

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
REPUBLICUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITE IBN KHALDOUN, TIARET  
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE  
DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE



## THÈSE

Présentée pour l'obtention du Diplôme  
de

### DOCTORAT EN SCIENCES

Spécialité

Sciences de la Nature et de la Vie

par

**M. Kada SOUANA**

Intitulée

# Etude de l'interaction « acide salicylique-salinité » sur la réponse physiologique et moléculaire de la fève (*Vicia faba* L.)

Soutenu publiquement le :

Devant les membres de jury :

Président	Ahmed ADDA	Prof.	Université Ibn Khaldoun, Tiaret.
Examineur	Lakhdhar BELABID	Prof.	Université de Mascara.
Examineur	Ali MILOUDI	Prof.	Université de Mascara.
Examineur	Ahmed HADDAD	Prof.	Université d'El-Bayadh.
Directeur	Khaled TAÏBI	MCA	Université Ibn Khaldoun, Tiaret.
Co-directeur	Mokhtar AMIRAT	MCA	Université Ibn Khaldoun, Tiaret.

Année universitaire 2020-2021

## ملخص

إن إختيار وتحسين المحاصيل المعرضة للملوحة يشكل حاجة ملحة لزيادة الإنتاج الزراعي والغذائي من أجل توفير الغذاء لسكان الأرض الذين لا يزال عددهم في تزايد مستمر. في هذا الإطار قمنا بهذه الدراسة التي تهدف إلى تقييم دور حمض الساليسيليك في التخفيف من الآثار المترتبة عن الملوحة على نبات الفول (*Vicia faba L.*) وذلك على المستويين الفسيولوجي والجزئي. لهذا الغرض، تم تعريض نمطين وراثيين من نبات الفول لتركيزات مختلفة من كلوريد الصوديوم وحمض الساليسيليك. بعد ذلك، تم تقييم النمو، الحالة المائية، المبادلات الغازية، معاملات التمثيل الضوئي، التوازن الأيوني، التعديل التناضحي وأنشطة الأنزيمات المضادة للأكسدة.

أظهرت النتائج المتحصل عليها أن الملوحة قد تسببت في العديد من الأضرار فيما يخص نمو النباتات ونشاطه الفسيولوجي. إستجابة لذلك، قامت نباتات الفول المجهدة بالملح بتحسين حالتها المائية وتعزيز أنشطة الإنزيمات المضادة للأكسدة. و قد تم تحسين قدرة كلا النمطين الوراثيين لتحمل الملح بشكل ملحوظ بعد إضافة حمض الساليسيليك الذي سمح بالحفاظ على فعالية غشاء الخلية وعملية التمثيل الضوئي، و استعادة التوازن الأيوني وتقليل الأضرار التأكسدية. بشكل عام، وفيما يخص الاختلاف المسجل بين الأنماط الجينية، فإنه يعتبر اختلافًا كمياً وليس نوعياً حتى و إن كان النمط الوراثي Agudulce قد أظهر نموًا أفضل وإستجابة فسيولوجية وجزئية أحسن تحت ضغط الملح مقارنة بالنمط الوراثي Histal. إلى جانب ذلك، تختلف التأثيرات المفيدة لحمض الساليسيليك وفقاً لتركيزه وتركيز الملح في الوسط، إضافة إلى النمط الوراثي الذي تم إختباره وكذا المعامل المدروس؛ و قد تبين أن النمط الوراثي Agudulce ينمو بشكل أفضل تحت تأثير 0.5 ملي مولار حمض الساليسيليك بينما ينمو النمط الوراثي Histal بشكل أفضل تحت تأثير 1 ملي مولار.

في الأخير، يمكن إعتبار حمض الساليسيليك كمنظم نمو محتمل لتحسين إستجابة نبات الفول للملح. سيوفر إستخدام حمض الساليسيليك أساساً عملياً لزراعة الفول على نطاق واسع في الأراضي المالحة، وقد يقترح حلاً بديلاً بيئياً وإقتصادياً فعالاً للتعامل مع التربة المتأثرة بالملوحة بشكل رئيسي في المناطق الجافة.

## الكلمات المفتاحية

ملوحة التربة، حمض الساليسيليك، *Vicia faba L.* ، الحالة المائية، المبادلات الغازية، التمثيل الضوئي، التوازن الأيوني، الضبط التناضحي، الإنزيمات المضادة للأكسدة.

## Résumé

La sélection et l'amélioration des cultures soumises à la salinité constituent un besoin urgent pour augmenter la production agricole et alimentaire afin de nourrir la population humaine croissante. Le but de la présente étude est d'évaluer le rôle de l'apport exogène de l'acide salicylique (AS) dans l'atténuation des effets néfastes de la salinité sur la fève (*Vicia faba* L.) à l'échelle physiologique et moléculaire. De ce fait, deux génotypes de la fève ont été soumis à différentes concentrations de NaCl et de l'acide salicylique dans un dispositif factoriel complet. Après cela, la croissance, l'état hydrique, les échanges gazeux, la photosynthèse, l'homéostasie ionique, l'ajustement osmotique et l'activité des enzymes antioxydantes ont été évalués.

Les résultats obtenus révèlent que la salinité induit plusieurs limitations de la croissance des plantes et des attributs physiologiques. En réponse, les plants de la fève stressés à la salinité ont amélioré leur état hydrique et leurs activités enzymatiques antioxydantes. Il est à noter que la tolérance des deux génotypes au NaCl a été considérablement améliorée par l'apport exogène de l'acide salicylique qui a permis le maintien de l'intégrité de la membrane cellulaire et du processus photosynthétique, la restauration de l'homéostasie ionique et la diminution des dommages oxydatifs. Dans l'ensemble, la différence entre les génotypes est plutôt quantitative que qualitative même si le génotype Aguadulce a montré une croissance optimale et une meilleure réponse physiologique et moléculaire sous stress salin en comparaison au génotype Histal. Toutefois, les effets bénéfiques de l'acide salicylique varient en fonction de sa concentration, de la concentration saline, du génotype testé et du paramètre étudié ; le génotype Aguadulce se comporte mieux sous le traitement à 0,5 mM AS tandis que le génotype Histal manifeste un comportement meilleur sous le traitement 1 mM AS.

Par conséquent, l'acide salicylique peut être considéré comme étant un régulateur de croissance potentiel pour améliorer la réponse de la fève à la salinité. L'application de l'acide salicylique fournirait une base pratique pour une large culture de la fève dans les terres marginales et pourrait proposer une solution alternative écologique et économique efficace pour traiter les sols affectés par les sels principalement dans les régions arides.

## Mots clés

Tolérance à la salinité, acide salicylique, *Vicia faba* L., état hydrique, échanges gazeux, photosynthèse, homéostasie ionique, ajustement osmotique, enzymes antioxydants.

## **Abstract**

Selection and improvement of crops subjected to salinity constitute an urgent need for increasing agricultural and food production in order to feed the growing human population. The aim of the present study is to evaluate the role of salicylic acid (SA) application in mitigating the adverse effects of salinity on faba bean (*Vicia faba* L.) at the physiological and molecular levels. For this purpose, two faba bean genotypes were subjected to various concentrations of NaCl and salicylic acid in a full factorial design. After that, growth, water status, gas exchanges, photosynthesis parameters, ions homeostasis, osmotic adjustment and antioxidant enzymes activities were evaluated.

The obtained results demonstrated that salinity induced several limitations in plants growth and physiological attributes. In response, salt stressed faba bean plants improved water status and enhanced antioxidant enzymatic activities. Remarkably, salt-tolerance of both genotypes was significantly improved by salicylic acid application which allowed the maintenance of cell membrane and photosynthetic process, restoring of ion homeostasis and the diminution of oxidative damages. Overall, the difference between genotypes is rather quantitative than qualitative even if the genotype Aguadulce displayed better growth, physiological and molecular response under salt stress than the genotype Hista. Besides, the beneficial effects of salicylic acid vary according to its concentration, the tested genotype and the studied parameter; the genotype Aguadulce performs better under the treatment with 0.5mM SA while the genotype Hista manifests greater behavior under the treatment with 1mM SA.

Therefore, salicylic acid can be considered as potential growth regulator to improve the salt response of faba bean. The application of salicylic acid would provide a practical basis for wide cultivation of faba bean in marginal and wastelands under-cultivated and might propose an effective ecological and economical alternative solution to deal with salt-affected soils mainly in arid regions.

## **Keywords**

Salt tolerance, salicylic acid, *Vicia faba* L., water status, gas exchanges, photosynthesis, ions homeostasis, osmotic adjustment, antioxidants enzymes

## Remerciements

Tout d'abord, je tiens à exprimer mes sincères sentiments de gratitude et reconnaissance à M. Taïbi Khaled, non seulement en qualité de Directeur de thèse mais, avant cela, en tant que cher ami, plutôt frère. Je le remercie grandement et vivement pour m'avoir tenu la main tout au long de la préparation de ce travail, ici en Algérie et à l'étranger. Il m'était très généreux, sacrifiant et disponible malgré ses occupations et son état de santé.

Mes vifs remerciements sont adressés également à M. Amirat Mokhtar pour avoir accepté de m'assister en tant que co-encadrant, en dépit de ses responsabilités qui auraient pu l'empêcher de le faire.

J'exprime mes remerciements les plus chaleureux et les plus fraternels à Messieurs les membres du jury pour avoir accepté de dépenser de leur temps précieux et m'honorer par la lecture et l'évaluation de la présente thèse. Grand merci à eux tous :

- Au Professeur Adda Ahmed de l'Université Ibn Khaldoun à Tiaret, en qualité de président de jury ;
- Au Professeur Belâbid Lakhdhar, Doyen de la Faculté SNV de l'Université « Mustapha Stambouli à Mascara », comme examinateur ;
- Au Professeur Haddad Ahmed du Centre Universitaire « Nour Bachir à El-Bayadh », en tant qu'examineur et
- Au Professeur Miloudi Ali de l'Université « Mustapha Stambouli à Mascara », en qualité d'examineur.

J'exprime ma profonde gratitude au personnel de l'Institut de Biologie Moléculaire et Cellulaire des Plantes (Valencia, Espagne) pour avoir mis à ma disposition tout ce dont j'avais besoin afin de réaliser mon travail notamment aux membres du laboratoire de protéomique et le personnel du phytotron.

Je présente un témoignage de reconnaissance à mon très cher ami et frère, Dr. Achir Mohamed (Hbib), qui m'était toujours en aide et qui insistait incessamment à ce que je termine mon travail, il le faisait même aux temps difficiles par lesquels il est passé. Je ne lui oublierai jamais ces sentiments de fraternité.

Je suis également très reconnaissant envers des personnes que je chéris beaucoup et à qui je dois exprimer ma profonde gratitude pour leur soutien moral continu et leur sincère espoir que je mène bien, et sans tarder, mon présent travail. Mes vifs remerciements à eux tous : M. Benbiga Mostefa, M. Tadj Abdelkader, M. Benaïssa Toufik, M. Lagraâ Bouâmama, M. Boussaïd Mohamed, M. Benkhetou Abdelkader et Mme Aït Abderrahim Leïla.

Que l'ensemble des collègues représentant l'encadrement pédagogique et administratif de la Faculté SNV soit concerné par mes remerciements les plus respectueux.

## Liste des figures

<b>Figure 1.</b> Réponse de la croissance pendant les deux phases du stress salin (Rungrat et <i>al.</i> , 2016 ; Sahar, 2019) .....	8
<b>Figure 2.</b> Variation de la tolérance à la salinité selon l'espèce (Munns et Tester, 2008) ..	15
<b>Figure 3.</b> Effets délétères liés à la toxicité du stress salin et réponse cellulaire mise en place pour assurer la tolérance (Luu, 2020). .....	16
<b>Figure 4.</b> Stratégies impliquée dans l'homéostasie ionique mise en place par la plante dans les cellules racinaires afin de leur permettre de tolérer un stress salin (Luu, 2020). .....	18
<b>Figure 5.</b> Régulation d'homéostasie ionique par voie SOS «Salt Overly Sensitive» et NHX au niveau de la membrane plasmique et le tonoplaste vacuolaire (Fahmideh et Fooladvand, 2018).....	19
<b>Figure 6.</b> Cycle d'Asada (Beghin, 2019) .....	22
<b>Figure 7.</b> Voie de biosynthèse de l'acide salicylique (Chen et <i>al.</i> , 2009) .....	25
<b>Figure 8.</b> Cartographie des cibles des principales terminologies identifiées pour les produits de stimulation des plantes (Faessel et <i>al.</i> , 2014) .....	26
<b>Figure 9.</b> Effet de l'acide salicylique sur la variation du poids sec foliaire chez les plants de deux génotypes de <i>Vicia faba</i> L. (Aguadulce et Hystal) stressés à la salinité.....	39
<b>Figure 10.</b> Effet de l'acide salicylique sur la variation du poids sec racinaire chez les plants de deux génotypes de <i>Vicia faba</i> L. (Aguadulce et Hystal) stressés à la salinité.....	40
<b>Figure 11.</b> Effet de l'acide salicylique sur la variation du ratio poids sec foliaire/poids sec racinaire chez les plants de deux génotypes de <i>Vicia faba</i> L. (Aguadulce et Hystal) stressés à la salinité.....	41
<b>Figure 12.</b> Effet de l'acide salicylique sur la variation du potentiel hydrique foliaire chez les plants de deux génotypes de <i>Vicia faba</i> L. (Aguadulce et Hystal) stressés à la salinité.....	43
<b>Figure 13.</b> Effet de l'acide salicylique sur la variation de la teneur relative en eau (TRE) chez les plants de deux génotypes de <i>Vicia faba</i> L. (Aguadulce et Hystal) stressés à la salinité .....	44
<b>Figure 14.</b> Effet de l'acide salicylique sur la variation du taux de la photosynthèse nette chez les plants de deux génotypes de <i>Vicia faba</i> L. (Aguadulce et Hystal) stressés à la salinité.....	45

<b>Figure 15.</b> Effet de l'acide salicylique sur la variation de la conductance stomatique chez les plants de deux géotypes de <i>Vicia faba</i> L. (Aguadulce et Hстал) stressés à la salinité.....	46
<b>Figure 16.</b> Effet de l'acide salicylique sur la variation de la transpiration foliaire chez les plants de deux géotypes de <i>Vicia faba</i> L. (Aguadulce et Hстал) stressés à la salinité.....	47
<b>Figure 17.</b> Effet de l'acide salicylique sur la variation de la concentration intercellulaire en CO <sub>2</sub> chez les plants de deux géotypes de <i>Vicia faba</i> L. (Aguadulce et Hстал) stressés à la salinité.....	48
<b>Figure 18.</b> Effet de l'acide salicylique sur la variation de l'efficacité photochimique maximale du photosystème II chez les plants de deux géotypes de <i>Vicia faba</i> L. (Aguadulce et Hстал) stressés à la salinité.....	50
<b>Figure 19.</b> Effet de l'acide salicylique sur la variation de l'efficacité instantanée de l'utilisation de l'eau chez les plants de deux géotypes de <i>Vicia faba</i> L. (Aguadulce et Hстал) stressés à la salinité .....	51
<b>Figure 20.</b> Effet de l'acide salicylique sur la variation de la teneur en sodium chez les plants de deux géotypes de <i>Vicia faba</i> L. (Aguadulce et Hстал) stressés à la salinité.....	52
<b>Figure 21.</b> Effet de l'acide salicylique sur la variation de teneur en potassium chez les plants de deux géotypes de <i>Vicia faba</i> L. (Aguadulce et Hстал) stressés à la salinité.....	53
<b>Figure 22.</b> Effet de l'acide salicylique sur la variation du ratio K <sup>+</sup> /Na <sup>+</sup> chez les plants de deux géotypes de <i>Vicia faba</i> L. (Aguadulce et Hстал) stressés à la salinité..	54
<b>Figure 23.</b> Effet de l'acide salicylique sur la variation de la fuite d'électrolytes chez les plants de deux géotypes de <i>Vicia faba</i> L. (Aguadulce et Hстал) stressés à la salinité.....	55
<b>Figure 24.</b> Effet de l'acide salicylique sur la variation de l'activité enzymatique superoxyde dismutase chez les plants de deux géotypes de <i>Vicia faba</i> L. (Aguadulce et Hстал) stressés à la salinité .....	56
<b>Figure 26.</b> Effet de l'acide salicylique sur la variation de l'activité enzymatique catalase chez les plants de deux géotypes de <i>Vicia faba</i> L. (Aguadulce et Hстал) stressés à la salinité.....	57
<b>Figure 27.</b> Effet de l'acide salicylique sur la variation de l'activité enzymatique glutathion réductase chez les plants de deux géotypes de <i>Vicia faba</i> L. (Aguadulce et Hстал) stressés à la salinité .....	58

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1.</b> Classification de la salinité des sols (Maillard, 2001) .....	5
<b>Tableau 2.</b> Classification de la salinité de l'eau (Maillard, 2001). .....	5
<b>Tableau 3.</b> Tolérance au sel de certaines grandes cultures et espèces légumières (Harter and Motis, 2017). .....	6
<b>Tableau 4.</b> Tolérance relative au sel de certaines légumières (Harter and Motis, 2017). .....	7

## Signification des symboles et des abréviations

AAS	: Acétyle acide salicylique
ABA	: Acide abscissique
Ac	: Absorbance du contrôle
Ae	: Absorbance de l'extrait
AIA	: Auxine
AJ	: Acide jasmonique
APX	: Ascorbate peroxydase
AS	: Acide salicylique
ASS	: Acide sulfosalicylique
BR	: Brassinostéroïdes
C prot	: Concentration en protéine
CAT	: Catalase
CE	: Conductivité Electrique
CEC	: Capacité d'Echange Cationique
Ci	: Concentration intercellulaire en CO <sub>2</sub>
CK	: Cytokinines
cm	: Centimètre
dS	: déci-Siemens
E	: Transpiration foliaire
ERO	: Espèces Réactives d'Oxygène
ET	: Ethylène
F0	: Fluorescence initiale de la chlorophylle
FAO	: Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture
Fm	: Fluorescence maximale de la chlorophylle
Fv	: Fluorescence variable de la chlorophylle
Fv/Fm	: Efficience photochimique maximale du PSII
GA	: Gibbérellines
GPX	: Glutathion peroxydase
GR	: Glutathion réductase
gs	: Conductance stomatique
GSH	: Glutathion réduit
GSSG	: Glutathion oxydé

H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	: Peroxyde d'Hydrogène
HKT1	: High affinity K <sup>+</sup> Transporter
IPTRID	: International Programme for Technology and Research in Irrigation and Drainage (Programme international pour la recherche et la technologie en irrigation et drainage)
ITPS	: Intergovernmental Technical Panel on Soils
m	: Mètre
MDHAR	: Ascorbate
MENA	: Middle East and North Africa (l'Afrique du Nord et le Moyen-Orient)
MFSC	: Matières Fertilisantes ou Supports de Culture
Mha	: Million d'hectares
mM	: Milli-mole
mmho	: Milli-mhos
MPa	: Méga-pascal
NADP	: Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate
Pfi	: Poids frais initial
Pn	: Assimilation nette de CO <sub>2</sub>
Ppt	: Poids de pleine turgescence
Ps	: Poids sec
PSF	: Poids sec foliaire
PSII	: Photosystème II
PSR	: Poids sec racinaire
SDN	: Stimulateur de défenses naturelles
SDP	: Stimulateur de défense des plantes
SOD	: Superoxyde dismutase
SOS	: Salt overly sensitive
TRE	: Teneur relative en eau
v	: Volume
WUE	: Efficience instantanée de l'utilisation de l'eau
μmol	: Micromole
Ψ <sub>w</sub>	: Potentiel hydrique

# Table des matières

i.....	- ملخص
- Résumé.....	ii
- Abstract.....	iii
- Liste des figures.....	iv
- Liste des tableaux.....	vi
- Signification des symboles et des abréviations.....	vii
- Table des matières.....	viii
- Introduction.....	1

## Chapitre I. Synthèse bibliographique

<b>1. Contrainte saline.....</b>	<b>4</b>
1.1. Définition et origines.....	4
1.2. Salinité et sodicité.....	4
1.3. Gravité et ampleur de la contrainte saline.....	6
1.4. Composantes du stress salin.....	5
<b>2. Effet de la salinité sur la plante.....</b>	<b>9</b>
2.1. Effet sur la physiologie de la plante.....	9
2.1.1. Effet sur le statut hydrique.....	10
2.1.2. Effet sur le statut nutritionnel.....	10
2.1.3. Effet sur l'intégrité membranaire.....	11
2.1.4. Effet sur les échanges gazeux et la photosynthèse.....	11
2.2. Effet sur la symbiose « Fabacée-rhizobium ».....	13
<b>3. Tolérance des plantes à la salinité et facteurs en relation.....</b>	<b>14</b>
3.1. Influence de l'espèce.....	14
3.2. Influence du stade de développement.....	15
3.3. Influence de la durée d'exposition au stress.....	15

<b>4. Mécanismes d'adaptation à la salinité</b> .....	16
4.1. Adaptation morphologique.....	17
4.2. Homéostasie ionique .....	17
4.2.1. Ajustement ionique par compartimentation .....	18
4.2.2. Ajustement ionique par exclusion .....	19
4.2.3. Ajustement ionique par régulation membranaire .....	20
4.3. Synthèse d'osmoprotectants .....	20
4.4. Synthèse d'antioxydants.....	21
4.4.1. Antioxydants enzymatiques .....	22
4.4.2. Antioxydants non enzymatiques .....	23
4.5. Induction hormonale .....	23
<b>5. Acide salicylique, hormone de stress</b> .....	24
5.1. Identification biochimique et biosynthèse .....	24
5.2. Acide salicylique, éliciteur de défense .....	25
5.3. Acide salicylique, éliciteur d'adaptation aux stress abiotiques.....	27
<b>6. Fabaceae</b> .....	28
6.1. Généralités.....	28
6.2. La fève <i>Vicia faba</i> L.....	29
6.2.1. Aperçu général .....	29
6.2.2. Origine.....	29
6.2.3. Valeur nutritionnelle.....	30
6.2.4. Contraintes biotiques et abiotiques.....	30

## **Chapitre II. Matériel et méthodes**

<b>1. Matériel végétal</b> .....	31
<b>2. Conditions de culture</b> .....	31
<b>3. Conduite de l'expérience</b> .....	31
<b>4. Mesures et analyses effectués</b> .....	32
4.1. Paramètres liés à la croissance .....	32
4.2. Détermination du statut hydrique .....	32
4.2.1. Potentiel hydrique foliaire .....	32
4.2.2. Teneur relative en eau .....	33

4.3. Mesure des échanges gazeux photosynthétiques .....	33
4.4. Mesure de l'activité du photosystème II .....	33
4.5. Mesure de l'intégrité membranaire .....	34
4.6. Dosage des ions sodium et potassium .....	35
4.7. Mesure des activités enzymatiques des antioxydants .....	35
4.7.1. Extraction des enzymes .....	35
4.7.2. Activité Superoxyde dismutase (SOD) (EC 1.15.1.1).....	35
4.7.3. Activité Catalase (CAT) (EC 1.11.1.6) .....	36
4.7.4. Activité Ascorbate peroxydase (APX) (EC 1.11.1.11) .....	36
4.7.5. Activité Glutathion réductase (GR) (EC 1.6.4.2).....	37
<b>5. Analyses statistiques .....</b>	<b>37</b>

## **Chapitre III. Résultats**

<b>1. Paramètres de croissance .....</b>	<b>38</b>
1.1. Poids sec foliaire .....	38
1.2. Poids sec racinaire .....	39
1.3. Ratio poids sec foliaire/poids sec racinaire .....	41
<b>2. Paramètres hydriques .....</b>	<b>42</b>
2.1. Potentiel hydrique foliaire .....	42
2.2. Teneur relative en eau .....	43
<b>3. Photosynthèse et échanges gazeux.....</b>	<b>45</b>
3.1. Photosynthèse nette .....	45
3.2. Conductance stomatique .....	46
3.3. Transpiration foliaire.....	47
3.4. Concentration intercellulaire en CO <sub>2</sub> .....	48
3.5. Efficience photochimique maximale du photosystème II.....	49
3.6. Efficience instantanée de l'utilisation de l'eau .....	50
<b>4. Homéostasie ionique .....</b>	<b>51</b>
4.1. Teneur en sodium .....	51
4.2. Teneur en potassium .....	52
4.3. Ratio K <sup>+</sup> /Na <sup>+</sup> .....	53

<b>5. Intégrité membranaire</b> .....	54
<b>6. Activités enzymatiques antioxydantes</b> .....	55
6.1. Superoxyde dismutase.....	55
6.2. Ascorbate peroxydase .....	57
6.3. Catalase .....	58
6.4. Glutathion réductase.....	59

## **Chapitre IV. Discussion**

<b>- Discussion</b> .....	60
<b>- Conclusion et perspectives</b> .....	66

## **Références bibliographiques**

<b>- Références bibliographiques</b> .....	68
--	----

# Introduction

## Introduction

Selon un rapport de la FAO, précédant le Sommet Mondial sur la Sécurité Alimentaire organisé à Rome en 2009, la population mondiale doit passer de 6.8 milliards à 9.1 milliards en 2050, soit un tiers de bouches de plus à nourrir. Un défi très difficile à relever par le secteur agricole souffrant déjà de nombreuses contraintes d'ordre naturel et anthropique. La salinité est l'un des problèmes environnementaux les plus contraignants à la croissance de la plupart des végétaux, et aux espèces cultivées en particulier, induisant des baisses considérables des productions agricoles.

Près de 400 millions d'hectares de terre sont affectés par la salinisation (Nag et Das, 2014), dont 80% sont d'origine naturelle et 20% d'origine anthropique. Dans les régions arides et semi arides, la contrainte hydrique est aggravée par la salinité accrue, à son tour, par l'irrigation intensive avec des eaux riches en sels (Munns et Tester 2008). Plus d'un tiers de l'alimentation mondiale est produite sur des sols irrigués représentant ainsi 20% des terres arables du monde entier (Nag et Das, 2014) alors que 20% de ces surfaces irriguées sont affectées par la salinité (FAO, 2018). En Afrique, il y'a 39 Mha de sols salins, soit 2% de l'ensemble des terres agricoles, parmi lesquels 34 Mha sont considérés sodiques (FAO et IPTRID, 2006).

Les pays du bassin méditerranéen comptent plus de 16 millions d'hectares où la salinité ne cesse de s'aggraver sous l'effet d'un fort ensoleillement et une faible pluviométrie (FAO, 2008). Selon Douaoui et Hartani (2008), plus de 20% des sols irrigués en Algérie sont concernés par le problème de salinité. Dans de telles conditions, le recours à l'irrigation s'impose, même avec des eaux fréquemment saumâtres. Ainsi, dans ces sols caractérisés par une insuffisance des eaux de drainage et une forte évapotranspiration, les sels ne s'infiltrent pas en profondeur, mais ils remontent et s'accumulent dans la rhizosphère. En raison des changements climatiques, cette menace pesante risque d'empirer dans les années à venir (Wouyou et *al.*, 2017).

La salinité est due aux fortes concentrations en sels solubles, à savoir en particulier NaCl, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> et KCl. Toutefois, les analyses des eaux et des sols salés indiquent que le chlorure de sodium (NaCl) demeure la principale forme retrouvée, représentant entre 50 à 80% des sels solubles totaux. Il est considéré comme le sel le plus redoutable du fait que les deux ions qui le composent, Na<sup>+</sup> et Cl<sup>-</sup>, sont toxiques pour les plantes quand ils sont accumulés à des concentrations élevées (Rengasamy, 2010).

La contrainte saline affecte la plante en lui inhibant la nutrition hydrique et minérale ce qui peut lui entraîner aussi une oxydation intracellulaire qui détériore l'intégrité membranaire. Les perturbations métaboliques sous l'effet de la salinité se traduisant généralement par un dysfonctionnement physiologique (activité stomatique, rendement photosynthétique et échanges gazeux), des baisses de croissance et pouvant même se solder par la mort de la plante. L'effet de la contrainte saline se traduit, ainsi, par une triple contrainte, osmotique, ionique et oxydative, que la plante subit d'une façon consécutive (Adda *et al.*, 2014 ; Taïbi *et al.*, 2016). Munns et Tester (2008) et Ben Yahmed (2013) suggèrent que la phase osmotique se passe juste après la perception du sel par des récepteurs transmembranaires. Elle est due à une diminution du potentiel osmotique au niveau de la rhizosphère, qui réduit la capacité d'absorption de l'eau par les poils absorbants au niveau des racines et inhibe, par conséquent, l'assimilation sélective des ions via la membrane plasmique. Cependant, la phase ionique est déclenchée suite à la précédente et s'accroît, surtout, lorsque le sel est véhiculé dans la plante par flux de transpiration.

Face à cette complexité de stress induite par la salinité, les plantes halophytes et, à un degré moindre celles dites glycophytes tolérantes, mettent en place différentes stratégies adaptatives. Leur tolérance des plantes est mesurée par leur capacité à percevoir le stress, le générer et transmettre le signal aux différentes parties de la plante initiant un ensemble de modifications physiologiques et moléculaires pour (i) maintenir les molécules du stress oxydant à un niveau acceptable ; (ii) réajuster l'équilibre osmotique et (iii) rétablir l'homéostasie ionique (Hopkins, 2003).

L'acide salicylique (AS) est une phytohormone de nature phénolique synthétisée dans les plantes exposées aux stress biotiques, mais ces dernières années il se révèle de plus en plus son efficacité dans la réponse des plantes aux stress abiotiques, y compris la salinité (Hayat *et al.*, 2010 ; Khelloufi, 2017). Il a été identifié dans 36 plantes appartenant à des groupes taxonomiques différents (Hayat *et al.*, 2010) et il est supposé être présent chez tous les végétaux (Hopkins, 2003 ; Dempsey *et al.*, 2011). L'application exogène d'AS sur les plantes soumises aux différents stress a été étudiée par plusieurs chercheurs. Son rôle dans le rétablissement de différents paramètres physiologiques et moléculaires a été signalé chez plus d'une espèce, à savoir le blé (Arfan *et al.*, 2006), l'orge (El Tayeb, 2005), le maïs (Gunes *et al.*, 2005), etc.

Le choix des génotypes adaptées aux conditions environnementales défavorables est devenu plus qu'important pour la réussite des programmes de sélection et d'amélioration des plantes (Taïbi *et al.*, 2014 ; Taïbi *et al.*, 2015).

L'objectif de ce travail est d'évaluer les effets de l'application de l'acide salicylique, à différentes concentrations, sur le comportement physiologique et moléculaire de deux génotypes de la fève *Vicia faba* L. soumis à des concentrations croissantes en NaCl. De ce fait, la croissance, l'état hydrique, les échanges gazeux, le rendement photosynthétique, l'intégrité membranaire, l'homéostasie ionique et l'activité enzymatique antioxydante ont été évalués.

L'analyse comparative de la réponse physiologique et moléculaire, entre les deux génotypes soumis à la salinité, pourrait fournir les informations nécessaires aux programmes de sélection et d'amélioration génétique de la fève. En outre, la sélection des génotypes les plus adaptés à des conditions environnementales spécifiques contribue efficacement à leur introduction dans les zones affectées par la salinité.

# **Synthèse bibliographique**

# Chapitre I. Synthèse bibliographique

## 1. Contrainte saline

### 1.2. Définition et origines

La salinisation peut être définie comme étant le processus d'accumulation des sels minéraux solubles dans le sol à des niveaux nuisibles pour les plantes (Tanji, 2004). Ces sels comprennent du chlorure, sulfate, carbonate et bicarbonate de sodium, potassium, magnésium et calcium, mais sont principalement sous la forme de NaCl et NaSO<sub>4</sub> (Beghin, 2019). L'accumulation des sels hydrosolubles dans le sol présente deux origines, l'une, dite salinisation primaire, est naturelle (altération de roche mère, évaporation d'anciennes mers ou lacs salés ou apports naturels externes) et affecte 80 % des terres salinisées. La seconde, appelée salinisation secondaire, est d'origine anthropique et est due à des pratiques agricoles inadéquates, en particulier l'irrigation (Ruan et *al.*, 2010 ; Barbouchi et *al.*, 2013). Les eaux d'irrigation chargées en sels et l'évaporation de l'eau à l'état pur sont à l'origine du processus d'accumulation des sels dissouts si un système de drainage adapté n'est pas mis en place (IPTRID et FAO, 2006).

Selon la FAO « Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture » et l'ITPS « Intergovernmental Technical Panel on Soils » (2015), la salinité est due aux fortes concentrations en sels solubles, à savoir en particulier NaCl, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> et KCl et a des effets directs sur la croissance et le développement des plantes. Quant à la sodicité, due à la concentration excessive des ions de sodium en particulier, elle entraîne une détérioration importante des propriétés physiques du sol et affecte indirectement la croissance des cultures via une augmentation de la croûte de surface, une mauvaise infiltration de l'eau et une aération réduite de la zone racinaire. Dans la majorité des sols salins, le NaCl est la forme principale, représentant entre 50 à 80 % des sels solubles totaux (Rengasamy, 2010 ; Ben Nja, 2014). Il est considéré comme le sel le plus redoutable du fait que le Na<sup>+</sup> et le Cl<sup>-</sup> sont toxiques pour les plantes quand ils sont accumulés à des concentrations élevées (Kaewmanee et *al.*, 2013).

### 1.2. Salinité et sodicité

La salinité d'un sol se mesure par la conductivité électrique (CE) d'un extrait de pâte diluée. La CE de l'eau pure a une valeur très faible, qui augmente avec l'accroissement de la concentration des sels. Ainsi, la CE fournit une estimation utile de la quantité de sels solubles

dans le sol (Harter et Motis, 2017). Deux unités de mesure différentes sont communément utilisées pour l'exprimer : le millimhos/cm ( $\text{mmho.cm}^{-1}$ ) et le déci Siemens/m ( $\text{dS.m}^{-1}$ ).

Un sol est défini comme salin si la conductivité électrique de son extrait est égale ou supérieure à  $4 \text{ dS.m}^{-1}$  à  $25 \text{ °C}$  correspondant à  $40 \text{ mM}$  de  $\text{NaCl}$ , soit  $2.4 \text{ g/l}$  (Shrivastava et Kumar, 2015).

**Tableau 1.** Classification de la salinité des sols (Maillard, 2001).

Classes	Conductivité de l'extrait du sol ( $\text{dS.m}^{-1}$ )
Non salin	0 – 2
Légèrement salin	2 – 4
Modérément salin	4 – 8
Fortement salin	8 – 16
Très fortement salin	> 16

Les sols salins se caractérisent par un pH généralement inférieur à 8,5 et supérieur à 7, une teneur en sodium ne dépassant pas 50% des cations en solutions avec une structure riche en sels solubles, mais non dégradée (Benkaddour, 2014). Selon les mêmes auteurs, un sol alcalin (ou sodique) se distingue par une CE inférieure à  $4 \text{ dS.m}^{-1}$  à  $25 \text{ °C}$ , un pH supérieur à 8.5, une saturation en  $\text{Na}^+$  dépassant 15% de la capacité d'échange cationique (CEC) avec une accumulation des sels en profondeur.

**Tableau 2.** Classification de la salinité de l'eau (Maillard, 2001).

Classes	EC ( $\text{dS.m}^{-1}$ )	Concentration en sels ( $\text{mg.l}^{-1}$ )	Type d'eau
Non saline	< 0.7	< 500	Eau potable et d'irrigation
Légèrement saline	0.7 – 2	500 – 1500	Eau d'irrigation
Modérément saline	2 – 10	1500 – 7000	1 <sup>ère</sup> eau de drainage et eau souterraine
Très saline	10 – 25	7000 – 15000	2 <sup>nde</sup> eau de drainage et eau souterraine
Très fortement saline	25 – 45	15000 - 35000	Eau souterraine très salée
Saumure	> 45	> 45000	Eau de mer

En outre, l'abondance des cations  $\text{Na}^+$  aboutit à la sodification du sol en détériorant sa structure et le rendant imperméable, ce qui empêche le drainage (Bennett et *al.*, 2009). Un sol est dit sodique lorsque plus de 15% des cations échangeables sont des ions  $\text{Na}^+$  (Harter et Motis, 2017).

### 1.3. Gravité et ampleur de la contrainte saline

La salinité est l'un des facteurs les plus redoutables qui limitent la productivité des cultures agricoles, notamment dans les régions arides et semi-arides (Munns et Tester, 2008). Les rendements moyens des cultures importantes comme le blé et le riz sont estimés seulement à 20 à 50% des rendements potentiels qui pourraient être atteints dans des conditions optimales (Beghin, 2019). Ces pertes sont dues principalement à la sécheresse et la salinité, facteurs qui risquent probablement d'empirer dans le futur en raison des changements climatiques (Shrivastava et Kumar, 2015 ; Wouyou et al., 2017).

**Tableau 3.** Tolérance au sel de certaines grandes cultures et espèces légumières (Harter et Motis, 2017).

Culture	Seuil maximal de salinité du sol sans perte de rendement (dS.m <sup>-1</sup> ) <sup>1)</sup>	Salinité maximale de l'eau pouvant être utilisée sans réduction de rendement (dS.m <sup>-1</sup> )	Diminution du rendement par unité dS.m <sup>-1</sup> d'augmentation (%)
Grandes cultures tolérantes au sel :			
- Blé	6.6	4.0	7.1
- Orge	8.0	5.3	5.0
- Coton	7.7	5.1	5.2
- Betterave à sucre	7.0	4.7	5.9
Légumes modérément tolérants:			
- Artichaut	6.1	4.1	11.5
- Asperge	4.1	2.7	2.0
- Betterave rouge	4.0	2.7	9.0
- Courgette	4.9	3.3	10.5

Malgré la gravité du problème, les statistiques précises, récentes et actualisées concernant les surfaces des sols affectés par le sel à travers le monde restent peu disponibles (Lucrezia et al., 2016). Néanmoins, il est connu que les sols salins sont naturellement présents sous tous les climats et sur tous les continents, partout où l'évaporation excède les précipitations pluviales de façon permanente ou temporaire (Girard *et al.*, 2005 ; Ben Kaddour, 2014).

**Tableau 4.** Tolérance relative au sel de certaines légumières (Harter et Motis, 2017).

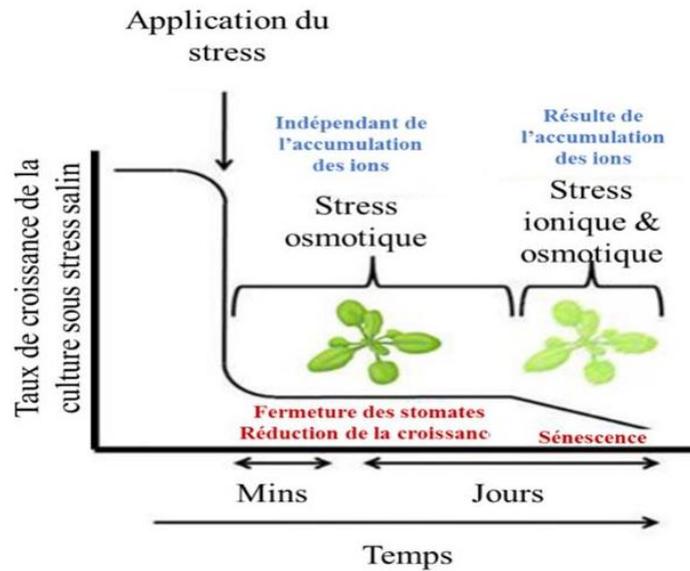
Culture légumière	Seuil maximal de salinité du sol sans perte de rendement (dS.m <sup>-1</sup> )	Diminution du rendement par unité dS.m <sup>-1</sup> d'augmentation (%)
Cultures sensibles:		
- Haricot	1.0	19
- Carotte	1.0	14
- Fraise	1.0	33
- Oignon	1.2	16
Cultures modérément sensibles:		
- Navet	0.9	9
- Radis	1.2	13
- Laitue	1.3	13
- Poivron	1.5	14
- Patate douce	1.5	11
- Fève	1.6	10
- Pomme de terre	1.7	12
- Tomate	2.5	10
- Concombre	2.5	13

Certaines sources estiment que le monde perd au moins 3 ha de terres arables chaque minute à cause de la salinité du sol (IPTRID et FAO, 2006). Près de 6.5 % de la surface totale du monde et environ 20% de la surface cultivée sont déjà touchées par la salinité du sol (Hakim *et al.*, 2014). En Afrique, 39 Mha de terres arables, soit 2% du continent, sont des sols salins et 34 Mha parmi ces terres sont des sols sodiques (FAO, 2008). Dans la région du Proche-Orient et de l'Afrique du Nord (NENA), la salinisation est considérée la menace la plus grave après l'érosion du sol, affectant 11.2% des sols (FAO et ITPS, 2015). Aux pays du Maghreb, plus de 30% des eaux d'irrigation sont chargées de sels, ce qui conduit avec le temps à une accumulation des toxines aussi bien dans la rhizosphère que dans les différentes parties des plantes (Rahmoune *et al.*, 2008). En Algérie, 3.2 Mha de terres sont affectés par la salinisation (Benmahioul *et al.*, 2009) et plus de 20% des sols irrigués sont concernés par des problèmes de salinité (Rouabhia et Djabri, 2010).

#### 1.4. Composantes du stress salin

Le stress salin induit chez la plante deux contraintes, qui ne se déroulent pas simultanément. La phase osmotique se produit quelques minutes à quelques jours après l'exposition aux sels et quelques jours à quelques semaines, selon l'espèce, commence à se développer la phase ionique (Munns, 2002).

La première phase est immédiate et due à la diminution du potentiel osmotique au niveau de la rhizosphère, ce qui réduit la capacité d'absorption de l'eau au niveau des racines et inhibe, par conséquent, la croissance des jeunes feuilles (Munns et Tester, 2008). Le stress osmotique n'est pas spécifique à la salinité, mais il est induit aussi par d'autres contraintes abiotiques comme la sécheresse, le gel et le froid.



**Figure 1.** Réponse de la croissance pendant les deux phases du stress salin (Rungrat *et al.*, 2016 ; Sahar, 2019).

*Les réponses au stress salin agissent en deux temps : (i) la phase osmotique, liée à l'effet du sel autour des racines et inclut des réponses de court terme entraînant la fermeture des stomates et la réduction de la croissance. (ii) la phase ionique est liée à l'accumulation du sel à l'intérieur de la plante. L'accumulation des ions à des niveaux toxiques dans la partie aérienne est responsable de la sénescence précoce.*

La phase ionique, quant à elle, est déclenchée lentement quand le sel est transporté dans la plante par flux de transpiration (Munns et Tester, 2008 ; Ben Yahmed, 2013). L'accumulation des ions,  $\text{Na}^+$  en particulier, à des concentrations toxiques dans les feuilles engendre un dysfonctionnement métabolique général (Glenn *et al.*, 1999 ; Sahar, 2019), conduisant le plus souvent à la réduction de la biomasse, l'arrêt de la croissance foliaire et la sénescence des feuilles matures (Munns et Tester, 2008 ; Lohaus *et al.*, 2000). La teneur relative en eau des feuilles et la transpiration sont également affectées (Rengasamy, 2006).

## 2. Effet de la salinité sur la plante

Chez la plupart des espèces végétales, les ions  $\text{Na}^+$  sont considérés plus toxiques et atteignent des seuils de toxicité avant le  $\text{Cl}^-$ , alors que pour d'autres espèces, telles que le soja et le citronnier, c'est le  $\text{Cl}^-$  qui est plus redoutable (Munns et Tester, 2008). Les effets de la contrainte saline sont vérifiables à des niveaux différents, à savoir la physiologie de la plante stressée, le statut hydrique, l'intégrité membranaire, les échanges gazeux au niveau foliaire et la photosynthèse. L'activité symbiotique et le métabolisme azoté pourraient, chez les fabacées, sont également affectés.

### 2.1. Effet sur la physiologie de la plante

Le stress salin manifeste chez la plante une difficulté du captage de l'eau par les racines et/ou par une toxicité due à l'accumulation des sels dans la plante (Rai, 2017). Il est à l'origine de la réduction du rythme d'apparition des feuilles et la surface foliaire sont également réduits par la salinité (Ruan et *al.*, 2010). Selon Ben Yahmed (2013) et Ben Nja (2014), la réduction de la feuille est le premier effet phénotypique observable chez les glycophytes stressées à la salinité. Une sénescence précoce des feuilles est due à des modifications hormonales et à l'émergence d'un stress oxydatif induit par les composantes osmotiques et ioniques du stress salin (Ghanem et *al.*, 2008 ; Kosova et *al.*, 2013). Une réduction du flux d'assimilats vers les tissus méristématiques signalée par Ben Yahmed (2013) est à l'origine de l'inhibition de croissance induite par un arrêt ou une diminution de la division et/ou l'élongation cellulaire (Rivero et *al.*, 2014). La croissance des parties aériennes est souvent plus affectée que celle des parties racinaires (Albacete et *al.*, 2008).

Teakle et Tyerman (2010) rapportent que ces modifications morphologiques sont dues à une contrainte osmotique primaire suivie par un stress ionique dû à une déficience en  $\text{K}^+$  et  $\text{Ca}^{++}$  et une accumulation des ions  $\text{Na}^+$  et  $\text{Cl}^-$ . Chez les glycophytes, la toxicité ionique induite par le stress salin est visible chez les feuilles les plus âgées, qui accumulent plus de  $\text{Na}^+$  et  $\text{Cl}^-$  en comparaison aux feuilles juvéniles en raison de leur forte évapotranspiration (Munns et Tester, 2008). Les ions  $\text{Na}^+$  et  $\text{Cl}^-$  s'accumulent à des doses toxiques au niveau des feuilles matures provoquant leur expansion puis leur sénescence, contrairement à ce qui peut être observé au niveau des feuilles jeunes (Ben Yahmed, 2013). Si le pourcentage de sénescence des feuilles matures est supérieur au taux de production de nouvelles feuilles, l'activité photosynthétique sera dans l'incapacité de répondre au besoin en carbohydrates des jeunes feuilles qui voient leur croissance réduite (Munns et Tester, 2008). Pour ce qui est des feuilles des halophytes, que leurs feuilles soient jeunes ou âgées, elles procèdent à une accumulation préférentielle des sels pour équilibrer le potentiel osmotique (Teakle et Tyerman, 2010).

D'autre part, le stress salin peut affecter la synthèse protéique, la photosynthèse et les métabolismes lipidiques (Rojas-Tapias *et al.*, 2012). A un seuil élevé, il entraîne une inhibition de nombreux processus physiologique et biochimique. Il peut induire un stress hydrique, une toxicité ionique, des troubles nutritionnels, un stress oxydatif, une altération des processus métaboliques, une désorganisation de la membrane et une réduction de la division cellulaire. Ce qui se traduit par la réduction de la croissance, le développement, voire la survie de la plante (Boukerma, 2017).

### 2.1.1. Effet sur le statut hydrique

La salinité de la solution du sol à un seuil élevé conduit à une situation de « sécheresse physiologique » liée à la diminution du potentiel osmotique externe (Beghin, 2019). Cette composante hydrique du stress salin induit une limitation de l'absorption et du transport de l'eau (Snoussi *et al.*, 2004), une réduction de la conductance stomatique (Munns, 2002) et la transpiration foliaire (Rengasamy, 2010). Avec ces changements du statut hydrique la plante tente à réduire les pertes transpiratoires et minimiser l'entrée des ions  $\text{Na}^+$  (Beghin, 2019). Cette efficacité de l'utilisation de l'eau est, donc, une composante essentielle de la résistance à la salinité (Acosta-Motos *et al.*, 2017) qui s'accompagne, en contre partie, avec une baisse de l'activité photosynthétique du fait d'une limitation de l'apport de  $\text{CO}_2$  (Beghin, 2019). La réduction des teneurs en eau conduit à une perte de turgescence qui est à l'origine d'une réduction de l'élongation cellulaire (Zidane, 2017).

### 2.1.2. Effet sur le statut nutritionnel

La nutrition minérale est considérablement perturbée par l'accumulation intensive des ions  $\text{Na}^+$  et  $\text{Cl}^-$  autour de la zone pilifère de la plante. Un dérèglement de la perméabilité membranaire en est induit, entravant ainsi l'absorption de certains ions essentiels comme le  $\text{Ca}^{++}$  et le  $\text{K}^+$ . Sachant que les ions  $\text{Ca}^{++}$  sont indispensables à la stabilité des phospholipides de la bicouche membranaire et de la pectine des parois, une augmentation du ratio  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{++}$  provoque le détachement des ions  $\text{Ca}^{++}$ , affectant ainsi l'intégrité membranaire et celle des parois végétales (Manchanda et Garg, 2008). D'autre part, l'activité enzymatique est affectée par le sel, ce qui entraîne un dysfonctionnement de tout le métabolisme cellulaire (Munns et Tester 2008).

Baha (2015) met le point sur des antagonismes nutritionnels fréquents chez les plantes élevées dans des milieux salins. La présence des ions  $\text{Na}^+$  dans la solution du sol réduit l'absorption des ions  $\text{K}^+$  avec qui ils rentrent en compétition pour le même transporteur situé sur la membrane et, de même, les  $\text{Cl}^-$  limitent l'assimilation des  $\text{NO}_3^-$ . En outre, les  $\text{Na}^+$  se

disputent avec les  $\text{Ca}^{++}$  les mêmes sites de fixation membranaires (Haouala *et al.*, 2007). Il est confirmé, aussi, que la salinité du sol est à l'origine des carences en phosphore chez la plante, qui développe des symptômes de déficience et que l'addition de cet élément, au moment opportun, restaure la croissance (Grattan et Grieve, 1999).

### 2.1.3. Effet sur l'intégrité membranaire

La membrane cellulaire est caractérisée par sa perméabilité sélective facilitant le passage de l'eau et des petites substances non chargées par rapport aux macromolécules chargées (Allario, 2009). La salinité augmente la rigidité de la paroi cellulaire et diminue la conductance fluide de la membrane plasmique (Liu *et al.*, 2016) en affectant, ainsi, sa perméabilité par l'augmentation de l'influx d'ions externes et l'efflux des solutions du cytosol (Zhang *et al.*, 2015). Par ailleurs, la perméabilité de la membrane est augmentée suite à la perturbation de sa composition lipidique et protéique par le stress salin (Lutts *et al.*, 2004). Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont susceptibles de dégrader les acides gras insaturés des lipides membranaires à la suite de leur peroxydation, ce qui conduit à la dégradation des membranes cellulaires (Blokhina *et al.* 2003).

L'excès de sel exerce un effet déstabilisant la membrane plasmique par diminution de sa teneur en phospholipides, dénaturation des protéines et augmentation de sa perméabilité (Arif, 2015). Dans des conditions de fortes concentrations externes de  $\text{Na}^+$ , ces derniers pénètrent dans les cellules racinaires par des canaux et transporteurs d'ions non spécifiques provoquant une dépolarisation électrique des membranes, une réduction de la turgescence cellulaire et un décollement de la membrane plasmique de la paroi. Cela engendre une activation des canaux calciques  $\text{Ca}^{++}$  et une modification de la concentration cytoplasmique en  $\text{Ca}^{++}$ . Ce dernier joue un rôle clé dans la stabilisation de la structure de la paroi cellulaire, le maintien de l'intégrité structurelle et fonctionnelle de la membrane cellulaire, la régulation du transport et des échanges ioniques, en plus d'agir comme messager dans la signalisation de la contrainte saline (Zhang *et al.*, 2006 ; Choi *et al.*, 2017). Une concentration trop forte de la solution du sol en un ion particulier peut altérer le prélèvement d'autres nutriments par la plante. Le  $\text{N}^+$  peut, dès lors, entrer en compétition avec le  $\text{Ca}^{++}$  et le  $\text{K}^+$ , tandis que les ions  $\text{Cl}^-$  peuvent entraver l'absorption du  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$  et  $\text{SO}_4^{2-}$  (Beghin, 2019).

### 2.1.4. Effet sur les échanges gazeux et la photosynthèse

L'efficacité de la photosynthèse est un indice déterminant la performance globale de la plante traduite par une bonne croissance (Mekhloufi, 2019). Cependant la photosynthèse est souvent affectée par le stress salin pour des causes stomatiques et d'autres d'origine non

stomatiques. Ces causes ne sont pas exclusives, car la réduction de la photosynthèse est, le plus souvent, due à des causes multiples (Beghin, 2019).

Il est admis que la fermeture des stomates est justifiée par la nécessité de limiter les pertes en eau et que seule la composante hydrique induite par le stress salin intervient à ce niveau. Cette composante entraîne une surproduction d'acide abscissique (ABA) dans les racines et sa translocation vers les stomates (Chaves *et al.*, 2003). Toutefois, il est à rappeler que la régulation stomatique implique l'activation de nombreux transporteurs d'ions entre cellules de garde et cellules annexes et qu'une perturbation de l'alimentation minérale pourrait avoir un impact à cet égard (Beghin, 2019). Des carences en  $K^+$  et/ou en  $Ca^{++}$  que subissent, parfois, les plantes exposées à la salinité pourraient causer un dérèglement stomatique. De même, des polyamines interagissant avec des transporteurs de  $K^+$  sont directement impliquées dans la réponse à la salinité chez un certain nombre d'espèces (Liu *et al.*, 2000). Selon Acosta-Motos *et al.* (2017), une fermeture limitée des stomates réduit plus la transpiration que la photosynthèse et que l'efficacité instantanée de l'utilisation de l'eau, que l'on peut définir comme le rapport de la photosynthèse nette sur la transpiration instantanée, a tendance à augmenter au niveau des plantes stressées. Bien que la fermeture des stomates soit la principale cause limitant la diffusion du  $CO_2$ , l'influence de la conductance stomatique (conductance du mésophylle) n'est pas à rejeter (Beghin, 2019). Des études récentes signalent que le sel peut modifier l'histologie des feuilles en croissance et qu'il a un impact sur la conductance du mésophylle (Roy *et al.*, 2014).

La fermeture stomatique est à l'origine de la diminution de l'assimilation du  $CO_2$ , liée aussi à la réduction de la surface foliaire et la conductance stomatique. La limitation de la diffusion de  $CO_2$  dans les stomates et les cellules du mésophylle altère, ainsi, la carboxylation de la Rubisco et provoque des modifications au niveau de la photochimie des feuilles et du métabolisme du carbone (Jallouli, 2019). Cependant, il a été observé que l'activité photosynthétique par unité de surface foliaire peut rester inchangée même en cas de fermeture stomatique (James *et al.*, 2006). Ce paradoxe peut être expliqué par des changements au niveau de la taille des cellules qui se rétrécit ainsi que par une augmentation de la densité des chloroplastes (Ben Yahmed, 2013). L'accumulation des ions  $Na^+$  cause des carences en  $K^+$  qui entraîne l'inhibition des enzymes photosynthétiques, notamment celles nécessitant le  $K^+$  comme cofacteur. D'autre part, la forte accumulation des ions  $Cl^-$  entraîne une dégradation de la chlorophylle (Munns *et al.*, 2006). La teneur en chlorophylle diminue chez les plantes sensibles, alors qu'elle augmente chez les plantes tolérantes (Murthy et Sudhir, 2004).

Selon Gururani *et al.* (2015) et Jallouli (2019), la réduction du  $CO_2$  dans le chloroplaste entraîne un excès de l'énergie photochimique au niveau de la membrane suite à l'accumulation

du pouvoir réducteur, allouant ainsi les électrons au dioxygène (O<sub>2</sub>). Ce qui active la photorespiration au détriment de la photosynthèse et entraîne la génération et l'accumulation des espèces réactives de l'oxygène (ERO). Cette accumulation des ERO peut causer des dommages au niveau du Photosystème II (PSII) et de l'ADN et entraîner la dégradation des lipides et des protéines.

### 2.2. Effet sur la symbiose « Fabacée-rhizobium »

L'effet de la salinité sur l'activité symbiotique « fabacée-rhizobia » peut être direct en inhibant le processus d'infection et le développement des nodules ou suite aux dommages exercés sur la physiologie de la plante (Cesar et *al.*, 2011 ; Faghire, 2012). La diminution de l'activité fixatrice d'azote est généralement entraînée par une réduction de la respiration nodulaire due à un abaissement du taux d'O<sub>2</sub> ou une décroissance de la production de la légghémoglobine par les nodules (Delgado et *al.*, 1994 ; Bargaz et *al.*, 2011 ; Faghire, 2012). Selon Cordovilla et *al.* (1999) et Serraj et *al.* (1998), l'accumulation des ions toxiques (Na<sup>+</sup> et Cl<sup>-</sup>) dans les nodosités affecte le métabolisme des nodules et inhibe leur activité fixatrice. La nodulation est plus sensible à cet effet durant ses premières phases qu'ultérieurement (Cesar et *al.*, 2011 ; Faghire, 2012). Dans leurs études effectuées sur la luzerne et le haricot, López et *al.* (2008) et Faghire et *al.* (2011) suggèrent que la salinité provoque une inhibition des activités de la phosphoénolpyruvate carboxylase (PEPC, EC 4.1.1.31) et de la malate déshydrogénase (MDH, EC 1.1.1.37), qui fournissent aux bactéroïdes le carbone à partir des hexoses-6P.

### 3. Tolérance des plantes à la salinité et facteurs en relation

Munns (2002) définit la tolérance à la salinité comme étant la capacité de la plante à survivre longtemps pendant la phase ionique. Autrement-dit, c'est la capacité de l'organisme végétal à empêcher l'accumulation du sel à des niveaux toxiques dans les feuilles (Sahar, 2019). Negr et Schmo (2017) suggèrent que la capacité de tolérance des plantes à la salinité est influencée par différents facteurs, notamment l'espèce, le stade de développement et la durée du stress. Ils ajoutent qu'au plan expérimental, cette tolérance pourrait être évaluée par l'étude de plusieurs paramètres tels que la croissance, le statut hydrique, l'homéostasie ionique, la photosynthèse, le rendement, la sénescence, etc.

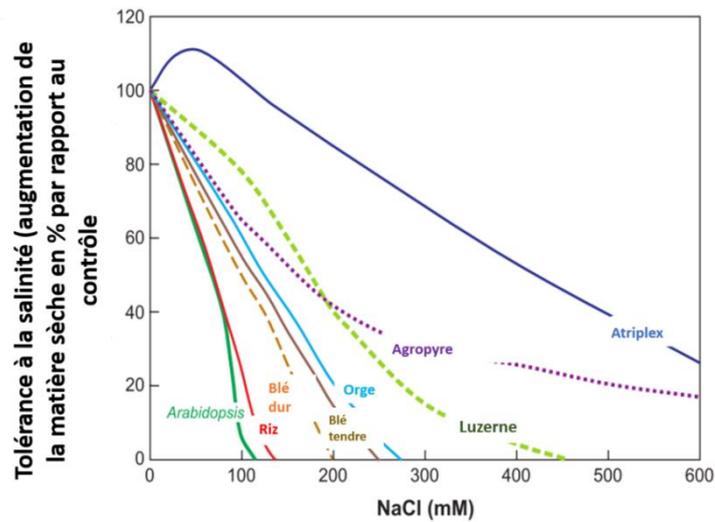
#### 3.1. Influence de l'espèce

Les niveaux de tolérance à la salinité sont très variables entre les espèces végétales. Ce qui a permis aux physiologistes de les classer en :

- **Halophytes** : espèces tolérantes ayant la capacité de maintenir leur développement durant la phase ionique en mettant en place des mécanismes d'adaptation leur permettant de survivre dans des conditions relativement salines (Sahar, 2019). Ces mécanismes permettent le maintien de l'homéostasie ionique du cytoplasme via l'exclusion des ions toxiques du sel et la régulation osmotique des cellules par la synthèse des osmolytes compatibles entre autres sucres, polyols et acides aminés (Parihar et *al.*, 2015). Parmi les espèces cultivées, seuls le cotonnier et la betterave ont des ancêtres potentiellement halophytes (Beghin, 2019 ; Glenn et *al.*, 1999). Les estimations indiquent que les halophytes représentent 1 à 2 % des espèces végétales terrestres et qu'elles seraient présentes dans presque la moitié des familles taxonomiques, sans qu'il y'en ait une liste exhaustive du fait de l'absence d'un seuil de tolérance unanimement fixé (Beghin, 2019). Seulement un petit nombre d'entre elles supportent des teneurs en sels de l'ordre de l'eau de mer, 35 g.l<sup>-1</sup> (Ruan et *al.*, 2010).

- **Glycophytes** : espèces sensibles et incapables de survivre longtemps durant la phase ionique (Munns, 2005). Cependant, certaines études comparant les mécanismes de tolérance à la salinité chez les halophytes et les glycophytes suggèrent que ces dernières manifestent des processus similaires pour faire face à la salinité (Bartels et Dinakar, 2013). La plus grande proportion serait tolérante à des teneurs inférieures ou égales à 50 mM de NaCl (Ruan et *al.*, 2010). Selon Ben Njab (2014), les glycophytes peuvent être réparties comme suivant :

- *Glycophytes tolérantes* : espèces pouvant supporter des concentrations élevées en NaCl, atteignant 7 g.l<sup>-1</sup> et
- *Glycophytes sensibles* : espèces ne tolérant pas plus de 2 à 3 g.l<sup>-1</sup> de sel dans la solution du sol.



**Figure 2.** Variation de la tolérance à la salinité selon l'espèce (Munns et Tester, 2008).

La tolérance est représentée par la variation- en matière sèche des feuilles après 3 semaines de stress salin par rapport au contrôle.

Ainsi, la domestication et l'amélioration génétique des espèces halophyles sont à adopter pour palier aux effets néfastes de la salinité sur les plantes cultivées, même dans les zones déjà affectées (Ruan *et al.*, 2010 ; Cheeseman, 2016).

### 3.2. Influence du stade de développement

Des études menées à ce propos indiquent que l'influence du stade de développement sur la tolérance au stress salin varie d'une espèce à l'autre. Ainsi, l'espèce *Arabidopsis thaliana* présente une meilleure tolérance au sel au stade de germination et une sensibilité au stade végétatif (Quesada *et al.*, 2002) et après transition florale (Sahar, 2019). Le même comportement a été remarqué chez le riz, qui réacquiert sa tolérance durant les stades ultérieurs de développement pour redevenir sensible pendant la pollinisation, puis tolérant à maturité (Khan *et al.*, 2016). L'application d'une concentration modérée en sel au stade reproducteur sur des plants de tomate et de melon améliore non seulement la tolérance à la salinité, mais aussi la qualité des fruits (Shannon et Grieve, 1998 ; Foolad *et al.*, 1999).

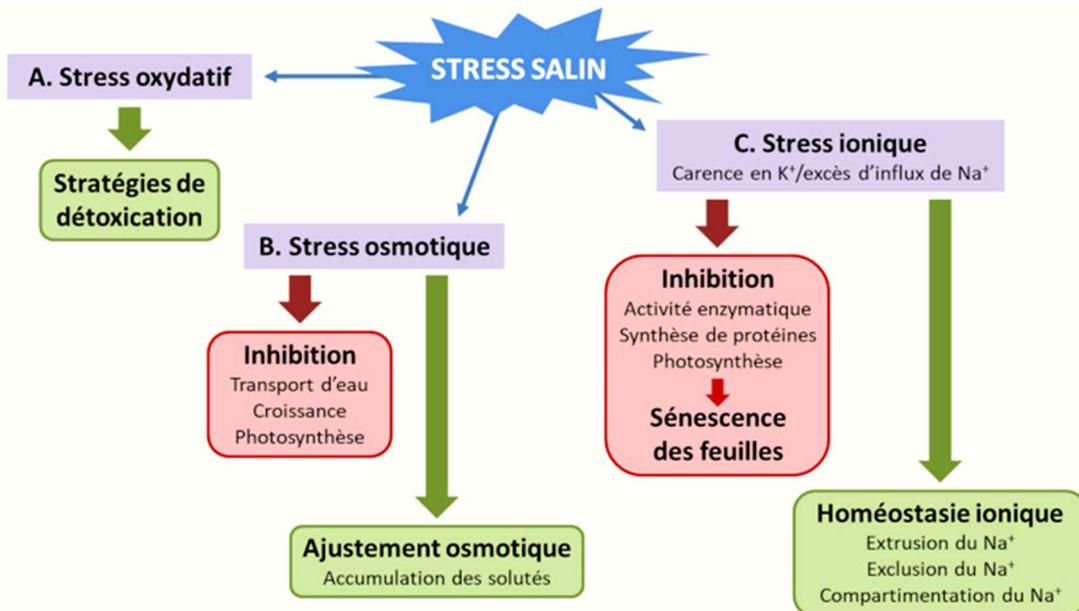
### 3.3. Influence de la durée d'exposition au stress

La réponse au stress salin à court terme peut montrer une réduction du taux de croissance apparemment similaire entre plantes tolérantes et sensibles. Ce n'est qu'après une longue période que la tolérance ou la sensibilité peut être déterminée avec précision lorsque les mécanismes spécifiques commencent à se manifester permettant à certaines espèces de résister aux conditions salines (Higbie *et al.*, 2010).

L'accumulation des sucres au niveau des feuilles d'*Arabidopsis thaliana* varie en fonction de la durée de stress salin, une augmentation à partir du 4<sup>ème</sup> jour du stress, puis un rétablissement après 11 jours (Sahar, 2019).

#### 4. Mécanismes d'adaptation à la salinité

L'excès de sels dans le sol provoque un triple stress secondaire ionique, oxydatif et osmotique que les plantes doivent gérer en mettant en place des stratégies adaptatives (Ahmadizadeh et al., 2011 ; Das et al., 2015). La tolérance de la plante à la salinité est mesurée par sa capacité à percevoir le stress, le générer et transmettre le signal aux différentes parties de la plante initiant, ainsi, un ensemble de modifications physiologiques et moléculaires pour (i) maintenir les molécules du stress oxydant à un niveau acceptable, (ii) réajuster l'équilibre osmotique et (iii) rétablir l'homéostasie ionique (Figure 3).



**Figure 3.** Effets délétères liés à la toxicité du stress salin et réponse cellulaire mise en place pour assurer la tolérance (Luu, 2020).

L'excès de Na<sup>+</sup> et Cl<sup>-</sup> provoque des changements au niveau de la structure des protéines et une dépolarisation membranaire qui peuvent conduire à la perception de la toxicité ionique, ce qui permet aux enzymes récepteurs et protéines transmembranaires de détecter le stress (Zhu, 2003).

La membrane cellulaire est, ainsi, la première partie qui perçoit le stress sous forme d'un stimulus et entraîne une transduction du signal du stress à l'ensemble de la plante, qui déclenche une cascade de signalisation finissant par l'induction de nombreuses réponses d'ordre

physiologiques et moléculaires en vue de la restauration d'une croissance normale (Tafforeau, 2002). Les produits de l'expression génétique vont permettre le rétablissement de l'homéostasie cellulaire et vont assurer une protection fonctionnelle et structurale aux cellules végétales (Rao *et al.*, 2006).

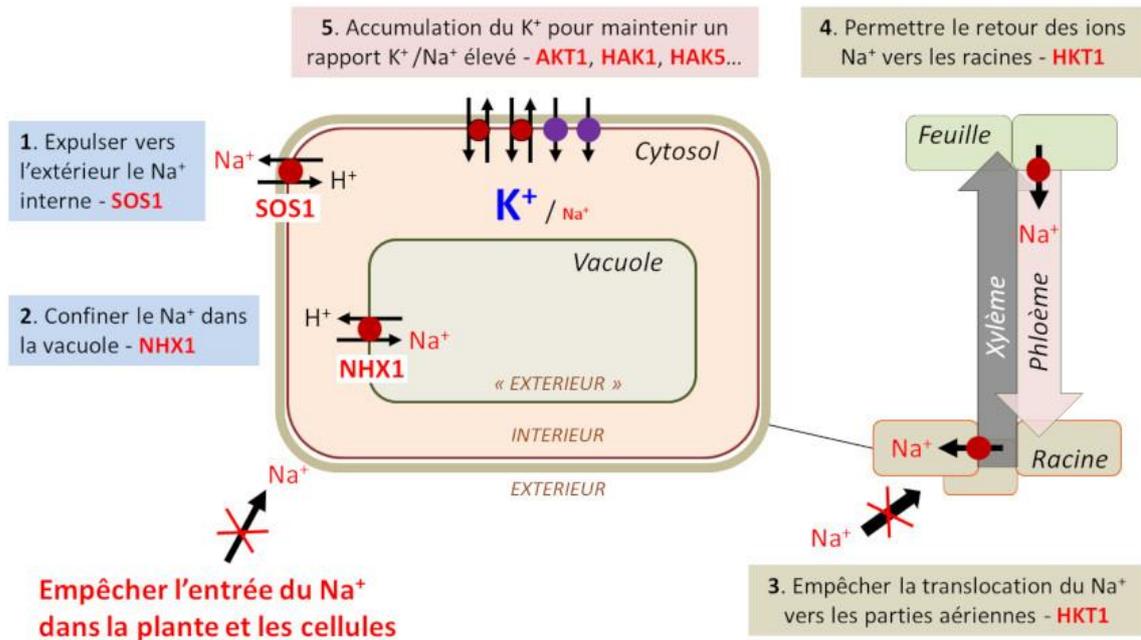
### 4.1. Adaptation morphologique

Afin de réduire les pertes d'eau par transpiration dans les parties aériennes et maintenir le flux de l'eau et des photoassimilats dans les tissus vasculaires, une augmentation de la biosynthèse de l'ABA est déclenchée entraînant la fermeture des stomates et la réduction du taux de croissance (Fricke *et al.*, 2006). Un accroissement de l'élongation racinaire couplé à un arrêt de croissance aux parties aériennes est spécifique d'une réponse à un déficit hydrique induit par le stress salin (Allario, 2009). La plante peut faire face à la salinité en limitant indirectement son bilan photosynthétique par la modification qualitative ou/et quantitative les teneurs en pigments (Parida et Das, 2005), la réduction du nombre de feuilles (Khelloufi, 2019) et la diminution de la surface foliaire due à l'inhibition de l'élongation cellulaire (Duarte *et al.*, 2013 ; Baha, 2015). Le processus d'abscission peut, également, être accéléré pour assurer un équilibre entre la surface d'absorption de l'eau par les racines et la surface foliaire (Beghin, 2019). Cela permet de déduire qu'une réduction de croissance, au niveau de la plante, n'est pas nécessairement synonyme de dégâts. En effet, les espèces halophytes poussant dans leur milieu naturel ne présentent pas toujours des taux de croissance importants (Munns et Tester, 2008).

### 4.2. Homéostasie ionique

La tolérance d'une plante au stress salin correspond à sa capacité de rétablir son propre équilibre ionique. En effet, la stratégie d'adaptation sert à maintenir la teneur du cytoplasme en  $\text{Na}^+$  et  $\text{Cl}^-$  des niveaux équilibrés par :

- leur exclusion extracellulaire lorsque l'accumulation dépasse les niveaux tolérés ;
- leur inclusion et séquestration dans les vacuoles ;
- la limitation de leur translocation vers les parties aériennes par voie xylémienne;
- leur retransportation des feuilles aux racines par voie phloémienne et
- la régulation d'une assimilation sélective via la membrane plasmique.



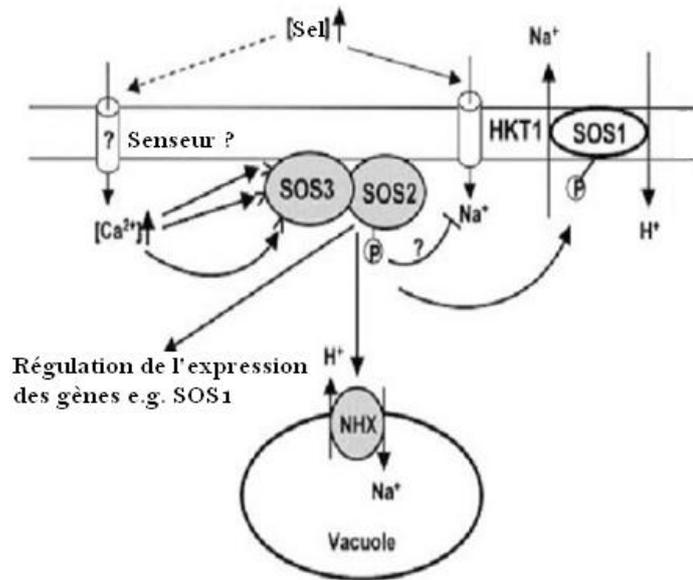
**Figure 4.** Stratégies impliquée dans l'homéostasie ionique mise en place par la plante dans les cellules racinaires afin de leur permettre de tolérer un stress salin (Luu, 2020).

#### 4.2.1. Ajustement ionique par compartimentation

Pour maintenir le potentiel hydrique du cytosol, les ions Na<sup>+</sup> et Cl<sup>-</sup> présents dans ce dernier pénètrent dans la vacuole et s'y accumulent, limitant ainsi leur toxicité cytoplasmique (Sottosanto *et al.*, 2007). Chez les halophytes telles que la salicorne (*Salicornia bigelovii*) et la soude maritime (*Sueda maritima*), les concentrations des ions Na<sup>+</sup> et Cl<sup>-</sup> peuvent dépasser 1000 mM dans les vacuoles (Khan *et al.*, 2006) et 100 à 250 mM de Na<sup>+</sup> dans les chloroplastes et le cytoplasme (Flowers *et al.*, 2015). La compartimentation de ces ions dans la vacuole permet, ainsi, à la cellule de maintenir une faible concentration de Na<sup>+</sup> dans le cytoplasme, minimisant ainsi son effet toxique (Uzilday *et al.*, 2015). D'autre part, elle crée une forte pression osmotique, favorisant l'absorption d'eau et améliorant, par conséquent, la turgescence des cellules (Apse et Blumwald, 2007).

La compétition du Na<sup>+</sup> avec le K<sup>+</sup> inhibe l'absorption de ce dernier, lui permettant de pénétrer au cytosol à travers les transporteurs High affinity K<sup>+</sup> Transporter (HKT1) et des canaux non sélectifs de cations (4-NSCC) (Yokoi *et al.*, 2002). Le passage des ions Na<sup>+</sup> à travers la membrane plasmique et le tonoplaste est assuré par la voie d'antiport Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> dont l'activité dépend de la stimulation des protéines SOS<sub>1</sub>, SOS<sub>2</sub> et SOS<sub>3</sub> (Yamaguchi et Blumwald 2005). Selon (Fahmideh et Fooladvand, 2018 ; Chinnusamy *et al.*, 2004), une cascade de signalisation se produit dans le cytosol, commençant par la fixation du Ca<sup>2+</sup> sur la protéine SOS<sub>3</sub>. Cette dernière subit des modifications structurales que provoquent les liaisons du Ca<sup>2+</sup>, favorisant

ainsi la fixation de la protéine SOS<sub>2</sub>. Le site inhibiteur de SOS<sub>2</sub> est levé par la fixation de SOS<sub>3</sub>, permettant au site catalytique de se libérer. Le complexe SOS<sub>2</sub>-SOS<sub>3</sub> active, par phosphorylation, la SOS<sub>1</sub>, protéine antiport Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> située sur la membrane plasmique et responsable de l'exclusion du Na<sup>+</sup> à l'extérieur du cytoplasme. Le même complexe SOS<sub>2</sub>-SOS<sub>3</sub> active aussi l'antiport NHX au niveau du tonoplaste pour permettre aux ions Na<sup>+</sup> de pénétrer dans la vacuole et s'y séquestrer.



**Figure 5.** Régulation d'homéostasie ionique par voie SOS «Salt Overly Sensitive» et NHX au niveau de la membrane plasmique et le tonoplaste vacuolaire (Fahmideh et Fooladvand, 2018).

La stratégie de compartimentation d'ions toxiques se fait, également, au niveau des tissus et organes. C'est pourquoi, les teneurs racinaires en Na<sup>+</sup> sont souvent plus élevées que celles des parties aériennes, ce qui témoigne d'une tentative de la plante de limiter la translocation de ces ions vers des organes photosynthétiques (Beghin, 2019). Cela n'exclut pas qu'une accumulation préférentielle des ions Na<sup>+</sup> se déroule au niveau des feuilles les plus âgées, préservant de ce fait les feuilles jeunes dont le métabolisme est vital pour la survie de la plante (Wouyou et *al.*, 2017).

#### 4.2.2. Ajustement ionique par exclusion

L'exclusion des ions du sel vers le milieu externe est l'un des mécanismes de réajustement ionique, nécessitant un transport actif contre le gradient de concentration (Zhang et *al.*, 2011). Les ions entrent dans les plantes par les racines et sont véhiculés par le xylème jusqu'aux tiges et feuilles. Là, ils sont soit stockés dans les feuilles âgées des plantes de type « include », soit une partie est reconduite vers le phloème pour être ramenée aux racines comme est le cas chez

les plantes dites « exclure » (Munns et Tester, 2008). Les espèces « inclure », halophytes en général, réduisent la quantité d'ions  $\text{Na}^+$  dans le xylème pour que la quantité de sel fournie aux feuilles soit adéquate aux besoins de la croissance (Flowers et Colmer, 2015).

Au niveau des feuilles, les ions seront soit séquestrés dans la vacuole, l'épiderme foliaire ou les limbes âgés pour épargner les constituants cellulaires vitaux (Apse et Blumwald, 2007), soit excrétés par des trichomes (poils vésiculeux) ou des glandes salines vers l'extérieur (Acosta-Motos et *al.*, 2017). L'excrétion par les glandes salines est sélective : les ions  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  et  $\text{HCO}_3^-$  sont excrétés contre le gradient de concentration, tandis que les ions  $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$  et  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ , ils sont maintenus (Hopkins, 2003). Les plantes de type « exclure », quant à elles, sont celles sensibles au sel et ne retiennent que peu de  $\text{Na}^+$  dans les feuilles, l'excès est véhiculé aux racines (Zidane, 2017).

### 4.2.3. Ajustement ionique par régulation membranaire

Mouhaya (2008) rapporte que la chute de la turgescence, induite par la salinité, conduit à des modifications au niveau de la structure membranaire. Après leur détection par un récepteur kinase-cyclase membranaire, ce dernier catalyse rapidement la conversion du guanosine 3'triphosphate (GTP) en 3', 5'-guanosine monophosphate cyclique (GMPc). L'augmentation de la concentration cytosolique en GMPc entrainera l'activation de l'influx du  $\text{Ca}^{++}$  via les CNGC (canaux membranaires non sélectifs) et l'inactivation des canaux membranaires VINS-SCC afin de réduire l'influx du  $\text{Na}^+$ .

Les aquaporines sont des protéines transmembranaires par lesquelles diffuse l'eau, d'une cellule à l'autre, plutôt aisément qu'à travers la bicouche lipidique (Sade et *al.*, 2009). La direction et l'amplitude des flux d'eau transitant par les aquaporines dépendent, comme au niveau de la bicouche lipidique, des gradients de potentiels hydriques entre le milieu intracellulaire et son extérieur. Cependant, les aquaporines peuvent être fermées en réponse à des variations du pH ou de la concentration en  $\text{Ca}^{++}$  intracellulaire (Allario, 2009). La régulation de l'ouverture des aquaporines (protéines présentes dans les membranes et facilitant le transport de l'eau) et leur modification quantitative servent, également, au rétablissement de l'intégrité membranaire (Sade et *al.*, 2009).

### 4.3. Synthèse d'osmoprotectants

La présence excessive des ions  $\text{Na}^+$  et  $\text{Cl}^-$  dans le cytoplasme risque d'entraîner une toxicité cellulaire. Pour échapper à cette éventuelle menace, la plante recourt au réajustement de son propre potentiel osmotique, ce qui lui assure la continuité de l'absorption de l'eau, la préservation de ses cellules en état de turgescence et, par conséquent, la protection de l'activité

enzymatique et les macromolécules intracellulaires contre la déshydratation. Afin de maintenir un gradient de potentiel hydrique favorable à l'absorption hydrique, le potentiel hydrique interne doit être abaissé en dessous de celui du sol (Allario, 2009 ; Flowers et *al.*, 2015).

Cette stratégie communément utilisée consiste à accumuler dans le cytoplasme des solutés inorganiques comme les ions, le  $K^+$  en particulier, ou organiques tels que les sucres, les acides organiques et les acides aminés (Ruan et *al.*, 2010 ; Ben Nja, 2014). Quoiqu'ils soient accumulés à de très fortes concentrations, ces composés organiques présentent un fort niveau de solubilité et n'interagissent pas dans le métabolisme cellulaire (réplication d'ADN, interactions ADN-protéines et mécanismes métaboliques), ce qui a conduit à les appeler « solutés compatibles » ou « osmoprotecteurs » (Munns et Tester, 2008). Des sucres solubles (fructose, glucose, saccharose et tréhalose), des dérivés d'acides aminés quaternaires (proline et la glycine-bétaïne et la  $\beta$ -alanine bêtaïne) et des polyols (sorbitol, mannitol) sont les plus fréquemment rencontrés (Faghire, 2012 ; Beghin, 2019). Cependant, ils ne sont pas spécifiques au stress salin, leur accumulation est observée en conditions de différents stress abiotiques qui induisent une perturbation des teneurs en eau chez la plante (Beghin, 2019).

#### 4.4. Synthèse d'antioxydants

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont des molécules oxydantes regroupant principalement le superoxyde ( $O_2^-$ ), l'oxygène singulet ( $O_2^*$ ), le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) et l'ozone ( $O_3$ ). Leur synthèse par la plante ne constitue pas, en soi, une situation de stress oxydant, car elle se passe même en conditions normales pour agir comme molécules signal contribuant à la tolérance osmotique. Néanmoins, les conditions stressantes en induisent une surproduction.

Ben Nja (2014) souligne que dans une plante soumise aux contraintes salines, la genèse des ERO a pour origine un dysfonctionnement des métabolismes photosynthétique et respiratoire. Une réduction de la photosynthèse suite à une fermeture des stomates conduit à une diminution de la teneur en  $NADP^+$  réduisant les possibilités de piégeage de l' $O_2$  par les systèmes antioxydants couplés à la photosynthèse. La fermeture des stomates induit également une augmentation de la pression en  $O_2$  dans les feuilles, ce qui active la photorespiration au détriment de la photosynthèse chez les  $C_3$  et augmente la production de  $H_2O$  dans les peroxysomes (Ghannoum, 2009). De façon concomitante, les activités respiratoires, comme celles de plusieurs oxydases, dont la NADPH oxydase membranaire et la diamine oxydase cytotologique, sont stimulées, induisant une production accrue de ERO (Mazel et *al.*, 2004 ; Tsai et *al.*, 2005).

Une accumulation accrue des ERO entraîne la dégradation de la chlorophylle et des lipides membranaires et affecte l'activité enzymatique, les protéines et les acides nucléiques (Miller et *al.*, 2010 ; Balakhnina et *al.*, 2010). Pour limiter la production de ces composés ou maîtriser leur effet par détoxification, la plante peut mobiliser deux sortes d'antioxydants, enzymatiques et non enzymatiques. Une molécule est dite antioxydante si elle a le pouvoir de retarder ou empêcher l'oxydation d'un substrat, même lorsqu'elle est présente en une faible concentration par rapport à celle de ce substrat (Halliwell et Whiteman, 2004).

En revanche, l'accumulation des ERO sous conditions de stress est à l'origine de la stimulation des systèmes de défenses par l'enclenchement des voies de signalisation, qui stimulent l'augmentation d'activités enzymatiques antioxydantes et les mécanismes de réparation des dommages oxydatifs (Scandalios, 2005 ; Yaiche, 2017).

#### 4.4.1. Antioxydants enzymatiques

Les enzymes antioxydantes telles que le superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT), L'ascorbate peroxydase (APX) et la glutathion peroxydase (GPx) interviennent pour catalyser la conversion de formes antioxydantes et assurer leur régénération (Jallouli, 2019). Lors du cycle d'Asada, l'APX catalyse la transformation de l' $H_2O_2$  en  $H_2O$ , ce qui induit la production de monodéhydro-ascorbate et de déhydroascorbate. Ces composés sont, à leur tour, transformés sous l'action d'une réductase pour redonner de l'ascorbate (MDHAR) ou pour oxyder le glutathion réduit (GSH) en glutathion oxydé (GSSG). Sous l'action de la glutathion réductase, le glutathion oxydé est ensuite réduit en GSH (Beghin, 2019).

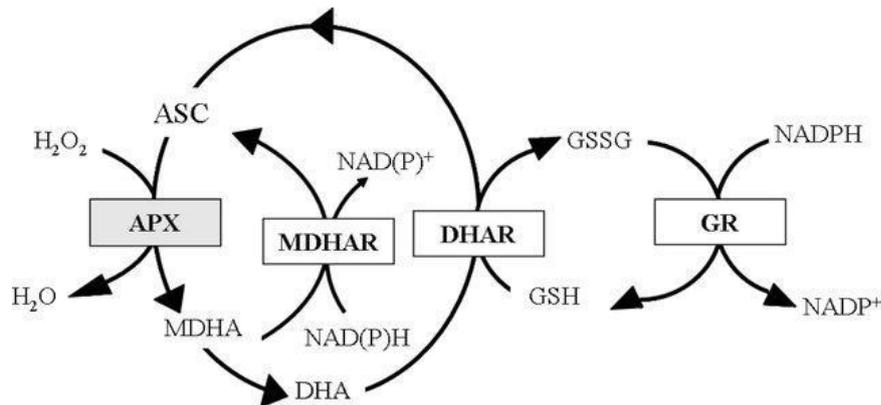


Figure 6. Cycle d'Asada (Beghin, 2019).

Outre les enzymes impliquées dans le cycle d'Asada, la catalase joue un rôle déterminant au sein des peroxysomes pour assurer la réduction de l' $H_2O_2$  produite par la photorespiration dont l'intensité augmente généralement en conditions de stress.

Les superoxydes dismutases (SOD) jouent un rôle fondamental dans la détoxification des anions superoxydes. Plusieurs SOD ont été identifiées dans le monde végétal : elles peuvent être associées au cuivre, au zinc, au manganèse ou au fer comme co-facteur (Yang et Guo, 2018).

### 4.4.2. Antioxydants non enzymatiques

Il s'agit là de molécules antioxydantes, de nature non enzymatique, que la plante synthétise pour empêcher la surproduction des ERO avant qu'ils n'induisent de dégâts (Miller *et al.*, 2010). Les plus connus chez les plantes sont le glutathion, les composés phénoliques, les flavonoïdes, les anthocyanes et l'acide ascorbique (Akram *et al.*, 2017). Selon Deng *et al.* (2012) et Ben Yahmed (2013), la fonction des enzymes antioxydantes n'est pas durable, car elles deviennent inactives dès le démarrage de la sénescence. Ils ajoutent qu'un système antioxydant non enzymatique performant améliorera la tolérance de la plante vis-à-vis du stress et permettra de protéger les enzymes antioxydantes des dégâts causés par les radicaux hydroxyles.

### 4.5. Induction hormonale

Les phytohormones sont des molécules indispensables à la régulation de processus biologiques comme la croissance, le développement et la reproduction, mais aussi les mécanismes de défense des plantes (Bari et Jones, 2009). Leur intervention constitue une des caractéristiques importantes des voies de signalisation de la résistance (Flowers *et al.*, 2015). Elles interviennent dans la signalisation intercellulaire en diffusant le signal émis par la cellule stressée aux cellules voisines et, par conséquent, au reste de la plante (Yaiche, 2017). Les principales molécules impliquées dans les mécanismes de résistance sont l'acide salicylique (AS), l'acide jasmonique (AJ), l'acide abscissique (ABA) et l'éthylène (ET) (Bari et Jones, 2009 ; Lopez *et al.*, 2008). Dans ses études effectuées sur les pathogènes nécrotrophes (stress biotiques), Van Loon *et al.* (2006) affirment que l'acide salicylique exerce le rôle majeur dans l'activation de défense contre les pathogènes, tandis que le AJ et l'ET sont préférentiellement associés. Les cytokinines (CK), les gibbérellines (GA), les brassinostéroïdes (BR), et l'auxine (AIA) peuvent également intervenir dans la résistance, mais les études à ce propos ne sont pas assez nombreuses pour le confirmer (Pieterse et van Loon, 2007).

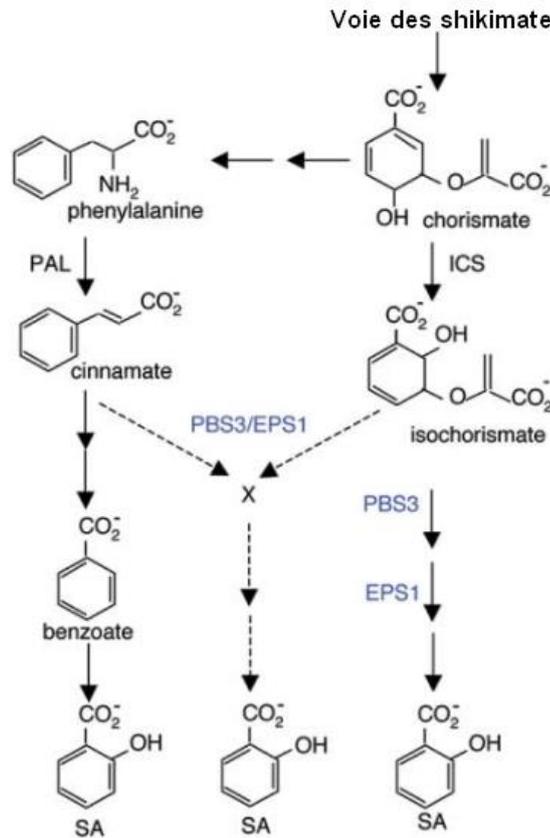
## 5. Acide salicylique, hormone de stress

L'acide salicylique (AS) est une phytohormone de nature phénolique associée au stress biotique, mais ces dernières années il y a eu de plus en plus des rapports sur la participation de l'AS dans les réponses des plantes aux stress abiotiques, dont la salinité (Hayat et *al.*, 2010 ; Khelloufi, 2017). Il est présent chez tous les végétaux, mais les plus fortes teneurs sont rencontrées dans les tissus attaqués par des agresseurs pathogènes (Hopkins, 2003 ; Dempsey et *al.*, 2011). Il a été identifié dans 36 plantes appartenant à des groupes taxonomiques différents, entre autres, le riz, le soja et l'orge où la teneur en acide salicylique est d'environ 1 mg/g de matière fraîche (Hayat *et al.*, 2010). L'AS est un composé phénolique synthétisé dans les plantes en réponse à plusieurs stress biotiques et abiotiques (Loake et Grant, 2007 ; Shahba et *al.*, 2014). Bien que Jayakannan et *al.*, (2015) soulignent qu'un apport exogène d'AS inhibe la germination des graines chez de nombreuses espèces, l'inverse a été rapporté par (Lee et *al.*, 2010 ; Echi et *al.*, 2013) lorsqu'il est appliqué en présence de la salinité. C'est une hormone impliquée dans la synthèse des kinases, qui jouent un rôle important dans la régulation de la division et la différenciation cellulaire (Shahba et *al.*, 2014).

### 5.1. Identification biochimique et biosynthèse

L'acide salicylique ( $C_7H_6O_3$ ) est un composé phénolique présent en abondance dans l'écorce et les feuilles de saule (*Salix alba*) et dans les fruits, sous forme estérifiée de salicylate de méthyle (Heller, 1998). A l'état libre, l'aspect d'une poudre cristalline, peu soluble dans l'eau, mais hautement soluble dans des solvants polaires organiques, fondant à 157-159 °C (Montserrat, 2009). Il entre dans la composition de l'aspirine sous la forme connue d'acétylsalicylique. Il est utilisé comme conservateur alimentaire et comme substance antiseptique, mais son intégration en grandes quantités peut être toxique pour les êtres vivants (Boukraa, 2016). Vu son rôle de signalisation en cas stress biotiques ou abiotiques, les entreprises de l'agro-alimentaire cherchent à développer des produits à base d'acide salicylique capables de stimuler les défenses naturelles des plantes (Hopkins, 2003 ; Faessel et *al.*, 2014).

Deux voies de biosynthèse sont responsables de la production de l'acide salicylique. Il peut être synthétisé par voie de la phénylanine via la PAL et/ou à partir du chorismate via l'isochorismate synthase.



**Figure 7.** Voie de biosynthèse de l'acide salicylique (Chen et *al.*, 2009).

PAL : phénylalanine amonia-lyase ; IPL : isochorismate pyruvate lyase ; BA2H : benzoic-acid-2hydroxylase ; ICS: isochorismate synthase.

## 5.2. Acide salicylique, éliciteur de défense

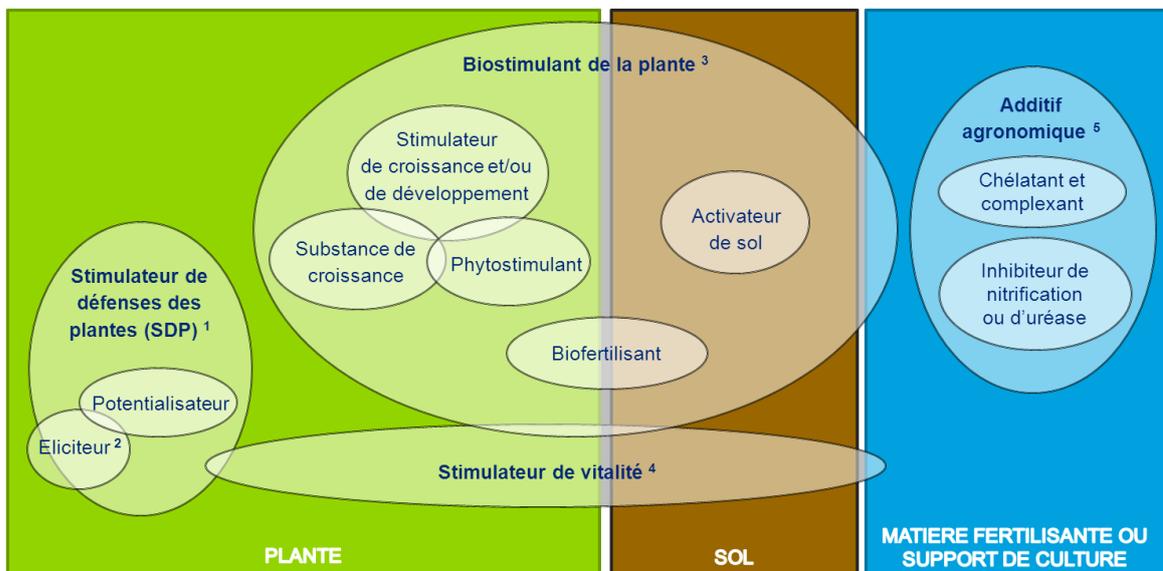
Les plantes produisent des métabolites secondaires très diversifiés (alcaloïdes, terpènes, polyphénols) qui ne sont pas indispensables à la croissance et au développement, mais qui sont essentiels pour l'adaptation et la défense vis à vis des stress (Ramirez-Estrada et al., 2016 ; Gourguillon, 2017). L'élicitation est une technique utilisée pour augmenter la production de métabolites d'intérêt. Un éliciteur est un composé qui stimule les réactions de défense et peut donc induire le métabolisme secondaire pour protéger les cellules et la plante entière (Baenas et al., 2014 ; Ramirez-Estrada et al., 2016).

La terminologie associée aux produits de stimulation est variée et complexe du fait du de l'absence de son harmonisation entre les scientifiques d'une part et entre eux et les autres opérateurs, à savoir les professionnels producteurs, les agriculteurs utilisateurs et les textes d'homologation. Ainsi, le terme « éliciteur » fortement utilisé dans la littérature scientifique correspond à celui préféré dans les textes réglementaires officiels et le langage des organisations professionnelles : Stimulateur de Défenses Naturelles (SDN) ou stimulateur de Défense des Plantes (SDP) (Faessel et al., 2014). (Fardeau et Jonis, 2003), scientifiques de l'Institut Technique de l'Agriculture Biologique (ITAB) et l'Institut National de la Recherche

Agronomique (INRA), définissent un éliciteur comme « substance capable, dans certaines conditions, de stimuler des mécanismes de défenses naturelles. Ces défenses naturelles seraient dirigées soit contre des bioagresseurs (maladies des cultures, mauvaises herbes), soit contre des stress abiotiques ». Quant au SDN ou SDP, l'Association Française de Protection des Plantes (AFPP) les définit, en 2013, comme « substances ou produits, naturels ou non, capables d'induire (ou de préparer à l'induction), chez les plantes traitées, un état de résistance aux bioagresseurs ». Selon la même source, on parle d'« éliciteur exogène » lorsque ce dernier est libéré ou porté par un agent pathogène ou un ravageur et il est appelé « éliciteur endogène » s'il est produit par la plante elle-même sous l'action d'un stress.

A cet effet, Faessel *et al.* (2014) ont établi une cartographie regroupant et organisant les termes courants en fonction des définitions et des destinations des produits de stimulation, à savoir la plante, le sol ou les Matières Fertilisantes ou Supports de Culture (MFSC). Deux grandes catégories sont, ainsi, à distinguer (Figure 8):

- **Les SDP (ou SDN) :** Substances ou micro-organismes dont la cible est la plante afin d'y induire les réponses de défense face aux stress biotiques. Certains éliciteurs peuvent être compris.
- **Les biostimulants :** ayant comme cible la plante, le sol et/ou les MFSC et servant à favoriser la croissance, le développement et la nutrition des plantes. Sont compris dans les biostimulants une diversité de termes entre autres certains éliciteurs.



**Figure 8.** Cartographie des cibles des principales terminologies identifiées pour les produits de stimulation des plantes (Faessel *et al.*, 2014).

L'élicitation peut être de nature biotique ou abiotique ; elle est généralement reconnue par des récepteurs membranaires des cellules végétales, la transduction du signal engendrera ensuite des variations dans le métabolisme (Zhao et al., 2005). Parmi les éliciteurs biotiques, on retrouve les éliciteurs exogènes qui proviennent d'organismes non végétaux, et les éliciteurs endogènes qui sont des hormones végétales. Ainsi, la production d'éliciteurs endogènes peut être induite par des éliciteurs exogènes ou abiotiques (Gourguillon, 2017). Les éliciteurs peuvent déclencher sous stress abiotique une cascade d'événements menant à l'expression de résistance via la production d'osmoprotecteurs qui permettent de maintenir l'équilibre hydrique entre la cellule et son environnement, la régulation de l'ouverture des stomates ainsi que la synthèse des protéines de stress comme l'osmotine (Zhu, 2003).

L'acide salicylique (AS) est fréquemment utilisé comme éliciteur pour augmenter la synthèse de métabolites secondaires (Dias et al., 2016). Il permet de porter au double la teneur en phénylpropanoïde d'*Hypericum perforatum* (Gadzovska et al., 2013) et tripler les ginsenosides dans des suspensions de *Panax ginseng* (Ali et al., 2006). Un triplement de la teneur en acide gymnésique a été observé chez *Gymnema sylvestris* (Chodisetti et al., 2015). L'AS est aussi utilisé pour stimuler la biosynthèse des alcaloïdes (Wang et al., 2007). D'autres analogues ou dérivés de l'AS peuvent être utilisés comme éliciteurs, c'est le cas de l'acide 2,6-dichloroisonicotinique ou du benzothiadiazole (Ramirez-Estrada et al., 2016).

### 5.3. Acide salicylique, éliciteur d'adaptation aux stress abiotiques

Plusieurs recherches suggèrent que l'AS et certains de ses dérivés tels que l'acide sulfosalicylique (ASS) et l'acétyl acide salicylique (AAS) participent à la régulation de plusieurs voies métaboliques et physiologiques sous conditions abiotiques (Shakirova et al., 2003). L'apport exogène de l'AS peut être effectué par irrigation ou par pulvérisation foliaire. Son application exerce des effets positifs en augmentant la tolérance au froid chez le blé et le maïs (Nemeth, 2002) et le poivron (Korkmaz, 2007), au gel chez le maïs (Janda et al., 2005) et à la salinité chez *Arabidopsis thaliana* (Borsani, 2005), l'orge (El-Tayeb, 2005), le blé (Nazar, 2015) ainsi qu'à la sécheresse chez la tomate et la fève (Senaratna et al., 2000) et le melon (Korkmaz et al., 2007). Cependant, Szalai et al. (2005) signalent que la combinaison de l'AS à des concentrations élevées de NaCl peut aboutir à une augmentation du taux de l'un de ses précurseurs qui est l'acide-*o*-hydroxy-cinnamic (OHCA) chez le maïs. D'autre part, Mabood et Smith (2007) révèlent que l'AS inhibe l'expression des gènes de nodulation chez les Rhizobia, alors que Martinez-Abarca et al. (1998) rapportent qu'une accumulation de l'AS a été observée dans les racines de la luzerne, inoculées avec une souche incompatible de *Rhizobium* ou avec une souche mutante NOD.

## 6. Fabaceae

### 6.1. Généralités

La famille des *Fabaceae* emprunt son nom du genre *Faba* (du latin *faba* signifiant fève). Or, le genre *Faba* n'est plus courant et s'est succédé par le genre *Vicia*. Par conséquent, la fève, autrefois appelée *Faba vulgaris*, est nommée maintenant *Vicia faba*. En termes de surfaces consacrées et productions réalisées, les *Fabaceae*, appelées couramment *Légumineuses*, constituent la seconde famille de plantes cultivées après les céréales (Gepts et al., 2005). Leur diversité spécifique, 700 genres et 20.000 espèces, leur confère une grande diversité morphologique, allant des plantes herbacées, voire lianes, aux grands arbres forestiers (Gepts et al., 2005). Les taxonomistes subdivisent cette famille en trois sous-familles : les *Papilionoïdées*, que l'on rencontre majoritairement dans les régions tempérées, les *Mimosoïdées* et les *Césalpinioïdées* (Bargaz, 2012). Sur 976 espèces des 18 genres de *Fabacées* fourragères et/ou pastorales, 336 espèces sont endémiques à la région méditerranéenne (Abdelguerfi et Abdelguerfi-Laouar, 2004). Les *Papilionoideae* sont la plus grande sous famille de l'arbre des *Fabaceae*. On distingue les protéagineux à graines (pois, haricot, féverole, pois chiche et lentilles), les protéagineux fourragers (luzerne et trèfle) et les oléoprotéagineux (soja et arachide).

Les *Légumineuses* fournissent majoritairement des glucides et des protéines en plus d'une variété éléments nutritionnels, lipides, fibres, éléments minéraux et vitamines (Schneider et al., 2015). Les espèces à graines contiennent de 20 à 40% de protéines et sont particulièrement riches en lysine et acide aminé essentiel pour la croissance (Duranti et Gius, 1997). Elles couvrent 33% des besoins humains en protéines (Rugheim et al., 2012), fournis principalement par la culture du haricot, petit pois, pois chiche et fève (Graham et Vance, 2003). Le soja et l'arachide fournissent plus de 35% des besoins mondiaux en huiles végétales (FAO, 2007). La luzerne et le trèfle constituent une base importante de la production de lait et de viande rouge en raison de leur richesse en énergie, azote et fibres (Gama et al., 2007). Au-delà de ces vertus, certaines espèces légumineuses sont utilisées dans la production d'une large gamme de produits industriels, entre autres, les biocarburants, les plastiques biodégradables et les isoflavones pour réduire les risques de cancer et diminuer le taux de cholestérol sanguin (Graham et Vance, 2003 ; Gepts et al., 2005).

Par ailleurs, les plantes de cette famille ont la capacité de former des symbioses avec les bactéries fixatrices d'azote atmosphérique du genre *Rhizobium*. C'est une symbiose spécifique, car une souche de rhizobiums ne peut infecter qu'un nombre limité d'espèces de légumineuses. L'interaction entre la plante hôte et les rhizobiums commence par un échange de signaux moléculaires (Long, 1996). Les racines exsudent des composés phénoliques, flavonoïdes,

capables d'activer la transcription des gènes *Nod* chez les Rhizobiums. Le *NodD*, gène synthétisé de façon constitutive, est impliqué dans la reconnaissance du signal et dans l'activation de la transcription des autres gènes *Nod* (*nod*, *noe* et *nol*) (Aoki et al., 2010). Grâce à leur capacité symbiotique, les *Fabaceae* constituent un excellent précédent cultural pour les cultures exigeantes en engrais azotés, en enrichissant le sol en quantités considérables d'azote ammoniacal (Rachef et al., 2005). Elle permet une économie d'intrants, lors de leur culture et celle des productions suivantes, estimée entre 40 et 60 millions de tonnes d'azote par an (Graham et Vance, 2003). Ainsi, leur intégration des cultures dans les systèmes agro-écologiques permet d'économiser les coûts de fertilisation azotée et d'éviter les émissions polluantes liées à la fabrication et à l'épandage d'engrais azotés industriels, au stockage et l'épandage des effluents d'élevage ou des boues résiduelles industrielles ou urbaines (Schneider et al., 2015).

### 6.2. La fève (*Vicia faba* L.)

#### 6.2.1. Aperçu général

La fève (*Vicia faba* L.) est une plante annuelle qui peut être cultivée sous des climats variés, du niveau de la mer jusqu'à une altitude de 3700 m (Gordon, 2004). Son cycle biologique se boucle au bout de 5 mois, passant par six stades, germination, levée, développement végétatif, développement reproductif, sénescence de la gousse et sénescence de la tige (Chaux et Foury, 1994 ; Brink et Belay 2006). Les variétés cultivées dans les pays du bassin méditerranéen sont de jours courts, elles nécessitent une photopériode minimale de 9 heures et 30 minutes pour fleurir (Patrick et Stoddard, 2010). Les graines de la fève peuvent se maintenir 6 à 10 ans et même plus, elles ont une germination hypogée, c'est-à-dire que les cotylédons restent en terre et l'épicotyle seul émerge du sol (Chaux et Foury, 1994). Gallais et Bannerot (1992) répartissent l'espèce *Vicia faba* L., selon la taille des graines, en 3 sous-espèces : (i) *Vicia faba minor*, féverole, caractérisée par des graines de petite taille et servant à l'alimentation du bétail ; (ii) *Vicia faba equina*, autre féverole, ayant des graines moyennes et destinée également à l'alimentation du bétail et (iii) *Vicia faba major*, fève destinée à la consommation humaine, dont les graines sont grosses.

#### 6.2.2. Origine

*Vicia faba* L. est originaire des régions du Moyen Orient (Peron, 2006). Des restes remontant à 6.000 ans de cette culture ont été trouvés à Jerico, en Palestine (Cuberoj, 2011). C'est une espèce qui a été domestiquée très tôt dans le monde. Peron (2006) suggère que la

fève, le pois et la lentille sont les plus vieilles espèces légumières introduites, avant 10.000 ans, en agriculture.

### 6.2.3. Valeur nutritionnelle

Vu sa teneur élevée en protéines, lipides, fibres solubles et insolubles, glucides complexes, vitamines (B9 et C) et en minéraux, notamment le potassium, le phosphore, le calcium, le magnésium, le cuivre, le fer et le zinc (Gordon, 2004), la fève constitue un aliment nutritif très important surtout pour les populations à faible revenus (Daoui, 2007). Ses graines sont également riches en composés phénoliques, y compris flavonols, quercitine, myricétine et un groupe de flavonoïdes supplémentaire appelé catéchines (Balakhnina et *al.*, 2010).

### 6.2.4. Contraintes biotiques et abiotiques

La fève est soumise à plusieurs maladies et ravageurs, à savoir des maladies fongiques (les tâches de chocolat causée par *Botrytis cinerea* et *Botrytis fabae*, l'anthracnose, la rouille, etc.), des maladies virales telle que la mosaïque jaune et des insectes ravageurs (les pucerons, le lixus, le bruche de la fève, etc.) (Rachef et *al.*, 2005). D'après Zaghouane (1991), les contraintes environnementales varient en fonction de la localisation géographique et des conditions agro-écologiques. Elles s'expriment notamment par le gel lors de la floraison et le siroco qui affecte les gousses encore jeunes. La littérature scientifique indique que la fève est considérée comme glycophyte moyennement tolérante à la salinité et sensible à la sécheresse.

# **Matériel et méthodes**

## Chapitre II. Matériel et méthodes

### 1. Matériel végétal

Le choix du matériel végétal est porté sur la fève *Vicia faba* L. car en plus de son importance écologique, agronomique et nutritionnelle, elle constitue une véritable plante modèle pour les études de comportement des plantes aux stress abiotiques.

Deux génotypes, très cultivés dans les exploitations algériennes, ayant différents degrés de tolérance à la salinité à savoir 'Aguadulce' et 'Histal' ont été testés dans la présente étude. Les semences traitées des deux génotypes ont été fournies et commercialisées par la firme espagnole «Semillas Fito SA».

### 2. Conditions de culture

Des graines saines et homogènes ont été stérilisées en utilisant de l'hypochlorite de sodium (0,5%, v/v) pendant 5 minutes, suivies de plusieurs lavages avec de l'eau distillée. Après cela, les graines ont été mise à germer entre du papier filtre humide mis dans des boîtes de Pétri dans une chambre de croissance sous des conditions contrôlées (température de 18 à 25 °C, humidité relative entre 70 à 90%) à l'obscurité.

Après germination, les plantules saines et uniformes ont été sélectionnées et transplantées individuellement dans des pots de culture contenant un mélange de tourbe commerciale et de vermiculite (v: v).

La culture a été menée sous des conditions contrôlées dans une serre ( $600 \mu\text{mol m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  d'intensité lumineuse, température 25/18 °C jour/nuit, 16 h de photopériode et 70% d'humidité relative). Les plantules ont été irrigués avec une solution nutritive complète de Hoagland deux à trois fois par semaine.

### 3. Conduite de l'expérience

Les expériences ont été réalisées sur des plants âgés de quatre semaines. Le stress salin a été induit par l'apport du NaCl à deux concentrations 100 et 200 mM. De plus, l'acide salicylique a été appliqué à des concentrations de 0.5 mM et 1.0 mM ( $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_3$ ; acide 2-hydroxybenzoïque; Sigma-Aldrich, C 99.0%).

L'acide salicylique a été dissous dans 0.02% de Tween 20 (polyoxyéthylènesorbitan monolaurate, Sigma Chemicals, Royaume-Uni).

Le NaCl ou l'acide salicylique (mélangé avec du Tween-20) ont été dissous dans la solution nutritive de Hoagland qui a été appliquée directement sur les pots pour l'irrigation. Les plantes

témoins ont été irrigués avec la solution nutritive Hoagland sans apport de NaCl ni de l'acide salicylique. Les plantes non traitées avec de l'acide salicylique ont reçu le même volume de Tween-20 ajouté à la solution nutritive pour l'homogénéité des traitements.

Lot (I) : Traitement témoin

- ✓ Témoin + 0 mM d'A.S
- ✓ Témoin + 0.5 mM d'A.S
- ✓ Témoin + 1 mM d'A.S

Lot (II) : Traitement à la solution saline concentrée à 100 mM

- ✓ 100 mM de NaCl + 0 mM d'A.S
- ✓ 100 mM de NaCl + 0.5 mM d'A.S
- ✓ 100 mM de NaCl + 1 mM d'A.S

Lot (III) : Traitement à la solution saline concentrée à 200 mM

- ✓ 200 mM de NaCl + 0 mM d'A.S
- ✓ 200 mM de NaCl + 0.5 mM d'A.S
- ✓ 200 mM de NaCl + 1 mM d'A.S

Il est à noter qu'aucun dommage visible n'a été observé sur les plantes stressées au cours de l'expérience. Dans l'ensemble, les plantes ont été disposées selon un plan factoriel complet avec deux génotypes de la fève, trois traitements au sel (c'est-à-dire 0, 100 et 200 mM NaCl) et trois traitements à l'acide salicylique (c'est-à-dire 0, 0.5 et 1 mM AS).

Pour chaque traitement, huit répétitions ont été établies et analysées. Les plantes ont été récoltées après dix jours de traitement.

#### **4. Mesures et analyses effectués**

##### **4.1. Paramètres liés à la croissance**

Le poids sec des parties aériennes et des racines (mg) a été déterminé à l'aide d'une balance de précision après le passage des échantillons à l'étuve à 80 °C pendant 48 heures.

##### **4.2. Détermination du statut hydrique**

###### **4.2.1. Potentiel hydrique foliaire**

Le potentiel hydrique des feuilles ( $\Psi$  feuille) des plantes témoins et stressées a été mesuré en utilisant une chambre à pression selon la méthode de Scholander et al. (1965).

#### 4.2.2. Teneur relative en eau

La teneur relative en eau de la feuille (TRE) a été déterminée par la méthode décrite par Barrs et Weatherley (1962). Selon cette méthode, l'avant dernière feuille est coupée à la base du limbe, elle est pesée immédiatement pour déterminer le poids frais initial (Pfi).

La partie excisée de la feuille est plongée 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 ensuite retirée et passée dans un papier buvard pour absorber l'eau de la surface et puis 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 de la feuille est estimée par l'équation suivante :

$$\text{TRE (\%)} = [\text{Pfi} - \text{Ps}] / [\text{Ppt} - \text{Ps}] \times 100$$

#### 4.3. Mesure des échanges gazeux photosynthétiques

La conductance stomatique ( $g_s$ , mol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), la transpiration foliaire ( $E$ , mmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), l'assimilation nette de CO<sub>2</sub> ( $P_n$ , μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), la concentration intercellulaire en CO<sub>2</sub> ( $C_i$ , μmol CO<sub>2</sub> mol<sup>-1</sup>), et l'efficacité instantanée d'utilisation de l'eau (WUE inst; μmol CO<sub>2</sub> mmol<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O) ont été déterminées par un système portable de photosynthèse (Model Li-6400, LICOR Biosciences Inc., Lincoln, USA).

Les mesures ont été directement effectuées entre 9h00 et 12h00 sur les feuilles des plantes soumises aux divers traitements. Les valeurs de ces paramètres ont été prises après stabilisation des niveaux photosynthétiques.

#### 4.4. Mesure de l'activité du photosystème II

L'émission de la fluorescence de la chlorophylle a, permet l'évaluation de l'activité du photosystème II qualifiée comme étant l'efficacité photochimique maximale du PSII ( $F_v/F_m$ ). Cette mesure a été réalisée à l'aide d'un Handy Plant Efficiency Analyser (Handy PEA, Hansatech Ltd, UK).

Cet appareil consigne automatiquement la fluorescence initiale ( $F_0$ ): c'est la valeur minimale de la fluorescence lorsque tous les accepteurs d'électrons du photosystème II (PSII) sont complètement oxydés. La fluorescence initiale  $F_0$  a pour origine les chlorophylles qui forment les antennes collectrices du PSII. La fluorescence maximale ( $F_m$ ) correspond à la valeur maximale de la fluorescence obtenue pour la même intensité lumineuse. Cette valeur est

obtenue lorsque toutes les premières quinones accepteuses d'électrons sont complètement réduites et le rendement quantique est exprimé par le rapport  $F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$ , dans lequel  $F_v$  est la fluorescence variable.

Le rendement quantique traduit l'efficacité du PSII à utiliser la lumière pour la conversion photochimique (effet Kausky). La valeur du rendement quantique approche la valeur de 0.8 chez une plante non stressée, et diminue chez les plantes soumises à la contrainte.

Avant les mesures, le limbe foliaire est pré-adapté à l'obscurité en plaçant le clip du fluoromètre sur ce dernier en position fermée pendant 30 minutes. Sur le plan physiologique, cette opération supprime le flux des photons source d'énergie pour la photosynthèse, ceci vide la chaîne de transfert d'électrons. Les centres réactionnels sont alors totalement disponibles.

La fluorescence est induite par une lumière rouge de 600 w/m<sup>2</sup> produite par trois diodes placées dans la tête de mesure. Cette tête de mesure est placée sur les pinces, et immédiatement après les 30 min d'adaptation à l'obscurité, la pince est mise en position ouverte et la mesure est effectuée sur la surface testée. Les accepteurs d'électrons du PSII sont saturés. L'énergie lumineuse excédant les possibilités de collecte du PSII est alors réémise sous forme de fluorescence, selon une cinétique particulière. Ensuite, la chaîne de transfert d'électrons s'enclenche et atteint un régime stationnaire.

L'intensité de la fluorescence monte rapidement d'une valeur initiale  $F_0$  vers une valeur maximale ( $F_m$ ) en moins d'une seconde. L'acquisition des données à la longueur d'onde de 730 nm se fait pendant une seconde : toutes les 10  $\mu$ s pendant les deux premières millisecondes et ensuite chaque milliseconde.

### 4.5. Mesure de l'intégrité membranaire

L'intégrité membranaire est évaluée par la quantification de la fuite relative d'ions estimée par la mesure de la conductivité sur des disques foliaires de 1 cm selon la méthode décrite par Li et al. (2014). La conductivité électrique ( $EC_0$ ) des disques foliaires prélevés à partir de la feuille et mis à flotter dans 20 mL d'eau distillée est mesurée. Les disques sont ensuite mis à bouillir pendant 5 minutes à 60 °C, la lecture de la conductivité correspondante au flux d'ions ( $EC_1$ ) est également effectuée. La troisième mesure de la conductivité est effectuée après l'augmentation de la température des disques à 100 °C. L'intégrité membranaire est déterminée selon l'équation suivante :

$$\text{Fuite relative d'ions (\%)} = [(EC_1 - EC_0) / (EC_2 - EC_0)] \times 100$$

#### **4.6. Dosage des ions sodium et potassium**

Après dessiccation, le matériel végétal est réduit en poudre fine au moyen d'un mortier en porcelaine. Des quantités connues de poudre végétale (de l'ordre de 30 mg) préalablement desséchées sont attaquées par l'acide nitrique (HNO<sub>3</sub>) à 0.5% sous une température ambiante pendant 4 jours. Les extraits sont par la suite filtrés sur du papier filtre. Les ions Na<sup>+</sup> et K<sup>+</sup> sont dosés par spectrophotométrie à flamme.

#### **4.7. Mesure des activités enzymatiques des antioxydants**

Les activités enzymatiques de la superoxyde dismutase (SOD), de la catalase (CAT), de l'ascorbate peroxydase (APX), et de la glutathion réductase (GR) ont été déterminées selon le protocole décrit par Carkmak et al. (1993).

##### **4.7.1. Extraction des enzymes**

Les enzymes antioxydantes ont été extraites à 4 °C par homogénéisation de 500 mg poids frais de feuilles dans Tris-HCl (100 mM, pH 7.5) contenant dithiotrol (5 mM), MgCl<sub>2</sub> (10 mM), EDTA (1.0 mM), acétate de magnésium (5 mM), PVP (1.5%), PMSF (1.0 mM) et 1 µg/mL d'aprotinine dans un mortier en porcelaine. L'homogénat a été centrifugé à 10.000 rpm pendant 15 minutes à 4° C et l'activité enzymatique du surnageant est immédiatement mesurée.

##### **4.7.2. Activité Superoxyde dismutase (SOD) (EC 1.15.1.1)**

L'activité superoxyde dismutase (SOD) est déterminée en mesurant par spectrophotométrie à 560 nm l'inhibition de la réduction photochimique du nitro-bleu de tétrazolium (NBT) par l'anion superoxyde produit suite à la photo-réaction de l'oxygène et de la riboflavine en présence d'un donneur d'électron comme la méthionine. Une unité d'activité SOD est définie comme étant la quantité d'enzyme nécessaire pour une inhibition de 50% du taux de réduction du NBT.

Le milieu réactionnel est constitué de 2.2 mL de tampon phosphate (0.1 M, pH 7.8), de 0.25 mL de méthionine (13 mM), de 0.25 mL de riboflavine (1.2 µM), de 0.25 mL de NBT (63 µM), de d'EDTA à 0,1 mM, et 50 µL de l'extrait enzymatique.

La réaction est effectuée à 25 °C sous une intensité lumineuse de 500 watts pendant 15 minutes. La réaction est ensuite arrêtée en plaçant la plaque à l'obscurité et à 4°C pendant environ 10 minutes, puis l'absorbance est lue au spectrophotomètre. Un témoin est réalisé et placé directement à l'obscurité. Le maximum de réduction photochimique du NBT, A<sub>max</sub>, est déterminé à partir de puits exposés à la lumière et contenant le mélange réactionnel sans extrait

enzymatique. Le pourcentage d'inhibition de la réaction photochimique du NBT par les SODs est calculé selon la formule :

$$\text{SOD} = (\% \text{ inh} / 50) / (\text{C prot} \times \text{Ve})$$

avec

$$\% \text{ inh} = ((\text{Ae} / \text{Ac}) \times 100)$$

C prot : concentration en protéine obtenues par la méthode de Bradford (mg/mL)

Ve : volume de l'extrait

% inh : pourcentage d'inhibition de la réaction de formation du formazan

Ae : absorbance de l'extrait (Abs lumière – Abs obscurité)

Ac : absorbance du contrôle

#### 4.7.3. Activité Catalase (CAT) (EC 1.11.1.6)

La CAT catalyse la décomposition du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en H<sub>2</sub>O et O<sub>2</sub>. L'activité catalase (CAT) est mesurée par spectrophotométrie en suivant la disparition du peroxyde d'hydrogène à 240 nm.

Le milieu réactionnel est constitué de 2.55 mL de tampon phosphate (50 mM, pH 7) et de 200 µL d'extrait enzymatique. La réaction est initiée par l'ajout de 250 µL d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (37.5 mM). La réaction est suivie par l'enregistrement de l'absorbance à 240 nm pendant une minute.

#### 4.7.4. Activité Ascorbate peroxydase (APX) (EC 1.11.1.11)

L'activité ascorbate peroxydase (APX) est mesurée par spectrophotométrie en suivant l'oxydation de l'ascorbate par le peroxyde d'hydrogène à la longueur d'onde de 340 nm.

La réaction catalysée est la suivante :



Le milieu réactionnel est constitué du tampon phosphate (50 mM, pH 7), d'acide ascorbique (0.5 mM), du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (0.4 mM) et d'extrait enzymatique.

L'activité enzymatique est calculée en utilisant le coefficient d'extinction de l'ascorbate qui est de 2.8 mM<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>.

#### 4.7.5. Activité Glutathion réductase (GR) (EC 1.6.4.2)

L'activité glutathion réductase (GR) est mesurée par spectrophotométrie en suivant la disparition du NADPH à 340 nm. La réaction catalysée est la suivante :



Le milieu réactionnel est constitué de 400  $\mu\text{L}$  de tampon phosphate (0.1 M, pH 7.8), de 25  $\mu\text{L}$  de glutathion oxydé (10 mM), de 25  $\mu\text{L}$  de NADPH (0.5 mM), de 50  $\mu\text{L}$   $\text{MgCl}_2$  (3 mM) et 100  $\mu\text{L}$  d'extrait enzymatique.

La réaction est initiée par l'ajout du NADPH+H<sup>+</sup>. L'activité enzymatique est suivie en fonction du temps par mesure de l'absorbance à 340 nm (une mesure toutes les minutes pendant 30 min à 25°C). La quantité de glutathion réduit par seconde est calculée à partir de la pente initiale en utilisant le coefficient d'extinction du NADPH à 340 nm,  $\epsilon=6.2 \text{ mM}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ .

#### 5. Analyses statistiques

Avant l'analyse, le test de Levene a été appliqué pour vérifier l'analyse des exigences de variance. L'importance des différences entre différents les traitements ont été évalués à l'aide d'une analyse de variance, avec un degré de confiance de 95% niveau. Le test de Duncun post-hoc a été utilisé pour estimer l'homogénéité des groupes. Les corrélations entre les paramètres mesurés ont été déterminées en se basant sur le coefficient de Pearson.

# Résultats

## Chapitre III. Résultats

D'innombrables études indiquent que des baisses considérables en productions agricoles sont dues à la salinité. Ce qui entraîne d'énormes pertes économiques et financières que supportent les états voulant faire face aux besoins alimentaires de leurs populations, qui ne cesse d'augmenter. Ce dilemme a conduit les scientifiques à s'orienter vers la sélection variétale des espèces cultivées afin d'augmenter leur tolérance au stress salin. Etant donné que l'acide salicylique est considéré comme molécule de signalisation de stress, le présent travail suppose qu'un apport exogène pourrait modérer les effets agressifs de la salinité que peuvent subir les deux génotypes de fève (*Vicia faba* L.) testés, Aguadulce et Hystal, sous des concentrations croissantes de NaCl. L'accent a été mis sur une éventuelle variabilité dans la réponse physiologique et moléculaire au sein de l'espèce.

### 1. Paramètres de croissance

La biomasse végétale, au niveau aérien ainsi qu'au niveau des racines, est l'un des marqueurs morphologiques les plus discriminants qui traduisent l'effet des conditions environnementales sur la croissance des plantes. A cet effet, il a été déterminé le poids sec foliaire et racinaire.

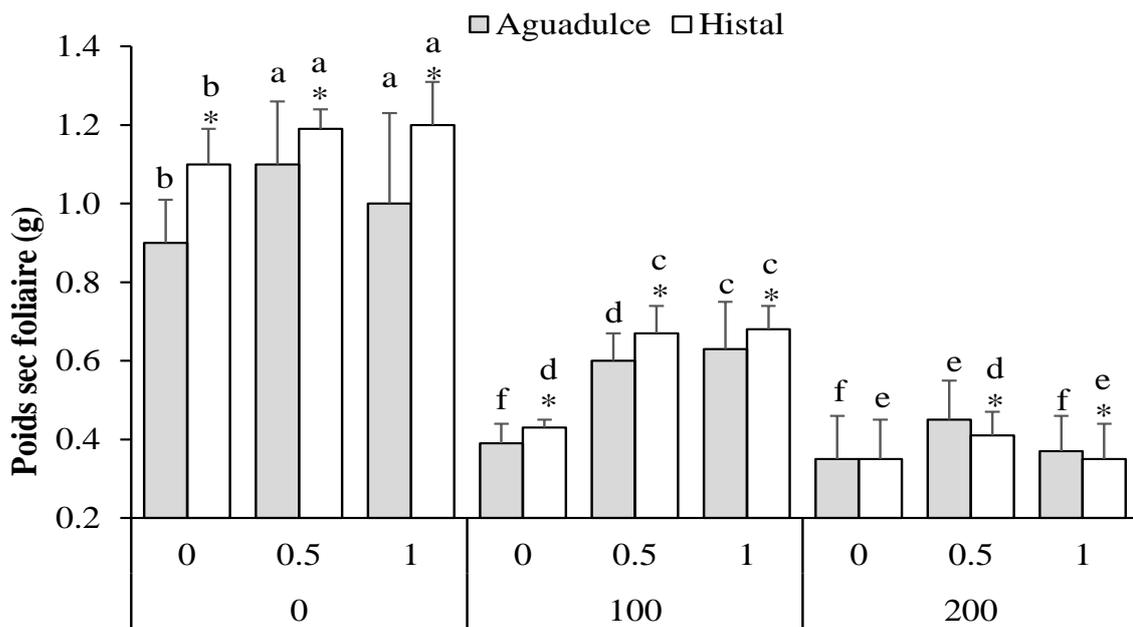
#### 1.1. Poids sec foliaire

Hormis les plantes soumises à la salinité élevée à 200 mM NaCl, le poids sec foliaire s'avère significativement supérieur chez le génotype Hystal par rapport au génotype Aguadulce (Fig. 9).

Les plants des deux génotypes subissent une baisse très hautement significative ( $P < 0.000^{***}$ ) de leur poids sec foliaire comparativement au témoin lorsque le milieu devient de plus en plus concentré en sel. Cela se traduit par des taux de réduction respectifs de 56.67% et 61.11% chez le génotype Aguadulce et de 60.91% et 68.18% chez le génotype Hystal sous les concentrations salines respectivement élevées à 100 et 200 mM de NaCl ( $P < 0.000^{***}$ , Fig. 9).

Pour ce qui est de l'effet de l'application de l'acide salicylique, des augmentations significatives du poids sec foliaire sont enregistrées chez les deux génotypes, que ce soit sous les conditions contrôles ou celles stressées à 100 mM de NaCl ( $P < 0.000^{***}$ ). Dans les milieux dépourvus de salinité, les taux d'augmentation enregistrés chez le génotype Aguadulce sont de l'ordre de 22.22% et 11.11% respectivement sous 0.5 et 1 mM d'acide

salicylique. Cependant, les taux d'augmentation sont de l'ordre de 8.18% et 9.09% chez le génotype Hystal. Quant aux plantes stressées à 100 mM de NaCl, l'apport de l'acide salicylique a entraîné des augmentations significatives avec des taux respectifs de 53.85% et 61.54% chez le génotype Aguadulce contre 55.81% et 58.14% chez le génotype Hystal. Néanmoins, chez les plantes arrosées à 200 mM NaCl, seule la concentration 0.5 mM de l'acide salicylique induit une augmentation de ce paramètre ; le taux d'augmentation est de 28,57% chez le génotype Aguadulce et 17,14% chez le génotype Hystal.



**Figure 9.** Effet de l'acide salicylique sur la variation du poids sec foliaire chez les plants de deux génotypes de *Vicia faba* L. (Aguadulce et Hystal) stressés à la salinité.

Les lettres au-dessus des histogrammes représentent les groupes homogènes selon le test de Duncan pour chaque génotype. L'astérisque indique si la différence entre les deux génotypes est statistiquement significative au niveau de chaque traitement.

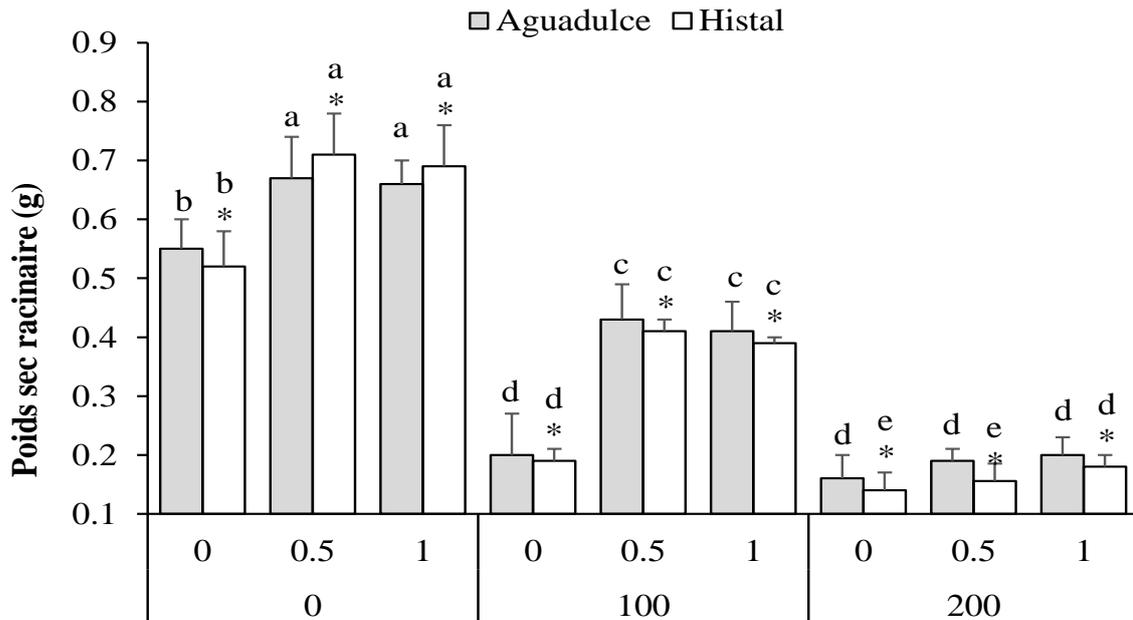
Ainsi, le poids sec foliaire des plantes des deux génotypes semble être amélioré par l'apport exogène de l'acide salicylique, que ce soit sous les conditions témoins ou celles pourvues de salinité. L'effet bénéfique de l'acide salicylique est plus net chez les plantes stressées à 100 mM de NaCl que chez celles stressées à 200 mM et il est plus prononcé chez le génotype Aguadulce que chez le génotype Hystal.

## 1.2. Poids sec racinaire

Le poids sec de la partie racinaire est, dans l'ensemble, supérieur chez le génotype Aguadulce. Toutefois, il s'est enregistré l'inverse chez les plantes témoins ayant reçu 0.5 et 1

mM d'acide salicylique, soient respectivement 0.67 g et 0.66 g chez le génotype Aguadulce contre 0.71 g et 0.69 g chez le deuxième (Fig. 10).

Les résultats obtenus révèlent que les deux concentrations salines élevées à 100 et 200 mM NaCl ont induit des diminutions hautement significatives de la biomasse racinaire sèche des plants des deux génotypes. Des taux de diminution respectifs de 63.64% et 70.91% sont enregistrés chez les plantes du génotype Aguadulce contre 63.46% et 73.08% chez Histal.



**Figure 10.** Effet de l'acide salicylique sur la variation du poids sec racinaire chez les plants de deux génotypes de *Vicia faba* L. (Aguadulce et Histal) stressés à la salinité.

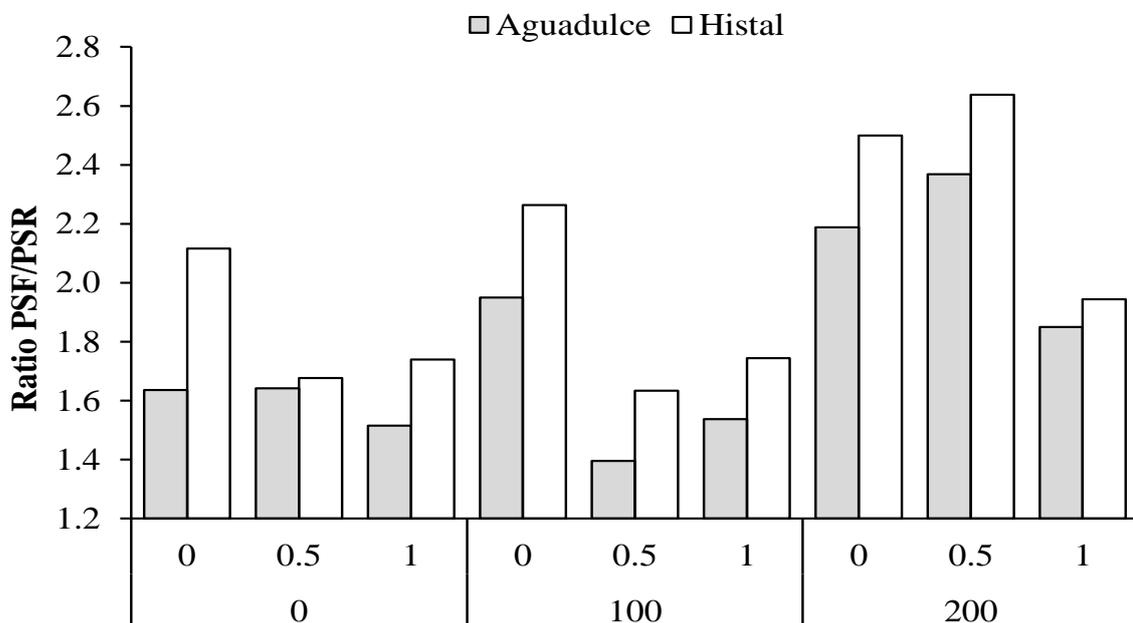
Les plantes ayant subi un apport en acide salicylique (0.5 et 1 mM) ont manifesté une amélioration de leur biomasse sèche racinaire, notamment chez les plantes stressées à 100 mM NaCl et à un niveau moindre dans le milieu contrôle. Dans ce dernier, l'apport de 0.5 et 1 mM d'acide salicylique a entraîné des taux d'augmentation respectifs de 21.82% et 20% chez le génotype Aguadulce contre 36.54% et 32.69% chez Histal. Chez les plantes stressées à 100 mM de NaCl, les taux d'augmentation dus à l'application de l'acide salicylique ont été hautement significatifs ( $P < 0.001^{***}$ ) atteignant respectivement 115% et 105% chez Aguadulce contre 115.79% et 105.26% chez Histal. En ce qui concerne les plantes stressées à 200 mM NaCl, l'addition de l'hormone a induit des augmentations de 18.75% et 25% chez le génotype Aguadulce. Chez le génotype Histal, cette constatation demeure valable seulement chez les plantes approvisionnées en 1 mM de l'acide salicylique (28.57%), tandis que chez celles ayant reçu 0.5 mM d'acide salicylique, aucune variation n'a été observée.

Il est à noter que l'apport exogène de l'acide salicylique a paru, donc, atténuant l'effet agressif de la salinité sur le poids sec racinaire. Cet effet est très nettement significatif lorsque la concentration saline correspond à 100 mM NaCl avec une différence insignifiante entre les deux génotypes.

### 1.3. Ratio poids sec foliaire/poids sec racinaire

Le ratio PSF/PSR renseigne sur la différence de réponse de croissance de la partie aérienne et celle racinaire face aux traitements appliqués. Ainsi, l'observation globale de la figure 6 indique que la croissance de la biomasse sèche foliaire a été supérieure à celle racinaire sous les différents traitements notamment dans les milieux témoins. Il est à noter que cette observation a été plus prononcée chez le génotype Histal que chez Aguadulce.

L'application de l'acide salicylique seul a entraîné des diminutions de différence de biomasse sèche entre les deux parties aérienne et souterraine, notamment chez les plantes du génotype Histal. Pour ce qui est de l'effet de la contrainte salinité, des augmentations progressives du ratio PSF/PSR ont été observées chez les plantes stressées à 100 et 200 mM NaCl (Fig. 11).



**Figure 11.** Effet de l'acide salicylique sur la variation du ratio poids sec foliaire/poids sec racinaire chez les plants de deux génotypes de *Vicia faba* L. (Aguadulce et Histal) stressés à la salinité.

Des diminutions significatives du ratio PSF/PSR ont été enregistrées chez les plantes ayant subi l'apport de 0.5 ou 1 mM d'AS en présence de 100 mM NaCl. En revanche, ce ratio

a beaucoup augmenté chez les plantes soumises au traitement combiné 0.5 mM AS et 200 mM NaCl puis a légèrement diminué quand la concentration d'AS a été doublée dans le milieu de culture.

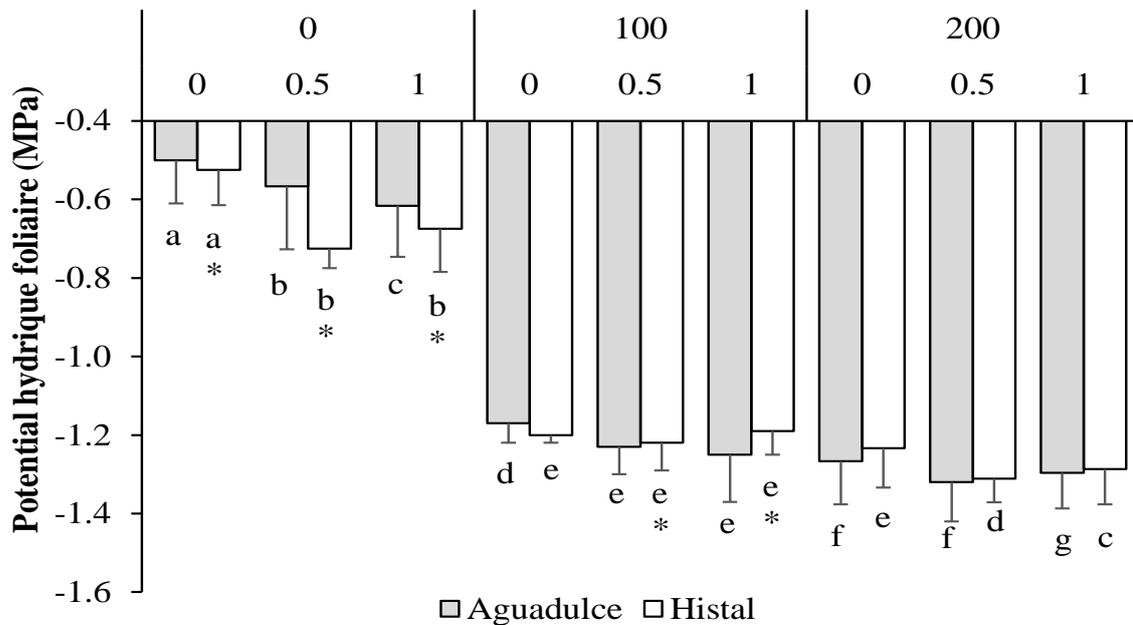
Il se conclut, ainsi, que les deux concentrations salines (100 et 200 mM NaCl) ont atténué la croissance de la partie souterraine. L'inverse a été remarqué après l'apport exogène de l'AS à 0.5 et 1 mM sous les conditions salines à 100 mM NaCl, tandis qu'aux milieux salinisés à 200 mM NaCl, l'effet d'AS n'a été remarqué qu'avec la concentration 1 mM AS.

## 2. Paramètres hydriques

### 2.1. Potentiel hydrique foliaire

La mesure du potentiel hydrique renseigne sur la capacité des cellules à retenir l'eau. Moins il y aura d'eau libre dans la plante, plus la pression nécessaire pour la faire sortir sera forte. Cette pression est exprimée en Bar ou en MPa et sa valeur est toujours négative.

Les résultats obtenus indiquent que le potentiel hydrique foliaire des plantes du génotype Hista1 est plus bas que celui du génotype Aguadulce lorsque le milieu de culture est dépourvu de salinité, que l'acide salicylique soit appliqué ou non. Ainsi, les valeurs enregistrées chez les plantes témoins et celles traitées à 0.5 et 1 mM sont respectivement de l'ordre de -0.53, -0.73 et -0.68 MPa chez le génotype Hista1 contre -0.5, -0.56 et -0.62 MPa chez le génotype Aguadulce. Le même constat est fait chez les plantes stressées à 100 mM NaCl en absence de l'acide salicylique où s'est enregistré -1.2 MPa chez Hista1 contre -1.17 MPa chez Aguadulce. Mais la constatation s'est inversée chez les plantes élevées dans les autres milieux salins (Fig. 12).



**Figure 12.** Effet de l'acide salicylique sur la variation du potentiel hydrique foliaire chez les plants de deux génotypes de *Vicia faba* L. (Aguadulce et Histal) stressés à la salinité.

Le traitement à 100 et 200 mM NaCl a entraîné des diminutions très hautement significatives du potentiel hydrique et ce chez les plantes des deux génotypes. Les taux de diminution ont atteint respectivement 134 % et 152 % chez le génotype Aguadulce contre 128.57% et 134.29% chez Histal.

A l'exception des plantes du génotype Histal traitées par 1 mM d'acide salicylique sous conditions stressantes 100 mM NaCl, où le potentiel hydrique a vu une légère augmentation de 0.83%, l'apport de l'acide salicylique a, dans l'ensemble, accru l'abaissement de ce paramètre. Ainsi, l'addition de 0.5 et 1 mM d'acide salicylique a induit chez les plantes du génotype Aguadulce stressées à 100 mM de NaCl des taux de diminution respectifs de 5.13% et 6.84% contre 1.67% chez Histal. En levant la concentration de NaCl à 200 mM, les taux d'abaissement qu'entraîne l'ajout d'acide salicylique sont de l'ordre de 4.76% et 2.86% chez le génotype Aguadulce et 6.5% et 4.55% chez Histal.

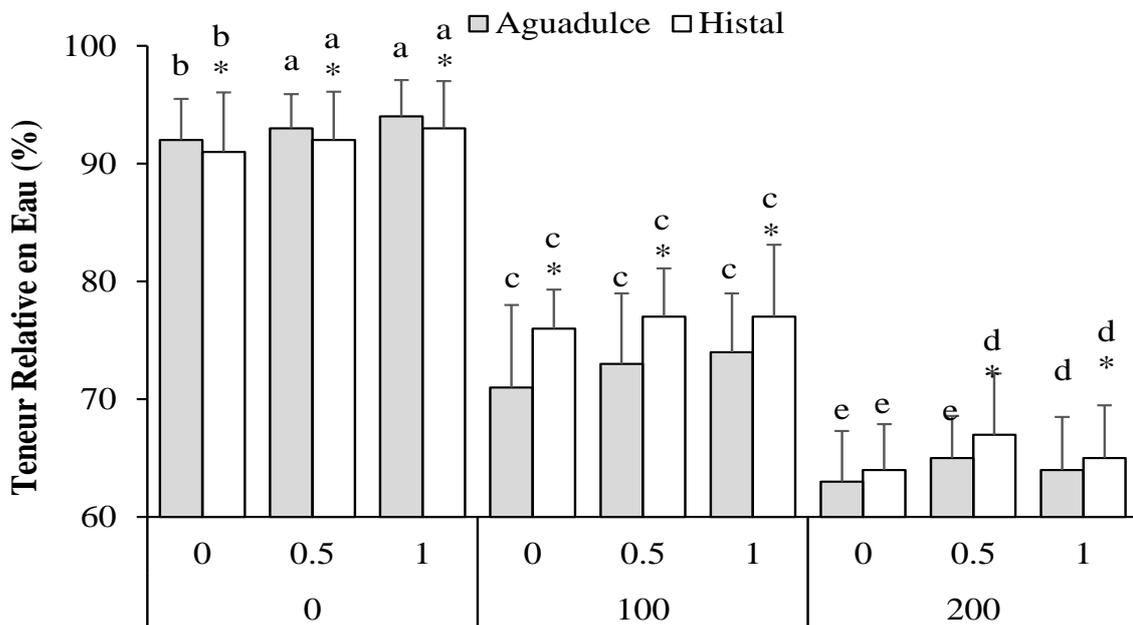
Il se conclut de ce qui précède que l'application de l'acide salicylique a, en général, accentué la diminution du potentiel hydrique chez les plantes des deux génotypes, qu'elles soient stressées ou non à la salinité.

## 2.2. Teneur relative en eau

Dans les milieux exempts de salinité, il a été remarqué des teneurs relatives en eau (TRE) légèrement supérieures chez les plantes du génotype Aguadulce. Le phénomène s'est inversé lorsque le sel est présent dans le milieu de culture (Fig. 13).

Des baisses très hautement significatives ont été observées chez les plantes stressées à la salinité ( $P < 0.001^{***}$ ). Les taux de diminution ainsi enregistrés ont atteint 22,83% chez Aguadulce et 16,48% chez Histal sous traitement à 100 mM NaCl contre des taux de réduction respectifs de 31.52% et 29.67% lorsque la concentration saline a été doublée.

Dans les milieux dépourvus de salinité, la TRE s'est légèrement améliorée chez les plantes traitées à l'acide salicylique. Les taux d'accroissement relevés ont été estimés à 1.09% chez le génotype Aguadulce et 1.1% chez Histal en cas de traitement à 0.5 mM contre des taux respectifs de 2.17% et 2.2% lorsque la concentration d'hormone a été élevée à 1 mM.



**Figure 13.** Effet de l'acide salicylique sur la variation de la teneur relative en eau (TRE) chez les plants de deux génotypes de *Vicia faba* L. (Aguadulce et Histal) stressés à la salinité.

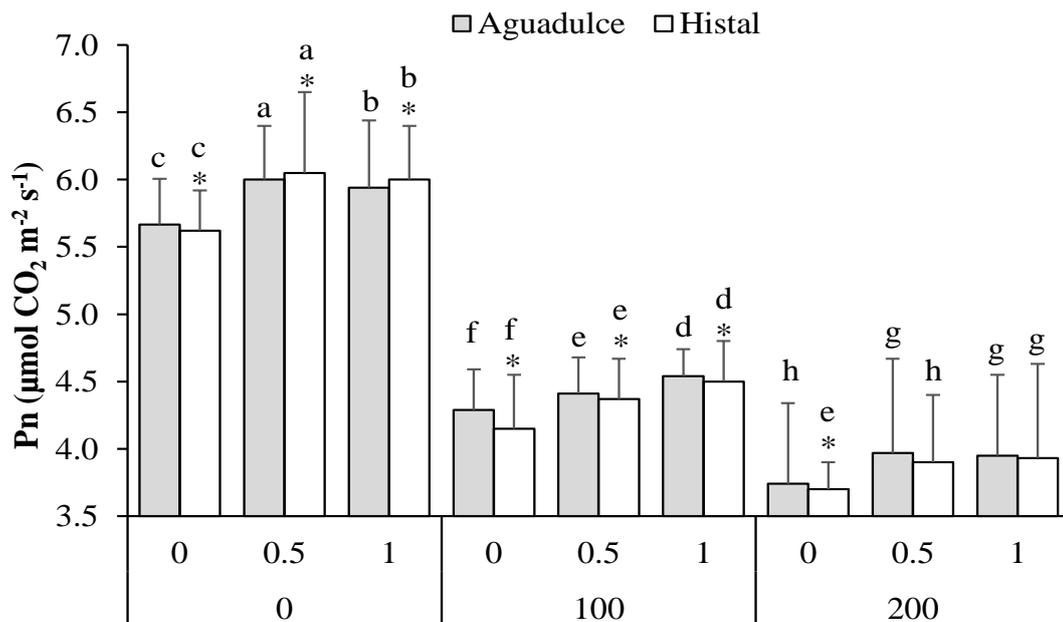
L'application de l'A.S semble, également, avoir amélioré la TRE dans les milieux de culture soumis au NaCl. L'addition de 0.5 mM d'A.S à 100 mM de NaCl a entraîné un taux d'amélioration de 2.82% enregistré chez Aguadulce et 1.32% chez Histal contre des taux d'augmentation respectifs de 4.23% et 1.32% lorsque l'A.S est appliqué à 1 mM. En cas d'association de 200 mM NaCl avec 0.5 mM d'A.S, la TRE a augmenté à un taux de 3.17% chez Aguadulce et 4.69% chez Histal. Des taux d'accroissement respectifs de 1.59% et 1.56% ont été inscrits lorsque la concentration d'A.S a été doublé à 1 mM.

### 3. Photosynthèse et échanges gazeux

#### 3.1. Photosynthèse nette

Les plantes stressées à 200 mM de salinité en présence de 0.5 et 1 mM d'AS n'ont pas éprouvé de différence significative chez les deux génotypes en réponse aux traitements appliqués concernant le rendement photosynthétique. Néanmoins, sous les autres conditions de culture, cette différence de comportement était significative et les valeurs enregistrées étaient, en général, légèrement supérieures chez le génotype Aguadulce (Fig. 14).

Lorsque la salinité a été appliquée seule, cela a considérablement influencé le taux de photosynthèse nette chez les plantes des deux génotypes et les taux d'abaissement induits par le NaCl étaient très hautement significatifs. Ainsi, sous traitement à 100 mM NaCl, le taux de diminution était de 24.29% chez Aguadulce et 26.16% chez Hystal. En levant la concentration à 200 mM NaCl, la chute a été estimée respectivement à 33.99% et 34.16% chez les deux génotypes.



**Figure 14.** Effet de l'acide salicylique sur la variation du taux de la photosynthèse nette chez les plants de deux génotypes de *Vicia faba* L. (Aguadulce et Hystal) stressés à la salinité.

La photosynthèse nette s'est nettement améliorée suite à l'application de l'acide salicylique sur les plantes témoins, notamment celles ayant reçu 0.5 mM, chez lesquelles l'effet a été hautement significatif ( $P < 0.001^{***}$ ). Des résultats similaires ont été constatés chez les plantes élevées dans des milieux salins enrichis en AS. Ainsi, la combinaison de 0.5 et 1 mM de l'hormone à 100 mM NaCl a entraîné des augmentations respectives de 2.8% et 5.82% chez le génotype Aguadulce contre 5.3% et 8.43% chez Hystal. En élevant la

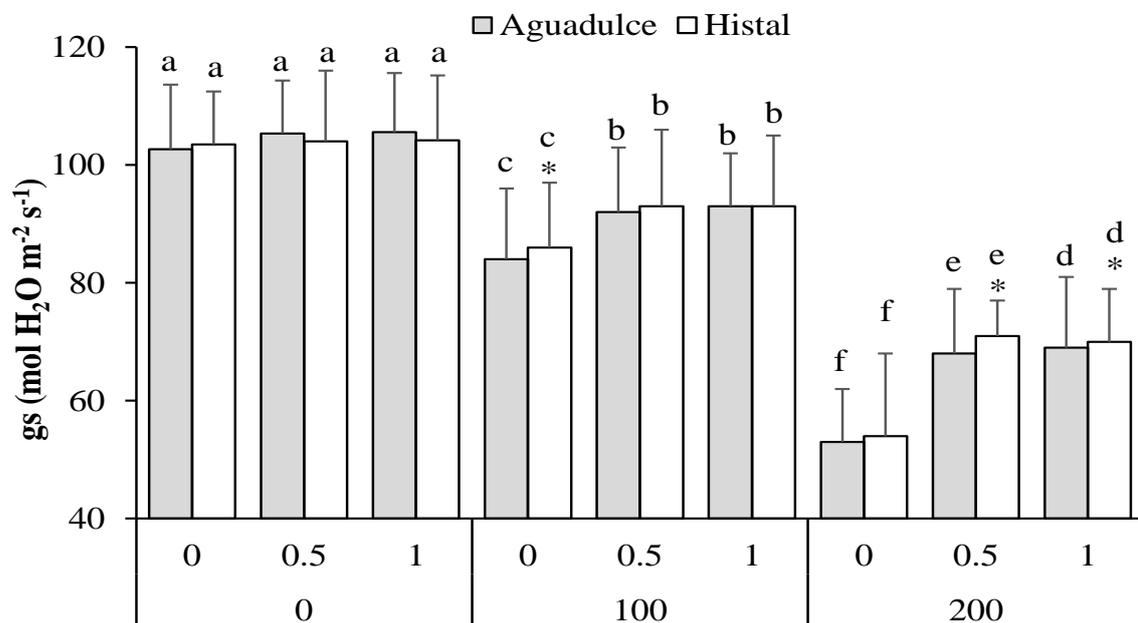
concentration saline à 200 mM, il s'est enregistré des accroissements estimés respectivement à 6.15% et 5.61% chez Aguadulce contre 5.41% et 6.22% chez Histal.

Les résultats cités ci-dessus, correspondants à la photosynthèse nette, réaffirment l'effet bénéfique de l'application exogène de l'acide salicylique qui atténue les effets néfastes de la salinité sur le rendement photosynthétique.

### 3.2. Conductance stomatique

Les valeurs de conductance stomatique enregistrées dans les milieux contrôles n'expriment pas de différence significative entre les deux génotypes. Les seules distinctions significatives ont été constatées chez les plantes stressées exclusivement à 100 mM NaCl et celles ayant reçu 200 mM NaCl additionnés à 0.5 et 1 mM d'A.S (Fig. 15).

L'application de la salinité a induit des abaissements de la conductance stomatique, qui étaient hautement significatifs chez les plantes traitées à 100 mM NaCl ( $P < 0.01^{**}$ ) et très hautement significatifs chez celles ayant subi 200 mM NaCl ( $p < 0.001^{***}$ ). Les taux de diminution enregistrés étaient respectivement de l'ordre 18.18% et 48.37% chez le génotype Aguadulce, contre 16.48% et 29.67% chez Histal.



**Figure 15.** Effet de l'acide salicylique sur la variation de la conductance stomatique chez les plants de deux génotypes de *Vicia faba* L. (Aguadulce et Histal) stressés à la salinité.

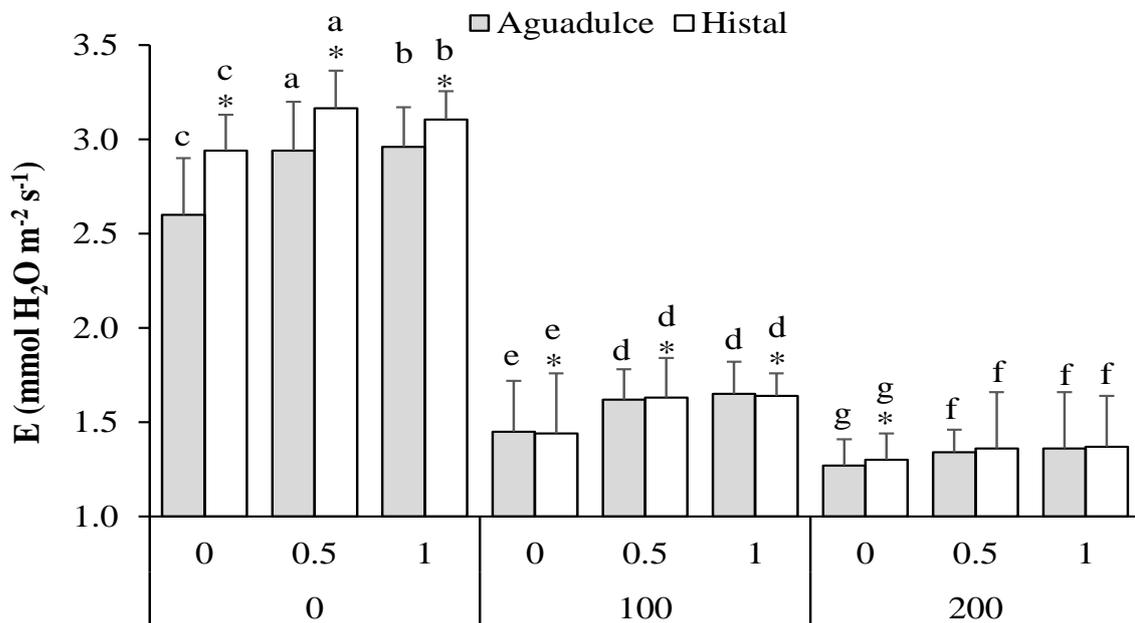
La présence d'A.S dans les milieux témoins n'a entraîné aucune variation significative. Cependant, son addition aux deux concentrations salines a induit des augmentations significatives. Des taux d'amélioration de 9.52% et 10.71% ont été enregistrés chez les

plantes Aguadulce arrosées respectivement avec 0.5 et 1 mM d'A.S, combinés à 100 mM NaCl. Chez le génotype Histal, les deux concentrations d'A.S ont conduit à un taux d'accroissement similaire équivalent à 8.14%. Dans les milieux contenant 200 mM NaCl, la présence d'A.S à une concentration 0.5 mM a entraîné des augmentations estimées à 28.3% chez Aguadulce et 31.48% chez Histal, contre des taux respectifs de 30.19% et 29.63% induits par l'application de 1 mM AS.

Ainsi, l'application d'A.S, à 0.5 et 1 mM, est supposée avoir un effet améliorant la conductance stomatique chez les plantes stressées à 100 et 200 mM NaCl. Cet effet est plus prononcé lorsque l'hormone est additionnée à la concentration saline élevée à 200 mM NaCl.

### 3.3. Transpiration foliaire

Chez les plantes dépourvues de salinité, la transpiration foliaire est nettement supérieure chez le génotype Histal comparativement à Aguadulce (Fig. 16). Quant au reste des traitements, hormis ceux correspondant à la combinaison de 200 mM NaCl aux deux concentrations d'AS, les analyses statistiques ont révélé des différences aussi significatives chez les deux génotypes malgré que les valeurs obtenues soient très voisines ( $P < 0.05^*$ ).



**Figure 16.** Effet de l'acide salicylique sur la variation de la transpiration foliaire chez les plants de deux génotypes de *Vicia faba* L. (Aguadulce et Histal) stressés à la salinité.

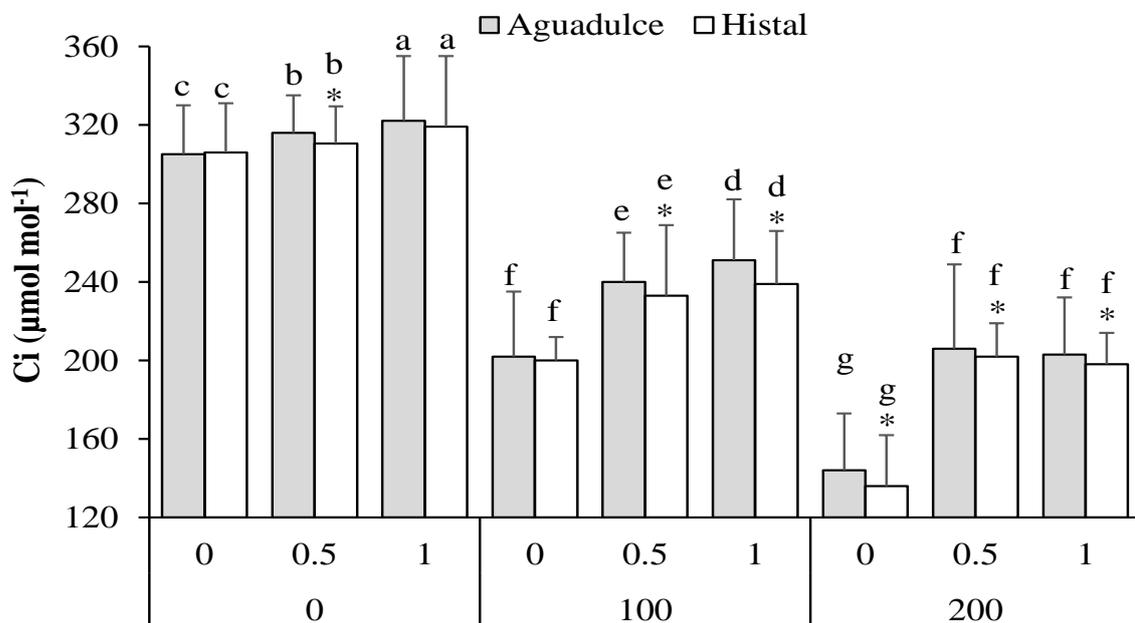
Des baisses très hautement significatives induites par la salinité ont été constatées sous les deux concentrations 100 et 200 mM NaCl. Les taux d'abaissement ainsi enregistrés ont été

respectivement égaux à 44.23% et 51.15% chez le génotype Aguadulce contre 51.02% et 55.78% chez Hystal.

L'apport d'AS a, pour l'ensemble des traitements, remis la transpiration foliaire en hausse, notamment chez les plantes contrôles enrichies en 0.5 mM, où les taux de relèvement étaient très significatifs. D'autre part, cet effet était moins significatif dans les milieux salins, mais plus prononcé à 100 mM NaCl, où les taux relevés étaient de l'ordre de 11.72% et 13.79% chez les plantes Aguadulce contre 13.19% et 13.89% chez Hystal. Ces résultats confirment, ainsi, l'effet bénéfique de l'apport exogène d'acide salicylique sur la transpiration foliaire.

### 3.4. Concentration intercellulaire en CO<sub>2</sub>

Concernant l'effet de la salinité et l'AS sur la concentration intercellulaire en CO<sub>2</sub>, le génotype Aguadulce semble avoir réagi plus efficacement (Fig. 17). Dans les milieux contrôles, la différence entre les comportements des plantes des deux génotypes n'a été significative que sous le traitement à 0.5 mM AS. Pour ce qui est des plantes exposées à la salinité, le seul traitement face auquel les deux génotypes ne se sont pas comportés de façons significativement différentes est celui correspondant à 100 mM NaCl.



**Figure 17.** Effet de l'acide salicylique sur la variation de la concentration intercellulaire en CO<sub>2</sub> chez les plants de deux génotypes de *Vicia faba* L. (Aguadulce et Hystal) stressés à la salinité.

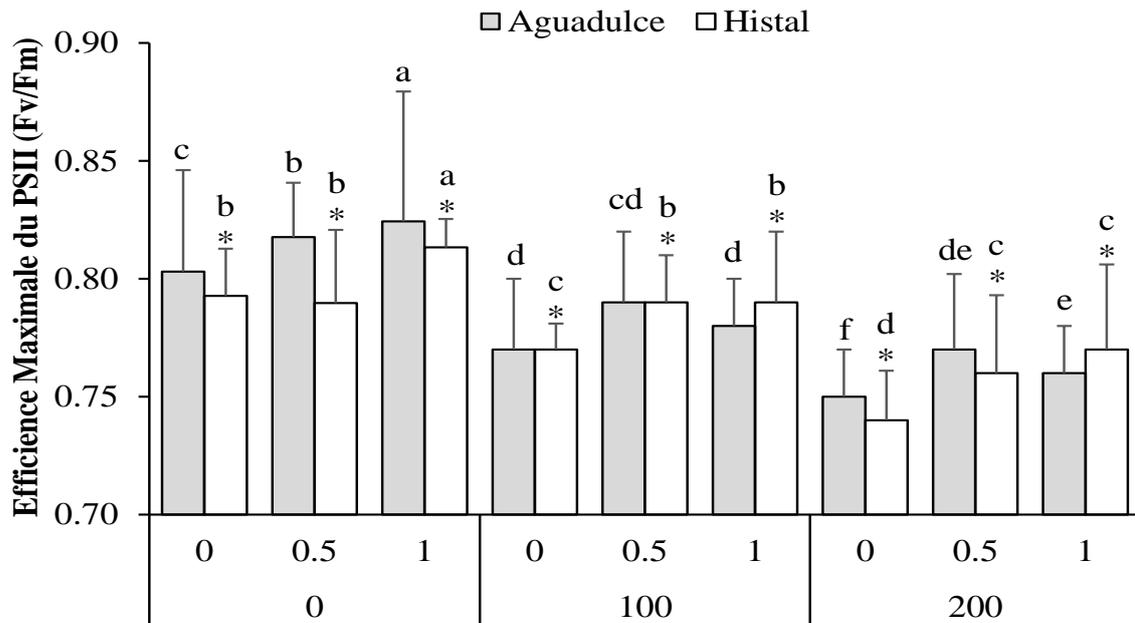
La concentration intercellulaire en CO<sub>2</sub> a considérablement diminué chez les plantes stressées à 100 mM NaCl. Les taux de diminution ont été évalués à 33.77% chez Aguadulce contre 34.64% chez Hystal. Lorsque la concentration saline a été doublée, la teneur en CO<sub>2</sub> dans les espaces intercellulaires a fortement chuté, atteignant des taux de baisse de 52.79% chez le génotype Aguadulce et 55.56% chez Hystal.

L'application d'AS a exercé des effets nettement positifs, notamment chez les plantes conduites dans des milieux salins, où les teneurs en CO<sub>2</sub> intercellulaires se sont significativement améliorées. Les taux d'amélioration, correspondant aux concentrations 0.5 et 1 mM appliquées, étaient respectivement estimés à 18.81% et 24.26% chez Aguadulce contre 16.5% et 19.5% chez Hystal lorsque la salinité était concentrée à 100 mM NaCl. En augmentant la concentration saline à 200 mM NaCl, les teneurs en CO<sub>2</sub> intercellulaires ont, à leur tour, augmenté s'élevant respectivement à des taux de 43.06% et 40.07% chez Aguadulce contre 48.53% et 45.59% chez Hystal.

### **3.5. Efficience photochimique maximale du photosystème II**

La réponse des plantes des deux génotypes aux différents traitements a été significativement différente. A l'exception des milieux de culture où l'on associe 0.5 et 1 mM d'AS à 100 mM NaCl, l'efficience photochimique maximale du photosystème II a été plus prononcée chez les plantes du génotype Aguadulce comparativement à Hystal (Fig. 18).

Des réductions significatives de l'efficience photochimique du photosystème II ont été enregistrées chez les plantes arrosées uniquement au NaCl. Ces diminutions se sont aggravées avec l'augmentation de la concentration saline. Ainsi, sous traitement à 100 mM NaCl, les baisses de l'efficience photochimique ont été estimées à 4.11% chez Aguadulce et 2.85% chez Hystal. Les taux d'abaissement ont atteint respectivement de 6.6% et 6.64% lorsque la concentration de NaCl a doublé.



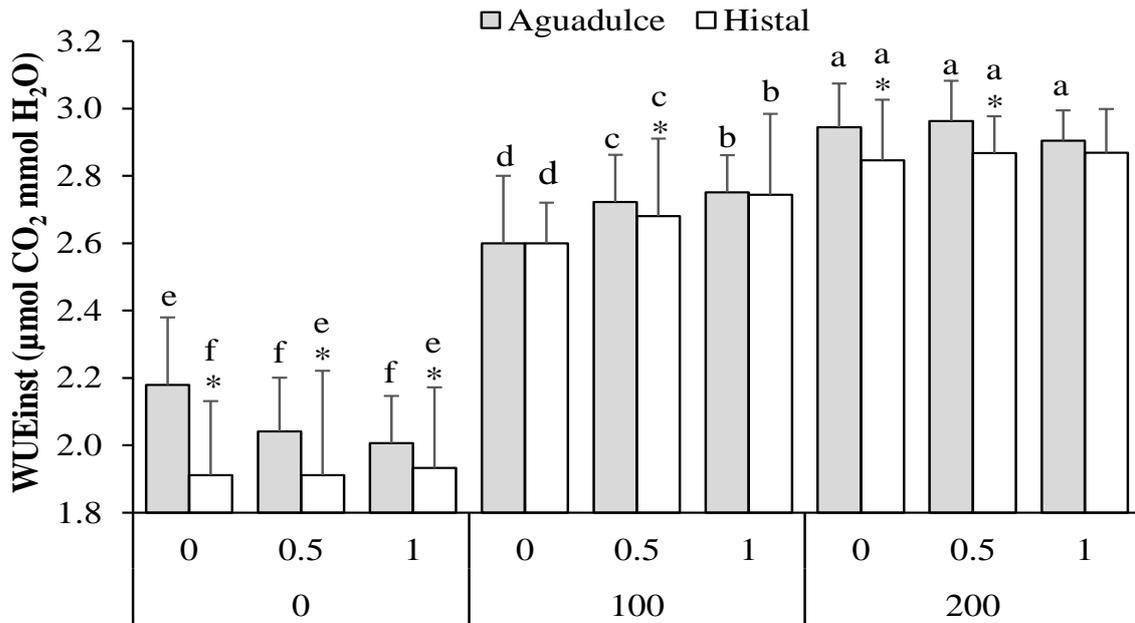
**Figure 18.** Effet de l'acide salicylique sur la variation de l'efficacité photochimique maximale du photosystème II chez les plants de deux génotypes de *Vicia faba* L. (Aguadulce et Hystal) stressés à la salinité.

Hormis les plantes témoins du génotype Hystal enrichies à 0.5 mM d'AS, l'efficacité photochimique maximale du photosystème II s'est significativement améliorée chez les plantes des deux génotypes ayant reçu de l'acide salicylique. Les meilleurs taux d'augmentation ont été enregistrés sous traitement à 0.5 mM additionnés à 100 et à 200 mM NaCl, soient respectivement 2.6% et 2.67% chez Aguadulce contre 2.6% et 2.7% chez Hystal.

### 3.6. Efficacité instantanée de l'utilisation de l'eau

À l'exception des plantes stressées à 100 mM NaCl chez lesquelles l'efficacité instantanée de l'utilisation de l'eau (WUE inst) a été identique chez les deux génotypes, les valeurs de ce paramètre ont été nettement supérieures chez le génotype Aguadulce (Fig. 19).

La salinité, appliquée seule à 100 et 200 mM NaCl, a considérablement augmenté l'efficacité instantanée de l'utilisation de l'eau. Les taux d'accroissement progressaient significativement au fur et à mesure que le milieu de culture soit plus concentré en sel, soient respectivement 19.29% et 35.12% chez le génotype Aguadulce contre 36.01% et 48.89% chez le génotype Hystal.



**Figure 19.** Effet de l'acide salicylique sur la variation de l'efficacité instantanée de l'utilisation de l'eau chez les plants de deux génotypes de *Vicia faba* L. (Aguadulce et Hystal) stressés à la salinité.

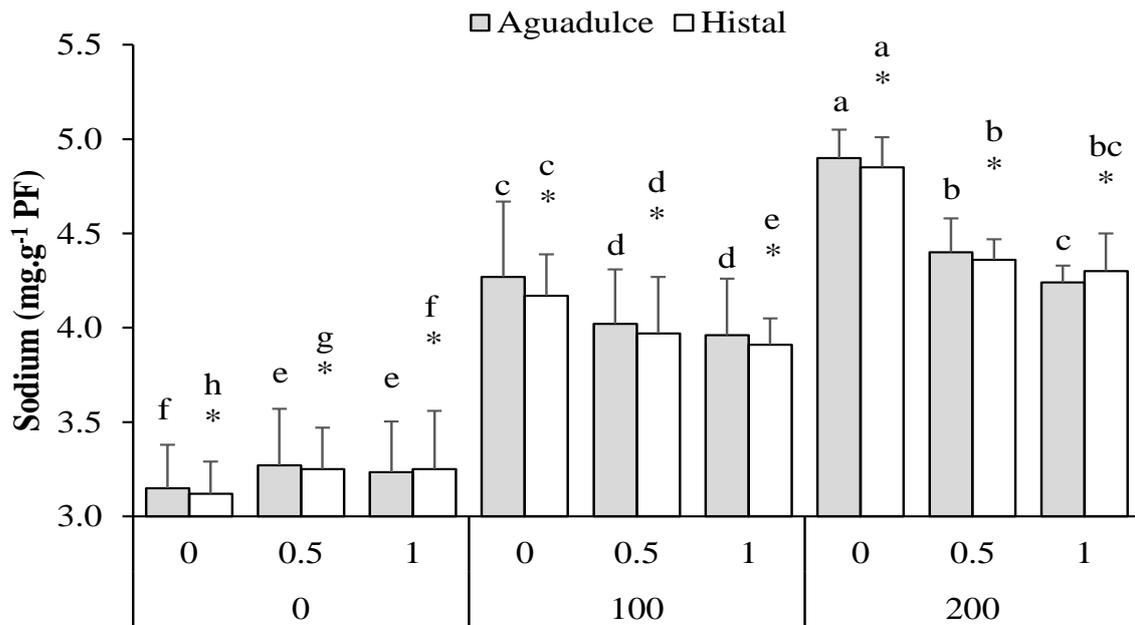
Des diminutions significatives ont été enregistrées chez les plantes du génotype Aguadulce enrichies en AS dans les conditions contrôles. Néanmoins, aucun effet n'a été constaté chez les plantes du génotype Hystal. Chez les plantes arrosées avec des solutions contenant l'AS additionné à 100 mM NaCl, les valeurs de l'efficacité instantanée de l'utilisation de l'eau ont continué significativement son augmentation. Lorsque l'hormone a été ajoutée à 200 mM NaCl, les taux de variation enregistrés étaient non significatifs. Ainsi, une diminution de 1.37% a été relevée chez les plantes Aguadulce ayant reçu 1 mM d'AS contre de légères augmentations inférieures à 1% dans le reste des traitements.

#### 4. Homéostasie ionique

##### 4.1. Teneur en sodium

Les différents traitements salins appliqués ont entraîné des augmentations significatives de la teneur en sodium ( $\text{Na}^+$ ), qui était supérieures chez le génotype Aguadulce que chez le génotype Hystal (Fig. 20). Les teneurs maximales de feuilles en sodium ont été enregistrées chez les plantes soumises à la salinité élevées à 200 mM NaCl.

Des augmentations hautement significatives ont été remarquées chez les plantes stressées à 100 mM NaCl. Les taux correspondants enregistrés étaient de l'ordre de 35.56% chez Aguadulce et 33.65% chez Hystal. En levant la concentration saline à 200 mM, la teneur en  $\text{Na}^+$  a suivi son accroissement à des taux respectifs de 55.56% et 55.54%.



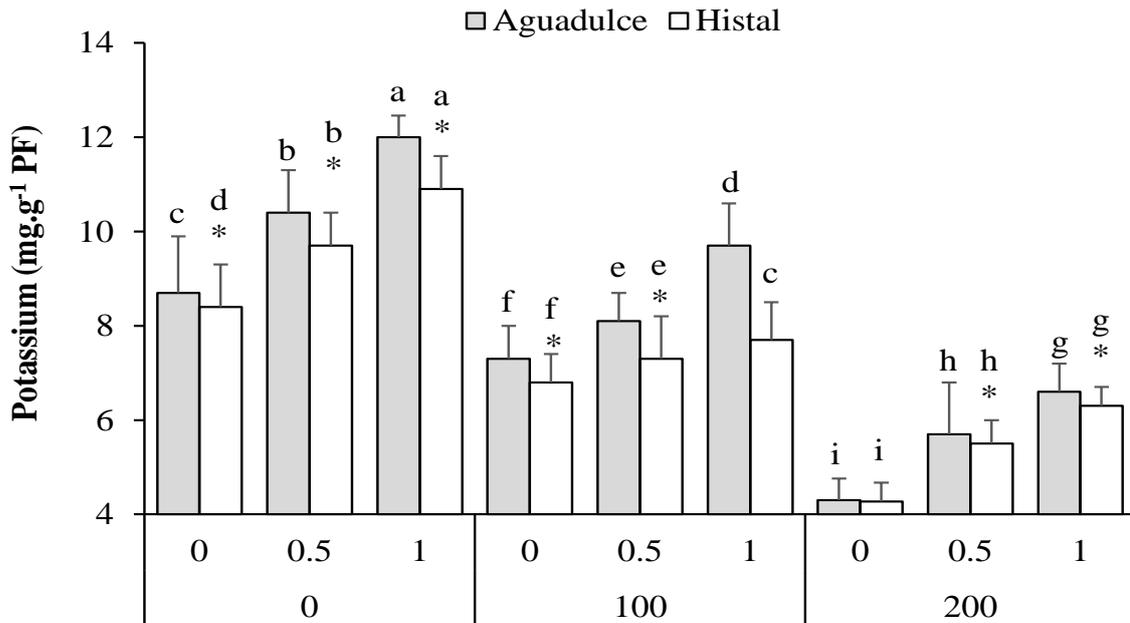
**Figure 20.** Effet de l'acide salicylique sur la variation de la teneur en sodium chez les plants de deux génotypes de *Vicia faba* L. (Aguadulce et Histal) stressés à la salinité.

L'application de l'AS sur les plantes témoins était à l'origine à des diminutions de la teneur en Na<sup>+</sup>, qui étaient légères mais significatives, allant de 2.67% jusqu'à 4.17%. Cependant, l'addition de l'hormone aux milieux salins a significativement remis la teneur en sodium en baisse, notamment chez les plantes stressées à 200 mM NaCl où les taux d'abaissement enregistrés variaient de 10.1% à 13.47%. Il se conclut ainsi que, malgré les légères augmentations de la teneur des plantes en Na<sup>+</sup> causées par la présence d'AS, ce dernier a considérablement atténué l'effet de la contrainte saline.

#### 4.2. Teneur en potassium

Les teneurs en potassium (K<sup>+</sup>) enregistrées étaient, dans l'ensemble, supérieures chez le génotype Aguadulce comparativement au génotype Histal (Fig. 21).

La contrainte saline a entraîné des chutes considérables des teneurs en K<sup>+</sup>, qui étaient hautement significatives sous traitement à 100 mM NaCl et très hautement significatives lorsque la salinité fut augmentée à 200 mM NaCl. Les taux correspondants étaient équivalents à 16.09% et 50.57% chez le génotype Aguadulce contre 19.05% et 49.17% chez Histal.

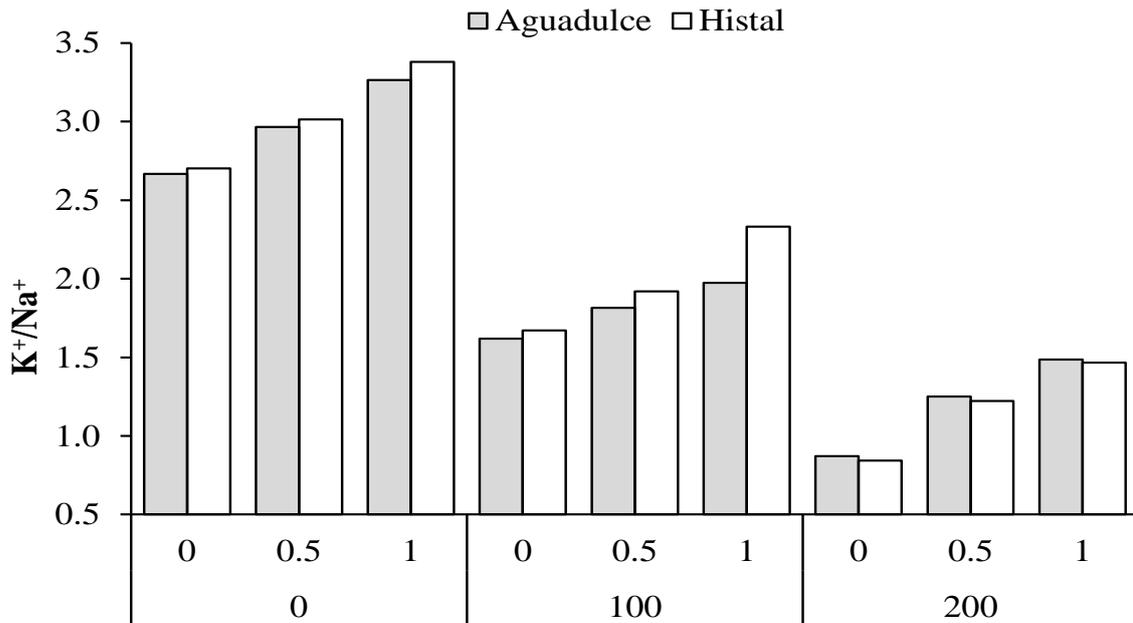


**Figure 21.** Effet de l'acide salicylique sur la variation de teneur en potassium chez les plants de deux génotypes de *Vicia faba* L. (Aguadulce et Histal) stressés à la salinité

Chez les plantes témoins ainsi que celles stressées à la salinité, la teneur en  $K^+$  s'est significativement améliorée suite à l'application de l'AS. La présence de l'hormone (0.5 et 1 mM) dans milieux exempts de sel a entraîné des taux d'augmentation équivalant respectivement à 19.54% et 37.93% chez Aguadulce contre 15.48% et 29.76% chez le génotype Histal. La même constatation a été faite lorsqu'on l'a additionnée à la salinité. Ainsi, des taux respectifs de 10.96% et 32.88% ont été enregistrés chez les plantes Aguadulce stressées à 100 mM NaCl contre 15.48% et 29.76% chez le génotype Histal. Lorsque la concentration de NaCl est passée au double, les augmentations ont atteint respectivement 32.56% et 53.49% chez le génotype Aguadulce contre 28.81% et 47.54% chez le génotype Histal.

#### 4.3. Ratio $K^+/Na^+$

Le calcul du ratio  $K^+/Na^+$  renseigne sur l'état d'équilibre ionique au niveau cellulaire de la plante. Chez les plantes témoins et celles ayant reçu 100 mM NaCl, les valeurs du ratio  $K^+/Na^+$  étaient inférieures chez le génotype Aguadulce en comparaison au génotype Histal et l'inverse a été remarqué chez les plantes traitées à 200 mM NaCl (Fig. 22).



**Figure 22.** Effet de l'acide salicylique sur la variation du ratio  $K^+/Na^+$  chez les plants de deux génotypes de *Vicia faba* L. (Aguadulce et Histal) stressés à la salinité

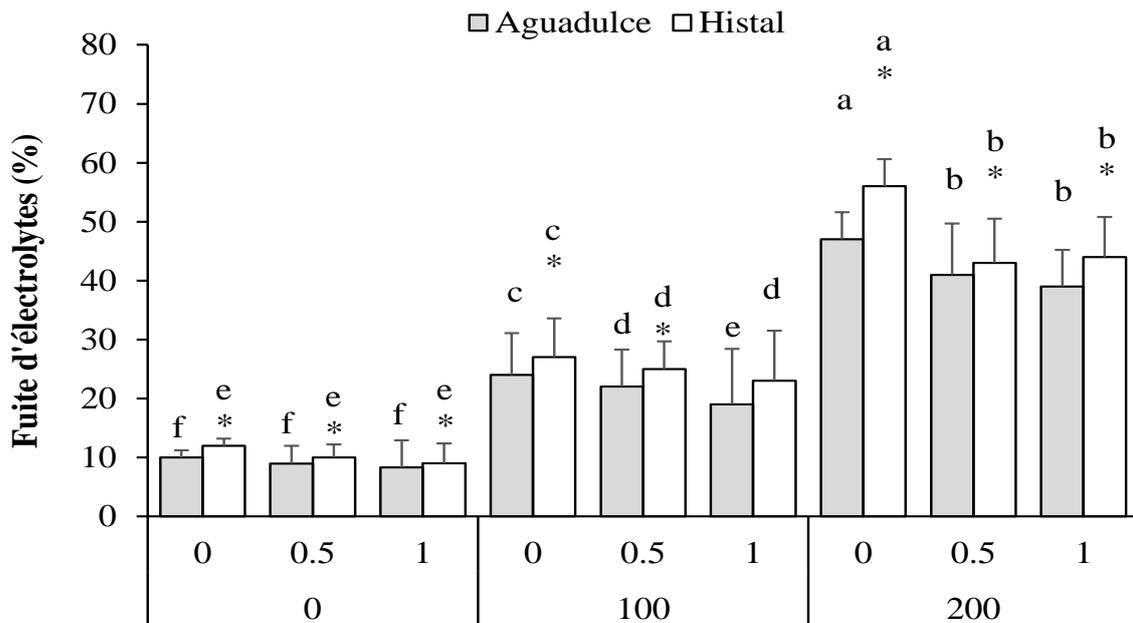
Concernant les plantes stressées au NaCl, il s'est observé des chutes très hautement significatives du ratio  $K^+/Na^+$ , qui s'intensifiaient graduellement avec l'augmentation de la concentration saline dans le milieu de culture. Ainsi, les taux de diminution enregistrés chez les plantes traitées à 100 mM NaCl étaient de l'ordre 38.1% chez les plantes du génotype Aguadulce contre 39.43% chez le génotype Histal, tandis que celles ayant subi 200 mM NaCl, leur taux étaient respectivement 68.23% et 67.3%.

Les valeurs du ratio ont augmenté d'une façon significative chez les plantes enrichies en AS concentré à 0.5 mM et d'une manière hautement significative lorsque la concentration de l'AS est de 1 mM, que le milieu de culture soit muni ou exempt de sel.

## 5. Intégrité membranaire

Le phénomène de la fuite d'électrolytes s'est beaucoup plus prononcé chez les plantes du génotype Histal que chez le génotype Aguadulce, que ce soit sous traitements contrôles ou ceux soumis à la salinité traduisant ainsi une perte de l'intégrité membranaire (Fig. 23).

La fuite d'électrolytes était minimale chez les plantes témoins mais elle a significativement augmenté et s'est accentuée au fur et à mesure que la salinité augmente dans le milieu de culture. Les taux d'élévation ont été estimés à 140% chez le génotype Aguadulce et à 125% chez le génotype Histal sous salinité à 100 mM NaCl. Lorsque la concentration saline augmente à 200 mM, les taux d'augmentation des fuites d'électrolytes atteignent respectivement 370% et 366.67%.



**Figure 23.** Effet de l'acide salicylique sur la variation de la fuite d'électrolytes chez les plants de deux génotypes de *Vicia faba* L. (Aguadulce et Histal) stressés à la salinité.

L'application des deux concentrations d'AS a remis significativement ce paramètre à la baisse chez les plantes contrôles ainsi que celles stressées à la salinité. Les taux d'abaissement induits par l'application de 0.5 mM AS aux plantes témoins ont été évalués à 10.4% chez le génotype Aguadulce et 16.67% chez le génotype Histal contre 17.11% et 25% lorsque la concentration de l'AS a été augmentée à 1 mM.

Par ailleurs, l'augmentation de la fuite d'électrolytes due à la salinité a été atténuée suite à l'addition d'AS. Les taux correspondants étaient de l'ordre de 8.33% chez le génotype Aguadulce et 7.41% chez le génotype Histal sous le traitement à 100 mM NaCl additionné à 0.5 mM d'AS contre 20.83% et 14.81% quand la concentration de l'acide salicylique passe à 1 mM. En levant la salinité au double, il a été enregistré des taux respectifs de 12.77% et 23.21% en cas de 0.5 mM contre 17.02% et 21.43% sous le traitement à 1 mM.

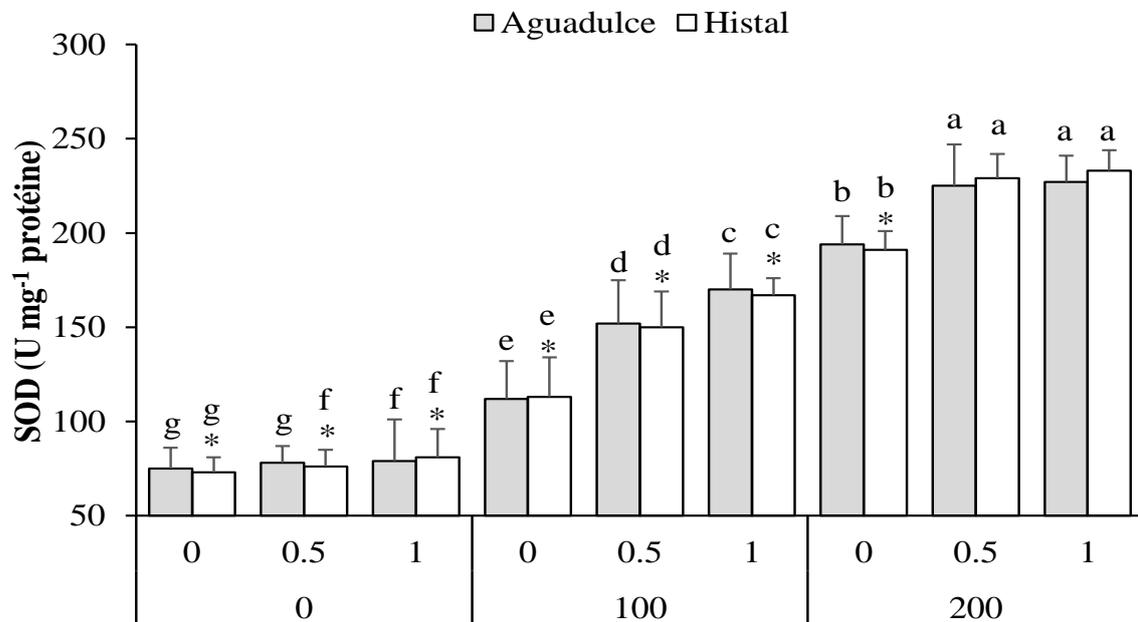
## 6. Activités enzymatiques antioxydantes

### 6.1. Superoxyde dismutase

A l'exception des milieux de culture où les plantes de la fève ont été arrosées à 0.5 et 1 mM d'AS associées à 200 mM NaCl, il est remarqué des activités enzymatiques superoxyde dismutase (SOD) significativement supérieures chez le génotype Aguadulce en comparaison au génotype Histal (Fig. 24).

La contrainte saline a induit des augmentations progressives et hautement significatives de l'activité enzymatique de la superoxyde dismutase. Chez les plantes du génotype

Aguadulce soumises à 100 mM NaCl, l'activité de cette enzyme a augmenté à un taux équivalent à 49.33%, qui a atteint 158.67% lorsque la concentration saline a été levée à 200 mM NaCl. Les taux d'augmentation ont valu respectivement 54.79% et 161.64% chez le génotype Histal sous les mêmes conditions.



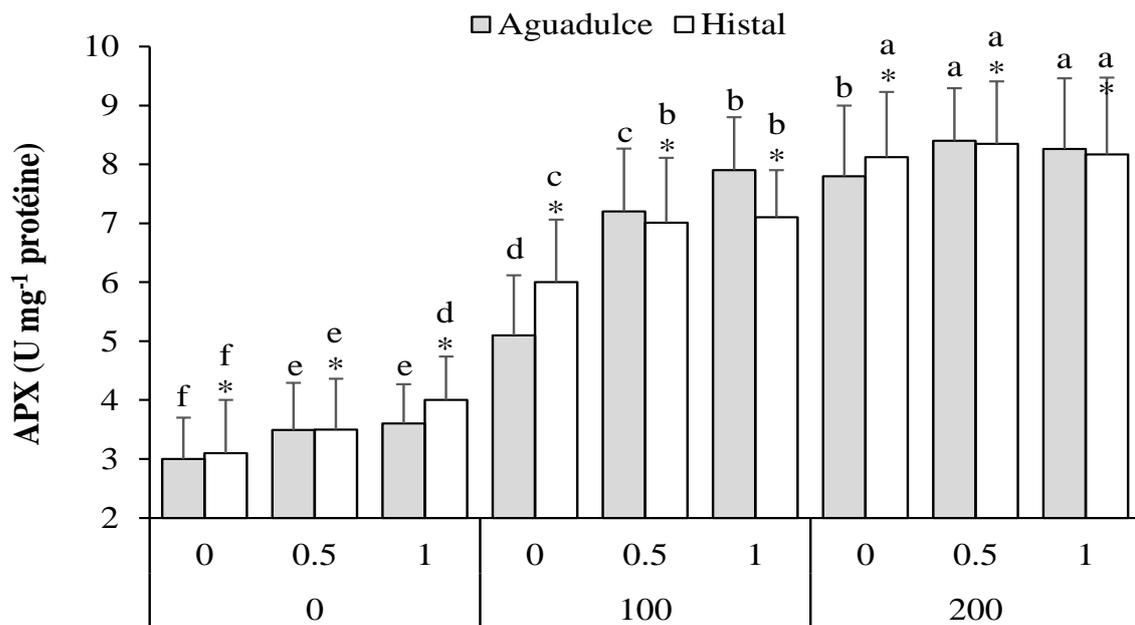
**Figure 24.** Effet de l'acide salicylique sur la variation de l'activité enzymatique superoxyde dismutase chez les plants de deux génotypes de *Vicia faba* L. (Aguadulce et Histal) stressés à la salinité.

L'application d'AS chez les plantes témoins était à l'origine de légères augmentations des activités enzymatiques de SOD, qui se sont révélées significatives sur le plan statistique. Lorsque l'AS a été additionné aux plantes soumises à la salinité, ces augmentations se sont significativement accrues et il a été remarqué que cet effet était proportionnel à la concentration appliquée de l'AS.

Ainsi, le taux d'augmentation de l'activité enzymatique du SOD chez le génotype Aguadulce était de l'ordre de 35.71% lorsque 0.5 mM d'AS a été ajoutée au traitement à 100 mM NaCl et a atteint 51.79% quand la concentration de l'AS a été portée au double. Cependant, la combinaison d'AS avec 100 mM NaCl a entraîné des taux d'augmentation respectifs de 32.74% et 47.79% contre 19.9% et 21.99% sous le traitement à 200 mM NaCl chez le génotype Histal.

## 6.2. Ascorbate peroxydase

Pour ce qui est de l'effet des différents traitements sur l'activité enzymatique de l'ascorbate peroxydase (APX), des différences significatives ont été remarquées entre les deux génotypes (Fig. 25). Cependant, il est à souligner que les activités enzymatiques de APX étaient supérieures chez le génotype Histal pour les plantes témoins et celles traitées à la salinité. Toutefois, l'inverse a été constaté après l'ajout de l'acide salicylique au milieu de culture.



**Figure 25.** Effet de l'acide salicylique sur la variation de l'activité enzymatique ascorbate peroxydase chez les plants de deux génotypes de *Vicia faba* L. (Aguadulce et Histal) stressés à la salinité.

Des augmentations progressives hautement significatives ont été enregistrées chez les plantes soumises à la salinité, soient des taux de 70% et 160% résultant du traitement à 100 mM et 200 mM NaCl chez le génotype Aguadulce. Quant aux plantes du génotype Histal, les activités enzymatiques de APX ont augmenté respectivement à 93.55% et 161.94%.

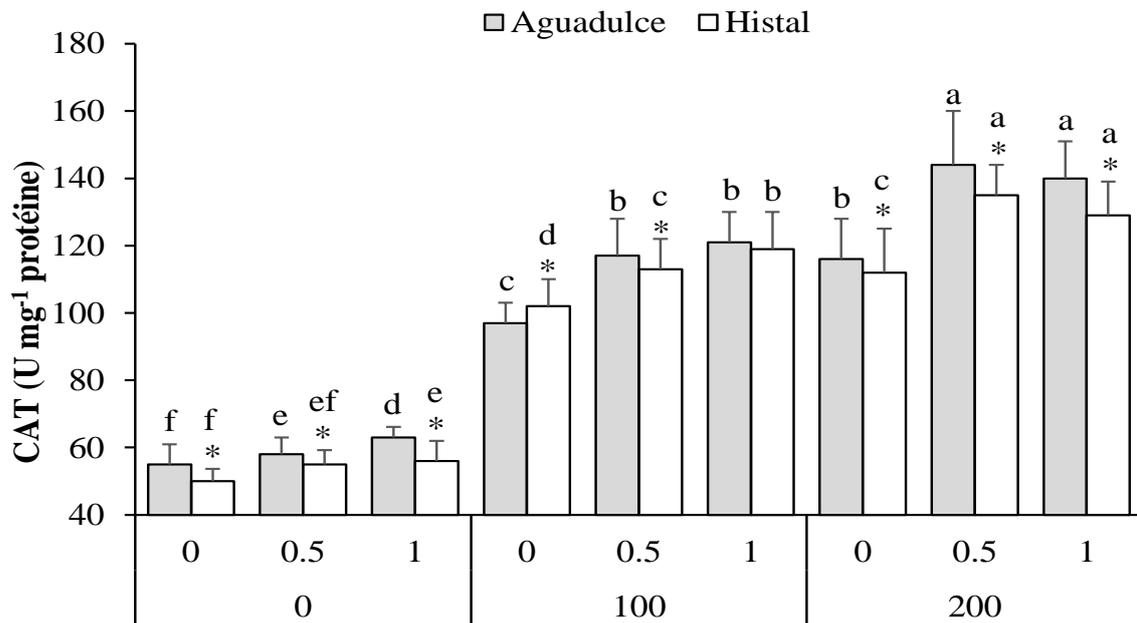
L'activité enzymatique de APX a augmenté davantage chez les plantes témoins ayant subi un apport exogène en AS, notamment à la concentration 1 mM. Concernant les plantes stressées à la salinité, l'addition de 0.5 et 1 mM d'AS a significativement accentué l'augmentation des activités de cette enzyme, surtout sous la concentration à 100 mM NaCl.

Les taux d'accroissement, ainsi, induits équivalaient respectivement à 41.18% et 54.9% chez le génotype Aguadulce, contre 16.83% et 18.33% chez le génotype Histal. Cet effet dû à l'addition d'AS était moins prononcé chez les plantes soumises à 200 mM NaCl. Les taux

correspondants étaient respectivement de l'ordre de 7.69% et 5.9% chez le génotype Aguadulce contre 2.83% et 0.62% chez le génotype Histal.

### 6.3. Catalase

Les différents traitements appliqués ont abouti à des variations positives des activités enzymatique de la catalase (CAT), qui étaient nettement supérieures chez le génotype Aguadulce (Fig. 26). Les différences entre les deux génotypes étaient, dans l'ensemble, statistiquement significatives.



**Figure 26.** Effet de l'acide salicylique sur la variation de l'activité enzymatique catalase chez les plants de deux génotypes de *Vicia faba* L. (Aguadulce et Histal) stressés à la salinité.

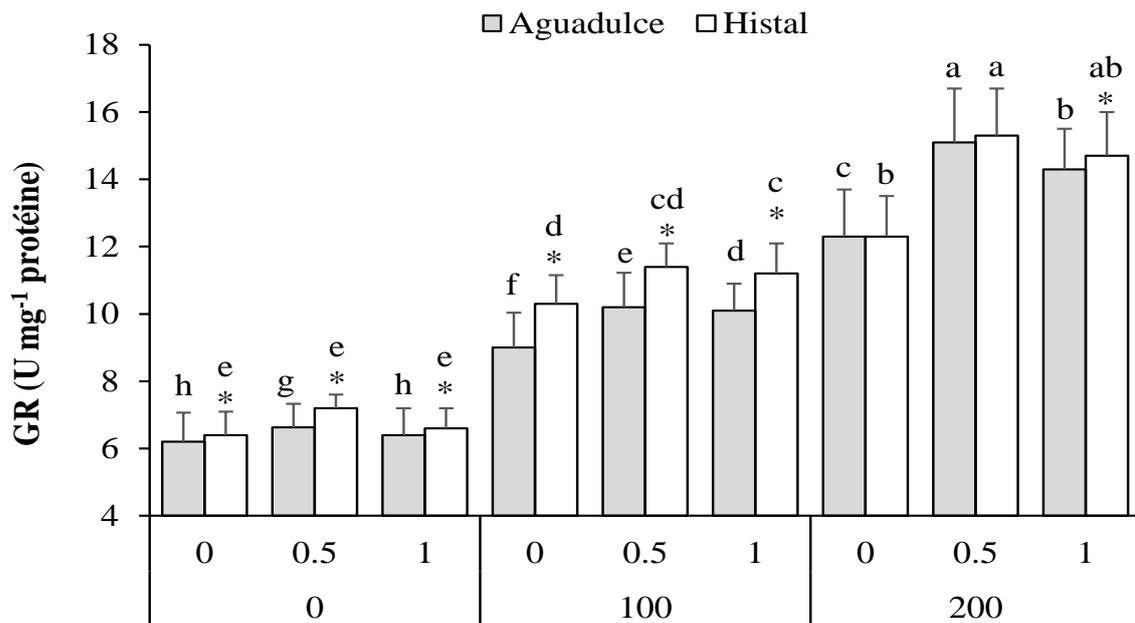
Les activités enzymatiques de la catalase ont augmenté d'une façon hautement significative et ce proportionnellement à la concentration saline appliquée (100 et 200 mM NaCl). Les taux d'augmentation enregistrés correspondent respectivement à 76.36% 110.91% chez les plantes du génotype Aguadulce, contre 104% et 124% chez le génotype Histal.

L'apport de l'AS aux plantes a induit une augmentation significative de l'activité enzymatique CAT. Ainsi, chez les plantes témoins, les taux d'augmentation enregistrés étaient respectivement de l'ordre de 5.45% et 14.55% pour le génotype Aguadulce, contre 10% et 12% chez le génotype Histal. Pour ce qui est des plantes soumises à 100 mM NaCl combiné à l'AS, les taux d'accroissement des activités enzymatiques CAT ont atteint 20.62% et 24.74% chez le génotype Aguadulce, contre 10.78% et 16.67% chez le génotype Histal. Lorsque la concentration saline a été doublée dans le milieu de culture, les accroissements de

l'activité enzymatique étaient équivalents à 24.14% et 20.69% chez les plantes du génotype Aguadulce, contre 20.54% et 15.18% chez celle du génotype Hystal.

#### 6.4. Glutathion réductase

Dans l'ensemble, la contrainte saline a induit une stimulation de l'activité enzymatique du glutathion réductase (GR). Toutefois, les valeurs enregistrées étaient supérieures chez les plantes du génotype Hystal (Fig. 27).



**Figure 27.** Effet de l'acide salicylique sur la variation de l'activité enzymatique glutathion réductase chez les plants de deux génotypes de *Vicia faba* L. (Aguadulce et Hystal) stressés à la salinité.

Les plantes soumises à la salinité ont considérablement augmenté leur activité enzymatique GR, qui a progressé avec l'élévation de la concentration saline de 100 à 200 mM NaCl. Chez le génotype Aguadulce, les taux de croissance relevés correspondaient respectivement à 45.16% et 98.39% contre 60.94% et 92.19% chez le génotype Hystal.

L'apport exogène de l'AS aux plantes témoins n'a pas mené à des variations considérables. Cependant, son addition à 0.5 et 1 mM d'AS aux plantes soumises à 100 mM NaCl a conduit à des augmentations significatives estimées à 13.33% et 12.22% chez le génotype Aguadulce contre 10.68% et 8.74% chez le génotype Hystal. En outre, l'apport de l'AS aux plantes stressées par 200 mM NaCl induit des taux d'accroissement respectifs de 22.76% et 16.26% chez le génotype Aguadulce et de 24.39% et 19.51% chez le génotype Hystal.

# Discussion

## Chapitre IV. Discussion

Les comportements physiologique et nutritionnel des plantes sont limités par différentes conditions environnementales sous lesquelles elles se développent (González-Alcaraz et *al.* 2014). La salinité des sols est l'une des contraintes du milieu les plus importantes sous les conditions climatiques aride et semi-aride dans le monde (Muscolo et *al.* 2015). La compréhension des mécanismes d'adaptation des plantes à la salinité s'avère d'une importance primordiale pour remédier à ces facteurs (Shevyakova et *al.* 2013). De ce fait, la sélection et l'amélioration des génotypes tolérants au sel représentent une stratégie efficace pour améliorer la productivité des plantes dans les zones souffrant de conditions environnementales défavorables (Hernández 2019). Par conséquent, la comparaison entre les génotypes dans la tolérance au sel peut être très utile pour décrire les mécanismes pertinents qui pourraient aider à reconnaître les génotypes tolérants au stress et révéler les facteurs limitants qui pourraient être utilisés dans la sélection et l'amélioration génétique des plantes (Hanin et *al.*, 2016 ; Taïbi et *al.*, 2017 ; Taïbi et *al.*, 2018). En outre, les phytohormones constituent un outil puissant pour atténuer les effets indésirables produits par le stress abiotique. Récemment, un intérêt croissant s'est porté sur l'effet de l'acide salicylique dans la tolérance à la salinité (Khan et *al.* 2015).

En général, la salinité a induit de sévères limitations de la réponse physiologique et moléculaire de la fève, ce qui a affecté considérablement la croissance des plantes. Cependant, l'acide salicylique a restauré la plupart des paramètres étudiés et a amélioré la réponse des plantes à la salinité.

Des limitations considérables de la croissance en termes de biomasse sèche de la partie aérienne et des racines ont été constatées sous l'effet de la contrainte saline chez les deux génotypes testés. Ce constat, considéré comme l'un des effets les plus visibles du stress salin, est généralement attribué à la perturbation voire l'inhibition du programme de développement de la plante et à la stimulation des mécanismes de réponse au stress (Isayenkov et Maathuis, 2019). La diminution de croissance peut être expliquée par le fait que les sels agissent en augmentant la pression osmotique du milieu externe, ce qui empêche l'absorption de l'eau par le système racinaire et, par conséquent, mène à une baisse de turgescence cellulaire induisant la réduction de la croissance et la division cellulaires (Vysotskaya et *al.* 2010). De plus, Wang et Nil (2000) signalent que la réponse immédiate à la salinité se traduit par la réduction de la vitesse de l'expansion de la surface foliaire et du système racinaire.

Les résultats obtenus indiquent une inhibition significative de la croissance des racines sous salinité et une augmentation du ratio PSF/PSR. Khadri *et al.* (2007) expliquent la réduction de la croissance sous faible salinité par la faible disponibilité de l'eau et des éléments minéraux indispensables à la croissance. Selon Munns (2002) et Cuin *et al.* (2008), sous salinité élevée, en plus du déséquilibre nutritif, le stress hyper-osmotique et le déséquilibre ionique semblent jouer un rôle central dans la perturbation des fonctions cellulaires. L'arrêt de la croissance des plantes induit par la salinité a déjà été signalé chez la fève (Bulut et Eroğlu 2011 ; Dawood et El-Awadi, 2015 ; Moussa et Hassan, 2016) et d'autres espèces appartenant de la famille des Fabaceae comme le haricot commun (Taïbi *et al.*, 2012a, b ; Taïbi *et al.*, 2013a, b ; Taïbi *et al.*, 2016). Par conséquent, la mesure de l'accumulation de la biomasse peut aider à évaluer le degré de tolérance au sel parmi les génotypes de la fève.

Cependant, l'apport exogène de l'acide salicylique a amélioré significativement la biomasse sèche des feuilles et des racines chez les plantes soumises à la salinité. Les effets bénéfiques de l'acide salicylique pourraient être attribués à son rôle dans la protection des membranes cellulaires contre les dommages causés par le sel ( $r=0.73^{**}$ ) et à l'augmentation de la teneur en pigments chlorophylliens et de l'activité des enzymes antioxydantes ( $r=0.82^{**}$ ) qui à leur tour soutiennent le processus de la photosynthèse, atténuent le stress oxydatif et régulent l'homéostasie des ions (Li *et al.*, 2014a ; Li *et al.*, 2014b ; Khan *et al.*, 2015). De l'autre côté, les limitations de la croissance des plantes pourraient être dues à la détérioration de la teneur en eau relative (TRE,  $r=-0.68^{**}$ ) et du potentiel hydrique ( $\Psi_w$ ,  $r=-0.71^{**}$ ) sous salinité. La réponse des plantes, y compris la fève, face au stress salin se traduit généralement par la régulation de leur potentiel osmotique et leur équilibre ionique à travers l'accumulation des composés organiques et inorganiques afin de soutenir la turgescence cellulaire et, par conséquence, de maintenir la croissance végétale (Taïbi et Chorfi, 2010 ; Abdul Qados, 2011 ; Chorfi et Taïbi, 2011a, b ; Nazar *et al.*, 2015).

Le potentiel hydrique foliaire et la teneur relative en eau représentent des indicateurs physiologiques intéressants pour l'estimation de l'état d'hydratation des plantes (Yamaguchi et Sharp 2010). De sensibles différences sont notées chez les deux génotypes dans le maintien d'un état hydrique optimal ; le potentiel hydrique foliaire ainsi que la teneur relative en eau diminuent avec l'augmentation de la concentration de NaCl dans le milieu de culture. La perturbation des relations hydriques des plantes soumises aux sels sont dues à la diminution de l'aptitude des plantes à absorber l'eau de la solution du sol en raison de l'abaissement du potentiel hydrique du sol (Munns 2005).

Le maintien du statut hydrique grâce à l'ajustement du potentiel hydrique est considéré comme une stratégie d'adaptation importante en réponse à la salinité (Ashraf et Harris, 2013). L'apport exogène de l'acide salicylique améliore significativement les échanges gazeux foliaires ( $r=0.58^{**}$ ) et contrôle le taux de transpiration ( $r=-0.54^{**}$ ), ce qui pourrait améliorer l'état hydrique des plantes (Ahmad *et al.*, 2018). De même, les échanges gazeux et le taux de photosynthèse nette ont diminué chez les plantes soumises à la salinité ( $r=-0.44^*$ ).

La fermeture stomatique, en tant que première réponse des plantes stressées à la salinité, a été significativement marquée dans la présente étude, conduisant ainsi à la diminution de la conductance stomatique et de la transpiration foliaire. En général, une conductance stomatique élevée améliore la diffusion du CO<sub>2</sub> dans les feuilles et améliore le rendement de photosynthèse nette ce qui constitue un facteur déterminant important de la croissance végétale et du rendement des cultures (Li *et al.*, 2014b). Par conséquent, la diminution des taux de photosynthèse nette sous les conditions salines est principalement attribuée à la limitation de la conductance stomatique ( $r=0.61^{**}$ ). La fermeture des stomates souvent observée chez les plantes soumises aux sels améliore l'hydratation des tissus en limitant les pertes d'eau par transpiration ( $r=0.6^*$ ) (Fricke *et al.* 2004 ; Turan *et al.* 2009). Cette fermeture stomatique peut également limiter l'accumulation des ions toxiques de Na<sup>+</sup> et Cl<sup>-</sup> dans les plantes puisque le taux de leur transit dans le xylème est largement déterminé par le taux de transpiration (Jossier *et al.* 2010).

Veselov *et al.* (2008) ont montré que la faible conductivité stomatique, menant à un ralentissement du rendement photosynthétique, contribue fortement à la tolérance de plusieurs cultivars d'orge à la salinité. En outre, la diminution du taux de la photosynthèse nette pourrait être attribuée aux perturbations de la teneur en pigments et de la fluorescence de la chlorophylle, à la photo-inhibition du PS II, aux modifications conformationnelles du complexe enzymatique ATPase lié à la membrane et à la diminution de l'activité de la Rubisco (Lawlor et Cornic, 2002). Néanmoins, l'acide salicylique s'est avéré améliorer les taux de photosynthèse nette et les échanges gazeux. Les études antérieures de Khan *et al.* (2014) et Ahmad *et al.* (2018) ont rapporté que l'acide salicylique augmente significativement la teneur en pigments, améliore les taux de transpiration foliaire et le transport des électrons photosynthétiques, soutient des activités enzymatiques élevées de la Rubisco et des enzymes antioxydantes, et augmente l'efficacité du PSII sous stress salin.

Le rendement quantique maximal du PSII (Fv/Fm) a diminué sous l'effet des conditions salines mais s'est rétabli après l'addition de l'acide salicylique. Cela indique la diminution de la capacité des feuilles à absorber l'énergie d'excitation et la diminution de l'assimilation photosynthétique sous salinité (Taïbi *et al.*, 2017 ; Taïbi *et al.*, 2018). Lutts *et al.* (1996) ont

associé la réduction de chlorophylle b à l'antenne de PSII, car une baisse de la teneur en chlorophylle b peut suggérer des dommages structuraux du centre de réaction de PSII. La diminution de la teneur en chlorophylles sous salinité est en partie due probablement à la perte de la stabilité membranaire (Hajer et *al.* 2006). Les effets protecteurs de l'acide salicylique pourraient être associés à la diminution des dommages oxydatifs et à la restriction de l'accumulation massive de sodium dans les feuilles (Khan et *al.*, 2015).

Plusieurs travaux ont montré la relation entre la réduction de la photosynthèse nette et la transpiration d'une part et les concentrations de Na<sup>+</sup> et Cl<sup>-</sup> d'autre part (Bañuls et Primo-Millo 1992). La déficience potassique engendrée par la salinité peut également jouer un rôle important étant donné que K<sup>+</sup> est le soluté majeur qui maintient la turgescence des cellules compagnes et engendre la fermeture des stomates (Prytz et *al.* 2003). Ashraf et Bhatti (2000) ont rapporté que la réduction de la photosynthèse nette des feuilles de l'haricot sous 100 mM NaCl est due au fait que la salinité détruit la structure fine des chloroplastes et provoque l'instabilité des complexes protéines-pigments ce qui influe directement sur la biosynthèse et la fonction des pigments photosynthétiques.

De même, la régulation de l'homéostasie ionique est l'un des principaux déterminants de la tolérance des plantes au sel (Isayenkov et Maathuis, 2019). Dans la présente étude, la salinité a induit une augmentation des teneurs des plantes en sodium et une diminution des teneurs des plantes en potassium. Ces résultats sont en concordance avec ceux obtenus par Bulut et *al.* (2011), Taïbi et *al.* (2016), et Ahmad et *al.* (2018). La concurrence qui résulte de l'absorption non-sélective du sodium et du potassium est due au fait que ces derniers éléments partagent une structure physico-chimique similaire. Dans les conditions salines, l'entrée passive des ions de sodium à travers la membrane plasmique pourrait induire une dépolarisation membranaire ce qui empêche considérablement l'absorption du potassium et augmente sa fuite vers l'extérieur à travers l'activation des canaux de potassium (Jayakannan et *al.*, 2013).

La diminution de l'absorption du potassium par la plante induit divers dommages cellulaires et réduit significativement la croissance des plantes car il constitue un activateur important de plusieurs enzymes cytosoliques et contribue également à l'ajustement osmotique (Almeida et *al.*, 2017). En outre, le potassium joue un rôle déterminant dans la régulation de l'ouverture stomatique, de sorte que les différences observées dans les teneurs des plantes en potassium peuvent être la cause sous-jacente des différences observées dans l'efficacité d'utilisation de l'eau et les taux de photosynthèse nette. L'apport d'acide salicylique exogène s'est avéré très efficace pour faire diminuer l'excès de sodium et augmenter la teneur interne des plantes en potassium sous les conditions salines.

L'acide salicylique réduit la translocation xylémique du sodium vers les parties aériennes d'une part, et l'étendue de la polarisation membranaire grâce à la stimulation de l'activité H<sup>+</sup>-ATPase sous les conditions salines d'autre part ce qui pourrait par conséquent restaurer la rétention du potassium et diminuer son efflux (Khan et *al.*, 2015). Néanmoins, les accumulations plus élevées de sodium et de potassium étaient des caractéristiques du génotype Aguadulce. Cela suggère que c'est la capacité d'absorber et de retenir le potassium qui détermine la croissance et le rendement des génotypes de la fève sous stress salin.

De plus, l'augmentation des fuites d'électrolytes est associée à la contrainte saline ce qui reflète par conséquent la survenue des lésions membranaires. La désorganisation de la membrane cellulaire est principalement due à la diminution des phospholipides et des stérols en réponse à la salinité (Wu et *al.*, 1998). Les espèces réactives de l'oxygène attaquent les acides gras polyinsaturés linoléique et linoléique et produisent un complexe d'hydroxyperoxydes lipidiques qui réduit la perméabilité de la membrane cellulaire (Ahmad et *al.*, 2018). Il est à noter que la protection de la membrane contre les lésions dues au sel constitue un critère déterminant pour les mécanismes de tolérance à la salinité et l'acide salicylique a démontré ses avantages pour diminuer les fuites d'électrolytes. Les effets de l'acide salicylique sont attribués à la stimulation du système antioxydant et à l'amélioration de l'absorption du calcium (El-Tayeb, 2005).

Le stress salin affecte divers mécanismes physiologiques et moléculaires associés à la croissance et au développement des plantes. Les plantes dotées d'un système antioxydant puissant, constitutif ou induit, acquièrent une tolérance significative à la salinité (Isayenkov et Maathuis, 2019). L'activité des enzymes antioxydantes SOD, APX, CAT et GR a augmenté significativement en réponse au stress salin. Le génotype Aguadulce a révélé des activités SOD et CAT plus élevées, tandis que le génotype Histal a montré des activités APX et GR plus élevées.

Le rôle des enzymes antioxydantes est de piéger les espèces réactives de l'oxygène produites par le stress oxydatif et donc de protéger l'intégrité de la membrane cellulaire (Taïbi et *al.*, 2016). La SOD convertit les radicaux superoxydes en lesquels seront réduits par CAT en H<sub>2</sub>O et en oxygène (Demiral et Türkan, 2005). En outre, l'augmentation de l'activité GR en conditions salines a également été signalée (Maribel et Tobita, 1998 ; Taïbi et *al.*, 2016). Les activités enzymatiques antioxydantes ont augmenté dans les conditions contrôles et celles stressées par le NaCl après le traitement des plantes par l'acide salicylique.

L'apport exogène de l'acide salicylique a atténué le stress salin chez *S. lycopersicum* à travers la stimulation de la famille des gènes GST (Csiszár et *al.*, 2014). L'expression accrue des gènes antioxydants tels que la voie GST1-2, GPX1-2 et ASA-GSH en réponse à l'apport

de l'acide salicylique rétablit significativement l'intégrité de la membrane cellulaire et améliore la teneur en pigments photosynthétiques (Li *et al.*, 2014b).

Il est à noter que l'effet de l'acide salicylique varie en fonction de la concentration appliquée ; les activités CAT, APX et GR ont été stimulées au maximum à 0.5 mM AS sous salinité élevée tandis que l'activité SOD a été stimulée principalement sous l'effet de la concentration de l'acide salicylique à 1 mM.

Dans l'ensemble, même si les performances du génotype Aguadulce sont meilleures que celles du génotype Histal en termes de croissance, de réponse physiologique et moléculaire sous stress salin, la différence entre les deux génotypes demeure quantitative que qualitative. L'application de l'acide salicylique a amélioré de manière significative la tolérance des deux génotypes à la salinité à travers le maintien de l'intégrité de la membrane cellulaire et du processus photosynthétique et de la diminution de la toxicité du sodium et des dommages oxydatifs. Néanmoins, l'action de l'acide salicylique varie en fonction de la concentration appliquée de l'hormone, du génotype testé et du paramètre étudié. Il s'est avéré que, sous les conditions salines, le génotype Aguadulce se comporte mieux sous le traitement à 0.5 mM AS tandis que le génotype Histal manifeste un comportement meilleur sous le traitement à 1 mM acide salicylique.

# **Conclusion et perspectives**

## Conclusion et perspectives

Les études comparatives entre les différents génotypes pour la tolérance aux sels pourraient aider à identifier les mécanismes cellulaires et moléculaires qui sont à l'origine de leur tolérance à la salinité et à sélectionner par la suite les génotypes les plus adaptés à des conditions environnementales spécifiques.

La présente étude a révélé que la différence entre les génotypes en étude, Aguadulce et Histal, est plus quantitative que qualitative même si le génotype Aguadulce s'est comporté mieux en termes de croissance, de réponse physiologique et moléculaire sous stress salin.

En général, le stress salin a induit plusieurs limitations de la croissance, des échanges gazeux, de la photosynthèse, de l'homéostasie ionique et d'autres attributs physiologiques. Néanmoins, les plantes de la fève ont déclenché certains mécanismes pour faire face à la contrainte saline à travers le maintien de leur statut hydrique et l'amélioration des activités enzymatiques antioxydantes.

Cependant, la tolérance des deux génotypes à la salinité a été considérablement améliorée suite à l'apport exogène de l'acide salicylique qui a permis le maintien de l'intégrité de la membrane cellulaire et du processus photosynthétique, la restauration de l'homéostasie ionique et la diminution des dommages oxydatifs.

Les effets bénéfiques de l'acide salicylique varient en fonction de sa concentration, du génotype testé et du paramètre étudié. Dans l'ensemble, sous les conditions salines, le génotype Aguadulce se comporte physiologiquement mieux sous le traitement à 0.5 mM AS tandis que le génotype Histal manifeste un comportement physiologique meilleur sous le traitement à 1 mM AS.

Sur la base des résultats obtenus, l'acide salicylique peut être considéré comme étant un régulateur potentiel de la croissance végétale pouvant améliorer la réponse de la fève à la salinité. Le traitement des plantes par l'acide salicylique pourrait constituer une approche durable et une alternative efficace pour restaurer les effets néfastes de la salinité.

L'application de l'acide salicylique fournirait une base pratique pour une culture de la fève à grande échelle et pourrait proposer une solution écologique et économique importante pour faire face aux sols affectés par la salinité, principalement dans les régions arides et semi-arides.

Des analyses complémentaires à l'échelle moléculaire (les acides aminés et les protéines impliquées dans la régulation génétique) et génétique (la structure et la fonction des acides nucléiques) demeurent nécessaires pour la confirmation et l'éclaircissement des résultats obtenus. Ainsi, l'utilisation d'autres plantes modèles s'avère importante pour la généralisation de l'hypothèse de recherche sur les autres espèces végétales.

# **Références bibliographiques**

## Références bibliographiques

- Abdelguerfi A. et Abdelguerfi-Laouar M. (2004). Les ressources génétiques d'intérêt fourrager et/ou pastoral : diversité, collecte et valorisation au niveau méditerranéen. In : Ferchichi A. (collab.). Réhabilitation des pâturages et des parcours en milieux méditerranéens. Zaragoza : CIHEAM, 2004. p.29-41 (Cahiers Options Méditerranéennes ; n° 62)
- Abdul Qados A.M.S. (2011). Effect of salt stress on plant growth and metabolism of bean plant *Vicia faba* (L.). J. Saudi Soc. Agric. Sci. 10, 7–15.
- Acosta-Motos, J.R., Ortuño, M.F., Bernal-Vicente, A., Diaz-Vivancos, P., Sanchez-Blanco M.J., and Hernandez J.A. (2017). Plant Responses to Salt Stress: Adaptive Mechanisms. Agronomy 7(1), 18.
- Adda A., Regagba Z., Latigui A. and Merah O. (2014). Effect of Salt Stress on  $\alpha$ -amylase Activity, Sugars Mobilization and Osmotic Potential of *Phaseolus vulgaris* L. Seeds Var. 'Cocorose' and 'Djadida' During Germination. Journal of Biological Sciences, 14: 370-375.
- AFPP (2013). Stimulation des défenses des végétaux cultivés (Fiche AFPP 5.12). In: F.A.(Editions), éd. Protection Intégrée des Cultures - Fiches pour le conseil des techniques utilisables, pp. 207-210.
- Ahmad P., Alyemeni M.N., Ahanger M.A., Egamberdieva D., Wijaya L. et Alam, P. (2018). Salicylic Acid (SA) Induced Alterations in Growth, Biochemical Attributes and Antioxidant Enzyme Activity in Faba Bean (*Vicia faba* L.) Seedlings under NaCl Toxicity. Russian Journal of Plant Physiology. 65, 104–114
- Ahmadizadeh M., Valizadeh M., Zaefizadeh M. et Shahbazi H. (2011). Antioxidative protection and electrolyte leakage in Durum wheat under drought stress condition. Journal of Applied Sciences Research 7(3): 236-246.
- Akram N.A., Shafiq F. et Ashraf M. (2017). Ascorbic acid-A potential oxidant scavenger and its role in plant development and abiotic stress tolerance. Front. Plant Sc. 8, 613. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00613>
- Albacete A., Ghanem M.E., Martínez-Andujar C., Acosta M., Sánchez-Bravo J., Martínez V., Lutts S., Dodd I.C., and Pérez-Alfocea F. (2008). Hormonal changes in relation to biomass partitioning and shoot growth impairment in salinized tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants. J Exp Bot 59, 4119–4131.

- Ali M.B., Yu K. W., Hahn E. J. and Paek K.-Y. (2006). Methyl jasmonate and salicylic acid elicitation induces ginsenosides accumulation, enzymatic and non-enzymatic antioxidant in suspension culture *Panax ginseng* roots in bioreactors. *Plant Cell Rep* 25, 613–620.
- Allario T. (2009). Identification de déterminants physiologiques et moléculaires de la tolérance a la contrainte saline et au déficit hydrique de porte-greffes autotétraploïdes d'agrumes. Thèse de doctorat. Université de Corse-Pascal Paoli. 335 p.
- Almeida D.M., Oliveira M.M. et Saibo N.J.M. (2017). Regulation of Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> homeostasis in plants: towards improved salt stress tolerance in crop plants. *Genet. Mol. Biol.* 1(40). <https://doi.org/10.1590/1678-4685-gmb-2016-0106>
- Aoki S., Kondo T., Prévost D., Nakata S., Kajita T. and Ito M. (2010). Genotypic and
- Apse M. et Blumwald E. (2007). Na<sup>+</sup> transport in plants. *National Center for Biotechnology Information.* 581(12), 2247-2254.
- Arfan M., Athar H.R. et 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? *Journal of Plant Physiology* 164(6):685-94
- Arif F. (2015). Effets du stress salin et d'osmoprotecteurs naturels sur la germination de blé dur (*Triticum durum*) inoculé par *Pseudomonas fluorescens*. Thèse de doctorat. Université Ferhat Abbas Sétif 1. 205p.
- Ashraf M. et Bhatti A.S. (2000). Effects of salinity on growth and chlorophyll content in rice. *Pak J Ind Res* 43, 130-131.
- Ashraf M. et Harris P.J.C. (2013). Photosynthesis under stressful environments: An overview. *Photosynthetica.* 51, 163–190.
- Baenas N., García-Viguera C., and Moreno, D.A. (2014). Elicitation: A Tool for Enriching the Bioactive Composition of Foods. *Molecules* 19(9), 13541–13563.
- Baha Nassima (2015). Biodiversité des bactéries associées aux nodules de la luzerne (*Medicago sativa* L.) : Apport de la bio-fertilisation sur sa productivité en condition de stress salin. Thèse de doctorat. Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene. 293p.
- Balakhnina TI., Bennicelli RP., Stêpniewska Z., StêpniewskiW., Fomina IR. (2010). Oxidative damage and antioxidant defense system in leaves of *Vicia faba* major L. cv. Bartom during soil flooding and subsequent drainage. *Plant Soil* 327(1-2): 293-301p.

- Bañuls J. et Primo-Millo E. (1992). Effects of chloride and sodium on gas exchange parameters and water relations of Citrus plants. *Physiol. Plant.* 86, 115-123.
- Barbouchi M, Lhissou R, Chokmani K, Abdelfattah R, El Harti A, Ben Aissa N. (2013). Caractérisation de la salinité des sols à l'aide de l'imagerie radar satellitaire : cas de la Tunisie et du Maroc. Centre Eau Terre et Environnement Institut national de la recherche scientifique (INRS-ETE), Québec (QC) G1K 9A9. 89 p
- Bargaz A. (2012). Caractérisation agrophysiologique et biochimique de symbioses haricot (*Phaseolus vulgaris*) Rhizobia, performantes pour la fixation symbiotique de l'azote sous déficit en phosphore. Thèse de doctorat, Université Kadi Ayyad, Markech, 163 p.
- Bargaz A., Ghoulam C., Faghire M., Aslan Attar H., et Drevon J.J. (2011). The nodule conductance to O<sub>2</sub> diffusion increases with high phosphorus content in the *Phaseolus vulgaris*-rhizobia symbiosis. *Symbiosis.* 53: 157-164.
- Bari R, Jones JD, Role of plant hormones in plant defence responses, *Jour Plant Mol Biol*, 69 (4), 473–488.
- Barrs, H.D. and Weatherley, P.E. (1962) A Re-Examination of the Relative Turgidity Technique for Estimating Water Deficits in Leaves. *Australian Journal of Biological Sciences*, 15, 413-428. <https://doi.org/10.1071/BI9620413>
- Bartels D, Dinakar C. (2013). Balancing salinity stress responses in halophytes and onhalophytes : A comparison between *Thellungiella* and *Arabidopsis thaliana*. *Functional Plant Biology* 40: 819–831.
- Beghin C. (2019). Étude de l'effet de la salinité du sol sur la valeur nutritionnelle des feuilles de *Amaranthus cruentus*. Thèse, Université catholique de Louvain, Belgique. 151p.
- Ben Kaddour M. (2014). Modifications physiologiques chez des plantes de blé (*Triticum durum* Desf) exposées à un stress salin. Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar, Annaba. 108p.
- Ben Nja R. (2014). Effet d'un stress salin sur la teneur en polymères pariétaux dans les feuilles de luzerne (*Medicago sativa*) et sur la distribution dans les cellules de transfert des fines nervures. Thèse en cotutelle. Universités de Limoges et Cartage. 193 p
- Ben Yahmed J., (2013). Etude des propriétés de tolérance au déficit hydrique et au stress salin de génotypes appartenant au genre *Poncirus* et au groupe des mandariniers. Thèse de doctorat. Centre international d'études supérieures en sciences agronomiques, Montpellier. 210p.

- Benkaddour M. (2014). Modifications physiologiques chez des plantes de blé (*Triticum durum* Desf) exposées à un stress salin. Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar, Annaba. 108 p.
- Benmahioul B., Daguin F., Kaid-Harche M. (2009). Effet du stress salin sur la germination et la croissance in vitro du pistachier (*Pistacia vera* L.). *Comptes rendus Biologies*, 332 : 752-758.
- Bennett, S.J., Barrett-Lennard, E.G. and Colmer, T.D. (2009). Salinity and waterlogging as constraints to salt land pasture production: a review. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 129: 349–360.
- Blokhina O., Virolainen E. et Fagerstedt K.V. (2003). Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Ann Botany*, 91:179-194.
- Borsani O., Zhu J., Verslues P.E., Sunkar R. and Zhu J.K. (2005). Endogenous siRNAs derived from a pair of natural cisantisense transcripts regulate salt tolerance in *Arabidopsis*. *Cell* 123, 1279–1291
- Boukerma L. (2017). Biotisation des plantes (*Solanum lycopersicum* et *Arabidopsis thaliana*) par les PGPRs et élicitation des réactions de défense inductible. Thèse de doctorat. Ecole Nationale Supérieure Agronomique El-Harrach, Alger. 147 p.
- Boukraa D. (2016). Effet de l'acide salicylique sur les composantes du rendement et la résistance biotique et abiotique chez *Cicer arietinum*. Thèse de doctorat, Université de Mascara, Mustapha Stambouli. 145 p.
- Bourion V., Laguerre G., Depret G., Voisin A.S., Salon C. and Duc G. (2007). Genetic
- Brink M. et Belay G. (2006). Ressources végétales de l'Afrique tropicale 1 : céréales et légumes secs. Protas, Pays bas, 327p. ISBN 90-5782-172-9
- Bulut F., Akıncı Ş. et Eroğlu A. (2011). Growth and Uptake of Sodium and Potassium in Broad Bean (*Vicia faba* L.) under Salinity Stress. *Communications in soil science and plant analysis* 42 (8), 945-961
- Cakmak I., Strbac D. et Marschner H. (1993). Activities of hydro-gen peroxide scavenging enzymes in germinated wheat seeds. *J. Exp. Bot.* 44, 127–132.
- Cesar A.I., Esther M.G., Daniel M., Ruben L., Estibaliz L. et Erena G.Q. (2011). Physiological response of legume nodules to drought. *Plant stress*. 5:24-31.
- Chauv C., et Foury, C.L. (1994). Les productions légumières, Tome 3 : Légumineuses potagères-légumes fruits. Ed. TEC et DOC. Lavoisier, 562p.
- Chaves, M.M., Maroco, J.P., et Pereira, J.S. (2003). Understanding plant responses to drought from genes to the whole plant. *Functional Plant Biol.* 30, 239–264.

- Cheeseman, J. (2016). Food Security in the Face of Salinity, Drought, Climate Change, and Population Growth. (Elsevier), pp. 111–123.
- Chen Z., Zheng Z., Huang J., Lai Z. and Fan B. (2009). Biosynthesis of salicylic acid in plants. *Plant Signal Behav.*, 4(6): 493–496.
- Chinnusamy V., Schumaker K. and Zhu J.K. (2004). Molecular genetic perspectives on cross talk and specificity in abiotic stress signaling in plants. *J Exp Bot.* 55(395), 225-236
- Chodiseti, B., Rao, K., Gandi, S., and Giri, A. (2015). Gymnemic acid enhancement in the suspension cultures of *Gymnema sylvestre* by using the signaling molecules—methyl
- Chorfi A. et Taïbi K. (2011a). Physiological behavior of wheat genotypes from Algerian semi-arid regions grown under salt stress. *Afr. J. Agric. Res.* 6 (3), 636–641.
- Chorfi A. et Taïbi K. (2011b). Biochemical screening for osmotic adjustment of wheat genotypes under drought stress. *Tropicultura* 29 (2), 82–87.
- Craig G.F., Atkin C.A., and Bell D.T. (1999). Effect of salinity on growth of four strains of rhizobium and their infectivity and effectiveness on two species of Acacia. *Plant Soil*, 133: 253-262.
- Csisza'r J., Horvath E., Va'ry Z., Galle A', Bela K., Brunner S. and Tari I. (2014).
- Cuberoj I. (2011). The faba bean: a historic perspective. *Grain Legume* 56: 5-7.
- Cuin T.A., Betts S.A., Chalmandrier R. et Shabala S. (2008). A root's ability to retain K<sub>+</sub> correlates with salt tolerance in wheat. *J Exp Bot* 59(10), 2697-2706.
- culture to improve the production of phenolic compounds: A review. *Industrial Crops and*
- Dajoz R. (2000). *Eléments d'écologie*. Ed Dunod. Paris, 8<sup>ème</sup> édition, 631 p.
- Daoui K. (2007). Recherche de stratégies d'amélioration de l'efficacité d'utilisation des
- Das P, Nutan K.K, Singla-Pareek S.L and Pareek A. (2015). Understanding salinity responses and adopting 'omics-based' approaches to generate salinity tolerant cultivars of rice. *Front. Plant Sci.* 6:712. doi : 10.3389/fpls.2015.00712
- Dawood M.G. et El-Awadi M.E. (2015). Alleviation of salinity stress on *Vicia faba* L. plants via seed priming with Melatonin. *Acta. Biol. Colomb.* 20, 223–235.
- Delgado M.J, Ligeró F. et Lluch C. (1994). Effects of salt stress on growth and nitrogen fixation by pea, faba-bean, common bean and soybean plants. *Soil Biol Biochem* 26:371-376.
- Demiral, T., Türkan, İ., 2005. Comparative lipid peroxidation, antioxidant defense Effect of salt stress on growth, chlorophyll content, lipid peroxidation and antioxidant defence systems in *Phaseolus vulgaris*

- L. S. Afr. J. Bot. 105, 306–312.
- Dempsey D.M.A., Vlot A.C. Wildermuth M.C. et Klessig D. (2011). Salicylic Acid Biosynthesis and Metabolism. The Arabidopsis Book. 2011(9), e0156. <https://doi.org/10.1199/tab.0156>
  - Dias M.I., Sousa M.J., Alves R.C. and Ferreira I.C.F.R. (2016). Exploring plant tissue
  - Douaoui T. et Hartani A. (2008). Impact de l'irrigation par les eaux souterraines sur la dégradation des sols de la plaine du Bas-Chéliff. Troisième atelier régional du projet SIRMA, Jun 2007, Nabeul, Tunisie. 5 p. (CIRAD-00259785)
  - Duarte B., Santos D., Marques J.C., Caçador I. (2013). Ecophysiological adaptation of two halophytes to salt stress: photosynthesis, PS II photochemistry and antioxidant feedback- implication for resilience in climate change. Plant Physiol. Biochem. 67:178-188.
  - Duchaufour P. (1983). Pédologie, pédogenèse et classification. Ed. Masson, 491 p.
  - Duranti M. et Gius C. (1997). Legume seeds: Protein content and nutritional value. Field Crops Resh, 53, 31-45.
  - Echi, R.M., Asli, D.E., Vajedi, S.J. and Kashani, Z.F. 2013. The effect of kinetin treatment on indices of germination and activity of canola seed enzymes under salt stress, International Journal of Biosciences, 3(6), 190-197.
  - El-Tayeb M.A. (2005). Response of barley grains to the interactive effect of salinity and salicylic acid. Plant. Growth. Regul. 45, 215–224.
  - El-Tayeb, M.A., EL-Enany A.E. and Ahmed N.L. (2006). Salicylic acid- induced adaptive response to copper stress in sunflower (*Helianthus annus L.*). Plant Growth Regul., 50, 191-199.
  - Fachmann K. et Kraut M.L. (2006). L'intérêt de la fève. Ed. Bourde. Paris, 74 p.
  - Faessel L., Gomy C., Nassr N., Tostivint C., Hipper C. et Dechanteloup A. (2014). Produits de stimulation en agriculture visant à améliorer les fonctionnalités biologiques
  - Faghire M. (2012). Rôle des microorganismes symbiotiques (cas de rhizobia) dans l'amélioration de la production agricole de *Phaseolus vulgaris* sous stress salin. Thèse de doctorat. Université cadi Ayyad, Marrakech, Maroc. 111 p.
  - Faghire M., Bargaz A., Farissi M., Palma F., Mandri B., Lluch C., Tejera García N.A., Herrera-Cervera J.A., Oufdou K. et Ghoulam C. (2011). Effect of salinity on nodulation, nitrogen fixation and growth of common bean (*Phaseolus vulgaris*) inoculated with rhizobial strains isolated from the Haouz region of Morocco. Symbiosis, 55:69-75.

- Fahmideh L. et Fooladvand Z. (2018). Isolation and Semi Quantitative PCR of Na/H Antiporter (SOS1 and NHX) Genes under Salinity Stress in *Kochia scoparia*. *Biological Procedures Online* 20, 11 (2018). <https://doi.org/10.1186/s12575-018-0076-7>
- FAO (2008). Terrestrial Database ([www.fao.org/agl/agl.1/terrastat](http://www.fao.org/agl/agl.1/terrastat))
- FAO (2009). Comment nourrir le monde en 2050 ? Rapport du forum de la FAO du 12 et 13-11-2009 préparant le Sommet Mondial sur la Sécurité Alimentaire organisé à Rome, 16, 17 et 18 novembre 2009.
- FAO and ITPS (2015). Status of the World's Soil Resources: Main Report. ISBN: 978-92-5-109004-6. 650p
- Fardeau J. et Jonis, M. (2003). Phytostimulants et éliciteurs pour végétaux - Propriétés et garanties règlementaires.
- Feillet P. (2000). Le grain de blé : composition et utilisation. INRA. Paris.308 p.
- Flowers T.J., Munns R. et Colmer T.D. (2015). Sodium chloride toxicity and the cellular basis of salt tolerance in halophytes. *Ann. Bot.*, 115(3), 419- 431.
- Flowers, T. J., Munns R. and Colmer. T. D. (2015). Sodium chloride toxicity and the cellular basis of salt tolerance in halophytes. *Ann. Bot.*, 115(3), 419-431.
- Foolad M.R., Lin G.Y. et Chen F.Q. (1999). Comparison of QTLs for seed germination under non-stress, cold stress and salt stress in tomato. *Plant Breeding* 118: 167–173.
- Fricke W., Wieland, Akhiyarova G., Veselov D., Kudoyarova G. (2004). Rapid and tissue-specific changes in ABA and in growth rate in response to salinity in barley leaves. *J Exp Bot* 55(399):1115-23.
- Fricke W., Akhiyarova G., Wei W., Alexandersson E., Miller A., Kjellbom P.O., Richardson A., Wojciechowski T., Schreiber L. et Veselov D. (2006). The short-term growth response to salt of the developing barley leaf. *Journal of Experimental Botany*, 57:5, 1079-1095.
- Fricke W., Akhiyarova G., Veselov D. et Kudoyarova G. (2004). Rapid and tissue-specific changes in ABA and in growth rate in response to salinity in barley leaves. *J Exp Bot* 55, 1115-1123.
- Fujita M., Fujita Y., Noutoshi Y., Takahashi F., Narusaka Y., Yamaguchi-Shinozaki K. et Shinozaki K. (2006). Crosstalk between abiotic and biotic stress responses: a current view from the points of convergence in the stress signaling networks. *Curr. Opin. Plant Biol*, 9:436–42.
- Gadzovska S., Maury S., Delaunay A., Spasenoski M., Hagège D., Courtois D., and

- Gallais A. et Bannerot H. (1992). Amélioration des espèces végétales cultivées : objectifs et critères de sélection. Paris: INRA, 768 p.
- Gama P.B.S, Inanaga S., Tanaka K. and Nakazawa R. (2007). Physiological response of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seedlings to salinity stress. African J. of Biot. 6(2) 79-88.
- Ghanem M.E., Albacete A., Martínez-Andújar C., Acosta M., Romero-Aranda R., Dodd I.C., Lutts S., Pérez-Alfocea F. (2008). Hormonal changes during salinity-induced leaf senescence in tomato (*Solanum lycopersicum* L.). J. Exp. Bot. 59: 3039-3050p.
- Ghannoum O. (2009). C4 photosynthesis and water stress. Ann. Bot. 103(4): 635–644p.
- Gill, S. S. and Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in
- Girard P., Prost J. et Bassereau P. (2005). Passive or Active Fluctuations in Membranes Containing Proteins Phys. Rev. Lett. 94: 60-64.
- Glenn E.P., Brown J.J., et Blumwald E. (1999). Salt tolerance and crop potential of halophytes. Critical reviews in plant sciences 18: 227–255.
- Glenn, E.P., Brown, J.J., and Blumwald, E. (1999). Salt Tolerance and Crop Potential of Halophytes. Critical Reviews in Plant Sciences 18, 227–255.
- González-alcázar MN., Jiménez-Cárceles F.J., Álvarez Y. et Álvarez-Rogel J. (2014). Gradient of soil salinity and moisture, and plant distribution in a Mediterranean semiarid saline watershed: a model of soil-plant relationships for contributing to the management. Catena 115, 150-158.
- Gordon A, Rose L E, Allen R L, Armstrong MR. (2004). Differential recognition of highly divergent downy mildew avirulence gene alleles by RPP1 resistance genes from two Arabidopsis lines. Plant Cell 17:1839–50.
- Gourguillon L. (2017). Etude de deux halophytes, *Armeria maritima* (Mill) et *Helichrysum stoechas* L. (Moench) : exploration phytochimique, approche biotechnologique et valorisation dermo-cosmétique. Thèse de doctorat, Université de Strasbourg. 435p.
- Graham P.H. et Vance C.P. (2003). Legumes: Importance and constraints to greater use. Plant Physiol, 131: 872-877.
- Grattan S.R., Grieve C.M. 1999. Salinity mineral nutrient relations in horticultural crops. Scientia Horticult. 78(1/4), 127-157.
- Gunes A., Inal A., Alpaslan M., Eraslan F., Guneri Bagc E. et Cicek N. (2007). Salicylic acid induced changes on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress and mineral nutrition in maize (*Zea mays* L.) grown under salinity. J. Plant Physiol., 164, 728-736.

- Gururani M.A., Venkatesh J. et Tran L.S.P. (2015). Regulation of photosynthesis during abiotic stress-induced photoinhibition. *Molecular Plant* 8: 1304–1320.
- Hajer A.S., Malibari A.A., Al-Zahrani H.S. et Almaghrabi O.A. (2006). Response of three tomato cultivars to water salinity, effect of salinity on the seedling growth. *Afr J Biotech* 5(10), 855-861.
- Hakim, M. A., Juraimi, A. S., and Hanafi, M. M. (2014). The effect of salinity on growth, ion accumulation and yield of rice varieties. *J. Anim. Plant Sci.* 24, 874- 885.
- Halliwell B and M Whiteman (2004). "Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean?" *Brazilian Journal of Pharmacology* 142(2), 231-255.
- Hanin M., Ebel C., Ngom M., Laplaze L. et Masmoudi K. (2016). New insights on plant salt tolerance mechanisms and their potential use for breeding. *Front. Plant Sci.* 7, <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01787>
- Haouala F., Ferjani H. et Ben Hadj S. (2007). Effet de la salinité sur la répartition des cations ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  et  $\text{Ca}^{2+}$ ) et du chlore ( $\text{Cl}^-$ ) dans les parties aériennes et les racines du ray grass anglais et du chiendent. *Biotechnol. Agonom. Soc. Environ.* 11(3), 235-244.
- Harter, B. and Motis, T. (2017). Understanding Salt-Affected Soils. *Echo Technical Note*, 84, pp 8-9
- Hayat Q., Hayat S., Irfan M. et Ahmad A. (2010). Effect of exogenous salicylic acid under changing environment. *Environmental and Experimental Botany* 68(1) 14-25
- Heller R., Esnault R., Lance C. (1998). *Physiologie Végétale. Tome 1 Nutrition.* Paris ; 323p. ISBN : 2-10048710-8. pp105-108.
- Hernandez J.A., (2019). Salinity tolerance in plants: trends and perspectives. *Int. J. Mol. Sci.* 20(10), 2408; <https://doi.org/10.3390/ijms20102408>
- Hewedy O.A., Eissa R.A., Elzanaty A.M., Nagaty H.H., and Abd Elbary M.I. (2014). Phenotypic and Genotypic Diversity of Rhizobia Nodulating Faba Bean from Various Egyptian Locations. *J Bioproc Biotechniq*, 4 :2155-9821.
- Highbie S.M., Wang F., Stewart J.M., Sterling T.M., Lindemann W.C., Hughs E. et Zhang J. (2010). Physiological response to salt ( $\text{NaCl}$ ) stress in selected cultivated tetraploid cottons. *International Journal of Agronomy* 2010: 1–12.
- Hopkins W.G. (2003). *Physiologie végétale. 2ème édition.* De Boeck, Bruscelles:476 p.
- Hungria M., and Vargas M.A.T. (2000). Environmental factors affecting Nitrogen fixation in grain legumes in the tropics, with an emphasis on Brazil. *Field Crops Research*, 65: 151-164.

- IPTRID et FAO (2006). Conférence électronique sur la salinisation: Extension de la salinisation et Stratégies de prévention et réhabilitation (Du 6 Février au 6 Mars 2006. 12p
- Isayenkov S.V. et Maathuis F.J.M. (2019). Plant salinity stress: many unanswered questions remain. *Front. Plant. Sci.* 20 (10), 2408
- James R.A., Davenport R.J. et Munns R. (2006). Physiological characterization of two genes for Na<sup>+</sup> exclusion in durum wheat, *Nax1* and *Nax2*. *Plant Physiol* 142: 1537–1547.
- Janda T., Horváth E., Szalai G. and Páldi E. (2007). Role of salicylic acid in the induction of abiotic stress tolerance. In: Hayat S., Ahmad A. (eds) *Salicylic Acid: A Plant Hormone*. Springer, Dordrecht. [https://doi.org/10.1007/1-4020-5184-0\\_5](https://doi.org/10.1007/1-4020-5184-0_5)
- Jayakannan M., Bose J., Babourina O., Rengel Z. et Shabala S. (2013). Salicylic acid improves salinity tolerance in *Arabidopsis* by restoring membrane potential and preventing salt-induced K<sup>+</sup> loss via a GORK channel. *Exp Bot.* 64(8), 2255–2268.
- Joseph C. (2013). The influence of salicylic acid elicitation of shoots, callus, and cell suspension cultures on production of naphthodianthrones and phenylpropanoids in *Hypericum perforatum* L. *Plant Cell Tiss Organ Cult* 113, 25–39.
- Jossier M., Kroniewicz L., Dalmás F., Le Thiec D., Ephritikhine G., Thomine S., Barbier-Brygoo H., Vavasseur A., Filleur S. et Leonhardt N. (2010). The *Arabidopsis* vacuolar anion transporter, AtCLC<sub>c</sub>, is involved in the regulation of stomatal movements and contributes to salt tolerance. *The Plant Journal* 64, 563-576.
- Khadri M., Tejera N.A. et Lluch C. (2007). Sodium chloride–ABA interaction in two common bean (*Phaseolus vulgaris*) cultivars differing in salinity tolerance. *Env Exp Bot* 60(2), 211-218.
- Khan M.I.R., Fatma M., Per T.S., Anjum N.A. et Khan N.A. (2015). Salicylic acid-induced abiotic stress tolerance and underlying mechanisms in plants. *Front. Plant. Sci.* 6, 462. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00462>
- Khan M.I.R., Asgher M. et Khan N.A. (2014). Alleviation of salt-induced photosynthesis and growth inhibition by salicylic acid involves glycinebetaine and ethylene in mungbean (*Vigna radiata* L.). *Plant. Physiol. Biochem.* 80, 67–74.
- Khan S., Javed D.M.A., Jahan N. et Manan D.F.A. (2016). A Short Review On The Development Of Salt Tolerant Cultivars In Rice. *International Journal of Public Health Science (IJPHS)* 5: 201.
- Khan, M.A., Ungar I.A. et Showalter A.M. (2006). Salt Stimulation and Tolerance in an Intertidal Stem-Succulent Halophyte. *Journal of Plant Nutrition*, 28(8), 1365-1374.

- Khelloufi Abdenour (2019). Contribution à l'étude des effets de la sécheresse et du stress salin sur l'écophysiologie des espèces d'Acacia en Algérie. Thèse de doctorat. Université de Batna 2. 136p.
- Korkmaz A., Uzunlu M. and Demirkiran A.R. (2007). Treatment with acetyl salicylic acid protects muskmelon seedlings against drought stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 29, 503–508
- Kosová K., Prášil I.T. et Vítámvás P. (2013). Protein Contribution to plant salinity response and tolerance acquisition. *Int. J. Mol. Sci.* 14: 6757-6789p.
- Kosova K., Prasil I.T., Vítámvás P. (2013). Protein Contribution to plant salinity response and tolerance acquisition. *Int. J. Mol. Sci.* 14: 6757-6789p.
- Krichnan H.B. and Bennett J.O. (2007). Rhizobia that is important for nodulation. In:
- Lawlor D.W. et Cornic G. (2002). Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant. cell. environ.* 25(2):275-294
- Lazali, M. (2014). Etude des mécanismes agrophysiologiques et moléculaires d'adaptation à la déficience en phosphore chez la symbiose rhizobienne du haricot (*Phaseolus vulgaris* L). Thèse de doctorat en sciences agronomiques, Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie, Alger, 152 p.
- Lee, S., Kim, S-G. and Park, C-M. 2010. Salicylic acid promotes seed germination under high salinity by modulating antioxidant activity in Arabidopsis. *New Phytologist*, 188(2), 626-637.
- Leguen J. et Duc G. (1992). La Fèverole, amélioration des espèces végétales cultivées : objectifs et variétés de sélection. Ed. INRA, Paris, 203p.
- Li L., Zhang H., Zhang L., Zhou Y., Yang R., Ding C. et Wang, X. (2014a). The physiological response of *Artemisia annua* L. to salt stress and salicylic acid treatment. *Physiol. Mol. Biol. Plants.* 20, 161–169.
- Li T., Hu Y., Du X., Tang H., Shen C. et Wu J., (2014b). Salicylic acid alleviates the adverse effects of salt stress in *Torreya grandis* cv. *Merrillii* seedlings by activating photosynthesis and enhancing antioxidant systems. *PLOS ONE*, 9(10): e109492. doi: 10.1371/journal.pone.0109492.
- Li T., Hu Y., Du X., Tang H., Shen C., Wu J. (2014). Salicylic acid alleviates the adverse effects of salt stress in *Torreya grandis* cv. *Merrillii* seedlings by activating photosynthesis and enhancing antioxidant systems. *PLOS ONE* 9, e109492. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0109492>

- Liu Y., Yu L., Qu Y., Chen J., Liu X., Hong H. and Guan R. (2016). GmSALT3, which confers improved soybean salt tolerance in the field, increases leaf Cl-exclusion prior to Na<sup>+</sup> exclusion but does not improve early vigor under salinity. *Frontiers in plant science*, 7:1485.
- Liu. K., Fu H., Bei Q., et Luan, S. (2000). Inward Potassium Channel in Guard Cells as a Target for Polyamine Regulation of Stomatal Movements. *Plant Physiology* 124, 1315-1326.
- Loake G. et Grant M. (2007). Salicylic acid in plant defence - the players and protagonists, *Current Opinion in Plant Biology*, 10(5) , 466–472.
- Lohaus G., Hussmann M., Pennewiss K., Schneider H., Zhu J.J., Sattelmacher B. (2000). Solute balance of a maize (*Zea mays* L.) source leaf as affected by salt treatment with special emphasis on phloem retranslocation and ion leaching. *Journal of experimental botany* 51:1721–32.
- Long S.R. (1996). Rhizobium symbiosis: Nod factors in perspective. *Plant Cell* 8(10), 1885-1898.
- Lopez M., Herrera-Cervera J.A., Iribarne C., Tejera N.A. et Lluch C. (2008). Growth and nitrogen fixation in *Lotus japonicus* and *Medicago truncatula* under NaCl stress: nodule carbon metabolism. *Journal of Plant Physiology* 165: 641-650.
- Lucrezia C, Nicoletta F, Cori K, Matteo S, Alexey S, Isabelle V. et Christopher W. (2016). État des ressources en sols du monde. Résumé technique. FAO, 2016. 92 p.
- Lutts S., Kinet J.M. et Bouharmont J. (1996). Effects of salt stress on growth, mineral nutrition and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. *Plant Growth Regul.* 19, 207-218.
- Lutts S., Lefèvre I., Delpérée C., Kivits S., Dechamps C., Robledo A., Correal E. (2004). Heavy metal accumulation by the halophyte species Mediterranean saltbush. *J. Environ. Qual.* Jul-Aug 2004; 33(4):1271-9.
- Luu Doan Trung (2020). Comment les plantes supportent-elles un régime salé ? Site web : Encyclopédie de l'Environnement ; 17-09-2020. <https://www.encyclopedie-environnement.org/vivant/comment-plantes-supportent-regime-sale/>
- Mâalem S. (2011). Etude de l'impact des interactions entre le phosphore et le chlorure de sodium sur trois espèces végétales halophytes du type *Atriplex* (*A halimus*, *A canescens*, *A nummularia*). Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar, 169 p.
- Maas, E.V. and Grattan, S.R. (1999). Crop yields as affected by salinity. Chapter 3 in R.W. Skaggs and J. van Schilfgaarde (Ed.) *Agricultural Drainage*. Agron. Monogr. 38. American Society of Agronomy, Madison, WI.

- Maillard J. (2001). Le point sur l'Irrigation et la salinité des sols en zone aride : Risques et Recommandations. Handicap International. Novembre 2001. 35p
- Manchanda G. et Garg N. (2008). Salinity and its effects on the functional biology of legumes. *Acta Physiol. Plant* 30(5), 595-618.
- Maribel D.-S. et Tobita S. (1998). Antioxidant responses of rice seedlings to salinity stress. *Plant Science*, 135(1), 1-9
- Maynard, D.N., Hochmuth, G.J. et Knott, J.E. (2006). *Knott's Handbook for Vegetable Growers*. 5<sup>th</sup> edition. John Wiley. 642 P. ISBN: 978-0-471-73828-2
- Mazel A., Leshem Y., Tiwari BS. and Levine A. (2004). Induction of salt and osmotic stress tolerance by overexpression of an intracellular vesicle trafficking protein AtRab7 (AtRabG3e). *Plant Physiol.* 134(1): 118–128p.
- Mekhloufi A. (2019). Contribution à l'étude des effets de la sécheresse et du stress salin sur l'écophysiologie des espèces d'Acacia en Algérie. Thèse de doctorat. Université de Batna 2. 136 p.
- Meloni D.A., Gulotta M.R., Martínez C.A. et Oliva M.A. (2004). The effects of salt stress on growth, nitrate reduction and proline and glycinebetaine accumulation in *Prosopis alba*. *Braz. J. Plant Physiol.* 16(1), 67-74
- Miller, G., Suzuki, N., Ciftci-Yilmaz, S., and Mittler, R. (2010). Reactive oxygen species homeostasis and signaling during drought and salinity stresses. *Plant, Cell & Environment* 33(4), 453-467.
- Montserrat RAMÍREZ-SUERO (2009). Etude de l'interaction de *Medicago truncatula* avec *Fusarium oxysporum* et du rôle de l'acide salicylique dans les interactions de la plante avec différents agents pathogènes et symbiotiques. Thèse de doctorat, Université de Toulouse. 282p.
- Mouhaya W. (2008). Caractérisation physiologique et moléculaire de la tolérance au stress salin chez les porte-greffes tétraploïdes d'agrumes. Thèse de doctorat. Université de Corse -Pascal Paoli. 235 p.
- Moussa H.R. et Hassan M.A.E.F. (2016). Growth enhancers to mitigate salinity stress in *Vicia faba*. *International Journal of Vegetable Science*, 22(3), 243-250
- Munns R. (2002). Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, Cell & Environment* 25, 239–250.
- Munns R. (2005). Genes and salt tolerance: bringing them together. *New Phytologist* 167:
- Munns R. et Tester M. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, 59 : 651 681.

- Munns R., (2002). Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, Cell and Environment* 25, 239-250.
- Munns R. (2005). Genes and salt tolerance: bringing them together. *New Phytologist* 167, 645-663.
- Murthy S.D.S. et Sudhir P. (2004). Effects of salt stress on basic processes of photosynthesis. *Photosynthetica* 42: 481–486.
- Muscolo A., Junker A., Klukas C., Weigelt-Fisher K., Riewe D. et Altmann T. (2015). Phenotypic and metabolic responses to drought and salinity of four contrasting lentil accessions. *J Exp Bot* doi: 10.1093/jxb/erv208.
- Nag S. and Das S. (2014). Quality Assessment of Groundwater with Special Emphasis on Irrigation and Domestic Suitability in Suri I & II Blocks, Birbhum District, West Bengal, India. *American Journal of Water Resources*, 2(4):81-98
- Nazar R., Umar S. et Khan N.A. (2015). Exogenous salicylic acid improves photosynthesis and growth through increase in ascorbate-glutathione metabolism and S assimilation in mustard under salt stress. *Plant. Signal. Behav.* 10(3):e1003751. doi: 10.1080/15592324.2014.1003751.
- Nazar R., Umar S. and Khan N.A. (2015). Exogenously application of salicylic acid on the modulation of photosynthesis in heat in salt stress. *Plant Signal Behav.*, 10(3), doi: 10.1080/15592324.2014.1003751
- Negr S. et Schmo S. M. (2017). Evaluating physiological responses of plants to salinity stress. *Ann. Bot.* 119, 1–11.
- Németh M., Janda T. n Horváth E. Páldi E. and Szalai G. (2002). Exogenous salicylic acid increases polyamine content but may decrease drought tolerance in maize. *Plant Science*, 162(4), 569-574.
- Ouslim S. (2006). BNL associées aux légumineuses alimentaires (*Vicia faba* L) dans l'ouest Algérien « caractérisation et importance ». Thèse de doctorat, Université d'Oran 1, Ahmed Benbella. 159 p.
- Parida A.K. et Das A.B. (2005). Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 60:324-349.
- Parihar P., Singh S., Singh R., Singh V.P. et Prasad S.M. (2015). Effect of salinity stress on plants and its tolerance strategies: a review. *Environmental Science and Pollution Research* 22:4056–4075.
- Parniske M. and Downie J. A. (2003). Plant biology: locks, keys and symbioses. *Nature*,
- Patrick J.W. et Stoddard F.L. (2010). Physiology of flowering and grain filling in *Faba bean*. *Field Crops Research*. 115: 234-242

- Peron J-Y. (2006). Productions Légumières. Ed. Lavoisier, 613p.
- Pieterse C.M.J. and Loon L.C.V. (2007). Signalling cascades involved in induced : A Sustainable Approach to Crop Protection. Blackwell Publishing, Oxford, pp. 68 - 88
- Prytz G., Futsther C. et Johnson A. (2003). Thermographs studies of the spatial and temporal variability in stomatal conductance of Arena leaves during stable and oscillatory transpiration. *New Phytologist* 158(2), 249-258.
- Quesada V., García-Martínez S., Piqueras P., Ponce M.R. et Micol J.L. (2002). Geneticarchitecture of NaCl tolerance in Arabidopsis. *Plant Physiology* 130: 951–963.
- Rachef S.A., Ouamer B. and Ouffroukha, F.A. (2005). Inventaire des ravageurs de la fève en Algérie (identification et caractérisation). *I.N.R.A.*,16: 36-41.
- Rachef S.A., Ouamer F. et Ouffroukh A. (2005). Inventaire des ravageurs de la fève en Algérie (Identification et caractérisation). *Recherches Agronomiques*, 16(9), 36-43.
- Rahmoune C, Ben Naceur M, Cheikh-M'Hamed H, Maalam S. (2008). Les indicateurs précoces de tolérance à la salinité chez les blés durs. *Biotech. 2008. Journées Scientifiques du réseau "Biotechnologies végétales / Amélioration des plantes et sécurité alimentaire" de l'Agence universitaire de la Francophonie. Rennes, France. p.151*
- Rai A. (2017). Effet du stress salin sur les bactéries du sol : rôle d'extraits dérivés de *Enteromorpha intestinalis*, *Ulva lactuca* et *Opuntia ficus-indica* sur la relation bactérie-plante sous stress salin. Thèse de doctorat. Université Ferhat Abbas Sétif, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. 246 p.
- Ramirez-Estrada K., Vidal-Limon, H., Hidalgo, D., Moyano, E., Golenioswki, M., Cusidó R.M., and Palazon, J. (2016). Elicitation, an Effective Strategy for the Biotechnological Production of Bioactive High-Added Value Compounds in Plant Cell Factories. *Molecules* 21(2), 182-206.
- Rao K.V.M., Raghavendra A.S. and Reddy K.J. (2006). Physiology and molecular biology stress tolerance in plants. Springer Netherlands. Ed.,1. 337 p. eBook ISBN: 978-1-4020-4225-6. DOI: 10.1007/1-4020-4225-6
- Rengasamy P. (2006). World salinization with emphasis on Australia. *Journal of Experimental Botany*, Vol. 57, No. 5, pp. 1017-1023
- Rengasamy P. (2010). Soil processes affecting crop production in salt-affected soils. *Aust. J. Soil Res.* 37: 613-620 p.

- Rengasamy P. (2010). Soil processes affecting crop production in salt affected soils. *Functional Plant Biology*. 37(7), 613-620.
- Rivero R.M., Mestre T.C., Mittler R., Rubio, F., Garcia-Sanchez F., and Martinez V. (2014). The combined effect of salinity and heat reveals a specific physiological, biochemical and molecular response in tomato plants. *Plant, Cell & Environment* 37, 1059–1073.
- Rojas-Tapias, D., Moreno-Galván, A., Pardo-Díaz, S., Obando, M., Rivera, D. et Bonilla, R.(2012). Effect of inoculation with plant growth-promoting bacteria (PGPB) on amelioration of saline stress in maize (*Zea mays*). *Appl. Soil Ecol.* 61: 264-272.
- Rouabhia A.E.K. et Djabri L. (2010). L'irrigation et le risque de pollution saline. Exemple des eaux souterraines de l'aquifère miocène de la plaine d'El Ma Labiod. *Larhyss. Journ.* N° 8, p. 55-67.
- Roy S.J., Negrão S., et Tester, M. (2014). Salt resistant crop plants. *Current Opinion in Biotechnology* 26, 115124.
- Ruan, C.-J., Silva, J.A.T. da, Mopper, S., Qin, P., and Lutts, S. (2010). Halophyte Improvement for a Salinized World. *Critical Reviews in Plant Sciences* 29, 329–359.
- Rubio F., Flores P., Navarro J. M. et Martinez V. (2003). Effects of Ca<sup>2+</sup>, K<sup>+</sup> and cGMP on Na<sup>+</sup> uptake in pepper plants. *Plant Science*, 165(5): 1043-1049.
- Rugheim A.M.E. and Abdelgani M.E. (2012). Effect of microbial and chemical fertilization on yield and seed quality of faba bean (*Vicia Faba*). *Int Food Res J*, 19(2): 417-422.
- Rungrat, T., Awlia, M., Brown. T., Cheng, R., Sirault, X., Fajkus, J., Trtilek, M. et al. (2016). Using Phenomic Analysis of Photosynthetic Function for Abiotic Stress Response Gene Discovery. *The Arabidopsis Book* 14: e0185.
- Sade N., Vinocur B.J., Diber A., Shatil A., Ronen G., Nissan H., Wallach R., Karchi H. et Moshelion M. (2009). Improving plant stress tolerance and yield production: is the tonoplast aquaporin SITIP2;2 a key to isohydric to anisohydric conversion. *New Phytol.*,181(3):651-61.
- Sahar.S.J. (2019). Étude de l'homéostasie des sucres en réponse à une forte salinité chez *Arabidopsis thaliana* : impact sur l'anatomie des tissus vasculaires dans la hampe florale et rôle dans la tolérance. Thèse de doctorat. Université de Sousse et de l'Université Paris-Saclay. 190p.

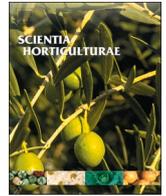
- Scandalios J.G. (2005). Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses, *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 38, 995-1014
- Schneider A. et Huyghe C. (2015). Les légumineuses pour des systèmes agricoles et alimentaires durables. Éditions Quæ RD 10, 78026 Versailles Cedex, 515 p.
- Scholander P.F., Bradstreet E.D., Hemmingsen E.A. and Hammel H.T. (1965). Sap Pressure in Vascular Plants. *Science*, 148(3668), 339-346
- Selami N. (2015). Etude des Associations Symbiotiques de *Retama monosperma* : Approches Morphologique, Anatomique et Ultrastructurale, Caractérisation Moléculaire des Isolats. Thèse de doctorat, Université d'Oran, Mohamed Boudiaf. 150 p.
- Senaratna T., Touchell D., Bunn T. and Dixon K. (2000). Acetyl salicylic acid (Aspirin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plants. *Plant Growth Regul* 30,157-161.
- Serraj R., Vasquez D.H. and Drevon J.J. (1998). Effects of Salt Stress on nitrogen fixation, oxygen diffusion and ion distribution in soybean. Common bean and alfalfa. *J. Plant Nutr*, 21: 475-488.
- Shahba, Z., Baghizadeh, A., Yousefi, M., and Ohadi, M. (2014). Effect of Salicylic Acid on Oxidative Stress Caused by NaCl Salinity in *Lycopersicum Esculentum* Mill. *Research Journal of Environmental Sciences*, 8(1), 49-56.
- Shakirova F.M. (2007). Role of hormonal system in the manifestation of growth promoting and antistress action of salicylic acid. In Hayat S. and Ahmad A. (eds.), *Salicylic acid: A plant hormone*, pp 69–89. Springer, Dordrecht. [https://doi.org/10.1007/1-4020-5184-0\\_4](https://doi.org/10.1007/1-4020-5184-0_4)
- Shannon M.C. et Grieve C.M. (1998). Tolerance of vegetable crops to salinity. *Scientia Horticulturae* 78: 5–38.
- Shevyakova N.I., Musatenko L.I., Stetsenko L.A., Vedenicheva N.P., Voitenko L.P., Sytnik K.M. et Kuznetsov V.V. (2013). Effects of abscisic acid on the contents of polyamines and proline in common bean plants under salt stress, *Russ. J. Plant Physiol.* 60, 200-211.
- Shrivastava, P., and Kumar, R. (2015). Soil salinity: A serious environmental issue and plant growth promotinbacteria as one of the tools for its alleviation. *Saudi Journal of Biological Sciences* 22, 123–131.
- Slama, F. 2004. La salinité et la production végétale. Ed. Centre de publication universitaire. Tunis, 163p.

- Snoussi S.A., Halitim A., et Valles V. (2004). Absorption hydrique en milieu salin chez la tomate et le haricot. *Cah Agric*; 13 (3): 283-287.
- Sottosanto J.B., Saranga Y. et Blumwald E. (2007). Impact of AtNHX1, a vacuolar Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> antiporter, upon gene expression during short-and long-term salt stress in *Arabidopsis thaliana*. *BMC Plant Biology* 7 (1), 1-15
- Tafforeau M., Verdus M.C., Norris V., Ripoll C. et Thellier M. (2006). Memory Processes in the Response of Plants to Environmental Signals. *Plant Signaling & Behavior* 1:1, 9-14.
- Taïbi K. et Chorfi A. (2010). Physiological behavior of two Algerian wheat genotypes grown under saline conditions. *Arab. Gulf. J. Sci. Res.* 28 (4), 197–204.
- Taïbi K., Boussaid M., Achir M., Taïbi F. et Belkhodja, M. (2011). Evaluation of growth response and water relations of two bean genotypes (*Phaseolus vulgaris* L.) from Algerian semi-arid regions grown under salt stress. *Genetics and Plant Physiology* 1(3-4), 176–185.
- Taïbi K., Del Campo A.D., Vilagrosa A., Bellés J.M., López-Gresa M.P., Pla D., Calvete J.J., López-Nicolás J.M. et Mulet J.M. (2017). Drought Tolerance in *Pinus halepensis* Seed Sources As Identified by Distinctive Physiological and Molecular Markers. *Front Plant Sci.* 8 :1202. doi: 10.3389/fpls.2017.01202.
- Taïbi K., Del Campo A.D., Vilagrosa A., Bellés J.M., López-Gresa M.P., López-Nicolás J.M. et Mulet J.M. (2018). Distinctive physiological and molecular responses to cold stress among cold-tolerant and cold-sensitive *Pinus halepensis* seed sources. *BMC Plant Biol* 18(1), 236-236.
- Taïbi K., Taïbi F. et Belkhodja M. (2012a). Effects of external calcium supply on the physiological response of salt stressed bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Genetics. Plant. Physiol.* 2(2-4), 177–186.
- Taïbi K., Taïbi F. et Belkhodja M. (2013a). Plants growth, water relations and photosynthesis of two bean genotypes *Phaseolus vulgaris* L. treated with NaCl and fluridone. *Afric. J. Biotech.* 12(24), 3811–3821.
- Taïbi K., Taïbi F. et Belkhodja M. (2013b). Salinity Effects on the physiological response of two bean genotypes (*Phaseolus vulgaris* L.). *Arab Gulf Journal of Scientific Research* 31(2/3), 90-98.
- Taïbi K., Taïbi F., Ait Abderrahim L., Ennajah A., Belkhodja M. et Mulet, J.M. (2016). Effect of salt stress on growth, chlorophyll content, lipid peroxidation and antioxidant defense systems in *Phaseolus vulgaris* L. *South African Journal of Botany*, 115 , 306-312

- Talke I. N., Blaudez D., Maathuis F. J. M. et Sanders D. (2003). CNGCs: prime targets of
- Teakle N.L. et Tyerman S.D. 2010. Mechanisms of Cl<sup>-</sup> transport contributing to salt tolerance. *Plant, Cell and Environment* 33: 566–589.
- Teakle NL., Tyerman SD.- 2010- Mechanisms of Cl<sup>-</sup> transport contributing to salt tolerance. *Plant Cell Environ.* 33: 566–589p.
- Torres-Zabala M., Truman W., Bennett M.H., Lafforgue G., Mansfield J.W., Rodriguez E.P. et al. (2007). *Pseudomonas syringae* pv. tomato hijacks the Arabidopsis abscisic acid signaling pathway to cause disease. *EMBO J*, 26:1434–43.
- Tsai YC., Hong CY., Liu LF. and Kao CH. (2005). Expression of ascorbate peroxidase and glutathione reductase in roots of rice seedlings in response to NaCl and H<sub>2</sub>O. *J. Plant Physiol.* 162(58): 291–299p.
- Turan M.A., Elkarim A.H.A., Taban N. et Taban S. (2009). Effect of salt stress on growth, stomatal resistance, proline and chlorophyll concentrations on maize plant. In *African Journal of Agricultural Research* 4(9) 893-897.
- Tyerman, S. D., Niemietz, C. M. and Bramley, H. 2002. Plant aquaporins: multifunctional water and solute channels with expanding roles. *Plant, cell & environment* 25(2): 173-194.
- Uzilday B., Ozgur R., Sekmen A.H., Yildiztugay E. et Turkan I. (2015). Changes in the alternative electron sinks and antioxidant defence in chloroplasts of the extreme halophyte *Eutrema parvulum* (*Thellungiella parvula*) under salinity. *Annals of Botany*, 115(3), 449-463.
- Van Loon L.C., Pieterse C.M., Ton J., Van H.M. and Pelsers M. (2006). Costs and benefits of priming for defense in Arabidopsis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(14), 5602-5607.
- variability in nodulation and root growth affects nitrogen fixation and accumulation in pea. *Annals of Botany*, 100 :589–598.
- Veselov D.S., Sharipova G.V., Veselov S.U. et Kudoyarova G.R. (2008). The effects of NaCl treatment on water relations, growth and ABA content in barley cultivars differing in drought tolerance. *Journal of Plant Growth Regulation.* 27, 380-386.
- Vysotskaya L., Hedley P.E., Sharipova G., Veselov D., Kudoyarova G., Morris J. and Jones H.G. (2010). Effect of salinity on water relations of wild barley plants differing in salt tolerance. *AoB Plants*: plq006, doi: 10.1093/aobpla/plq006.
- Wang Y. et Nil N. (2000). Changes in chlorophyll, ribulose biphosphate carboxylase-oxygenase, glycine betaine content, photosynthesis and transpiration in *Amaranthus tricolor* leaves during salt stress. *J. Hortic. Sci. Biotechnol.* 75, 623-627.

- Wang Y.D., Wu J.C., and Yuan Y.J. (2007). Salicylic acid-induced taxol production and isopentenyl pyrophosphate biosynthesis in suspension cultures of *Taxus chinensis* var. mairei. *Cell Biology International* 31, 1179–1183.
- Wilkinson S. et Davies W.J. (2002). ABA-based chemical signalling: The co-ordination of responses to stress in plants. *Plant, Cell and Environment* 25: 195–210.
- Wouyou A., Gandonou C., Komlan F., Montcho D., Zanklan A., Lutts S., and Gnancadja S. (2017). Salinity Resistance of Five Amaranth (*Amaranthus cruentus*) Cultivars at Young Plants Stage. *International Journal of Plant & Soil Science* 14(3), 1-11.
- Wu J., Seliskar D.M. et Gallagher J.L. (1998). Stress tolerance in the marsh plant *Spartina patens*: Impact of NaCl on growth and root plasma membrane lipid composition. *Physiol. Plant.* 102, 307–317.
- Yaiche F. (2017). Stratégies de défense observées chez le blé comme réponse à l'induction d'un stress oxydatif. Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar, Annaba. 199 p.
- Yamaguchi M. et Sharp R.E. (2010). Complexity and coordination of root growth at low water potentials: recent advances from transcriptomic and proteomic analyses. *Plant, Cell & Environment* 33, 590-603.
- Yamaguchi T. et Blumwald E. (2005). Developing salt-tolerant crop plants: challenges and opportunities. *Trends Plant Sci.* 10(12): 615-620.
- Yang, Y., and Guo, Y. (2018). Unraveling salt stress signaling in plants. *Journal of Integrative Plant Biology.* 60(9), 796-804.
- Yokoi S., Quintero F.J., Cubero B., Ruiz M.T., Bressan R.A., Hasegawa P.M., Pardo J.M. (2002). Differential expression and function of *Arabidopsis thaliana* NHX Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> antiporters in the salt stress response. *Plant J.* 30: 529–539p.
- Young N.D. (2005). Legumes as a Model Plant Family. Genomics for Food and Report of the Cross-Legume Advances through Genomics conference. *Plant Physiol.* 137(4), 1228-1235.
- Zaidi A et Mahiout B. (2012). Voyage au cœur des aliments. Ed. Le palis du Livre. 195 p.
- Zhang H.J., Dong H.Z., Li W.J. et Zhang D.M. (2011). Effects of soil salinity and plant density on yield and leaf senescence of field-grown cotton. *J. Agron. Crop Sci.* 198(1), 27-37.
- Zhang J., Jia W., Yang J. & Ismail A.M. (2006). Role of ABA in integrating plant responses to drought and salt stresses. *Field Crops Research*, 97(1):111-119.
- Zhang R., Ma X., Wang M., Ly H. and Zhu C. (2016). Effects of salinity & water stress on the physiological & ecological processes & plasticity of *Tamarix ramosissima* seedlings. *Acta Ecologica Sinica*, 36(6):433-441.

- Zhao J., Davis L.C., and Verpoorte R. (2005). Elicitor signal transduction leading to
- Zhu J.K. (2003). Regulation of ion homeostasis under salt stress. *Current Opinion in plant biology*, 6(5), 441-445.
- Zhu J.K. (2003). Regulation of ion homeostasis under salt stress. *Current Opinion in Plant Biology* 6(5), 441–445.
- Zidane D.O. (2017). Caractérisation morpho-physiologique d'une halophyte, *Atriplex*, aux conditions arides. Thèse de doctorat, Université d'Oran 1. 111p.



# Salt-tolerance in *Vicia faba* L. is mitigated by the capacity of salicylic acid to improve photosynthesis and antioxidant response

Kada Souana<sup>a</sup>, Khaled Taïbi<sup>a,b,\*</sup>, Leila Ait Abderrahim<sup>a</sup>, Mokhtar Amirat<sup>a</sup>, Mohamed Achir<sup>a</sup>, Mohamed Boussaid<sup>a</sup>, José M. Mulet<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Faculty of Life and Natural Sciences, University of Tiaret, 14000, Algeria

<sup>b</sup> Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas (IBMCP), Universitat Politècnica de València-Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Avd. de los Naranjos s/n, Valencia, 46022, Spain

## ARTICLE INFO

### Keywords:

Salt tolerance  
salicylic acid  
*Vicia faba*L.  
water status  
gas exchanges  
photosynthesis  
ions homeostasis  
antioxidants enzymes

## ABSTRACT

Selection and improvement of crops subjected to salinity constitutes an urgent need for increasing agricultural and food production in order to feed the growing human population. The aim of the present study is to evaluate the role of salicylic acid (SA) application in mitigating the adverse effects of salinity on faba bean (*Vicia faba* L.) at the physiological and molecular levels. For this purpose, two faba bean genotypes were subjected to various concentrations of NaCl and salicylic acid in a full factorial design. After that, growth, water status, gas exchanges, photosynthesis parameters, ions homeostasis and antioxidant enzymes activities were evaluated. The obtained results demonstrated that salinity induced several limitations in plants growth and physiological attributes. In response, salt stressed faba bean plants improved water status and enhanced antioxidant enzymatic activities. Remarkably, salt-tolerance of both genotypes was significantly improved by salicylic acid application which allowed the maintenance of cell membrane and photosynthetic process, restoring of ion homeostasis and the diminution of oxidative damages. Overall, the difference between genotypes is rather quantitative than qualitative even if the genotype Aguadulce displayed better growth, physiological and molecular response under salt stress than the genotype Histal. Besides, the beneficial effects of salicylic acid vary according to its concentration, the tested genotype and the studied parameter; the genotype Aguadulce performs better under the treatment with 0.5 mM SA while the genotype Histal manifests greater behaviour under the treatment with 1 mM SA. Therefore, salicylic acid can be considered as potential growth regulator to improve the salt response of faba bean. The application of salicylic acid would provide a practical basis for wide cultivation of faba bean in marginal and wastelands under-cultivated and might propose an effective ecological and economical alternative solution to deal with salt-affected soils mainly in arid regions.

## 1. Introduction

Salinity is one of the most major threats to plants and crops yields in the XXI century worldwide and its adverse effects are expected to increase under the burden of climate change mainly in arid and semiarid regions. Recent statistics have revealed more than 45 million hectares of irrigated land damaged by salt stress around the world and this number is in perpetual increase (Isayenkov and Maathuis, 2019).

Plants subjected to salinity experience a combination of osmotic and ionic stresses that leads regrettably to various damages at the physiological, cellular and molecular levels, further causing reduced uptake of nutrients and decline of photosynthetic performance (Taïbi et al., 2016).

In addition, salt stress produces plenty of reactive oxygen species which damage the biomolecules (lipids, proteins, and nucleic acids) and other enzymatic activities and even cause the degradation of cell membrane system (Demiral and Türkan, 2005). To deal with this constraint, plants activate several pathways to control salt damage and modulate cellular homeostasis and growth. Salt tolerance is often decrypted by the activation of cell signaling pathways including synthesis of antioxidant enzymes, stress hormones and osmoprotectant metabolites such as amino acids and sugars (Isayenkov and Maathuis, 2019).

Salicylic acid, an endogenous phenolic plant growth regulator, has been found to generate a wide range of metabolic and physiological responses in plants thereby affecting their growth and development

\* Corresponding author.

E-mail address: [khaledtaibi@hotmail.com](mailto:khaledtaibi@hotmail.com) (K. Taïbi).

(Khan et al., 2015). The positive effects of salicylic acid in mitigating stress are attributed to nutrient uptake improve, membrane protection, photosynthesis repair, as it can interact also with reactive oxygen species signal pathways and reduce oxidative stress (Herrera-Vásquez et al., 2015; Xu and Brosché, 2014). Several reports are available highlighting the role of salicylic acid in improving salt stress tolerance in plants (Ahmad et al., 2018; Jayakannan et al., 2013; Khan et al., 2014; Li et al., 2014a; Li et al., 2014b; Nazar et al., 2015).

Fabaceous plants constitute a suitable solution to feed growing populations, improve human and animal nutrition and enhance soil fertility since they are able to enrich the soil's nitrogen content throughout its symbiotic association with rhizobium (Castro-Guerrero et al., 2016). The faba bean or broad bean, *Vicia faba* L., is an important legume for human nutrition as it is a major source of protein, fiber, vitamins and minerals. This species is susceptible to salt regions and attempts are being made to enhance its production and yields mainly in marginal arid lands.

In the present study, we hypothesised that (i) the extent of the beneficial effects of salicylic acid application varies among genotypes belonging to the same species and that (ii) the recovery photosynthetic performance and antioxidant enzymatic activity enhancement under salinity are correlated with the applied concentration of the hormone. Therefore, the main objective of the work is to evaluate the role of salicylic acid application at various concentrations in mitigating the adverse effects of salinity on two faba bean genotypes at the physiological and molecular levels. Examining the magnitude of intra-specific and genotypic variation for salinity tolerance along with a comprehensive description of the physiological and molecular response could provide vital information to faba bean breeding programs for the selection of the most suited genotypes for specific environmental conditions for their introduction in salt affected areas.

## 2. Material and methods

### 2.1. Plant material

Two genotypes of *Vicia faba* L., Aguadulce and Hista, widely cultivated in developing countries of the Mediterranean region were tested throughout the present study.

### 2.2. Growth conditions

Healthy and homogeneous seeds were surface sterilized using sodium hypochlorite (0.5 %, v/v) during 5 minutes followed by several washes with distilled water. After that, seeds were allowed to germinate between wet filter paper in Petri dishes in a growth chamber at controlled conditions (18-25 °C temperature, 70-90 % relative humidity) in the dark.

Seedlings cultivation were performed as described in Taïbi et al. (2016). Uniform healthy seedlings were selected and individually transplanted in culture pots containing a mixture of commercial peat and vermiculite (V: V). Culture was conducted under controlled conditions in a greenhouse (600  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  of light intensity, 25/18 °C day/night temperature, 16 h photoperiod, and 70% relative humidity). Seedlings were irrigated by a Hoagland full nutrient solution twice to three times a week.

### 2.3. Stress application and monitoring

Experiments were performed on seedlings of four-weeks-old. Salt stress was set-up with NaCl at two levels of 100 or 200 mM. Moreover, the hormone application consisted of treating plants with 0.5 mM or 1.0 mM salicylic acid ( $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_3$ ; 2-hydroxybenzoic acid; Sigma-Aldrich, C 99.0%) dissolved in 0.02 % Tween 20 (Polyoxyethylenesorbitan monolaurate, Sigma Chemicals, UK).

Either NaCl or salicylic acid (mixed with Tween-20) were both

dissolved in the nutrient solution of Hoagland which was applied directly to the pots for irrigation.

Control plants were irrigated by Hoagland full nutrient solution without NaCl and SA. Untreated plants with salicylic acid received the same volume of Tween-20 added to the nutrient solution for homogeneity. It should be noted that no visible damages on the stressed plants were observed during the experiment.

Overall, plants were arranged in a full factorial design with two faba bean genotypes, three salt treatments (i.e. 0, 100 and 200 mM NaCl) and three salicylic acid treatments (i.e. 0, 0.5 and 1 mM SA). For each treatment, eight replicates were set and processed.

Plants were harvested after ten days of treatment. The dry weights of the aerial parts and roots were determined and samples were conserved at  $-80\text{ }^\circ\text{C}$  for further analyses.

### 2.4. Water status measurements

Leaf water potential ( $\Psi_w$ , MPa) was measured in eight plants selected randomly per treatment using a Scholander-type pressure pump (PMS 1000, USA). Nevertheless, relative water content (RWC) was assessed on leaves following the formula:

$$\text{RWC (\%)} = \frac{[(\text{fresh weight} - \text{dry weight}) / (\text{turgid weight} - \text{dry weight})] \times 100}$$

### 2.5. Gas exchange and photosynthesis measurements

Instantaneous assessments of stomatal conductance ( $g_s$ ,  $\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ), transpiration ( $E$ ,  $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ), net  $\text{CO}_2$  assimilation ( $P_n$ ,  $\mu\text{mol CO}_2\text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ), intercellular  $\text{CO}_2$  concentration ( $C_i$ ,  $\mu\text{mol CO}_2\text{ mol}^{-1}$ ) and instantaneous water use efficiency ( $\text{WUE}_{\text{inst}}$ ;  $\mu\text{mol CO}_2\text{ mmol}^{-1}\text{ H}_2\text{O}$ ) were also measured on recently expanded leaves of eight plants per treatment by means of a portable photosynthesis (Model LI-6400, LICOR Biosciences Inc., Lincoln, USA). Besides, maximal photochemical efficiency of PSII ( $F_v/F_m$ ) was assessed at predawn using a handy PEA portable fluorometer (Hansatech, United Kingdom).

### 2.6. Determination of electrolyte leakage

Electrolyte leakage in fresh leaves was determined following Li et al. (2014b) method:

$$\text{Electrolyte leakage (\%)} = \frac{[(\text{EC}_1 - \text{EC}_0) / (\text{EC}_2 - \text{EC}_0)] \times 100}{\text{where EC}_0 \text{ is the electrical conductivity recorded at 0 time point; EC}_1 \text{ is the electrical conductivity measured after contents heated at } 60\text{ }^\circ\text{C; EC}_2 \text{ is the electrical conductivity after contents heated at } 100\text{ }^\circ\text{C.}}$$

### 2.7. Determination of ion content

Concentrations of sodium ( $\text{Na}^+$ ) and potassium ( $\text{K}^+$ ) were determined in oven dried leaf samples, after wet-digesting the samples in  $\text{HNO}_3\text{-HClO}_4$  acid mixture (4:1 v/v), by atomic absorption spectrometry (Perkins Elmer, Norwalk, CT, USA) as described by Taïbi et al. (2016).

### 2.8. Antioxidant enzymes assay

Antioxidant enzymes were extracted at  $4\text{ }^\circ\text{C}$  from 500 mg fresh leaf sample in Tris-HCl (100 mM, pH 7.5) containing dithiotrotol (5 mM),  $\text{MgCl}_2$  (10 mM), EDTA (1.0 mM), magnesium acetate (5 mM), PVP (1.5%), PMSF (1.0 mM) and  $1\text{ }\mu\text{g/mL}$  aproptinin in a pre-chilled pestle and mortar. The homogenate was centrifuged at 10.000 rpm for 15 minutes at  $4\text{ }^\circ\text{C}$  and the supernatant was used as enzyme source then Superoxide dismutase (SOD), Catalase (CAT), Ascorbate peroxidase (APX) and Glutathione reductase (GR) activity were assayed according to the method described by Cakmak et al., 1993.

## 2.9. Statistical analysis

Prior to the analysis, the Levene test was applied to check the analysis of variance requirements. The significance of differences between different treatments was assessed using analysis of variance, at 95% confidence level. The post-hoc Duncan test was used to estimate homogeneous groups. Correlations between the measured parameters were determined based on the coefficient of Pearson. All the statistical analyses were performed using the computing environment R.

## 3. Results

The effect of salt stress on faba bean seedlings growth was evaluated throughout the determination of shoot and root dry weight (Figs. 1A and B). In general, dry biomass decreased significantly in comparison to control seedlings for both genotypes in response to the increase of NaCl concentration (p-value<0.01\*\*). Shoot dry biomass decreased by 60 % in Aguadulce and 65 % in Histal while root dry biomass decreased by around 70 % in both genotypes under high salinity. However, the exogenous application of salicylic acid enhances both shoot and root biomass over control and salt stressed seedlings; under high salinity, less decrease in shoot dry biomass was observed in the treatment with 0.5 mM SA (50 % for Aguadulce and 60 % for Histal). However, better effect concerning root dry biomass was noted in the treatment with 1 mM SA for both genotypes.

Fig. 1.

As expected, salinity affects seedlings water status; leaf relative water content (RWC) diminished by more than 32 % for both genotypes and water potential ( $\Psi_w$ ) decreased significantly by around 153 % in Aguadulce and 135 % in Histal. This finding indicates that seedlings were experiencing drought stress concomitant to salinity. However, salicylic acid application improves significantly seedlings water status through the decrease of water potential to 165 % for Aguadulce and 150 % for Histal and therefore, the recovery of relative water content to 72 % and 74 % respectively in Aguadulce and Histal. Nevertheless, under high salinity, better improving effect of water status was observed through treatment with 0.5 mM SA (Fig. 2A, B).

Fig. 2.

Likewise, stomatal conductance (gs), transpiration (E), net photosynthesis (Pn) and intercellular CO<sub>2</sub> concentration (Ci) decreased significantly when seedlings were subjected to salt stress (Figs. 3 A, B, C, D). The concomitant diminution under high salinity was around 48 % in gas exchange, 52 % in transpiration and intercellular CO<sub>2</sub> concentration, and 34 % in net photosynthesis for both genotypes. Exogenous application of salicylic acid improved significantly these parameters; less decreases were estimated around 34 % and 32 % in gas exchange, 48 % and 53 % for transpiration, 30 % and 31 % in net photosynthesis and 33 % and 35 % in intercellular concentration of CO<sub>2</sub> respectively in Aguadulce and Histal subjected to high salinity. Additionally, maximal efficiency of PSII (Fv/Fm) decreased as well under salinity for both genotypes by around 7 % (p-value<0.01\*\*). Nevertheless, exogenous salicylic acid enhanced the maximal efficiency of PSII under controlled and salt stressed conditions by around 2 to 3 %; the highest value obtained under 200 mM NaCl (Fv/Fm = 0.77) was observed in the

treatment with 0.5 mM SA for the genotype Aguadulce and in the treatment with 1 mM SA for the genotype Histal (Fig. 3 E).

Subsequent increase in water use efficiency (WUEinst) was induced by salinity and salicylic acid application which improved more the obtained values in both the two genotypes (Fig. 3 F). Nevertheless, water use efficiency was higher in the genotype Aguadulce under controlled and salt-stressed conditions. This improvement translates a higher capacity to maintain elevated photosynthetic levels in the genotype Aguadulce for comparable transpiration values in both genotypes.

Fig. 3.

Being the last sink, leaves constitute the most sensitive plant part where salt ions accumulate. Salt stress induced a significant increase of sodium content by around 156 % against a significant decrease of potassium content by around 50 % for both genotypes (p-value<0.001\*\*\*). However, exogenous salicylic acid supply decreased remarkably sodium content in leaves of both genotypes by around 10 % for the concentration 0.5 mM SA and 15 % for the concentration 1 mM SA under high salinity (Fig. 4 A). Concomitantly, potassium content increased for both genotypes by around 30 % under 0.5 mM SA and 50 % under 1 mM SA when plants were subjected to 200 mM NaCl (Fig. 4 B). Consequently, the ratio K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup>, which declined under salinity, was improved significantly with salicylic acid treatment (Fig. 4 C).

In addition, salinity affected significantly membrane stability throughout the induced increase of electrolyte leakage by more than four-folds in both genotypes (p-value<0.001\*\*\*). Treatment of seedlings with salicylic acid diminished widely the electrolyte leakage either in controlled or salt-stressed seedlings. This effect was estimated around 17 % of decrease in Aguadulce and 22 % in Histal under high salinity in comparison to salt-stressed seedlings untreated with SA (Fig. 4 D).

Fig. 4.

Regarding antioxidant enzymes activity, a significant increase was observed for both genotypes subjected to salt stress in terms of superoxide dismutase (SOD), ascorbate peroxidase (APX), catalase (CAT) and glutathione reductase (GR) activities (p-value<0.001\*\*\*). The rates of increase were estimated around to 260 % for SOD and APX activity however, CAT activity increased by 210 % in Aguadulce and 224 % in Histal while GR activity increased by 198 % in Aguadulce and 192 % in Histal. The application of salicylic acid induced further increase of the enzymatic activity mainly under high salinity. SOD activity increase was estimated around 300 % for Aguadulce and 320 % for Histal. Nevertheless, APX activity increase was about 280 % for Aguadulce and 270 % for Histal. By the same, CAT activity increased to 260 % for Aguadulce and 270 % for Histal while GR activity raised to 240 % for both genotypes. Better effects were observed in the treatment supplied with 0.5 mM SA for APX, CAT and GR. However, SOD activity was higher in the treatment with 1 mM SA (Fig. 5 A, B, C, D).

Fig. 5.

## 4. Discussion

Salinity is among the major challenging threats to horticulture by inducing several limitations in plants growth, development and overall productivity. Selection and improvement of salt-tolerant genotypes represents an effective strategy to improve plants productivity in areas

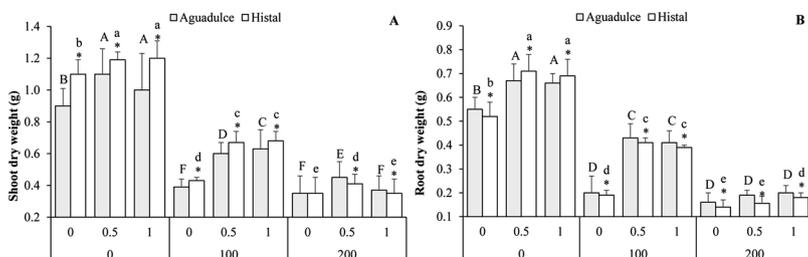
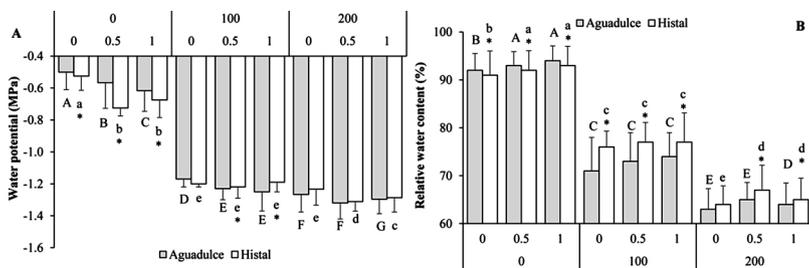
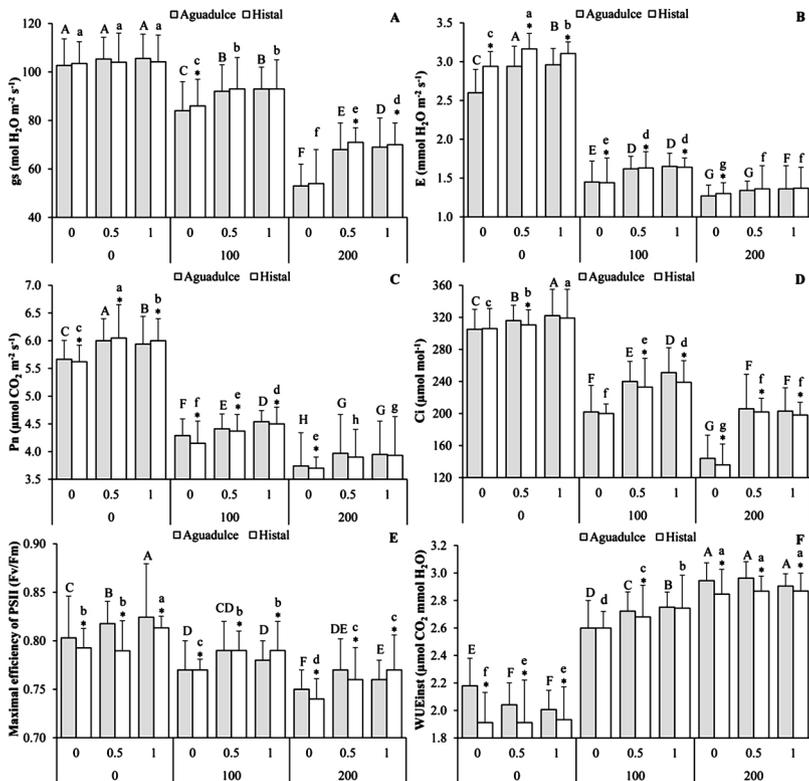


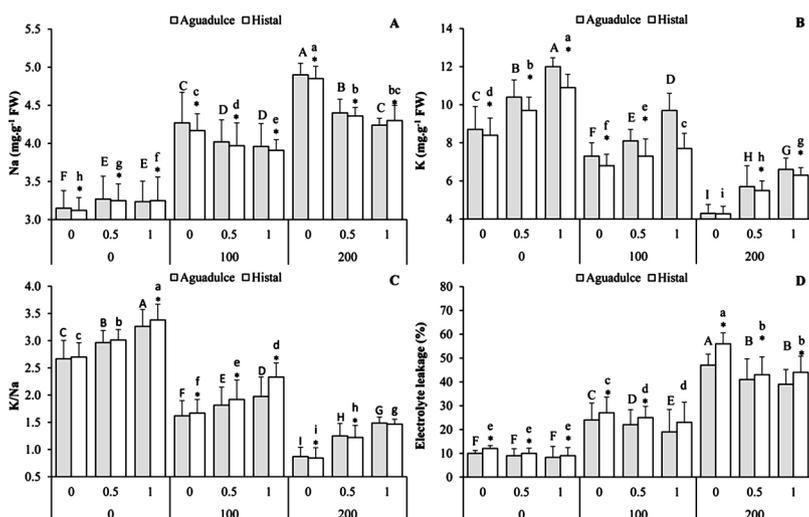
Fig. 1. Effects of salicylic application on shoot (a) and root (b) dry weight of two faba bean genotypes Aguadulce (grey bars) and Histal (white bars) subjected to salinity. The letters above the bars marks the significant difference among the different treatments with salt and salicylic acid for each genotype (Capital letters for Aguadulce and small letters for Histal) following the post hoc Duncan's test. The asterisk shows the significant difference between the two genotypes within the same treatment. Scale bars are mean + SE, being the number of samples n = 8.



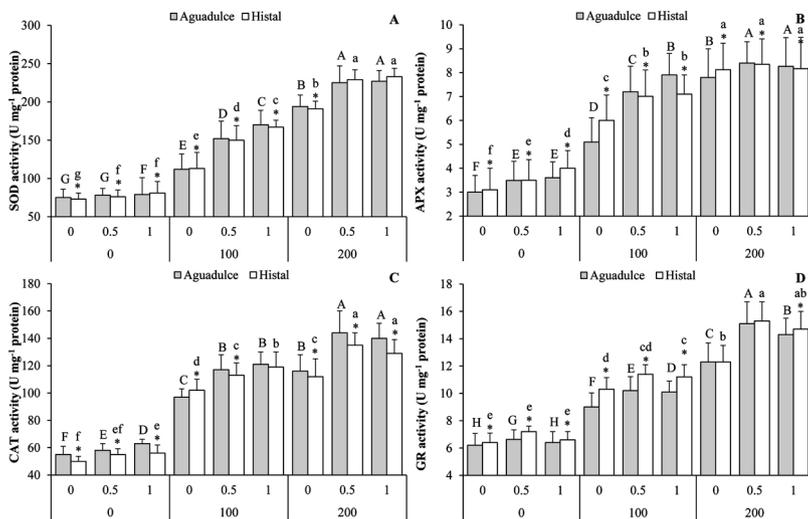
**Fig. 2.** Effects of salicylic application on leaf water potential (a) and relative water content (b) of two faba bean genotypes Agudulce (grey bars) and Hystal (white bars) subjected to salinity. The letters above the bars marks the significant difference among the different treatments with salt and salicylic acid for each genotype (Capital letters for Agudulce and small letters for Hystal) following the post hoc Duncan's test. The asterisk shows the significant difference between the two genotypes within the same treatment. Scale bars are mean + SE, being the number of samples  $n = 8$ .



**Fig. 3.** Effects of salicylic application on gas exchanges and photosynthesis of two faba bean genotypes Agudulce (grey bars) and Hystal (white bars) subjected to salinity. Stomatal conductance (gs) (a), transpiration (E) (b), Net photosynthesis (Pn) (c), intercellular  $\text{CO}_2$  concentration (Ci) (d), Maximal efficiency of PSII (e), and instantaneous water use efficiency (WUEinst) (f). The letters above the bars marks the significant difference among the different treatments with salt and salicylic acid for each genotype (Capital letters for Agudulce and small letters for Hystal) following the post hoc Duncan's test. The asterisk shows the significant difference between the two genotypes within the same treatment. Scale bars are mean + SE, being the number of samples  $n = 8$ .



**Fig. 4.** Effects of salicylic application on ions content and electrolyte leakage of two faba bean genotypes Agudulce (grey bars) and Hystal (white bars) subjected to salinity. Sodium content ( $\text{Na}^+$ ) (a), potassium content ( $\text{K}^+$ ) (b), ratio  $\text{K}^+/\text{Na}^+$  (c) and electrolyte leakage (d). The letters above the bars marks the significant difference among the different treatments with salt and salicylic acid for each genotype (Capital letters for Agudulce and small letters for Hystal) following the post hoc Duncan's test. The asterisk shows the significant difference between the two genotypes within the same treatment. Scale bars are mean + SE, being the number of samples  $n = 8$ .



**Fig. 5.** Effects of salicylic acid application on antioxidant enzymes activities of two faba bean genotypes Aguadulce (grey bars) and Hystal (white bars) subjected to salinity.

Superoxide dismutase activity (SOD) (a), Ascorbate peroxidase activity (APX) (b), Catalase activity (CAT) (c) and Glutathione reductase activity (GR) (d).

The letters above the bars marks the significant difference among the different treatments with salt and salicylic acid for each genotype (Capital letters for Aguadulce and small letters for Hystal) following the post hoc Duncan's test. The asterisk shows the significant difference between the two genotypes within the same treatment. Scale bars are mean + SE, being the number of samples  $n = 8$ .

suffering from adverse environmental conditions (Hernández 2019). Therefore, comparison among genotypes for salt tolerance can be very useful to describe the relevant mechanisms that might help to recognize stress tolerant genotypes and reveal the limiting factors which could be used for molecular breeding (Hanin et al., 2016; Taïbi et al., 2017; Taïbi et al., 2018). Besides, phytohormones constitute a strong tool to alleviate the adverse effects produced by abiotic stress. Recently, an increasing interest has been focused on the effect of salicylic acid in salinity tolerance (Khan et al. 2015).

In general, salinity induced severe restrictions of physiological and molecular responses of faba bean which affected significantly plants growth. However, salicylic acid restored most of these parameters and improve the plants stress response.

Severe growth limitations in terms of shoot and root dry biomass were observed under salinity for both genotypes. This finding, as one of the most visible effects of salt stress, is generally attributed to the inhibition of the developmental program and the stimulation of stress response mechanisms (Isayenkov and Maathuis, 2019). Growth arrest under salinity has been already reported in faba bean (Bulut and Eroğlu 2011; Dawood and El-Awadi, 2015; Moussa and Hassan, 2016) and other leguminous species like common bean (Taïbi et al., 2012a, b; Taïbi et al., 2013a, b; Taïbi et al., 2016). Therefore, biomass accumulation measure may help in the evaluation of the relative degree of salt tolerance among faba bean genotypes. However, the application of salicylic acid enhanced both shoot and root dry biomass in salt-stressed plants. The ameliorating effects of salicylic acid could be attributed to its role in membrane protection from salt damage ( $r$ -value = 0.73\*\*), and enhancement of chlorophyll content and antioxidant enzymes activity ( $r$ -value = 0.82\*\*) which in turn supports the photosynthesis process, alleviate oxidative stress and regulate ion homeostasis (Li et al., 2014a; Li et al., 2014b; Khan et al., 2015). On the other side, growth limitations could be due to the significant deterioration of relative water content (RWC,  $r$ -value = -0.68\*\*) and water potential ( $\Psi_w$ ,  $r$ -value = -0.71\*\*) under salinity. It is well admitted that plants including faba bean respond to salt stress by regulating their osmotic potential and ionic balance throughout the accumulation of organic and inorganic compounds in order to sustain cell turgor and subsequently to maintain growth (Taïbi and Chorfi, 2010; Abdul Qados, 2011; Chorfi and Taïbi, 2011a, b; Nazar et al., 2015). Maintenance of water status through adjustment of water potential is considered as an important adaptation strategy under salinity (Ashraf and Harris, 2013). Application of salicylic acid enhanced leaves diffusive resistance ( $r$ -value = 0.58\*\*) and control transpiration level ( $r$ -value = -0.54\*\*) which might improve water status of the plants (Ahmad et al., 2018).

Likewise, gas exchanges and net photosynthesis decreased in plants

subjected to salinity ( $r$ -value = -0.44\*). The stomatal closure, as an earliest response of salt-stressed plants, was significantly marked in the present study leading to the decrease of stomatal conductance and transpiration. In general, higher stomatal conductance enhances CO<sub>2</sub> diffusion into the leaves and improves photosynthetic rate which is an important determinant of growth and yield (Li et al., 2014b). Therefore, the decrease in photosynthesis rates under saline conditions is attributed mostly to the limitation of stomatal conductance ( $r$ -value = 0.61\*\*). Besides, diminution in photosynthesis might be attributed to perturbations in pigments content and chlorophyll fluorescence, PSII photo-inhibition, conformational modifications in membrane-bound ATPase enzyme complex, and the diminution in Rubisco activity (Lawlor and Cornic, 2002). Nevertheless, salicylic acid was found to enhance photosynthetic rates and gas exchanges. Previous studies of Khan et al. (2014) and Ahmad et al. (2018) have reported that salicylic acid increases pigments content, improves the rates of transpiration and photosynthetic electron transport, sustains higher Rubisco and antioxidant enzymatic activities, and boosts the PSII efficiency under salt stress. The maximal quantum yield of PSII phytochemistry (Fv/Fm) decreased under saline conditions but restored after the addition of salicylic acid. This finding indicates reduced leaves capacity for absorption of excitation energy and diminution in photosynthetic assimilation under salinity (Taïbi et al., 2017; Taïbi et al., 2018). The protective effects of salicylic acid could be associated to the diminution of oxidative damage and the restriction of massive sodium accumulation in leaves (Khan et al., 2015).

By the same, regulation of ion homeostasis is one of the main determinants of plants salt tolerance (Isayenkov and Maathuis, 2019). In the present study, salinity increased the content of sodium and decreased the content of potassium. These findings are in agreement with (Bulut et al., 2011; Taïbi et al., 2016; Ahmad et al., 2018). Competition exists for the uptake of sodium and potassium since they share similar physicochemical structure. Under salt conditions, the passive entrance of sodium ions under salinity throughout the plasma membrane could induce membrane depolarization that prevents considerably potassium uptake and increases its leakage through depolarization-activated potassium outward-rectifying channels (Jayakannan et al., 2013). The suppression of potassium uptake induces various cell damages and reduces plant growth since it constitutes an important activator of several cytosolic enzymes and contributes as well for osmotic adjustment (Almeida et al., 2017). Besides, potassium plays a determinant role in regulating stomatal aperture, so the observed differences may be the underlying cause for the differences observed in water use efficiency and photosynthesis rates. Exogenous salicylic acid supply was found to be very effective in dropping sodium excess and enhancing potassium content in salt-stressed faba bean plants. Salicylic

acid reduces the xylemic translocation of sodium to the aerial parts from a part, and the extent of membrane polarization through the stimulation of H<sup>+</sup>-ATPase activity under salt conditions from another part which might consequently restore potassium retention and decrease its efflux (Khan et al., 2015). Nevertheless, the higher accumulations of sodium and potassium were characteristics of the genotype Aguadulce. This suggests that it is the ability to uptake and retain potassium that determines faba bean genotypes growth and yield under salt stress.

In addition, an increase of electrolyte leakage was associated to salt stress reflecting consequently the occurrence of membrane injuries. Membrane disorganization is due mainly to the decrease of phospholipids and sterols in response to salinity (Wu et al., 1998). Reactive oxygen species attack linolenic and linoleic polyunsaturated fatty acids and produce complex of lipid hydroxy-peroxides which reduce membrane permeability (Ahmad et al., 2018). It should be noted that membrane protection from salt injuries constitutes a determinant criterion for salinity tolerance mechanisms and salicylic acid demonstrated its benefits to decrease electrolyte leakage. Salicylic acid effects are attributed to the stimulation of the antioxidative system and improvement of calcium uptake (El-Tayeb, 2005).

Salt stress affects various physiological and molecular mechanisms associated with plant growth and development. Plants with potent antioxidant system, either constitutive or induced, acquire significant salt-tolerance (Isayenkov and Maathuis, 2019). The activity of the antioxidant enzymes SOD, APX, CAT and GR increased in response to salt stress. The genotype Aguadulce revealed higher SOD and CAT activities while the genotype Histal showed higher APX and GR activities. The role of antioxidant enzymes is to scavenge reactive oxygen species produced by oxidative stress and therefore protect cell membrane integrity (Taïbi et al., 2016). SOD converts superoxide radicals into which will be reduced by CAT to H<sub>2</sub>O and oxygen (Demiral and Türkan, 2005). Besides, the increase in GR activity under salt conditions has been also reported (Maribel and Tobita, 1998; Taïbi et al., 2016). The antioxidant enzymatic activities increased in controlled and salt-stressed conditions after salicylic acid treatments. Exogenous application of salicylic acid mitigated salt stress in *S. lycopersicum* throughout the stimulation of GST gene family (Csiszár et al. 2014). The boosted expression of antioxidants genes such as GST1-2, GPX1-2 and ASA-GSH pathway in response to salicylic acid supply restores cell membrane integrity and enhances the content of photosynthetic pigments (Li et al., 2014b). It should be noted that the effect of salicylic acid varied according to the applied concentration; CAT, APX and GR activities were stimulated the maximum at 0.5 mM SA under high salinity while SOD activity was stimulated at 1 mM SA.

Taken all together, even if the genotype Aguadulce performed better than the genotype Histal in terms of growth, physiological and molecular response under salt stress, the difference between genotypes remains more quantitative rather than qualitative. Salicylic acid application improved significantly the salt-tolerance of both the two genotypes throughout the maintenance of cell membrane and photosynthetic process and the diminution of sodium toxicity and oxidative damages. Nevertheless, the action of salicylic acid varies in function of the applied concentration of the hormone, the tested genotype and the studied parameter. Overall, the genotype Aguadulce performs better with the treatment 0.5 mM SA while the genotype Histal manifests greater behaviour with the treatment 1 mM SA.

## 5. Conclusion

The intraspecific comparative studies among genotypes for salt-tolerance might help to identify the relevant mechanisms correlating their relative degree of tolerance to salinity and to select the most suited genotypes for very specific environmental conditions.

The present study revealed that the difference between genotypes is more quantitative rather than qualitative even if the genotype Aguadulce performed better in terms of growth, physiological and molecular

response under salt stress. In general, the salt stress promoted several limitations in growth, gas exchanges, photosynthesis, ion homeostasis and other physiological attributes. Nevertheless, faba bean plants have triggered some mechanisms to deal with this constraint throughout the maintenance of water status and the enhancement of antioxidant enzymatic activities. However, the salt-tolerance of both the two genotypes was significantly improved by salicylic acid application which allowed the maintenance of cell membrane and photosynthetic process, restoring of ion homeostasis and the diminution of oxidative damages. The beneficial effects of salicylic acid vary according to its concentration, the tested genotype and the studied parameter. Overall, the genotype Aguadulce performs better under the treatment with 0.5 mM SA while the genotype Histal manifests greater behaviour under the treatment with 1 mM SA.

Based on our results, salicylic acid can be considered as potential growth regulator to improve the salt response of faba bean. Plants treatment with salicylic acid might constitute a sustainable approach and effective alternative to restore the adverse effects of salinity. The application of salicylic acid would provide a practical basis for wide cultivation of faba bean and might propose an ecological and economical solution to deal with salt-affected soils, mainly in arid regions, for the reclamation of marginal and wastelands under-cultivated.

## CRedit authorship contribution statement

**Kada Souana:** Methodology, Validation, Formal analysis, Investigation, Writing-Original Draft, Visualization. **Khaled Taïbi:** Conceptualisation, Methodology, Validation, Formal analysis, Investigation, Writing-Original Draft, Writing-Review & Editing, Resources, Visualization, Supervision, Project administration. **Leila Ait Abderrahim:** Methodology, Investigation, Writing-Original Draft, Writing-Review & Editing, Visualization. **Mokhtar Amirat:** Investigation, Validation, Visualization. **Mohamed Achir:** Investigation, Validation, Visualization. **Mohamed Boussaid:** Resources, Visualization, Funding acquisition. **José M. Mulet:** Resources, Visualization, Funding acquisition.

## Declaration of Competing Interest

The authors report no declarations of interest.

## Appendix A. Supplementary data

Supplementary material related to this article can be found, in the online version, at <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109641>.

## References

- Abdul Qados, A.M.S., 2011. Effect of salt stress on plant growth and metabolism of bean plant *Vicia faba* (L.). *J. Saudi Soc. Agric. Sci.* 10, 7–15.
- Ahmad, P., Alyemini, M.N., Ahanger, M.A., Egamberdieva, D., Wijaya, L., Alam, P., 2018. Salicylic acid (SA) induced alterations in growth, biochemical attributes and antioxidant enzyme activity in Faba bean (*Vicia faba* L.) seedlings under NaCl toxicity. *Russ. J. Plant. Physiol.* 65, 104–114.
- Almeida, D.M., Oliveira, M.M., Saibo, N.J.M., 2017. Regulation of Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> homeostasis in plants: towards improved salt stress tolerance in crop plants. *Genet. Mol. Biol.* 40, 326–345.
- Ashraf, M., Harris, P.J.C., 2013. Photosynthesis under stressful environments: An overview. *Photosynthetica.* 51, 163–190.
- Bulut, F., Akinci, S., Eroglu, A., 2011. Growth and uptake of sodium and potassium in Broad bean (*Vicia faba* L.) under salinity stress. *Commun. Soil. Sci. Plan.* 42, 945–961.
- Cakmak, I., Strbac, D., Marschner, H., 1993. Activities of hydro-gen peroxide scavenging enzymes in germinated wheat seeds. *J. Exp. Bot.* 44, 127–132.
- Castro-Guerrero, N.A., Cui, Y., Mendoza-Cozatl, D., 2016. Purification of translating ribosomes and associated mRNAs from soybean (Glycine max). *Curr. Protoc. Plant Biol.* 1, 1–12. <https://doi.org/10.1002/cppb.20011>.
- Chorfi, A., Taïbi, K., 2011a. Physiological behavior of wheat genotypes from Algerian semi-arid regions grown under salt stress. *Afr. J. Agric. Res.* 6 (3), 636–641.
- Chorfi, A., Taïbi, K., 2011b. Biochemical screening for osmotic adjustment of wheat genotypes under drought stress. *Tropicultura* 29 (2), 82–87.
- Csiszár, J., Horváth, E., Váry, Z., Gallé, Á., Bela, K., Brunner, S., Tari, I., 2014. Glutathione transferase supergene family in tomato: Salt stress-regulated expression

- of representative genes from distinct GST classes in plants primed with salicylic acid. *Plant. Physiol. Biochem.* 78, 15–26.
- Dawood, M.G., El-Awadi, M.E., 2015. Alleviation of salinity stress on *Vicia faba* L. plants via seed priming with Melatonin. *Acta. Biol. Colomb.* 20, 223–235.
- Demiral, T., Türkan, İ., 2005. Comparative lipid peroxidation, antioxidant defense systems and proline content in roots of two rice cultivars differing in salt tolerance. *Environ. Exp. Bot.* 53, 247–257.
- El-Tayeb, M.A., 2005. Response of barley grains to the interactive effect of salinity and salicylic acid. *Plant. Growth. Regul.* 45, 215–224.
- Hanin, M., Ebel, C., Ngom, M., Laplaze, L., Masmoudi, K., 2016. New insights on plant salt tolerance mechanisms and their potential use for breeding. *Front. Plant Sci.* 7, 1787. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01787>.
- Hernández, J.A., 2019. Salinity tolerance in plants: trends and perspectives. *Int. J. Mol. Sci.* 20 (10), 2408. <https://doi.org/10.3390/ijms20102408>.
- Herrera-Vásquez, A., Salinas, P., Holuigue, L., 2015. Salicylic acid and reactive oxygen species interplay in the transcriptional control of defense genes expression. *Front. Plant. Sci.* 6, 171. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00171>.
- Isayenkov, S.V., Maathuis, F.J.M., 2019. Plant salinity stress: many unanswered questions remain. *Front. Plant. Sci.* 10, 80. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00080>.
- Jayakannan, M., Bose, J., Babourina, O., Rengel, Z., Shabala, S., 2013. Salicylic acid improves salinity tolerance in Arabidopsis by restoring membrane potential and preventing salt-induced K<sup>+</sup> loss via a GORK channel. *J. Exp. Bot.* 64, 2255–2268.
- Khan, M.I.R., Asgher, M., Khan, N.A., 2014. Alleviation of salt-induced photosynthesis and growth inhibition by salicylic acid involves glycinebetaine and ethylene in mungbean (*Vigna radiata* L.). *Plant. Physiol. Biochem.* 80, 67–74.
- Khan, M.I.R., Fatma, M., Per, T.S., Anjum, N.A., Khan, N.A., 2015. Salicylic acid-induced abiotic stress tolerance and underlying mechanisms in plants. *Front. Plant. Sci.* 6, 462. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00462>.
- Lawlor, D.W., Cornic, G., 2002. Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant. cell. environ.* 25, 275–294.
- Li, L., Zhang, H., Zhang, L., Zhou, Y., Yang, R., Ding, C., Wang, X., 2014a. The physiological response of *Artemisia annua* L. to salt stress and salicylic acid treatment. *Physiol. Mol. Biol. Plants.* 20, 161–169.
- Li, T., Hu, Y., Du, X., Tang, H., Shen, C., Wu, J., 2014b. Salicylic acid alleviates the adverse effects of salt stress in *Torreya grandis* cv. Merrilli seedlings by activating photosynthesis and enhancing antioxidant systems. *PLOS ONE* 9, e109492.
- Maribel, D.-S., Tobita, S., 1998. Antioxidant responses of rice seedlings to salinity stress. *Plant. Sci.* 135, 1–9.
- Moussa, H.R., Hassan, M.A.E.-F., 2016. Growth enhancers to mitigate salinity stress in *Vicia faba*. *Intern. J. Veget. Sci.* 22, 243–250.
- Nazar, R., Umar, S., Khan, N.A., 2015. Exogenous salicylic acid improves photosynthesis and growth through increase in ascorbate-glutathione metabolism and S assimilation in mustard under salt stress. *Plant. Signal. Behav.* 10, e1003751.
- Taïbi, K., Boussaid, M., Achir, M., Taïbi, F., Belkhdja, M., 2012b. Evaluation of growth response and water relations of two bean genotypes (*Phaseolus vulgaris* L.) from Algerian semi-arid regions grown under salt stress. *Genetics. Plant. Physiol.* 3-4, 176–185.
- Taïbi, K., Chorfi, A., 2010. Physiological behavior of two Algerian wheat genotypes grown under saline conditions. *Arab. Gulf. J. Sci. Res.* 28 (4), 197–204.
- Taïbi, K., Del Campo, A.D., Vilagrosa, A., Bellés, J.M., López-Gresa, M.P., López-Nicolás, J.M., Mulet, J.M., 2018. Distinctive physiological and molecular responses to cold stress among cold-tolerant and cold-sensitive *Pinus halepensis* seed sources. *BMC Plant Biol.* 18, 236.
- Taïbi, K., del Campo, A.D., Vilagrosa, A., Bellés, J.M., López-Gresa, M.P., Pla, D., Calvete, J.J., López-Nicolás, J.M., Mulet, J.M., 2017. Drought tolerance in *Pinus halepensis* seed sources as identified by distinctive physiological and molecular markers. *Front. Plant. Sci.* 8, 1202. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01202>.
- Taïbi, K., Taïbi, F., Ait Abderrahim, L., Ennajah, A., Belkhdja, M., Mulet, J.M., 2016. Effect of salt stress on growth, chlorophyll content, lipid peroxidation and antioxidant defence systems in *Phaseolus vulgaris* L. *S. Afr. J. Bot.* 105, 306–312.
- Taïbi, K., Taïbi, F., Belkhdja, M., 2012a. Effects of external calcium supply on the physiological response of salt stressed bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Genetics. Plant. Physiol.* 2, 177–186.
- Taïbi, K., Taïbi, F., Belkhdja, M., 2013a. Plants growth, water relations and photosynthesis of two bean genotypes *Phaseolus vulgaris* L. treated with NaCl and fluridone. *Afric. J. Biotech.* 12, 3811–3821.
- Taïbi, K., Taïbi, F., Belkhdja, M., 2013b. Salinity Effects on the physiological response of two bean genotypes (*Phaseolus vulgaris* L.). *Arab. Gulf. J. Sci. Res.* 31, 90–98.
- Wu, J., Seliskar, D.M., Gallagher, J.L., 1998. Stress tolerance in the marsh plant *Spartina patens*: Impact of NaCl on growth and root plasma membrane lipid composition. *Physiol. Plant.* 102, 307–317.
- Xu, E., Brosché, M., 2014. Salicylic acid signaling inhibits apoplastic reactive oxygen species signaling. *BMC Plant. Biol.* 14, 155.