

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université MOULOUD MAMMERI de Tizi Ouzou

Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques
Département d'Agronomie

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du Diplôme de Master en Agronomie.
Spécialité : Production Végétale et Agriculture Durable

Sujet :

Contribution à l'étude de l'effet de la contrainte saline sur deux espèces d *Hedysarum* (*H.flexuosum* et *H.coronarium*) au stade plein croissance

Dirigé par :

Mr MEDJEBEUR Dj Maitre-assistant (A) à l'UMMTO

Présenté par :

Ait saidi Ibrahim

Saidani Faouzi

Devant le jury :

Président : Mme Houchi A. Maître de conférences (A) à l'UMMTO.

Membre de jury : Mme Taleb K. Maître de conférences (B) à l'UMMTO.

Membre de jury Mr : KADI S.A. Maître de conférences (A) à l'UMMTO.

Promotion 2015/2016

Remerciement

Avant tout, notre grande gratitude au bon dieu qui a été de notre cotes afin d'arriver au bout de ce modeste travail.

Nous adressons nos sincères remerciements à notre encadreur Mr Medjebeur pour ses conseils et sa disponibilité lors de l'élaboration de ce mémoire de fin d'études.

Nos remerciements s'adressent également aux membres de jury qui ont accepté d'évaluer ce travail.

Nous remercions chaque personne ayant contribué à la réalisation de notre travail : Mme BEGGAZ Dehbia ingénieur de labo chimie pharmaceutique, les deux dames ingénieurs de labo D.1.3, Mme LAMRI Leila et Mme LATEB Zahia ingénieurs de labo commun, Mme TALEB et ces étudiants, les ingénieurs des labos physiologie végétale et animal ainsi que labo Eco-pédologie, Mlle Si TAYEB Razika et Mlle Si BACHIR Sonia camarades de labo d'écophysiologie.

Un grand remerciement pour nos deux camarades de guerre Mr NEDIL Chabane et Mr HADJ HEMDRI Saïd.

Sans oublier nos enseignants qui nous ont suivis tout au long de notre parcours, aux quels revient le mérite de notre réussite.

Merci pour tous.

Listes des figures

Figure n° 1 : Dispositif expérimental.

Figure n° 2: Courbe étalon du glucose.

Figure n° 3: Courbe étalon de la proline.

Figure n° 4: Courbe étalon des protéines.

Figure n° 5 : L'effet de la salinité sur le nombre de feuilles des deux espèces d'*Hedysarum*.

Figure n° 6 : L'effet de la salinité sur la surface foliaire des deux espèces d'*Hedysarum*.

Figure n°7 : L'effet de la salinité sur le volume racinaire des deux espèces d'*Hedysarum*.

Figure n°8 : L'effet de la salinité sur la longueur de la tige des deux espèces d'*Hedysarum*.

Figure n°9 : L'effet de la salinité sur la longueur racinaire des deux espèces d'*Hedysarum*.

Figure n°10 : L'effet de la salinité sur la masse fraîche des tiges des deux espèces d'*Hedysarum*

Figure n°11 : L'effet de la salinité sur la masse fraîche des racines des deux espèces d'*Hedysarum*

Figure n°12 : L'effet de la salinité sur le poids sec des tiges des deux espèces d'*Hedysarum*

Figure n°13 : L'effet de la salinité sur le poids sec des racines des deux espèces d'*Hedysarum*.

Figure n°14 : L'effet de la salinité sur la teneur en chlorophylles totales des deux espèces d'*Hedysarum*.

Figure n°15 : L'effet de la salinité sur la fuite d'électrolytes des deux espèces d'*Hedysarum*.

Figure n°16 : L'effet de la salinité sur la teneur en eau des deux espèces d'*Hedysarum*.

Figure n°17 : Corrélacion entre teneur des feuilles en chlorophylle et le pourcentage en fuite d'électrolyte de *Hedysarum coronarium* L

Figure n°18 : Corrélacion entre teneur des feuilles en chlorophylle et le pourcentage en fuite d'électrolyte de *Hedysarum flexuosum* L

Figure n°19 : Corrélacion entre la longueur de la tige et la teneur relative en eau de *Hedysarum flexuosum* L

Figure n°20 : Corrélacion entre la longueur de la tige et la teneur relative en eau de *Hedysarum coronarium* L

Figure n°21 : L'effet de la salinité sur la teneur en protéines des deux espèces d'*Hedysarum*.

Figure n°22 : L'effet de la salinité sur la teneur en proline des deux espèces d'*Hedysarum*.

Figure n°23 : L'effet de la salinité sur la teneur en sucres solubles des deux espèces d'*Hedysarum*.

Figure n°24 : Corrélation entre la teneur des feuilles en protéines solubles et leur contenu en proline de *Hedysarum flexuosum* L

Figure n°25 : Corrélation entre la teneur des feuilles en protéines solubles et leur contenu en proline *Hedysarum coronarium* L

Table des matières

Introduction	1
---------------------------	----------

1^{er}e Partie : Revue bibliographique

Chapitre I : monographie du Sulla du nord

I.1.Généralités sur <i>Hedysarum</i>	2
I.1.2. Présentation de Sulla	2
I.1.2.1.l' Axe aérien	2
I.1.2.2.Feuille.....	2
I.1.2.3.Système racinaire	2
I.1.2.4.Fleur et inflorescence	2
I.1.2.5Fruit et graines	3
I.1.2.6.Position taxonomique.....	3
I.2.Aire de répartition.....	4
I.3.Exigences climatiques	4
I.4. Exigences édaphiques.....	4
I.5.Intérêt et utilisation de Sulla.....	4
I.5.1.Intérêt agronomique.....	4
I.5.2.Intérêt écologique	5

II. Chapitre 2 : stress salin

II.1.Notion de salinité	6
II.2.Salinisation des eaux d'irrigation	6
II.3.Paramètres affectés par la salinité	6
II.3.1.Effet de la salinité sur la germination	6
II.3.2.Effet de la salinité sur le stade végétatif	6
II. 3.3.Effets de la salinité sur la nodulation.....	6

II.3.4.Effets de la salinité sur les processus physiologiques de la plante	7
II.3.4.1.Effet sur la photosynthèse	7
II.4.Mécanismes de résistance et tolérance des végétaux à la salinité	7
II.4.1.Exclusion	7
II.4.2.Inclusion	7
II.4.3.Ré-excrétion	7
II.5.Mécanismes d'adaptation à la salinité	8
II.5.1.Une utilisation efficace des ions dans le maintien de la turgescence	8
II.5.2.Une bonne compartimentation vacuolaire de Na ⁺ et Cl ⁻ au niveau des feuilles	8
II.5.3.Une sélectivité d'absorption et de transport en faveur de K ⁺ malgré l'excès de Na ⁺	8
II.5.4.Accumulation d'osmoprotectants	8

2^{eme} Partie : Partie expérimentale

Chapitre I : Matériels et Méthodes.....	9
I.1.Protocole expérimental	9
I.1.1. Conditions de culture	9
I.1.1.1. Matériel végétal	9
I.1.1.2. Préparation de graines	9
I.1.1.3. Mise en culture	9
I.1.2.Dispositif expérimental	10
I.2. Paramètres mesurés	10
I.2.1. Paramètres morphologiques	10
I.2.1.1. Mesure de la croissance en longueur	10
I.2.1.2.Mesure de la croissance pondérale	11

I.2.1.4. Nombre de feuilles et mesure de la surface foliaire	11
I.2.1.5. Mesure du volume racinaire	11
I.2.2. Paramètres physiologiques	11
I.2.2.1. Teneur relative en eau (RWC)	11
I.2.2.2. Mesure de la fuite d'électrolytes	12
I. 2.2.3. Dosages de sucres solubles réducteurs	12
I.2.2.4. Détermination de la quantité de chlorophylle	13
I.2.2.5. Dosage de la Proline	13
I.2.2.6. Extraction et dosage des protéines hydrosolubles	14
I.3. Analyse statistique	15
Chapitre II : Résultat et discussion	16
I-Paramètres morphologiques	16
I-1-Nombre de feuilles	16
I-2-Surface foliaire	16
I-3-Volume racinaire	17
I-4-Longueur des parties aériennes	18
I-5-Longueur racinaire	18
I-6-Poids frais des parties aériennes	19
I-7-Poids frais racinaire	19
I-8-Poids sec des parties aériennes	20
I-9-Poids sec racinaire	20
I-10-Discussion	20
II-Paramètres physiologiques.....	22
II-1-Chlorophylle totale	22
II-2-Fuite d'électrolytes	23

II-3-RWC	24
II-4-Corrélation entre chlorophylle et fuite d'électrolytes.....	25
II-5-Corrélation entre teneur en eau (RWC) et la longueur de la tige	25
II-6-Discussion	26
III-Paramètres biochimique	28
III-1-Protéine.....	28
III-2-Proline	28
III-3-Sucres solubles totaux	29
III-4-Corrélation entre protéines solubles et proline libre	30
III-5-Discussion	30
Conclusion générale et perspectives	33
Références bibliographiques	34
Annexe	

La salinité est l'une des contraintes environnementales limitant la productivité des écosystèmes naturels et agricoles. Approximativement, une superficie de 800 millions d'hectares de terre est affectée par l'élévation de la teneur en sels à travers le monde.

En Algérie, 3,2 millions d'hectares de terres arables sont menacés par la salinisation (Benmahioul et al. 2009). Le stress salin induit un déficit hydrique dans la plante sous forme de sécheresse physiologique (Mahajan et Tuteja, 2005). Ce stress osmotique se traduit également par l'accumulation toxique des ions dans les cellules et/ou un déséquilibre nutritionnel dû à un excès de certains ions (Souguir et al., 2013).

La toxicité des ions, le stress osmotique et le déséquilibre nutritif associés ont un impact néfaste sur la croissance des plantes et leur productivité (Salehi et Arzani, 2014). En effet, selon le degré de stress dans le milieu, les plantes sont exposées à des modifications de leur comportement morpho-physiologique, anatomique et biochimique (Grennan, 2006). Dans ces conditions, les plantes se trouvent en situation stressante et développent des mécanismes de défense (Denden et al., 2005).

L'accumulation de différents solutés protège les plantes contre le stress salin en contribuant à l'ajustement osmotique (Denden et al., 2005), la protection de l'intégrité de la membrane, la stabilisation des enzymes, et à la détoxification des dérivés réactifs de l'oxygène (Karuppanapandian et al. 2011).

Certains solutés remplissent une fonction supplémentaire afin de protéger les composants cellulaires de la déshydratation (Rasool et al., 2013). Parmi ces mécanismes de tolérance au stress abiotique, l'ajustement osmotique joue un rôle primordial dans la résistance ou la tolérance de la plante à cette contrainte environnementale (Rochdi et al., 2005).

Le stress osmotique est dû à l'excès de Na^+ et Cl^- dans l'environnement qui réduit le potentiel osmotique de la solution du sol et donc l'absorption d'eau par la racine de la plante (Rasool et al., 2013). L'ajustement osmotique constitue le processus majeur permettant à la cellule de maintenir sa turgescence (Berka et Aid, 2009).

Pour limiter la perte en eau, les plantes sont capables de maintenir la turgescence de leurs cellules grâce à l'accumulation contrôlée de composés organiques appelés osmoticum et osmoprotecteurs, tels que sucres solubles (Boriboonkaset et al., 2013), acides aminés (Slama et al., 2014), composés d'ammonium quaternaire (Rasool et al., 2013), hormones (Amjad et al., 2014), polyamines, afin d'atténuer l'effet du sel (Hasanuzzaman et al., 2013).

Notre étude porte sur deux espèces de légumineuse du genre *Hedysarum* *H. flexuosum* et *H. coronarium*. Plusieurs études agronomique et écologique réalisées en Algérie et dans les pays méditerranéens évoquent des potentialités de ces deux espèces dans plusieurs domaines. En effet, elles constituent un fourrage de haute valeur nutritionnelle (Kadi et al., 2011). Elles constituent un excellent précédent cultural pour les céréales (fixation de l'azote atmosphérique), protection des sols contre l'érosion. Elles sont également appréciées en tant que plante mellifère (Ben jeddi, 2005). Les richesses des espèces du genre *Hedysarum* leur confèrent également des vertus thérapeutiques avérées pour les animaux (Nieze et al., 2002).

Dans notre travail, nous avons fixé comme objectif d'étudier l'influence de la salinité sur les paramètres morphologiques physiologiques et biochimiques de ces deux espèces en phase de pleine croissance.

Ce présent document est réparti en trois parties principales, la première consiste en la présentation des généralités sur les deux espèces, suivie par la partie matériels et méthodes et se termine par l'illustration et la discussion des différents paramètres étudiés qui se termine par une conclusion.

I.1.Présentation de l'espèce :

Le genre *Hedysarum* se compose de deux groupes d'espèce : le premier est formé par un ensemble d'espèce arctique et asiatique dont le nombre chromosomique de base est $X=7$, et le second groupe, d'origine méditerranéenne, est défini par un nombre chromosomique de base est $X=8$ (Boussad *et al.*, 1995).

I.1.1.Axe aérien

Hedysarum adopte pour la majeure partie des populations prospectées la forme érigée, les tiges sont robustes et dressées dans les sols profonds et rampantes dans les sols calcaires et les schistes où il végète à l'état spontané (Bigourdan, 1993 et Baatout *et al.*, 1978 in Ben jeddi,2005) ; de 10 à plus de 100 cm de longueur. Les populations de Sulla sont partagées en groupes à tiges orthotropes, plagiotropes, ou semi-plagiotropes (Sarno *et al.*, 1978 in Ben jeddi,2005).

I.1.2.Feuille :

Les feuilles, sur les deux axes, sont composées, longuement pétiolées, munies de stipules libres imparipennées, de 3 à 5 paires de folioles ; de forme ovale. Elles sont munies d'une pilosité blanchâtre sur les bords (Prosperi *et al.* , 1995 ; Ben jeddi, 2005). La couleur de la face supérieure des feuilles est du vert foncé et est glabre.

La phyllotaxie des rameaux axillaire est alterne distique. Les feuilles sont dissymétriques avec une foliole isolée à la base du rachis foliaire (Prosperi *et al.*, 1989).

I.1.3.Système racinaire :

Les espèces de genre *Hedysarum* présentent une racine pivotante profonde qui peut atteindre plus de 2 mètres avec des racines secondaires bien développées (lapeyronie, 1982). Elle est pourvue de nombreuses racines secondaires, rhizomes développés avec plusieurs ramifications (Villax, 1963). Plusieurs travaux signalent la présence fréquente d'une double symbiose (endomycorhizes, et nodosités) au niveau du système racinaire de plusieurs espèces du genre *Hedysarum* (Binet et Brunel, 1968 ;Douhoux et Nicole, 2004).

I.1.4.Fleurs et inflorescences :

Hedysarum flexuosum L : Les inflorescences axillaires et a pédoncules en forme de grappes spiciformes ovoïdes et allongées a la fructification. Les fleurs sont de petite taille par rapport à celles de *Hedysarum coronarium L*, brièvement pédonculées, sont axillées par des bractées scarieuses et portant chacune a la base des calices deux bractéoles, et sont fréquemment butinées par les abeilles domestiques (*Apis mellefera*)(Prosperi et al.,1995 ;Ben jeddi,2005).le calice est campanule ,la corole est de couleur rose, pourpre ou violacée ,les étamines sont du type diadelph (Tutin et al .,1967 in Inegrechen,2007).

Pour *Hedysarum coronarium* L, les fleurs sont plus longues de 14 à 20 mm en grappes allongées, denses et longuement pédonculées. les gousses sont droites, larges de 4 à 5mm, à articles couverts d'aiguillons (Quezel et Santa, 1962).

Le développement végétatif est essentiellement hivernal, la floraison a lieu en Avril-mai et la sénescence commence dès le début du mois de juin (Abdelguerfi-Berrikia *et al.*,1991).

D'après Meyer *et al.* (2008), la formule florale d *Hedysarum* est :

[5]S+5P+ ([9] +1) E+1C.

I.1.5.Fruits et graines:

H.flexuosum L : Le fruit est une gousse flexueuse plus ou moins comprimée, constitue d'un nombre variable d'articles renfermant les graines (jusqu'à 8 articles par gousse) il se caractérise par une forme, ronde, quadrangulaire couverte d'aiguillons (Tutin *et al.*, 1967).

H.coronarium L : la graine est réniforme et discoïde avec un tégument lisse et luisant et uniformément coloré en jaune claire parfois noir (Semadeni, 1976 in Ben jeddi ,2005).

Les graines (2.5x2.5mm) sont réniformes ou ovoïdes, elles sont luisantes, de couleur marron ou jaunâtre a radicule fortement saillante (Prosperi *et al.*, 1995).

Selon une étude réalisée par Abdlguerfi-Berrakia,(1985) sur les graines de genre *Hedysarum*, le poids moyen d'une gousse est de 163 mg et le poids moyen d'une graine saine est compris entre 4,9 mg et 17,2 mg.

I.1.6.Position taxonomique

Selon Spichiger *et al.* (2004), le Sulla du nord est classé comme suit :

Règne	Végétal
Embranchement	Spermaphytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous-classe	Dialypétales
Ordre	Fabales
Famille	Légumineuses
Sous-famille	Papilionacées
Genre	<i>Hedysarum</i>
Espèce	<i>H flexuosum</i> L; <i>H coronarium</i> L.

I.2. Aire de répartition :

Hedysarum coronarium est une espèce qui a fait ses preuves dans plusieurs régions dans le monde particulièrement celle de la méditerranée. Cette espèce pousse spontanément en Algérie et en Tunisie.

Dans le bassin méditerranéen, l'aire de répartition de l'espèce (*H flexuosum*) est relativement limitée, elle s'étend du sud de la péninsule ibérique à l'Afrique du nord (killan, 1939 ; Prosperi et al. 1995. Abdelguerfi-Berrakia et al., 1991). L'espèce est absente en Libye, Tunisie, Egypte et en Mauritanie. En Algérie et au Maroc, l'espèce se développe sur des substrats marneux et marno-calcaires dans des régions où la pluviométrie moyenne annuelle est supérieure à 550 mm (Abdelguerfi-berrakia et al., 1991). Au Maroc, l'espèce est représentée par des populations de taille réduite couvrant 1 à 3 ha chacune, particulièrement dans les régions de Tanger, Tétouan et Asilah. En Algérie, l'espèce est plus représentée. Elle abonde sur les pentes septentrionales de l'atlas mitidjien et manque sur les hauts plateaux et au désert. L'étendue des populations varie souvent selon l'état de dégradation des sites. Mais d'une façon générale, les populations sont surpâturées ou récoltées au stade végétatif pour l'alimentation du bétail (Prosperi et al., 1995).

I.3. Exigences climatiques

Les *Hedysarum* poussent à des altitudes faibles à moyenne, inférieures à 600 m généralement. Fréquente en zone à climat subhumide, elles poussent bien pendant l'hiver, pendant les grandes chaleurs, elles ne poussent pas ou peu, même en culture irriguée (Villax, 1963 in Ben jeddi, 2005).

Hedysarum flexuosum L, se développe sur des terrains en pente, elle préfère les sols argileux et légèrement basiques à pluviométrie supérieure à 550 mm (Prosperi et al., 1995).

I.4. Exigences édaphiques:

Hedysarum se rencontre sur les sols de texture très fine, à pH compris entre 6.2 et 8.1 à conductivité très faible à moyenne généralement pauvres en potassium et en phosphore. Elle est fréquente sur des pentes marneuses, des sols sableux et absente carrément dans les sols très riches en calcaire total (Abdelguerfi-Berrekia et al., 1991).

I.5. Intérêt et utilisation du Sulla

I.5.1. Intérêt agronomique :

La composition chimique de Sulla est voisine de celle du trèfle violet, à l'exception de sa teneur en protéines brutes inférieure au stade floral. A ce même stade, le Sulla est aussi plus pauvre en calcium (9.2%), magnésium (2.4%) et phosphore (2.9%) que la luzerne (*Medicago sativa*) (Maymone et al, 1951 in Ben jeddi, 2005).

Plusieurs travaux considèrent *Hedysarum flexuosum*, comme une source riche en protides et fibres ainsi qu'en sels minéraux (Caputa, 1967 ; Ben Yousef ,1972 ; Olea et Paredes, 1982 in Abdelguerfi-Berrekia et al., 1985).

Le choix des légumineuses fourragères est fondamentale, car elles sont considérées comme une source importante de protéines dont la valeur nutritive est supérieure à celle des graminées (Caputa, 1967 ; Ben Yousef ,1972 ; Olea et Paredes, 1982 in Abdelguerfi-Berrekia *et al.*,1985). Le Sulla assurent un pâturage abondant et une bonne valeur nutritive (Abdlguerfi-Berrekia *et al.*,1991).

Le Sulla permet de réaliser des performances très positives, que ce soit sur la production laitière des brebis ou le poids des carcasses et le rendement à l'abattage notamment pour les petits ruminants, grâce au contenu élevé en matière sèche, ainsi que sa grande efficacité alimentaire (Sitz *et al.*,2006 ;Bonnano *et al.*,2010 in Belmihoub,2012).

Intérêt écologique

Le Sulla a un rôle floristique fondamental dans l'amélioration de la fixation biologique et de la fertilité organo-chimique du sol (Gounot, 1958 ; Trifi *et al.*,2002 in Slim *et al.*,2011).

Cette espèce est aussi considérée dans les régions du nord du Maroc et de la nouvelle Zélande, potentiellement utile pour le fourrage et le pâturage, en plus de son utilité établie pour la protection des sols contre l'érosion, la valorisation des régions dégradées, surtout dans les zones semi arides (Douglas, 1998 ; Ben jeddi, 2005 ; Hannachi *et al.*, 2004 in Sabihi, 2008).

Les populations naturelles de *H flexuosum*, de port érigé (facilitant le fauchage), assurent un pâturage hivernal et printanier de bonne valeur nutritive (Abdelguerf-Berrakia *et al.*,1991).Le Sulla peut participer à la valorisation des jachères et à leur enrichissement en azote organique ainsi qu'à la protection des sols marneux et marno-calcaires en pente (souvent dénudés) et des abords des forêts (Pin d'Alep et genévrier de Phénicie essentiellement)(Killian,1939 in Prosperi *et al.*,1995 ;Abdelguerfi-Berrakia *et al.*,1991).

II.1. Notion de salinité :

Par définition, le sol salin est un sol qui contient des concentrations suffisamment élevées de sel hydrosolubles, notamment le sulfate de sodium Na_2SO_4 , Ca^{++} , Mg^{++} et le Cl^- sous forme ioniques Ca , Mg et Cl . Par le processus naturel de salinisation, ces sels peuvent se concentrer à la surface du sol et y causer un état appelé salinité du sol (Antipolis, 2003).

II.2. Salinisation des eaux d'irrigation

La qualité d'eau d'irrigation est un facteur important à prendre en considération dans l'agriculture en irrigué car elle constitue la première source de sels solubles. Elle est mesurée de deux façons, soit par les matières dissoutes totales (MDT) exprimé en mg/l ou, plus couramment par la conductivité électrique. Cette dernière est exprimée en mS/cm (Couture, 2004).

II.3. Paramètres affectés par la salinité :

La salinité affecte presque tous les mécanismes physiologiques et biochimiques des plantes. De fortes concentrations de sel exogène affectent la germination des graines, provoquent un déficit physiologique en eau et un déséquilibre ionique des cellules ainsi qu'un stress osmotique (Munns 2002 ; Hajlaoui et al., 2007).

II.3.1. Effet de la salinité sur la germination :

Les semences des glycophytes et les halophytes répondent de la même manière au stress salin, en réduisant le nombre total de graines germées et en accusant un retard dans l'initiation du processus de la germination (Ismail, 1990, in Baba-sidi-Kassi, 2010). Il diminue la vitesse de germination et réduit le pouvoir germinatif. Cet effet dépend de la nature de l'espèce et de l'intensité du stress salin (ben Naceur et al., 2001 ; Tobe et al 2001). La salinité perturbe également les systèmes enzymatiques impliqués dans les différentes fonctions physiologiques de la graine en germination, telle que la diminution de l'activité de polyphénol oxydase et amylase (Khemiri et al ., 2004 ; laven et al., 2008) et des peroxydase (amaya et al ., 1999).

II.3.2. Effet de la salinité sur le stade végétatif :

La présence de sel dans les milieux de culture exerce divers effets sur la croissance des plantes et sur la qualité de la production. Ainsi les plantes peuvent manifester des formes adaptatives telles que le faible allongement des organes et de leurs ramifications, le raccourcissement des entrenœuds et des tiges et la diminution de la surface foliaire

II. 3.3. Effets de la salinité sur la nodulation :

Le stress salin réduit la nodulation des légumineuses en inhibant les événements symbiotiques. Les niveaux de salinité qui inhibent la symbiose entre les légumineuses et les *Rhizobium* sont différents de ceux qui inhibent la croissance des symbiotes individuels, ces derniers sont généralement plus tolérants à la salinité (Aydi et al., 2004).

II.3.4.Effets de la salinité sur les processus physiologiques de la plante :

II.3.4.1.Effet sur la photosynthèse :

L'accumulation du sel dans la plantule peut réduire la surface foliaire photosynthétique grâce à la fermeture des stomates (Flowers *et al.*, 1977 ; Rahmoune *et al.*, 1997 ; Ben nacer , 2004, 2005 ; Rahmoune, 2005 in Lemzeri, 2007). La réduction de l'assimilation du carbone par suite de la réduction de la surface foliaire provoque un maintien accru de la respiration (Hopkins, 2003).

II.4.Mécanismes de résistance et tolérance des végétaux à la salinité :

La tolérance d'une plante à la salinité est définie par son aptitude à se développer normalement en conditions salines. Le degré de tolérance dépend surtout du stade physiologique de la plante. En général, les plantes sont plus sensibles au stade germination et émergence. Le degré de sensibilité diminue ensuite avec l'âge (Regragui ,2005).

Chez les plantes non tolérante au NaCl, le Na⁺ s'accumule dans les racines mais il est exclu des feuilles, ces plantes sont dites (excluser). A l'inverse, les plantes tolérante au NaCl sont dites (incluser) car elles ont en générale des feuilles plus chargées en Na⁺ que les racines, lorsqu'elles sont cultivées en présence de sel (Haoula et al, 2007).

II.4.1.Exclusion :

La plante empêche le sel de remonter par 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 ré-excréter les ions Na⁺ (Genoux et *al.*, 1991).

II.4.2.Inclusion :

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, le sel est ainsi isolé des constituants cellulaires vitaux (Berthomieu et *al.*, 2003), ou excrétée par des glandes vers l'extérieur (Alem et Amri, 2005).

L'excrétion dans les glandes à sel est très spécifique, d'abord Na⁺, Cl⁻ et HCO₃⁻ sont excrétés contre le gradient de concentration, alors que des ions comme Ca⁺⁺, NO₃⁻, SO₄²⁻ et H₂PO₄⁻ sont maintenus contre leur gradient (Hopkins, 2003).

II.4.3.Ré-excrétion :

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

II.5.Mécanismes d'adaptation à la salinité :

D'une manière générale, la tolérance à la contrainte saline peut être associée à trois caractéristiques physiologiques essentielles:

II.5.1.Une utilisation efficace des ions dans le maintien de la turgescence:

Les halophytes se caractérisent par une grande capacité d'absorption et d'accumulation préférentielle de chlore et de sodium dans les feuilles. Une conséquence de cette accumulation des ions est l'élévation de la pression osmotique, celui-ci contribue à maintenir le potentiel hydrique total dans la plante, inférieur à celui de la solution du sol, une réduction des pertes d'eau et au maintien de la turgescence cellulaire (BELKHODJA, 2007). L'ajustement se retrouve chez la grande majorité des organismes vivants pour le maintien de l'alimentation hydrique et de la pression de turgescence (GREGORI, 2005).

II.5.2.Une bonne compartimentation vacuolaire de Na⁺ et Cl⁻ au niveau des feuilles:

La compartimentation vacuolaire des ions toxiques est un facteur majeur de la tolérance au sel. En fait, la compartimentation de Na⁺ et Cl⁻ à l'intérieur des vacuoles est un moyen de prévenir la toxicité dans le cytosol et contribue à l'ajustement osmotique nécessaire à la tolérance à la salinité (Zhu, 2001).

II.5.3.Une sélectivité d'absorption et de transport en faveur de K⁺ malgré l'excès de Na⁺ :

Une haute concentration de K⁺ et une baisse de concentration de Na⁺ sont nécessaires pour un processus cytoplasmique normal (Ashraf et Ali, 2008). En fait, le maintien d'une concentration élevée K⁺ par rapport au Na⁺ résulte de l'exclusion de Na⁺ et /ou de sa compartimentation intracellulaire (dans la vacuole).

La principale adaptation des halophytes au stress salin est leur grande capacité d'absorption ionique pour assurer leur ajustement osmotique. Elles accumulent des quantités de Na et Cl qui seront toxiques pour les glycophytes. Ces derniers vont au contraire favoriser l'entrée des ions K⁺ par rapport au Na⁺. La capacité à sélectionner le K⁺ par rapport à Na⁺ lors de l'absorption a été décrite comme un critère de tolérance au sel (Ashraf et Ali, 2008).

II.5.4.Accumulation d'osmoprotectants :

L'accumulation des composés organiques (sucres solubles, bétaine, proline et des acides organiques) a lieu essentiellement dans le cytoplasme et permet un ajustement des pressions osmotiques cytoplasme-vacuole (foolad et ashraf, 2007). Ils peuvent ainsi être des marqueurs intéressants pour évaluer la résistance des plantes au stress salin.

Le présent travail a été entrepris en vue de déterminer les modifications éco-physiologiques chez deux espèces du Sullia ; *Hedysarum flexuosum* L et *Hedysarum coronarium* L soumises à différents traitements au stade pleine croissance.

I.1. Protocole expérimental :

I.1.1. Conditions de culture :

I.1.1.1. Matériel végétal :

Deux espèces du Sullia ; *Hedysarum flexuosum* L et *Hedysarum coronarium* L dont les graines ont été collectées dans différentes zones du nord d'Algérie.

L'échantillonnage a été réalisé durant la première quinzaine du mois de juillet 2014 (Mr Medjbeur), dans les stations suivantes : *hedysarum flexuosum* L à hasnaoua (Tizi Ouzou) et pour *hedysarum coronarium* L dans la région d'Oued Ghir (*Bejaia*).

I.1.1.2. Préparation de graines :

Les graines percées ou visiblement infestées par les champignons et les bruches, ont été enlevées.

Les lots de graines ont été homogénéisés aussi bien pour leurs tailles que pour la couleur. Les graines sont mises dans un récipient d'eau distillée, les graines qui tombent au fond sont considérées comme mures, celles qui remontent en surface sont soit immatures ou bien avortées.

- **Prétraitement :**

Afin d'éviter d'éventuelles dormances tégumentaires, nous avons réalisé une scarification mécanique à l'aide de papier abrasif (Abdlguerfi-Berrakia, 1985)

Les graines ont été traitées à l'eau de javel de concentration 5% pendant 5 minutes, puis rincées abondamment à l'eau distillée. Les graines sont mises au réfrigérateur à $5 \pm 2^{\circ}\text{C}$ pour leur imbibition pendant 24h.

I.1.1.3. Mise en culture :

Le semis est effectué dans des pots en plastique mesurant 12 cm de hauteur et 10 cm de diamètre remplis de substrat (un volume de terreau + un volume de sable + un volume de terre) et irriguées en raison de 40 ml pour maintenir le substrat à sa capacité au champ : les semences sont arrosées avec la solution nutritive constituée de 0.4mM de KNO_3 , 1mM de KH_2PO_4 , 0.4mM de MgSO_4 (Wacquant ; 1974) ajouté (traitement ou non (témoin)) du NaCl avec un régime d'arrosage de trois(3) fois par semaine.

I.1.2. Dispositif expérimental :

Les plantules des deux espèces du Sulla du Nord (*hedysarum flexuosum* L et *hedysarum coronarium* L) sont soumises aux différents traitements :

- 1^{er} traitement : arrosé à la solution nutritive seule.
- 2^{ème} traitement : arrosé à la solution nutritive + 3g/l de NaCl
- 3^{ème} traitement : arrosé à la solution nutritive + 6g/l de NaCl
- 4^{ème} traitement : arrosé à la solution nutritive + 9g/l de NaCl

Le nombre de plantules utilisées : 4doses X2 espèces X40répétitions=320 plants.

Le dispositif expérimental a été entrepris sous un tunnel en plastique construit sur une parcelle située à proximité de la faculté des sciences biologiques et sciences agronomiques (Dallali et al.,2012) .



Figure n°1: Dispositif expérimental.

I.2. Paramètres mesurés :

Il est très difficile de suivre le comportement d'une plante à partir d'un seul paramètre, en effet le suivi du comportement des plantes vis-à-vis du stress salin raison pour laquelle nous nous sommes basé sur plusieurs paramètres morphologiques et physiologiques.

I.2.1. Paramètres morphologiques :

I.2.1.1. Mesure de la croissance en longueur :

A la fin de l'expérimentation, les plantes ont été récoltées puis séparées en leur parties racinaires et caulinaires. Les racines sont lavées soigneusement à l'eau puis séchées rapidement avec du papier absorbant, les longueurs des parties aériennes et racinaires sont

mesurées à l'aide d'une règle graduée. Les valeurs obtenues constitue la moyennes de 12 répétitions par espèce /traitement.

I.2.1.2.Mesure de la masse pondérale :

La biomasse exprimée en gramme (g) a été effectuée par la pesée de la matière fraîche, puis de la matière sèche après étuvage à 80°C jusqu'à l'obtention d'un poids constant (48h).

I.2.1.4. Nombre de feuilles et mesure de la surface foliaire :

Le comptage du nombre de feuilles de chacune des espèces est réalisé également sur 12 plantes par espèce et par traitement.

Pour mesurer la surface foliaire nous avons un logiciel **Mesurim pro**.

La méthode consiste à :

- Scanner les feuilles de chaque espèces et traitement.
- Faire passer les différentes images obtenues au logiciel Mesurim pro.
- Obtention de la surface foliaire.

Un nombre de 40 feuilles par espèce sont utilisées.

I.2.1.5. Mesure du volume racinaire :

Mettre un volume d'eau connu dans des éprouvettes (V_1), submerger les racines des deux espèces et des différents traitements, on obtient un volume (V_2).

On déduit le volume racinaire V depuis l'équation : $V=V_2-V_1$.

I.2.2.Paramètres physiologiques :

I.2.2.1.Teneur relative en eau (TRE) :

Le poids frais des feuilles est estimé directement avec la balance de précision juste après la récolte, puis ces mêmes feuilles sont mises dans 25ml d'eau distillée dans les boites de pétri au réfrigérateur à $6\pm^\circ\text{C}$ pendant au moins deux jours (48h), en suite on calcule le poids turgescence, en fin on calcule le poids sec après étuvage à 60°C pendant au moins deux jours (48h).

La teneur relative en eau est calculée selon la formule suivante :

$$\text{TRE}(\%)=100*(P_F-P_S)/ (P_T-P_S)$$

P_F : Poids frais de la feuille ; P_S : Poids sec de la feuille ; P_T : poids turgescence (saturation)

I.2.2.2. Mesure de la fuite d'électrolytes :

Une masse de 0.2 g de matière fraîche (feuilles) est coupée en petits segments d'environ 1cm. Rajouter 5 ml d'eau distillée pour chaque échantillon. Ensuite le placer à une température ambiante. Après 45 min en procède à une première mesure de la conductivité (C1). Les échantillons sont ensuite incubés dans un bain-marie pendant 15 min à 100°C, et une deuxième mesure sera faite (C2), à l'aide d'un conductimètre.

-Le résultat sera calculer selon la formule de Dua et al (2006) : $(\%) = (C1/C2)100$.

I. 2.2.3. Dosages de sucres solubles réducteurs :

I.2.2.3.1. Extraction des sucres solubles :

Pour l'extraction, nous avons adopté la méthode de Mc Cready *et al* (1950). 1g de poudre végétale de feuilles de chacune des deux (2) espèces en fonction des concentrations est broyé dans 10ml d'éthanol à 80%. Le broyat est centrifugé à 4000tours/min pendant 10 min, après agitation au vortex.

Ensuite, le surnageant est récupéré dans une fiole de 50ml. L'extraction est réalisée une autre fois avec 5ml d'éthanol à 80%, suivie d'une centrifugation à 3000tours/min pendant 10min

Les extraits sont mélangés et ajustés avec l'eau distillée dans une fiole de 50ml.

I.2.2.3.2. Dosage proprement dit :

A 1ml de l'extrait glucidique sont ajoutés 2ml de réactif d'anthrone (0.2g d'anthrone sont dissous à froid dans 100ml d'acide sulfurique à 91%).

Après agitation, les tubes sont portés au bain-marie bouillant à 100°C pendant 7 minutes pour permettre le développement de la coloration. Après refroidissement des tubes, nous procédons à la lecture des densités optiques à 630nm à l'aide d'un spectrophotomètre de type SHIMDZU SPECTROPHOTOMETER UV.101.02.

I.2.2.3.3. Préparation de la gamme étalon :

A partir d'une solution mère de glucose à 100µg/l, on prépare une gamme de solutions filles à concentrations croissantes en glucose : 10µg/l ; 20µg/l ; 30µg/l; 40µg/l; 50µg/l; 60µg/l; 70µg/l; 80µg/l; 90µg/l et 100µg/l

Après lecture au spectrophotomètre, on trace la courbe des densités optiques en fonction de ces concentrations. Cette courbe étalon, nous permet de déterminer la teneur en sucres accumulée par la poudre végétale (traités et non traités)

Les quantités de sucres sont exprimées en mg.g^{-1} de MVS.

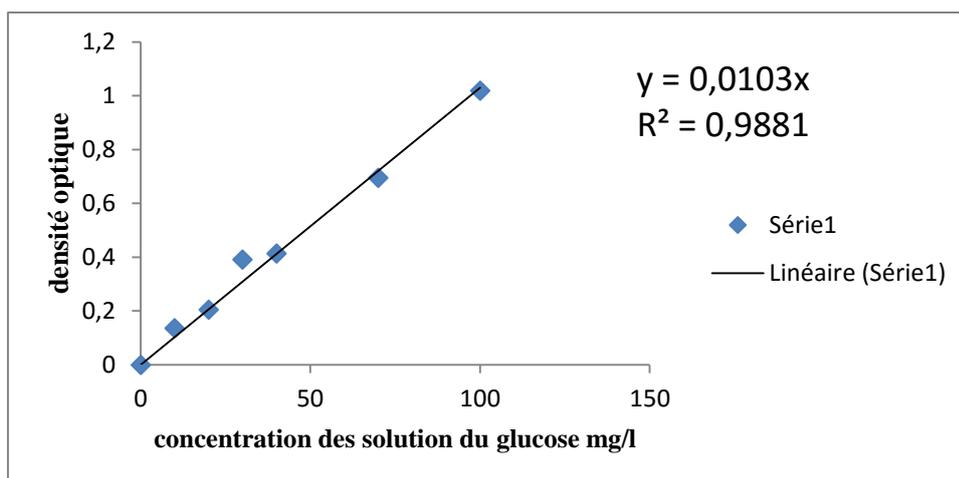


Figure n°2 : Courbe étalon du glucose.

I.2.2.4. Détermination de la quantité de chlorophylle :

Les échantillons utilisés sont des feuilles fraîches prélevées sur le même étage chez les deux espèces et les différents traitements testés à la récolte finale. Pour procéder, nous avons adopté la méthode de Dali *et al.*, (1992). Broyage de 0.1g de feuilles dans 10ml d'acétone à 80% à l'obscurité. Une première Centrifugation du broyat est entreprise pendant 10mn à 3000 tr/mn sous une température de 5°C. Une fois terminé le surnageant est récupéré dans un Erlenmeyer et stocké dans le réfrigérateur. Quant au culot, on lui ajoute de l'acétone à 80% refroidi pour être mixé une deuxième fois avec les mêmes conditions que précédemment. Le surnageant ainsi obtenu est mélangé avec le premier afin de déterminer le volume d'acétone ayant servi pour l'extraction.

Pour la détermination de la teneur en chlorophylle, 1 ml du surnageant est ajoutée à 9 ml d'acétone à 80%. La densité optique des extraits est lue à une longueur d'onde de 652 nm (Arnon, 1941 ; Bruinsma, 1961).

L'évaluation de la teneur en chlorophylle se fait selon la formule suivante :

Teneur en chlorophylle total ($\text{mg} \cdot \text{mg}^{-1}$) :

$$\frac{\text{Vol. de l'extrait d'acétone (ml)} \times \text{valeur de la lecture} \times 10}{\text{Poids de l'extrait sec (g)}}$$

I.2.2.5. Dosage de la Proline :

L'extraction et le dosage de la proline est basé sur la méthode de Troll et Lindsley (1955 ; modifiée par Bates *et al.*, (1973).

L'extraction est réalisée à partir de la matière sèche. Une masse de 0.2g de poudre de feuilles est mise à macération dans 10 ml de méthanol, des flacons sont hermétiquement fermés et chauffés au bain-marie à 85°C pendant une heure. Après refroidissement, on prélève 1 ml de l'extrait auquel on ajoute 1 ml d'acide acétique concentré et 1 ml de réactif à la Ninhydrine.

L'échantillon est porté à ébullition pendant 30 min et une coloration rose apparait. Après refroidissement, on additionne 5 ml de benzène et une pincée de sulfate du sodium Na_2SO_4 fait apparaître deux phases :

→ Phase supérieure benzénique contenant la proline.

→ Phase inférieure aqueuse éliminée.

Les densités optiques des échantillons sont lues à une longueur d'onde de 515 nm au spectrophotomètre.

Le courbe étalon illustré ci-dessous est réalisée à partir d'une solution mère de proline de 1 mg.

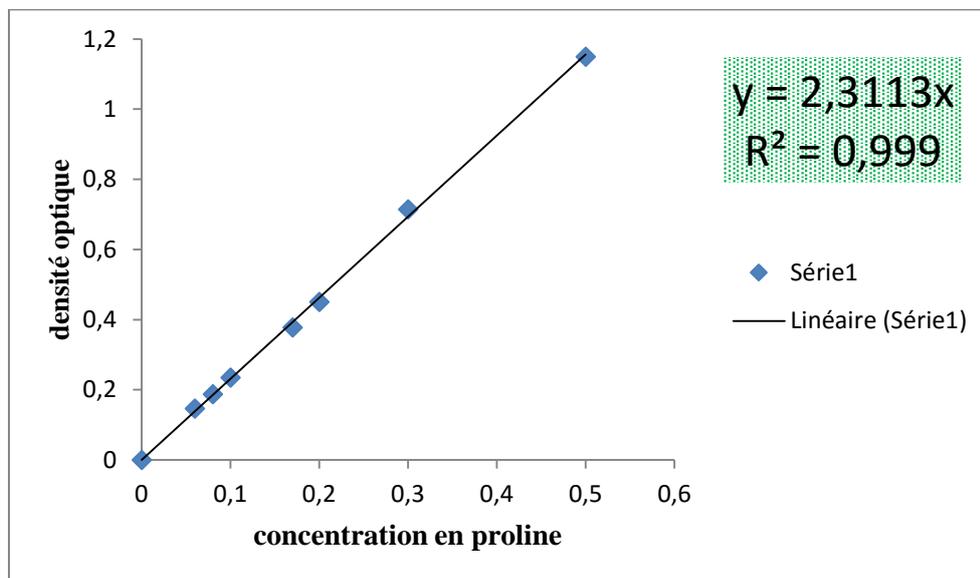


Figure n° 3: Courbe étalon de la proline.

I.2.2.6. Extraction et dosage des protéines hydrosolubles :

Les protéines hydrosolubles sont dosées par la méthode de BRADFORD (1976).

Cette méthode implique la formation d'un complexe de coloration bleu entre les protéines et le bleu de Coomassie (G250). La coloration bleue se développe rapidement et reste stable pendant 1 heure. Le complexe protéines-bleu de Coomassie absorbe au maximum à une longueur d'onde de 595nm.

L'extraction est réalisée sur 0.5g de matière fraîche dans 10 ml d'eau distillée. Le broyat est centrifugé pendant 15 min à 5000 trs/min. le surnageant contenant les protéines est récupéré.

A 1 ml de l'extrait sont rajoutés 5 ml de réactif de Bioard. Après quelques minutes d'incubation, les densités optiques sont lues à une longueur d'onde de 595 nm au spectrophotomètre.

Le courbe étalon est réalisé à partir d'une solution mère de Sérum Albumin Bovin (BSA protéine de référence).

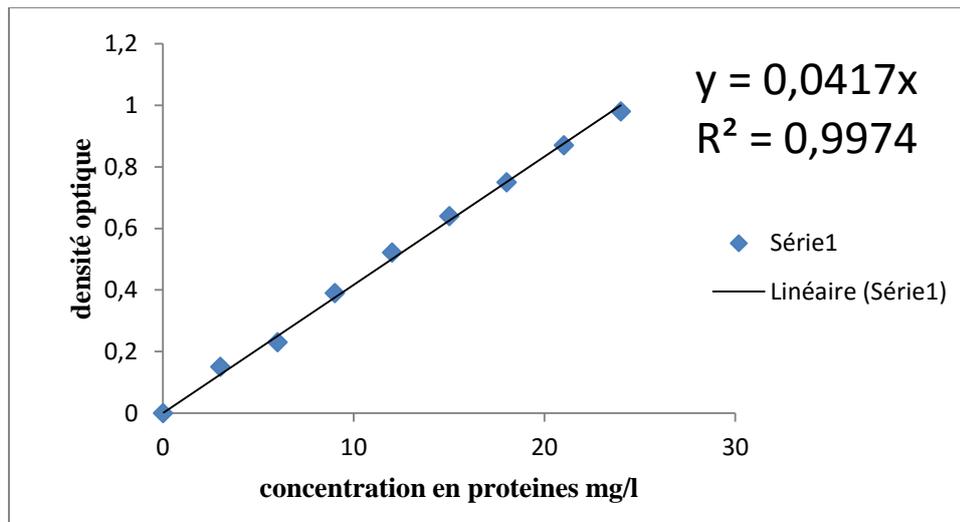


Figure n°4: Courbe étalon des protéines.

I.3. Analyse statistique :

Le dispositif expérimental pour lequel nous avons opté est en randomisation de Fisher à quatre (4) répétitions, au seuil $\alpha=5\%$, et le test de la plus petite amplitude significative (Newman-Keuls) pour l'homogénéité des moyennes, réalisée à l'aide du logiciel statistique STATBOX 6.4 de Grimmssoft.et les courbes de corrélations ont été réalisées avec le logiciel XLSTAT version 7.5.2.

Chacune des espèces a fait l'objet de l'analyse statistique (ANOVA) pour chaque facteur étudié (croissance en longueur, croissance pondérale, taux de germination et le temps moyen de germination) à deux facteurs de variation (salinité, espèce).

I-Paramètres morphologiques :

I-1-Nombre de feuilles :

Les résultats de la variation du nombre de feuilles chez les espèces étudiées sont illustrés dans la figure n°5

Le nombre moyen de feuilles par plante chez deux espèces diminue en fonction de la salinité du milieu. Le nombre de feuilles le plus élevé est enregistré chez les plantes témoin. A 6g/l de salinité le nombre moyen de feuille par plant se trouve réduit de 30% et 25% respectivement chez *Hedysarum flexuosum* et *Hedysarum coronarium*.

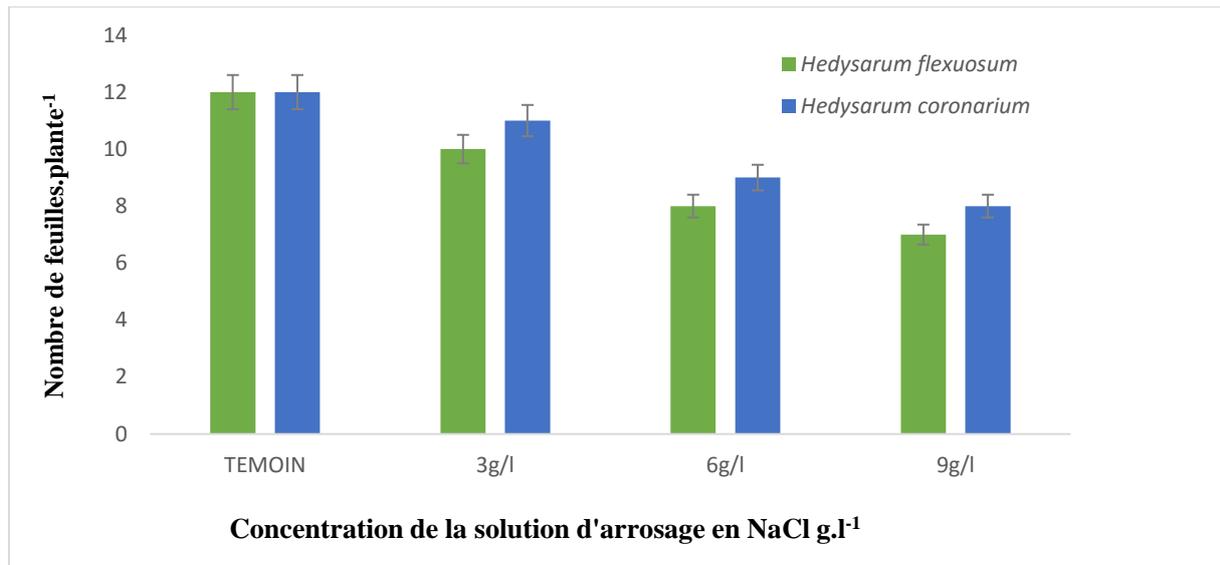


Figure n° 5 : L'effet de la salinité sur le nombre de feuilles des deux espèces d'*Hedysarum*.

Le test Newman-Keuls a regroupé les résultats en deux groupes homogènes, le groupe (A) rassemble les valeurs les plus élevées chez les deux espèces. Et le traitement à 3g/l. Le groupe (B) regroupe les valeurs les plus faibles enregistrées à des concentrations 6g/l et 9g/l.

I-2-Surface foliaire :

La figure n°6 montre une variation inversement proportionnelle par rapport à la salinité du milieu. La diminution de la surface foliaire est d'ordre de 37% et 65% respectivement pour *Hedysarum flexuosum* et *Hedysarum coronarium* pour la salinité moyenne (6g/l).

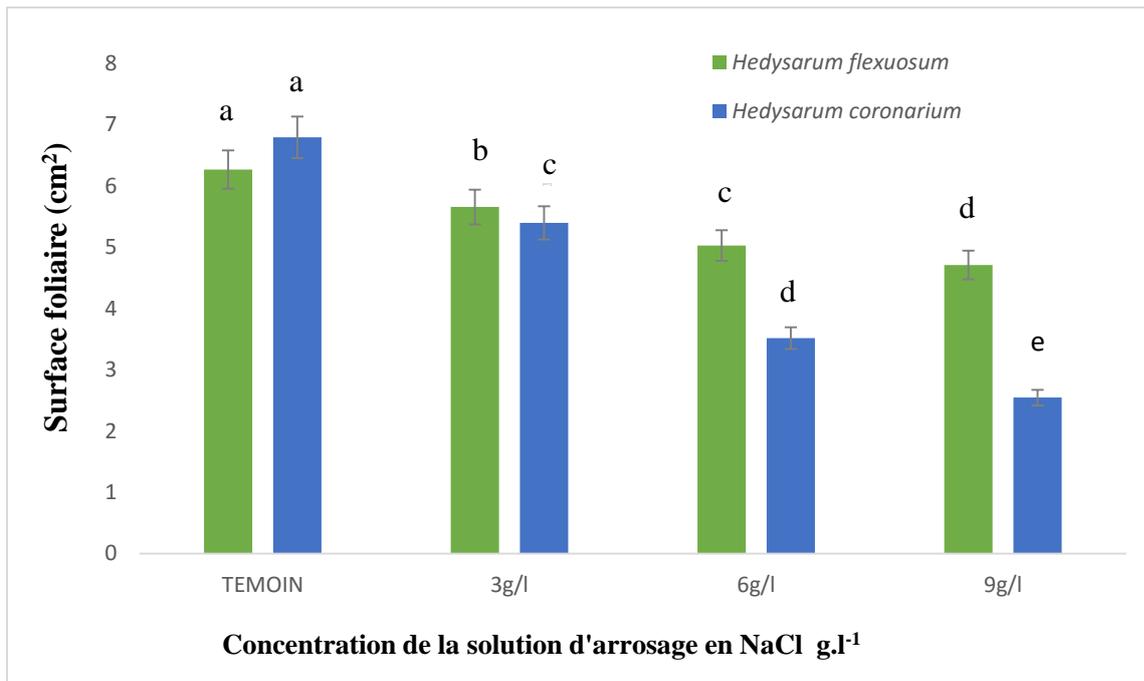


Figure n° 6 : L'effet de la salinité sur la surface foliaire des deux espèces d'Hedysarum.

L'analyse statistique montre une différence significative pour les deux espèces. Il regroupe les résultats dans cinq groupes homogènes dont les témoins sont dans le groupe (A), à partir de la dose 3g/l les deux espèces se comportent différemment.

I-3-Volume racinaire :

L'architecture racinaire simulée par son volume se rétrécit avec l'augmentation de la concentration du sel dans le substrat de culture et ce pour les deux espèces.

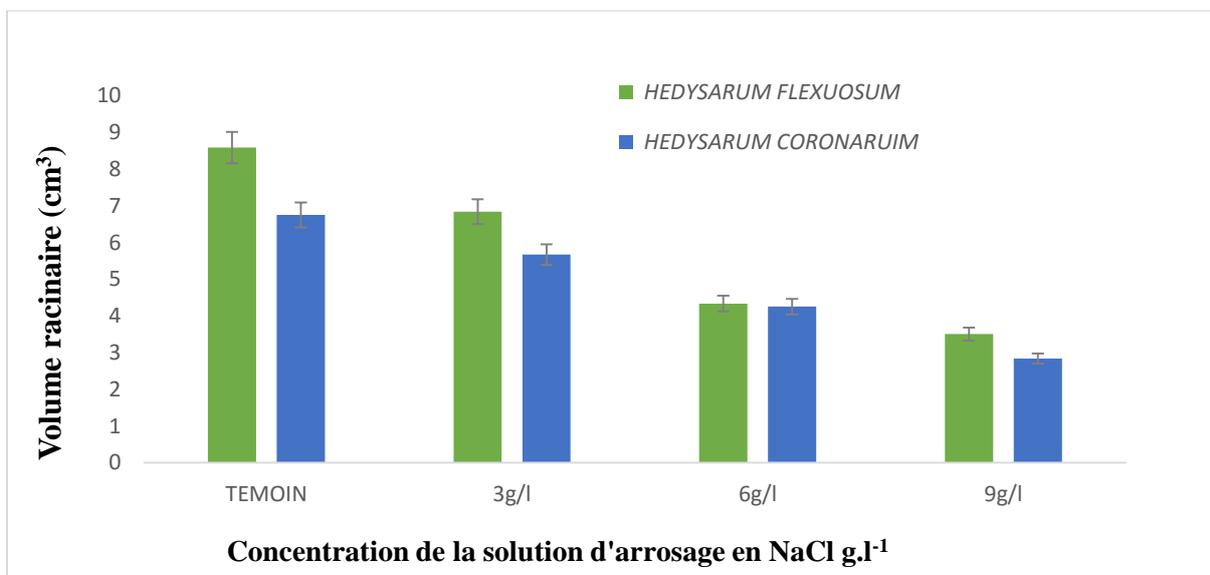


Figure n°7 : L'effet de la salinité sur le volume racinaire des deux espèces d'Hedysarum.

I-4-Longueur des parties aériennes :

A la lumière de la figure n°8 la longueur moyenne de la tige mesurée chez deux espèces diminue en fonction de la concentration du NaCl dans le milieu de culture, cette variation enregistrée est confirmée par l'analyse de la variance à un seul critère de classification dont les moyennes différentes significativement.

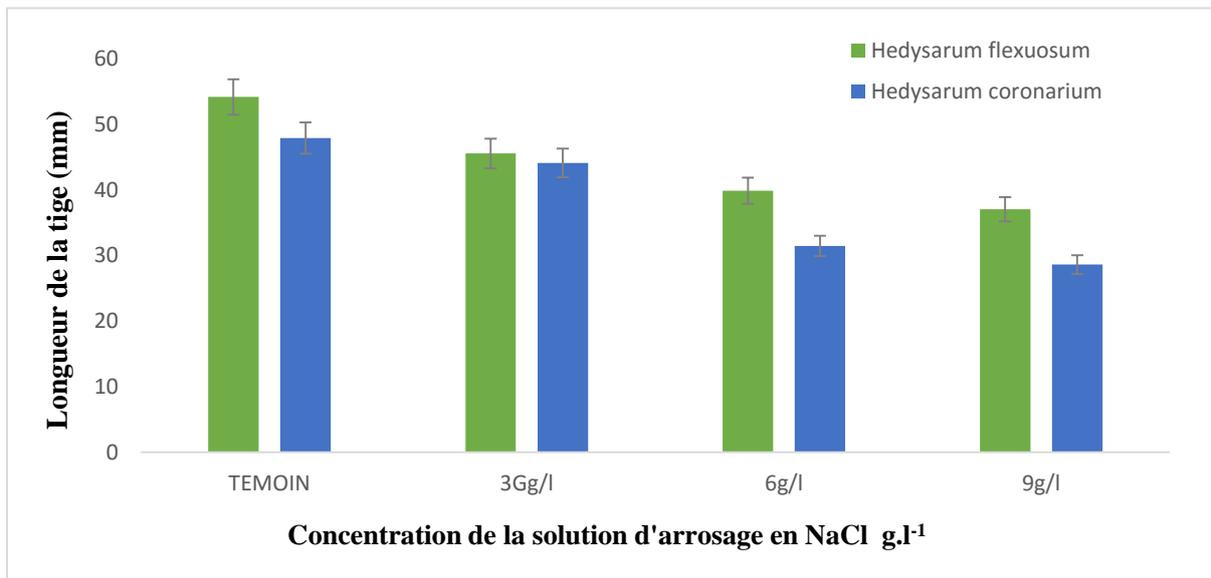


Figure n°8 : L'effet de la salinité sur la longueur de la tige des deux espèces d'Hedysarum.

I-5-Longueur racinaire :

Les résultats du suivi de la longueur racinaire sous les différentes doses de salinité, montrent une légère diminution en fonction de gradient de salinité.

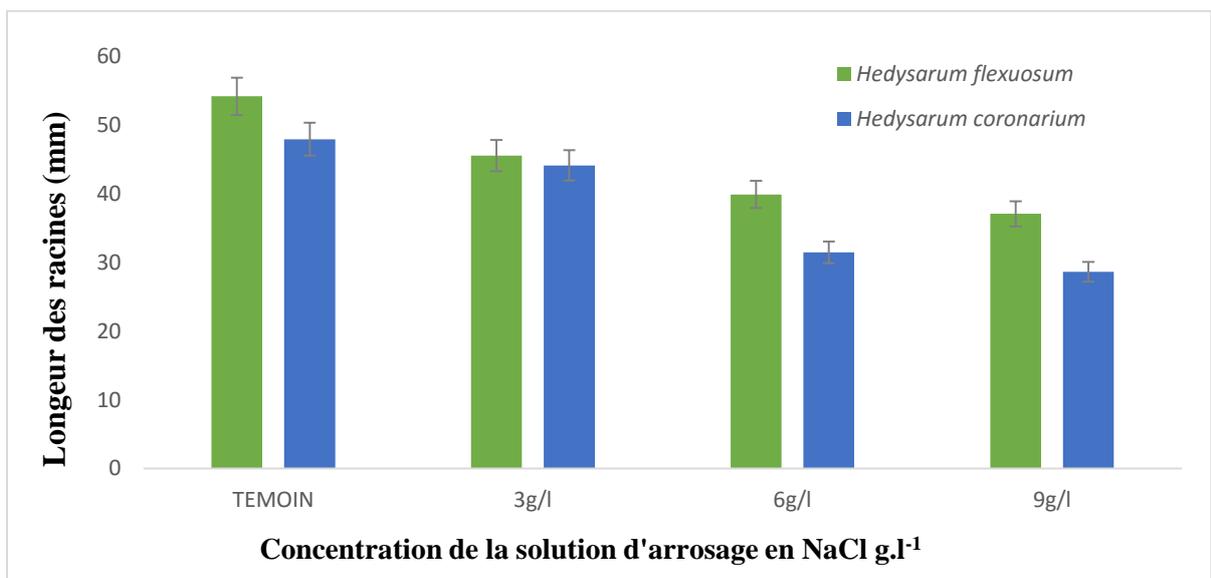


Figure n°9 : L'effet de la salinité sur la longueur racinaire des deux espèces d'Hedysarum.

Le test Newman-Keuls montre que l'influence de salinité n'apparaît qu'à partir de la dose 6g/l. Les plants témoins et ceux arrosés à 3g/l représentent les plus hautes valeurs de la longueur racinaire, et ceux traités à 6g/l et 9g/l respectivement sont rassemblés dans le groupe (B).

I-6-Poids frais des parties aériennes :

Le poids de la matière fraîche des plants soumis à la salinité illustré par la figure n°10 montre une influence significative à partir de 3g/l. Le test Newman-Keuls distribue les résultats en 3 groupes homogènes. Le groupe (A) comprend les résultats des plants témoins des deux espèces, le groupe (B) renferme les résultats moyens de plants arrosés à 3g/l et le groupe (C) montre les valeurs les plus faibles de la croissance des parties aériennes des doses de salinité 6g/l et 9g/l, ayant enregistré une chute avoisinant 48%.

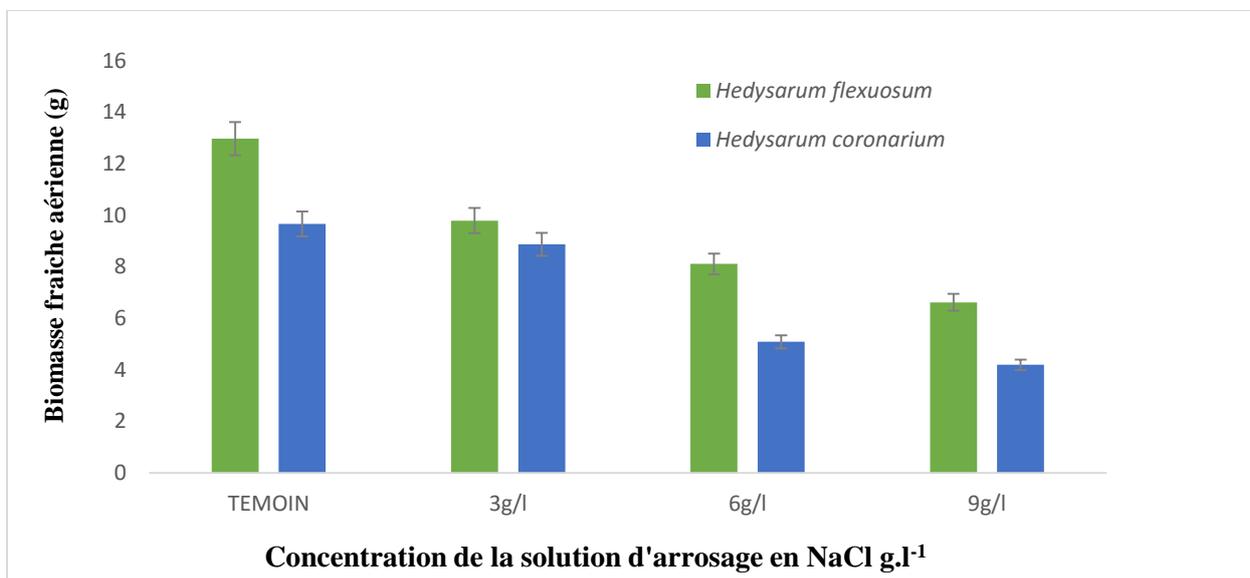


Figure n°10 : L'effet de la salinité sur la masse fraîche des tiges des deux espèces d'Hedysarum

I-7-Poids frais racinaire :

La figure révèle les moyennes du poids frais des parties racinaires des plants des deux espèces en fonction de la salinité.

D'après nos résultats, la biomasse fraîche racinaire produite par les plants de nos deux espèces a tendance à diminuer avec la salinité du milieu. L'ANOVA montre une variation très hautement significative chez les deux espèces.

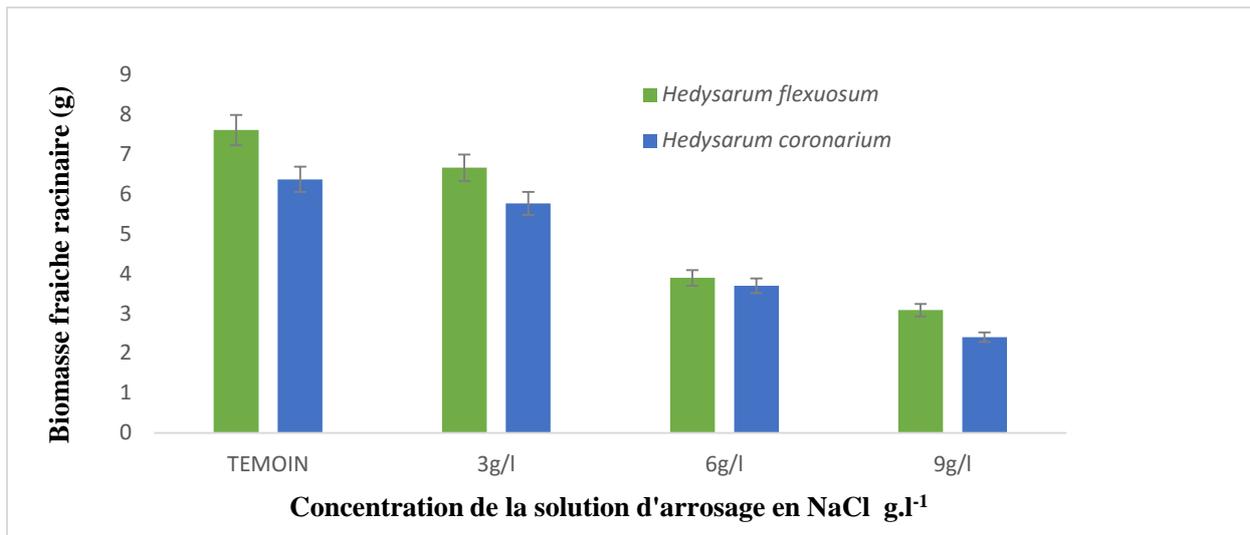


Figure n°11 : L'effet de la salinité sur la masse fraîche des racines des deux espèces d'Hedysarum

Le test de Newman et Keuls répartit les résultats en quatre (4) groupes homogènes. Le groupe (A) représente le témoin et le traitement (3g/l). Le groupe (B) représente le traitement (6g/l). Les groupes (C) et (D) englobent les valeurs les plus faibles pour la plus forte concentration (9 g/l).

I-8-Poids sec des parties aériennes :

Concernant l'impact de la salinité sur la croissance pondérale sèche des parties aériennes de deux espèces testées diminue progressivement en fonction de la salinité.

Les résultats sont vérifiés par le test statistique (tableau 01Annexe 05) à l'aide de l'analyse de la Variance, les traitements à la salinité révèle une différence très hautement significatif ($P \leq 0.001$). Une différence pour le facteur espèce est significative ($P \leq 0.05$), et non significative entre l'interaction ($T \times V$) ($P > 0.05$).

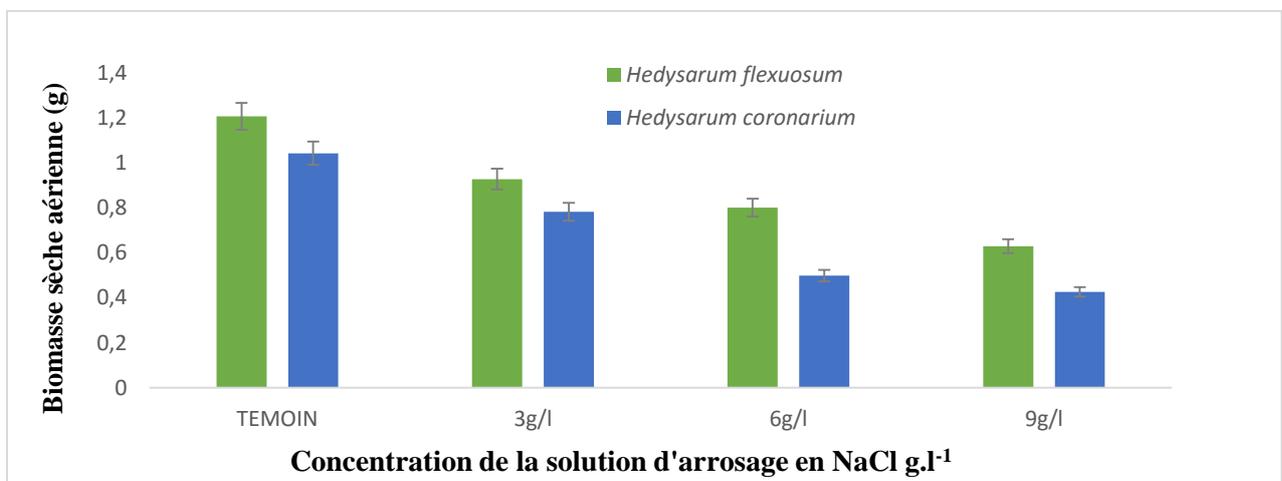


Figure n°12 : L'effet de la salinité sur le poids sec des tiges des deux espèces d'Hedysarum.

Le test Newman-Keuls regroupe les résultats du poids en 3 groupes homogènes dont le groupe (A) renferme les plants témoins, le groupe (B) représente les plants arrosés à 3g/l et le groupe (C) inclut les plants arrosés à 6g/l et 9g/l respectivement.

I-9-Poids sec racinaire :

Egalement pour la croissance des parties racinaires une diminution légère progressivement en fonction de la salinité.

De même que pour le poids de matière sèche. Le test Anova révèle une différence très hautement significative ($P \leq 0.001$) Mais la différence entre les espèces est significatif ($P \leq 0.05$), et non significative pour l'interaction ($T \times V$) ($P > 0.05$).

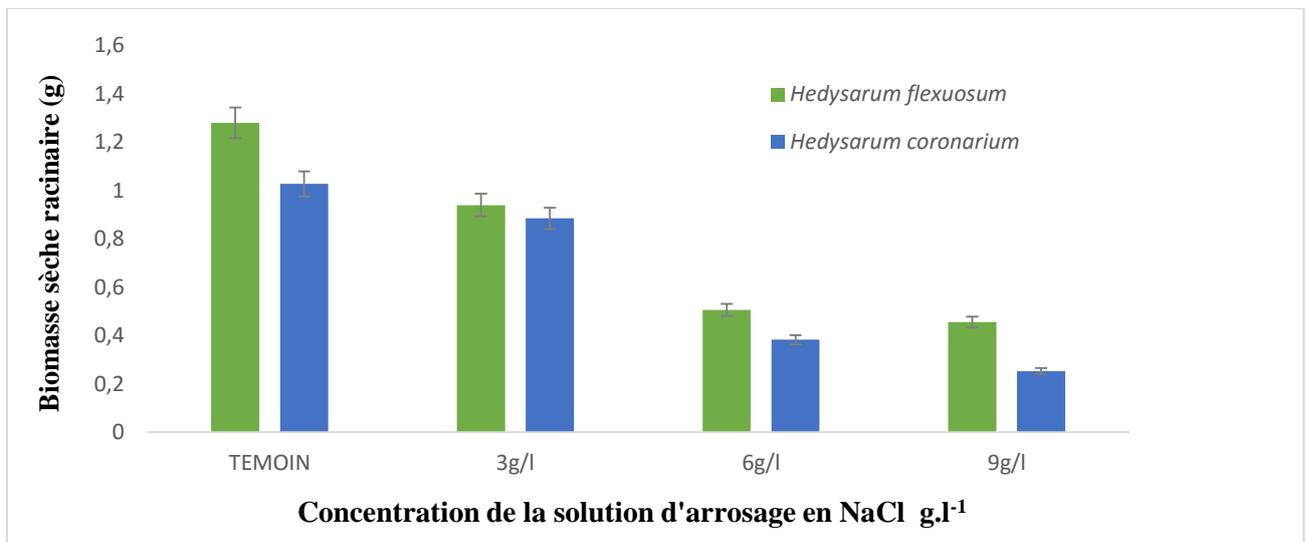


Figure n°13 : L'effet de la salinité sur le poids sec des racines des deux espèces d'*Hedysarum*.

Le test Newman-Keuls regroupe les résultats du poids en 3 groupes homogènes dont le groupe (A) renferme les plants témoins, le groupe (B) représente les plants arrosés à 3g/l et le groupe (C) inclut les plants arrosés à 6g/l et 9g/l respectivement.

I-10-Discussion :

Les stress abiotiques sont responsables de perte de rendement des écosystèmes naturels et agricoles.

La présence de sels solubles en forte concentration dans le sol, affecte les mécanismes physiologiques de la plante (Vincent, 2006 ; bajjim *et al.*, 1998).

L'application d'une contrainte saline par l'arrosage d'une culture de deux espèces de *Sulla* du nord à savoir *Hedysarum flexuosum* et *Hedysarum coronarium* avec des solutions de concentration différentes de NaCl, pour évaluer l'impact de ces degrés de salinité sur ces espèces, plusieurs paramètres morphologiques, physiologiques et biochimiques ont été suivis.

Concernant les paramètres morphologiques, nous avons enregistré une diminution du nombre moyen de feuille (25% et 30%) chez les plantes soumises à la salinité.

Une influence négative de la salinité apparaît à partir 6g/l. Celle-ci affecte aussi bien la partie aérienne de la partie que la partie racinaire.

En effet, la diminution de nombre de feuilles par plante, de la surface foliaire ainsi que la croissance en longueur, constitue une caractéristique de la plus part des espèces glycophytes. Les mêmes résultats ont été également rapportés par plusieurs auteurs tels que (Dallali et al., 2012) sur des population tunisiennes de *H.coronarium* et *H.carnosum* et *H.flexuosum* (Ait saidi et Belkessa, 2014) ; le trèfle (Ben Khaled et al., 2003) ; la fève (Aboul quados, 2010).

Chez plusieurs espèces végétales, la stratégie adopter en situation de contrainte saline consiste en la réduction en premier lieu de son système racinaire dans le but de préserver la partie aérienne devant maintenir et assurer la production des phytosynthétats.

La réponse immédiate du stress salin est aussi exprimée par une réduction de la surface foliaire (Wang et al., 2000) et une diminution des matières fraîches et sèches au niveau des feuilles, mais aussi au niveau des tiges et des racines (Dinar et al., 1999 ; Chartzoulakis et al., 2000 ; Hernandez et al., 2000). La diminution de croissance végétale exprimée que ce soit par la réduction du nombre de feuilles ou bien de la surface foliaire, représente généralement la première réponse des glycophytes exposée au stress salin (Munns et al., 1986).

En effet, aussi bien chez *H.flexuosum* que *H.coronarium*, la réduction du nombre de feuilles et la surface foliaire semble être une stratégie adoptée par ces deux espèces pour réduire la surface exposée à l'évapotranspiration et ce dans le but de maintenir l'hydratation des tissus a un seuil qui permet de maintenir les processus physiologique et métabolique vitaux tel que la photosynthèse et la transpiration. Ce pendant, cet avantage va de pair avec une réduction de la biomasse.

II-Paramètres physiologiques :

II-1-Chlorophylle totale :

Les résultats sont vérifiés par le test statistique à l'aide de l'analyse de la variance, qui révèle que chez les deux espèces du *Sulla*, l'impact du stress salin est significatif sur la teneur en chlorophylle totale, et ce entre les deux espèces, l'interaction présente également une différence significative ($p \leq 0.05$). Le test de Newman- Keuls regroupe les résultats en 4 groupes homogènes illustrés sur la figure.

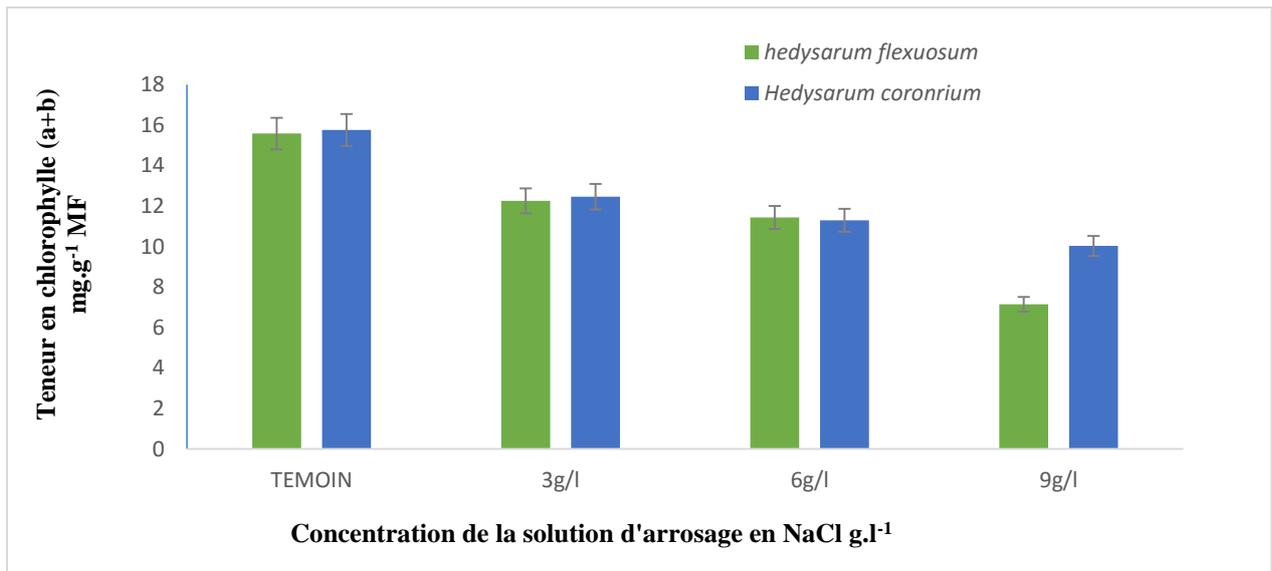


Figure n°14 : L'effet de la salinité sur la teneur en chlorophylles totales des deux espèces d'Hedysarum.

La mesure de la teneur en chlorophylle totale chez les deux espèces montre que ce paramètre diminue suite à l'augmentation de la dose de salinité par comparaison aux témoins. La figure(14) nous montre que les deux espèces se comportent de la même manière vis-à-vis de la salinité par rapport au taux de chlorophylle sauf pour la concentration 9 g/l où les taux de chlorophylle diffèrent entre les deux espèces où on trouve un taux de diminution de 54,12 % et 36,37 % respectivement chez *Hedysarum flexuosum* et *Hedysarum coronarium*.

II-2-Fuite d'électrolytes :

La fuite d'électrolyte est en augmentation graduelle avec l'élévation du gradient de salinité du substrat de milieu.

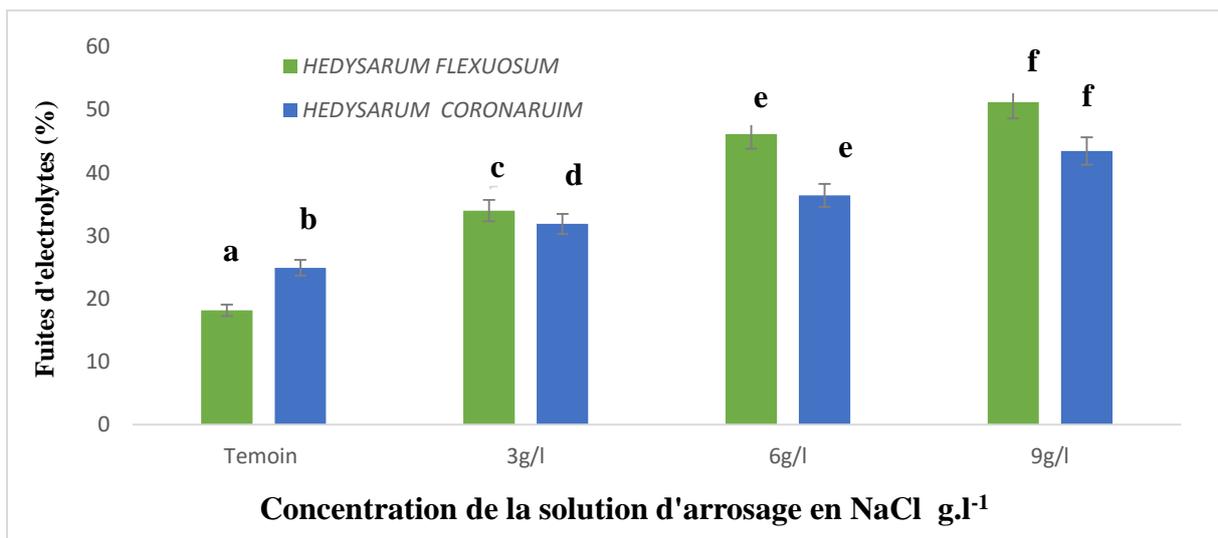


Figure n°15 : L'effet de la salinité sur la fuite d'électrolytes des deux espèces d'Hedysarum.

Les résultats sont vérifiés par le test statistique, à l'aide de l'analyse de la Variance, les facteurs salinité et espèce révèlent une différence très hautement significative ($P \leq 0.001$) ; et significative pour l'interaction (Salinité \times Espèce) ($P \leq 0.05$). Le test Newman et Keuls répartit les résultats en 6 groupes homogènes énumérés dans la figure.

La figure nous montre que les deux espèces se comportent de la même manière vis-à-vis la salinité pour le traitement de fuite d'électrolytes témoin et la concentration 3g/l. et pour 6g/l nous avons enregistré une augmentation de l'ordre de (3) fois et (2) fois respectivement chez *H flexuosum* et *H coronarium*.

II-3-RWC :

Le teneur relatif en eau diminue au fur et à mesure que le traitement à la salinité s'accroît.

Les résultats sont vérifiés par le test statistique, à l'aide de l'analyse de la Variance, les traitements à la salinité révèle une différence très hautement significatif ($P \leq 0.001$) Mais la différence entre les variétés est significatif ($P \leq 0.05$), et non significative pour l'interaction (T \times V) ($P > 0.05$).

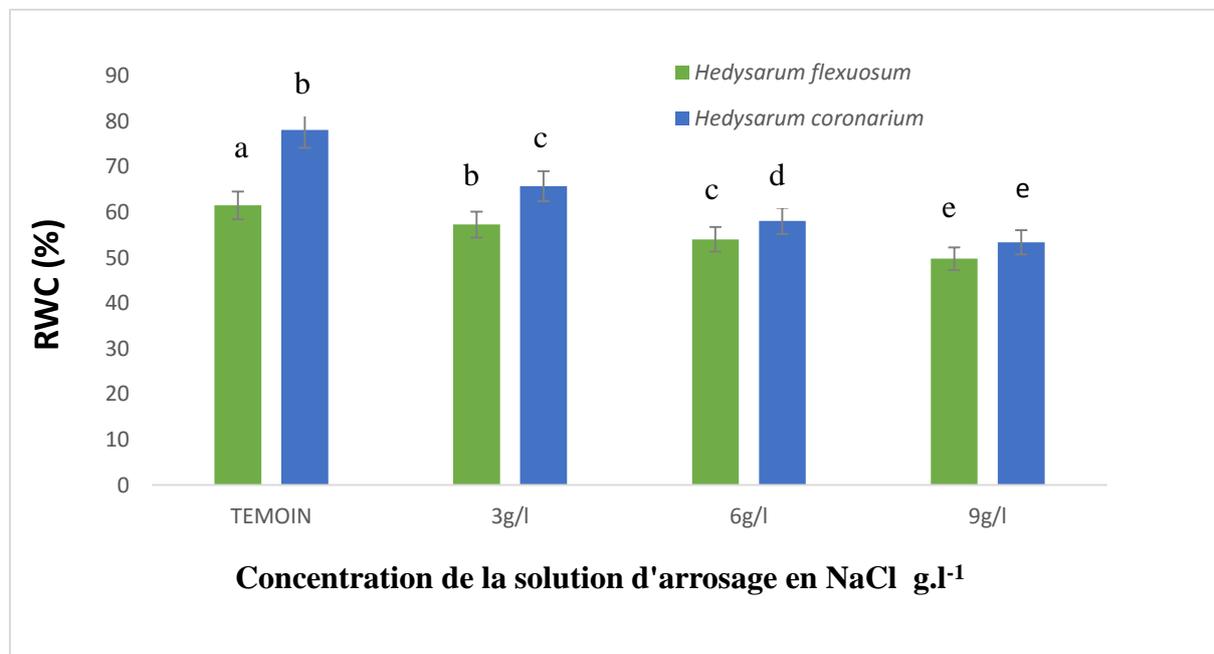


Figure n°16 : L'effet de la salinité sur la teneur en eau des deux espèces d'Hedysarum.

Le test Newman et Keuls répartit les résultats en 5 groupes, dont le groupe (A) représente les résultats de témoin pour l'espèce *H.coronarium*, le groupe (B) correspond aux valeurs enregistrées chez l'espèce *H.coronarium* témoin et *H.flexuosum* 3g/l, le groupe (C) inclut les valeurs enregistrées chez l'espèce *H.coronarium* à 6g/l et l'espèce *H.flexuosum* à 3g/l, le groupe (D) correspond aux valeurs enregistrées chez l'espèce *H flexuosum* à 6g/l et en fin le groupe rassemble les valeurs enregistrées chez les deux espèces testées.

II-4-Corrélation entre chlorophylle et fuite d'électrolytes :

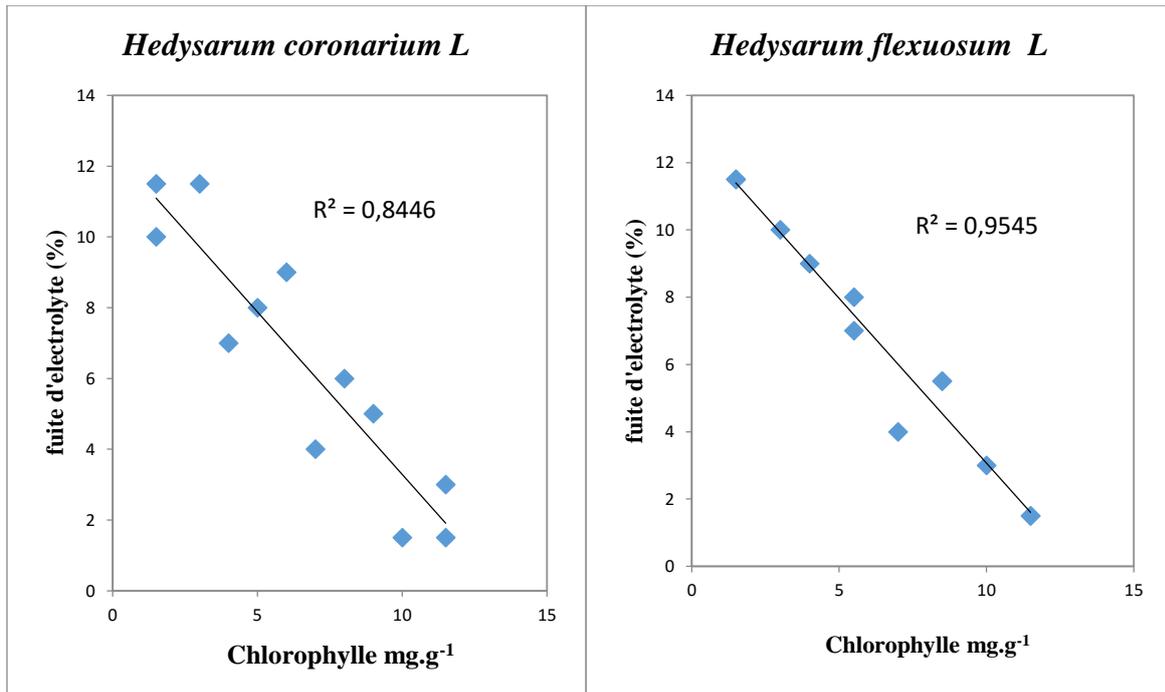


Figure n°17 : Corrélation entre teneur des feuilles en chlorophylle et le pourcentage en fuite d'électrolyte de *Hedysarum coronarium* L.

Figure n°18 : Corrélation entre teneur des feuilles en chlorophylle et le pourcentage en fuite d'électrolyte de *Hedysarum flexuosum* L.

Au seuil de signification Alpha=0,050 avec le test de corrélation de Spearman, on obtient une corrélation significative et positive chez les deux espèces du *Sulla* entre la variation des teneurs en chlorophylles total des feuilles et la fuite d'électrolytes. La corrélation a été établie en considérant les valeurs individuelles (trois par traitement) de la chlorophylle et la fuite d'électrolytes.

II-5-Corrélation entre teneur en eau (RWC) et la longueur de la tige :

Au seuil de signification Alpha=0,050 le test de corrélation de Spearman confirme une corrélation significative, effectivement une corrélation positive a été enregistrée chez les deux espèces du *Sulla* entre la teneur relative en eau et la longueur de la tige.

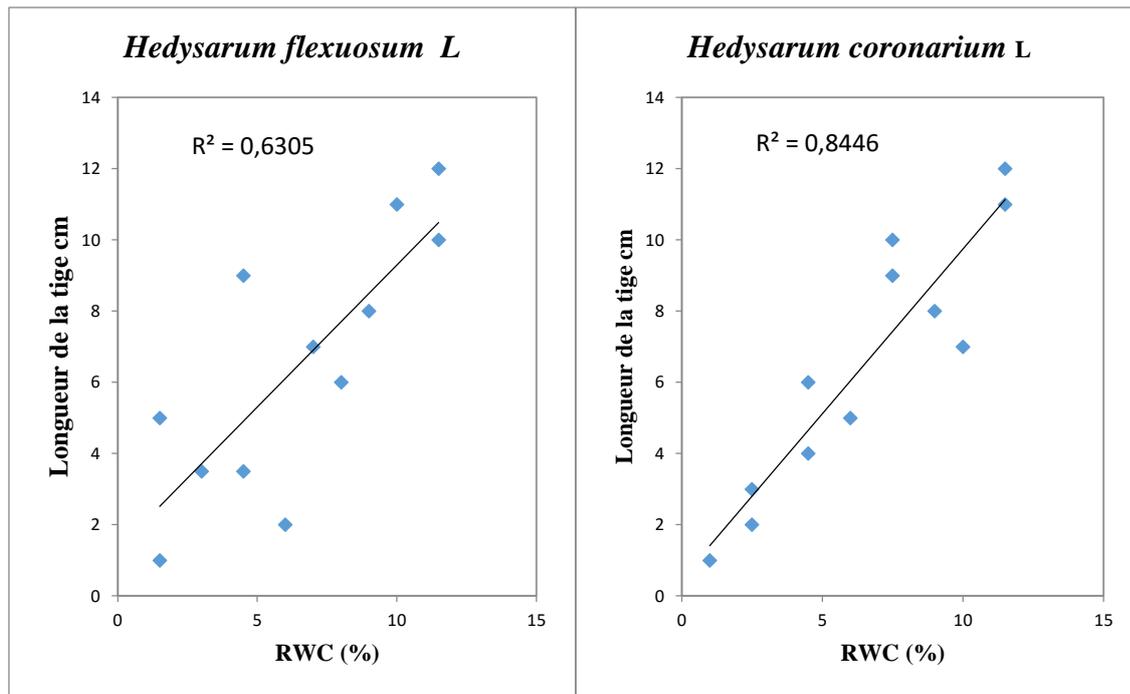


Figure n°19 : Corrélacion entre la longueur de la tige et la teneur relative en eau de *Hedysarum flexuosum L*.

Figure n°20 : Corrélacion entre la longueur de la tige et la teneur relative en eau de *Hedysarum coronarium L*.

II-6-Discussion :

La salinité est l'un des principaux stress abiotiques limitant la croissance et la productivité des plantes (Rasool et al., 2013 ; Soliman et al., 2014 ; Ly et al., 2014). Les résultats obtenus montrent que la teneur relative en eau des feuilles des plantes d'*Hedysarum flexuosum* et *H coronarium*, est réduite lorsqu'elles sont soumises à des concentrations élevées en NaCl. La réduction de l'hydratation des tissus ne se manifeste qu'au seuil de 6 g/l. la RWC est maintenue à une proportion tolérable avoisinant les 50% à 9 g/l. Ces constatations ont été déjà signalé sur la même espèce durant un stade phonologique plus précoce (Ait saidi et Belkessa 2014), ainsi que chez d'autres espèces glycophytes (Berka et Aïd., 2009 ; Labo et al., 2008 ; Zhami et al., 2013 ; Salorizdah et al., 2012). Ceci peut être dû à la toxicité des ions Na^+ et/ ou Cl^- accumulés dans le cytoplasme à des niveaux dépassant la capacité de compartimentation (Rochdi et al., 2005) dans la vacuole. L'accumulation apoplasmique des ions Na^+ et Cl^- serait le paramètre le plus impliqué dans le flétrissement et la mortalité de certaines espèces (Hasanuzzaman et al., 2013).

Ce processus conduit à un dessèchement des feuilles (Blumwald, 2000), une diminution du contenu relatif en eau des feuilles suite à la perte d'eau cellulaire (Mehan et al., 2012), une réduction générale de la croissance (Blumwald, 2000), la transpiration (Verslues et al., 2006), l'absorption hydrique par les racines (Urban et al., 2010) et perturbe l'homéostasie cellulaire (Perdiguero et al., 2013), (Iqbal et al., 2014). Par ailleurs, Kim et al., (2010) rapportent que l'acide abscissique, agit comme un signal de

stress, synthétisé en réponse à un déficit hydrique, et identifié comme l'un des signaux impliqués dans la régulation des stomates. Leur fermeture permet une diminution de la perte en eau mais elle provoque également une diminution de l'apport en CO₂.

Nos résultats expérimentaux ont bien montré que la salinité a significativement influencé l'intégrité membranaire des cellules des feuilles qui s'est manifesté par une augmentation de la fuite d'électrolytes chez les feuilles de nos deux espèces testées. Munns et Tester, (2008) rapportent que l'intégrité membranaire est l'un des facteurs qui explique au moins en partie les dommages de la salinité sur l'appareil photosynthétique.

Plusieurs auteurs ont signalé une forte corrélation entre la peroxydation des lipides et la fuite d'électrolytes. En effet Bor et al (2003) signalent une augmentation de ces paramètres sur deux espèces de betterave. Dallali et al., 2012 enregistrent la même constatation dans les plantules de *H.carnosum* et *H.coronarium*. En effet, Rouached et al (2013) signalent une augmentation du MDA et de la conductivité électrique chez des plantules de *Sulla Carnosa* et *Medicago truncatula* sous contrainte hydrique. Il précise également que ces paramètres sont directement liés au taux d'hydratation des tissus.

Les feuilles des plantules de *H.flexuosum* et *H.coronarium* présentent une chute de 50% à 60% de chlorophylle en situation de stress salin. Ce résultat va de pair avec l'élévation de la proportion de la fuite d'électrolytes. Ces résultats sont également enregistrés chez deux population tunisienne de *Sulla* (Dallali et al., 2012). Plusieurs auteurs évoquent la réduction de l'activité photosynthétique, suite à un stress environnemental, ne se manifeste pas de manière directe mais principalement via la réduction de la conductance stomatique et/ou de la pression partielle de CO₂ intracellulaire engendrant ainsi la chute de rendement en biomasse (Flanagan et al., 1989 ; Robinson et al., 1989 ; Sharkey et al., 1989 ; Downton et al., 1990).

La diminution de la teneur en chlorophylle peut être due, entre autre, à une diminution de l'acide 5-aminolévulinique (Stobart et al., 1985). Le NaCl inhibe la synthèse de l'acide 5-aminolévulinique, un précurseur de la chlorophylle (Nunkaew et al., 2014). La diminution du taux d'assimilation du CO₂ dans les feuilles est associée à une inhibition de la photosynthèse (Fryer et al., 1998) . Les plantes exposées au stress salin ont montré des symptômes de chlorose des feuilles et de nécrose, des résultats similaires ont été confirmés par Ibn Maaouia-Houimli et al., (2011).

D'autres auteurs (Clarke et McCaig, 1982) ont montré que la structure des chloroplastes est affectée par les conditions environnementales sévères et en particulier par le stress salin qui entraîne une désorganisation des systèmes granaires et lamellaires. Perdiguero et al., (2013) relie l'altération de la structure des thylakoïdes provoquée par le NaCl à l'induction d'une surproduction des formes réactives d'oxygènes (ROS). Salama et al. (2014) rapportent que les modifications structurales des thylakoïdes sont liées à un changement de la composition ionique de l'espace stomatique.

III-Paramètres biochimiques :

III-1-Protéine :

Les résultats sont vérifiés par le test statistique à l'aide de l'analyse de la variance, qui révèle que chez les deux espèces du *Sulla*, l'impact du stress salin est significatif sur la teneur en protéine, et ce entre les deux espèces, ainsi que l'interaction présente des résultats significatif ($p \leq 0.05$). Le test de Newman et Keuls regroupe les résultats en 4 groupes homogènes illustrés sur la figure.

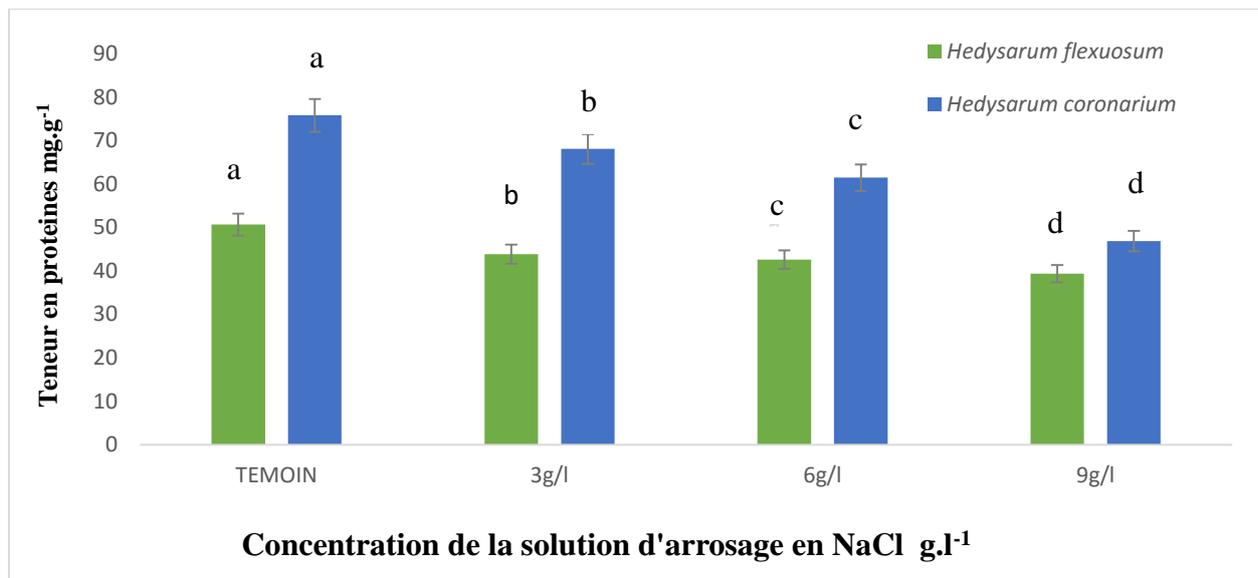


Figure n°21 : L'effet de la salinité sur la teneur en protéines des deux espèces d'*Hedysarum*.

La mesure de la teneur en protéine chez les deux espèces montre que ce paramètre diminue avec l'augmentation de la dose de salinité. A la concentration 9 g/l les taux sont respectivement chez *Hedysarum flexuosum* et *Hedysarum coronarium* 39,37 mg/g MF et 46,90 mg/g MF correspondant aux taux de diminution de l'ordre de 22,33 % et -38,14 % pour les deux espèces.

III-2-Proline :

Les résultats sont vérifiés par le test statistique à l'aide de l'analyse de la variance, qui révèle que chez les deux espèces du *Sulla*, l'impact du stress salin est significatif sur la teneur en proline, et ce entre les deux espèces, ainsi que l'interaction présente des résultats significatif ($p \leq 0.05$). Le test de Newman et Keuls regroupe les résultats en 6 groupes homogènes illustrés sur la figure.

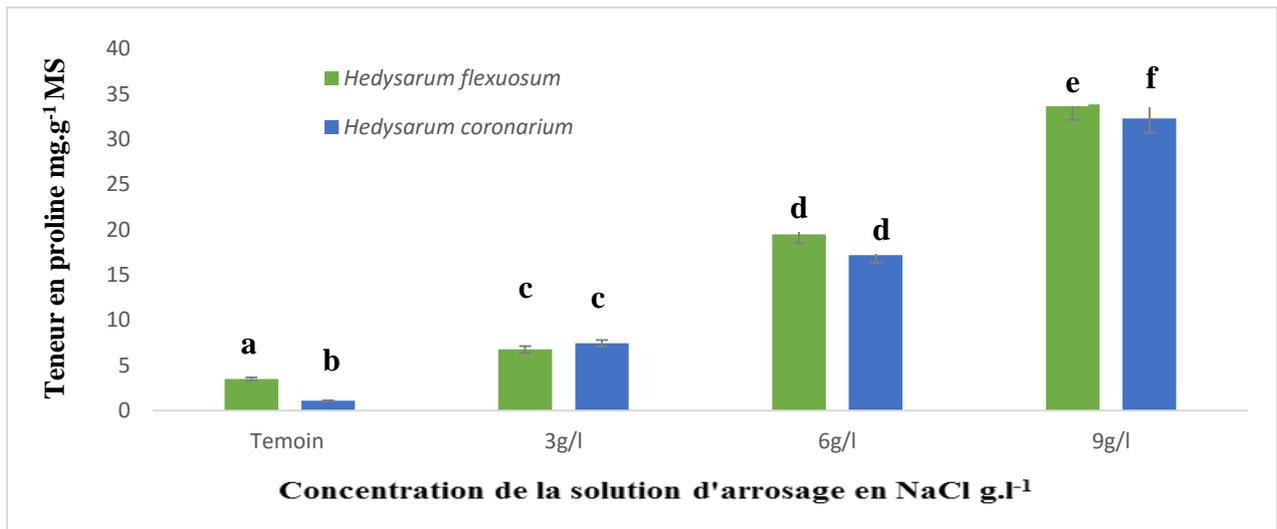


Figure n°22 : L'effet de la salinité sur la teneur en proline des deux espèces d'Hedysarum.

Les deux espèces d'*Hedysarum* soumises à un stress salin a provoqué une accumulation de la proline dans les feuilles, les taux de proline augmentent avec l'augmentation de la salinité jusqu'à atteindre 33,86 mg/g MS chez *Hedysarum flexuosum* et 32,33 mg/g MS chez *Hedysarum coronarium* dans la concentration 9 g/l de salinité, ce qui reflète des taux d'augmentation de 89,66 % et 96,65 respectivement chez les deux espèces, par rapport aux témoins.

III-3-Sucres solubles totaux :

Les résultats sont vérifiés par le test statistique à l'aide de l'analyse de la variance, qui révèle que chez les deux espèces du Sulla, l'impact du stress salin est significatif sur la teneur en sucres solubles, et ce entre les deux espèces, ainsi que l'interaction présente des résultats significatif ($p \leq 0.05$). Le test de Newman et Keuls regroupe les résultats en 5 groupes homogènes illustrés sur la figure.

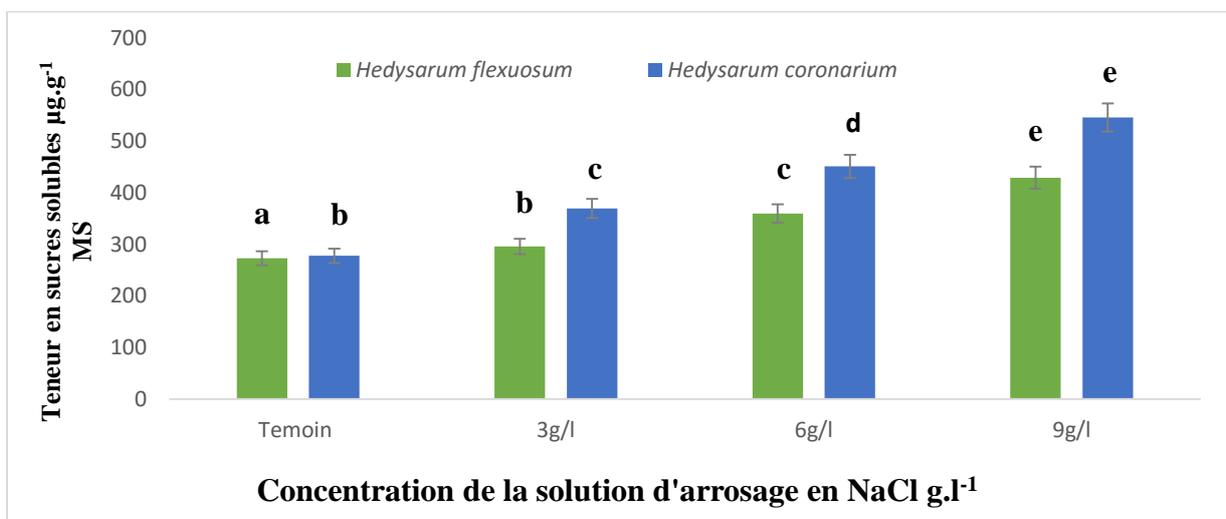


Figure n°23 : L'effet de la salinité sur la teneur en sucres solubles des deux espèces d'Hedysarum.

Le dosage de la teneur en sucres solubles chez les deux espèces montre que ce paramètre augmente suite à l'augmentation de la dose de salinité en comparaison aux témoins. En effet à 9 g/l les taux d'augmentation sont de 36,38 % et 49,10 % respectivement chez *Hedysarum flexuosum* et *Hedysarum coronarium*.

III-4-Corrélation entre protéines solubles et proline libre :

Une corrélation négative a été obtenue chez les deux espèces du Sulla entre l'évolution des teneurs en protéines solubles et celles de la proline en fonction des teneurs en sel. Cette corrélation négative suggère que la proline provient en partie de la dégradation des protéines riche en proline. La corrélation a été établie en considérant les valeurs individuelles (trois par traitement) des protéines solubles et proline. La corrélation est obtenue au seuil de signification Alpha=0,050 avec le test de corrélation de Spearman.

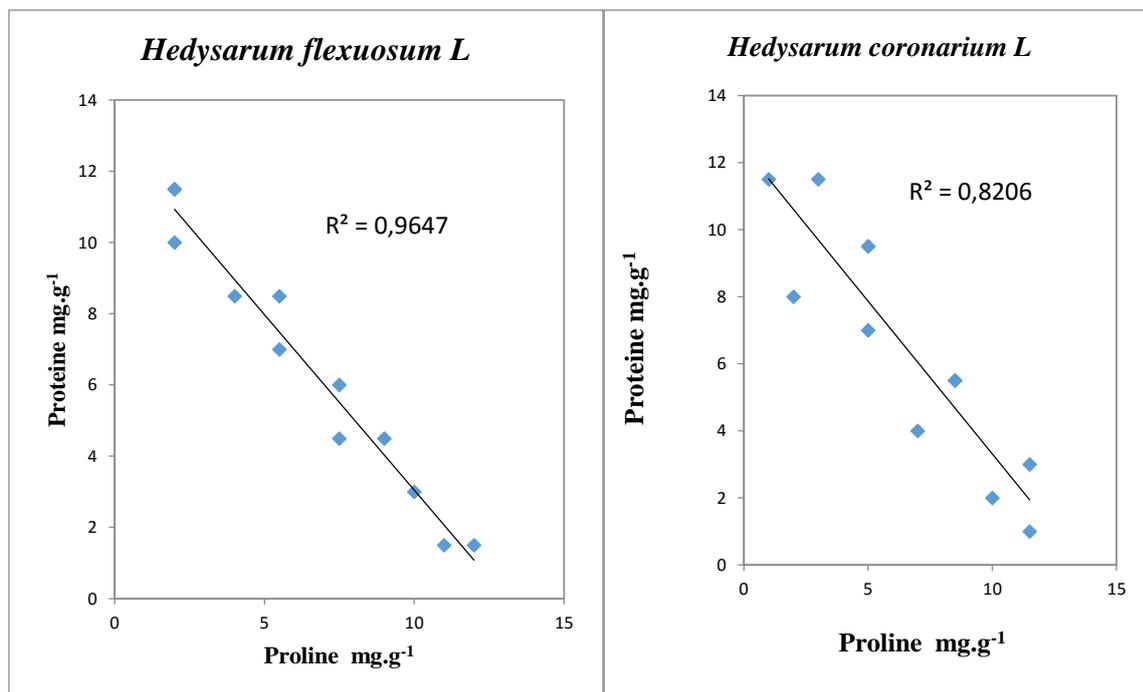


Figure n°24 : Corrélacion entre teneur des feuilles en protéines solubles et leur contenu en proline de *Hedysarum flexuosum L.* **Figure n°25 :** Corrélacion entre teneur des feuilles en protéines solubles et leur contenu en proline de *Hedysarum coronarium L.*

III-5-Discussion :

Les résultats de notre expérimentation montrent une augmentation dans la teneur en sucres solubles chez les plantes de *H.flexuosum* et *H.coronarium soumise* à la contrainte saline. Le NaCl induit des augmentations des teneurs en composés glucidiques proportionnellement aux doses chimiques appliquées.

Les résultats de l'accumulation des sucres solubles corroborent les travaux de plusieurs auteurs sur d'autres espèces (Ait saidi et Belkessa, 2012 ; Berka et Aïd 2009 ; Labo et al., 2008 ; Nedjimi et Daoud., 2006). Ceci nous laisse suggérer l'existence des potentialités de réponse de ces deux espèces par un ajustement osmotique

sous une contrainte saline. La capacité d'ajustement osmotique est liée à l'aptitude à accumuler au niveau symplasmique et de manières actives des substances de faible poids moléculaire (sucre solubles, proline,...). Berka et Aïd., 2009 sous stress salin l'ajustement est si nécessaire pour la croissance des plantes dans l'environnement salin. La séquestration des ions inorganique dans la vacuole en condition de stress salin et l'abaissement des potentiels osmotiques induits est ajustée chez la plupart des plants pour une accumulation des osmolyte au niveau cytoplasmique (Nedjimi et Daoud., 2013).

L'accumulation des sucres solubles est souvent très corrélée à la réduction de l'amidon lors d'un stress modéré (Benka., 2005). L'activité de l'amylase, d'amidon phosphorylase, de celle du glucose phosphatase synthase et d'une diminution de l'activité de l'invertase a été rapportée chez plusieurs glycophytes et halophytes (Lobato, 2008). Ainsi, Udomchalothorn et al., (2009) observent chez les plantes de riz soumises à un stress une diminution de l'activité du fructose 2-6- biphosphate, conduisant à une accumulation de saccharose et contribuant ainsi à l'augmentation de la tolérance au sel chez certaines variétés en augmentant l'osmolarité interne des cellules et les réserves disponibles en carbone. Les sucres solubles agissent comme molécules de signalisation en situation de stress (Stobart et al., 1985).

Les concentrations salines appliquées dans notre essai provoquent une augmentation linéaire des teneurs en proline chez les deux espèces. Des résultats similaires ont été mis en évidence chez le gombo (Habib et al., 2012), le blé dur (Chorfi, 2009), le blé tendre (Hong-Bing, 2011), Pistachier de l'atlas (Benhassain et al., 2012). Il est établi que la proline est certainement un des osmolyte le plus répandu. Lors d'un stress osmotique, sa biosynthèse est augmentée dans les chloroplastes [84] et son accumulation chez les plantes stressées à une fonction de protection (Székely et al., 2008), suite à la perturbation du métabolisme des protéines (Lepengue et al., 2012).

Le processus d'accumulation de la proline dans les tissus foliaires est considéré comme un critère d'adaptation (Szabados et A. Savoure, 2010). Elle permet aux plantes de supporter le manque d'eau par une diminution du potentiel osmotique. La synthèse de cet acide aminé à partir du L-Glutamate est catalysée: la Δ^1 -Pyrroline-5-carboxylate synthétase (P5C synthétase) dont la synthèse est induite par le stress salin (KaviKishor et al., 2005) .Chez le blé, une importante accumulation de proline est corrélée à une diminution en pigments chlorophylliens totaux, a et b, cette corrélation est négative pour ces deux paramètres. Ces résultats suggèrent l'existence d'une connexion vraisemblable entre les voies de biosynthèse des pigments chlorophylliens et de la proline (Tahri et al., 1998). Une compétition entre ces deux composés sur leur précurseur commun, le glutamate, peut être à l'origine de cette évolution (Reddy et Veeranjanyulu, 1991).

En plus de l'accumulation de la proline, une diminution observée de la teneur en protéines solubles est due en premier lieu à l'inhibition de la biosynthèse des protéines (Kramer et Boyer, 1995) et comme en période de stress, avec la dégradation protéolytique des protéines on observe une diminution des taux de protéines (Roy-Macaulay et al., 1992). Il est pris en considération que parmi toutes les protéines qui se trouve dans la plante, la RUBISCO (ribulose 1,5 biphosphate carboxylase oxygénase) est la plus importante, parce qu'elle fait partie de la composition de plus de 50% des protéines

cellulaire des feuilles, et elle constitue la plus grande réserve de nitrogène des tissus de la plante d'une part, d'autre part son rôle fondamentale dans le processus de photosynthèse (Lawor, 2002).

La diminution des teneurs en protéine solubles sous l'effet du stress salin a été rapportée par plusieurs auteurs. Ils démontrent que cette diminution ne confère pas nécessairement à la plante une tolérance au stress (Gheraibia et al., 2016). Par contre l'inhibition de l'incorporation des aminoacides dans le processus de biosynthèse des protéines induit leur augmentation, spécialement la proline (Cui et al., 2015). Dans la majorité des cas la diminution des taux de protéine est la résultante de l'augmentation de l'activité de l'enzyme protéine hydrolase (Flowers et Yeo 1981).

La diminution de la teneur foliaire en protéines solubles sous stress salin serait en partie due à l'effet inhibiteur de NaCl sur la nodulation et sur la fixation symbiotique de l'azote (Lachhab et al., 2013). Plusieurs auteurs rapportent que l'altération de la diffusion intra-nodulaire de l'oxygène et l'inhibition de l'activité enzymatique de la glutamine synthétase (GS) et le glutamate synthase dépendante de NADH (NADH-GOGAT) (Chaitanya et al., 2014); Soliman et al., 2014) sous la contrainte saline sont parmi les facteurs limitant la biosynthèse protéique.

La forte accumulation de la proline dans les feuilles pourrait être le résultat d'une diminution de son oxydation ou/et d'une réduction de son utilisation dans la synthèse protéique. De même une hydrolyse des protéines riches en proline et/ou une synthèse activée de cet acide aminé aboutiraient à son accumulation dans les cellules. La corrélation négative entre l'évolution des teneurs en protéines solubles et celles de la proline en fonction des teneurs en sel suggère une provenance catabolique au moins dans le cas des faibles doses de NaCl (ban khaled et al., 2003).

Les travaux de Roosen et al in (Urban et al., 2010) sur *Arabidopsis thaliana* cultivée sous stress salin montrent que la proline est formée à partir de glutamate via la pyrroline-5-carboxylase synthétase, alors qu'en l'absence de sel l'ornithine est le substrat préférentiel pour sa synthèse. Chez *Phaseolus aureus*, le sel induit une inhibition de l'activité de la proline déshydrogénase et de la proline oxydase tandis que chez *Morus alba*, la pyrroline-5-carboxylase synthétase est stimulée (Fryer et al., 1998). Une stimulation de l'activité de cette dernière a été également rapportée chez *Arachi shypogaea* L. (Karuppanapandian et al. 2011), *Vigna aconitifolia* (Ly et al., 2014) et *Arabidopsis thaliana* (Udomchalothorn et al., 2009).

Cette étude est menée dans le but d'estimer les effets de la contrainte saline sur les paramètres morpho-physiologiques et les marqueurs biochimiques de deux espèces de légumineuse fourragère *Hedysarum flexuosum* et *Hedysarum coronarium*.

Au terme de notre expérimentation, nous avons révélé une influence négative de la salinité sur la production de la biomasse des plantes à partir de la concentration 6g/l induisant une diminution de l'ordre de 60%.

En situation de stress salin nos deux espèces semblent adopter la même stratégie que plusieurs autres glycophytes. En effet, elle diminue la surface foliaire et ce pour limiter la perte d'eau par évapotranspiration. La croissance en longueur moyennes globale entre les deux espèces, montre une diminution importante de la partie racinaire (50%) par rapport à la partie aérienne ceci a permis une homéostasie morphogénétique au profit de la partie aérienne de la plante.

Par rapport aux paramètres morphologiques le test statistique révèle un comportement similaire de nos deux espèces vis-à-vis de la contrainte saline. Concernant les paramètres physiologiques au-delà d'une salinité de 6g/l, ces deux espèces montrent une altération de l'appareil photosynthétique qui se manifeste par une chute de la teneur en pigment chlorophyllien ainsi qu'une augmentation de la fuite d'électrolytes.

L'impact de la salinité affecte significativement le métabolisme des deux espèces testées. Hydrolyse des protéines riches en proline et/ou l'induction de la néo synthèse de la proline explique en partie l'accumulation de cet acide aminé chez nos deux espèces.

Nos résultats du dosage des sucres solubles révèle des potentialités d'ajustement osmotique permettant de maintenir une certaine hydratation des tissus. Cependant il semble que l'accumulation de la proline est intense par rapport au sucres solubles et ce chez les deux espèces testée. En se basant sur les résultats des paramètres morphologiques et physiologiques, il s'avère que les deux espèces présentent la même sensibilité à la contrainte saline.

Afin de mieux comprendre l'origine de l'altération de l'activité photosynthétique et de l'intégrité membranaire nous préconisons de réaliser des dosages des ions Na^+ et Cl^- au niveau des différents organes de la plante et quantifier ainsi la capacité de la séquestration des ions toxiques qui est considéré comme critère de sélection de la tolérance des plantes à la salinité.

Il est également judicieux de prospecté l'activité anti oxydante de certaines enzymes (SOD, Peroxydase, Catalase,...) et sélectionné le génotype possédant des potentialités anti oxydantes intéressantes.

Abdelguerfi-Berrekia. I.A(1985) : Contribution à l'étude du genre *Hedysarum L.* en Algérie, thèse Magister, LN.A., Alger, **131 p.**

Abdelguerfi-Berrekia R.,Bounaga N.et Guittonneau ;, G.G.1991 :Répartition des espèces spontanées du genre *Hedysarum* selon certains facteurs du milieu en Algérie .*Fourrage*, 126,187-207.

Abdul qados, Amira M.S. 2010:effect of salt stress on plant growth and metabolism of bean plant *Vicia faba* (L). journal of the saudi society of agricultural sciences 10, 7-15.

Ait saidi I et Belkessa A. 2014 :Contribution à l'étude de la réponse de plantules de *Sulla* (*Hedysarum flexuosum L*) au stress salin au stade début croissance. Université Mouloud Mammeri.

Amaya i., botelle M A., De Calle M., Medina M.I., Heredia A .1999 : Improved germination under osmotic stress of tobacco plants overexpressing a cell peroxidase . FEBS Lettres, 457: 80-84.

Amjad M., J. Akhtar, M. Anwar-ul-Haq, A. Yang, S. S. Akhtar and S.E. Jacobsen, 2014: “Integrating role of ethylene and ABA in tomato plants *Scientia Horticulturae*, vol. 172, pp. 109-116, adaptation to salt stress,”

Antipolis S., 2003: Les cahiers du plan bleu 2. Les menaces sur les sols dans les pays méditerranéens Etude bibliographique.71 P.

Ashraf M., Ali Q., 2008-Relative membrane permeability and activities of some antioxidant enzymes the key determinants of salt tolerance in canola. *Environmental and experimental Botany* vol.63:266-273p.

Aydi S., Drevon J.J et Abdelly C.2004 : Effect of salinity on root-nodule conductance to oxygen diffusion in the *Medicago truncatula-Sinorhizobium meliloti* symbiosis.*Plant Physiol Biochem.* 42:833-840.

Bajji, M., Kinet, J.M., and Stanley L. 1998.Salt stress effects on roots and leaves of *Atriplex halimus L.* and their corresponding callus cultures. *Plant Science* 137: 131-142.

Benhassaini H., A. Fetati, A. K. Hocine and M. Belkhodja, 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, *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*,vol. 16, no.2, pp.159-165,.

Benkhalel, L. Morte gomz, A., Ouarraqi, E. et Oihabi, A. 2003 : Réponse physiologiques et biochimiques du tréfle (*trifolium alescandrinum* L.) à la double association mycorhizes-rhizobium sous une contrainte saline. INRA, eopsciences, agronomie 23 : 571-580.

Benmahioul B., F. Daguin and M. Kaid-Harche, 2009 : Effet du stress salin sur la germination et la croissance *in vitro* du pistachier (*Pistacia vera* L.), "Comptes Rendus Biologies, vol. 332, no. 8, pp. 752-758.

Berka S. and F. Aid, 2009 : "Réponses physiologiques des plants d'*Argania spinosa* (L.) Skeels soumis à un déficit hydrique édaphique," *Sécheresse*, vol. 20, no. 3, pp. 296-302,.

Boriboonkaset T., C. Theerawitaya, N. Yamada, A. Pichakum, K. Supaibulwatana, S. Cham, T. Takabe and C. Kirdmanee, 2013: "Regulation of some carbohydrate metabolism-related genes, starch and soluble sugar contents, photosynthetic activities and yield attributes of two contrasting rice genotypes subjected to salt stress," *Protoplasma*, vol. 250, no. 5, pp. 1157-1167.

Baba sidi-kassi S. 2010: Effet du stress salin sur quelques paramètres phénologiques (biométrie, anatomie) et nutritionnels de l'Atriplex en vue d'une valorisation agronomique. thèse magister Université Kasdi Merbah-Ouargla. pp 4-133.

Ben jeddi F., 2005. *Hedysarum coronarium* L : Variation génétique, création variétale et utilisation dans des rotations tunisiennes. Thèse doctorat en Sciences Biologiques Appliquées. Fac Sc Bio-ing Université De Gent Belgique.

Ben Naceur M., Rahmone C., 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. *Secheresse*. Vol. 3, 167-174.

Belmihoub F. 2012: caractérisation phénotypique d'une population de sulla (*Hedysarum flexuosum* L.) dans la région de tizi ouzou . mémoire d'ingénieur , UMMTO 28-35.

Boussaïd M., Ben Fadhel N., Trifi-Farah N., Abdelkefi A., Marrakchi M. (1995) : "Les espèces méditerranéennes du genre *Hedysarum* L.", Prosperi J.M., Guy P., Balfourier F. éd., *Ressources génétiques des plantes fourragères et à gazon*, Bureau des Ressources Génétiques, Paris, France, 115-130.

Ben Naceur, M., Rahmoune, C. et Dellaa, Y. (2004). Les peroxydases sont des indicateurs de tolérance au stress salin chez l' Eucalyptus au stade de la germination. Séminaire International Ecologie Environnementale Urbaine : Etat actuel et Perspective. Constantine 15-17.

Ben Naceur, M., Cheikh-M' hamed, H., Maalem, S. et Rahmoune, C. (2005). Les indicateurs précoces de la tolérance à la salinité 1 er Colloque Euroméditerranéen de Biologie Végétale et Environnement, Annaba 28-30 Novembre 2005.

Berthomieu P, Conejero G, Nublat A, Brachenbury WJ, Lambert C, Savio C, Uozumi N, Oiki S, Yamada K, Cellier F, Gosti F, Simonneau I T, Essah PA, Tester M, Very AA, Sentenac H, Casse F. 2003: Functional analysis of AtHKT1 in *Arabidopsis* shows that Na⁺ recirculation by the phloem is crucial for salt tolerance. *EMBO Journal*. **22**: 2004- 2014.

Belkhodja M., Bidaj Y., 2004-Analyse de la proline pour l'étude de la résistance d'une halophyte *Atriplex halimus* L à la salinité, 56 p.

Bullita S., Bullitta P., Saba P., 2000. Seed production and its components in Sardinian germplasm of *hedysarum coronarium* L. and *H. spinosissimum* L. *cahier Opt. Med.* vol. 45. p. 355-358.

Chaitanya K.V., C. R. Krishna, G. V. Ramana and S. K. Beebi, 2014: “Salinity stress and sustainable agriculture,” *Agricultural Reviews*, vol. 35, no. 1, pp. 34-41.

Chartzoulakis K. & Klapaki G., 2000. Response of two greenhouse pepper hybrids to NaCl salinity during different growth stages. *Sci. Hortic.*, 86, 247-260.

Chorfi A., 2009 : “Contribution à l'étude de la résistance à la salinité chez une variété de blé dur algérien (*Triticum durum* Desf.) Var mohamed ben bachir,” *Sciences & Technologie C*, no. 29, pp. 41-44.

Clarke J.M. and T.N. McCaig, 1982 : “Evaluation of Techniques for Screening for Drought Resistance in Wheat,” *Crop Science*, vol. 22, no. 3, pp. 503-506.

Cui D., D. Wu, J. Liu, D. Li, C. Xu, S. Li, P. Li, H. Zhang, X. Liu, C. Jiang, L. Wang, T. Chen, H. Chen and L. Zhao, 2015 : “Proteomic Analysis of Seedling Roots of Two Maize Inbred Lines That Differ Significantly in the Salt Stress Response,” *Plos One* , vol. 10, no. 2, pp. 1-13.

Dallali H, E Mallek Maalej, Néziha Ghanem Boughanmi, Rabia Haouala. 2012 : Salicylic acid priming in *Hedysarum carnosum* and *Hedysarum coronarium* reinforces NaCl tolerance at germination and the seedling growth stage. *AJCS* 6(3):407-414.

Denden M., T. Bettaieb, Alef Salhi and M. Mathlouthi, 2005 : “Effet de la salinité sur la fluorescence chlorophyllienne, la teneur en proline et la production florale de trois espèces ornementales,” *Tropicultura*, vol 23, no 4, pp. 220-225.

Dinar A., Ebert H.M. & Lüdders G., 1999. Growth, chlorophyll content, photosynthesis and water relations in guava (*Psidium guajava* L.) under salinity and different nitrogen supply. *Gartenbau Wiss.*, 64, 54-59.

Flowers, T.J., Troke, P.F. and Yeo, A.R. (1977). The mechanism of salt tolerance in halophytes. *Annual Review of Plant Physiology* 28: 89-21

Flowers T.J. and A.R. Yeo, 1981 : “Variability in the resistance of sodium chloride salinity within rice (*Oryza sativa* L.) varieties,” *New Phytologist*, vol. 88, no. 2, pp. 363-373,.

Fryer M.J., J.R. Andrews, K. Oxborough, D.A. Blowers and N.R. Baker, 1998 : “Relationship between CO₂ assimilation, photosynthetic electron transport, and active O₂ metabolism in leaves of maize in the field during periods of low temperature,” *Plant Physiology*, vol. 116, no. 2, pp. 571-580.

Foolad M.R et Ashraf M.2007: roles of glycine bétaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and experimental botany*. 59:206-216.

Genoux C, Putzola F, Maurin G. 1991: Thème général: la lagune méditerranéenne, TPE: Les plantes halophytes.

Grennan A.K., 2006: High Impact Abiotic Stress in Rice. An “Omic” Approach,” *Plant Physiology*, vol. 140, no. 4, pp. 1139-1141.

Hamrouni L., M. Hanana, C. Abdelly and A. Ghorbel, 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. ‘Séjnène),” *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, vol.15, no.3, pp. 387-400.

Haouala F, Ferjani H, Ben el-hadj S. 2007: Effet de la salinité sur la répartition des cations (Na⁺, K⁺ et Ca⁺⁺) et du chlore (Cl⁻) dans les parties aériennes et les racines du ray-grass anglais et du chiendent. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*.11(3) : 235- 244.

Hasanuzzaman, M., Nahar, K., Fujita, M., Ahmad, P., Chanda, R., Prasad, M.N.V. and Ozturk, M., 2013: Enhancing plant productivity under salt stress: Relevance of polyomics, in: P. Ahmad, M.M. Azooz and M.N.V. Prasad (Eds.), *Salt Stress in Plants : Signalling, Omics and Adaptations*, New York, NY : Springer New York, pp. 113-56.

Hernandez, S., Deleu C., Larher, F., 2000. Accumulation de proline des tissus foliaire de tomate en réponse a la salinité . *C R. acad. Paris, life sci*. 323, 511-557.

Hong-Bing Y., 2011 : “Effet d’un stress osmotique sur l’accumulation de proline, de chlorophylle et des ARNm codant pour la glutamine synthétase chez trois variétés de blé dur (*Triticum durum*),” *African Journal of Agricultural Research*, Vol. 6,no.32, pp. 6661-6664.

Hopkins W G. 2003: Physiologie végétale. 2^{ème} édition. De Boeck, Bruscelles: pp61-476.

Ibn Maaouia-Houimli S., M. Denden, B. Dridi-Mouhanded and S. Ben Mansour-gueddes, 2011 : “Caractéristiques de la croissance et de la production en fruits chez trois variétés de piment (*Capsicum annum* L.) sous stress salin,” *Tropicultura*, vol. 29, no. 2, pp.75-81.

Iqbal N., S. Umar and R. Nazar, 2014 :“A new perspective of phytohormones in salinity tolerance: Regulation of proline metabolism,” *Environmental and Experimental Botany*, vol. 100, pp. 34-42.

Kadi S.A Gurmah H., Bannelier C., Berchiche M., Gidenne T 2011: Nutritive value of sun-dried Sulla (*Hedysarum flexuosum L.*) and its effect on performance and carcass characteristics of Grawing rabbits. *World Rabbit Sci.*,19:151-159.

Kadri K, Maalam S, Cheikh HM, Benabdallah A, Rahmoune C et Ben naceur M. 2009: Effet du stress salin sur la germination, la croissance et la production en grains de quelques accessions Tunisiennes d’Orge (*Hordeum vulgare L.*). *Sciences&Technologie* : **29** :72-79.

Karuppanapandian T., J.C. Moon, C. Kim, K Manoharan and W. Kim, 2011: “Reactive Oxygen Species in Plants: Their Generation, Signal Transduction, and Scavenging Mechanisms,” *Australian Journal of Crop Science*, vol.5, no. 6, pp. 709-725.

KaviKishor P.B., S. Sangam, R.N. Amrutha, P. Sri Laxmi, K R. Naidu, K.R.S.S. Rao, S. Rao, K.J. Reddy, P. Theriappan and N.Sreenivasulu, 2005 :“Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: Its implications in plant growth and abiotic stress tolerance,” *Current Science*, vol. 88, no. 3, pp. 424-438.

Khemiri H., Belguith H., Jridi T., Ben El Arbi M et Ben Hamida j. 2004 : caractérisation biochimique d’une amylase active au cours du processus germinatif des graines de colza (*brassica napus L.*). *Enzymologie et métabolisme. Congrès international de biochimie.*146-149.

Killian C. (1939) : “La biologie des sols argileux des environs d’Alger et la question de leurs plantes indicatrices. Essai de micropédologie”, *Ann. Agro.*, 93-120.

Kim T., M. Böhmer, H. Hu, N. Nishimura, and J.I. Schroeder, 2008 :“Guard Cell Signal Transduction Network: Advances in Understanding Abscisic Acid, CO₂, and Ca²⁺ Signaling,” *Annu Rev Plant Biol.*, Vol. 61, pp.561-591.

Laaziza Ban Khaled, Asuncion Gomez, Mario Hourubia, Abdallah Oihabi. 2003 : Effet du stress salin milieu hydroponique sur le trèfle inoculé pas le Rhizobium. *Agronomie, EDP Sciences*, 23 (7), pp.553-560.

Lachhab I., S. Louahlia, M. Laamarti, and K. Hammani, 2013 : “Effet d’un stress salin sur la germination et l’activité enzymatique chez deux génotypes de *Medicago sativa*,” *International Journal of Innovation and Applied Studies*, vol. 3, no. 2, pp. 511-516.

Lapeyronie A. 1982 : Les productions fourragères méditerranéennes .généralités caractères botanique et Biologique .T.I.G.P.Maisonneuve et larose .Paris

Lavene, H. et Gloaguen, J.C. (1995) Les bétalaïnes: approche métabolique et étude de leur implication dans la réponse à une contrainte saline de quelques *Centrospermales*. Thèse de doctorat. Université de Rennes, France. 201 p.

Lepengue A. N., I. Mouaragadja, B. Ibrahim, S. Ake and B. M'Batchi, 2012 :“Réponse du maïs (*Zea mays* var. LG 60) au stress salin : étude de la synthèse de quelques composés biochimiques,”*Journal of Animal & Plant Sciences*, vol. 14, no. 1, pp.1866-1872.

Ly M. O., D. Kumar, M. Diouf, S. Nautiyal and T. Diop, 2014 : “Effet de la salinité sur la croissance et la production de biomasse de deux provenances de *Jatropha curcas* L. cultivés en serre,” *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, vol.8, no.1, pp. 46-56.

Mahajan S. and N. Tuteja, 2005: “Cold salinity and drought stresses, An overview Archives of Biochemistry and Biophysics,”vol. 444, no. 2, pp. 139-158.

Mehani M., S. Bissati and O. Djeroudi, 2012 :“Effet d'eau de mer sur deux paramètres hydriques (turgescence et transpiration) de jeunes plants d'*Atriplex canescens* (Effect of seawater on two water parameters (turgescence and transpiration) of young plants of *Atriplex canescens*),”*J. Mater. Environ. Sci.*, vol.3, no.5, pp. 840-845.

Mer R.K., Prajith P.K., Pandey A.N. 2000: Effect of salts germination of seeds and growth of young plants *Hordeum vulgare*, *Triticum aestivum*, *Cicer arietinum* end *Brassica juncea*. Journal of agronomy and crop science. 185: 209-217.

Munns R, Schachtmann D.P, Condon A.G 1995: The significance of a two-phase growth response to salinity in wheat and barley. Australian Journal of Plant Physiology 22: 561-569

Munns R., 2002: Comparative physiology of salt and water stress. Plant Cell and Environment, Vol. 25: 239- 250.

Munns R. and M.Tester, 2010 : “Mechanisms of salinity tolerance,” *Annual Review of Plant Biology*, Vol. 59, pp. 651-681,

Nunkaew T. , D. Kantachote , H. Kanzaki, T. Nitoda and R. J. Ritchie, 2014 :“Effects of 5-aminolevulinic acid (ALA)-containing supernatants from selected *Rhodospseudomonas palustris* strains on rice growth under NaCl stress, with mediating effects on chlorophyll, photosynthetic electrontransport and antioxidative enzymes,” *Electronic Journal of Biotechnology* , vol. 17, no. 1, pp. 19-26,

Prosperi, J.M. ; Guy.P et Balfourier F., 1995 : Ressources génétiques des plantes fourragères et à gazon. INRA.(Paris).119-121.

Quezel, P et Santa, S (1962) Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales .tome 1 (CNRS ,ed) Paris- France p :539-541 .

Rahmoune, C., Semadi, A., Auad, H. et Tahar, A. 1997 Air quality and lichenic distribution in the northeast Algeria. Proc of Second International Scientific Conference. Science, Development and Environment, Cairo, Egypt, pp. 333-344.

Rahmoune, C., Zaimeche, S., Wathelet, B. et Ben Naceur, M. (2005). Rôle des acides aminés comme bioindicateurs de stress métalliques chez les végétaux aquatiques. 1^{er} Colloque Euroméditerranéen de Biologie Végétale et Environnement, Annaba 28-30 novembre 2005.

Rahmoune, C., Maalem, S, Kadri, K. et Ben Naceur, M. (2008) Etude de l'utilisation des eaux fortement salées pour l'irrigation des plantes du genre *Atriplex* en zones semi arides. Revue des régions arides. Vol. 2, no21, pp. 924-929.

Rasool, S., Hameed, A., Azooz, M.M., Rehman, M., Siddiqi, T.O. and Ahmad, P., 2013: Salt Stress: Causes, Types and Responses of Plants, in: P. Ahmad, M.M. Azooz and M.N.V. Prasad (Eds.), Ecophysiology and Responses of Plants under Salt Stress, Springer New York Heidelberg Dordrecht London, pp. 1-24.

Reddy P.S. and K.Veeranjaneyulu, 1991 :“Proline metabolism in senescing leaves of horsgram (*Macrotyloma uniflorum* Lam.),” *Journal of Plant Physiology*, vol.137, no. 3, pp. 381-383.

Regragui. A., 2005-Contribution à l'étude de l'influence de la salinité sur le couple tomate – Verticillium : Conséquences physiologiques et impact sur la bio protection des tomates contre la verticilliose.. These de Doctorat d'état .Rabat.207p.

Rochdi, A. J. Lemsellek, A. Bousarhal and R. Abdellatif, 2005 : “Evaluation sous serre de la tolérance à la salinité de quelques porte-greffes d'agrumes : *Citrus aurantium* et deux hybrides de *Poncirus trifoliata* (*Poncirus* x *Citrus sinensis* et *Poncirus* x *Mandarinier sunki*),” *Biotechnologie, agronomie, société et environnement*, vol. 9, no.1, pp. 65-73.

Sebihi F Z., 2008 : Les Bactéries Nodulant les Légumineuses (B.N.L) :Caractérisation des bactéries associées aux nodules de la légumineuse fourragère, *Hedysarum perranderianum*. Thèse Magister, Université Mentouri de Constantine, pp25-27.

Slim. S et Ben Jeddi.2011 : Protection des sols des zones montagneuses de Tunisie par le Sulla du Nord (*Hedysarum coronarium L*). *Sécheresse*.22:117-24. Salehi M. and A. Arzani, 2014 “Evaluation of triticale genotypes for salt tolerance using physiological traits,” *Emir. J. Food Agric*, vol.26, no.3, pp. 277-283,

Slama I., K. Ben Rejeb, A. Rouached, A. Jdey, M. Rabhi, O. Talbi, A. Debez, A. Savouré, C. Abdelly, 2014 : “Presence of proline in salinized nutrient solution re-enforces the role of this amino acid in osmoregulation and protects lipid membrane peroxidation in *Arabidopsis thaliana*,” *Australian Journal of Crop Science*, vol. 8, no.10, pp.1367-1372.

Soliman W. S., and A. H. El-Shaieny, 2014 : “Effect of saline water on germination and early growth stage of five *Apiaceae* species,” *Academic Journals*, Vol. 9,n°7, pp. 713-719.

Souguir D., O. Jouzdan, M.L. Khouja and M. achicha, 2013 : “Suivi de la croissance d’*Aloe vera* en milieu salin : Prcelle de kalaàt Landelous (Tunisie),” *Etude et Gestion des Sols*, vol. 30, no.3, pp. 19-26.

Spichiger R., Vincent S ., et Jean mono D., 2004 : Botanique systématique des plantes à fleurs .Press polytechnique et Université Raumentes (Lausanne).PP 202-220.

Stobart A., W.T.Griffiths, I. Ameen-Bukhari, and R.P. Sherwood, 1985 : “The effect of Cd²⁺ on the biosynthesis of chlorophyll in leaves of barley. of chlorophyll in leaves of barley,” *Physiologia Plantarum*, vol. 63, no. 3, pp. 293-298.

Szabados L. and A. Savoure, 2010 : “Proline: a multifunctional amino acid,” *Trends in plant science*, vol. 15, no. 2, pp. 89-97.

Székely G., E. Ábrahám , Á. Cséplő, G. Rigó, L. Zsigmond, J. Csiszár, F. Ayaydin, N. Strizhov, J. Jásik, E. Schmelzer, C. Koncz, and L. Szabados, 2008: “Duplicated P5CS genes of *Arabidopsis* play distinct roles in stress regulation and developmental control of proline biosynthesis,” *The Plant Journal*, vol. 53, no. 1, pp. 11-28.

Tahri E.H., A. Belabed and K. Sadki, 1998 : “Effet d’un stress osmotique sur l’accumulation de proline, de chlorophylle et des ARNm codant pour la glutamine synthétase chez trois variétés de blé dur (*Triticum durum*),” *Bulletin de l’Institut Scientifique, Rabat*, no. 21, pp. 81-87.

Tobe K., Zhang L., Yu Qui G., Shimizu H. et Omasa K .2001 : Characteristics of seeds germination in five non-halophyte chinese desert shrub species *J of Arid. Envir.* 47:191-201.

Udomchalothorn T., S. Maneprasobsuk, E. Bangyeekhun, P. Boon-Long, S. Chadchawan, 2009: “The role of the bifunctional enzyme, fructose-6-phosphate-2-kinase/fructose-2,6-bisphosphatase, in carbon partitioning during salt stress and salt tolerance in Rice (*Oryza sativa* L.),” *Plant Science*, vol. 176, no. 3, pp. 334–341.

Urban L. and I. Urban, 2010 : La production sous serre, tome 2 : l’irrigation fertilisante en culture hors sol, 2nd Ed. Lavoisier, pp.39.

Verslues P. E., M. A., S. Katiyar-Agarwal, J. Zhu, 2006 :“Methods and concepts in quantifying resistance to drought,salt and freezing, abiotic stresses that affect plant water status,” *The Plant Journal*, vol. 45, no. 4, pp. 523–539.

Villax,E,J.1963 :la culture des plantes fourragères dans la région méditerranéenne occidentale .in .les cahiers de la recherche agronomique (INRA Rabat,Maroc ,ed),(17),641P.

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

Wang WB, Kim YH, Lee HS, Kim KY, Deng XP, Kwak SS 2009.Analysis of antioxidant enzyme activity during germination of alfalfa under salt and drought stresses. *Plant Physiol Bioch.* 4 :570-577.