activity in water stress and plant growth. Acad Press. Kozlovsy, New York.
- Travlos I.S., Economou G., 2006. Optimization of seeds germination and seedling emergence of *Medicago arborea* L. *International Journal of Botany*, 2(4):415-420.
- Tremblin G., Binet P., 1984. Halophilie et résistance au sel chez *Halopeplis amplexicaulis* (Vahl) Ung. *Oecologia Plantarum*, 291-293.
- Tripathy J.N., Zhang J., Robin S., Nguyen T.T., Nguyen H.T., 2000. QTLs for cell-membrane stability mapped in rice (*Oryza sativa* L.) under drought stress. *Theoretical Applied Genetics*, 100:1197-1202.
- Troll W., Lindsley J., 1955. A photometric method for the determination of proline. *The Journal of Biochemistry*, 215:655-660.
- Trovato M., Mattioli R., Costantino P., 2008. Multiple Roles of Proline in Plant Stress Tolerance and Development. *Rendiconti Lincei*, 19:325-346.
- Tsugane K., Kobayashi K., Niwa Y., Ohba Y., Wada K., Kobayashi H., 1999. A recessive Arabidopsis mutant that grows photo-autotrophically under salt stress shows enhanced active oxygen detoxification. *Plant and Cell*, 11:1195-1206.
- Turner N.C., 1979. Drought resistance and adaptation to water deficits in crop plant. *Stress Physiology in Crop Plants*, 343-372.

- Turner N.C., 1986. Adaptation to water deficits: a changing perspective. *Australian Journal of Plant physiology*, 13:175-190.
- Turner N.C., Wright G.C., Siddique K.H.M., 2001. Adaptation of grain legume to water- limited environments. *Advanced Agronomy*, 71:193-231.
- Turner N.C., 1997. Further progress in crop water relations. *Advanced Agronomy*, 58:293-338.
- Tuteja N., 2009. Signaling through G-proteins coupled receptors. *Plant Signal and Behavior*, 4(10):942-947.
- Tuteja N., 2010. Plant Stress Biology: From Genomics to Systems Biology, Chapitre: Cold, Salinity and Drought Stress. Éd. Hirt H.P, Weinheim. pp137-159.
- Tuteja N., Sopory S.K., 2008. Plant signaling in stress: G-proteins and signal coupling via phospholipases. *Plant Signal and Behavior*, 3:79-86.
- Tutin T.G., Burges N.A., Chater A.O., Edmondson J.R., Heywood V.H., Moore D.M., Valentine D.H., Walters S.M., Webb D.A., 1995. Flora Europea. Cambridge University Press, Cambridge.
- Tyree M., Davis S., Cochard H., 1994. Biophysical perspectives of xylem evolution: is there a tradeoff of hydraulic efficiency for vulnerability to dysfunction. *IAWA Journal*, 15:335-360.
- Ungar I.A., 1978. Halophyte seed germination. *Botanic Review*, 44:233-64.
- Valdenegro M., Barea J.M., Azcon R., 2001. Influence of arbuscular-mycorrhizal fungi, *Rhizobium meliloti* strains and PGPR inoculation on the growth of *Medicago arborea* used as model legume for re-vegetation and biological reactivation in a semi-arid Mediterranean area. *Plant Growth Regulation*, 43:233-240.
- Van den Ende W., 2013. Multifunctional fructans and raffinose family oligosaccharides. *Frontiers in Plant Science*, 4(247):1-11.
- Vartanian N., Lemée G., 1984. La notion d'adaptation à la sécheresse. *Bulletin de la Société Botanique Française*, 131:7-15.
- Verbruggen N., Hermans C., 2008. Proline accumulation in plants: a review. *Amino Acids*, 35:739.
- Verbruggen N., Hua X.J., May M., Van Montagu M., 1996. Environmental and developmental signals modulate proline homeostasis: evidence for a negative transcriptional regulator. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93:8787-8791.
- Verslues P.E., Bray E.A., 2006. Role of abscisic acid (ABA) and Arabidopsis thaliana ABA-insensitive loci in low water potential-induced ABA and proline accumulation. *Journal of Experimental Botany*, 57:201-212.
- Wang F., Zeng B., Sun Z., Zhu C., 2009. Relationship between proline and Hg<sup>2+</sup> induced oxidative stress in a tolerant rice mutant. *Archives of Environment Contamination and Toxicology*, 56:723-731.
- Wang H., Qi Q., Schorr P., Cutler A.J., Crosby W., Fowke L.C., 1993. ICK1, a cyclin dependent protein kinase inhibitor from Arabidopsis thaliana interacts with both cdc2a and CycD3, and its expression is induced by abscisic acid. *Plant Journal*, 15:501-510.
- Wang J., Zuo K., Wu W., Song J., Sun X., Lin J., Li X., Tang K., 2003. Molecular cloning and characterization of a new Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> antiporter gene from *Brassica napus*. *DNA Sequencing*, 14:351.

- Wang W.X., Vinocur B., Shoseyov O., Altman A., 2001. Biotechnology of plant osmotic stress tolerance: physiological and molecular considerations. *Acta Horticulturae*, 560:285-292.
- Wang Y., Nil N., 2000. Changes in chlorophyll, ribulose biphosphate carboxylase–oxygenase, glycine betaine content, photosynthesis and transpiration in *Amaranthus tricolor* leaves during salt stress. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 75:623-627.
- Wang, L.M., Showalter A.M., Ungar I.A., 2004. Effect of salinity on growth, ion content, and cell wall chemistry in *Atriplex prostrata* (*Chenopodiaceae*). *American Journal of Botany*, 84(9):1247-1255.
- Watanabe S., Kojima K., Ide Y., Sasaki S., 2000. Effects of saline and osmotic stress on proline and sugar accumulation in *Populus euphratica* *in vitro*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 63:199-206.
- Whalley W.R., Bengough A.G., Dexter A.R., 1998. Water stress induced by PEG decreases the maximum growth pressure of the roots of pea seedlings. *Journal of Experimental Botany*, 49(327):1689-1694.
- Wimmer M.A., Muhling K.H., Läuchli A., Brown P.H., Goldbach H.E., 2003. The interaction between salinity and boron toxicity affects the subcellular distribution of ions and proteins in wheat leaves. *Plant, Cell and Environment*, 26:1267-1274.
- Witcombe J.R., Hollington P.A., Howarth C.J., Reader S., Steel K.A., 2009. Breeding for abiotic stresses for sustainable agriculture. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 363:703-716.
- Wortham P., 2009. La luzerne, les partenaires du RMT Biomasse, Paris. 7p.
- Wu Y., Spollen W.G., Sharp R.E., Hetherington P.R., Fry S.C., 1994. Root growth maintenance at low water potentials increased activity activity of xyloglucan endotransglycosylase and it's possible regulation by abscisic acid. *Plant Physiology*, 106:607-615.
- Wyn Jones R.G., Gorham J., McDonnell E., 1984. Organic and inorganic solute contents as selection criteria for salt tolerance in the *Triticeae*. In: Staples R., Toennissen G.H., Salinity Tolerance in Plants: Strategies for Crop Improvement, Wiley, New York, pp189-203.
- Yadav R., Hash C., Bidinger F., Devos K., Howarth C., 2004. Genomic regions associated with grain yield and aspects of post-flowering drought tolerance in pearl millet across stress environments and tester background. *Euphytica*, 136:265-277.
- Yaeger J.R., Stuteville D.L., 2002. Reactions of accessions in the annual *Medicago* core germ plasm collection to *Erysiphe pisi*. *Plant Diseases*, 86:312-315.
- Yamada T., Takatsu Y., Manabe T., Kasumi M., Marubashi W., 2003. Suppressive effect of trehalose on apoptotic cell death leading to petal senescence in ethylene-insensitive flowers of *Gladiolus*. *Plant Science*, 164:213-221.
- Yeo A.R., Flowers T.J., 1983. Varietal differences in the toxicity of sodium ions in rice leaves. *Plant Physiology*, 59:189-195.
- Zakhia F., 2004. Diversité des bactéries hôtes de légumineuses Méditerranéennes en Tunisie et au Liban. Thèse de doctorat, Université de Montpellier II.
- Zehavi U., Polacheck I., 1996. Saponins as antimycotic agents: glycosides of medicagenic acid. Plenum Press, New York. pp535-546.

- Zeid I.M., Shedeed Z.A., 2006. Response of alfalfa to putrescine treatment under drought stress. *Plant Biology*, 50:635-640.
- Zekri M., 1993. Seedling emergence, growth, and mineral concentration of three *Citrus* rootstocks under salt stress. *Journal of Plant Nutrition*, 16(8):1555-1568.
- Zhang H.X., Hodson J.N., Williams J.P., Blumwald E., 2001. Engineering salt-tolerant *Brassica* plants: characterization of yield and seed oil quality in transgenic plants with increased vacuolar sodium accumulation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98:12832-12836.
- Zhao J., Ren W., Zhi D., Wang L., Xia G., 2007. *Arabidopsis* DREB1A/CBF3 bestowed transgenic tall fescue increased tolerance to drought stress. *Plant and Cell Reproduction*, 26:1521-1528.
- Zhao K.F., Harris P.J.C., 1992. The effect of iso-osmotic salt and water stress on the growth of halophytes and non-halophytes. *Journal of Plant Physiology*, 139:761-763.
- Zhu J.K., 2001. Plant salt tolerance. *Trends in Plant Science*, 6:66-71.
- Zhu J.K., 2002. Salt and drought stress signal transduction in plants. *Annual Review of Plant Biology*, 53:247-273.
- Zhu J.K., 2007. Plant salt stress: Encyclopedia of life sciences. *John Wiley and Sons*, 1-3.
- Zid E., 1982. Relation hydriques dans la feuille de *Citrus aurantium* : effets de l'âge et de la salinité. *Revue des Sciences*, 2:195-205.
- Zid E., Grignon C., 1991. Les tests de sélection précoce pour la résistance des plantes aux stress. Cas des stress salin et hydriques. In : l'amélioration des plantes pour l'adaptation aux milieux arides. AUPELF-UREF. John Libbey. Eurotext, Paris. pp91-108.