

# الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Ibn Khaldoun –Tiaret  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Biologie Moléculaire et Cellulaire

Présenté par :

**BAHOUS NIA Hassiba Kawthar**

**BENABDELKRIM Siham Amani**

**LABECHE Djihad**

Thème

## Effet de l'interaction "acide salicylique - salinité" sur la nodulation des fabacées

Soutenu publiquement le 04/07/2019

Jury :	Grade
Président : M. TADJ. AEK	MAA
Encadreur : M. SAUANA. K	MAA
Co-encadreur : Dr. TAIBI K	MCA
Examineur : Dr. RAHMOUNE. B	MCB

## **Résumé**

Dans les régions arides et semi arides, la salinité des sols est devenue une contrainte sérieuse qui affecte le développement et le rendement des plantes et menace, ainsi, l'équilibre alimentaire. Dans ces conditions, certaines espèces sont menacées de disparition, d'autres manifestent des mécanismes d'adaptation exprimés par des modifications du métabolisme cellulaire. L'acide salicylique fait partie des molécules identifiées par les physiologistes et reconnues d'avoir un rôle incontournable dans le déclenchement du processus d'adaptation aux stress biotiques et abiotiques.

Dans la présente étude, l'application exogène de deux concentrations d'acide salicylique (0,5 et 1 mM/L) a été effectuée sur une fabacée, la fève (*Vicia faba* L.) soumise à deux concentrations progressives de NaCl (100 et 200 mM/L). L'essai vise à vérifier une éventuelle interaction « acide salicylique-salinité » et ses répercussions sur le métabolisme et la physiologie de la plante, entre autres l'activité nodulaire.

**Mots clés** : salinité, légumineuses, *Vicia faba* L, nodules, acide salicylique.

## **Abstract**

In arid and semi-arid regions, soil salinity is a constraint for plant development and yield and a threat to the dietary balance. In these soils, some species are threatened with extinction, others show adaptation mechanisms expressed by changes in cellular metabolism. Salicylic acid is part of this group of molecules known for a long time in biotic and abiotic stress.

We performed analyzes that were carried out on the bean (*Vicia faba* L) subjected to salt stress for three weeks with increasing doses of NaCl (100mmol / L, 200mmol / L) and enriched with exogenous salicylic acid concentrated at 0.5Mm and 1Mm. This provided additional information on the combined effect of salinity and salicylic acid on the physiological and biochemical behavior of these plants in response to salt stress and nodule formation. In the presence and absence of salicylic acid during germination.

**Key words:** salinity, legumes *Vicia faba* L, nodules, salicylic acid.

## المخلص

في المناطق القاحلة وشبه القاحلة، تعد ملوحة التربة عائقاً أمام نمو النبات والغلة وتهديد للتوازن الغذائي. في هذه التربة يتم تهديد بعض الأنواع بالانقراض بينما يُظهر البعض الآخر آليات تكيف يتم التعبير عنها بالتغيرات في التمثيل الغذائي الخلوي. حمض الساليسيليك هو جزء من الجزيئات المعروفة منذ فترة طويلة والمكتشفة من قبل الفيزيولوجيين وهو معروف بدوره الفعال في تحفيز نظام التكيف مع الإجهاد الحيوي وغير الحيوي. عملنا يهدف الى اجراء تحليلات على الفول حيث تم تعريضه لثلاثة أسابيع لجرعات متزايدة من كلوريد الصوديوم (100 مليمول / لتر ، 200 مليمول / لتر) والمخصب مع حمض الساليسيليك الخارجي ذات تركيز (0.5 ملمول و 1 ملمول). الدراسة هدفها التحقق من التأثير المشترك للملوحة وحمض الساليسيليك على السلوك الفسيولوجي والكيميائي الحيوي لهذه النباتات استجابةً لضغط الملح وتكوين العقيدات في وجود وغياب حمض الساليسيليك أثناء الإنبات.

**الكلمات المفتاحية:** الملوحة ، البقوليات، العقيدات، حمض الساليسيليك.

# Remerciement

Tout d'abord, nous remercions Allah pour nous avoir donné la santé, le courage et la volonté pour achever ce travail.

Ce mémoire a été réalisé sous l'encadrement de **M. SOUANA Kada**, que nous tenons à lui exprimer toute notre gratitude pour nous avoir encadrés et veillés au bon déroulement de ce travail. Merci d'avoir toujours été disponible et pour nous avoir guidés par vos conseils et orientations.

D'une part, un merci bien particulier adressé à **Mme AIT ABDERHIM Leila**, pour son accueil à bras ouvert, ses encouragements, ses remarques, ses directives et ses conseils constructifs qui nous ont aidé à persévérer dans notre travail.

D'autre part, quoiqu'on fasse on ne pourra jamais trouver les mots qui conviennent pour remercier **Dr. TAIBI Khaled** qui a été notre chef de spécialité, notre noble professeur durant 3 ans et notre co-encadreur, qui nous a assisté, aidé par ses précieux conseils en nous guidant toujours vers la bonne voie, on le remercie vivement pour sa gentillesse, sa patience, son soutien moral et sa compréhension, on lui tire chapeau.

Nous remercions tous les membres de l'équipe de formation de notre spécialité Biologie Moléculaire et Cellulaire pour cette fameuse formation et pour tous leurs efforts afin d'améliorer et aller plus loin avec cette spécialité.

Nos profonds remerciements sont adressés aux membres du jury : **Dr. RAHMOUNE Bilel** et **M. TADJ Abdelkader** qui nous ont fait l'honneur d'examiner et d'évaluer notre travail.

Nos sincères remerciements à **Mme HEMICHE Mabrouka** pour son accueil, son aide et son inoubliable bonté, que dieu lui préserve sa santé.

Par la même occasion, nous tenons à remercier les membres de l'équipe de recherche du « Laboratoire de physiologie végétale » de nous avoir accueillies au sein du laboratoire.

Enfin, nous adressons nos remerciements les plus chaleureux à toutes les personnes qui nous ont aidé de près ou de loin par le fruit de leur connaissance pendant toute la durée de notre parcours éducatif.

# Dédicace

\*\*Je dédie ce travail à mes très chers parents quoique je fasse ou que je dise, je ne saurai point les remercier comme il se doit, je tiens à souligner le grand sentiment que je porte envers eux. A ma très chère et bien aimée mama **Ayadi Leila**, tu m'as tout appris m'a permis d'être ce que je suis, tu m'as encouragé durant tout mon parcours scolaire et qui sans toi après Allah, ma réussite n'aura lieu, je te remercie infiniment, j'ai de la chance et je m'estime heureuse d'avoir une formidable mama comme toi.

A mon très cher papa **Khaled**, les mots sont insuffisants pour vous décrire, vous êtes le père exemplaire je vous remercie sans cesse pour votre bonté, amour, générosité, soucis, soutien et compréhension.

Mes précieux diamant je vous aime énormément, que dieu vous préserve pour nous.

A mon cher frère **Yacine**, en signe d'amour, de reconnaissances et de gratitude pour tous les soutiens et les sacrifices dont il a fait preuve à mon égard.

A ma chère sœur **Kheira Wahiba**, qui m'a procuré une bonne atmosphère et m'a toujours servi pour travailler en toute sérénité.

A ma chère tante **Ayadi Farida** qui m'a soutenu et encouragé.

A mon cher oncle **Abdelkader**.

A toute ma famille en général.

A mes chères amies **Hadjer, Halima et Nesrine**.

A tous mes professeurs et collègues de la promotion Master2 biologie moléculaire et cellulaire.

**Kawthar**

# Dédicace

\*\*Je dédie ce travail à :

Mes chères pour tous leurs efforts, leurs soutiens sans faille, leur amour et leurs encouragements. Je voudrais leur exprimer ma reconnaissance et ma profonde affectation.

Celle qui m'a donné la vie, la personne la plus chère à mon cœur « Ma chère maman », aucune dédicace ne serait exprimée à sa juste valeur mon amour profond.

Mes frères qui ont toujours cru en moi et encouragé.

**Amani**



# Dédicace

\*\*Je dédie ce travail

A ma famille, elle qui m'a doté d'une éducation digne, son amour a fait de moi ce que je suis aujourd'hui.

Particulièrement à mon cher père 'Ali' pour le gout à l'effort qu'il a suscité pour moi, son amour, son sacrifice et son soutien.

A ma très chère maman, ma profonde gratitude, qui m'a toujours soutenu, je t'aime infiniment

Et a tous mes frères et sœurs

A mes chers amis : Maaref Sara et Zenasni  
Oussama



## Table des matières

Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction.....	01

### Partie (I) : Synthèse bibliographique

I. Les Fabacées.....	03
1.1. Généralités.....	03
1.2. Taxonomie.....	03
1.3. Principales caractéristiques.....	04
1.4. Présentation de la plante étudiée, la fève ( <i>Vicia Faba</i> .....	04
II. Le micro symbiote : les rhizobia.....	05
2.1. Définition.....	05
2.2. Biodiversité des rhizobiums.....	05
2.3. Principales caractéristiques.....	05
2.4. Association symbiotique.....	07
2.4.1 Mécanisme de la nodulation.....	07
2.4.2 Structure du nodule .....	08
2.5. Génétique de mécanisme de nodulation fixation.....	09
III. Les stress chez les plantes.....	10
3.1. Notion de stress.....	10
3.2. Différents types de stress.....	10
3.3. Salinité .....	11
3.3.1. Types et origines de salinité.....	11
3.3.2. Effets de la salinité sur les plantes.....	11
3.4. Réponse et Stratégie adaptative de la plante au stress salin.....	12
3.4.1. Exclusion.....	12
3.4.2. Ajustement osmotique.....	12
3.4.3. Inclusion.....	12

3.4.4. Accumulation de la proline.....	13
IV. L'acide salicylique .....	13
4.1. Description.....	13
4.2. Propriétés physicochimiques.....	13
4.3. Biosynthèse de l'acide salicylique.....	14
4.4. Importance et rôle de l'acide salicylique chez les plantes.....	15
4.5. Mode d'action.....	16
4.6. Application exogène de l'acide salicylique.....	16

## **Partie (II) : Matériels et Méthodes**

<b>I. Matériels et Méthodes.....</b>	<b>17</b>
1.1. Objectif de l'étude .....	17
1.2. Conditions de l'expérimentation .....	17
1.3. Matériel végétal.....	17
1.4. Protocole expérimental .....	17
1.5. Application des traitements.....	21
1.6. Mesures et Analyses effectuées.....	21
1.6.1. Paramètres Hydriques .....	21
1.6.2. Paramètres Physiologiques .....	22
1.6.3. Paramètres biochimiques .....	23
1.7. Analyses statistiques .....	26
<b>II. Résultats.....</b>	<b>27</b>
1) Paramètres Hydriques.....	27
2) Paramètres Physiologiques.....	29
3) paramètres Biochimique.....	40
<b>III. Discussion.....</b>	<b>47</b>
<b>IV. Conclusion.....</b>	<b>51</b>
<b>V. Références bibliographiques.</b>	

## Liste des figures

**Figure n° 01** : Phylogénie et classification des légumineuses par sous-familles.

**Figure n°02** : Photographies de nodules racinaires (a, b). Coupe longitudinale d'un nodule.

**Figure n°03** : Structure moléculaire de l'acide salicylique.

**Figure n°04** : Voie de biosynthèse de l'acide salicylique chez la plante.

**Figure n°05** : Structure moléculaire de l'acide salicylique et de ses analogues utilisés pour les études fonctionnelles.

**Figure n° 06** : Graines de fève : Variété « Histal ».

**Figure n°07** : Mise en place des graines dans les alvéoles (à gauche) et début de germination (à droite).

**Figure n° 08** : Plants de fève repiqués en pots.

**Figure n°09** : Nodules collectés.

**Figure n°10** : Culture des rhizobiums.

**Figure n°11** : Pied à coulisse.

**Figure n°12** : Spectrophotomètre 1200UV.

**Figure n° 13** : Dosage des pigments chlorophylliens.

**Figure n°14** : Dosage des sucres solubles.

**Figure n° 15** : Feuille broyée dans l'azote liquide.

**Figure n°16** : Solutions après centrifugation.

**Figure n° 17** : Dosage de la proline.

**Figure 18.** Variation de la teneur relative en eau (moyennes  $\pm$  écart-type) chez les plantes de la fève soumises aux différents traitements de NaCl et de l'acide salicylique.

**Figure 19.** Variation du taux de déperdition d'eau (moyennes  $\pm$  écart-type) chez les plantes de la fève soumises aux différents traitements de NaCl et de l'acide salicylique.

**Figure 20 :** Variation de la longueur de la partie aérienne (moyennes  $\pm$  écart-type) des plantes de la fève soumises aux différents traitements de NaCl et de l'acide salicylique.

**Figure 21.** Variation de la longueur de la partie racinaire (moyennes  $\pm$  écart-type) des plantes de la fève soumises aux différents traitements de NaCl et de l'acide salicylique.

**Figure 22.** Variation du volume de la partie aérienne (moyennes  $\pm$  écart-type) des plantes de la fève soumises aux différents traitements de NaCl et de l'acide salicylique.

**Figure 23 :** Variation du volume de la partie racinaire (moyennes  $\pm$  écart-type) des plantes de la fève soumises aux différents traitements de NaCl et de l'acide salicylique.

**Figure n°24 :** Variation du poids frais de la partie aérienne (moyennes  $\pm$  écart-type) des plantes de la fève soumises aux différents traitements de NaCl et de l'acide salicylique.

**Figure 25 :** Variation du poids frais de la partie racinaire (moyennes  $\pm$  écart-type) des plantes de la fève soumises aux différents traitements de NaCl et de l'acide salicylique.

**Figure 26 :** Variation du poids sec de la partie aérienne (moyennes  $\pm$  écart-type) des plantes de la fève soumises aux différents traitements de NaCl et de l'acide salicylique.

**Figure 27 :** Variation du poids sec de la partie racinaire (moyennes  $\pm$  écart-type) des plantes de la fève soumises aux différents traitements de NaCl et de l'acide salicylique.

**Figure n°28 :** Variation du nombre des nodules racinaires de la plante de fève dans les deux blocs sous les différents traitements.

**Figure n°29 :** Variation du volume des nodules racinaires de la plante de fève sous les différents traitements.

**Figure n°30 :** Variation du diamètre des nodules racinaires de la plante de fève sous les différents traitements.

**Figure n° 31 :** Variation de la teneur en chlorophylle a (moyennes  $\pm$  écart-type) chez les plantes de la fève soumises aux différents traitements de NaCl et de l'acide salicylique.

**Figure n° 32 :** Variation de la teneur en chlorophylle b (moyennes  $\pm$  écart-type) chez les plantes de la fève soumises aux différents traitements de NaCl et de l'acide salicylique.

**Figure n° 33 :** Variation de la teneur en caroténoïdes (moyennes  $\pm$  écart-type) chez les plantes de la fève soumises aux différents traitements de NaCl et de l'acide salicylique.

**Figure n°34 :** Variation de la teneur en sucres solubles (moyennes  $\pm$  écart-type) chez les plantes de la fève soumises aux différents traitements de NaCl et de l'acide salicylique.

**Figure n° 35 :** Variation de la teneur en proline (moyennes  $\pm$  écart-type) chez les plantes de la fève soumises aux différents traitements de NaCl et de l'acide salicylique.

**Figure n° 36 :** Variation de la teneur en protéines (moyennes  $\pm$  écart-type) chez les plantes de la fève soumises aux différents traitements de NaCl et de l'acide salicylique.

## Liste des tableaux

Tableau n°01 : Dispositif expérimental

Tableau n°02 : Besoins en NaCl (g/l)

Tableau n°03 : Besoins en A.S (g/l)

Dans le monde végétal, les fabacées constituent une famille très importante de plantes à fleurs, herbacées ou arborées, qui occupe une place primordiale au niveau des agro-systèmes, vu leurs intérêts agronomiques, économiques et nutritionnels. Elles se distinguent par leurs graines se formant à l'intérieur de gousses et leur capacité d'association symbiotique avec une classe de bactéries (*Rhizobium* sp.) capables de fixer l'azote atmosphérique inerte ( $N_2$ ) et le transformer en azote biologiquement utile (réactif). Les rhizobiums du sol infectent les racines des légumineuses et induisent la formation de nodosités, qui fournissent abri et énergie aux bactéries, lesquelles fournissent de l'azote à la plante hôte (Farissi et al 2014).

Cependant, la salinisation des sols et des eaux d'irrigation enregistrée dans les écosystèmes arides et semi arides, constitue l'un des facteurs limitatifs de la productivité des espèces végétales. Près de 10% des terres sont affectés par le sel et 10 millions d'hectares de terres agricoles sont perdus chaque année (Farissi et al 2014). Le stress salin est d'autant plus perceptible chez les légumineuses dont l'activité symbiotique est affectée et la fixation de l'azote est considérablement limitée (Ben Khaled et al 2003). En effet, la salinité agit sur la survie et la prolifération des rhizobiums au niveau du sol et la rhizosphère, inhibe le processus d'infection et affecte directement le fonctionnement des nodules au niveau des racines, affectant ainsi la croissance des plantes, la photosynthèse et la demande en azote (Farissi et al 2014).

Pour faire face, les plantes déclenchent des mécanismes de tolérance qui contribuent à l'adaptation au stress osmotique et ionique provoqués par la salinité élevée (Lee et al 2008). Ces mécanismes permettent d'ajuster la pression osmotique interne, grâce aux électrolytes et aux solutés organiques (Driouich et al 2001), principalement des sucres solubles et des acides aminés comme la proline et la glycine bêtaïne (Denden et al 2005). Ainsi les plantes développent des réponses complexes pour surmonter les effets néfastes de la salinité (Szalai et Janda 2009). L'acide salicylique, molécule synthétisée par la plante, semble être impliquée dans la signalisation et l'établissement des mécanismes de résistance à plusieurs contraintes environnementales (Korkmaz et al 2007). Son application exogène à des plantes élevées sous différents stress a été étudiée par plusieurs chercheurs et son rôle dans l'activation de la germination et la croissance en cas de stress salin a été signalé chez le blé (Arfan et al 2006), l'orge (EL Tayeb 2005) et le maïs (Gunes et al 2005). Cette molécule joue un rôle important dans la défense des plantes contre les contraintes biotiques et abiotiques.



La présente étude a pour objectif de vérifier l'influence d'un apport exogène de l'acide salicylique sur la nodulation d'une fabacée, la fève (*Vicia faba* L.) stressée à la salinité ; et son effet sur les autres paramètres physiologiques, biochimiques et hydriques.

Pour bien cerner le sujet de cette investigation, notre travail a été scindé en deux grandes parties. Une première qui rassemble l'essentiel des recherches bibliographiques effectuées sur la famille des Fabacées, y compris l'espèce étudiée, la fève (*Vicia faba* L.), le stress salin et l'acide salicylique. La seconde partie comprend deux principaux chapitres : l'un, appelé « matériel et méthodes », explique les conditions expérimentales dans lesquelles est réalisé notre essai ainsi que les différentes méthodes d'analyses utilisées pour quantifier les différents paramètres physiologiques et biochimiques mesurés. Le dernier chapitre est consacré à la présentation des résultats et leur discussion en confrontation avec d'autres études et recherches ayant abordé la même problématique.

## I. Les Fabacées

### 1.1. Généralités

Les Fabacées (ou Légumineuses) représentent l'une des familles les plus importantes du règne végétal (Ozenda 1991). C'est la troisième plus grande famille d'Angiospermes (ou plantes à fleurs) après les Orchidées et les Astéracées concernant le nombre d'espèces et la deuxième après les céréales en matière de production (alimentation humaine, fourrage, pharmacopée vétérinaire et besoins médicaux), elle compte plus de 18000 espèces, regroupées en 714 genres, répartis-en 3 sous-familles : les Papilionacées, les Césalpiniées et les Mimosées (Lewis et al 2005).

### 1.2. Taxonomie

Selon la classification phylogénétique APG III (2009), la famille des Fabaceae (ou Leguminosae) appartient à l'ordre des Fabales, qui se subdivise en trois sous familles : deux sont monophylétiques, Papilionoideae et Mimosoideae et la troisième paraphylétique, Caesalpinioideae. Les Papilionoideae renferment plus de deux tiers de l'ensemble des espèces (440 genres et 11300) dont 97% peuvent former des nodules (Sprent 1995).

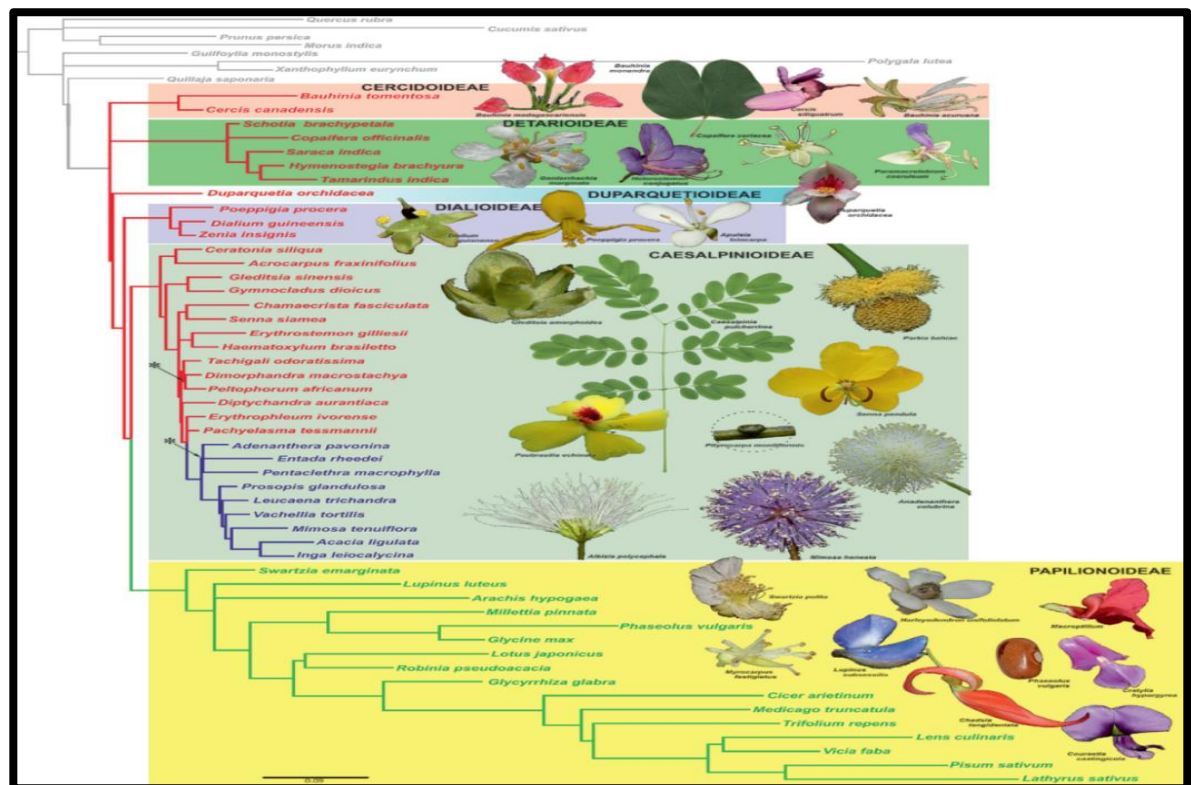


Figure n° 01 : Phylogénie et classification des légumineuses par sous-familles (Azani et al 2017)

### 1.3. Principales caractéristiques

Les plantes de cette famille ont la particularité de vivre en symbiose avec les bactéries installées dans des nodosités racinaires (ou plus rarement caulinaires) et assimilent l'azote atmosphérique (Marouf et Reynaud 2007). Vu leur richesse en protéines, les légumineuses constituent une part importante de l'alimentation du monde, notamment dans les pays en voie de développement (Wang et al 2003). Malgré leur répartition sur tous les continents et sous toutes les conditions climatiques, seul un petit nombre d'espèces (9260) de Légumineuses a été examiné pour sa capacité à noduler (Doyle et Luckow 2003).

### 1.4. Présentation de la plante étudiée, la fève (*Vicia Faba* L.)

La fève, connue botaniquement sous le nom de *Vicia faba* L. est une plante potagère annuelle appartenant à la famille des Fabacées (Légumineuses) dont le cycle complet, de la graine à la graine, est d'environ 5 mois ; le développement de la fève est caractérisé par cinq stades principaux : germination et levée, développement végétatif, développement reproductif, sénescence de la gousse et sénescence de la tige. C'est l'une des légumineuses les plus cultivées dans le monde depuis l'antiquité (Belkhoja 1996) qu'on ne consomme que les graines, fraîches ou séchées.

#### 1.4.1. Position systématique de la fève

Les fèves, à chromosomes grands et moins nombreux que chez la plupart des espèces dans le genre  $2n=2x=12$ .

Selon les classifications APG III et APG IV:

- Règne : Plantae
- Sous-règne : Tracheobionta
- Division : Magnoliophyta
- Classe : Magnoliopsida
- Sous-classe : Rosidae
- Ordre : Fabales
- Famille : Fabaceae
- Genre : *Vicia*
- Espèce : *Faba*

D'après Nuessly et al (2004), la fève est subdivisée selon la taille des graines en 3 sous espèces : *Vicia faba* var. minor ; *Vicia faba* var. equina et *Vicia faba* var. major.

## II. Le micro symbiote : les rhizobiums

### 2.1. Définition

Les rhizobia sont des bactéries communément appelées « rhizobium » (du grec rhiza : racine et bios : vie), terme générique dérivé du premier genre bactérien, *Rhizobium* décrit au XIX<sup>ème</sup> siècle comme des bactéries qui vivent dans le sol (Frank 1889). On désigne par rhizobiums toute bactérie capable de former une symbiose avec des légumineuses (Lebbida 2009). Ce sont des bâtonnets mobiles de 0,5 à 0,9 sur 1,2 à 3,0  $\mu\text{m}$  à Gram négatif aérobies, non sporulantes.

### 2.2. Biodiversité des rhizobiums

D'après Gyaneshwari et al (2011), les rhizobiums font partie de la subdivision des  $\alpha$ - et  $\beta$ -Protéobactéries, groupe diversifié de micro-organismes à Gram négatif, comprenant plus de 100 espèces réparties au sein de 9 familles et 15 genres d'alpha et beta-protéobactéries. La plupart des bactéries nodulant les légumineuses appartiennent à la classe des  $\alpha$ -protéobactéries et se répartissent au sein de 12 genres bactériens. Les  $\beta$ -protéobactéries contiennent 2 genres seulement *Burkholderia* et *Cupriavidus*, qui nodulent les légumineuses.

### 2.3. Principales caractéristiques

Les rhizobiums constituent un groupe des micro-organismes génétiquement et phylogénétiquement hétérogènes, distingué par plusieurs caractères.

#### 2.3.1. Caractères morphologiques

Les rhizobiums sont des bactéries du sol qui peuvent exister sous deux formes : une forme végétative (non bactéroïde) que l'on trouve dans la rhizosphère et une forme bactéroïde que l'on rencontre à l'intérieur des cellules de cortex racinaire (Werner 1992).

#### 2.3.2. Caractères culturels

En raison du temps de génération, Bala et al (2004) classent les rhizobia en deux grands groupes :

- Les rhizobiums à croissance rapide, avec un temps de génération de 2 à 4 heures, qui développent une turbidité remarquable dans un milieu de culture liquide après 2 à 3

jours. Les rhizobiums de ce groupe infectent généralement les légumineuses des régions modérées et chaudes.

- Les rhizobiums à croissance lente, avec un temps de génération de 6 à 7 heures, exigent 3 à 5 jours pour la production d'une turbidité modérée dans un milieu liquide.

L'un des milieux solides les plus utilisés pour la culture de rhizobiums est le Yeast Extract Mannitol Agar (YEMA). Sur ce milieu les colonies apparaissent sous forme circulaire, blanche, opaque ou laiteuses, humides, translucides, elles peuvent être brillantes. Les colonies jaune pâle sont rencontrées surtout dans les cultures âgées (Somasegaran et Hoben, 1994).

### 2.3.3. Caractères symbiotiques

Au plan symbiotique, Dart et al (1977) signale que les rhizobiums varient selon leur degré d'effectivité, correspondant à leur activité nitrogénasique. Ainsi, une souche est classée inefficace, efficace ou très efficace.

- L'ineffectivité : exprime le pouvoir de la bactérie à noduler une ou plusieurs légumineuses hôtes. Elle peut être facilement évaluée par le dénombrement des nodosités formées.
- L'effectivité ou efficacité : définit l'aptitude à fixer l'azote, ce qui est influencée par :

**a/** Des facteurs intrinsèques: l'effectivité varie considérablement dans un groupe de rhizobium nodulant la même légumineuse.

**b/** Des facteurs extrinsèques: l'effectivité des rhizobiums varie avec la température, dont l'optimum se situe autour de 33°C.

- La compétitivité : représente la résistance de la souche bactérienne considérée aux microorganismes antagonistes et la concurrence avec les souches indigènes pour la nodulation.

### 2.3.4. Caractères physiologiques

Les rhizobiums sont des bactéries mésophiles, leur température optimale de croissance se situe entre 25 et 30 C° (Elkan 1992). Certaines espèces peuvent se développer à des températures allant de 40.5C° à 42 C°, c'est le cas de *Rhizobium meliloti* qui peut se développer à 42.5C° (Affiana et Alexander, 1992). Si la plupart des Rhizobiums préfèrent la neutralité (Jordan 1984), certaines souches toléreront un milieu acide (Somasegaran et Hoben 1994).

### 2.4. L'association symbiotique

Selon Brogthon (2000), c'est le phénomène d'association entre légumineuses et rhizobiums, qui repose sur un échange mutuel entre la plante et la bactérie où : la bactérie assure une source illimitée d'azote à la plante et, en retour, cette dernière fournit une source de glucides aux bactéries. C'est une relation spécifique, où un rhizobium donné n'est capable d'effectuer une symbiose fixatrice d'azote que si l'autre partenaire appartient à son spectre d'hôte et vice versa. L'établissement et le fonctionnement de la symbiose sont sous le contrôle génétique de ces deux partenaires et la reconnaissance entre les deux symbiotes est possible grâce à des échanges de signaux moléculaires.

#### 2.4.1. Le mécanisme de la nodulation

##### - Pré infection :

Le processus de nodulation commence par un échange de signaux entre la plante hôte et la bactérie. En conditions de carence en ions d'ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ), les plantes produisent des flavonoïdes au niveau des racines (Patriarca et al 2004). Une fois perçu par le Rhizobium, ce signal induit l'expression de gènes nod codants pour les enzymes de synthèse de facteurs Nod (lipochitinoooligosaccharides ou LCO). Ceux-ci sont des signaux de nodulation ciblant le programme organogénétique de la plante (Patriarca et al 2004). Les Rhizobiums diffèrent dans la structure de leurs facteurs de nodulation, ce qui constitue un deuxième niveau de contrôle de la spécificité d'hôte (Moschetii et al 2005).

##### - Infection :

Les bactéries migrent vers l'extrémité des poils absorbants, s'y fixent et libèrent à leur tour des hormones (acides gibbérellique et indole-acétique) qui assouplissent la paroi cellulaire (Dupuy et Nougier 2005). Au cours de l'infection, la pénétration de la bactérie est facilitée par la courbure du poil racinaire et, par conséquent, la bactérie est entourée par la paroi végétale dans une zone confinée. La croissance des nodosités se poursuit dans les régions infectées de l'écorce et du péri-cycle jusqu'à ce que ces deux masses de cellules fusionnent et forment la nodosité (Rasanen 2002).

##### - Développement du nodule :

Dans le poil absorbant, des vésicules golgiennes convergent vers le point de contact, formant un cordon amorphe (Dupuy et Nougier 2005). Ce dernier relie les cellules épidermiques aux cellules corticales. De là, l'organogenèse se poursuivra jusqu'à l'obtention

d'un nodule. Arrivé dans la zone corticale, le cordon se ramifie et envahit la presque totalité de la racine. La zone corticale réagit par l'augmentation de taille mais aussi par la multiplication cellulaire activée par la libération de cytokinines bactériennes ; un méristème se forme ou différencie une excroissance appelée nodule (Dupuy et Nougier 2005).

- **Formation des bactéroïdes :**

La dernière étape de la formation du nodule consiste en un relâchement des rhizobiums à partir des cordons d'infection à l'intérieur des cellules corticales suivie de la division et la différenciation des rhizobiums en cellules fixatrices d'azote reconnues sous le nom de bactéroïdes.

- **Maturation des nodosités :**

A la fin, chaque cellule bactérienne est entourée par un compartiment membranaire provenant du tube d'infection (Brewin 2004). L'ensemble de cette unité, constituée d'une bactérie individuelle et la membrane qui l'entoure est nommé symbiosome (Brewin 2004). Parallèlement à cette différenciation, les cellules racinaires de l'hôte augmentent considérablement de taille et forment ainsi le tissu central du nodule qui est bien alimenté en sève et contient de la leghémoglobine dans le cytoplasme, ce qui donne à la région centrale de la nodosité une coloration rose.

- **Dégénérescence :**

Chez les nodosités âgées, les cellules végétales dégèrent, les membranes des symbiosomes se désagrègent, les bactéroïdes se transforment en bactéries, ces dernières sont libérées dans le sol et la plante résorbe les produits (Mergaert et al 2006).

#### **2.4.2. Structure du nodule**

L'infection du nodule indéterminé se fait par sa base, ce qui établit un gradient de différenciation et définit plusieurs zones :

- La zone méristématique (zone I) située à l'apex, cette zone est toujours dépourvue de bactéries.
- La zone de préfixation (zone II) qui contient les cellules corticales nouvellement produites par le méristème et qui sont envahies par des cordons d'infection rhizobiens. Les bactéries sont déversées dans les cellules, entourées par la membrane péri-bactéroïdienne et leur différenciation en bactéroïdes commence. À ce stade, elles ne fixent pas encore l'azote.



- L'interzone II-III dans laquelle la différenciation des bactéroïdes se poursuit et la fixation de l'azote commence. Cette zone se caractérise par la présence de nombreux amyloplast.
- La zone de fixation (zone III) où les bactéroïdes pleinement différenciés fixent activement l'azote.
- La zone de sénescence (zone IV) qui est présente chez les nodules âgés.



**Figure n°02 :** Photographies de nodules racinaires (a, b). Coupe longitudinale d'un nodule (c)  
(Chen et al 2003).

## 2.5. Génétique du mécanisme de nodulation

### 2.5.1. Flavonoïdes

Les flavonoïdes, composés phénoliques exsudés dans la rhizosphère par les racines de la plante, stimulent chez les rhizobiums la synthèse de facteurs Nod qui activent les processus symbiotiques de l'hôte nécessaire à l'infection des poils radiculaires et au développement du nodule (Harley et al 2010). Ils semblent avoir, en plus, d'autres rôles pendant plusieurs étapes

du développement du nodule et de la plante (Terefework 2002) et leur production est limitée à la zone de prolongation des poils racinaires à partir de laquelle la plupart des nodules se développent plus tard (Broughton et al 2000).

### **2.5.2. Facteurs Nod (FNs)**

Ce sont des molécules de signalisation composées de lipochito-oligosaccharidiques sécrétés par le rhizobium pour induire la formation des nodosités sur les racines de la plante et qui répondent de façon spécifique selon l'espèce végétale (Guerts and Bisselling 2002 ; Geurts et al 2005). Ils ont un rôle très important car ils déclenchent l'organogenèse du nodule et sont indispensables dans les processus d'infection et de colonisation de la plante hôte (Long, 1996 ; Guerts et Bisselling 2002). Leur synthèse à des concentrations minimales peut déclencher des réponses symbiotiques chez la plante telles que la déformation des poils radiculaires, la division corticale des cellules et la formation de nodule primordial (Debellé et al 2001).

## **III. Les stress chez les plantes**

Contrairement aux animaux, les plantes ne peuvent pas migrer lorsque les conditions de vie leur sont défavorables, elles doivent donc s'adapter pour faire face aux agressions biotiques et abiotiques, tels que la déshydratation, les basses températures, la chaleur, les stress mécaniques comme le toucher ou le vent, les blessures ou encore les infections provoquées par des espèces qui leur sont pathogènes (Arous 2009). Tous ces stress sont donc perçus par la plante par un phénomène de transduction de signal au sein de la cellule végétale, qui va à son tour induire un ensemble de réponses biochimiques, moléculaires (expression ou répression de certains gènes) et physiologiques (Tafforeau 2002).

### **3.1. Notion de stress**

Selon Levitt (1980), le stress est un facteur environnemental induisant une contrainte potentiellement néfaste sur un organisme vivant, qui se traduit par des changements morphologiques, physiologiques, biochimiques et moléculaires qui affectent négativement la croissance de la plante et sa productivité (Arous 2009).

### **3.2. Types de stress**

#### **3.2.1. Stress biotiques**

Ce sont des perturbations physiologiques ou pathologiques due à une agression par un autre organisme. Afin d'y faire face, la plante met en place un système de défense qui fait

intervenir une chaîne de réactions. Les protéines végétales défensives produites font office de rempart contre les agents nuisibles (Shilpi et Narendra 2005).

### 3.2.2. Stress abiotiques

Ils sont dus principalement à des facteurs environnementaux (Zhu 2002). Les plantes sont continuellement exposées aux différents facteurs de stress sans aucune protection (Pugnaire et Valladares 2007). La salinité, la sécheresse, les températures extrêmes, le froid, le gel, le vent, l'excès d'eau, les radiations et les produits chimiques (pesticides ou métaux lourds) sont tous des conditions qui affectent la croissance et le rendement des plantes (Hopkins 2003).

### 3.3. Salinité

Elle désigne la surcharge en sels minéraux solubles dans l'eau d'irrigation ou la solution du sol (Bouزيد 2010). La combinaison des cations ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$  et  $\text{Na}^+$ ) et des anions ( $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{NO}_3^-$  et  $\text{HCO}_3^-$ ) constituent les principaux sels solubles qui participent dans la formation des sols salés (Geetanjali et Neera 2008). Le chlorure de sodium ( $\text{NaCl}$ ), le plus fréquent, représente plus de 90 % des sels, suivi du chlorure de calcium ( $\text{CaCl}_2$ ) et chlorure de magnésium ( $\text{MgCl}_2$ ), ils sont plus solubles et de forte toxicité.

#### 3.3.1. Types et origine de salinité

On compte généralement deux formes de salinisation : Primaire et secondaire.

##### - Salinisation primaire

L'origine de cette salinisation est géologique, marine ou lagunaire et correspond à une salinisation liée au fonctionnement naturel des terrains sous l'influence du climat, de l'altération des roches et de la dynamique des eaux (Baba Sidi-Kaci 2010).

##### - Salinisation secondaire ou remontée

Elle est induite par l'activité humaine, à savoir les pratiques agricoles et en particulier l'irrigation (Munns et al 2006). La forte concentration de sels dans les sols les affecte et entraîne généralement la diminution de leur productivité.

#### 3.3.2. Effets de la salinité sur les plantes

##### 3.3.2.1. Sur la croissance des légumineuses

La croissance de la majorité des plantes est réduite ou inhibée quand la concentration en sel dans l'environnement racinaire s'élève au-dessus de 100 mM  $\text{NaCl}$ . Chez les

légumineuses, l'effet dépressif du sel se manifeste à partir d'un seuil critique de concentration, spécifique à l'espèce et à la variété (Faghire M et al 2011 ; Farissi M et al 2013).

### **3.3.2.2. Sur la nodulation et l'activité symbiotique**

Le stress salin peut affecter la symbiose légumineuse-rhizobiums en réduisant la croissance de la plante hôte et en affectant certains de ses processus physiologiques ou en inhibant le processus d'infection et le développement des nodules. Chez des cultivars tolérants de pois chiche, la salinité inhibe le processus d'infection et affecte la taille et le nombre des nodules, tandis que chez la fève une inhibition du cordon d'infection a été remarquée. En général, les premières étapes de la nodulation sont les plus sensibles au stress salin (Farissi et al 2014).

### **3.4. Réponse et Stratégie adaptative de la plante au stress salin**

Les plantes se comportent différemment face aux stress. Elles peuvent ne pas supporter et subir des lésions, comme elles peuvent accomplir leur croissance durant les périodes de stress les moins intenses ou déclencher des mécanismes métaboliques de résistance leur permettant d'éviter ou de tolérer les effets du stress. Parmi ces mécanismes :

#### **3.4.1. Exclusion**

La plante empêche le sel de remonter jusqu'aux feuilles par le biais d'une première barrière au niveau de l'endoderme de la racine. Cependant, cette barrière peut être interrompue, en particulier de l'émergence des ramifications de la racine. D'autres mécanismes limitent le passage de sel des racines vers les feuilles mais les gènes qui les gouvernent sont encore largement inconnus (EL Madidi 2003).

#### **3.4.2. Ajustement osmotique**

L'ajustement osmotique joue un rôle primordial dans la résistance ou la tolérance de la plante à un stress. Cette dernière synthétise des solutés organiques pour ajuster son potentiel hydrique il s'agit principalement des composés aminés et des sucres (Levigneron et al 1995).

#### **3.4.3. Inclusion**

La plante capte le sel, qui parvient aux feuilles au même titre que l'eau, par le mouvement ascendant de la sève dans les vaisseaux. A l'intérieur des cellules, le sel est alors stocké dans les vacuoles grâce à des systèmes de "pompes" moléculaires. Le sel est ainsi isolé des constituants cellulaires vitaux (EL Madidi 2003).

### 3.4.4. Accumulation de la proline

La proline s'accumule aussi bien chez les glycophytes que chez les halophytes en cas de stress. Sa synthèse de proline est une mesure adaptative prise par les plantes et sa teneur est corrélée à la tolérance au NaCl (Denden et al 2005).

## IV. L'acide salicylique

### 4.1. Description

L'acide salicylique est considéré comme phytohormone de nature phénolique issu de la voie des phénylpropanoïdes (Sakhabutdinova et al 2003) et un régulateur de croissance endogène, qui participe à la régulation des différents processus physiologiques chez les plantes. C'est un constituant de l'aspirine (acide acétylsalicylique), en moindres quantités. On l'utilise comme conservateur alimentaire et comme antiseptique, mais s'il est ingéré en grandes quantités, il peut être toxique pour les êtres vivants. Cette aspirine biologique déclencherait, à l'intérieur de la plante, la production de protéines de défense capables de détruire les agresseurs (Raskin et al 1987).

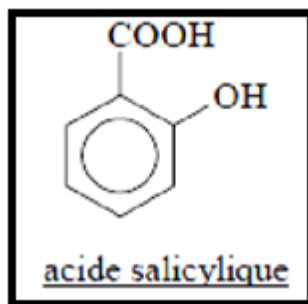


Figure n°03 : Structure moléculaire de l'acide salicylique

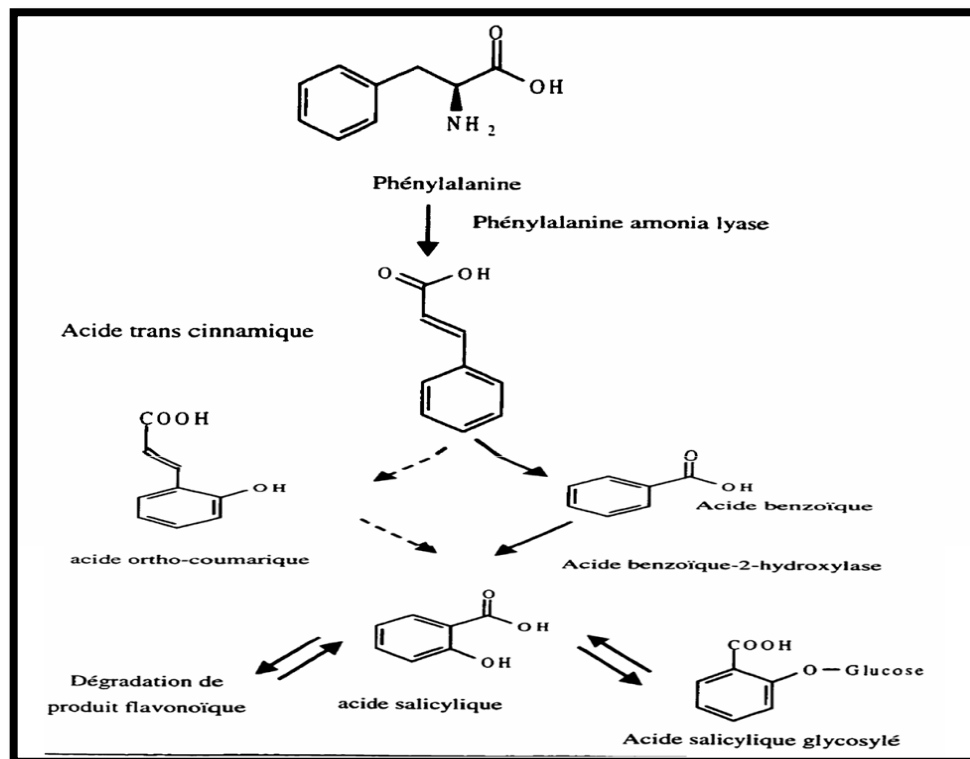
### 4.2. Propriétés physicochimiques

L'acide salicylique ( $C_7H_6O_3$ ) est un métabolite secondaire appartenant aux composés phénoliques naturellement synthétisé par certains végétaux. Il est modérément soluble dans l'eau mais hautement soluble dans des solvants polaires organiques ; Mm = 138,12 g/mol) ; point de fusion  $195^\circ C$  ; point d'ébullition  $211^\circ C$  à 2666 Pa ; pKa = 3,01). Cet acide est présent en abondance dans l'écorce et les feuilles de saule (*Salix alba*), notamment dans les fruits, sous forme estérifiée de salicylate de méthyle.

### 4.3. Biosynthèse de l'acide salicylique

Deux voies de biosynthèse de l'acide salicylique semblent exister chez les plantes (Shah 2003).

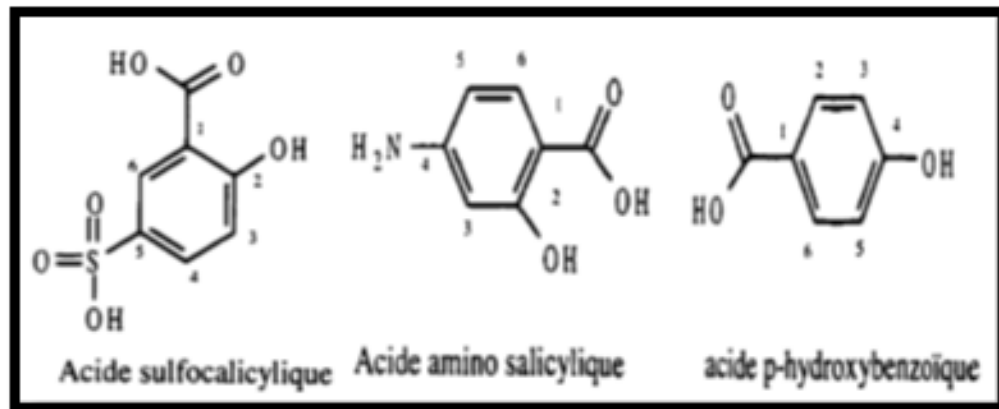
La synthèse de l'acide salicylique, débute avec la phénylalanine. Cette dernière est transformée en acide cinnamique par la phénylalanine ammonia lyase (PAL). L'acide cinnamique est ensuite transformé en acide benzoïque, qui est finalement, hydroxylé par l'acide benzoïque-2-hydroxylase en acide salicylique (Dempsey et al 1994), d'une hydrolyse de la forme glycosylée entreposée dans les parois cellulaires (Hennig et al 1993) ou d'une dégradation des flavones. Dans la plante, l'acide salicylique se retrouve principalement dans les espaces intercellulaires sous une forme libre ou liée à un sucre hydrolysable (Hennig et al 1993).



**Figure n°04** : Voie de biosynthèse de l'acide salicylique chez la plante (Dempsey et al, 1999).

La deuxième c'est la voie alternative de synthèse existe chez les bactéries et dans les chloroplastes de plantes. Cette voie implique les enzymes isochorismate synthase (EC 5.4.99.6) et isochorismate pyruvate lyase qui catalysent les deux étapes de synthèse à partir de

l'acide chorismique. La première enzyme catalyse la conversion de chorismate à isochorismate, et la deuxième la conversion de ce dernier en A.S.



**Figure n°05** : Structure moléculaire de l'acide salicylique et de ses analogues utilisés pour les études fonctionnelles.

#### 4.4. Importance et rôle de l'acide salicylique chez les plantes

L'acide salicylique est une molécule de signalisation impliquée dans beaucoup de phénomènes physiologiques des plantes (Raskin 1992), tels que la photosynthèse, la floraison, la perméabilité de la membrane, la production de chaleur, la croissance et développement des plantes, ainsi que les interactions plantes –pathogènes (Hayat et al 2007 ; Raskin 1992). Elle induit la thermogenèse et la floraison chez plusieurs plantes, contrôle l'absorption des ions par les racines et la conductivité stomacale (Raskin 1992). Des données expérimentales indiquent la participation de l'AS dans le signal de la régulation des expressions des gènes de la sénescence des feuilles chez *Arabidopsis* (Morris et al, 2000). En plus, l'AS peut servir comme régulateur du gravitropisme et inhibiteur du mûrissement des fruits.

Dans les mécanismes de défense de la plante, bien qu'il puisse intervenir directement, au même titre que les autres composés phénoliques, dans la résistance des plantes aux micro-organismes, l'acide salicylique joue simultanément un rôle important comme messenger intracellulaire déclenchant l'induction de l'ensemble des mécanismes qui permettent à la plante de se défendre (Kunkel et Brooks 2002). Il paraît responsable d'inciter sa tolérance au stress abiotique (Benhamou et al 1998).



### **4.5. Mode d'action**

L'acide salicylique apparaît donc comme un signal qui est à l'origine d'une cascade de transduction intracellulaire aboutissant à l'expression de nombreux gènes de résistance aux stress (Klessig et al 2000). Dans la plupart des cas étudiés, sa présence s'est avérée indispensable aux endroits où s'exprime la SAR, qu'il provienne du transport phloémien ou d'une biosynthèse directe au niveau de ces organes cibles. Par opposition, certains exemples montrent l'existence de voies de transduction indépendantes de l'acide salicylique, dans lesquelles l'éthylène et l'acide jasmonique joueraient le rôle essentiel pour l'expression des mécanismes biochimiques de résistance (Pieterse et al 1999).

### **4.6. Application exogène de l'acide salicylique**

L'application exogène de l'acide salicylique a un effet sur une large gamme de processus physiologiques en conditions défavorables externe. Il a été prouvé dans plusieurs recherches que l'acide salicylique participe à la régulation de plusieurs voies métaboliques et physiologiques, mais son mécanisme d'action n'est pas encore bien clair et est toujours en cours d'étude (Shakirova et al 2003).

En l'additionnant aux milieux d'irrigation ou par pulvérisation foliaire, il joue chez certaines plantes, et sous différentes conditions climatiques, un rôle de molécule signal pour induire la résistance ou la tolérance aux différents stress abiotiques (Korkmaz et al 2007).

### 1.1. Objectif de l'étude

La présente étude est menée afin d'examiner la réaction des fabacées vis à vis de l'application du stress salin associé à l'acide salicylique et l'effet de cette interaction sur les nodules.

### 1.2. Conditions de l'expérimentation

L'expérimentation a été effectuée au sein de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Ibn Khaldoun à Tiaret. La conduite des plantations et les mesures biométriques ont été faites dans la serre, les analyses biochimiques aux laboratoires de physiologie végétale.

### 1.3. Matériel végétal

L'expérimentation a été menée sur un génotype de fève (*Vicia faba L.*) nommé "Histal". Les graines ont été sélectionnées, traitées et commercialisées par une société espagnole « Semillas Fito SA » et importées par SARL CASAP d'Alger. C'est une variété précoce, vigoureuse et très productive. Sa faculté germinative est estimée à 90 % avec un taux de pureté de 98 %. Les gousses contiennent de 6 à 7 grains et atteignent 23 à 24 cm de long.



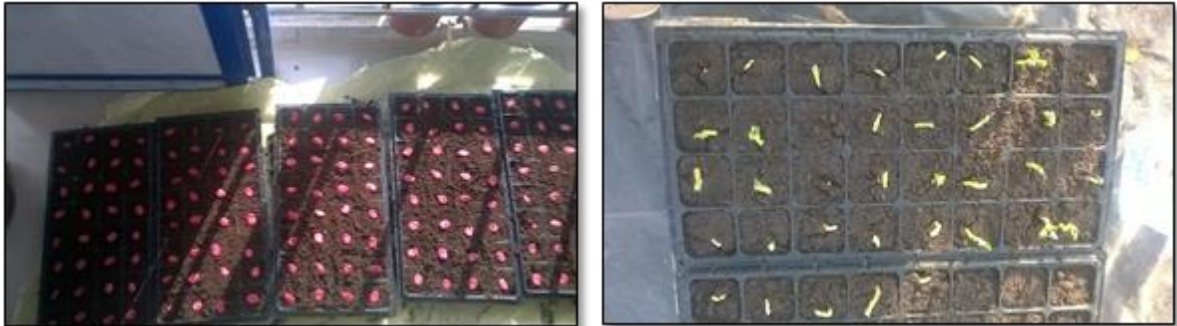
Figure n° 06 : Graines de fève : Variété « Histal »

### 1.4. Protocole expérimental

#### 1.4.1. Pré germination des graines

La pré-germination a été lancée dans des alvéoles pour obtenir des plants vigoureux et homogènes au moment du repiquage. Chaque alvéole remplie de terreau a reçu une graine saine de fève, qu'on a pulvérisé jusqu'à saturation à l'eau distillée et recouvert en film plastique transparent pour maintenir la température à un degré élevé proche à celui de la germination.

Après la levée, l'arrosage des semis a continué selon les besoins jusqu'à l'obtention de plants plus ou moins homogènes.



**Figure n°07** : Mise en place des graines dans les alvéoles (à gauche) et début de germination (à droite)

#### 1.4.2. Préparation du substrat de culture

Avant de procéder au repiquage, nous avons préparé un substrat de culture composé d'un mélange de sable et terreau (V/V). Pour éliminer toutes les impuretés, pierres des débris des végétaux, le sable est tamisé, bien mélangé au terreau, puis mis en pots volumineux sur une couche de graviers assurant le drainage des excès d'arrosage.

#### 1.4.3. Repiquage

Les plants germés, les plus vigoureux et homogènes, ont été soigneusement enlevés avec leurs mottes des petits alvéoles et transplantés dans les pots volumineux ( $\approx 20 \times 30$  cm) précédemment préparés. Après avoir rajouté et tassé du substrat autour des plants repiqués, un premier arrosage à l'eau naturelle a été appliqué à saturation afin d'évacuer les poches d'air et mettre les racines en contact avec les particules du substrat.



**Figure n° 09** : Plants de fève repiqués en pots

#### 1.4.4. Préparation de l'inoculum bactérien

L'isolement des rhizobiums a été effectué à partir de nodules racinaires de plants de fève bien développés, qu'on a récoltés d'un champ. Les nodules ont été traités comme suit :

1. Rinçage des nodules avec l'eau distillée, ensuite à l'alcool pendant 3 min et une dernière fois à l'eau distillée, puis mis dans une boîte de Pétri tapissée avec du papier filtre.

2. Pour libérer les bactéries, les nodules sont ensuite écrasés à l'aide d'une spatule dans des gouttes d'eau distillée stérile.

3. Afin d'effectuer la culture des rhizobiums, le liquide ainsi obtenu est mis dans un tube à essai, puis transféré sur le milieu YEM (Yeast Mannitol Agar) dans des boîtes de pétri et mis à incuber pendant 24 heures sous une température de 25°C.

4. Après incubation des souches bactériennes, le volume obtenu est dilué dans de l'eau distillée stérile, puis injecté juste après repiquage des plants au niveau du collet à raison de 3 ml/plant.



Figure n°09 : Nodules collectés

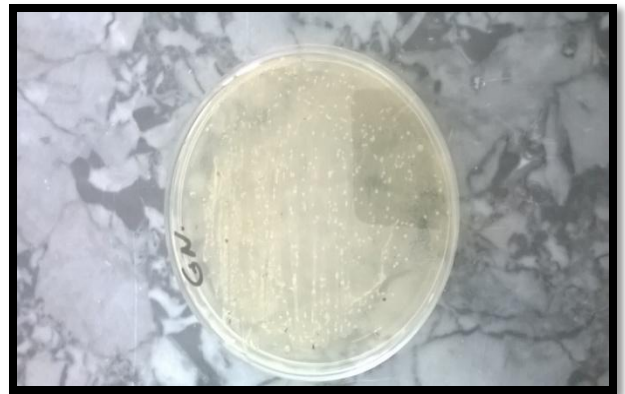












































Figure n°10 : Culture des rhizobiums

#### 1.4.5. Dispositif expérimental

Le dispositif expérimental comprend 6 traitements et un témoin, répartis en deux blocs: **bloc inoculé** et **bloc non inoculé**, avec trois répétitions pour chacun.

Tableau n°01 : Dispositif expérimental

Témoin	NaCl seul (mM)		NaCl + A. S			
0*0	100	200	0.5+100	1+100	0.5+200	1+200
						
						
						
						
						
						

#### 1.4.6. Préparation des solutions salines (NaCl) et d'acide salicylique (A.S)

Pour appliquer la salinité et l'apport exogène d'acide salicylique, aux concentrations prédestinées et citées ci-dessus (voir dispositif expérimental), les quantités à dissoudre ont été préalablement calculées et conservées. Elles sont indiquées dans les deux tableaux suivants :

**Tableau 02** : Besoins en NaCl (g/l)

NaCl (mM/l)	1	100	200
NaCl (g/l)	0,0585	5,85	11,7

**Tableau 03**: Besoins en A.S (g/l)

A.S(mM)	1	0,5
AS (g/l)	1	0,5

### 1.5. Application des traitements

L'apport d'acide salicylique a été appliqué en mélange avec les solutions salines une semaine après le repiquage afin de favoriser une bonne reprise des plants nouvellement transplantés. Les traitements sont appliqués en alternance avec des arrosages à l'eau du robinet.

### 1.6. Mesures et analyses effectués

Après quatre semaines, le traitement au NaCl et acide salicylique a été arrêté et on est passé aux mesures biométriques et à des analyses biochimiques correspondantes aux paramètres étudiés.

#### 1.6.1. Paramètres hydriques

##### 1.6.1.1. Teneur relative en eau (TRE)

Selon la méthode de Barrs et Weatherley (1962), l'avant dernière feuille est excisée à sa base et immédiatement pesée pour déterminer le poids frais initial (Pfi). La partie excisée est trempée dans un gobelet contenant de l'eau distillée, qu'on place à l'obscurité à une température de 4 °C pendant 24 heures. La feuille est à nouveau pesée pour porter le poids de pleine turgescence (Ppt).

Le poids sec (Ps) de la feuille est obtenu par passage à l'étuve pendant 48 heures à une température de 80°C.

La teneur relative en eau des feuilles est estimée par l'équation suivante :

$$\text{TRE (\%)} = \frac{\text{Pfi} - \text{Ps}}{\text{Ppt} - \text{Ps}}$$

##### 1.6.1.2 Taux de déperdition d'eau (TDE)

C'est une méthode qui permet d'identifier le comportement du génotype aux conditions hydriques défavorables. Elle permet d'évaluer le taux de déperdition d'eau des feuilles excisées de la manière suivante (Monneveux, 1991) :

$$\text{TDE} = \frac{\text{Pi} - \text{P2h}}{\text{Ps}} * \frac{1}{\text{Sf} * 120\text{mn}}$$

Pi: Poids initial de la feuille

P2h: Poids de la feuille laissée à l'air pendant 2 heures après la mesure du Ppt

Ps: Poids sec

Sf: Surface foliaire de la feuille.

### **1.6.1. Paramètres physiologiques**

#### **1.6.1.1. Paramètres de croissance végétale (Partie aérienne et partie souterraine)**

##### **1.6.1.1.1. La longueur (cm)**

Elle consiste à détacher soigneusement les plantes de leurs mottes, les rincer, les sécher à l'air puis séparer la partie aérienne de la partie souterraine au niveau du collet. Ensuite, on procède à la mesure, en centimètres, de chaque partie à l'aide d'une règle graduée.

##### **1.6.1.1.2. Poids frais (g)**

Le poids frais de chacune des deux parties végétales est déterminé par pesée sur une balance de précision.

##### **1.6.1.1.3. Volume (ml)**

Le volume est mesuré par immersion de chaque partie végétale dans une éprouvette graduée (en ml). Selon les principes de la poussée d'Archimède, le volume d'un corps immergé est égal au volume du liquide déplacé.

##### **1.6.1.1.4. Poids sec (g)**

Après report des mesures citées ci-dessus, l'ensemble des parties (aériennes et souterraines) sont passées dans l'étuve à une température de 80°C pendant 48 heures, puis le poids sec (mg) de chaque partie est déterminé à l'aide d'une balance de précision.

##### **1.6.1.1.5. La surface foliaire**

Pour mesure la surface foliaire, chacune des feuilles excisées est déposée sur du papier calque pour lui dessiner le pourtour à l'aide d'un crayon. Le schéma obtenu est coupé, puis pesé à l'aide d'une balance de précision. Ensuite, on procède à la pesée d'une surface connue du même papier calque. Les surfaces foliaires sont, ainsi, déterminées en appliquant la règle de trois.

#### **1.6.1.2. Paramètres de croissance nodulaire**

##### **1.6.1.2.1. Nombre de nodules par plant**

Après rinçage répété de la partie racinaire, les nodules de chaque échantillon sont isolés des racines, puis comptés.



### 1.6.1.2.2. Volume des nodules (ml)

Le volume des nodules détachés de chaque échantillon est mesuré par immersion de ces derniers dans une éprouvette graduée (en ml) et lecture du volume de liquide déplacé.

### 1.6.1.2.3. Diamètre de nodule (mm)

Le diamètre de chaque nodule est mesuré à l'aide d'un pied à coulisse.



Figure n°11 : Pied à coulisse

## 1.1.1. Paramètres biochimiques

### 1.6.2.1. Dosage des pigments chlorophylliens

Les teneurs en chlorophylle 'a', chlorophylle 'b' et caroténoïdes sont déterminées selon la méthode utilisée par Shabala et *al* (1998).

Dans un mortier en porcelaine on écrase 100 mg de la partie médiane de l'avant dernière feuille en présence du sable et 10 ml d'acétone à 80 % jusqu'à ce que les fragments de feuille soient totalement blancs. Puis, on filtre dans un tube à essai à l'aide d'un entonnoir et du papier filtre pour chaque échantillon.

La lecture de la densité optique (DO en nm) est faite à l'aide d'un spectrophotomètre de type UV 1200, à des longueurs d'ondes respectives de 663, 645, 470 nm qui correspondent aux pics d'absorption de la chlorophylle a, chlorophylle b et des caroténoïdes.

Ensuite, on calcule la quantité des pigments à l'aide des formules suivantes :

$$\text{Chl a} = 9.78 \text{ DO}_{663} - 0.99 \text{ DO}_{645}$$

$$\text{Chl b} = 21.42 \text{ DO}_{645} - 4.65 \text{ DO}_{663}$$

$$\text{Caroténoïdes} = \frac{1000 \text{ DO}(470) - 1.90 \text{ chl a} - 63.14 \text{ chl b}}{214}$$

La quantité des pigments chlorophylliens est exprimée en mg/L.



**Figure n°12** : Spectrophotomètre 1200 UV



**Figure n° 13** : Dosage des pigments  
Chlorophylliens

#### 1.6.2.2. Dosage des sucres solubles

Pour extraire les glucides, 2 ml d'éthanol 80% sont ajoutés à 100 mg du matériel végétal et laissés pendant 48 h à une température ambiante.

Les tubes sont par la suite, placés au bain Marie à 70°C afin d'évaporer l'alcool. 1 ml est pris de chaque tube et mis dans un autre tube propre auquel sont ajoutés 1 ml de phénol 5% et 5 ml d'acide sulfurique, qu'on laisse reposer pendant 10 min avant de le placer encore une fois pendant 10 min au bain Marie, à 30°C. La densité optique des solutions obtenues est lue au spectrophotomètre UV 1200 à 490 nm (Dubois et al, 1956).

Les valeurs de densité optique relevées sont, ensuite, rapportées sur une courbe étalon des sucres solubles préparés avec des concentrations croissantes de glucose allant de 10 à 100  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ .



**Figure n°14** : Dosage des sucres solubles

### 1.6.2.3. Dosage des protéines solubles

Pour doser les protéines solubles, on a suivi la méthode de Bradford (1976).

Une feuille de chaque échantillon est mise dans un mortier en porcelaine et broyée dans de l'azote liquide. 100 mg sont pris de chaque broyat, auxquels est ajouté 1 ml du tampon d'extraction des protéines (400 ml d'eau distillée + 4g NaCl + 0.1g KCl + 0.77g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> + 0.12g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>). Le mélange est incubé à 42°C pendant 15 min, puis centrifugé pendant 15 min à 14000 t/min. 100 µl du surnageant sont mélangés avec 200 µl du réactif de Bradford et 990 µl d'H<sub>2</sub>O, puis on procède à la lecture des densités optiques à 595 nm, qu'on reconvertit en concentrations à l'aide d'une courbe d'étalonnage préétablie.



**Figure n° 15 :** Feuille broyée dans l'azote liquide



**Figure n°16 :** Solutions après centrifugation

Pour réaliser une courbe d'étalonnage des protéines solubles, préparées avec une solution mère de SAB allant de 10 à 100 µg.ml<sup>-1</sup>. On prend 100 µl de ces dernières, auxquelles on ajoute 2 ml du réactif de Bradford. La lecture de la densité optique se fait à la longueur d'onde 595 nm après 2 min des réactions.

### 1.6.2.4. Dosage de la proline :

La proline est analysée selon la méthode de Bergman et Loxley (1970).

Après l'ajout de 2 ml d'éthanol dilué 40% à 100 mg de la matière végétale, les tubes sont placés au bain marie 85 °C pendant 1h. 1ml de l'extrait est prélevé et mis dans un autre tube auquel est ajouté 1 ml de la solution (120 ml d'eau distillée + 300 ml d'acide acétique + 80 ml d'acide ortho phosphorique + 25 mg de ninhydrine) qu'on chauffe pendant 30 min au bain marie à 100°C puis on laisse refroidir et ajouter 5 ml du Toluène et un peu de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Les densités optiques sont lues par spectrophotomètre UV à 528 nm. Les résultats sont exprimés

en  $\mu\text{g.ml}^{-1}$  de proline d'extrait, en référence à une courbe d'étalonnage à partir de concentrations croissantes de proline de 12.5 à 125 $\mu\text{g.ml}^{-1}$ .

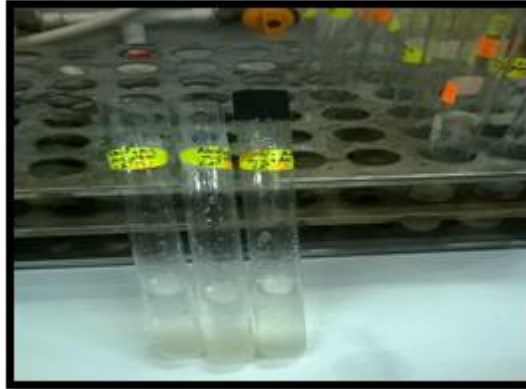


Figure n° 17 : Dosage de la proline

### 1.7. Analyses statistiques :

Les analyses statistiques des résultats obtenus ont été effectuées par SPSS 22. L'influence de la concentration en NaCl et en acide salicylique a été testée par l'analyse de la variance à un seul facteur de variabilité. Les corrélations entre les différentes variables ont été établies à l'aide du coefficient de P.

## **1) Paramètres hydriques**

### **1.1. Teneur relative en eau**

La figure (18) illustre les variations de la teneur relative en eau (TRE) des feuilles des plantes de la fève (*Vicia faba* L.).

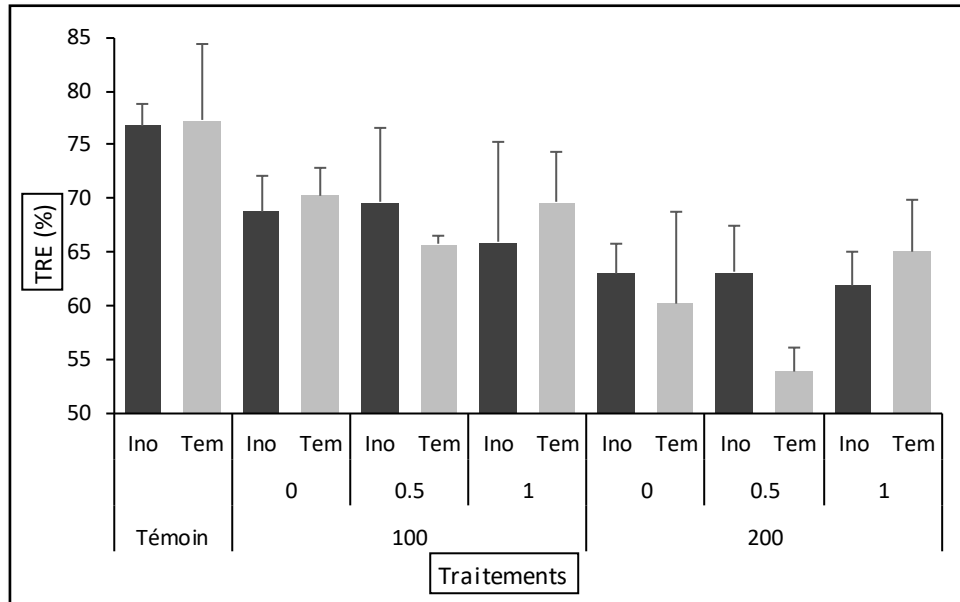
L'analyse de la variance à un seul facteur de variation montre clairement qu'il y a une différence très hautement significative entre les différents traitements appliqués en termes de la teneur relative en eau (TRE).

Les résultats montrent que la TRE subit une diminution significative en réponse à la concentration 100 mM de NaCl qui s'accroît en doublant la concentration saline à 200 mM par rapport aux plantes témoins.

Cependant, l'ajout de l'acide salicylique induit une diminution de la teneur relative en eau chez les plantes traitées avec 0.5 mM AS combinée avec les deux concentrations salines et 1 mM AS seulement avec 100 mM NaCl. Cependant, AS aide les plantes à maintenir un bon état d'hydratation quand elles sont traitées à 0.5 mM AS sous la concentration saline élevée à 200 mM NaCl.

En comparant les plants inoculés et ceux non inoculés, il paraît que la TRE correspondant au premier bloc semble être inférieure à celle du second lorsque la salinité est appliquée seule à 100 M de NaCl et inversement sous 200 mM. En additionnant 0,5 mM d'A.S aux deux concentrations salines, il s'est avéré que la TRE du bloc inoculé est supérieure à celle du bloc non inoculé. Sous traitements associés à 1 mM d'A.S, il s'est entraîné le contraire.

Les mesures de la variance révèlent que les variations de la TRE du bloc inoculé ne présentent aucune différence significative. Par contre, celles du bloc non inoculé présentent une différence très hautement significative.



**Figure n° 18 :** Variation de la teneur relative en eau (moyennes  $\pm$  écart-type) chez les plantes de la fève soumises aux différents traitements de NaCl et de l'acide salicylique.

## 1.2. Taux de déperdition d'eau (TDE)

La figure (19) montre les variations du taux de déperdition d'eau des feuilles de la plante de fève « *Vicia faba L* »

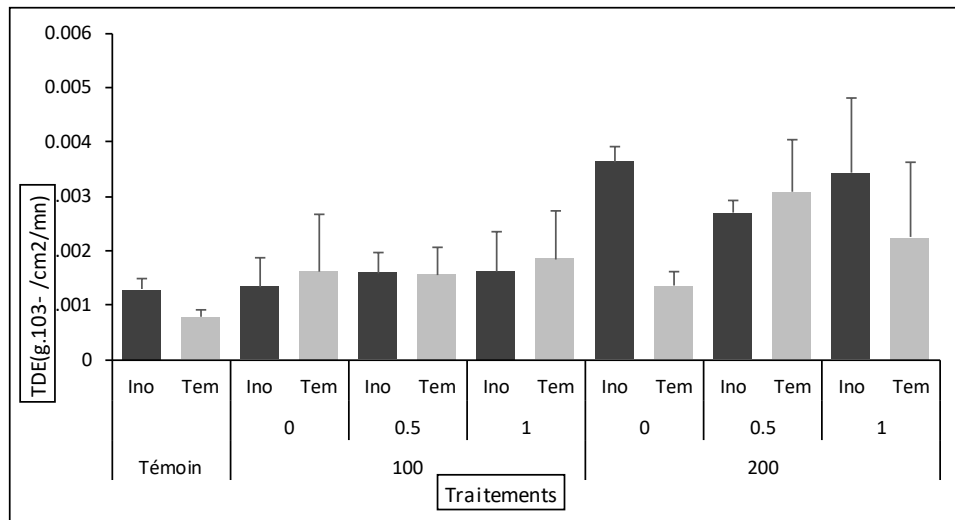
L'analyse de la variance à un critère de classification ( $p= 0.006$ ), montre qu'il y a une différence hautement significative entre les différents traitements appliqués en terme du taux de déperdition d'eau (TDE).

D'après les résultats, la valeur la plus faible du TDE est enregistrée chez les plantes témoins ; suivie de celle correspondant aux échantillons stressés à 100 mM NaCl et enfin ceux traités à 200 mM.

L'addition de l'acide salicylique en concentrations croissantes (0.5 mM et 1 mM) induit une augmentation très modérée dans les milieux de 100 mM de NaCl, mais leur combinaison avec 200 mM de sel mène considérablement la TDE à la hausse.

La comparaison entre les deux blocs montre qu'il n'y a aucune différence dans les milieux contenant 100 mM de NaCl. Là où les plantes ont subi 200 mM de sel, le TDE du bloc inoculé a paru supérieur à celui de l'autre bloc lorsqu'ils sont alimentés à 200 mM de NaCl seuls ou rajoutés à 1 mM d'A.S.

Ainsi, les mesures de la variance affirment qu'il existe une différence très hautement significative entre les plantes inoculées alors que celle des non inoculées ne possèdent aucune différence significative.



**Figure n° 19 :** Variation du taux de déperdition d'eau (moyennes ± écart-type) chez les plantes de la fève soumises aux différents traitements de NaCl et de l'acide salicylique.

## 2) Paramètres physiologiques

### 2.1. La longueur de la partie aérienne

La figure (20) décrit les variations de la longueur de la partie aérienne mesurée en « cm ».

L'analyse de la variance à un critère de classification ( $p=0.003$ ) montre qu'il y a une différence hautement significative entre les différents traitements.

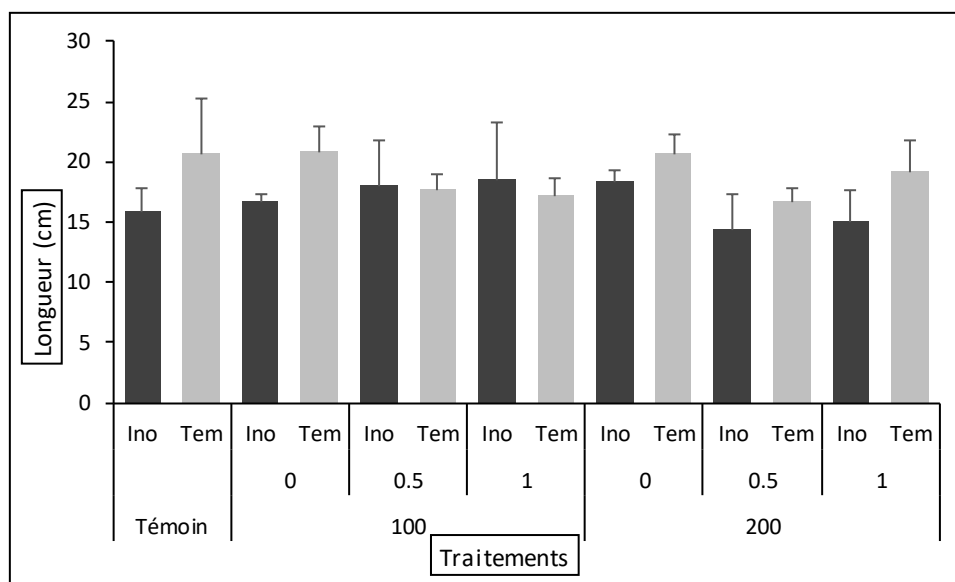
Le graphe révèle une nette diminution dans la taille de la partie aérienne, notamment là où les plantes sont stressées à 200 mM de NaCl. La concentration saline 100 mM semble ne pas avoir d'effet.

Concernant les plants stressés à 100 mM de NaCl combinés à 0,5mM d'A.S, on a pu enregistrer une longueur maximale de la partie aérienne par rapport aux autres combinaisons avec 200 mM où la longueur de la tige s'est sensiblement réduite.

Sous tous les traitements à 100 mM de NaCl, les valeurs enregistrées indiquent que les longueurs de tiges sont plus ou moins identiques au niveau des deux blocs (inoculé et non

inoculé). En traitant avec 200 mM de sel, appliqué seul ou combiné, il est remarqué que les longueurs des parties aériennes ont été toujours plus hautes chez les plantes non inoculées.

Les mesures de la variance démontrent qu'il y a une différence significative entre les valeurs du bloc inoculé, alors que le non inoculé ne présente pas différences.



**Figure n° 20** : Variation de la longueur de la partie aérienne (moyennes  $\pm$  écart-type) des plantes de la fève soumises aux différents traitements de NaCl et de l'acide salicylique.

## 2.2. La longueur de la partie racinaire

La figure (21) représente la longueur de la partie racinaire mesurée en « cm ».

D'une façon générale, les longueurs racinaires des plantes élevées dans les milieux contenant 100 mM de NaCl ne présentent pas grande différence en comparaison au témoin. Cependant, lorsque les concentrations salines ont été levées à 200 mM, des diminutions remarquables des parties souterraines ont été enregistrées.

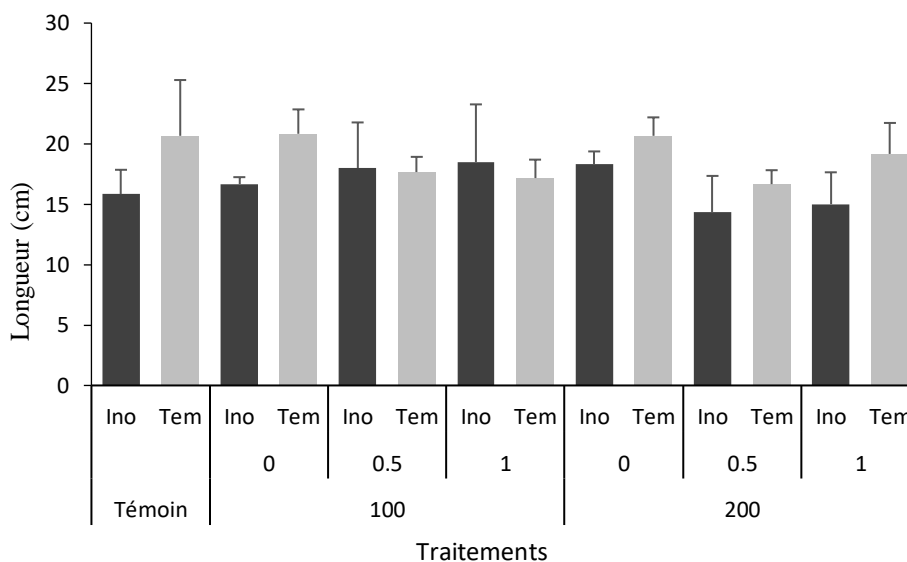
Pour ce qui est des combinaisons, mis à part la combinaison de 200 mM de NaCl avec 0.5 et 1 mM d'A.S où la longueur racinaire a relativement diminué, les autres traitements n'ont pas abouti à des variations consistantes.

Pour ce paramètre, les résultats ne montrent aucune différence significative entre les différents traitements.

La plupart des traitements ont abouti à des résultats où la longueur des racines a été supérieure au niveau du bloc non inoculé par rapport à celui inoculé.



L'étude de la variance montre qu'il n'y a aucune différence significative entre les deux blocs.



**Figure n° 21:** Variation de la longueur de la partie racinaire (moyennes  $\pm$  écart-type) des plantes de la fève soumises aux différents traitements de NaCl et de l'acide salicylique.

### 2.3. Le volume de la partie aérienne

La figure (22) reflète le volume de la partie aérienne mesurée en « ml », indiquant qu'il existe une grande divergence dans volume là où le stress salin a été appliqué à 200 mM induisant une diminution remarquable par rapport aux autres traitements.

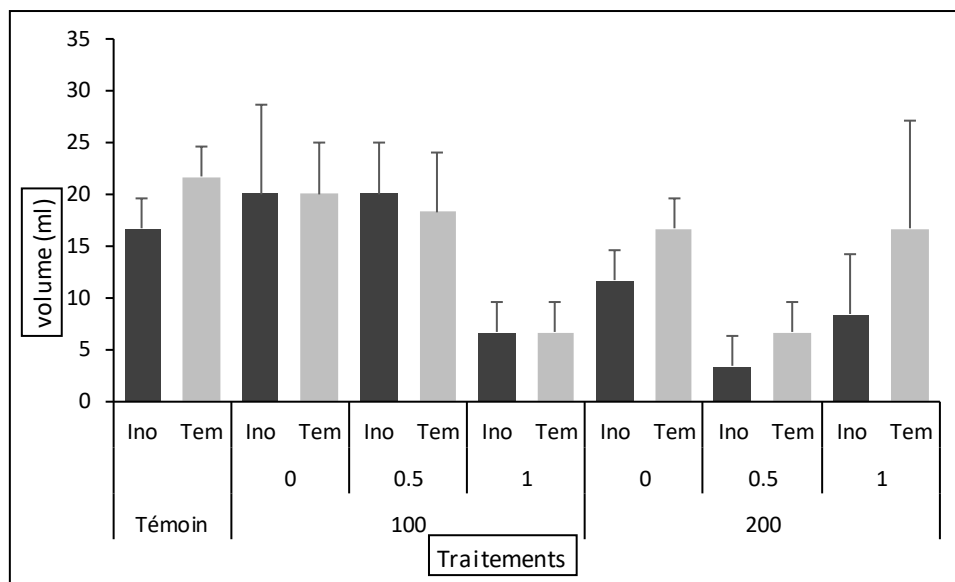
L'ajout de 1 mM d'acide salicylique à 100 mM de NaCl a conduit à une diminution considérable du volume de la partie, contrairement à la combinaison (0.5 mM d'A.S + 100 mM de NaCl) où on a enregistré des valeurs proches au témoin et la salinité appliquée seule à 100mM. Quant à la concentration saline 200 mM, elle a donné des valeurs nettement inférieures, qu'elle soit appliquée seule ou associée à l'A.S à 0.5 ou 1 mM.

L'analyse de la variance à un critère de classification ( $p=0$ ) montre qu'il y a une différence très hautement significative entre les différents traitements.

Les valeurs enregistrées sous les différents traitements contenant 100 mM de NaCl ne présentent pas de différences apparentes entre les deux blocs. Toutefois, en augmentant les

milieux salins à 200 mM, le volume des tiges a été toujours supérieur chez les plants non inoculés aux rhizobiums.

La mesure de la variance indique qu'il y a une différence significative entre les traitements pour chaque bloc.



**Figure n° 22 :** Variation du volume de la partie aérienne (moyennes ± écart-type) des plantes de la fève soumises aux différents traitements de NaCl et de l'acide salicylique.

#### 2.4. Volume de la partie racinaire

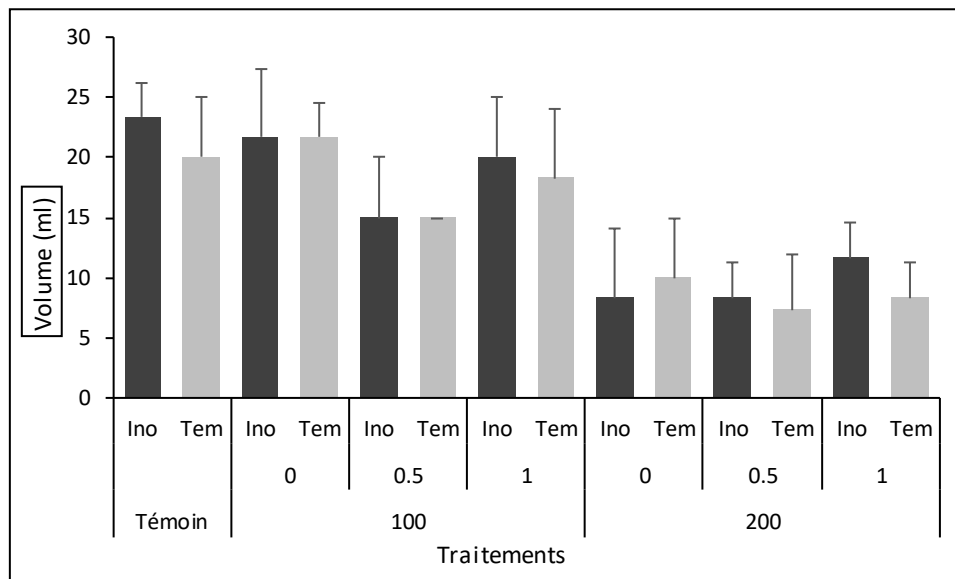
Dans la figure ci-dessous (23), le volume de la partie racinaire mesurée en « ml »,

En appliquant le NaCl seul à 100mM, cela n'a pas causé une variation de volume à prendre en considération en comparaison au témoin, contrairement à 200 mM qui a causé des diminutions considérables en volume.

Les volumes racinaires issus des combinaisons (0.5 mM d'A.S+100 mM de NaCl), (0.5 mM d'A.S+200 mM de NaCl) et (1 mM d'A.S+200 mM de NaCl) sont tous significativement inférieurs aux autres.

D'une façon générale, les volumes des plantes ont été plus ou moins identiques au niveau des deux blocs.

L'analyse de la variance à un critère de classification ( $p=0$ ) montre qu'il y a une différence très hautement significative entre les différents traitements.



**Figure n°23** : Variation du volume de la partie racinaire (moyennes  $\pm$  écart-type) des plantes de la fève soumises aux différents traitements de NaCl et de l'acide salicylique.

### 2..5. Poids frais de la partie aérienne

La figure (24) présente la variation du poids frais de la partie aérienne sous les différents traitements mesuré en (g).

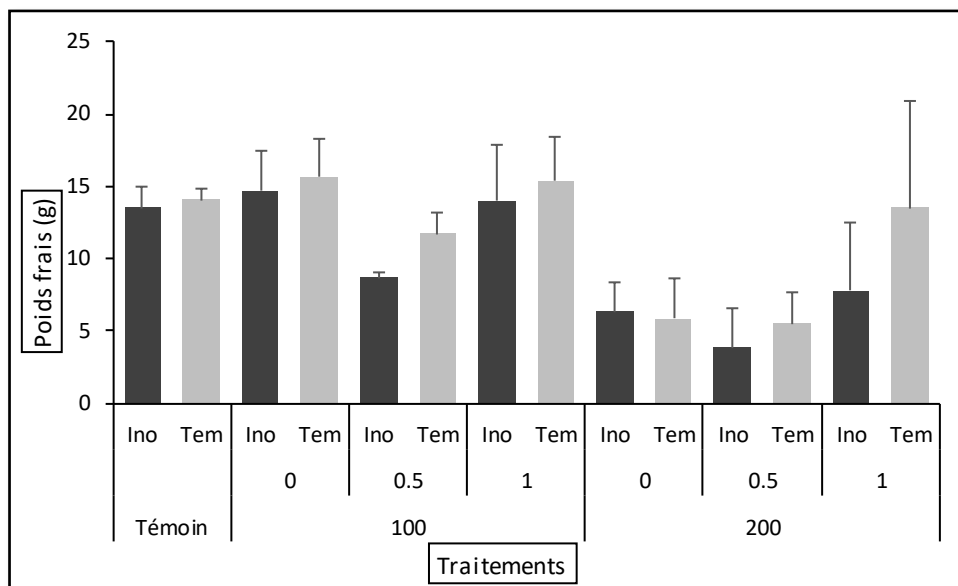
Une légère augmentation du poids frais de la partie aérienne a été enregistrée sous traitement à 100 mM de NaCl seul, alors que la diminution a été très nette lorsque on augmente le milieu salin à 200 mM.

Les combinaisons des concentrations d'A.S avec 100 mM de NaCl ont provoqués des diminutions légères. A l'opposé, les mêmes concentrations d'A.S ajoutées à 200 mM de NaCl ont induit des diminutions très considérables.

L'analyse de la variance à un critère de classification ( $p=0$ ) montre qu'il y a une différence très hautement significative entre les différents traitements.

La différence du poids frais des tiges entre les deux blocs n'a été nettement exprimée que sous les deux combinaisons (0.5 mM d'A.S +200 mM de NaCl) et (1 mM d'A.S +200 mM de NaCl).

Les mesures de la variance indiquent qu'il y a une différence hautement significative entre les tests de chaque bloc.



**Figure n°24** : Variation du poids frais de la partie aérienne (moyennes  $\pm$  écart-type) des plantes de la fève soumises aux différents traitements de NaCl et de l'acide salicylique.

## 2.6. Poids frais de la partie racinaire

La figure suivante (25) affiche le poids frais de la partie racinaire sous différents traitements mesuré en (g).

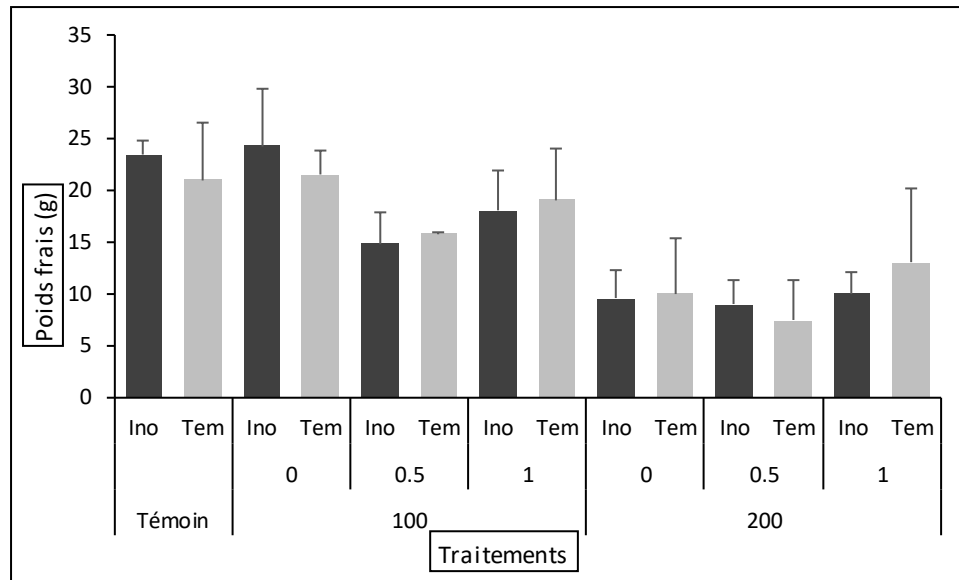
Les valeurs obtenues révèlent que le poids frais racinaire est inversement proportionnel avec les concentrations du sel c'est à dire les concentrations élevées de NaCl (200mM) induisent une diminution considérable en poids frais de la partie souterraine.

Dans les traitements combinés, l'ajout de l'AS au NaCl met le poids frais en diminution, surtout dans les milieux où le sel est concentré à 200 mM.

L'analyse de la variance à un critère de classification ( $p=0$ ) montre qu'il y a une différence très hautement significative entre les différents traitements.

Des différences non considérables en poids frais racinaire ont été remarquées entre le deux blocs.

La variance montre une différence significative entre les traitements du bloc non inoculé.



**Figure n°25 :** Variation du poids frais de la partie racinaire (moyennes  $\pm$  écart-type) des plantes de la fève soumises aux différents traitements de NaCl et de l'acide salicylique.

## 2.7. Poids sec de la partie aérienne

La figure (26) montre la variation du poids sec de la partie aérienne de la plante de fève sous différents traitements mesuré en (g).

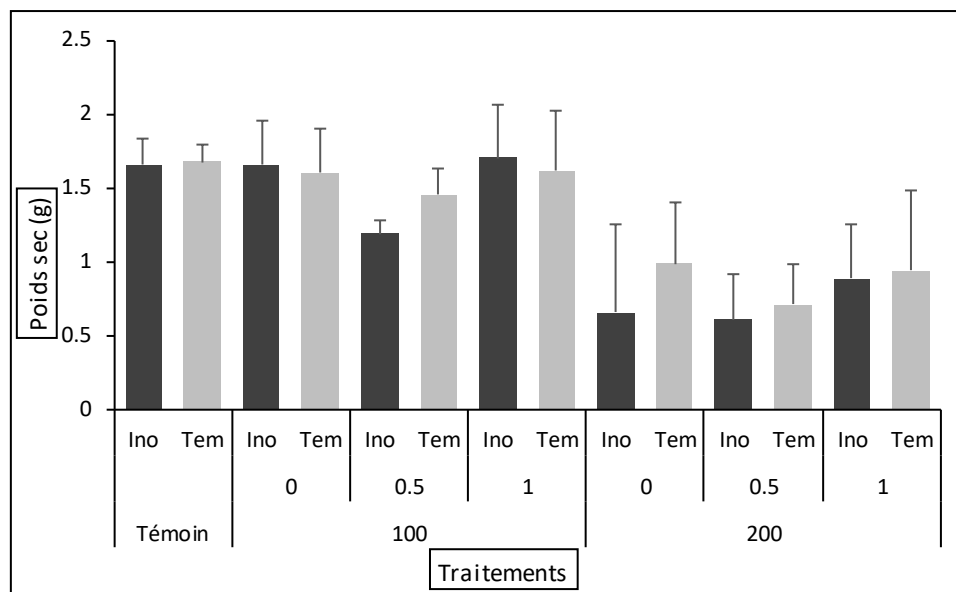
D'après les résultats figurant sur l'histogramme, on remarque que 200mM de NaCl provoque une diminution très prononcée en comparaison à la concentration 100mM qui donne des résultats non loin de ceux du témoin.

Les traitements combinés comprenant 200mM de NaCl ont abouti à des diminutions très significatives en les comparant aux combinaisons avec 100 mM de NaCl.

L'analyse de la variance à un critère de classification ( $p=0$ ) montre qu'il y a une différence très hautement significative entre les différents traitements.

De légères différences entre les deux blocs sont à souligner, en particulier sous combinaison (0.5 mM d'A.S +100mM de NaCl) et lorsque la salinité est appliquée seule à 200 mM.

La mesure de variance affiche une différence significative dans le bloc non inoculé alors que l'inoculé présente aucune différence significative entre les différents traitements.



**Figure n°26 :** Variation du poids sec de la partie aérienne (moyennes  $\pm$  écart-type) des plantes de la fève soumises aux différents traitements de NaCl et de l'acide salicylique.

## 2.8. Poids sec de la partie racinaire

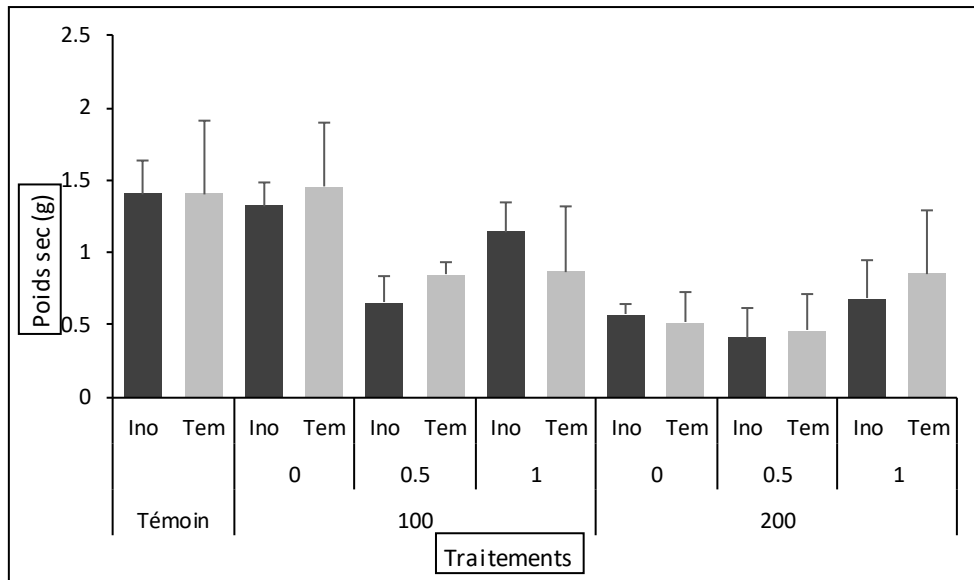
La figure suivante (27) affiche la variation du poids sec de la partie racinaire sous différents traitements mesuré en (g).

Le traitement à 100Mm de salinité seule paraît ne pas avoir d'effet significatif sur la variation du poids sec de la partie racinaire. De l'autre côté, la concentration saline 200mM a diminué considérablement le poids sec des racines.

Toutes les combinaisons d'acide salicylique avec le NaCl ont influencé sensiblement le poids sec racinaire, les valeurs enregistrées ont été très inférieures au témoin et même par rapport à la salinité lorsqu'elle est appliquée seule à 100mM.

A l'exception de la combinaison (1mM d'A.S +100mM de NaCl) où les plantes du bloc inoculé ont eu des poids secs racinaires supérieurs en comparaison avec celles du bloc non inoculé, sous les autres traitements la différence entre plantes inoculées et plantes non inoculées était négligeable. L'analyse de la variance indique une différence hautement significative entre les deux blocs.

L'analyse de la variance à un critère de classification ( $p=0$ ) montre qu'il y a une différence très hautement significative entre les différents traitements.



**Figure n°27 :** Variation du poids sec de la partie racinaire (moyennes  $\pm$  écart-type) des plantes de la fève soumises aux différents traitements de NaCl et de l'acide salicylique.

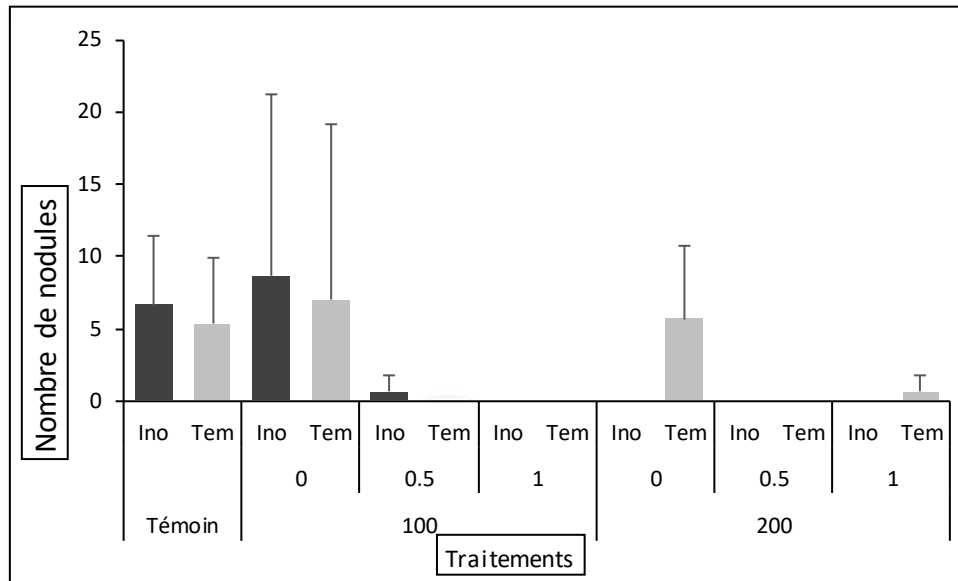
## 2.9. Le nombre de nodule

La figure ci-dessous 28 représente le nombre moyen de nodules comptés au niveau des racines des plants correspondant à chaque traitement.

On remarque que lorsque la salinité est appliquée seule à 100 mM de NaCl, un nombre maximal de nodules par plant a été enregistré dans les deux blocs, inoculé et non inoculé. En levant le niveau de salinité à 200 mM, le nombre de nodules par plant a été très proche de leur nombre chez les plants témoins, mais seulement au niveau du bloc non inoculé. Par contre les plants inoculés stressés à 200 mM n'ont pas nodulés du tout. Exceptés les deux milieux contenant respectivement (0,5 mM d'A.S + 100 de NaCl) appliqués sur des plants inoculés ainsi que ceux non inoculés et traités à (1 mM d'A.S + 200 mM de NaCl) où le nombre de nodules par plant a considérablement diminué en comparaison au témoin et à cités ci-dessus, le reste des traitements paraissent avoir inhibé toute nodulation. L'absence de nodulation a, aussi, été remarquée sous traitement 'il y a une certaine différence entre le bloc inoculé et le non inoculé sous tous les traitements

Au niveau du lot témoin et chez les plants alimentés uniquement à 100 mM de NaCl, il paraît que l'inoculation a entraîné un nombre de nodules par plant supérieur à celui relevé chez les plants non inoculés.

L'analyse de la variance à un critère de classification ( $p=0.479$ ) montre qu'il n'y a aucune différence significative entre les traitements.



**Figure n°28** : Variation du nombre des nodules racinaires de la plante de fève dans les deux blocs sous les différents traitements.

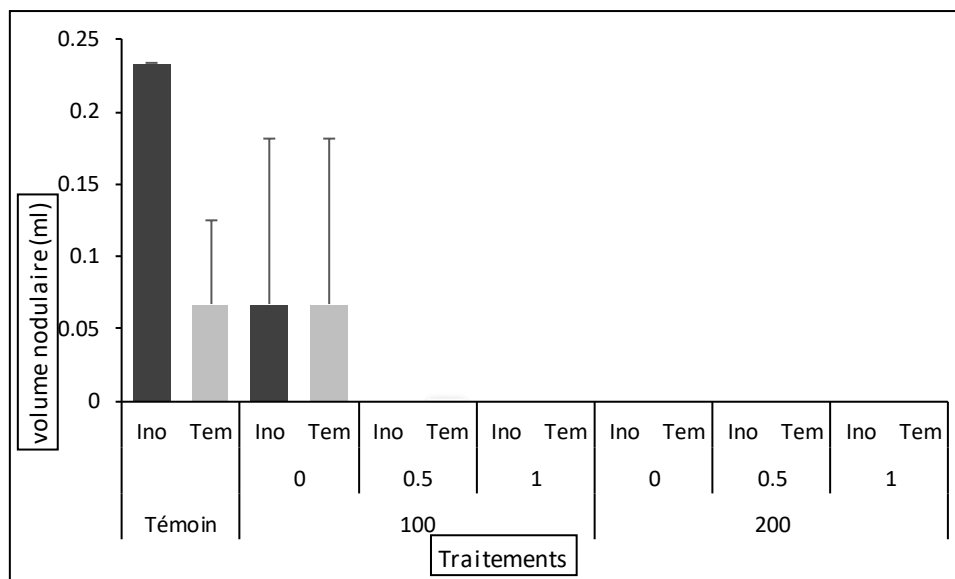
### 2.10. Le volume nodulaire

Cette figure 29 concerne le volume de l'ensemble des nodules portés sur le système racinaire de chaque plant de fève, mesuré en ml.

Il se voit à l'observateur que le volume maximal des nodules a été enregistré dans le milieu qui contient uniquement le NaCl concentré à 100 mM. Sous traitement à 200 mM de salinité appliquée seule, le résultat obtenu est moindre que le précédent et très proche au témoin. Les valeurs minimales ont été observées chez les échantillons alimentés à (0,5 mM d'A.S + 100 mM de NaCl) ou à (1 mM d'A.S+200 mM de sel). Quant au niveau des traitements qui restent, les résultats étaient nuls vu l'absence des nodules ou négligés car les nodules remarqués étaient de très petite taille.

L'analyse de la variance à un critère de classification ( $p=0.256$ ) montre qu'il y a aucune différence significative entre les traitements.





**Figure n°29** : Variation du volume des nodules racinaires de la plante de fève sous les différents traitements.

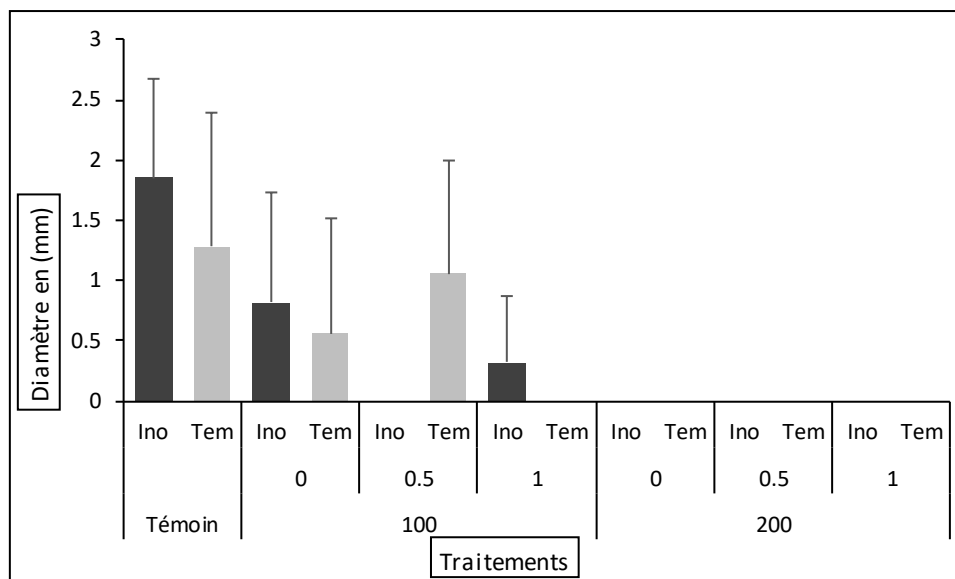
### 2.11. Le diamètre des nodules racinaires

Les résultats de la figure 30 représentent les variations du diamètre maximal enregistré chez les nodules de chaque plant, il est mesuré en 'mm'

Les valeurs maximales ont été enregistrées au niveau des plants témoins, suivis de ceux élevés dans un milieu où 0,5 mM d'A.S ont été additionnés à 100 mM de NaCl, uniquement chez les échantillons no inoculés. Lorsque les plants de fève ont été stressés uniquement à la concentration saline 100 mM, une diminution du diamètre des nodules a été observée. Le résultat minimal a été trouvé chez les échantillons inoculés stressés à 100 mM de NaCl en présence de 1 mM d'acide salicylique.

Si l'on compare les plants inoculés et ceux non inoculés, il est clair que le diamètre des premiers a été toujours supérieur à celui des autres.

L'analyse de la variance à un critère de classification ( $p=0$ ) que signifie que la différence entre les traitements a été très hautement significative.



**Figure n°30** : Variation du diamètre des nodules racinaires de la plante de fève sous les différents traitements.

### 3. Paramètres biochimiques

#### 3.1. Teneur en chlorophylle « a »

La figure (31) comprend des valeurs relatives aux variations des teneurs des plants en chlorophylle « a » selon les traitements de salinité et d'acide salicylique appliqués.

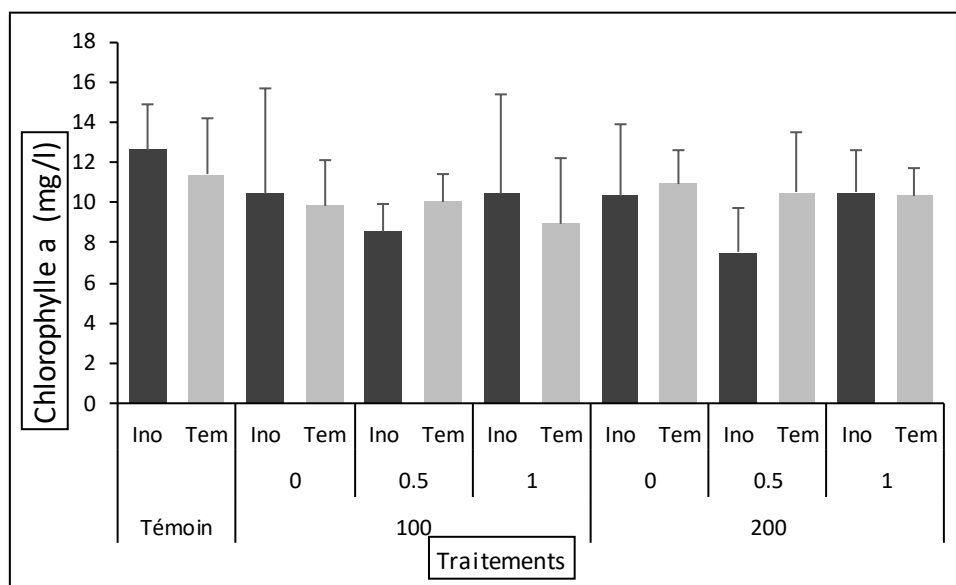
Il est à signaler que les différents traitements ont entraîné des diminutions de la teneur en chlorophylle « a » comparativement au témoin. La teneur minimale a été observée chez les plants de fève inoculés et alimentés à 200 mM de NaCl en présence de 0,5 mM d'A.S. Sous traitement uniquement à la salinité, que la concentration soit égale à 100 ou à 200 mM de NaCl, les teneurs en chlorophylle « a » ont été modérément inférieures au témoin.

En combinant l'acide salicylique à la salinité, les résultats ainsi obtenus sont tous inférieurs au témoin avec des fluctuations modérées.

Selon les résultats, l'inoculation a apporté un plus aux plantes dont il y a une teneur élevée en chlorophylle a, pour la plupart des tests, par rapport à celles non inoculées. Les mesures de la variance montrent qu'il n'y a pas de différences significatives entre les blocs.

L'inoculation des plants aux souches de rhizobactéries ne semble pas avoir beaucoup influencé la teneur en chlorophylle « a ».

L'analyse de la variance ( $P=0,659$ ) montre qu'il n'y pas une différence significative entre les traitements effectués.



**Figure n° 31** : Variation de la teneur en chlorophylle a (moyennes  $\pm$  écart-type) chez les plantes de la fève soumises aux différents traitements de NaCl et de l'acide salicylique.

### 3.2. Teneur en chlorophylle b

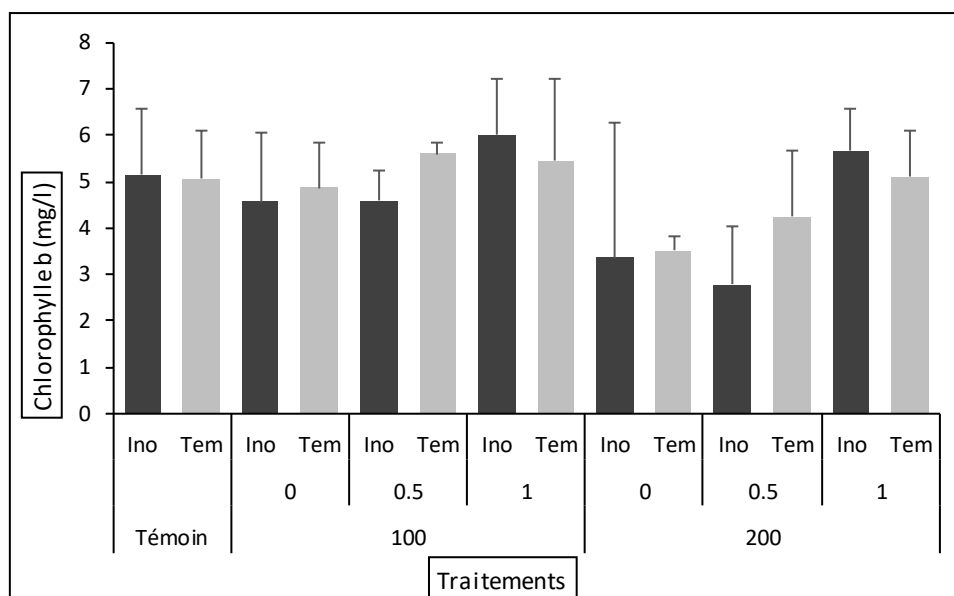
La figure suivante (32), éclaire la variation de la teneur en chlorophylle « b » chez les plantes de fève soumises aux différents traitements de NaCl et d'acide salicylique.

Selon les résultats obtenus, il parait que lorsque la salinité a été appliquée seule à 100 mM de NaCl, de très légers abaisssements ont été enregistrés contre des diminutions très parlantes, voire maximales remarquées sous 200 mM de salinité appliquée seule.

L'addition des deux concentrations d'acide salicylique à 100 mM de NaCl a engendré des augmentations de la teneur en chlorophylle « b », les effets régressifs de la concentration saline 200 mM a été atténuée par l'apport des deux concentrations d'A.S.

Dans les milieux où la salinité est appliquée seule ou associée à 0,5 mM d'A.S, la teneur en chlorophylle « b » a été inférieure chez les plants inoculés que chez ceux non inoculés. L contraire a été enregistré au là où l'acide salicylique est concentré à 1 mM.

L'analyse de la variance montre qu'il y a une différence significative ( $p=0,037$ ) pour la chlorophylle « b » entre les traitements.



**Figure n° 32 :** Variation de la teneur en chlorophylle b (moyennes  $\pm$  écart-type) chez les plantes de la fève soumises aux différents traitements de NaCl et de l'acide salicylique.

### 3.3. La teneur en caroténoïdes :

La figure ci-dessous (33) montre la variation de la teneur en caroténoïdes chez les plantes de la fève stressées aux différents traitements de NaCl et de l'acide salicylique.

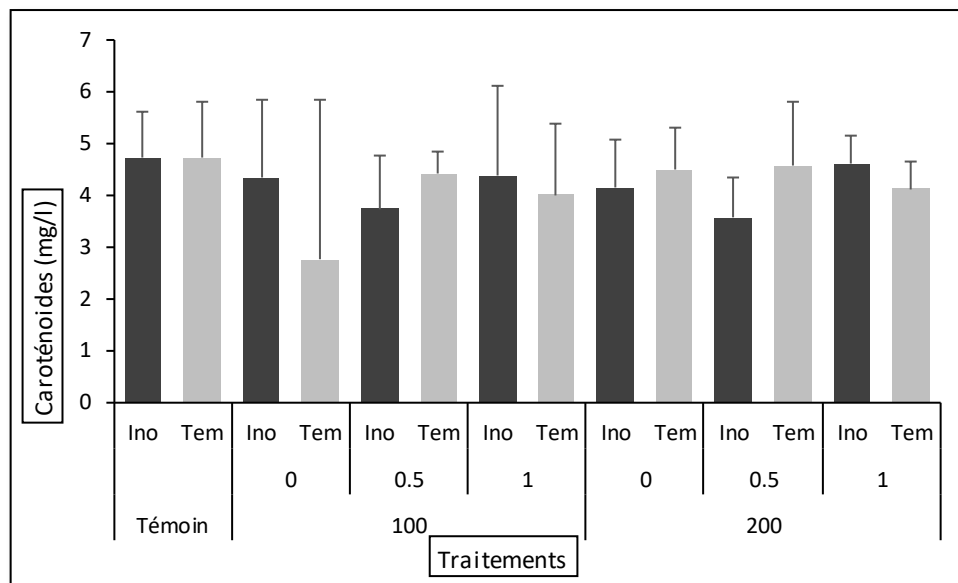
Pour l'ensemble des traitements, la teneur en caroténoïdes a légèrement diminué, à l'exception des plants non inoculés et ayant subi uniquement de la salinité à 100 mM où la diminution a été maximale.

La teneur en caroténoïdes diminué légèrement pour les plantes stressées à 100 mM et 200 mM NaCl par rapporte au plantes témoins.

Les plants inoculés ayant reçu 0,5 mM d'acide salicylique additionnés à 100 ou à 200 mM de NaCl ont des teneurs en caroténoïdes inférieures à celles des plants non inoculés. Le phénomène s'est inversé là où les concentrations salines appliquées seules ou en présence de 1 mM d'A.S.

La teneur en caroténoïdes est moins élevée chez les plants inoculés que chez ceux non inoculés lorsqu'on traite uniquement à 200 mM de NaCl ou en présence de 0,5 mM d'A.S ainsi que sous traitement 0,5 mM d'A.S additionnés à 100 mM de sel. L'inverse a été observé chez les autres plants.

L'analyse de la variance montre qu'il n'y pas une différence significative  $p= 0,892$ .



**Figure n° 33** : Variation de la teneur en caroténoïdes (moyennes  $\pm$  écart-type) chez les plantes de la fève soumises aux différents traitements de NaCl et de l'acide salicylique.

### 3.4. Concentration des sucres solubles

Les résultats de la figure (34) indiquent la teneur des plants de fève en sucres solubles.

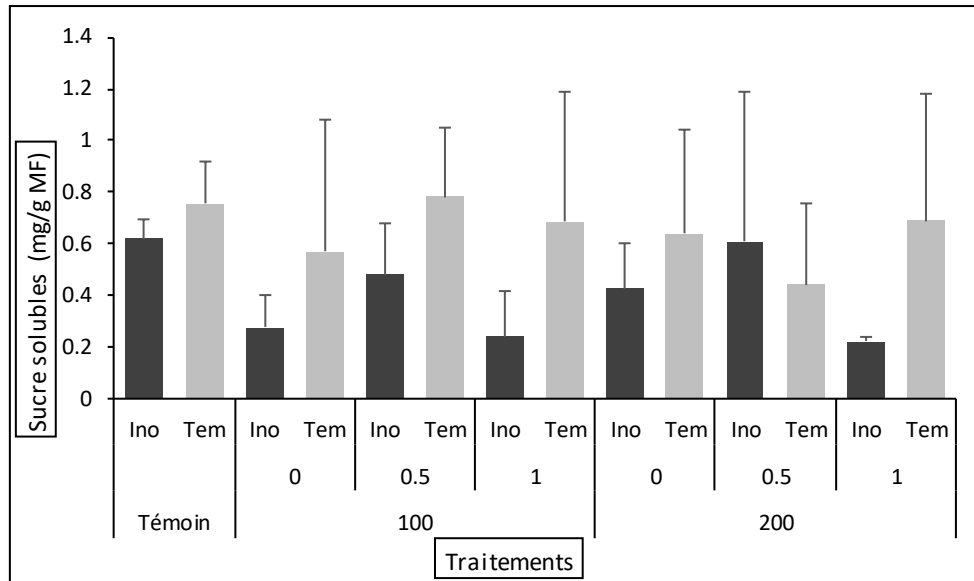
Le traitement à la salinité seule, à 100 ou à 200 mM de NaCl, a provoqué des diminutions de la teneur en sucres solubles en comparaison au témoin.

L'addition de l'acide salicylique à la salinité a, pour ses deux concentrations, redressé la teneur en sucres solubles, notamment chez les plants non inoculés.

Dans la teneur en sucres solubles l'analyse de la variance montre qu'il n'y pas une différence significative  $P= 0,877$ .

Dans la plupart des cas de traitement à la salinité, appliquée seule ou associée à l'acide salicylique, la diminution de la teneur en sucres solubles a été plus exprimée chez les échantillons inoculés.

L'analyse de la variance révèle qu'il n'y pas de différences significatives de chaque bloc.



**Figure n°34 :** Variation de la teneur en sucres solubles (moyennes  $\pm$  écart-type) chez les plantes de la fève soumises aux différents traitements de NaCl et de l'acide salicylique.

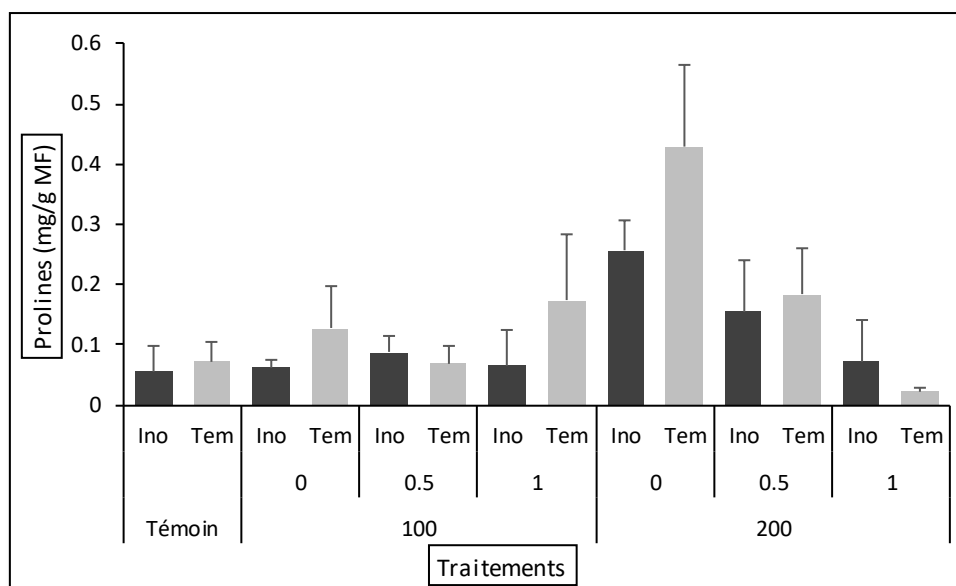
### 3.5 La proline

Les résultats de la figure (35) illustrent les variations de la teneur en proline analysée dans les racines des plants de fève soumis à la salinité appliquée seule et aussi combinée à l'acide salicylique.

A l'exception des plants non inoculés issus du traitement combiné (1 mM d'A.S + 200 mM de NaCl), tous les autres traitements ont entraîné des augmentations de la teneur en proline relativement aux témoins et la teneur la plus haute a été enregistrée chez les plants non inoculés traités à 200 mM de salinité appliquée seule.

La quantité de proline synthétisée par les plants non inoculés a été, pour la plupart des traitements, supérieure ou égale à celle mesurée chez les plants inoculés.

Dans la teneur proline, l'analyse de la variance montre qu'il y a une différence très hautement significative ( $P=0$ ).



**Figure n° 35 :** Variation de la teneur en proline (moyennes  $\pm$  écart-type) chez les plantes de la fève soumises aux différents traitements de NaCl et de l'acide salicylique.

### 3.6. Les protéines :

Les valeurs que contient la figure (36) éclaircissent les variations de la teneur en protéines totales dosées dans les feuilles des plants de fève soumise à différents traitements salins.

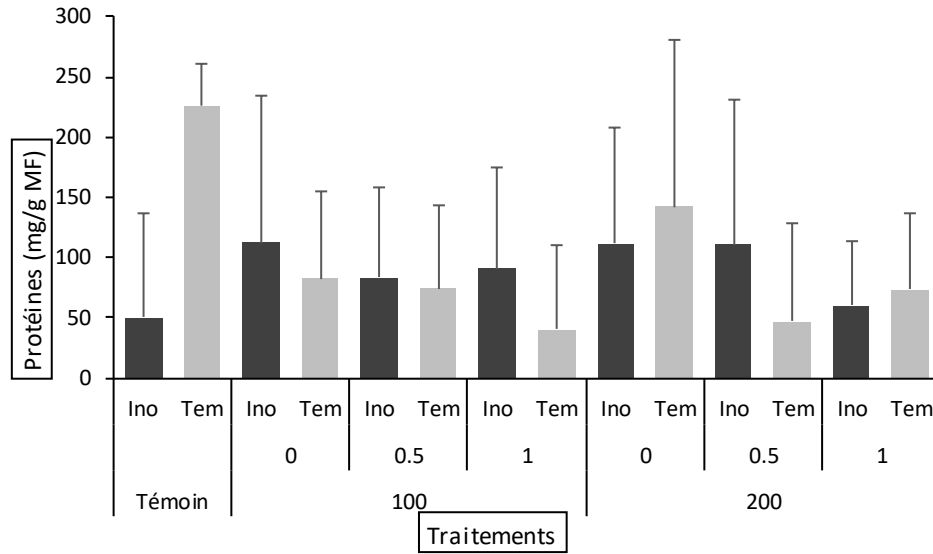
L'ensemble des traitements salins, en présence ou en absence de l'acide salicylique, semblent avoir engendré des teneurs en protéines supérieures à celle des témoins inoculés, mais très inférieure à la teneur maximale enregistrée chez les plants témoins non inoculés ;

Pour ce qui est des combinaisons « salinité-acide salicylique », ce dernier parait ne pas avoir exercé des effets remarquables.

L'analyse de la variance montre qu'il n'y pas une différence significative  $P = 0,165$ .

La teneur des sucres solubles est considérablement plus haute chez les plants témoins non inoculés que chez les témoins inoculés. Sous les autres traitements, des fluctuations irrégulières sont observées si l'on veut distinguer les milieux inoculés et ceux non inoculés.

L'analyse de la variance permet de dire qu'il n'y a aucune différence significative entre les traitements appliqués.



**Figure n° 36 :** Variation de la teneur en protéines (moyennes  $\pm$  écart-type) chez les plantes de la fève soumises aux différents traitements de NaCl et de l'acide salicylique.



Les différentes conditions environnementales telles que la sécheresse et la salinité des sols affectent le comportement physiologique et biochimique des plantes ce qui provoque des chutes importantes des productions agricoles surtout dans les régions à climat aride et semi- aride (Turan et Sezen 2007).

Ce travail consiste à tester le comportement d'une fabacée *Vicia faba* stressée à la salinité lorsqu'on les dote d'une inoculation par les rhizo-bactéries et un apport exogène d'acide salicylique à différentes concentrations.

La réponse des végétaux au stress salin est généralement étudiée en évaluant des paramètres de croissance de partie aérienne et souterraine de plante stressée.

Cette étude a été menée sur des plantes de fève qui ont été exposées pendant trois semaines à différents traitements de NaCl seul (100 et 200 mM) et combiné à l'acide salicylique (0.5 et 1 mM). La tolérance à la salinité de cette espèce a été étudiée à travers leur capacité de développement en présence de NaCl.

Les mesures des paramètres physiologiques à montrer que la salinité inhibe le potentiel de croissance des plantes. Le traitement salin a affecté la hauteur de la partie aérienne en fonction de la concentration saline ; l'ajout de 200 mM NaCl à la solution d'arrosage entraîne une réduction de la croissance en hauteur. Par contre la concentration 100 mM NaCl induit une augmentation de cette longueur. Selon Romero-Aranda et al (2001) qui ont constaté une réduction de croissance de plantes en raison de la salinité chez la tomate. Le stress salin modéré n'affecte pas la longueur de l'hypocotyle mais à concentration plus élevée provoque une chute de la croissance en hauteur. Chez quelque variété de blé a été rapportée par Bennacer et al (2001). Les mêmes tendances ont été observées chez le coton (Meloni et al 2001), le trèfle (Ben Khaled 2003). La réduction de la croissance de partie aérienne est attribuée à plusieurs causes parmi lesquelles l'accumulation de l'ion  $\text{Na}^+$  dans les tissus foliaires qui est la cause primaire des dommages ioniques au niveau des tissus de la plante et inhibe l'absorption des éléments nutritifs essentiels comme le P et K ; réduction de l'absorption des ions ( $\text{NO}_3^-$ ) (Moly et al 2014). La réduction de la croissance peut être aussi liée à des perturbations des taux des régulateurs de croissance (acide abscissique et cytokinines) induites par le sel (Zouaoui et al 2018)

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 elles peuvent manifester des formes adaptatives telles que le faible allongement des organes et de leur ramification. Le raccourcissement des tiges et la diminution de la surface foliaire (Ibn

Maaouia-Houimli et al 2011) ont indiqué que les plantes de piment répondent aux différentes concentrations de NaCl par une réduction de la hauteur de la partie aérienne d'autant plus importante que la concentration en sel est élevée.

Selon les résultats, le stress salin entraîne un retard dans la croissance végétale. Il se traduit par une diminution de la surface foliaire accompagnée des symptômes de stress tels que la chlorose et la nécrose foliaires, allant jusqu'à la mort des feuilles (Ibn Maaouia-Houimli et al 2011). Cependant la longueur des racines augmenté en présence de salinité alors quel'ajout de l'acide salicylique induit une diminution de ces organes.

Le volume de la partie aérienne et souterrain est diminué en fonction de stress salin cette réduction du volume reflète l'inhibition de la croissance due au manque d'eau et une faible ramification du système racinaire. La résistance du système racinaire du haricot au stress salin peut être due à une diminution de l'allocation du carbone pour la croissance foliaire au profit de la croissance racinaire (Zouaoui et al 2018).

Nous avons remarqué que les plantes stressées avec 200 mM NaCl présente un faible poids frais par rapport aux autres traitements (100 mM NaCl).La diminution du poids frais et sec de la partie aérienne lors de l'application du stress salin seul et associé avec l'AS n'est pas semblable aux travaux de Khan et al (2003) ayant indiqué que l'application de l'acide salicylique a accéléré la production de masse sèche du maïs et de soja.

L'analyse de la teneur relative en eau, permet de décrire d'une manière globale le statut hydrique de la plante et d'évaluer l'aptitude à réaliser une bonne osmorégulation et de maintenir une turgescence cellulaire (El djaafari et al 2000). La salinité induit une diminution significative de la teneur relative en eau, plus le stress salin augmente en concentration, plus la TRE diminue. Malick et al (2012) montrent que la présence du sel même à faible dose induisait une diminution de la TRE chez le coton et le haricot. La teneur relative en eau augmente sous les conditions de stress salin lorsqu'on ajoute l'acide salicylique. Ce résultat est compatible à celui de El-Tayeb (2005), qui a trouvé que la TRE de plante de fraises traitées avec l'AS augmenté par rapport aux autres traités avec le stress salin, y compris l'orge.

De même, la salinité entraîne une diminution de la teneur en chlorophylles a, b et les caroténoïdes chez les plantes traitées par la 100 mM et 200 mM par rapport au témoin. La teneur en chlorophylle est liée à la concentration du sel dans le milieu de culture où elle diminue en présence d'une forte concentration de NaCl et s'améliore par l'addition de l'acide salicylique (Sebane 2015). Ces résultats sont en accord avec ceux

de Khan et al, (2003) qui ont trouvé que le taux de photosynthèse pouvait également être augmenté par l'application de l'acide salicylique. La réduction de la chlorophylle «a» est peut-être liée à la sensibilité d'une des étapes de sa biosynthèse au chlorure de sodium ; dont il affecte moins la voie de biosynthèse de la chlorophylle b selon Tewari et Singh (1991). Levingner et al (1995) rapportent que l'effet néfaste de la salinité sur les teneurs en pigments chlorophylliens est partiellement à l'origine de la diminution de synthèse des hydrates de carbone. L'acide salicylique semble jouer un rôle important dans l'accumulation de la chlorophylle.

Les sucres solubles sont considérés comme bioindicateurs du degré de tolérance à la salinité chez plusieurs espèces (Rathert 1984). En effet, ils jouent un rôle essentiel dans la protection des membranes contre la déshydratation (Schwab et Gaff 1986).

Les résultats obtenus à l'issue de ce travail montrent une augmentation des sucres solubles chez les plantes de fève stressées comparées aux plantes témoins. De nombreuses études ont trouvé que le stress salin provoque une augmentation de la teneur en sucres solubles chez la plupart des plantes soumises à un stress salin tel que le blé tendre (Datta et al 2009), l'orge (Hassani et al 2008), la tomate pour Geingenberger et al (1997). Ils attribuent l'augmentation des sucres solubles à une dégradation des réserves amylacées suite à leur conversion rapide en saccharose, qui pourrait être attribué à une inhibition de la synthèse de l'amidon. Par contre, Meloni et al (2001) démontrent que l'ajustement osmotique serait accompli par l'accumulation des corps dissous organiques (sucres).

Les plantes soumises aux contraintes engendrées par la salinité réagissent à cette agression par une modification de leur teneur en certains composés organiques. Ces réactions d'adaptation sont destinées à rétablir l'équilibre hydrique dans la plante. Ces composés sont alors produits en quantité inhabituelle en s'accumulant dans les cellules comme la proline.

Les résultats montrent une corrélation significative positive entre la teneur en proline et le stress appliqué d'une manière croissante ce qui est confirmé par Zhu (2002). La proline est un acide aminé libre considéré comme biomarqueur de stress. En effet, l'accumulation de la proline dans le système racinaire et foliaire des plantes est parmi les manifestations les plus remarquables induites par le stress salin et hydrique (Hanson et al 1977).

Plusieurs études ont montré que la salinité provoque l'accumulation de proline dans les nodules et améliorerait la croissance et la fixation symbiotique d'azote. La proline agit

comme un osmoticum dont l'accumulation cytoplasmique, permet de neutraliser les effets ioniques et osmotiques de l'accumulation du sel dans la vacuole. Cet acide aminé joue un rôle également dans le maintien des pressions cytosol-vacuole et de régulation du PH ainsi que la stabilité des membranes (Farissi et al 2014).

Sous les différents traitements salins, la teneur en proline accumulée est très élevée par rapport aux plantes témoins. L'addition de l'acide salicylique dans le milieu a un effet significatif sur la synthèse de la proline dans les racines de la fève.

La teneur en protéine diminue suite à l'augmentation de la concentration salin. La diminution des teneurs en protéines solubles dans les différents organes sous contrainte saline est dû probablement à une dégradation de ces composés pour fournir des acides aminés qui jouent un rôle important dans l'ajustement osmotique (Mohammad Khani et Heidari 2007).

La salinité peut imposer des effets spécifiques ioniques sur les plantes parce que les fortes concentrations d'ions ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ) accumulés dans les cellules, agissent en désactivant des enzymes, en inhibant la synthèse des protéines ou en favorisant le défilage menant à la dénaturation des protéines, ainsi le contenu des protéines solubles des feuilles diminue en réponse à la salinité (Parida et al 2002 ; Rasanen 2002).

Concernant les nodules bactériens, les résultats obtenus indiquent que les plantes de fève soumises au stress salin seul ou combiné avec l'acide salicylique produit un nombre réduit de nodules par plante. Cela est dû probablement à l'effet de la salinité sur les bactéries symbiotiques du sol. En effet, la salinité diminue la survie des rhizobiums, inhibe l'expansion et la courbure des poils absorbants (Ben Khaled 2003). D'autres études ont révélé des effets nocifs de l'AS sur les rhizobiums. Il a été observé que l'application exogène de l'AS inhibait la croissance et l'expression des gènes de nodulation chez les rhizobiums (Mabood et Smith 2007).

L'inoculation des plantes de fève par les rhizobiums quia un rôle dans l'amélioration de l'alimentation minérale de la plante et la phyto-stimulation (Moly et al 2014).

Dans les zones arides et semi-arides, la salinité constitue l'une des contraintes environnementales les plus dévastatrices qui affectent négativement la croissance et la productivité des plantes.

La plupart des plantes, en particulier les plantes de grandes cultures, sont sensibles à la présence de sel dans le sol comme la fève *Vicia faba* L. Pour faire face à ce stress, les plantes synthétisent des molécules de signalisation comme l'acide salicylique.

Au terme de ce travail, la réponse de la fève soumise à différentes concentrations salines (100 et 200 mM NaCl) a été étudiée dans le but de déterminer l'effet du stress salin seul et/ou associé avec l'apport de l'acide salicylique sur les paramètres hydriques, physiologiques et biochimiques.

Il ressort que le stress salin exerce un effet négatif sur l'ensemble des paramètres étudiés. Néanmoins, l'acide salicylique atténue les effets néfastes de la salinité et favorise le développement des plantes.

Le stress salin provoque des perturbations hydriques, physiologiques et biochimiques sur la fève et induit l'augmentation de la teneur en proline et des sucres solubles et la diminution de la teneur relative en eau, des teneurs en chlorophylles, la longueur et le volume de la partie aérienne et souterraine, la biomasse fraîche et sèche et le nombre de nodules.

L'inoculation bactérienne a un effet positif sur l'ensemble des paramètres étudiés ; en améliorant la réponse des plantes à la salinité.

On conclure que la salinité a des effets dépressifs sur la croissance des plantes et la survie des plants alors que l'addition de l'acide salicylique neutralise ses effets. Il est à noter que l'acide salicylique a un effet négatif sur les nodules en inhibant leur croissance et en retardant leur formation.

1. **Affiana T., Alexander D. 1992.** Difference among rhizobia intolerance to high temperature and dessication in soil. *Appl. Environ. Microbiol.* 43: 435-439.
2. **Arfan M., Athar HR., Ashraf M. 2006.** Does exogenous application of salicylic acid through the rooting medium modulate growth and photosynthetic capacity in two differently adapted spring wheat cultivars under salt stress? *J. Plant Physiol.* 164(6): 685-694.
3. **Arous A. 2009.** Métabolisme des protéines et des glucides chez quelques variétés d'haricot (*Phaseolus vulgaris* L.) sous stress salin au stade de germination. Mémoire de magister. Université d'Oran, Algérie.
4. **Azani N., Babineau M., Bailey CD., Banks H., Barbosa A., Pinto RB., ... Bruneau A. 2017.** A new subfamily classification of the Leguminosae based on a taxonomically comprehensive phylogeny. In *The Legume Phylogeny Working Group (LPWG)*. 66(1) : 44-77.
5. **Baba Sidi-Kaci S. 2010.** Effet du stress salin sur quelques paramètres phénologiques (biométrie, anatomie) et nutritionnels de l'Atriplex en vue d'une valorisation agronomique. Mémoire de magister. Université Kasdi Merbah, Ouargla, Algérie.
6. **Bala A., Murphy PJ et Giller KE. 2004.** Classification of tropical tree rhizobia based on phenotypic characters forms nested clusters of phylogenetic groups. *West African J. Appl. Ecol.* 6 : 9-19.
7. **Belkodja M. 1996.** Action de la salinité sur le comportement physiologique, métabolique, minéral et recherche de marqueurs moléculaires chez la fève (*Vicia faba* L.). Thèse de doctorat d'état sciences biologiques, Université d'Oran, Algérie.
8. **Ben Khaled L., Gómez A., Honrubia M., Oihabi A. 2003.** Effet du stress salin en milieu hydroponique sur le trèfle inoculé par le Rhizobium. *Agronomie, EDP Sciences.* 23(7) : 553-560.
9. **Benachour K., Louadi K., Terzo M. 2007.** Rôle des abeilles sauvages et domestiques (*Hymenoptera apoidea*) dans la pollinisation de la fève (*Vicia faba* L.). *J.P. Plant physiol.* 152:213-219.
10. **Benhamou N., Bélanger RR. 1998.** Induction of systemic resistance to Pythium damping-off in cucumber plants by benzothiadiazole: Ultrastructure and cytochemistry of the host response. *Plant J.* 14: 13-21.

11. **Bennaceur M., Rahmoun C., Sdiri H. 2001.** Effet du stress salin sur la germination, la croissance et la production en grain de quelque variété magrébine de blé. Science et chargement planétaire/secteur. 12 : 167-174.
12. **Bouزيد S. 2010.** Etude de l'effet de la salinité et de la présence du molybdène sur le comportement écophysologique de deux variétés de plantes de l'espèce *Phaseolus vulgaris*. Thèse magister. Université des frères Mentouri, Constantine, Algérie.
13. **Boyardieu J. 1991.** Produire des grains oléagineux et protéagineux. Lavoisier Tec&Doc, Paris, France.
14. **Bradford MM. 1976.** A rapid and sensitive method for the quantization of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Anal. Biochem.* 72 : 248-254.
15. **Brewin NJ. 2004.** Plant cell wall remodelling in the Rhizobium-legume symbiosis, *Critical Reviews. Plant Sciences.* 23: 293- 316.
16. **Broughton WJ., Jabbouri S et Perret X. 2000.** Keys to Symbiotic Harmony. *J. Bacteriol.* 182(20) : 5641-5652.
17. **Chaux CL., Foury CL. 1994.** Production légumières secs. Légumineuse potagères légumes et fruits. Tome 3. Technique et documentation Lavoisier.
18. **Chen WM., Moulin L., Bontemps C., Vandamme P., Bena G. et Boivin Masson C. 2003.** Legume Symbiotic Nitrogen Fixation by  $\alpha$ -Proteobacteria Is Widespread in Nature. *Journal of Bacteriology.* 185(24) : 7266-7272.
19. **Dart PJ., Huxley PA., Eaglesham ARJ., Minchin FR., Summerfield RJ., Day JM. 1977.** Nitrogen nutrition of cowpea (*Vigna unguiculatal*). II. Effects of shortterm applications of inorganic nitrogen on growth and yield of nodulated and non nodulated plants. *Expl. Agric.* 13 : 241-252.
20. **Datta J., Nag S., Banerjee A., Mondal N. 2009.** Impact of salt stress on five varieties of wheat (*Triticum durum*) cultivars under laboratory condition. *Journal of Applied Sciences & Environmental Management.* 13 (3) : 93-97.
21. **Debelle F., Moulin L., Mangin B., Denarie J., Boivin C. 2001.** Nod Genes and Nod signals and the evolution of the rhizobium legume symbiosis. *Acta Biochimia Polonia Minireview.* 48 (2) : 359-365.

22. **Dempsey DMA., Shah J., Klessig DF. 1999.** Salicylic acid and disease resistance in plantas. *Critical Reviews in Plant Sciences*. 18: 547-575.
23. **Denden M., Bettaieb T., Salhi A., Mathlouthi M. 2005.** Effet de la salinité sur la fluorescence chlorophyllienne, la teneur en proline et la production florale de trois espèces ornementales. *Tropicultura*. 23(4): 220-225.
24. **Doyle JJ. Luckow MA. 2003.** The rest of the iceberg. Legume diversity and evolution in a phylogenetic context. *Plant Physiology*. 131 :900-910.
25. **Driouich A., Ouhssine M., Ouassou A. Bengueddour R. 2001.** Effet du NaCl sur l'activité du phosphoénol pyruvate carboxylase (PEPC) foliaire et son rôle sur la synthèse du malate et de la proline chez le blé dur (*Triticum durum* Desf). *Science Letters*. 3(3) : 1-7.
26. **Dubois M., Gilles KA., Hamilton JK., Resers, Smith F. 1956.** Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*. 28(3): 350-356.
27. **Duc G. 1997.** Faba bean (*Vicia faba* L.). *Field Crops Res*. 53 : 99-109.
28. **Dupuy Y., Nougier P. 2005.** Les microorganismes. Du gène à la biosphère. Edition Ellipses. Paris.
29. **El Djaafari S. 2000.** Durum wheat bending for abiotic stresses résistance defining physiological traits and criteria. *Option mediterranean*. 40 : 251-256.
30. **El Madidi S., El Baroudi B., Bani Aameur F. 2003.** Variation de la tolérance à la salinité chez l'orge pendant la germination et la croissance des plantes. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*. 23(2) : 2.
31. **El Tayeb MA. 2005.** Response of barley grains to the interactive effect of salinity and salicylic acid. *Plant Growth Regul*. 45: 215-224.
32. **Elkan GH. 1992.** Taxonomy of the rhizobia. *Canadian journal of microbiology* 38: 446-450.
33. **Faghire M., Bargaz A., Farissi M., Palma F., Mandri B., Lluch C. 2011.** Effect of salinity on nodulation, nitrogen fixation and growth of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) inoculated with rhizobial strains isolated from the Haouz region of Morocco. *Symbiosis* 55(2): 69-75.



34. **Farissi M., Ghoulam C., Bouizgaren A. 2013.** Changes in water deficit saturation and photosynthetic pigments of Alfalfa populations under salinity and assessment of proline role in salt tolerance. *Agricultural Science Research Journals*. 3 : 29-35.
35. **Farissi M., Aziz F., Bouizgaren A., Ghoulam C. 2014.** La symbiose légumineuses-rhizobia sous conditions de salinité : Aspect Agro-physiologique et biochimique de la tolérance (Legume-rhizobiasymbiosis under saline conditions: Agro-physiological and biochemical aspects of tolerance). *Journal of innovation and Scientific Research*. 11 : 96-104.
36. **Frank B. 1889.** Über die pilzsymbiose der leguminosen. *Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft*. 7 : 332-346.
37. **Geetanjali M., Neera G. 2008.** Salinity and its effects on the functional biology of legumes. *Acta Physiol Plant*. 30: 595-618.
38. **Geigenberger P., Reimholz R., Geiger M., Merlo L., Canale V. et Stitt M. 1997.** Regulation of potato tubers un response to short term water deficit planta. 201(4): 502-518.
39. **Geurts R., Bisseling T. 2002.** Rhizobium Nod factor perception and signaling. *Plant Cell*. 14 : 239-249.
40. **Geurts R., Fedorova E., Bisseling T. 2005.** Nod factor signaling genes and their function in the early stages of Rhizobium infection. *Curr. Opin. Plant. Biol.* 8: 346-352.
41. **Girard C. 1990.** La féverole, encyclopédique techniques agricoles, partie production végétale.
42. **Gunes A., Inal A., Alpaslan M. 2005.** Salicylic acid induced changes on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress and mineral nutrition in maize (*Zea mays* L.). *Archives Agronomy and soil Science*. 51(6):687-695.
43. **Gyaneshwar P., Hirsch AM., Moulin L., Chen WM., Elliott GN., Bontemps, C.... James EK. 2011.** Legume-Nodulating Betaproteobacteria: Diversity, Host Range, and Future Prospects. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 24(11): 1276-1288.
44. **Hanson WC., Sanatani SS., Zuccaro DR. 1977.** The martian ionospheren as observed by the Viking retarding potential analyzers. *J. Geophys. Res.* 82 : 4351.

- 
45. **Hayat S., Ali B., Ahmad A. 2007.** Salicylic acid: biosynthesis, metabolism physiological role in plants. Hayat A. Ahmad (eds.), Salicylic Acid - A Plant Hormone.
46. **Hennig J., Malamy J., Gryniewicz G., Lndulski J., Kiessig DF. 1993.** Interconversion of the salicylic acid signal and its glucoside in tobacco." Plant 4(4) : 593-600.
47. **Hopkins WG. 2003.** Physiologie végétale, traduction de la 2<sup>ème</sup> édition américaine par SERGE R.ED.De Boeck.
48. **Ibn Maaouia S., Houimli L., Denden M., Dridi-MouhandesB., BenmansourGueddes S.2011.** Caractéristiques de la croissance et de la production en fruits chez trois variétés de piment (*Capsicum annum* L.) Sous stress salin.Tropicultura. 29(2) : 75-81.
49. **Jordan DC. 1984.** Subcommittee on the taxonomy of agrobacterium andrhizobium. Int. J. Sys. Bacteriol.International committee on Systematic Bacteriology. 34 : 248.
50. **Khan W., Prithiviraj B., Smith D. 2003.** Réponse photosynthétique de maïs et de soja à l'application foliaire de salicylates. Plant J. Physiol, 160 : 485-492.
51. **Khodary SEA. 2004.** Effet de la SA sur la croissance, la photosynthèse et le métabolisme des glucides dans le sel souligné plants de maïs. Int. Journal Agri. Biol.6 : 5-8.
52. **Klessig DF., Durner J., Noad R., Navarre DA., Wendehenne D., Kumar D., Zhou JM., Shah J., Zhang S., Kachroo P., Trifa Y, Pontier D., Lam E., Silva H. 2000.** Nitric oxide and salicylic acid signaling in plant defense. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 97 : 8849- 8855.
53. **Korkmaz A., Zuzunlu, M., Demirkiran AR. 2007.** Treatment with acetyl salicylic acid protects muskmelon seedlings against drought stress. Acta physiol plant. 29: 503-508.
54. **Kunkel BN., BrooksDM. 2002.** Cross talk between signaling pathways in pathogen defense. Curr. Opin. Plant Biol. 5: 325-331.
55. **Lebbida F. 2009.** Caractérisation des rhizobia de quelques acacias d'Algérie en vue de la production d'inoculum pour la bactérisation des acacias en pépinières. Mémoire de Magister. INA. Alger.

- 56. Levigneron A., Lopez F., Varisuyt G., Berthomien P., Cassedelbar T. 1995.** Les plantes face au stress salin. Cahier d'agriculture. 4 : 263-273.
- 57. Levitt J. 1980.** Responses of plant to Environmental Stress chilling F. reesingans High Temperature. Ed. Academic Presse, New-York.
- 58. Lewis G., Schrire B., Mackinder B., Lock, M. 2005.** Legumes of the world. Edinburgh Journal of Botany. 62 (3) : 195-199.
- 59. Long SR. 1996.** Rhizobium Symbiosis: Nod Factors in Perspective. Plant Cell. 8(10): 1885-1898.
- 60. MaboodF., Smith Donald L. 2007.** The role of salicylates in rhizobium-legume symbiosis and abiotic stresses in higher plants. from book salicylic acid: a plant hormone. pp 151-162, Doi: <http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v8i1.5>.
- 61. Malick El Hadji Leye, Diouf Macoumba, Fatimata Ndiaye, Diallo Bassirou, Diagne HalimaMaiguizo, Tahir D. 2012.** Effet de la mycorhization et de la salinité sur la croissance, les réponses biochimiques et la productivité de *Jatropha curcas* L., cultivée sous serre. Int. J. Biol. Chem. Sci. 6(4) : 1741- 1760.
- 62. Mamadou Ousseynou LY., Dinesh Kumar., Mayecor Diouf SubhashNautiyal, Tahir Diop. 2014.** Effet de la salinité sur la croissance et laproduction de biomasse de deux provenances de *Jatropha curcas* L. cultivés en serre. Int. J. Biol. Chem. Sci. 8(1) : 46-56.
- 63. Marouf A., Reynaud J.2007.** La botanique de A à Z : 1662 définitions, Paris, Dunod.
- 64. Meloni DA., Oliva MA., Ruiz HA.,Martinez C.A. 2001:** Contribution of proline and inorganic solutes to osmotic adjustment in cotton under salt stress. J. Plant Nutr. 24 : 599-612.
- 65. Mergaert P., Toshiki U., Benoît Alunni., GwénaëlleEvanno., AngéliqueCheron., Olivier Catrice., Anne-Elisabeth Mausset., FrédériqueBarloy-Hubler., Francis Galibert., Adam Kondorosi, Eva Kondorosi. 2006.** Eukaryotic control on bacterial cell cycle and differentiation in the Rhizobium–legume symbiosis. Proceedings of the National Academy of Sciences. 103(13): 5230-5235
- 66. Mohammadkhani N., Heidari R. 2007.** Effect of drought stress on soluble proteins in two Maize varieties. Turk journal of biology. 32 : 32-30.

- 67. Morris KSA., Mackerness HT et Pageet AL. 2000.** Salicylic acid has a role in regulating gene expressive during leaf senescence. *Plant J.* 23 : 677-685.
- 68. Moschetii G., Peluso AL., Protopapa A., Anastasio M., Pepe O., Defez R. 2005.** Use of nodulation pattern, stress tolerance, nodC gene amplification, RAPD-PCR and RFLP-16S rDNA analysis to discriminate genotypes of *Rhizobium leguminosarium* biovar viciae. *Systematic and applied Microbiology.*28 : 619-631.
- 69. Munns R., James RA., LauchliR. 2006.** Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals.*Journal of Experimental Botany.* 57(5): 10251043.
- 70. Nuessly GS., Hentz MG., Beiriger R., Scully BT. 2004.**Insects associated with Faba bean, *Vicia faba* (fabales, fabaceae). *Southern Florida entomologist.* 87(2) : 204-211.
- 71. Ozenda P. 1991.** Flore et végétation du Sahara, 3ème édition CNRS, Paris.
- 72. Parida A., Das AB., Das P. 2002.**NaCl stress causes changes in photosynthetic pigments, proteins and other metabolic components in the leaves of a true mangrove, *Bruguiera arvi* flora. *Hydroponic cultures.*J. Plant Biol. 45: 28- 36.
- 73. Patriarca EJ., Tate R., Ferraioli S., Iaccarino M. 2004.** Organogenesis of legume root nodules.*Int RevCytol.*234: 201-62.
- 74. Pieterse CMJ. et Van loon LC. 1999.** Salicylic acid-independent plant defense pathways. *Trends Plant Sci.* 4 : 52-58.
- 75. Pugnaire FI et Valladares F. 2007.** *Functional Plant Ecology.* 2nd Edition. Edited by CRC Press, Taylor and Francis Group.
- 76. Rasanen L. 2002.** Biotic and abiotic factors influencing the development of N<sub>2</sub>fixing symbioses between rhizobia and the woody legumes *Acacia* and *Prosopis*.Thèse de doctorat. Université de Hilsinki, Finland.
- 77. Raskin LA. 1992.** Role of salicylic acid in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology.* 43 : 439-463.
- 78. Raskin LA., Ehrmann W., Melander R. et Meeuse BJD. 1987.**Salicylic acid: A natural inducer of heat production in *Arum* lilies.*Sciences.* 237 (4822) : 16011602.
- 79. Rathert G. 1984.** Sucrose and starch content of plant parts as possible indicators for salt tolerance. *Aust. J. Plant Physiol.* 5 : 491-495.

- 
- 80. Romero-Aranda M., Remedios, Soria T et Cuartero J. 2001.** Tomato plant water uptake and plant-water relationships under saline growth conditions. *Plant sciences*. 160(2): 265-272
- 81. Sakhabutdinova AR., Fatkhutdinova DR., Bezrukova MV et Shakirova FM. 2003.** Salicylic acid prevents the damaging action of stress factors on wheat plants. *Bulg. J. Plant physiol. Special Issue* : 314-319.
- 82. Schwab KB., Gaff DF. 1986.** Sugar and ion content in leaf tissue of several droughts' tolerant plants under water stress. *J. Plant Physiol.* 125 : 257-265.
- 83. Sebane RF. 2015.** Action combinée de la salinité et de l'acide salicylique sur les réponses biochimiques de deux espèces : *Atriplex halimus* L. et *Atriplex canescens* (Purch) Nutt.
- 84. Shah J. 2003.** The salicylic acid loop in plant defense, *Curr Opin Plant Biol.* 6: 325-371.
- 85. Shakirova FM., Sakhabutdinova AR., Bezrukova MV., Fatkhutdinova RA., Fatkhutdinova DR. 2003.** Changes in the hormonal status of wheat seedlings induced by salicylic acid and salinity. *Plant Science*. 164(3) : 317-322.
- 86. Shilpi M. et Narendra T. 2005.** Cold, salinity and drought stresses: an overview. *Arch Biochem Biophys.* 444(2): 139-58.
- 87. Somasegaran P., Hoben HJ. 1994.** Handbook for Rhizobia. Springer-Verlag, New York.
- 88. Sprent JI. 1995.** Legume trees and shrubs in the tropics: N<sub>2</sub> fixation in perspective. *Soil Biol. Biochem.* 27: 401-407.
- 89. Szalai G. et Janda T. 2009.** Effet du stress salin sur la synthèse de l'acide salicylique dans les jeunes plants de maïs (*Zeamays* L.). *Journal Agron. Crop. Sci.* 195 : 165-171.
- 90. Tafforeau M. 2002.** Etude des phases précoces de la transduction des signaux environnementaux chez le lin : une approche protéomique. Thèse de doctorat en Biochimie végétale. Université de Rouen, France.
- 91. Terefework Z. 2002.** Diversity and phylogeny of *Rhizobium galegae*, and reflections on molecular evolution of rhizobium-legume symbiosis. In microbiology. Academic dissertation ed, University of Helsinki.
- 92. Tewari TN., Singh BB. 1991.** Stress studies in lentil (*Lens esculenta* M.) II.

- Sodicity induced changes in chlorophyll, nitrate and reductase, nucleic acid. Proline, yield and yield components in lentil. *Plant Soil*. 136 : 225-230.
- 93. Turan M., Sezen S. 2007.** Effect of salt stress on plant nutrition uptake. University of Ataturk, Faculty of Agriculture, Turkey.
- 94. Wang J., Zuo K., Wu W., Song J., Sun X., Lin J., Li X., Tang K. 2003.** Molecular cloning and characterization of a new Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> antiporter gene from *Brassica napus*. *DNA Seq.* 14 :351.
- 95. Werner D. 1992.** Symbioses of plants and microbes. Philipps-University Marburg Germany. Edition Chapman & Hall.
- 96. Zhu J. 2002.** Salt and drought stress signal transduction in plant. *Annu. Rev. Plant physiol. Plant Mol. Biol.* 53: 247-273.
- 97. Zouaoui A., Moula E., Snoussi SA. 2018.** Etude de l'effet de la salinité et de l'inoculation de *Bradyrhizobium* sp. (Lotus) sur le comportement morphophysiological du haricot (*Phaseolus vulgaris*. L). *Revue Agrobiologia.* 8(1) : 802-808.