

N° d'ordre :

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de La Recherche Scientifique

Université Djillali Liabes de Sidi Bel Abbès  
Faculté des sciences de la nature et de la vie  
Département des sciences de l'environnement



# Thèse de doctorat en sciences

Spécialité : Sciences de l'environnement

Option : Physiologie Végétale

Laboratoire : Écodéveloppement des espaces

Présenté par : Mme LAREDJ ZAZOU Rahma

## THÈME

EVALUATION DU COMPORTEMENT PHYSIOLOGIQUES, ET  
POTENTIALITES BIOCHIMIQUES ET PHYTOCHIMIQUES  
ADAPTATIVES DU (*Phaseolus vulgaris*.L) SOUMISE AU STRESS SALIN :  
CAS DES CULTIVARS SIDI FERREDJ ET DJADIDA.

Soutenu le : 29 /09/ 2020.

Devant l'honorable jury composé de :

Président :	Dr. MEGHERBI Aicha	MCA	UDL Sidi Bel Abbès
Examineur:	Dr. AOUISSAT Miloud	MCA	Centre universitaire de Naama
Examineur :	Dr. HACHEM Kadda	MCA	Université de Saida
Examineur :	Dr. ZERROUKI Dahbia	MCA	Université de Tiaret
Encadreur :	Pr. TOUMI BENALI Fawzia	Professeur	UDL Sidi Bel Abbès

Année universitaire : 2019/2020

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

## REMERCIEMENTS

*Je voudrais remercier tous ceux qui, d'une manière ou d'une autre ont contribué à la réalisation de ce Travail.*

*Je suis honorée et il m'est agréable d'adresser mes remerciements les plus sincères à Professeur **TOUMI BENALI Fawzia** de qui j'ai tiré un immense profit de son savoir ; par ses conseils éclairés et sa vision objective et rationnelle de la problématique, ainsi que sa bienveillante disponibilité.*

*J'exprime ma profonde et respectueuse gratitude à Mme **MEGHARBI Aicha** qui m'a fait l'honneur de présider mon jury de thèse.*

*J'adresse mes vifs et sincères remerciements à Monsieur **AOUISSAT Miloud** et **HACHEM Kadda** pour l'honneur qu'ils m'ont fait en acceptant d'examiner ce travail et de participer au jury.*

*J'exprime mes respectueux remerciements à Madame **ZERROUKI Dahbia** de m'avoir fait l'honneur d'évaluer mon travail.*

*Je ne saurais présenter ce travail sans exprimer mes remerciements à **mes parents** qui m'ont prodigué tout au long de ma scolarité, cru en moi et m'avoir aidé à arriver là où j'en suis ; la patience et l'encouragement de mon mari, au cours de cette thèse, à mes enfant Alaâ Kawther et Mohammed El Amine et à toute ma famille.*

*Je remercie enfin tous les membres du laboratoire de la Post-graduation d'Ecodéveloppement Des Espaces qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

*À mes collègues pour leur soutien durant les moments difficiles de mon travail, A toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail, je leur présente ici toute ma gratitude ainsi que mon amitié.*

## RESUME

*Phaseolus vulgaris*.L, est une Fabacée sensible à la salinité. Le degré d'adaptation à cette salinité varie d'un cultivar ou variété à l'autre. Le choix dans cette étude est porté sur deux cultivars : Sidi Ferredj et Djadida. L'objectif de ce travail est d'évaluer la sensibilité de ces deux variétés mises en culture, dans les conditions sous serre et soumises aux différentes concentrations du sel, à base de NaCl (50 méq.l<sup>-1</sup>, 100 méq.l<sup>-1</sup> et 200 méq.l<sup>-1</sup>), et à base du NaCl+CaCl<sub>2</sub> (100 méq.l<sup>-1</sup> et 50 méq.l<sup>-1</sup>), à travers le comportement physiologique, biochimique et phytochimique des deux parties aérienne et souterraine des deux cultivars soumises au stress salin.

Le premier effet le plus évident de ce stress, est la réduction du potentiel osmotique, entraînant une diminution de l'état hydrique foliaire de la plante, qui s'adapte en ajustant progressivement sa pression osmotique, grâce au maintien des concentrations élevées de Ca<sup>2+</sup>. Aussi, un effet dépressif est remarqué des paramètres physiologiques mesurés qui varient en fonction de l'intensité du stress.

De même, sur le plan biochimique, l'adaptation des deux cultivars, aux différentes doses croissantes de sel, se traduit soit, par une diminution de certains solutés organiques, notamment, une assimilation photosynthétique perturbée, avec des faibles teneurs en chlorophylle a, b, totale et les caroténoïdes, une chute significative des teneurs en lipides et en protéines et une modification en teneur des sucres pariétaux, (cellulose, hémicellulose), avec un taux de cellulose qui diminue aux faibles doses de NaCl et augmente aux concentrations élevées, et un taux d'hémicellulose qui s'abaisse avec l'augmentation des concentrations en sel. Soit par une accumulation d'autres solutés organiques qui varie en fonction du cultivar, du type du sel et du niveau de traitement salin appliqué, alors, une augmentation en sucres soluble totaux est remarquée, aux doses faibles et moyennes de NaCl et une diminution des mêmes composés aux concentrations plus élevée. La proline, un acide aminé, lui aussi est significativement accumulé dans les feuilles des deux cultivars, cette accumulation varie aussi en fonction des traitements salins appliqués.

Toutefois, sur le plan phytochimique, les résultats des deux cultivars ont montré que les concentrations modérées de 50 méq.l<sup>-1</sup> et 100 meq.l<sup>-1</sup> de NaCl stimulent l'accumulation des phénols totaux, des flavonoïdes et des tanins condensés, comme aspect adaptatif et défensif face au stress abiotique, puis une diminution de ces composés est observée avec l'agressivité du traitement salin appliqué. De même, le potentiel antioxydant augmente avec l'augmentation du stress salin et le test DPPH a révélé des concentrations inhibitrices (IC<sub>50</sub>) des extraits bruts des feuilles, diminuant avec l'augmentation de la concentration en sels.

**Mots clés :** *Phaseolus vulgaris* L., cultivars Sidi Ferredj et Djadida, traitements et stress salins, aspect adaptatif physiologique, biochimique, phytochimique.

## ABSTRACT

*Phaseolus vulgaris* L, is a Fabaceae sensitive to salinity. The degree of adaptation to this salinity varies from one cultivar or variety to another. The choice in this study is more focused on two cultivars: Sidi Ferredj and Djadida. This work aims to evaluate the sensitivity of these two cultivated varieties, under greenhouse conditions and subjected to different concentrations of salt, based on NaCl (50 meq.l<sup>-1</sup>, 100 meq.l<sup>-1</sup> et 200 meq.l<sup>-1</sup>), and based on NaCl + CaCl<sub>2</sub> (100meq.l<sup>-1</sup>et 150 meq.l<sup>-1</sup>), through the physiological, biochemical and phytochemical behavior of the two aerial and underground parts of the two cultivars subjected to saline stress.

The first and most obvious effect of this stress is the reduction of the osmotic potential, leading to a decrease in the leaf water status of the plant, which adapts by gradually adjusting its osmotic pressure, due to the maintenance of high concentrations of Ca<sup>2+</sup>. Also, a depressive effect is noticed from the measured physiological parameters which vary according to the intensity of the stress.

Likewise, on the biochemical plan, the adaptation of the two cultivars to the different increasing doses of salt is reflected either by a reduction in certain organic solutes, particularly, a disturbed photosynthetic assimilation, with low contents of chlorophyll a, b, total and carotenoids, a significant drop in lipid and protein contents and a modification in the content of parietal sugars (cellulose, hemicellulose), with a cellulose level which decreases at low doses of NaCl and increases at high concentrations, and a hemicellulose level which decreases with increasing salt concentrations. Either by an accumulation of other organic solutes which varies according to the cultivar, the type of salt and the level of saline treatment applied, then, an increase in total soluble sugars is noticed, at low and medium doses of NaCl and a decrease in same compounds at higher concentrations. Proline, an amino acid, is also significantly accumulated in the leaves of the two cultivars, this accumulation also varies depending on the saline treatments applied.

However, phytochemically, the results of the two cultivars showed that the moderate concentrations of 50 meq.l<sup>-1</sup> and 100 meq.l<sup>-1</sup> of NaCl stimulate the accumulation of total phenols, flavonoids and condensed tannins, as an adaptive and defensive aspect in the face of abiotic stress, then a decrease in these compounds is observed with the aggressiveness of the saline treatment applied. Likewise, the antioxidant potential increases with increasing saline stress, and the DPPH test revealed inhibitory concentrations (IC50) of crude extracts of the leaves, decreasing with the increase of salt concentration.

**Key words:** *Phaseolus vulgaris* L., cultivars Sidi Ferredj and Djadida, salts treatments and stress, physiological, biochemical, phytochemical adaptive aspect.

## ملخص

الفاصوليا (*Phaseolus Vulgaris L.*)، هي نباتات حساسة للملوحة. تختلف درجة التكيف مع هذه الملوحة من صنف إلى صنف آخر. يركز الاختيار في هذه الدراسة على صنفين: سيدي فرج وجديدة. الهدف من هذا العمل هو تقييم حساسية هذين الصنفين المزروعة، في ظل ظروف الدفيئة وتخضع لتركيزات مختلفة من الملح، استنادًا إلى كلوريد الصوديوم (50 مللي مكافئ/ لتر، 100 مللي مكافئ/ لتر، 200 مللي مكافئ/ لتر)، واستنادًا إلى كلوريد الكالسيوم (100 مللي مكافئ/ لتر، 150 مللي مكافئ/ لتر)، من خلال السلوك الفسيولوجي والكيميائي الحيوي والكيميائي النباتي للجذرين الجوي والأرضي للنبات من الصنفين المعرضين للإجهاد ملحي.

التأثير الأول والأكثر وضوحًا لهذا الإجهاد هو تقليل القدرة التناضحية، مما يؤدي إلى انخفاض في الحالة المائية للورقة، التي تتكيف مع نفسها عن طريق ضبط ضغطها الأسموزي تدريجيًا، وذلك بفضل الحفاظ على التركيزات العالية من  $Ca^{+2}$ . أيضًا لوحظ تأثير ضار من خلال المعلمات الفسيولوجية المقاسة التي تختلف وفقًا لشدة التوتر.

وبالمثل، على المستوى الكيميائي الحيوي، ينعكس تكيف الصنفين مع تراكم الملح المختلفة، إما بانخفاض بعض المواد العضوية المذابة، ولا سيما الاستيعاب الضوئي المضطرب، مع انخفاض مستويات الكلوروفيل أ، ب، الإجمالي و الكاروتينات، انخفاض كبير في مستويات الدهون والبروتين وتغير في محتوى السكريات الجدارية (السليولوز، الهيمسليولوز)، مع معدل السليولوز الذي ينخفض بجرعات منخفضة من كلوريد الصوديوم ويزيد بتركيزات عالية، ومعدل الهيمسليولوز الذي ينخفض بزيادة تركيزات الملح.

إما من خلال تراكم المواد المذابة العضوية الأخرى التي تختلف حسب الصنف، ونوع الملح ومستوى معالجة الملح المطبقة، ثم لوحظ زيادة في السكريات الكلية القابلة للذوبان، في جرعات منخفضة ومتوسطة من كلوريد الصوديوم وانخفاض في نفس المركبات بتركيزات أعلى. يتراكم البرولين، وهو حمض أميني، بشكل كبير في أوراق كلا الصنفين، ويختلف هذا التراكم أيضًا تبعًا للعلاجات المالحة المطبقة.

ومع ذلك، من وجهة نظر الكيمياء النباتية، أظهرت نتائج الصنفين أن التركيزات المعتدلة من 50 مللي مكافئ/ لتر و 100 مللي مكافئ/ لتر لكلوريد الصوديوم تحفز تراكم مجموع الفينولات والفلافونويدات و التانينات المكثفة، كجانب تكيفي ودفاعي للإجهاد اللاأحيائي، ثم لوحظ انخفاض في هذه المركبات مع زيادة الإجهاد الملحي المطبق. وبالمثل، تزداد احتمالية مضادات الأكسدة بزيادة الإجهاد الملحي، وكشف اختبار DPPH عن تركيزات مثبطة ( $IC_{50}$ ) لمستخلصات الأوراق الخام، تتناقص مع زيادة تركيز الملح.

**الكلمات الأساسية:** الفاصوليا. أصناف: جديدة. سيدي فرج، العلاجات الملحية والإجهاد، الجوانب الفسيولوجية والكيميائية الحيوية والكيميائية النباتية التكيفية.

## TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS

RESUME

ABSTRACT

ملخص

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

INTRODUCTION GENERALE ..... 1

### **PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE**

#### *Chapitre I : Notion d'ensemble sur le stress salin et son effet sur les plantes.*

I.	Notion d'ensemble sur le stress salin et son effet sur les plantes .....	4
I.1.	Notion sur le stress salin.....	4
I.2.	Impact du stress salin sur le développement des plantes .....	4
I.2.1.	Impact du stress salin sur la physiologie de germination.....	4
I.2.2.	Impact du stress salin sur la croissance .....	5
I.2.3.	Impact du stress salin sur le potentiel hydrique de la plante.....	6
I.2.4.	Impact du stress salin sur le processus métabolique .....	6
I.2.4.1.	Accumulation des composés azotés .....	7
I.2.4.2.	Accumulation des composés lipidique.....	8
I.2.4.3.	Accumulation des sucres solubles et les polysaccharides.....	8
I.2.4.4.	Accumulation des composées phénoliques.....	9
I.2.4.5.	Accumulation des enzymes antioxydantes .....	9
I.3.	Agissements adaptatifs des plantes sous stress salin .....	9
I.3.1.	Règlement et compartimentation des ions .....	10
I.3.2.	Influx et l'efflux des ions.....	11
I.3.3.	Biosynthèse des solutés compatibles .....	11
I.3.4.	Induction des antioxydantes enzymatique et non enzymatique .....	12
I.3.5.	Induction d'hormones végétales.....	12

#### *Chapitre II : Généralités sur les métabolites énergétiques et fonctionnels*

II.	Généralités sur les métabolites énergétiques et fonctionnels .....	13
II.1.	Métabolites énergétiques ou primaires.....	13
II.1.1.	Métabolites glucidiques.....	13
II.1.2.	Métabolites lipidiques .....	15
II.1.3.	Métabolites protéiques .....	16
II.2.	Métabolites fonctionnels, phytochimique ou secondaire .....	16
II.2.1.	Composés phénoliques totaux .....	16
II.2.1.1.	Phénols simples .....	17

II.2.1.2. Flavonoïdes .....	17
II.2.1.3. Tannins .....	18
II.2.2. Evaluation de l'activité Antioxydante des composés phytochimique .....	18

**Chapitre III : Généralités sur les légumineuses et état de connaissance sur l'espèce (*Phaseolus vulgaris* .L)**

III. Généralités sur les légumineuses et état de connaissance sur l'espèce ( <i>Phaseolus vulgaris</i> .L) .....	21
III.1. Généralités sur les légumineuses .....	21
III.1.1. Caractéristiques botaniques des légumineuses.....	21
III.1.2. Intérêt économique des légumineuses.....	21
III.1.3. Caractéristiques nutritionnelles des graines des légumineuses .....	22
III.2. État de connaissance sur l'espèce étudiée ( <i>Phaseolus vulgaris</i> .L) .....	22
III.2.1. Origine de l'espèce .....	23
III.2.2. Classification et systématique .....	23
III.2.3. Description morphologique et botanique .....	23
III.2.4. Importance de la culture.....	24

**PARTIE EXPERIMENTALE**

**Chapitre IV : Comportement physiologique adaptatif du (*Phaseolus vulgaris* L.) sous stress salin.**

IV.1. Matériel et méthodes .....	25
IV.1.1. Matériel Végétal .....	25
IV.1.2. Méthodologie adaptée.....	26
IV.1.2.1. Protocole expérimental .....	26
IV.1.2.1.a) Stade de germination.....	26
IV.1.2.1.b) Stade végétatif.....	28
IV.1.2.2. Différents paramètres à mesurer .....	30
IV.1.2.2.a) Paramètres de germinations .....	30
IV.1.2.2.b) Mesure des paramètres morphologiques .....	32
IV.1.2.2.c) Détermination de la teneur en eau.....	32
IV.1.2.2.d) Détermination de la teneur en cendres .....	33
IV.2. Résultats et discussion.....	33
IV.2.1. Effet de la salinité sur les paramètres de germination des deux cultivars.....	33
IV.2.1.1. Précocité de germination ou temps de latence (TL).....	33
IV.2.1.2. Faculté germinative (Taux de germination) .....	34
IV.2.1.3. Cinétique de germination.....	35
IV.2.1.4. Temps moyen de germination (TMG) et Temps moyen (T50).....	37
IV.2.2. Effet de salinité sur les paramètres de croissances des deux cultivars.....	42
IV.2.2.1. Mesure des paramètres biométriques .....	42
IV.2.2.1.a) Nombres des feuilles .....	42
IV.2.2.1.b) Longueur de la partie aérienne et du système racinaire .....	43
IV.2.2.2. Mesure des paramètres de nodulation .....	44
IV.2.2.2.a) Nombre de nodules .....	44

IV.2.2.2.b) Poids frais des nodules.....	45
IV.2.2.3. Biomasse aérienne et racinaire.....	47
IV.2.2.3.a) Biomasse fraîche.....	47
IV.2.2.3.b) Biomasses sèches.....	48
IV.2.3. Effet de la salinité sur les paramètres hydriques.....	51
IV.2.4. Effet de la salinité sur le taux des cendres.....	53

### **Chapitre V : Potentiel biochimique énergétique de (*Phaseolus vulgaris. L*) sous stress salin.**

V.1. Matériel et Méthodes.....	56
V.1.1. Matériel végétal.....	56
V.1.2. Méthodologie retenue.....	56
V.1.2.1. Accumulation et dosage des composés glucidique.....	56
V.1.2.1.a) Accumulation et dosage des sucres solubles.....	56
V.1.2.1.b) Accumulation et dosage des sucres pariétaux (polysaccharides pariétaux).....	56
V.1.2.2. Accumulation et dosage des composés Azotés.....	57
V.1.2.2.a) Dosage des protéines (Méthode de Kjeldhal).....	57
V.1.2.2.b) Dosage de la proline.....	59
V.1.2.3. Dosage des composés lipidique.....	60
V.2. Résultats et Discussion.....	61
V.2.1. Effet de la salinité sur l'accumulation des composés glucidique.....	61
V.2.1.1. Accumulation des sucres solubles.....	61
V.2.1.2. Accumulation des sucres pariétaux (polysaccharides pariétaux).....	64
V.2.1.2.a) Quantification de la cellulose.....	64
V.2.1.2.b) Quantification de l'hémicellulose.....	66
V.2.2. Effet de la salinité sur l'accumulation des composés Azotés.....	68
V.2.2.1. Accumulation des protéines totale.....	68
V.2.2.2. Accumulation de Proline.....	70
V.2.3. Effet de la salinité sur les composés lipidiques.....	73

### **Chapitre VI : Potentiel phytochimique fonctionnel de (*Phaseolus vulgaris. L*) sous stress salin.**

VI.1. Matériel et Méthodes.....	76
VI.1.1. Matériel Végétal.....	76
VI.1.2. Méthodologies retenues.....	76
VI.1.2.1. Dosage des chlorophylles et des caroténoïdes.....	76
VI.1.2.2. Extraction des composés phénoliques.....	77
VI.1.2.3. Criblage phytochimique.....	77
VI.1.2.4. Dosage des phénols totaux.....	79
VI.1.2.5. Dosage des flavonoïdes.....	80
VI.1.2.6. Dosage des tanins condensés.....	81
VI.1.2.7. Détermination de l'activité antioxydante des composés phénoliques extraits des feuilles des deux cultivars de ( <i>Phaseolus vulgaris .L</i> ).....	82

VI.2. Résultats et discussion.....	83
VI.2.1. Résultat de l'effet de la salinité sur les pigments chlorophylliens .....	83
VI.2.1.1. Teneur en Chlorophylle a (Chl a).....	83
VI.2.1.2. Teneur en Chlorophylle b (Chl b) .....	84
VI.2.1.3. Teneur en caroténoïdes .....	85
VI.2.1.4. Teneur en Chlorophylle totale (chlorophylle a + chlorophylle b).....	86
VI.2.2. Résultats de criblage phytochimique .....	88
VI.2.3. Résultats de l'effet de salinité sur l'accumulation des composés phénoliques .....	90
VI.2.3.1. Résultats du dosage des phénols totaux .....	90
VI.2.3.2. Résultats du dosage des flavonoïdes totaux .....	93
VI.2.3.3. Résultats du dosage des tanins condensés.....	95
VI.2.4. Résultat de l'effet de salinité sur l'activité antioxydante et IC50 .....	97
<b>CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES.....</b>	<b>99</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	<b>104</b>
<b>LES ANNEXES</b>	
<b>RESUME</b>	

## LISTE DES ABREVIATIONS

ABA: Acide abscissique.

CaCl<sub>2</sub>: Chlorure de Calcium

CE : Conductivité Electrique.

CR : Capacité de rétention.

DP : Degré de polymérisation

DPPH : 2, 2 -diphényl-1-picrylhydrazyl

ds/ m : dési siemens par mètre.

EAG : Equivalent Acide Gallique

EQ : Équivalent Quercitine

FAO : Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture.

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> : Peroxyde d'hydrogène

HG : Homogalacturonane

IC<sub>50</sub> : Concentration d'Inhibition de 50 % du DPPH

Meq: Milliéquivalent.

mM : milli Molaire.

NaCl: Chlorure de Sodium

O<sub>2</sub> : Dioxygène

OH<sup>-</sup> : Anion hydroxyle

P5CR : 1-pyrroline-5-carboxylate (P5C) réductase

P5CS : 1-pyrroline-5-carboxylate(P5C) synthétase

RG I : Le rhamnogalacturonane de type I

RG II : Le rhamnogalacturonane de type II

ROS : Espèces Réactives d'Oxygène.

SPSS: Statistical Package of Social Sciences.

TEF : Teneur en eau foliaire.

XGA : Le xylogalacturonane apiogalacturonane

## LISTE DES FIGURES

Figure 1. Classification des glucides .....	13
Figure 2. Structure chimique de la cellulose. ....	14
Figure 3. Graines Sidi Ferredj et graines Djadida .....	26
Figure 4. Germination en alvéoles. ....	28
Figure 5. Dispositif expérimental adopté à la serre. ....	30
Figure 6. Poudre végétale entreposée dans des piluliers. ....	32
Figure 7. Précocité de la germination des graines des deux cultivars de haricot exprimée par le pourcentage de germination des premières graines germées à différentes concentrations salines. ....	34
Figure 8. Taux de germination des graines des deux variétés de Haricot en fonction des différentes concentrations salines. ....	35
Figure 9. Évolution de la cinétique de germination chez les deux cultivars de Haricot en fonction du temps à différentes concentrations salines. ....	37
Figure 10. Évolution du temps moyen de germination et coefficient de vélocité chez les deux cultivars d'Haricot en fonction du temps à différentes concentrations salines. ....	38
Figure 11. Évolution du temps moyen (T50) de germination des deux cultivars de Haricot à différentes concentrations salines. ....	39
Figure 12. Variation de nombre de feuilles chez les deux cultivars de Haricot en fonction des concentrations de solutions salines. ....	42
Figure 13. Variation de la longueur de la partie aérienne et racinaire des deux cultivars de Haricot en fonction de différentes concentrations des solutions salines. ....	43
Figure 14. Variation du nombre des nodules chez les deux cultivars de haricot en fonction de différentes concentrations des solutions salines. ....	45
Figure 15. Variation du poids des nodules des deux cultivars de haricot en fonction de différentes concentrations des solutions salines. ....	46
Figure 16. Variation de la biomasse fraîche aérienne et racinaire des deux cultivars de haricot en fonction des différentes concentrations des solutions salines. ....	48
Figure 17. Variation de la biomasse sèche aérienne et racinaire des deux cultivars de haricot en fonction des concentrations des solutions salines. ....	49
Figure 18. Variation de la teneur relative en eau des deux cultivars de haricot en fonction des concentrations de solution salines. ....	52
Figure 19. Variation taux des cendres des deux cultivars de haricot en fonction des concentrations des solutions salines. ....	54
Figure 20. Minéralisateur et Distillateur Kjeldhal. ....	59
Figure 21. Extraction et dosage de la proline. ....	60
Figure 22. Appareil de Soxhlet. ....	60
Figure 23. Variation de la teneur des sucres soluble totaux ( $\mu\text{g/ml}$ ) chez les deux cultivars de Haricot en fonction de différentes concentrations de solutions salines. ....	62

Figure 24. Variation de taux de cellulose (%) chez les deux cultivars de haricot en fonction de différentes concentrations de solutions salines. ....	64
Figure 25. Variation du taux de l'hémicellulose chez les deux cultivars de haricot en fonction de différentes concentrations de solutions salines. ....	67
Figure 26 . Variation des teneurs des protéines totales (%) chez les deux cultivars de haricot en fonction de différentes concentrations salines. ....	69
Figure 27. Variation de la teneur en proline chez les deux cultivars de haricot en fonction de différentes concentrations salines. ....	71
Figure 28. Variation de la teneur des lipides des feuilles des deux cultivars de haricot en fonction des différentes concentrations de solutions salines. ....	74
Figure 29. Dosage et extraction des chlorophylles.....	77
Figure 30. Macération de la poudre végétale et filtration.....	77
Figure 31. Dosage des polyphénols.....	79
Figure 32. Spectrophotomètre.....	80
Figure 33. Dosage des flavonoïdes.....	80
Figure 34. Dosage des tanins condensés.....	81
Figure 35. Évaluation de l'activité antioxydante des extraits.....	82
Figure 36. Variation de la teneur en chlorophylle (a) des feuilles des deux cultivars de haricot en fonction de différentes concentrations salines. ....	84
Figure 37. Variation de la teneur en chlorophylle (a) des feuilles des deux cultivars de haricot en fonction de différentes concentrations salines. ....	85
Figure 38. Variation de la teneur en caroténoïde des feuilles des deux cultivars de haricot en fonction de différentes concentrations salines. ....	86
Figure 39. Variation de la teneur de la chlorophylle totale des feuilles des deux cultivars de haricot en fonction de différentes concentrations salines. ....	87
Figure 40. Variation des phénols totaux (mg GAE/g MS) des feuilles et des racines des deux cultivars de haricot en fonction de différentes concentrations salines. ....	92
Figure 41. Variation de taux de flavonoïdes totaux (mg EC/g MS) des feuilles et des racines des deux cultivars de haricot en fonction de différentes concentrations salines.....	94
Figure 42. Variation des taux des tanins condensés (mg EC/g MS) des feuilles et des racines des deux cultivars de haricot en fonction de différentes concentrations salines.....	96
Figure 43. Variation des IC50 des feuilles des deux cultivars de haricot en fonction de différentes concentrations salines. ....	97

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Types d'entités oxydantes ou espèces réactives (RS) .....	20
Tableau 2. Valeurs nutritionnelles des graines (g/ 100g MS). .....	22
Tableau 3. Dispositif expérimental des deux variétés de haricots soumises au stress salin au stade germination. ....	27
Tableau 4 : Dispositif expérimentale des deux variétés de haricots soumis au stress salin au stade végétatif. ....	29
Tableau 5 : Les résultats expérimentaux des tests phytochimique réalisés sur deux cultivars .....	89

*INTRODUCTION*  
*GENERALE*

## INTRODUCTION GENERALE

La salinité est l'un des principaux facteurs qui influent la croissance et le métabolisme des plantes, entraînant de graves dommages et une perte de productivité principalement dans les régions arides et semi-arides. (Vaidyanathan, 2003).

En Algérie, les facteurs qui contribuent à l'extension du phénomène de salinisation des terres sont liés à l'aridité du climat qui porte sur plus de 95 % du territoire, la qualité médiocre des eaux d'irrigation, le système de drainage souvent inexistant ou non fonctionnel, et la conduite empirique des irrigations (Daoud et Halitim, 1994; Saidi, 2004).

Les effets délétères de la salinité sur la croissance des plantes sont associés à la diminution du potentiel osmotique de la solution du sol (stress hydrique), au déséquilibre nutritionnel, et aux effets ioniques spécifiques (stress salin) ; ou une combinaison de tous ces facteurs (Ashraf, 1994) qui provoquent des perturbations multiples sur le métabolisme des plantes au niveau moléculaire, biochimique et physiologique (Tester et Davenport, 2003; Yamaguchi et Blumwald, 2005). La perte d'extensibilité de la paroi cellulaire, la réduction de la conductance somatique, la perturbation de structure et des fonctions biomembranaires, un stress oxydatif et un déséquilibre hormonal sont quelques-unes des raisons de la diminution globale de la croissance et du développement des plantes soumises au stress salin (Çelik et Atak, 2012).

En outre, la salinité affecte le taux de la photosynthèse (Sudhir, et al., 2004) et se manifeste généralement par la réduction du contenu des pigments photosynthétiques dans les plantes traitées (MurilloAmador, et al. 2007, Taffouo, et al. 2010). La salinité par le NaCl est susceptible de perturber la nutrition minérale des plantes (Laredj-Zazou, 2013) en interférant avec le prélèvement de certains éléments essentiels et leurs fonctions physiologiques (Zhu, 2002), comme le potassium et le calcium (Zid et Grignon, 1991).

Le métabolisme azoté et la synthèse protéique sont sévèrement affectés par le stress salin (Hungria et Vargas, 2000 ). Il en résulte un développement anormal des plantes et une diminution du rendement (Pessarakli et al., 1989), également la nodulation est très affectée par le stress salin qui affecte à la fois la survie et la multiplication des populations rhizobiennes (Poolman et Glaasker, 1998 ).

En réponse au stress salin, les plantes développent une grande variété de mécanismes pour détecter, répondre et s'adapter à un large éventail de changements environnementaux. La survie et la croissance des légumineuses en condition de contrainte hydrique ou saline sont liées à des processus adaptatifs liés au transport et à la

compartimentation des ions, à la biosynthèse et l'accumulation d'osmolytes organique qui participent à l'ajustement osmotique et à des accumulations protéiques nécessaires au maintien de l'intégrité cellulaire (Hamoud, 2012). Parmi ces mécanismes, l'ajustement osmotique qui joue un rôle primordial dans la résistance ou la tolérance de la plante au stress (Munns, 2002.), il a toujours été considéré comme la fonction principale des osmolytes chez les plantes (Hasegawa *et al.*, 2000). Ce processus peut être réalisé par la régulation des stomates (Chartzoulakis, 2005; Tattini et Traversi, 2009), et l'accumulation de solutés compatibles dans les feuilles ou dans les racines, principalement des composés aminés et glucidiques. En effet, certains de ces composés peuvent modifier les propriétés de solvant de l'eau, stabiliser le potentiel osmotique interne, augmenter la stabilité thermodynamique des protéines repliées et protéger les structures macromoléculaires (Yancey, 2005). L'accumulation de ces composés organiques a été mise en évidence chez plusieurs espèces végétales soumises à la contrainte saline. Cette accumulation varie dans de larges proportions suivant l'espèce, le stade de développement et le niveau de la salinité.

La salinité élevée agit aussi sur le métabolisme des parois en affectant principalement l'activité des enzymes qui y sont impliquées (Zhong, *et al.*, 1993) et/ou les protéines de la paroi, comme la xyloglucane endo-transglycosydase (Janz *et al.*, 2011), la peroxydase dans les racines (Talano, *et al.*, 2006; Janz, *et al.*, 2011) et les expansines (Geilfus, *et al.*, 2011; Janz, *et al.*, 2011). Il en résulte une réduction de la croissance des plantes (Pujari, *et al.*, 2002 ;Ortega, *et al.*, 2006 ;Geilfus, *et al.*, 2011) particulièrement celle des parties aériennes des glycophytes.

Cependant , la salinité peut également causer un stress oxydatif dû à une surproduction d'espèces réactives d'oxygène (ROS) conduisant à l'altération du métabolisme des plantes ; ainsi , ces produits peuvent endommager l'ADN, les protéines, les lipides, les hydrates de carbone et les membranes (Menezes-Benavente *et al.*, 2004; Hichem *et al.*, 2009), alors qu'un mécanisme défensif commun activé dans les plantes peut se produire ; comme la synthèse des composés antioxydants pour éliminer ces ROS. Dhingra, *et al.*, (1985) Ayaz, *et al.*, (2000) ont rapporté que des perturbations du processus métabolique induites par la salinité conduisent à une augmentation des composés phénoliques. La propriété antioxydante des composés phénoliques végétaux, les voies métaboliques de leur biosynthèse et les enzymes impliquées sont bien documentées dans la plupart des espèces végétales importantes (Balasundram *et al.*, 2006) .

Pour résister au stress oxydatif induit par le NaCl, les plantes sont dotées d'un système de défense antioxydant, il a été démontré récemment que l'amélioration de

la propriété de balayage radical de DPPH est impliquée dans la tolérance au sel (Xie, et *al.* 2008) et la capacité antioxydante estimée par le test DPPH pourrait être ainsi contribué par des composés phénoliques.

Dans le même contexte, s'inscrit notre travail, qui a pour objectif, l'évaluation de l'impact du stress salin sur le comportement de deux cultivars de haricot commun (*Phaseolus vulgaris.L*) à travers leur potentiel organique (physiologique, biochimique et phytochimique). Il s'agit du cultivar Djadida et Sidi Ferredj de la même espèce.

Le choix est porté sur le haricot commun (*Phaseolus vulgaris.L.*), du fait que c'est la principale espèce légumineuse économiquement la plus importante, avec plus de 90 % de la production mondiale est le haricot (Broughton et *al.*, 2003); elle est consommée largement, par la population Algérienne et représente l'une des Fabacée sensible à la salinité et aussi, du fait, qu'un travail préliminaire sur la même espèce a été fait en mémoire de magister, et que les travaux de doctorat doivent pertinemment suivre le même champ de travail.

Le travail présenté est composé de deux parties distinctes mais complémentaires.

Une **partie bibliographique** qui traite trois chapitres :

1. Notion d'ensembles sur le stress salin et son effet sur les plantes
2. Généralités sur les métabolites énergétiques et fonctionnels
3. Généralités sur les légumineuses et état de connaissance sur l'espèce (*Phaseolus vulgaris L.*)

Et une **partie expérimentale** avec trois chapitres indiqués ci-dessous :

1. Comportement physiologique adaptatif du (*Phaseolus vulgaris L.*) sous stress salin
2. Potentiel biochimique et énergétique de (*Phaseolus vulgaris. L*) sous stress salin
3. Potentiel phytochimique fonctionnel de (*Phaseolus vulgaris. L*) sous stress salin.

La thèse est achevée, par une conclusion et des perspectives, suivies par une liste globale des références bibliographiques et les annexes.

---

*PARTIE*  
*BIBLIOGRAPHIQUE*

---

---

**Chapitre I :Notion d'ensemble sur le stress  
salin et son effet sur les plantes.**

---

## **I. Notion d'ensemble sur le stress salin et son effet sur les plantes**

### **I.1. Notion sur le stress salin**

Le stress est fondamentalement un concept de mécanique, définie comme étant une force exercée par une unité de surface d'un objet ; autrement dit « une force ou une influence hostile qui tend à empêcher un système normal de fonctionner ». Cette définition est subjective et vraie en fonction des espèces et même des écotypes (Hopkins, 2003). Cependant, on définit en général deux types de salinité : la salinité primaire et la salinité secondaire. La première résulte de la présence initiale de sels dans le sol ou dans la nappe phréatique. La seconde résulte des apports de l'eau d'irrigation (Farissi et *al.*, 2014). Selon Mermoud, (2006), la salinité est le processus d'accumulation des sels à la surface du sol et dans la zone racinaire qui occasionne des effets nocifs sur les végétaux et le sol ; il s'en suit une diminution des rendements et à terme, une stérilisation du sol.

Des concentrations élevées en sel dans la rhizosphère provoquent un stress, du fait du déficit en eau et de la toxicité des ions. En fait, le terme de stress salin s'applique surtout à un excès d'ions, en particulier, mais pas exclusivement aux ions Na<sup>+</sup> et Cl<sup>-</sup> (Hopkins, 2003).

Par ailleurs, Laredj-Zazou, (2013) signale que la salinité du sol ou de l'eau est causée par la présence d'une quantité excessive du sel, généralement un taux élevé de Na<sup>+</sup> et Cl<sup>-</sup> cause le stress salin. Le stress salin a un triple effet : il réduit le potentiel hydrique, cause un déséquilibre ionique ou des perturbations en homéostasie ionique et provoque une toxicité ionique. Cet état hydrique altéré conduit à une croissance réduite et limitation de la productivité végétale. Depuis que le stress salin implique aussi bien le stress osmotique qu'ionique (Hayashi, et Murata, 1998) l'arrêt de la croissance est directement relié à la concentration des sels solubles ou au potentiel osmotique de l'eau du sol (Parida et Das, 2005) in (Laredj-Zazou, 2013).

### **I.2. Impact du stress salin sur le développement des plantes**

#### **I.2.1. Impact du stress salin sur la physiologie de germination**

La plupart des plantes sont plus sensibles à la salinité durant leurs phases de germination et de levée (Maillard, 2001). La germination des plantes, qu'elles soient halophytes ou glycophytes, est affectée par la salinité en réduisant leur faculté et/ou leur énergie germinative (Bayuelo-Jiménez et *al.*, 2002). Selon l'espèce, l'effet dépressif peut être de nature osmotique qui se traduit par l'inaptitude des graines à absorber des quantités suffisantes en eau pour les ramener à leur seuil critique d'hydratation, nécessaire au

déclenchement du processus de germination ; ou de nature toxique liée à une accumulation cellulaire de sels qui provoquent des perturbations des enzymes impliquées dans la physiologie des graines en germination, empêchent la levée de dormance des embryons et conduisent à une diminution de la capacité de germination (Rejili et *al.*, 2006). Parmi les causes de l'inhibition de la germination en présence de sel, la variation de l'équilibre hormonal qui a été évoquée par Ungar, (1996) et Kabar, (1986).

### **I.2.2. Impact du stress salin sur la croissance**

La salinité est l'un des facteurs limitant pour la croissance des plantes. Les effets de la salinité sont surtout l'arrêt de la croissance, le dépérissement des tissus sous forme de nécroses marginales, suivi par une perte de turgescence, par une chute des feuilles et finalement par la mort de la plante (Zid, 1982). Beaucoup de chercheurs ont montré que la croissance des plantes diminue sous les conditions salines, mais le degré de réduction dépend du niveau du sel, des conditions environnementales, du type de plantes et du stade de croissance c'est le cas du coton (Ha et Martinez, 2001), la tomate (Romero-Aranda et *al.*, 2001; Romero-Aranda et *al.*, 2006) ; et le cas de l'orge et du blé (Pessarakli et *al.*, 1991). Une forte concentration de sel provoque l'accumulation des ions dans les cellules qui créent souvent de la toxicité et cela se manifeste dans les plantes par la chlorose et la nécrose des tissus foliaires (Hasegawa et *al.*, 2000; Wahome et *al.*, 2001).

Une réduction de la croissance de la partie aérienne est la première réponse observée chez les glycophytes à l'augmentation de la salinité au niveau des racines car il s'est avéré que les feuilles sont les tissus les plus sensibles de la plante à une salinité excessive, par contre la croissance des racines s'en trouve faiblement affectée (Benmahioul et *al.*, 2009). Le stress salin résulte aussi dans la diminution de la biomasse sèche et fraîche des feuilles, des tiges et des racines (Laredj-Zazou, 2013), aussi le faible diamètre des organes, le nombre réduit des nœuds et les réductions du nombre de feuilles, la longueur de la tige, longueur des racines et la surface racinaire chez la tomate (Mohammad et *al.*, 1998) et par conséquent l'augmentation du rapport partie racinaire/partie aérienne comme chez le coton (Meloni et *al.*, 2001). La salinité influe également sur la croissance et la qualité des fruits dont l'aspect fruits est plus petit et nécrosé, et la qualité organoleptique est modifiée (Levingneron et *al.*, 1995).

La réduction de la croissance est en rapport avec la réduction de la teneur relative en eau, la conductance stomatique, la transpiration et la réduction de la photosynthèse nette (van der Moezel, et *al.*, 1989)

### **I.2.3. Impact du stress salin sur le potentiel hydrique de la plante**

L'état de l'eau est la principale raison de la réduction de la croissance dans les plantes sous le stress salin. Le stress osmotique dans les racines se produit quand il y a une forte pression osmotique de la solution autour des racines, en menant à une baisse du potentiel hydrique externe. L'effet du stress hydrique résultant est attribuable aux fortes concentrations de sel à l'extérieur de la plante plutôt que dans la plante elle-même, qui peut inhiber l'alimentation en eau ou même en causant la déshydratation de la plante et finalement une réduction de la turgescence et la croissance (Flowers et al., 1977; Greenway et Munns, 1980; Xiong et al., 2002). À une salinité faible à modérée et à un potentiel d'eau du sol plus élevé, les plantes peuvent ajuster l'état de l'eau grâce à l'accumulation de solutés compatibles et à la maintenance de l'afflux d'eau et de nutriments par un gradient potentiel (Koyro, 2006; Shannon, 1997).

### **I.2.4. Impact du stress salin sur le processus métabolique**

La photosynthèse est l'une des voies biochimiques plus importantes par lequel les plantes préparent leur matière alimentaire propre et se développe. La salinité tout comme la sécheresse a pour conséquence de réduire la photosynthèse par la réduction des échanges gazeux mais aussi de l'activité photochimique (Eastman, et al., 1995; Orcutt, et al., 2000; Ortega, et al., 2004).

L'effet de salinité sur la photosynthèse se manifeste essentiellement par la diminution de la conductance stomatique est suivie par la réduction de l'assimilation du CO<sub>2</sub> et du taux de respiration comme indiqué pour différentes espèces et niveaux de Salinité (Ashraf, 2001; Romero-Aranda, et al., 2001). Particulièrement chez les glycophytes, la présence continue de NaCl dans le milieu de culture entraîne une augmentation d'une part de l'épaisseur des limbes (ce qui deviendrait un élément limitant dans la porosité stomatique) et d'autre part des vitesses d'ouverture des stomates. Le même constat a été observé par Gama, et al., (2007) chez le haricot, par contre Kao, et al., (2001) suggèrent que la photosynthèse ne diminue pas mais plutôt stimulée par de petites concentrations de sel, et par conséquent, le taux de photosynthèse a augmenté (Parida et Das, 2005) cas de l'*Amaranthus* (Wang et Nil, 2000).

Néanmoins, l'assimilation photosynthétique réduite est accompagnée par quelques processus métaboliques qui se résument dans l'accumulation de certains composés organiques.

#### **I.2.4.1. Accumulation des composés azotés**

Chez les légumineuses, le stress salin limite significativement la capacité de fixation d'azote (Bekki et al., 1987), ces résultats correspondent à ceux trouvés chez, *Glycines*, *Vicia* et *Phaseolus* (Abdel-Ghaffar et al., 1982).

La nitrification est aussi touchée par la salinité. En effet, la vitesse d'oxydation biologique de l'ammonium est ralentie en fonction du degré de salinité dans le sol ; il est de même de la vitesse d'apparition des nitrates NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, lorsque l'oxydation de l'ammonium est totalement inhibée en présence de salinité excessive et il n'y a pas apparition de nitrate NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (Slama, 2004).

La réduction de l'assimilation azotée sous l'effet du stress salin est une réponse générale chez les glycophytes. Plusieurs auteurs attribuent cet effet à une diminution de l'activité de la nitrate réductase qui à sa tour attribuée à une limitation de l'absorption de son substrat réductible NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (Tabatabaei, 2006). De plus, l'accumulation endogène des ions salins inhibe l'activité des enzymes qui assurent l'assimilation de l'azote minéral, affectant ainsi le taux des protéines (Parida et al., 2002), la synthèse des acides aminés et des composés azotés secondaires (Debouba, et al., 2006b).

La salinité diminue la synthèse des protéines et augmente leur hydrolyse chez quelques plantes cultivées ; par exemple, chez les racines du pois (Klyshev et Rakova 1964) et chez le haricot (Nieman R.H., 1965; Huber, et al., 1977). Cette diminution du contenu des protéines est due à un ralentissement de la synthèse protéique et à l'inhibition de l'activité enzymatique (Blaha et al., 2000) causées par les hautes concentrations en sel surtout chez les plantes âgées. Il a été rapporté aussi qu'il peut avoir des augmentations des protéines solubles (Khales et Baaziz, 2006) généralement due à une surexpression des enzymes impliquées dans la réparation des protéines des différentes plantes sous régime salin pendant les périodes de stress (Greelman et Mullet, 1997; Khales et Baaziz, 2006).

Selon Mansour, (2000), de nombreux acides aminés comprenant la proline, l'alanine, l'arginine, la glycine, la serine, la leucine et la valine, les acides aminés non protéiques (citrulline et ornithine) et les amides (glutamine et asparagines) s'accumulent dans les plantes exposées au stress salin. La proline est l'osmolyte le plus commun chez les plantes. Les teneurs en proline s'accroissent rapidement chez de nombreuses mono ou dicotylédones soumises à un stress salin (Yoshiba et al., 1999 ; Rhodes et al., 2002; Silva-Ortega et al., 2007). Cette augmentation de la concentration de proline cytoplasmique est consécutive à la stimulation de sa synthèse, résultant d'une élévation des quantités des messagers codant pour l'enzyme qui convertit le glutamate semi-aldéhyde en proline. Il

existe deux voies de biosynthèse de la proline chez les plantes, celle de l'ornithine et celle du glutamate. Cette dernière semble être prédominante sous conditions de stress (Silva-Ortega *et al.*, 2007); Maggio, *et al.*, (2002) qui ont noté que la proline est comme une molécule de signalisation/régulatrice capable d'activer des réponses multiples qui sont des composants du processus d'adaptation.

#### **I.2.4.2. Accumulation des composés lipidique**

Une augmentation des fuites d'électrolyte des membranes dues à la salinité a été rapportée dans les plantes sensibles au sel, y compris les racines d'orge (Chalbi *et al.*, 2013) et le brocoli (López-Pérez *et al.*, 2009), les feuilles de plants de tomates (Tuna *et al.*, 2007) et *Populus cathayana* (Yang *et al.*, 2009) et a été associée à une réduction de la teneur totale en lipides, indiquant une perte de l'intégrité de la membrane, modifiant leur fluidité et par conséquent, leur perméabilité. Il a été proposé que la diminution du contenu des lipides membranaires induite par le stress fût une conséquence de la lipolyse et de la peroxydation améliorées, ainsi que d'une inhibition des voies de biosynthèse lipidique (Li *et al.*, 2008; Yasar *et al.*, 2010).

#### **I.2.4.3. Accumulation des sucres solubles et les polysaccharides**

Les sucres peuvent servir comme de composés solubles compatibles pour l'ajustement osmotique, comme de nombreuses autres molécules. L'accumulation des glucides solubles dans les plantes a été largement rapportée comme une réponse à la salinité ou à la sécheresse, malgré la diminution significative du taux net d'assimilation de CO<sub>2</sub> (Murakezy *et al.*, 2003). Lorsque les glycophytes sont exposés à une forte salinité, l'augmentation des taux des sucres solubles contribue jusqu'à une augmentation de 50 % du potentiel osmotique (Parvaiz et Satyawati, 2008). Une forte corrélation a été établie entre l'accumulation des sucres et le niveau de tolérance à la salinité (Gilmour *et al.*, 2000 ; Streeter *et al.*, 2001 ; Taji *et al.*, 2002; Storey *et al.*, 2003). Les nombreux cas où sont décelées des accumulations de sucres (saccharose) ou de leurs dérivés d'alcools, tels que les polyols, le mannitol, le sorbitol et le tréhalose (Phillips *et al.*, 2002; Sairam et Tyagi, 2004), s'accompagnent aussi de l'augmentation de composés aminés (Cushman, 2001).

Les salinités élevées agissent aussi sur le métabolisme des parois en affectant principalement l'activité des enzymes qui y sont impliquées (Zhong et Läuchli, 1993). Il en résulte une réduction de la croissance des glycophytes, particulièrement celle des parties aériennes. Cette réduction de la croissance affecte la paroi primaire des cellules en réduisant son extensibilité (Beatriz *et al.*, 2001), ce qui suggère un remodelage des polysaccharides pariétaux.

#### **I.2.4.4. Accumulation des composées phénoliques**

Parmi les métabolites secondaires, les composés polyphénoliques à forte activité antioxydante (Taârit et *al.*, 2012), sous la salinité et d'autres stress biotiques/abiotiques, leur synthèse et leur accumulation sont généralement vitalisées (Ksouri et *al.*, 2007). Ainsi, il a été suggéré que les plantes stressées par la salinité pourraient être potentiellement des sources de polyphénols (Neffati et *al.*, 2011). La variation de la synthèse des polyphénols dans les plantes comme antioxydants en réponse aux stress abiotiques et particulièrement au stress salin varie selon l'espèce de plante, la variété, la sévérité du stress et les types de sels (Ramel, 2009).

#### **I.2.4.5. Accumulation des enzymes antioxydantes**

En cas de stress biotique ou abiotique, on observe chez les plantes une production rapide et massive d'espèces réactives à l'oxygène. Le stress oxydatif causé par le déficit hydrique entraîne la libération de radicaux libres qui sont produits au cours des processus cellulaires aérobie et de façon plus accrue suite aux stress abiotiques, notamment la salinité (Tausz et *al.*, 2004; Ben Nacer et *al.*, 2005; Logan, 2005; Brosché et *al.*, 2010) et qui sont toxiques pour le métabolisme cellulaire comme les superoxydes, les radicaux hydroxyles et peroxydes (Ben Nacer et *al.*, 2005). Les espèces réactives de l'oxygène qui sont les produits du stress hyperosmotique et ionique qui risquent d'endommager les structures chlorophylliennes, protéines nucléiques et lipides, et par conséquent entraver le métabolisme cellulaire, la physiologie de la croissance et le rendement (Frankel, 1984; Imlay, et *al.*, 1986) et finalement provoquent des dysfonctionnements dans la membrane et la mort cellulaire (Bohnet & Jensen, 1996).

Les plantes se défendent contre ces ROS par l'induction de l'activité de certaines enzymes antioxydantes qui éliminent les espèces réactives de l'oxygène comme la catalase, la peroxydase, le glutathion réductase et la superoxyde dismutase (Hernandez et *al.*, 2000). Mais aussi, elles emploient une vaste panoplie des antioxydants (de nature non enzymatique) de faible masse moléculaire, tels que les composés phénoliques, les flavonoïdes, les anthocyanes et l'acide ascorbique (Ashraf, 2008).

### **I.3. Agissements adaptatifs des plantes sous stress salin**

Les potentialités d'une plante à faire face au stress salin, se traduit par ses compétences à surmonter le stress, à se développer, à s'accroître et à produire un rendement

intéressant dans les conditions les plus difficiles du stress en rapport avec cette tolérance quatre grandes tendances ont été discernées selon (Hagemeyer., 1996).

- **Les Halophytes vraies**, dont la production de biomasse est stimulée par la présence de sel. Ces plantes présentent des adaptations poussées et sont naturellement favorisées par ces conditions : *Salicornia europaea*, *Suaeda maritima*.
- **Les Halophytes facultatives**, montrant une légère augmentation de la biomasse à des teneurs faibles en sel : *Plantago maritima*, *Aster tripolium*.
- **Les Non-Halophytes résistantes**, supportant de faibles concentrations en sel par exemple : *Hordeum sp.*
- **Les Glycophytes ou Halophobes**, sensibles à la présence de sel : *Phaseolus vulgaris L*, *Glycine max*.

Les plantes sous stress salin emploient des mécanismes biochimiques et moléculaires pour surmonter le stress pour la croissance et le développement. On trouve les voies biochimiques dans certains processus qui produisent ensuite des composés qui améliorent la capacité de la tolérance au sel (Iyengar et Reddy, 1996).

### **I.3.1. Règlement et compartimentation des ions**

Celle-ci consiste à évacuer du cytoplasme les ions  $\text{Na}^+$  en excès vers la vacuole afin d'éviter leur effet toxique et inhibiteur à l'encontre des processus enzymatiques (Flowers et *al.*, 1977). Ce mécanisme de compartimentation vacuolaire est assuré par l'action d'un antiport vacuolaire sodium/proton ( $\text{Na}^+/\text{H}^+$ ) dont l'énergie est fournie par les pompes à protons ATP ases (adénosine triphosphatases) et PP ases (pyrophosphatases) vacuolaires (Zhang et *al.*, 2001) Chez l'orge, la tomate, la tulipe, l'activité des échangeurs vacuolaires  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  dans les racines augmente lors de l'ajout de  $\text{Na}^+$  dans le milieu (Garbarino et DuPont, 1989 ; Wilson et Shannon, 1995; Ballesteros et *al.*, 1997). En outre, l'augmentation de l'activité de l'échangeur vacuolaire  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  dans les racines durant le stress salin est plus forte chez l'espèce tolérante *Plantago maritima* que chez l'espèce sensible *Plantago. Media* (Staal et *al.*, 1991). Ainsi, grâce à ce processus de compartimentation de sodium au sein de la vacuole, la cellule parvient à maintenir une faible concentration de sodium dans le cytoplasme, minimisant ainsi son effet toxique ; et d'autre part, l'augmentation concomitante de la concentration de sodium dans la vacuole va engendrer une forte pression osmotique qui va favoriser l'absorption d'eau et donc améliorer la turgescence des cellules (Glenn et *al.*, 1999; Apse et *al.*, 1999).

### **I.3.2. Influx et l'efflux des ions**

La capacité d'une plante à compartimenter  $\text{Na}^+$  au niveau cellulaire entraîne une différence de gestion du  $\text{Na}^+$  au niveau de la plante entière. On peut distinguer deux comportements des plantes vis-à-vis du sel, les comportements dits « incluser » et « excluser ». Chez les plantes de type « incluser », les flux de sodium sont essentiellement ascendants et le sel est accumulé dans les parties aériennes au niveau des vacuoles. Les plantes inclusives associent la résistance à la salinité avec l'aptitude à transporter de grandes quantités de  $\text{NaCl}$  dans les feuilles. Il semble que ces comportements résultent d'une bonne compartimentation cellulaire du ( $\text{Na}^+$ ) ; ce qui explique la tolérance à l'accumulation foliaire et aussi la faible recirculation de cet ion à travers le phloème (Tal 1984).

Par contre, chez celles de type « excluser », la plus grande partie du sodium absorbé et véhiculé vers les feuilles est réexportée vers les racines via le phloème (Levingneron et *al.*, 1995; Berthomieu et *al.*, 2003) ou initialement stockée dans les racines. Il existe une corrélation positive entre l'exclusion des sels et la tolérance à la salinité chez plusieurs espèces végétales (Munns et *al.*, 2006).

### **I.3.3. Biosynthèse des solutés compatibles**

Lorsque les plantes sont exposées au stress salin, le cytoplasme essaie d'accumuler des composés de faible poids moléculaire pour ajuster l'équilibre ionique dans les vacuoles. Ces composés sont appelés les solutés compatibles parce qu'ils ne gênent pas les réactions biochimiques normales (Ford, 1984 ;Ashihara et *al.*, 1997; Burg et Kwon, 1997; Hasegawa et *al.*, 2000; Zhifang et Loescher, 2003 ;Garg, 2008). L'ajustement osmotique se rapporte spécifiquement à une augmentation nette de la concentration de solutés provoquée par des processus métaboliques déclenchés par le stress. Ceci entraîne une diminution du potentiel hydrique, permettant ainsi de maintenir le mouvement d'eau vers les feuilles et par conséquent leur turgescence (Hopkins, 2003).

Ces composés comprennent principalement des acides aminés tels que la proline, l'alanine, la  $\beta$ -alanine et la taurine ; des ammoniums quaternaires comme la glycine bétaine ; des sucres ou leurs dérivés alcools tels que le mannitol, le sorbitol, le pinitol, le glycérol, et le tréhalose (Hasegawa et *al.*, 2000).

#### **I.3.4. Induction des antioxydantes enzymatique et non enzymatique**

Pour faire face aux dérivés réactifs de l'oxygène, les plantes possèdent des antioxydants (de nature non enzymatique) de faible masse moléculaire, tels que les composés phénoliques, les flavonoïdes, les anthocyanes, et l'acide ascorbique (Ashraf 2008), mais aussi, elles emploient des enzymes, telles que la superoxyde dismutase, la catalase, l'ascorbate peroxydase, la glutathion S-transférase et la glutathion peroxydase (Sairam et al., 2010). Dans ce sens, l'induction du superoxyde dismutase est considérée comme le premier mécanisme de défense contre ces dérivés par réaction de dismutation d' $O_2^-$  en  $H_2O_2$  et  $O_2$ . La catalase et les peroxydases assurent la conversion  $H_2O_2$  en  $H_2O$  et  $O_2$  (Gratão, et al. 2005).

#### **I.3.5. Induction d'hormones végétales**

Sur la base de recherches antérieures, il est clair que la concentration élevée du sel déclenche l'augmentation du contenu de certaines hormones telles que l'acide abscissique (ABA) et les cytokinines dans les feuilles des plantes (Aldesuquy, 1998; Thomas, et al., 1992; Vaidyanathan, et al., 1999). Javid, et al., (2011) ont noté que l'ABA joue un rôle majeur dans la signalisation des réponses d'adaptation des plantes aux stress. L'ABA est produite dans les racines en réponse à une diminution du potentiel hydrique du sol et transporté vers les feuilles où il se fixe à des récepteurs de la membrane plasmique de cellules de garde des stomates (Babu, et al., 2012) .

Les cytokinines favorisent la croissance des racines et la différenciation, et elles peuvent également stimuler la germination et retarder le vieillissement des feuilles (Nabors, 2008).

Les gibbérellines représentent aussi une classe d'hormones qui affectent de nombreux aspects du développement chez les plantes. Elles favorisent la germination des grains et la croissance des bourgeons, ce sont une des catégories d'hormones impliquées dans l'élongation des tiges et la croissance des feuilles. Les gibbérellines stimulent également la floraison et le développement des fruits. Les gibbérellines sont également impliquées dans la promotion de la croissance des racines car elles régulent l'abondance des poils racinaires (Bottini, et al., 2004).

---

## **Chapitre II : Généralités sur les métabolites énergétiques et fonctionnels**

---

## II. Généralités sur les métabolites énergétiques et fonctionnels

### II.1. Métabolites énergétiques ou primaires

Les métabolites primaires sont des molécules organiques qui se trouvent dans toutes les cellules de l'organisme d'une plante pour y assurer sa survie. Ils sont classés en quatre grandes catégories : les glucides, les lipides, les acides aminés et les acides nucléiques protides et protéines. C'est à partir de ceux-ci que les métabolites secondaires sont formés, par différentes réactions chimiques (Bruneton, 1999).

#### II.1.1. Métabolites glucidiques

Ce sont des molécules organiques dont les carbones sont porteurs de fonctions alcools (alcool secondaire, alcool primaire), d'une fonction aldéhyde ou cétonique (fonction carboxylique) et parfois d'une fonction acide ou aminée (Touitou, 2005).

Ce sont surtout des éléments de soutien ou de réserve énergétique, précurseurs obligatoires des autres métabolites (Bruneton, 1999). On distingue les oses et les osides, les oses : sont les unités de base des glucides et les osides : sont des molécules dont l'hydrolyse fournit 2 ou plusieurs molécules d'oses identiques ou différents dont font partie les polysaccharides.

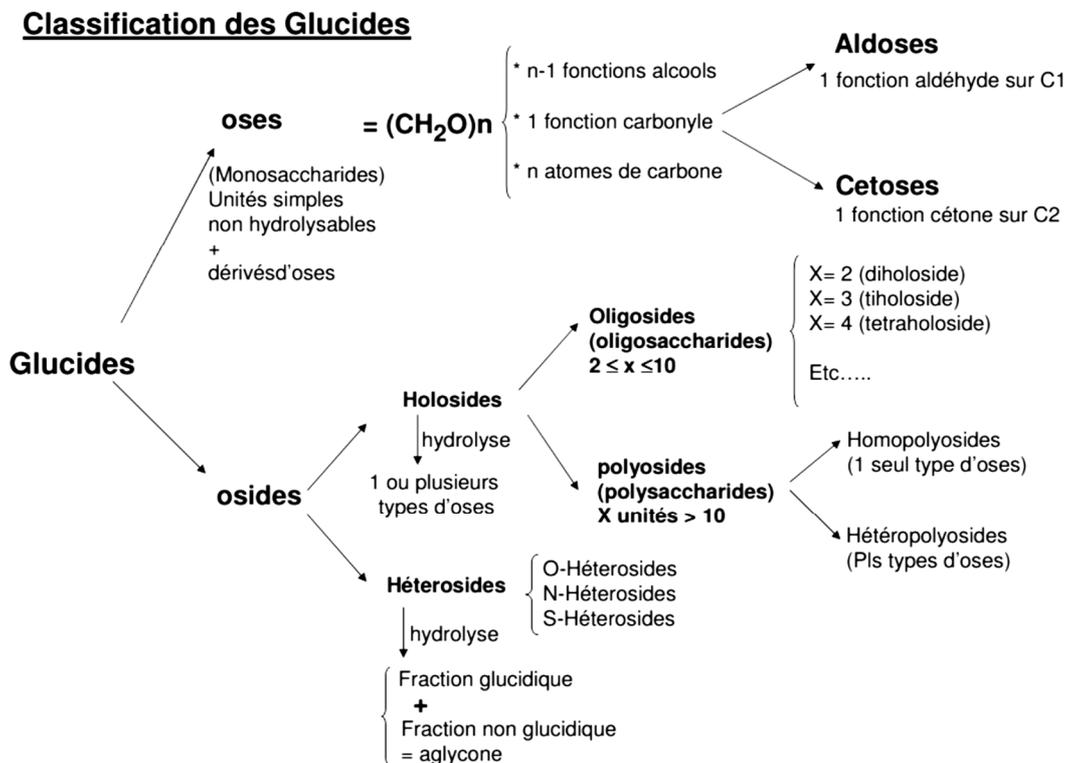


Figure 1. Classification des glucides (Feraga, 2015).

## Les polysaccharides

Les cellules végétales sont entourées par des parois cellulaires. La structure et la composition de ces parois sont constamment modifiées au cours de la croissance, du développement des plantes, et en réponse aux contraintes environnementales (Knox, 2008 ; Lee et *al.*, 2011; Roppolo et Geldner, 2012); Ainsi, les parois contribuent à la forme des cellules et au port dressé des plantes et assurent la communication entre les cellules (Wojtaszek, 2000). De plus, elles contribuent à l'adaptation des plantes à leur environnement et à leur protection contre les stress environnementaux (Somerville et *al.*, 2004; Albersheim et *al.*, 2011; Keegstra, 2010) ; Selon Carpita et Gibeaut, (1993), les trois composés polysaccharidiques majeurs présents au niveau de la paroi végétale sont la cellulose, l'hémicelluloses et les pectines.

### ➤ La cellulose

La cellulose est le polymère naturel le plus abondant dans la nature. 830 millions de tonnes de cellulose sont produites annuellement par photosynthèse. Il s'agit d'un homopolymère formé par l'enchaînement d'unités de cellobiose (formé de 2 unités de glucose) liées entre elle par une liaison glucosidique  $\beta$ -(1  $\rightarrow$ 4) selon Rowell et *al.*, (2000) (Figure 02). La cellulose représente 15 à 30 % de la masse sèche de la paroi primaire, elle est synthétisée principalement par les végétaux supérieurs (Brown, 1985) et des autres organismes comme certaines bactéries et champignons (Kimura et Itoh, 1995).

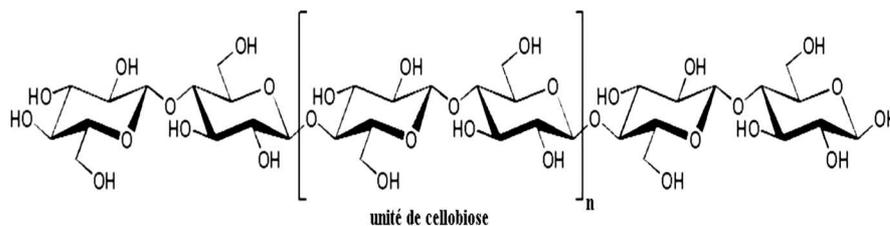


Figure 2. Structure chimique de la cellulose. (Thiebaud, 1995).

L'orientation des molécules de la cellulose ainsi que la présence des groupements hydroxyles libres permettent la formation des liaisons hydrogènes inter et intra-caténaires, ce qui est à l'origine de formation des « microfibrilles ». Le repliement de ces dernières donne les macrofibrilles (Le Digabel-Houllier, 2004 ). Les microfibrilles de la paroi primaire renferment en moyenne 36 chaînes de cellulose déposées généralement transversalement par rapport à l'axe d'élongation cellulaire (Delmer, 1999). Le dépôt de

ces microfibrilles est fait de manière orientée et peut changer au cours de la formation de la paroi secondaire (Brett, 2000; Emons et Mulder, 2000). Le contrôle de la biosynthèse de cellulose est effectué par plusieurs gènes de la famille cellulose synthéase (CesA) (Somerville, 2006). Certains sont impliqués dans la synthèse de cellulose de la paroi primaire, d'autres de la paroi secondaire. Dans les parois, les microfibrilles de cellulose sont entourées et reliées entre elles par des hémicelluloses et ennuoyées dans une matrice de pectines (Carpita et Gibeaut, 1993).

➤ **Les hémicelluloses**

Les hémicelluloses forment une famille de polysaccharides pariétaux qui ne sont ni cellulosiques, ni pectiques, mais sont alcalino solubles et constituées d'un enchaînement de résidus D-glycopyranoses liés en  $\beta$  -(1-4) (Hijazi, 2011 ). Cependant, certains résidus sont extractibles par l'eau, tels que les arabinanes et les arabinogalactanes. Les hémicelluloses se caractérisent également par leurs chaînes moléculaires courtes et ramifiées ( $50 < DP < 300$ ), d'où leur caractère amorphe. Les hémicelluloses forment une matrice de soutien pour la cellulose. Elles sont hydrophiles, solubles dans les solutions alcalines et facilement hydrolysables par les acides (Jacob John et Thomas, 2008). Le rôle biologique le plus important des hémicelluloses est leur contribution au renforcement de la paroi cellulaire par des interactions avec les microfibrilles de cellulose et avec la lignine par des liaisons non covalentes (Scheller et Ulvskov, 2010). Les hémicelluloses peuvent aussi établir des liaisons covalentes avec les pectines (Thompson et Fry, 2000).

➤ **Les pectines**

Les pectines sont des composants majeurs de la paroi cellulaire des plantes et sont les polysaccharides les plus complexes trouvés dans la nature (Mohnen, 2008; Voragen et al., 2009) sont très hydrophiles et l'eau qu'elles introduisent dans la paroi cellulaire rend la paroi plastique (Raven et al., 1999). Différents polysaccharides pectiques peuvent être détectés dans les parois primaires: l'homogalacturonane (HG), le xylogalacturonane (XGA), l'apiogalacturonane, le rhamnogalacturonane de type I (RG I) et type II (RG II) (Willats et al., 2006 ; Burton et al., 2010; Harholt et al., 2010).

### **II.1.2. Métabolites lipidiques**

Ce sont des molécules organiques insolubles dans l'eau (lipophiles) et solubles dans les solvants organiques apolaires comme le benzène, le chloroforme, l'éther... etc. Ils sont caractérisés par la présence dans la molécule d'au moins un acide

gras ou chaîne grasse. Sont rattachés aux lipides, en raison de leur insolubilité dans l'eau, le cholestérol, les stéroïdes, la vitamine D, qui sont des dérivés polyisopréniques. Les lipides correspondent aux réserves énergétiques des plantes (leur oxydation libère beaucoup d'énergie), ont un rôle structural et servent de messagers pour l'organisme (métabolisme intermédiaire) (Bruneton, 1999).

### **II.1.3. Métabolites protéiques**

Les protéines sont connues depuis le XIX<sup>e</sup> siècle comme étant l'un des éléments constitutifs cellulaires. Leur nom provient du grec protios, qui veut dire premier en position (Chapeville et *al.*, 1970). Considérées comme des macromolécules informationnelles très diverses, elles remplissent une vaste gamme de fonctions biologiques (Kruh, 1987). Dans la cellule végétale, les protéines constituent la trame macromoléculaire de base de l'hyaloplasme, des structures nucléaires, de la substance fondamentale ou stroma des mitochondries et des plastes. Associées particulièrement à des lipides, elles participent à l'architecture de tous les systèmes membranaires. De plus à ces protéines de structures, s'ajoutent les protéines enzymatiques (Rai et *al.*, 1983). Une protéine est un polymère dont les unités monomériques (appelés aussi résidus) sont les acides aminés unis par des liaisons peptidiques.

La conformation (c'est-à-dire le repliement) qu'adopte une protéine au sein de la cellule est appelée conformation native. C'est cette conformation unique qui lui assure ses propriétés spécifiques : fonctions enzymatiques et mécaniques, stabilité thermique... etc.

## **II.2. Métabolites fonctionnels, phytochimique ou secondaire**

### **II.2.1. Composés phénoliques totaux**

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires végétaux. Ils peuvent être définis comme des molécules indirectement essentielles à la vie des plantes (d'où la dénomination de métabolites secondaires). Ces molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes, ils sont divisés principalement en trois grandes familles : les polyphénols, les terpènes, les alcaloïdes; (Lutge et *al.*, 2002 ; Abderrazak et Joë, 2007). Les phénols sont caractérisés par la présence d'au moins d'un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle libre, ou engagé dans une autre fonction telle que : éther, ester, hétéroside... etc. (Bruneton 1999, Lugasi, et al. 2003) . En effet ils, constituent le groupe le plus nombreux

et le plus largement distribué dans le royaume des végétaux, avec plus de 8000 structures phénoliques connus (Lugasi et *al.*, 2003).

Les composés phénoliques participent activement aux interactions de la plante avec son environnement en jouant soit le rôle des signaux de reconnaissance entre les plantes (Allélopathie), entre les plantes et les symbioses, ou bien lui permettant de résister aux diverses agressions vis-à-vis des organismes pathogènes. Ils participent de manière très efficace à la tolérance des végétaux à des stress variés, donc ces composés jouent un rôle essentiel dans l'équilibre et l'adaptation de la plante au sein de son milieu naturel (Macheix et *al.*, 2005)

Les polyphénols sont synthétisés par deux voies biosynthétiques : celle de l'acide shikimique et celle issue des acétates (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

Les polyphénols peuvent être classés de différentes manières selon la complexité du squelette de base (allant d'un simple composé en C6 à des formes hautement polymérisées), ensuite, par le degré d'hydroxylation, d'oxydation et de méthylation, enfin, par les liaisons de ces molécules de base avec d'autres molécules (glucides, lipides ou protéines) (Cheynier et *al.*, 1998; Macheix et *al.*, 2005).

Les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tannins constituent trois grandes classes regroupant la majorité des structures (Martin et Andriantsitohaina, 2002; Tarascou et *al.*, 2010). De ce fait, ces trois grandes classes suscitent un intérêt particulier grâce à leurs propriétés fort intéressantes dans les domaines agroalimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques (Ignat I., 2011).

#### **II.2.1.1. Phénols simples**

Les phénols simples sont les composés renfermant une ou plusieurs unités phénoliques sans d'autre fonction particulière impliquant le(s) noyau(x) benzénique(s) comme le 3 hydroxytyrosol, le tyrosol, le 4-vinylphénol. Les acides phénoliques sont les dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique (Donatien, 2008; Garrido et Borges, 2013).

#### **II.2.1.2. Flavonoïdes**

Les flavonoïdes représentent la majorité des composés phénoliques qui sont caractérisés par leur faible poids moléculaire. En effet, Près de 6500 flavonoïdes repartis en 12 classes sont connus (De Rijke et *al.*, 2006), plusieurs autres sont encore à découvrir (Du et *al.*, 2012) et peuvent être distribués dans tous les organes de la plante. Ce sont des pigments quasiment universels des végétaux qui sont, en partie, responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. On les trouve dissous dans la vacuole

des cellules à l'état d'hétérosides ou comme constituants de plastides particuliers, les chromoplastes (Guignard, 1996). Les flavonoïdes sont impliqués dans de nombreuses interactions des plantes avec les conditions biotiques et abiotiques de leur environnement, ces substances sont accumulées dans différentes parties cellulaires et tissulaires de la plante durant l'organogénèse et sous l'influence de plusieurs facteurs stimulants (Hutzler et *al.*, 1998).

### **II.2.1.3. Tannins**

Les tannins sont des composés polyphénoliques, solubles dans l'eau, dont les masses molaires se situent entre 500 et 3000. Ils présentent les réactions caractéristiques des phénols en général, ils sont capables de précipiter les alcaloïdes, la gélatine, et les autres protéines (Merghem, 2000; Stevanovic, 2005) ; Ayant la propriété de tanner la peau. (FPM1, 2014). Deux groupes de tannins se diffèrent aussi bien par leur structure que par leur origine biosynthétiques : tannins hydrolysables et tannins condensés (Ribéreau-Gayon, 1968; Bruneton, 1999; Donatien, 2008).

Les tanins hydrolysables sont des dérivés de l'acide gallique ; ce dernier est estérifié à un polyol. Tandis que les tanins condensés (ou proanthocyanidines) sont des oligomères hétérogènes dont la structure est liée aux flavan 3-ols et flavan 3,4- diols, les unités de monomères sont principalement liées par des liaisons C-C entre les carbones 4-6 ou 4-8 (proanthocyanidines type B).

Les tanins condensés sont distingués en procyanidine (dérivé de catéchine, épicatechine et leurs esters galliques) et en prodelphinidines (dérivés de gallocatéchine, épigallocatéchine et leurs esters galliques) (Valls et *al.*, 2009; Ignat I., 2011).

## **II.2.2. Evaluation de l'activité Antioxydante des composés phytochimique**

### **Stress oxydatif**

Le stress oxydatif est un déséquilibre entre les niveaux d'oxydants et antioxydants en faveur des oxydants (Yzydorczyk, 2011). En d'autres termes, le stress oxydant se caractérise par un déséquilibre entre la production des espèces réactives (RS) et les capacités antioxydantes de l'organisme. Bien que le stress oxydant excessif peut entraîner des dommages oxydatif, il est en soit pas nécessairement dommageable et peut être transitoire et réversible (Winterbourn, 2015).

## **Radicaux libres**

Un radical est une molécule ou un fragment moléculaire qui contient un électron (ou plus) non apparié. Extrêmement instable, ce composé peut réagir avec les molécules les plus stables pour appairer son électron. Il se comporte comme un oxydant ou un réducteur. Cette première réaction conduit généralement à la formation en chaîne de nouveaux radicaux ; ceci explique que la production d'un premier radical libre puisse causer d'importantes lésions dans une cellule (Garait, 2006). Plusieurs éléments peuvent être à l'origine de radicaux libres. Les sources des radicaux libres sont nombreuses (Bouhadjra, 2011).

### ➤ **Espèces radicalaires**

Elles sont soit des radicaux libres ou des métaux de transition qui acceptent des électrons uniques. Leur nature radicalaire est perdue quand ils réagissent avec une molécule non radicalaire, mais ils génèrent un substrat radicalaire et une réaction en chaîne peut ainsi être déclenchée. Les radicaux libres peuvent être désactivés par réaction avec un autre radical ou avec un centre métallique de transition (par exemple, le cuivre dans le superoxyde dismutase SOD) (Winterbourn, 2015).

Physiologiquement ce groupe d'oxydants englobe le radical anion superoxyde ( $O_2^-$ ), le radical hydroxyle (OH), l'oxyde nitrique (NO), le dioxyde d'azote ( $NO_2$ ), et de nombreuses espèces qui peuvent être générés à partir des substrats tels que les acides gras polyinsaturés (des peroxydes lipidiques LOO), la tyrosine, le tryptophane, et les résidus de cystéine sous forme de peroxyde  $RO_2$ . Ces radicaux libres sont de plus en plus impliqués dans les maladies humaines (Rao et *al.*, 2011).

### ➤ **Espèces non radicalaires**

Ce sont des espèces non radicalaires qui acceptent deux électrons pour donner des produits non radicalaires. Ils peuvent être convertis en radicaux par réaction avec un métal de transition (Winterbourn, 2015). Ils comprennent le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), l'acide hypochloreux (HOCl), l'ozone ( $O_3$ ), le peroxyde nitrate (ONOO), l'acide nitreux ( $HNO_2$ ), le trioxyde de diazote ( $N_2O_3$ ), le peroxyde lipidique (LOOH) (**Tableau 01**).

Tableau 1 : Types d'entités oxydantes ou espèces réactives (RS) (Rao et *al.*, 2011).

Espèces radicalaires		Espèces non radicalaires	
Nom	Symbole	Nom	Symbole
Anion superoxyde	O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Acide hypochlorique	HOCl
Monoxyde d'azote	NO	Oxygène singulet	<sup>1</sup> O <sub>2</sub>
Radical alkoxyde	RO	Peroxyde d'hydrogène	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
Radical hydroxyle	OH	Peroxyde organique	ROOH
Radical peroxyde	ROO	Peroxydinitrite	ONOO <sup>-</sup>

### **Rôle bénéfique des ROS**

La signalisation par les ROS a été montrée comme étant partie intégrante de la réponse d'acclimatation à la salinité. Les ROS jouent, en fait un double rôle dans la réponse des plantes à des stress abiotiques, fonctionnant comme des sous-produits toxiques du stress métabolique, ainsi que comme d'importantes molécules de transduction de signal intégré dans des réseaux de réponse au stress en médiation avec le calcium, phosphorylation hormonale et protéique (Miller et *al.*, 2010).

A concentration faible et/ou modérée, les ROS ont été impliqués en tant que seconds messagers dans les cascades de signalisation intracellulaire qui assurent la médiation de plusieurs réactions de la plante dans ces cellules, y compris la fermeture des stomates (Mittler, 2002), la mort cellulaire programmée, gravitropisme et l'acquisition de la tolérance aux stress biotiques et abiotiques (Miller et *al.*, 2008).

La production et l'élimination des ROS doivent être strictement contrôlées afin d'éviter le stress oxydatif. Lorsque le niveau des ROS dépasse les mécanismes de défense, la haute teneur en ROS peut causer des dommages à des biomolécules telles que les lipides, les protéines et l'ADN. Ces réactions peuvent modifier les propriétés intrinsèques de la membrane comme la fluidité, le transport ionique, la perte de l'activité enzymatique, la réticulation des protéines, l'inhibition de la synthèse des protéines, des dommages de l'ADN, et ainsi, en définitive résulte la mort cellulaire (Sharma et *al.*, 2012).

---

**Chapitre III : Généralités sur les  
légumineuses et état de connaissance sur  
l'espèce (*Phaseolus vulgaris* .L)**

---

### **III. Généralités sur les légumineuses et état de connaissance sur l'espèce (*Phaseolus vulgaris* .L)**

#### **III.1. Généralités sur les légumineuses**

Les légumineuses désignent des plantes appartenant à la famille des Fabacée. Il s'agit de plantes à fleurs dont le fruit est une gousse. Elles ont différentes formes et couleurs, leurs dimensions varient depuis celles des minuscules jusqu'à celles des grands arbres (Aykroyd et Doughty, 1964). Ce sont des dicotylédones formant une association symbiotique avec les bactéries *Rhizobium*, et dans des bonnes conditions de nodulations, beaucoup de leurs besoins en azote peuvent être satisfaits par la fixation biologique de l'azote (Rugendabanga, 2017).

Les légumineuses constituent une immense famille caractérisée par le grand nombre de genres et d'espèces (environ 650 genres et 1800 espèces) et par la valeur nutritive des plantes qu'elles renferment. Certaines d'entre elles ont des graines riches en huile alimentaire comme le cas du soja et l'arachide; tandis que d'autres ont la particularité de contenir une quantité élevée en protéines (haricot, niébé, pois) (Ravohitrarivo, 1988).

##### **III.1.1. Caractéristiques botaniques des légumineuses**

Le fruit est très caractéristique. La gousse peut contenir une ou plusieurs graines. Leurs fleurs sont très variables, mais, chez toutes les espèces, les bases des 5 pétales et les étamines sont soudées pour former une coupe autour de la base de l'ovaire. Elles possèdent 10 étamines, soudées en une structure unique, soit réparties en 2 groupes. Dans ce cas, l'un comprend 9 étamines et l'autre une seule. L'ovaire consiste en un seul carpelle, situé au-dessus des autres pièces florales.

Les légumineuses et la bactérie du genre *Rhizobium* tirent à la fois un bénéfice de l'interaction en formant des renflements dans les racines appelées nodosités. Ces bactéries vont fixer l'azote atmosphérique et convertir ce dernier en ammoniacque assimilable pour les plantes. Ces dernières ont besoin d'azote comme nutriment pour la construction de certaines molécules biologiques (acides aminés) (Encyclopédie Encarta, 2009).

##### **III.1.2. Intérêt économique des légumineuses**

Les légumineuses sont des cultures vivrières importantes qui contribuent de manière importante à la nutrition et la santé grâce à leur contenu élevé en protéines et en acides aminés essentiels, mais aussi parce qu'elles constituent une source de glucides complexes et contiennent plusieurs vitamines et minéraux (FAO, 2013).

Toutes les légumineuses alimentaires ou fourragères peuvent être utilisées comme engrais verts et comme plantes de couverture. La famille des légumineuses comprend comme plantes cultivées : le haricot, le pois, la lentille, l'arachide, le soja...etc. Cette famille est cosmopolite.

### III.1.3. Caractéristiques nutritionnelles des graines des légumineuses

Des travaux réalisés au LABASAN (Laboratoire de Biochimie Appliquée aux Sciences de l'Alimentation et à la Nutrition), sur les graines de légumineuses montrent qu'elles ont une teneur en protéine élevée et de bonne valeur biologique et sont une excellente source de fibres, et de minéraux (en particulier le potassium, le phosphore, le calcium, le magnésium, le sodium,) (Ramaherisoa, 2004 ;Rahelimandimby, 2011).

La culture des légumineuses vivrières, source de protéines végétales, est reconnue comme l'une des meilleures et des moins coûteuses des solutions pour l'alimentation des populations des pays en voie de développement. (Gerard, 1996). Les valeurs nutritionnelles des graines sont représentées dans (le tableau 02).

**Tableau 2.** Valeurs nutritionnelles des graines (g/ 100g MS).

Légumineuses	Protéines	Lipides	Glucides	Cendres	Sources
<b>Haricot du cap</b>	21	1-2	60-65	4-5	(Andriamazaoro, 1994)
<b>Mucuna</b>	23	0,9	71.4	4,7	(Feno, 2011)
<b>Voandzou</b>	21,2	4,4	59,5	4,11	(FAO, 1982)
<b>Dolique rouge</b>	17,11	7,62	72,14	3,11	(Ramaherisoa, 2004)
<b>Niébé rouge</b>	21,44	0.75	63.25	3.91	(Andriamasinandraina, 2012)
	22,20	1,88	59,7	3,95	(Randrianasolo, 2013)

### III.2. État de connaissance sur l'espèce étudiée (*Phaseolus vulgaris* .L)

Le genre *Phaseolus* se classe dans la sous-tribu des *Phaseolinae*, tribu des *Phaseoleae*, famille des *Fabaceae* et ordre des *Fabales*. Au sein des *Phaseolinae* (à stylet barbu sous le stigmate), les deux genres *Phaseolus* et *Vigna* sont les plus importants et contiennent à eux seuls le plus grand nombre d'espèces cultivées comme légumineuses vivrières. La section *Phaseolus* du genre *Phaseolus* est la plus importante et regroupe notamment les cinq espèces cultivées : *P. acutifolius* A. Gray., *P. coccineus* L., *P. lunatus* L., *P. polyanthus* Greenm et *P. vulgaris* L. (Maréchal et al., 1978. ; Freytag et Debouck, 2002; Gepts et al., 2008).

### III.2.1. Origine de l'espèce

Le haricot est originaire d'Amérique latine et centrale, connu sous le nom scientifique de *Phaseolus vulgaris*, ou il a été domestiqué depuis plus de 8000 ans (Khadir, 2018). Des graines sèches furent introduites et semées au XVI<sup>e</sup> siècle en Europe puis, sa culture s'est rapidement diffusée dans les zones méditerranéennes et subtropicales (Peron, 2006).

La distribution géographique du haricot dans les zones très diversifiées, tant du point de vue climatique que des points de vue pédoclimatique. De nos jours, il a une importance considérable, en particulier en Amérique du sud et en Afrique. L'espèce est bien établie dans de nombreux pays Afrique où elle a été introduits par les portugais au XX<sup>e</sup>ème siècle, et c'est dans les région des Grandes Centrale que sa culture et la plus intensive (Wortman et *al.*, Nyabyenda,2005).

### III.2.2. Classification et systématique

Le haricot représente une composante principale dans certains systèmes agraires et sa culture se répand dans le monde entier. (*Phaseolus vulgaris*.L) appartient au :

- Règne : Végétal
- Embranchement : Spermaphytes
- Sous Embranchement : Angiospermes
- Classe : Dicotylédones
- Ordre : Fabales
- Famille : *Fabaceae*
- Sous Famille : Papilionaceae
- Genre : *Phaseolus*
- Espèce : *Phaseolus vulgaris*. Selon la classification de (Musakamba 1995).

### III.2.3. Description morphologique et botanique

Le haricot est une plante herbacée annuelle à croissance déterminée ou indéterminée. A la germination, la plante est généralement à racine pivotante mais qui forme après des racines secondaires longues de 10 à 15 cm se développant sur toute la racine principale (Ndèye, 2002). Les feuilles sont trifoliolées, ovales, vertes, de 10 à 12 cm de long environ, terminées chacune par une pointe (Bell, 1994.). Elles possèdent des nervures bien visibles. Les fleurs sont réunies en inflorescence en grappes axillaires et terminales. Elles sont zygomorphes composées de deux pétales en carène, deux pétales latéraux ailés et un pétale standard disposé extérieurement (Ndèye, 2002) .

Les Graines sont soit sphériques, soit cylindriques selon les variétés, et sont très diversement colorées en blanc, vert, rouge, violet, noir, brun ,ou même bicolores ou tachetées. Chaque graine possède un hile elliptique, petit, surmonté par le micropyle. Elles sont plus ou moins grosses selon les variétés. La faculté germinative dure de 3 à 5 ans (Monnet et *al.*, 1999).

### III.2.4. Importance de la culture

La culture du haricot présente deux intérêts : les gousses sont consommées à l'état frais ; et les graines à l'état sec, alors que les résidus de culture (tiges, gousses) sont destinés à l'alimentation des animaux.

Les gousses et les graines du haricot sont considérées comme une excellente source d'acides aminés, de vitamines, de fibre et une bonne source des éléments minéraux (kentour, 1999), entre autre riche en iode, et en oligo-éléments (Broughton et *al.* , 2003)

La culture du haricot commun a amené à la sélection des variétés capable de s'adapter aux sols peu fertiles pour satisfaire la demande croissante des populations (Alkama, 2010). Le haricot commun peut s'intégrer dans les systèmes de production biologique qui utilisent la bio-fertilisation. Dans ces systèmes, haricot commun, parmi d'autres légumineuses, est utilisé dans des relations culturales ou associé à d'autre cultures dans le but de limiter la pollution (Canado et *al.*, 2003). Il offre une rupture efficace dans le cycle des maladies et des ravageurs des céréales à pailles. Le haricot apporte des masses importantes de résidus fermentescibles pouvant activer la vie microbienne du sol (Abdenour, 1982).

Le haricot commun est l'espèce économiquement la plus importante et occupe plus de 85% des superficies de ces espèces dans le monde. Il constitue la principale légumineuse alimentaire de plus de 300 millions de personnes en Amérique Latin et en Afrique Centrale et de l'Est (Broughton et *al.*, 2003).

Cette plante occupe une importance agro-économique mondiale avec une production annuelle de 20,4 millions de tonnes en 2008 pour une superficie cultivée de 26,47 millions d'hectares (Djeugap et *al.*, 2014). Par ailleurs, la consommation de produits alimentaires peu transformés, prêts à consommer ou prêts à l'emploi, a augmenté dans le monde au cours de la dernière décennie en raison de leur aspect pratique, de leur fraîcheur et de leur qualité améliorée (Baskaran et *al.*, 2007).

---

# *PARTIE EXPERIMENTALE*

---

---

**Chapitre IV :Comportement physiologique  
adaptatif du (*Phaseolus vulgaris* L.) sous  
stress salin.**

---

Nous signalons que l'objectif de notre étude consiste à mettre en évidence les potentialités d'adaptation des deux cultivars de haricot commun (*Phaseolus vulgaris*.L), Djadida et Sidi Ferredj face au stress salin à travers son comportement physiologique et à travers la synthèse des composés énergétiques et fonctionnels notamment, les composés azotés, glucidiques, lipidiques, les composés terpénoïdes et phénoliques.

Pour cela

- **Le 1<sup>er</sup> chapitre** est consacré au comportement physiologique adaptatif des deux cultivars de (*Phaseolus vulgaris*. L).
- **Le 2<sup>ème</sup> chapitre** traite le potentiel des deux cultivars soumis à différentes concentrations du sel, en matière de synthèses des composés énergétiques d'adaptation.
- **Le 3<sup>ème</sup> chapitre** traite aussi le potentiel fonctionnel phytochimique d'adaptation des deux cultivars, sujet de notre étude.

Tous les résultats trouvés ont été mis en relief, à travers l'étude statistique établie Par le logiciel SPSS v23, dont les données obtenues ont été soumises à une analyse de la variance, le test Brown Forsyth, le test Welch ou le test Kruskal Wallis ; avec une espèce (*Phaseolus vulgaris* L), deux variétés, 5 traitements salins et un témoin, suivi significatif par le test de Tukey ou le test U Mann Whitney. Le seuil de signification est de 0,05.

## **IV.1. Matériel et méthodes**

### **IV.1.1. Matériel Végétal**

Le choix est porté sur le haricot commun (*Phaseolus vulgaris* L.). Les graines de deux cultivars, sur la quelles est portée notre étude, sont fournis par l'institut technique des cultures maraichères et industrielles (ITCMI) de Sidi Bel Abbes, il s'agit du cultivar Djadida qui a été sujet de notre travail de magister (comportement hydrique et minérale) et le cultivar Sidi Ferredj, considérée comme une variété locale créée par sélection individuelle, depuis son introduction en 1972 et son lancement en Algérie en 1978. Cependant, le manque des travaux de recherche sur le comportement et la tolérance

de cette variété face au stress salin est la raison principale qui nous a motivées à choisir cette variété (figure 3).



Figure 3. Graines Sidi Ferredj et graines Djadida (Laredj-Zazou, 2015).

## IV.1.2. Méthodologie adaptée

### IV.1.2.1. Protocole expérimental

#### IV.1.2.1.a) Stade de germination

Le comportement physiologique des deux cultivars sous stress salin est déterminé d'abord à partir du stade de germination en suivant quelques paramètres, donc les graines ont été mises à germer dans des boîtes de pétri à différentes concentrations de solutions salines.

#### ➤ Test de germination des graines soumises au stress salin

Avant la mise en germinations des graines des deux cultivars de haricot soumise au stress salin, un prétraitement est nécessaire pour lever une éventuelle dormance embryonnaire ou une inhibition tégumentaire ; pour cela les graines des deux cultivars de haricot sont trempées dans l'hypochlorite de sodium (4° chlorhydrique) pendant 5 minutes pour une désinfection, puis sont rincées avec de l'eau distillée stérile à deux reprises. Puis trempées dans de l'eau tiède pendant au moins 12 heures. Les graines sont séchées sur papier buvard stérile puis déposées dans des boîtes de Pétri contenant deux couches de papier-filtre wattman imbibé avec de l'eau distillée stérile à raison de 10 graines par boîte de pétri.

#### ➤ Dispositif expérimental au stade de germination

Les graines sont réparties en lots de 10 graines par boîte avec 3 répétitions pour tous les tests effectués et irrigués par de l'eau distillée et des solutions salines à partir du

## Partie expérimentale

### Chapitre IV: Comportement physiologique adaptatif du (*Phaseolus vulgaris* L.) sous stress salin.

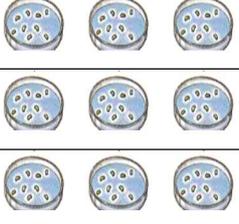
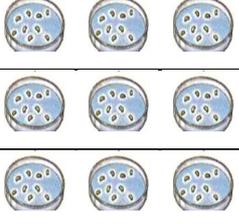
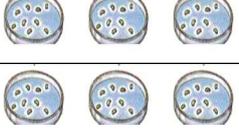
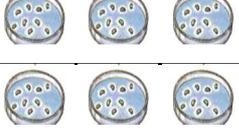
NaCl et du CaCl<sub>2</sub> à différentes concentrations, indiquées dans notre étude par des différents traitements :

- |  |  |
|--|--|
| <b>T0</b> : eau distillée                                    | <b>T1</b> :50 meq.l <sup>-1</sup> de NaCl                    |
| <b>T2</b> :100 meq.l <sup>-1</sup> de NaCl                   | <b>T3</b> :200 meq.l <sup>-1</sup> de NaCl                   |
| <b>T4</b> :100 meq.l <sup>-1</sup> de NaCl+CaCl <sub>2</sub> | <b>T5</b> :150 meq.l <sup>-1</sup> de NaCl+CaCl <sub>2</sub> |

La fréquence de l'arrosage est de 20 ml de solution, en imbibant à chaque fois que quand c'est nécessaire (12h ou 48h) (voir tableau 03).

Les boîtes de pétri ont été incubées à l'obscurité dans l'étuve à une température de 22°C± 3°C .On considère qu'une semence a germé lorsque la radicule perce le tégument (Come, 1970; Bajji, et *al.*, 1998) , le suivi de test se fait quotidiennement pendant 8 jours et les graines germées sont dénombrées.

**Tableau 3.**Dispositif expérimental des deux variétés de haricots soumises au stress salin au stade germination (Laredj Zazou ,2015).

<b>Traitement</b>		<b>Cultivar Djadida</b>	<b>Cultivar Sidi Ferredj</b>
<b>T0</b>	<b>Témoin</b>		
<b>T1</b>	50 meq.l <sup>-1</sup>		
<b>T2</b>	100 meq.l <sup>-1</sup>		
<b>T3</b>	200 meq.l <sup>-1</sup>		
<b>T4</b>	100 meq.l <sup>-1</sup>		
<b>T5</b>	150 meq.l <sup>-1</sup>		
<b>Teste de germination pour les deux cultivars Djadida et Sidi Ferredj</b>			

#### IV.1.2.1.b) Stade végétatif

##### ➤ Préparation du substrat de culture et la mise en culture des graines

Nous avons choisi de réaliser notre essai sur un substrat préparé à base de sable et de terreau. Du sable prélevé au bord de la mer tamisé et traité à l'esprit-de-sel afin d'éliminer les impuretés organiques, puis lavé plusieurs fois à l'eau déminéralisée. Pour tester la pureté du sable il a été procédé à l'utilisation du nitrate d'argent ; ensuite ce sable est mélangé avec du terreau commercial (2v/1v).

Les graines sont désinfectées à l'hypochlorite de sodium pendant 4 à 5 minutes, puis rincées abondamment à l'eau distillée. Les graines subissent un pré-trempage pendant 1h dans l'eau distillée, puis semées dans des alvéoles remplies de terreau. Un arrosage à l'eau distillée est effectué chaque jour.

Après la germination et l'apparition de la racicule les plantules des deux cultivars de haricot sont repiquées et mises dans des pots à raison de 3 à 4 graines par pot à une profondeur convenable (0,5 à 1cm) avec un léger tassement. Elles sont arrosées avec de l'eau distillée, puis déposées au niveau de la serre de la faculté des sciences de la nature et de la vie (UDL-SBA).



Figure 4. Germination en alvéoles. (Laredj-Zazou, 2015).

Après l'apparition des premières feuilles, une seule plante par pot est conservée, et irriguées à 60% de la capacité de rétention du substrat (environ 125 ml) de solution nutritive par pots déterminés après le calcul de leur capacité de rétention. L'arrosage est fait trois fois par semaine à l'eau distillée substituée une fois sur trois par une solution nutritive équilibrée de type Hoagland (Hoagland, 1938) (Annexe A) diluée au 1/1000 ème couramment utilisée au laboratoire (Laredj-Zazou, 2013).

➤ **Dispositif expérimental et préparation des solutions salines appliquées**

Nous avons réalisé cette expérimentation en stade végétatif, à l'aide de 18 pots avec 6 traitements, à raison de 3 pots par traitement pour chaque variété.

42 jours après germination et mis en culture des graines, l'application de stress est effectuée, une fois durant la dernière semaine avant le prélèvement des échantillons pour les analyses.

Deux types de traitements salins sont réalisés; l'un aux chlorures de sodium NaCl à 50 meq.l<sup>-1</sup>, 100 meq.l<sup>-1</sup> et 200 meq.l<sup>-1</sup>, le deuxième aux chlorures de calcium NaCl + CaCl<sub>2</sub> à 100 meq.l<sup>-1</sup> et 150 meq.l<sup>-1</sup>; les plantes témoins sont alimentées à l'eau de robinet. L'irrigation est réalisée une fois par semaine (voir tableau 4).

**Tableau 4** : Dispositif expérimentale des deux variétés de haricots soumis au stress salin au stade végétatif (Laredj-Zazou, 2015).

Traitement			Cultivar Djadida	Cultivar Sidi Ferredj
T0	Témoin			
T1	50 meq.l <sup>-1</sup>	NaCl		
T2	100 meq.l <sup>-1</sup>			
T3	200 meq.l <sup>-1</sup>			
T4	100 meq.l <sup>-1</sup>	NaCl+CaCl <sub>2</sub>		
T4	150 meq.l <sup>-1</sup>			



Figure 5. Dispositif expérimental adopté à la serre. (Laredj-Zazou, 2015).

L'usage du  $\text{CaCl}_2$  dans cette composition s'impose, en raison du rôle physiologique du calcium chez les végétaux, dans la régulation de la croissance, du développement (Kreimer et *al.*, 1985) et du métabolisme des plantes (Kreimer et *al.*, 1988). En outre, le NaCl associé au  $\text{CaCl}_2$  produit un milieu salin (Lesaos 1978), alors que la solution, avec seulement du NaCl, est plutôt sodique (Weimberg, 1987; Hoffmann et *al.*, 1989).

➤ **Prélèvement des échantillons et préparation du matériel végétale**

Après avoir déterré les plantes, la partie aérienne et la partie souterraine sont soigneusement séparées, la partie souterraine rincée à l'eau de robinet puis séchée rapidement à l'aide du papier buvard afin d'éviter toute contamination avec le substrat de culture.

**IV.1.2.2. Différents paramètres à mesurer**

**IV.1.2.2.a) Paramètres de germinations**

➤ **Précocité de germination ou temps de latence (TL)**

En général, chaque espèce dispose d'une précocité de germination spécifique à sa nature. Car même placée dans les mêmes conditions expérimentales, le début d'apparition de la radicule à travers la membrane n'aura pas lieu en même temps chez toutes les graines (Renard & Quillec, 1975). Ce paramètre est déterminé lorsque nous observons les premières graines germées. Dans ce cas, la précocité de la germination est exprimée par le nombre de jours nécessaires pour le déclenchement de la germination et qui correspondent à l'intervalle de temps entre le semis des graines et les premières graines germées (Belkhodja, 1996).

➤ **Faculté germinative (Taux de germination)**

C'est le nombre maximal des graines germées sur le nombre total de grains mis à germer, elle s'exprime en pourcentage (%) selon la formule suivante :

$$\text{TG \%} = (\text{NG}/\text{NT})$$

NG: nombre de graines germées.

NT: nombre de graines mises à germer. (Nombre total)

➤ **Temps moyen de germination (TMG) et temps moyen (T50)**

D'après (Côme 1970) la vitesse de germination peut être exprimée de plusieurs façons, Le temps moyen nécessaire à la germination qui représente l'inverse du «coefficient de vélocité» (Kotowski, 1926.; Ben Khetou, 2010). Et par le temps nécessaire à l'obtention de 50 % de graines germées (**T<sub>50</sub>**) (Gholami, et *al.* 2015).

Coefficient de vélocité

$$Cv = \frac{N1 + N2 \dots \dots \dots + Nn}{N1T1 + N2T2 \dots \dots \dots NnTn} \times 100$$

N1 : nombre de graines germées au temps T1.

N2 : nombre de graines germées au temps T2.

Nn : nombre de graines germées au temps Tn.

Temps moyen de germination (TMG)

$$\text{TMG} = (1/ Cv) \times 100.$$

➤ **La cinétique de germination**

Pour mieux appréhender la signification physiologique du comportement germinatif des variétés de haricot étudiées, le nombre de graines germées a été compté quotidiennement jusqu'au 7ème jour de l'expérience (Hajlaoui, 2007) dans les conditions bien précises, il dépend des conditions de germination et des traitements subis par les semences (Belkhodja et Bidai 2004). Elle représente le plus souvent l'évolution des pourcentages de germination cumulés en fonction du temps c'est-à-dire la variation des taux de germination en fonction du temps exprimé en jour. Les courbes de germination

donnent une idée complète de l'évolution de la germination et permettent de prévoir la vigueur des plantules durant le processus de germination.

#### IV.1.2.2.b) Mesure des paramètres morphologiques

La croissance en longueur de la partie aérienne et racinaire est évaluée après avoir récolté les plantules. Nous avons, alors, séparé la partie aérienne de la partie souterraine, on fait le comptage de nombre des feuilles. Les racines, après être séparées de la partie aérienne, sont soigneusement lavées puis déposées dans un récipient en verre rempli d'eau qui nous facilite le comptage manuel des nodules. Ensuite les échantillons sont pesés à l'état frais et analysés.

Les nodules sont ensuite soigneusement récupérées dans des boîtes de pétries, puis pesés à l'aide d'une balance.

La longueur de la tige et de la racine principale sont aussi mesurées à l'aide d'une règle graduée en millimètres (mm).

En fin, chaque organe est enveloppé en papier d'aluminium numéroté et séché à l'étuve 40 C° pendant 48h. Les échantillons séchés sont broyés à l'aide d'un mortier en porcelaine jusqu'à l'obtention d'une fine poudre qui sera entreposée ensuite dans des piluliers hermétiquement fermés par des bouchons plasmas et mise dans un congélateur pour qu'ils soient ultérieurement utilisés (figure 6).



Figure 6. Poudre végétale entreposée dans des piluliers. (Laredj-Zazou, 2016).

#### IV.1.2.2.c) Détermination de la teneur en eau

La teneur en eau est la perte de masse subite par produit exprimé en pourcentage dans les conditions décrites par la norme (AFNOR ,1982).

La teneur en eau des organes est déterminée par la formule :

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

TE : Teneur en eau

PF : Poids frais

PS : poids sec

#### IV.1.2.2.d) Détermination de la teneur en cendres

Le dosage des cendres est basé sur la destruction de toute matière organique sous l'effet de la température élevée (500°C) pendant 3 heures jusqu'à ce que les résidus deviennent blancs (Linden, 1981).

Il consiste à chauffer dans des creusets en porcelaine 0,1 à 2 g d'échantillon, jusqu'au dégagement d'une fumée noire de bec benzène. Les creusets sont ensuite introduits dans un four à moufle réglé à 500°C pendant 3 h jusqu'à une transformation du contenu en substance blanc grisâtre qui blanchit, en refroidissant dans un dessiccateur pour avoir un poids constant, puis on le pèse pour avoir un nouveau poids qui détermine le taux des cendres après la disparition de la matière organique. (AFNOR 1982).

Le taux des cendres est calculé comme suite :

$$TC \% = \frac{P1 - P0}{PE} \times 100$$

Avec : TC% : Taux en cendre.

P0: Masse de creuset vide en g.

P1: Masse de creuset + cendre en g (après calcination).

PE: Masse de l'échantillon sans creuset en g (prises d'essai).

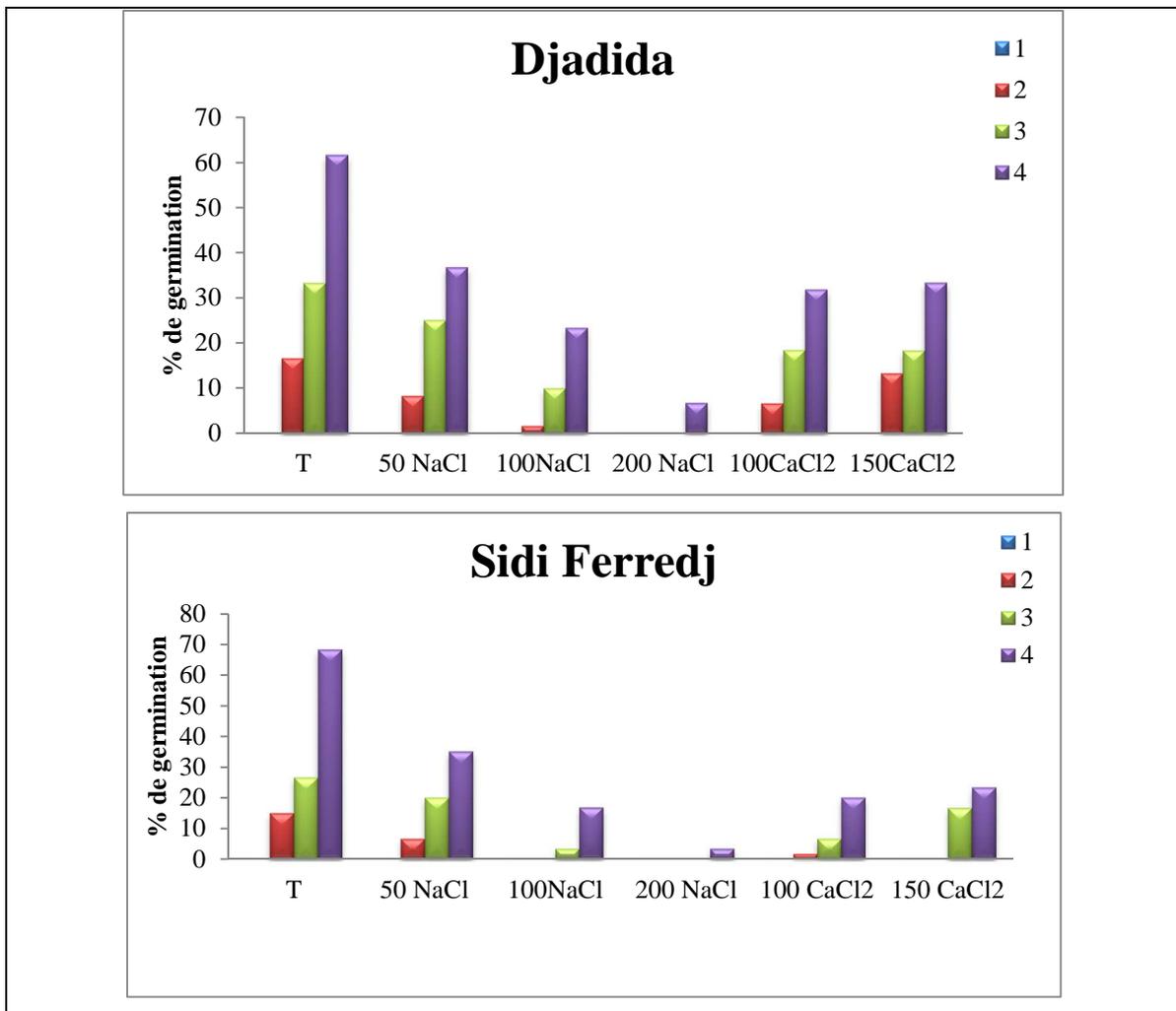
## IV.2. Résultats et discussion

### IV.2.1. Effet de la salinité sur les paramètres de germination des deux cultivars

#### IV.2.1.1. Précocité de germination ou temps de latence (TL)

La figure 07 présente les variations des taux de germinations correspondant à l'intervalle de temps entre le semis des graines et les premières graines germées. Une phase de latence qui a eu lieu avec l'imbibition des semences, elle est nécessaire à l'apparition des premières graines germées au cours de laquelle, le taux de germination reste faible pour tous les traitements. La durée de cette phase est variable selon la concentration du sel, le type du sel et la variété étudiée. Elle est courte, de l'ordre de 24 heures pour la variété Djadida et pour toutes les concentrations étudiées à l'exception du traitement sévère de 200 meq.l<sup>-1</sup> de NaCl (T3) où la germination des graines est précédée par un long temps de latence peut aller jusqu'à 72 heures. Chez Sidi Ferredj cette phase devient plus au moins

longue pour la majorité des traitements et peut aller jusqu'à 3 jours, sauf au traitement T0 et T1 où la germination des graines s'est déclenchée après 24 heures pour atteindre un taux de germination respectivement de 15% et 6.67 %.



Chiffres (1.2.3.4) : présente le nombre de jours

Figure 7. Précocité de la germination des graines des deux cultivars de haricot exprimée par le pourcentage de germination des premières graines germées à différentes concentrations salines.

#### IV.2.1.2. Faculté germinative (Taux de germination)

Les résultats de la figure 08 montrent que la germination des graines en présence de différentes concentrations de solution salines est comparable à celle du témoin chez les deux cultivars de *Phaseolus vulgaris*.

Le taux de germination est retardé sous l'effet stressant de la salinité, il dépasse 75 % chez les deux variétés aux concentrations de 0 et 50 meq.l<sup>-1</sup> en NaCl.

Toutefois, une diminution est plus importante chez Sidi Ferredj que chez Djadida avec une réduction de pourcentage de germination respectivement de 48 % et 40 % à une concentration de 100 meq.l<sup>-1</sup> de NaCl. Tandis que la concentration de 200 meq.l<sup>-1</sup> de NaCl fait diminuer considérablement la capacité germinative des variétés étudiées avec un taux de germination de 28, 33 % chez Djadida et 20% chez Sidi Ferredj.

Le CaCl<sub>2</sub> a amélioré la capacité germinative des graines des deux cultivars avec une augmentation plus marquée du taux de germination chez Djadida qui enregistre des taux proches des taux témoins avec une valeur de 71.67 % au T4 et 70 % au T5 par contre le TG chez le cultivar Sidi Ferredj affiche 55 % au T4 et 57 % au T5.

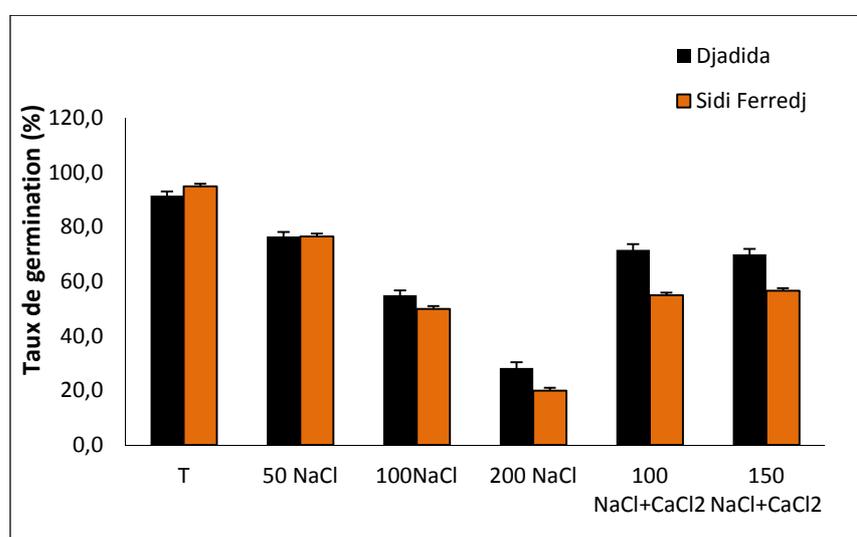


Figure 8. Taux de germination des graines des deux variétés de Haricot en fonction des différentes concentrations salines.

#### IV.2.1.3. Cinétique de germination

La figure 09 montre que la capacité germinative des graines stressées est réduite comparativement au témoin et ceci pour les deux cultivars étudiés et les deux types de sel utilisés. Les résultats montrent que toutes les courbes relatives aux taux de germination des graines soumises au traitement salin soit le NaCl, soit le CaCl<sub>2</sub> sont au-dessous de la courbe relative au traitement témoin.

Une phase de latence, nécessaire à l'apparition des premières graines germées, au cours de laquelle le taux de germination reste faible et les graines témoins des deux cultivars de haricot et celle des lots de traitement 50 meq.l<sup>-1</sup> de NaCl (T1) sont germés dès le premier jour, soit après 24 heures.

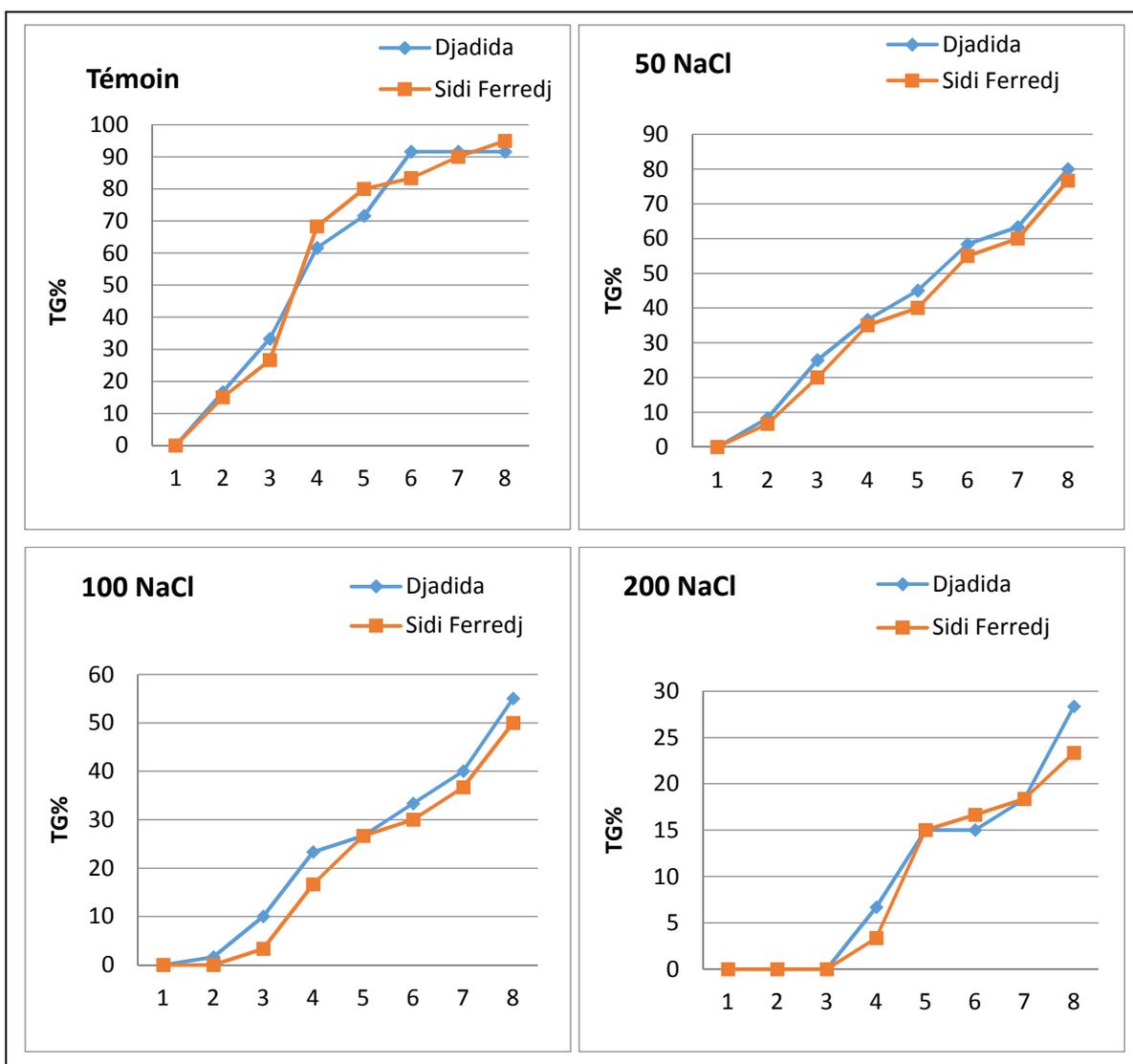
## Partie expérimentale

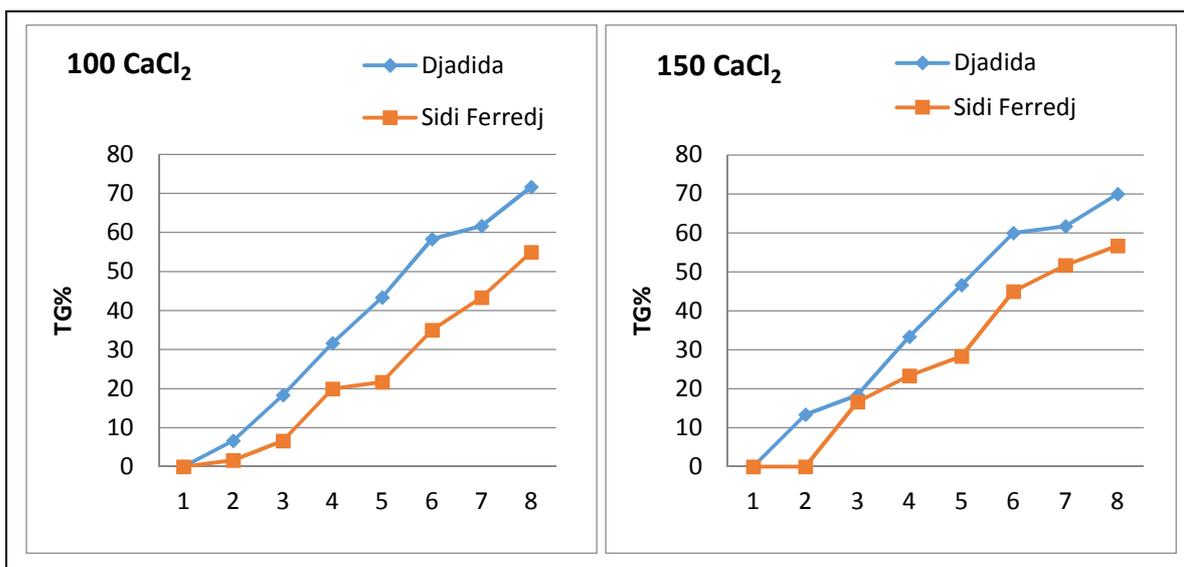
### Chapitre IV: Comportement physiologique adaptatif du (*Phaseolus vulgaris* L.) sous stress salin.

Une phase linéaire exponentielle correspondant à une augmentation rapide du taux de germination qui évolue proportionnellement au temps pour les témoins chez les deux cultivars tandis que les graines soumises aux traitements T1, T2, T3, T4 et T5 la cinétique de germination progresse lentement pour arriver respectivement à un taux final de 80 %, 55 %, 28 %, 72 %, 70 % pour Djadida et de 77%,50%,23%,55%,57% pour le cultivar Sidi Ferredj.

On observe que la cinétique de germination chez Djadida au traitement témoin présente un palier à partir du 6<sup>ème</sup> jour, se traduisant par le pourcentage final de germination et la capacité germinative avec une valeur de 92 %.

Sous traitement  $\text{CaCl}_2$ , l'évolution de la germination augmente chez les deux cultivars, mais cette augmentation est plus marquée chez Djadida, en effet, l'évolution de la germination est proche du témoin, mais son acquisition a pris beaucoup plus de temps que celle du contrôle (figure 9 ci-contre).





(1.2.3.4...8 : présente nombres de jours.).

Figure 9. Évolution de la cinétique de germination chez les deux cultivars de Haricot en fonction du temps à différentes concentrations salines.

#### IV.2.1.4. Temps moyen de germination (TMG) et Temps moyen (T50)

La figure 10 présente l'effet des concentrations croissantes de NaCl et de CaCl<sub>2</sub> sur la vitesse moyenne de germination (Temps moyen de germination TMG et le coefficient de la vitesse Cv), les résultats montrent que pour les deux cultivars étudiés, l'augmentation de la concentration en NaCl engendre une augmentation du temps moyen de germination TMG ; en effet les témoins et les graines soumises à des concentrations modérées ont un temps moyen de germination peu important, ce temps est de 3 jours dans le lot témoin, mais il augmente en fonction de la concentration du sel appliquée avec un TMG de 4,02 jours et 4,17 jours au traitement T1 et un TMG de 4,55 jours et 4,73 jours au traitement T2 pour Djadida et Sidi Ferredj respectivement.

Par contre, pour les concentrations les plus élevées de NaCl (200 meq .l<sup>-1</sup>) le temps moyen de germination augmente de façon considérable chez les deux cultivars (5,06 jours chez Djadida et 4,71 jours chez Sidi Ferredj).

Le traitement combiné au CaCl<sub>2</sub> (T4, T5) engendre une chute du TMG varient entre (3,93 jours et 3,67 jours) chez Djadida et (4,67 jours et 4,09 jours) chez Sidi Ferredj qui semble plus proche au TMG du témoin pour les deux cultivars.

Le coefficient de vitesse (Cv) diminue en fonction des concentrations salines (Fig. 10). Le Cv le plus élevé est celui des graines témoins (33,33 % et 31,49%) chez

Djadida et Sidi Ferredj respectivement. L'application du traitement salin aux concentrations de 50 meq.l<sup>-1</sup>, 100 meq.l<sup>-1</sup> et 200 meq.l<sup>-1</sup> est accompagnée d'un ralentissement de la vitesse de germination pour arriver à une valeur de Cv de (19,77 % et 21,21 %) chez Djadida et Sidi Ferredj respectivement.

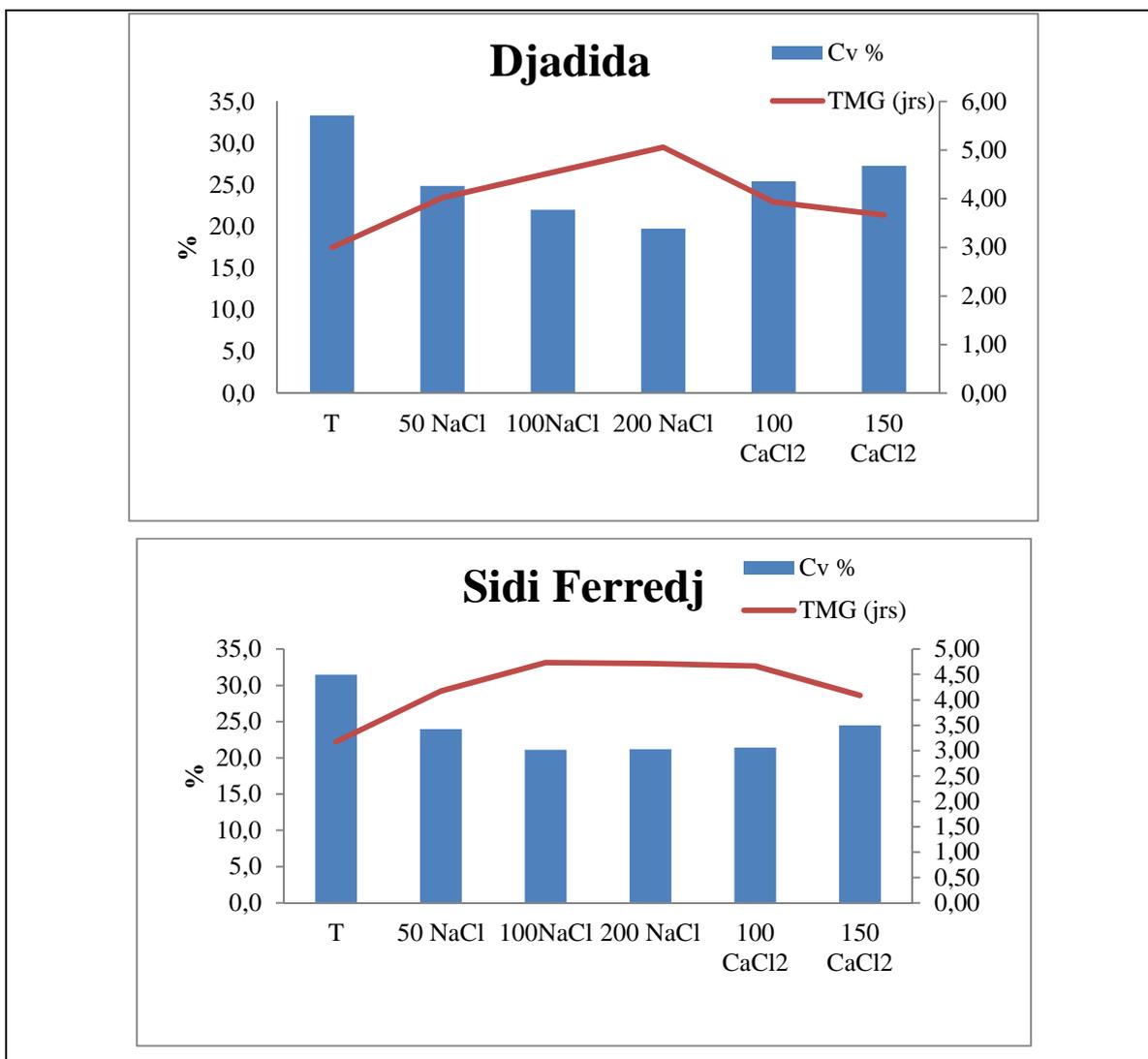


Figure 10. Évolution du temps moyen de germination et coefficient de vélocité chez les deux cultivars d'Haricot en fonction du temps à différentes concentrations salines.

Les données de la figure 11, illustrant l'effet des concentrations croissantes de NaCl et CaCl<sub>2</sub> sur la vitesse de la germination exprimée par le temps moyen pour avoir 50% des graines germées T50. L'augmentation de la concentration en NaCl provoque une augmentation du temps moyen de germination T50 chez les deux cultivars qui demeure

toutefois le plus bas dans les lots arrosés seulement à l'eau distillée, ce qui explique que sa vitesse de germination est plus rapide que celle des autres traitements.

Un comportement différent est observé lorsque les graines du cultivar Sidi Ferredj reçoivent un traitement (T4, T5) du  $\text{CaCl}_2$ , les graines réagissent par la réduction de leur vitesse de germination. Tandis que les graines du cultivar Djadida germent à une vitesse sensiblement identique.

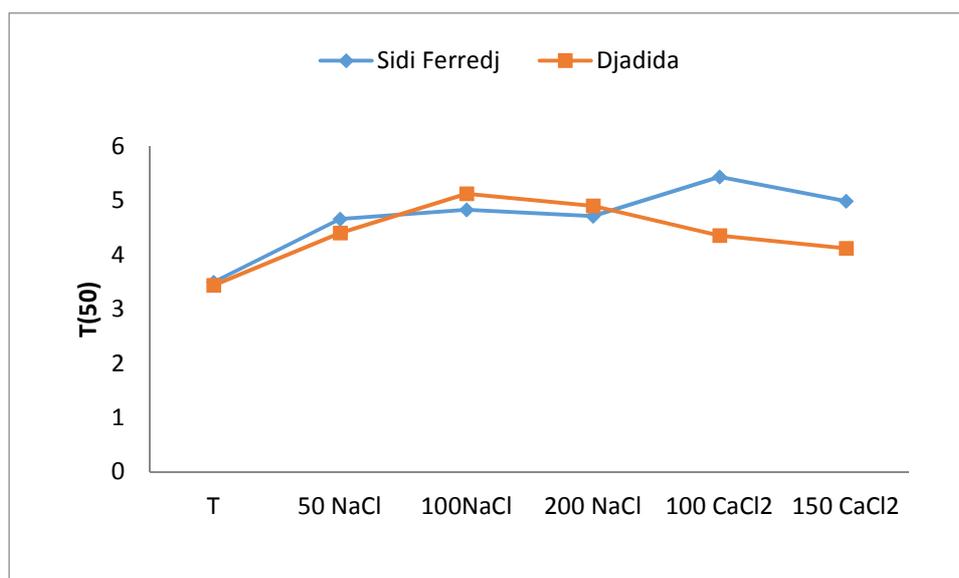


Figure 11. Évolution du temps moyen (T50) de germination des deux cultivars de Haricot à différentes concentrations salines.

Cette étude nous a permis d'apporter des informations supplémentaires pour comprendre la salinité et son effet sur la plante à travers les paramètres de germination mesurés. Elle vise à élucider le comportement physiologique des graines du haricot (*Phaseolus vulgaris* L.) au cours de la germination en réponse au stress salin.

Les taux les plus élevés de germination sont enregistrés pour le traitement témoin sans sel dont plusieurs travaux ont rapporté que les graines de la plupart des espèces atteignent leur maximum de germination en eau distillée (Khan, et al., 2003; Wei, et al., 2011). En termes de comportement physiologique des graines de *Phaseolus vulgaris* L. vis-à-vis du stress salin appliqué, il s'est avéré que globalement la germination a été considérablement affectée. L'augmentation de la salinité a des effets négatifs sur la germination, représentée principalement par le retard de germination et une faible capacité germinative. Le taux de germination, en conditions de stress salin, donne toujours une

idée, plus ou moins précise, du comportement des légumineuses étudiées (Benaceur, et *al.*, 2001). Ces résultats viennent confirmer les effets relevés à travers des études antérieures, exercés par la salinité sur le processus de germination chez plusieurs espèces de légumineuses.

Kaymakanova, (2009), Cokkizgin, (2012) ont démontré que l'application de différents niveaux de NaCl induit une réduction du taux de germination chez différentes cultivars de haricot. Des résultats comparables ont été observés chez le petit pois (Okçu, et *al.*, 2005) le pois chiche (Hajlaou, et *al.*, 2007), lentille (El-Monem, et *al.*, 2008) et d'autres légumineuses fourragères (Nichols, et *al.*, 2009; Wu, et *al.*, 2011). Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par d'autres chercheurs qui ont indiqué que les graines des glycophytes et des halophytes répondent de la même manière à la salinité, en réduisant le nombre total des graines germées et accusant un retard dans l'initiation du processus de la germination (Khan, et *al.*, 2003). La salinité peut se manifester par deux effets : osmotique qui est réversible et/ou toxique qui est irréversible. La présence de doses élevées en NaCl entraîne la diminution du potentiel osmotique du milieu, cela peut retarder ou empêcher l'absorption de l'eau nécessaire pour la germination (Mirmazloun, et *al.*, 2010). Aussi une forte concentration en chlorure de sodium peut entraîner l'accumulation des ions de Na<sup>+</sup> et Cl<sup>-</sup> dans l'embryon, et contribue ainsi à l'altération des processus métaboliques de la germination qui modifie l'activité des enzymes du métabolisme des acides nucléiques et des protéines, interrompt l'équilibre hormonal et réduit l'utilisation de réserve de semences (de Azevedo Neto, et *al.*, 2006) ; voir même à la mort de l'embryon par l'excès d'ions (Hajlaou, et *al.*, 2007). Les travaux de Kshetrimayum, et *al.*, (2017) ont bien montré qu'à partir de 2 g/l de NaCl, des processus métaboliques des graines en germination sont affectés comme la diminution de l'expression des voies enzymatiques de synthèse des aquaporines, ce qui influe sur la pénétration de l'eau dans la graine, affectant ainsi sa capacité d'imbibition.

Le retard de germination, engendré par les concentrations croissantes du milieu en NaCl pourrait s'expliquer par l'allongement du temps nécessaire à l'imbibition des graines (Ben Miled, et *al.*, 1986; Jaouadi, et *al.*, 2010). L'allure des courbes de cinétique de germination obtenues corrobore celles obtenues par plusieurs auteurs chez diverses espèces végétales (Jaouadi, et *al.*, 2010; Gondim, et *al.*, 2010; Tlig, et *al.*, 2012; Aisset, et *al.*, 2016). Ceci corrobore aussi les résultats de l'étude de Amouri, et *al.*, (2012) portée sur six écotypes d'espèces annuelles de *Medicago* et qui ont noté un ralentissement

du processus de germination en fonction du stress salin et de l'écotype de chaque espèce. Ce retard s'expliquerait par le temps nécessaire aux graines pour déclencher les mécanismes qui leur permettent d'ajuster leur pression osmotique (Ben Miled, et *al.*, 1986), aussi, pourrait être due à l'altération des enzymes et des hormones qui se trouvent dans la graine (Botia, et *al.*, 1998). Il pourrait s'agir également d'une difficulté d'hydratation des graines suite à un potentiel osmotique élevé entraînant une certaine inhibition des mécanismes aboutissant à la sortie de la radicule hors des téguments et par conséquent un retard de germination des graines (Gill, et *al.*, 2003). En outre, le NaCl provoque un durcissement de la paroi cellulaire (Neumann, 1993; Neumann, et *al.*, 1994; Nabil, et *al.*, 1995) et une diminution de la conductance de l'eau de la membrane plasmique (Cramer, 1992).

Les travaux de Bayuelo-Jimenez, et *al.*, (2002) sur *Phaseolus* et ceux Okçu, et *al.*, (2005) sur des cultivars de petits pois, ont montré que le temps moyen de germination des graines a augmenté avec l'ajout de NaCl et cette augmentation a été d'autant plus importante que la concentration en sel est élevée. Cependant, Cokkizgin, (2012) a trouvé que tous les paramètres de germination examinés chez le haricot diminuent significativement avec l'augmentation de la concentration en NaCl, sauf le temps moyen de germination qui reste comparable à celui du témoin. La variation des capacités germinatives associées au temps moyen et au taux moyen de germination des graines permet de bien discriminer les espèces quant à leur tolérance et/ou sensibilité au sel au cours de la germination (Ghrib, et *al.*, 2011).

Nos résultats montrent que pendant le stade de germination, l'addition de CaCl<sub>2</sub> à la solution saline a augmenté le pourcentage de germination par rapport au solution qui contient du NaCl seul, donc les effets négatifs d'un stress salin au NaCl élevé sur la germination des graines de *Phaseolus vulgaris* ont été atténués par l'ajout de Ca<sup>2+</sup> au milieu de croissance, conformément aux études de Cachorro, et *al.*, (1994); Gul, et *al.*, (2006); Li, et *al.*, (2016) et Wang, et *al.*, (2016). L'augmentation de la concentration en chlorure de calcium dans le milieu diminue la vitesse de germination par rapport au témoin, mais ne semble pas affecter la capacité germinative des semences (Nedjimi, et *al.* 2010). Donc un supplément de Ca<sup>2+</sup> peut protéger les graines de haricot contre les effets du stress dû au sel pendant la germination des graines.

## IV.2.2. Effet de salinité sur les paramètres de croissances des deux cultivars

### IV.2.2.1. Mesure des paramètres biométriques

#### IV.2.2.1.a) Nombres des feuilles

Nous constatons que l'effet de différentes concentrations des solutions salines sur les deux cultivars se traduit par une régression et une diminution du nombre de feuilles chez les deux cultivars étudiés par rapport aux nombres des feuilles des plantes du test témoin (fig.12), le nombre varie entre 12 feuilles à 5 feuilles chez Djadida et 13feuilles à 4 feuilles chez Sidi Ferredj, mais cette régression est moins importante chez Djadida ,en effet, toutes les concentrations du groupe NaCl (T1, T2, T3), nous constatons que le nombre de feuilles semble non significatifs et sont presque identiques (8,7,5) feuilles respectivement.

Néanmoins, un ajout des concentrations à base du  $\text{CaCl}_2$  permet d'augmenter légèrement le nombre de feuilles chez Sidi Ferredj, mais reste toujours inférieur par rapport au témoin que chez Djadida, qui présente un nombre de feuilles proche au nombre de feuilles des plantes qui n'ont subi aucun traitement salin (figure 12).

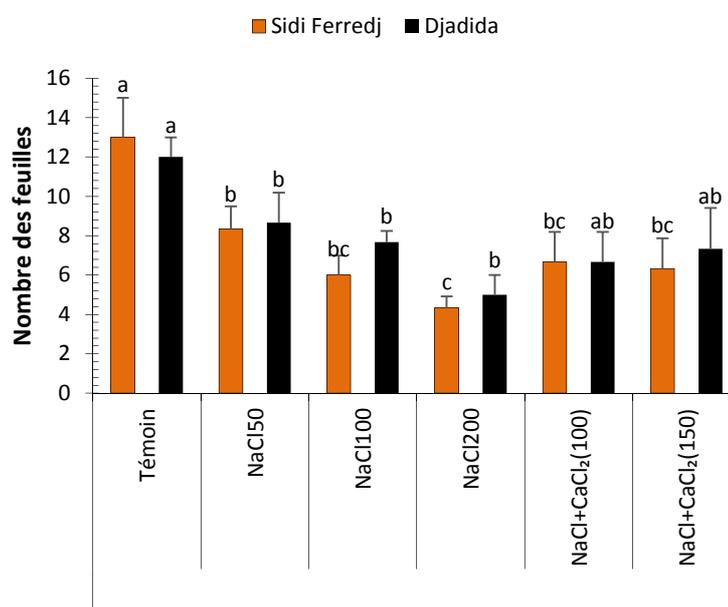


Figure 12. Variation de nombre de feuilles chez les deux cultivars de Haricot en fonction des concentrations de solutions salines.

NB : Les barres avec des lettres similaires ne sont pas significativement différentes ( $p > 0,05$ ).

#### IV.2.2.1.b) Longueur de la partie aérienne et du système racinaire

La présentation statistique (Fig. 13) illustre les variations de la longueur de la partie aérienne (L<sub>Pa</sub>) et même de la partie racinaire (L<sub>Pr</sub>) des deux cultivars de Haricot soumise aux différentes concentrations salines. Les résultats obtenus montrent que les différentes concentrations testées ont un effet sur la croissance en longueur des parties aériennes et racinaires chez les deux cultivars étudiés, Djadida et Sidi Ferredj, et entraînent des diminutions significatives par rapport au témoin, cette diminution de L<sub>Pa</sub> et L<sub>Pr</sub> est plus prononcée surtout à la plus forte concentration T3 (200 meq.l<sup>-1</sup>) de NaCl (15,16 cm ,12,83 cm ) et (9,4cm, 6,06cm ) respectivement Chez Djadida et Sidi Ferredj .

Le traitement amendé par 150 meq.l<sup>-1</sup> de CaCl<sub>2</sub> (T5) ne présente aucun effet significatif de L<sub>Pa</sub> et L<sub>Pr</sub> par rapport au témoin chez le cultivar Djadida avec (20,33cm et 14,46 cm) contre (24,66 cm et 15,86cm).

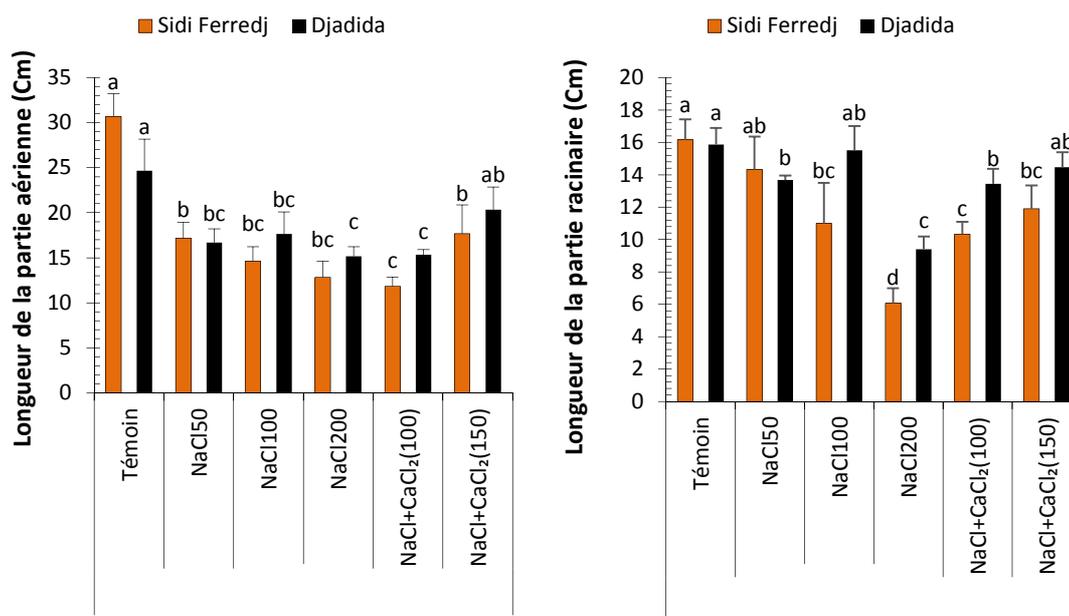


Figure 13. Variation de la longueur de la partie aérienne et racinaire des deux cultivars de Haricot en fonction de différentes concentrations des solutions salines.

N.B : Les Barres avec des lettres similaires ne sont pas significativement différentes ( $p > 0,05$ ).

Les feuilles sont les parties les plus sensibles de la plante au stress salin et chez l'ensemble des deux cultivars ; on assiste à une réduction significative du nombre de feuilles par rapport au témoin surtout à partir de 200 meq.l<sup>-1</sup> de NaCl. Des résultats similaires ont été rapportés sur d'autres espèces par Chelli-Chaabouni, et al.,(2010),

d'autre part au cours de l'expérimentation, on a constaté que la croissance foliaire est également très affectée par l'augmentation du stress salin quel que soit le cultivar. L'expansion des feuilles est considérablement inhibée par le sel, les nouvelles feuilles se développent lentement et le vieillissement des feuilles âgées s'accélère. D'ailleurs, quand la surface foliaire est réduite par la salinité (Neumann, 1997), la production de carbohydrates devient insuffisante pour supporter la croissance et le rendement (Munns, et al., 1995). La réduction du taux de croissance des feuilles peut représenter une adaptation au stress salin, car l'augmentation des sels dans le sol entrave l'absorption d'eau par la plante (Carillo, et al., 2005).

Du point de vue de croissance en longueurs, nous avons constaté que la croissance en longueur aérienne et racinaire diminue avec l'augmentation de l'intensité du stress salin conformément à ce que plusieurs auteurs ont remarqué chez le petit pois (Okcu, et al., 2005), les céréales (Atak, et al., 2006), la luzerne (Abdul Qados, 2011), la coriandre (Ben Fredj, et al., 2014) et la fève (Lachhab, et al., 2013; Benidire, et al., 2015). Nos résultats sont en concordance aussi avec les travaux de Benzioni, et al., (1992) et Boulghalagh, et al., (2008) où le Jojoba a réagi par une réduction de sa partie aérienne en réponse au stress salin.

#### **IV.2.2.2. Mesure des paramètres de nodulation**

##### **IV.2.2.2.a) Nombre de nodules**

Les résultats relatifs au nombre de nodules sont reportés dans la figure (14) indiquant ainsi, une diminution du nombre de nodules chez les deux cultivars de haricot, au fur et à mesure que la concentration des différents traitements augmente. En effet, au traitement sans sel T0 le nombre de nodosité est de (133 ; 163) nodules chez Djadida et Sidi Ferredj respectivement. Puis, diminue progressivement pour atteindre (121 ; 118) nodules au traitement T1 et (85 ; 64) nodules au traitement T2 jusqu'à ce qu'il s'annule à une concentration élevée T3 (200 meq.l<sup>-1</sup> de NaCl).

Par ailleurs, un traitement amendé au CaCl<sub>2</sub> à 100 meq.l<sup>-1</sup> (T4) n'améliore pas le nombre de nodule si on le compare avec le nombre de nodule des plantes témoin (T0), sauf que le traitement T5 qui correspond à une concentration de NaCl+CaCl<sub>2</sub> à 150 meq.l<sup>-1</sup>, révèle un effet bénéfique qui se traduit par une augmentation du nombre de nodosités chez Djadida et Sidi Ferredj (98 ; 63), mais demeure toujours inférieur à celui noté chez les plantes témoins (133 ; 163).

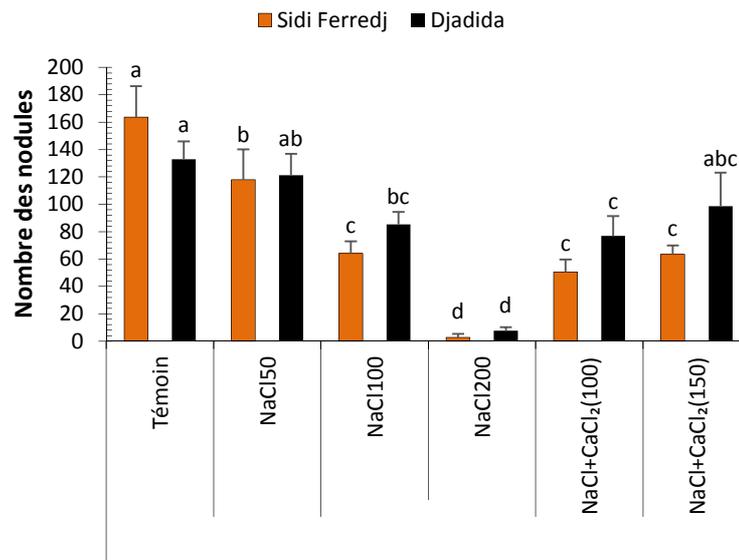


Figure 14. Variation du nombre des nodules chez les deux cultivars de haricot en fonction de différentes concentrations des solutions salines.

N.B : Les Barres avec des lettres similaires ne sont pas significativement différentes ( $p > 0,05$ ).

#### IV.2.2.2.b) Poids frais des nodules

Les résultats obtenus sur le poids frais des nodules sont illustrés dans la figure 15 de la même manière que pour le nombre des nodosités chez les deux cultivars de haricot commun, la concentration en sel est inversement proportionnelle au poids frais des nodules. En effet, au traitement témoin T0 le poids frais affiche (0,92 g et 0,97 g) chez Djadida et Sidi Ferredj respectivement, puis, diminue significativement pour atteindre un poids de (0,054 g et 0,016 g) au traitement de forte concentration en NaCl (T3).

Néanmoins au deuxième traitement, combiné au CaCl<sub>2</sub> (T5) il permet d'améliorer légèrement le poids frais des nodules, mais reste malgré cela inférieur au poids frais des plantes de contrôle.

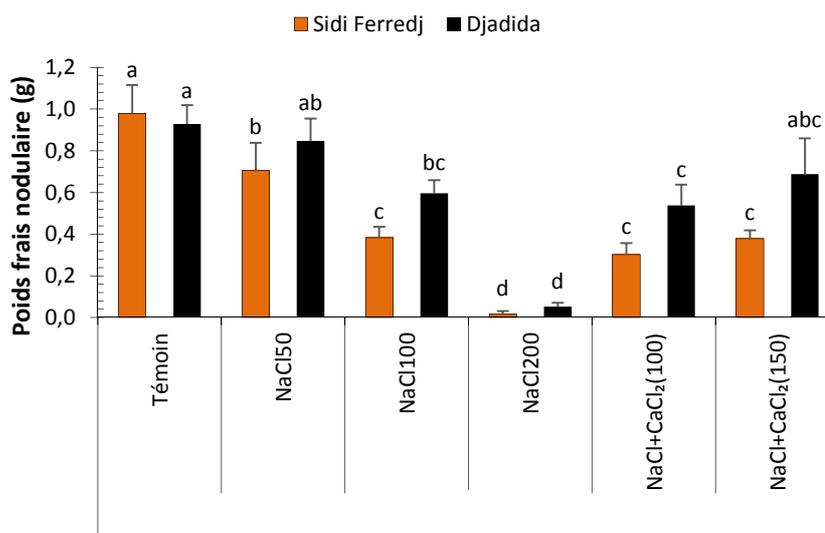


Figure 15. Variation du poids des nodules des deux cultivars de haricot en fonction de différentes concentrations des solutions salines.

N.B : Les Barres avec des lettres similaires ne sont pas significativement différentes ( $p > 0,05$ ).

La réduction de la croissance des racines est associée à une inhibition de la matière fraîche des nodules et à l'initiation et la mise en place des nodules estimée par le nombre de ces derniers organes. L'application de NaCl provoque une chute du nombre de nodules qui s'accroît avec l'intensité du stress et qui s'annule avec les fortes doses de NaCl.

Saadallah, et al, (2001b) suggèrent que l'initiation nodulaire est particulièrement sensible au sel et cela est dû probablement à l'effet de la salinité sur les bactéries symbiotiques du sol. Ce comportement serait lié à une diminution des sites potentiels d'infection ; en effet, la salinité diminue la survie des rhizobiums (Alexander, 1984; Dua, 1992), inhibe l'expansion et la courbure des poils absorbants (Sprent et Zahran, 1988), ce qui entraîne une réduction du nombre de ces organes symbiotiques et de la croissance du système racinaire en général. Selon Carroll, et al., (1983), le sel ne semble pas inhiber la nodulation, en réduisant la synthèse des lectines indispensables pour la reconnaissance et l'adhésion des bactéries au niveau des poils absorbants. La réduction du poids frais des nodules, par le NaCl est le résultat de la réduction de la croissance des nodules et leur nombre par plante, donc le NaCl a des effets dépressifs sur la croissance et le développement des nodosités. Cet effet sur la nodulation chez *Phaseolus vulgaris* L a été aussi rapporté par Bouhmouch, et al., (2005) qui ont observé sur deux cultivars de haricot

(Coco Blanc et SMV29-21) en présence de 25mM NaCl une diminution de 50% et de 94% du nombre et du poids sec des nodules respectivement .

Nos résultats rejoignent aussi ceux obtenus chez *Vicia faba* par Delgado, et al.,(1993), Gaballah, et al., (2005) et Bib, et al.,( 2012) qui ont noté une diminution du nombre et du poids sec des nodules en présence de faibles concentrations en sel dans le milieu conformément à ce qu'a été observé chez de nombreuses légumineuses ;*Glycine Max* (Delgado et al., 1994 ; Gordon et al., 1997 ; James et al., 1993),*Cicer arietinum* (Soussi et al., 1996) et *Vigna radiata* (Hafeez, et al., 1988). Cependant la stimulation de la croissance des nodules a été mise en évidence chez la fève (Yousef, et al., 1983) et les cultivars tolérants de pois chiche (Soussi et al., 1996), ce comportement assurerait une compensation partielle de la diminution du nombre et de l'efficacité des nodules. D'autre part la nodulation peut être affectée indirectement par la salinité, car elle peut directement limiter la croissance des racines des légumineuses, affectant la réponse des racines à l'activité bactérienne (Tu, 1981) et aux facteurs nuds chez *japonicum* (Wang et Stacey, 1990 ).

### **IV.2.2.3. Biomasse aérienne et racinaire**

#### **IV.2.2.3.a) Biomasse fraîche**

L'analyse des données relatives aux biomasses fraîches racinaire et aérienne des deux cultivars (Fig. 16) a montré que l'addition de NaCl à différentes concentrations dans le milieu de culture T1, T2, T3 entraîne des diminutions du poids frais aérien chez Djadida (5,81 g ;4,32 g ;2,47 g) et Sidi Ferredj (5,89 g ; 3,50 g ; 2,82 g) par rapport aux valeurs trouvées dans le traitement témoin qui affiche respectivement (5,79 g ; 6,59 g), il paraît que cette diminution est plus importante avec l'augmentation de la dose du NaCl et plus marqué chez le cultivar Sidi Ferredj .

La même tendance est observée pour le poids frais racinaire chez le cultivar Sidi Ferredj, lorsqu'il reçoit des solutions à base de NaCl, les valeurs régressent de plus en plus que la concentration en sel augmente, comparativement au cultivar Djadida qui ne présente aucune différence significative quelle que soit la concentration en NaCl.

L'apport du NaCl additionné au CaCl<sub>2</sub> (T4 et T5) provoque des augmentations du poids frais aérien aussi bien pour Djadida (4,71 g ; 5,19 g) que pour Sidi Ferredj (3,02 g ; 2,92 g) par rapport au traitement précédent (T2 et T3).Les mêmes allures sont observées pour les racines.

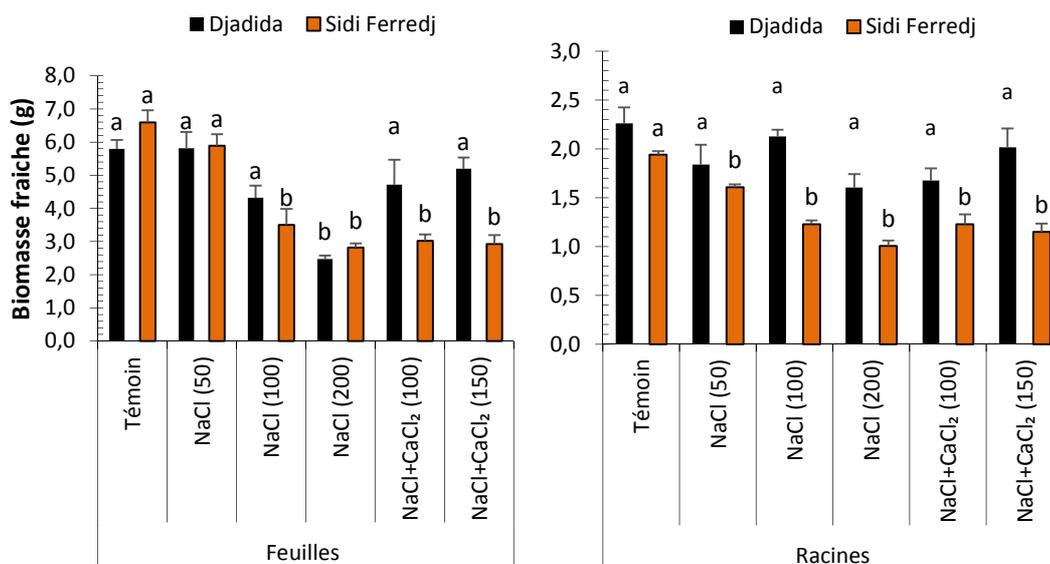


Figure 16. Variation de la biomasse fraîche aérienne et racinaire des deux cultivars de haricot en fonction des différentes concentrations des solutions salines.

N.B : Les Barres avec des lettres similaires ne sont pas significativement différentes ( $p > 0,05$ ).

#### IV.2.2.3.b) Biomasses sèches

La production de matière sèche des feuilles et des racines des plantes de Haricot diminue significativement avec l'augmentation de la salinité de l'eau d'irrigation (fig. 17). En effet, le cultivar Sidi Ferredj est le plus touché par le sel avec des diminutions observées, de 30 % et 43 % de la biomasse sèche des feuilles et des racines à 100  $\text{meq.l}^{-1}$  de NaCl et de 50% et 60 % à 200  $\text{meq.l}^{-1}$  de NaCl. Le cultivar Djadida est le moins affecté par le sel puisque la réduction de la matière sèche ne commence à se faire sentir qu'à partir du traitement T3 pour les feuilles elle est de 0,79 g (48 % de réduction) et pour les racines elle est de 0,32 g (60% de réduction).

Le NaCl+CaCl<sub>2</sub> a une tendance à créer une augmentation du poids sec lorsque la concentration du milieu s'élève (T5) ; cette réponse est observée chez les deux organes, feuille et racine du cultivar Djadida (1,17 g et 0,60 g) ; avec des valeurs proches à celles enregistrées au traitement témoin (T0) (1,26 g et 0,66 g). Pour le cultivar Sidi Ferredj l'application de la 1<sup>ère</sup> dose du CaCl<sub>2</sub> (T4), ne diffère pas significativement au traitement à base de NaCl seul (T2 et T3) et affiche une biomasse sèche foliaire de (0,94 g) et une biomasse sèche racinaire de (0,29g), avec l'élévation de la dose de CaCl<sub>2</sub> (T5) la

biomasse sèche des feuilles et des racines diminue et affiche des valeurs de (0,68 g ; 0,26 g) qui reste relativement faible par rapport au traitement témoin (1,56g ; 0,64 g).

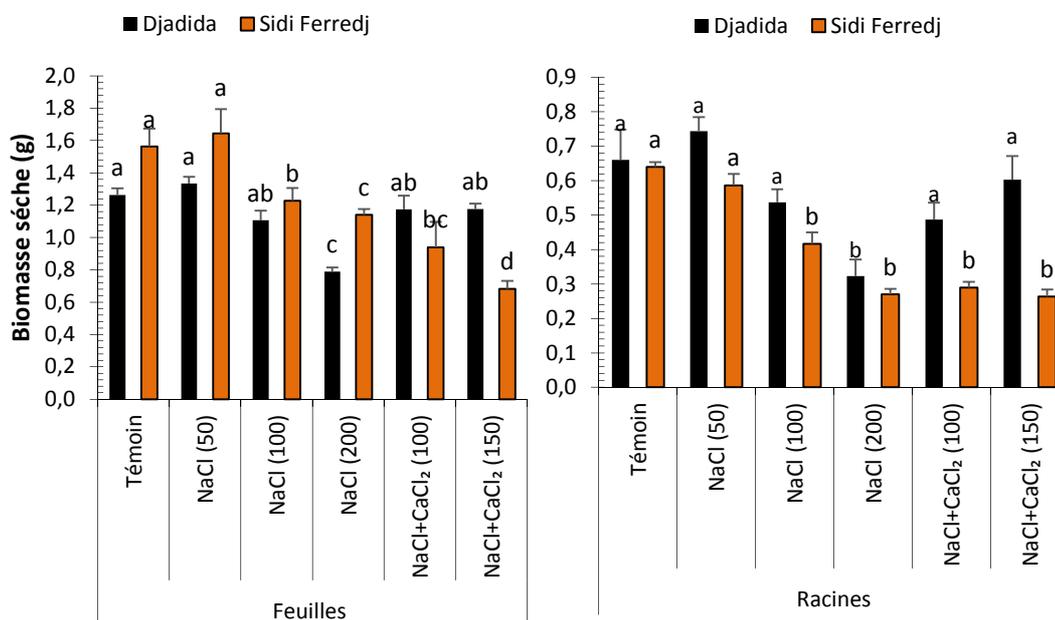


Figure 17. Variation de la biomasse sèche aérienne et racinaire des deux cultivars de haricot en fonction des concentrations des solutions salines.

N.B : Les Barres avec des lettres similaires ne sont pas significativement différentes ( $p > 0,05$ ).

Pour les différents paramètres de la croissance pondérale, nous avons déduit que le sel exerce un effet dépressif dont l'intensité dépend de la concentration du sel utilisée, mais, il est clair que le cultivar Sidi Ferredj a manifesté une grande sensibilité au NaCl, puisqu'elle réagit déjà négativement avec l'augmentation de l'intensité du stress salin par une baisse de biomasse fraîche et sèche par rapport aux plantes témoins non stressées.

L'inhibition de l'activité de croissance par le NaCl est un comportement général caractérisant les glycophytes (Abdelly, 1997). *Phaseolus vulgaris*, peut ainsi être qualifiée de « glycophytes sensibles » dont le seuil de tolérance se situe entre 0 et 50 mM de NaCl (Levit, 1980). L'effet négatif du stress salin sur la croissance des végétaux est largement décrit chez plusieurs espèces cultivées (Greenway et Munns, 1980) et plusieurs légumineuses à grains importants (Tejera et al., 2006), conformément à ce que plusieurs auteurs ont remarqué : Wilson et al. (2006), Gama et al. (2007), Akhtar et Hussain (2009), Taffou et al. (2009) et Win et al. (2011) sur différentes espèces de légumineuses. Ils ont signalé que le poids total était significativement réduit avec l'augmentation des taux de

salinité. Un résultat similaire a été rapporté par Kaymakanova, et al.( 2008) qui ont révélé que la réduction de la biomasse des plantes de haricots dans des conditions de solution saline était indicative de plusieurs limitations de croissance.

Les résultats de Lycoskoufis et *al.*(2005), Navarro et, *al.*, (2010) et Niu et *al.*,(2010 ) sur le piment montrent que la croissance végétative (Matière sèche feuilles+ racines) est sévèrement affectée par la salinité à partir de 50 mM NaCl où la réduction de la biomasse commence même à 30mM de NaCl chez la variété Nabeul , aussi les résultats trouvés par Sánchez-Blanco, et *al.*,(1991) qui ont montré que la diminution du poids sec des feuilles chez la tomate est une conséquence de la salinité. Des effets similaires ont été remarqués sur la croissance des plantules de pistachier soumises à un stress salin en conditions in vitro (Benmahioul, et *al.*, 2009).

D'après nos résultats la salinité a réduit davantage la croissance des parties aériennes du haricot comparativement à celle des racines, les mêmes résultats ont été rapportés par Dubey et Singh (1999). Cette résistance du système racinaire du haricot au stress salin peut être due à une diminution de l'allocation du carbone pour la croissance foliaire au profit de la croissance racinaire (Brungnoli, et *al.*, 1992). Flowers, et *al.*, (2001) et Qian, et *al.*,(2007) ont signalé que le maintien d'une croissance normale des racines sous salinité démontre que cette plante tolère le sel. Cependant, il est possible que le maintien de la croissance des racines dans de telles conditions soit dû à l'adaptation de la plante au stress salin plutôt qu'à la tolérance proprement dite (Alshamary, et *al.*, 2004), car elle entraîne une augmentation de la surface d'absorption d'eau, empêchant ainsi la déshydratation (Okusanya, 1977).

En effet, pour s'adapter au stress salin, la plante peut éviter les dommages par la réduction de la croissance (Lamzeri, 2007), c'est l'effet le plus commun des stress abiotiques sur la physiologie des plantes. La réduction de la croissance est une capacité adaptative nécessaire à la survie d'une plante exposée à un stress abiotique. En fait, ce retard de développement permet à la plante d'accumuler de l'énergie et des ressources pour combattre le stress, avant que le déséquilibre entre l'intérieur et l'extérieur de l'organisme n'augmente jusqu'à un seuil où les dommages seront irréversibles. La réduction de la croissance peut être aussi liée à des perturbations des taux des régulateurs de croissance (acide abscissique et cytokinines) induites par le sel (Kuiper, et *al.*, 1998), parfois à une réduction de la capacité photosynthétique suite à une diminution de la

conductance stomatique de CO<sub>2</sub> sous la contrainte saline (Santiago, et *al.*, 1986) et ce qui a permis de limiter l'offre de glucides nécessaire à la croissance (Alam et *al.*, 2004).

Certains auteurs lient la réponse au stress salin à la variation génotypique des plantes (Saadallaha, et *al.* 2001a, 2001b), tandis que d'autres signalent une inhibition de l'activité de certaines enzymes entre autre la nitrogénase et la glutamine synthétase (Khadri et *al.*.,2006). Levy et Shalhevet , (1990) ont noté que la réduction de la croissance sous l'effet du stress salin peut avoir lieu sans signes de toxicité.

L'addition du Ca<sup>2+</sup> à la solution d'irrigation sous forme de CaCl<sub>2</sub> corrige les effets du NaCl sur la croissance. Ces résultats confirment celles trouvées par (Cramer, et *al.*, 1990.) qui ont rapporté que l'ajout du calcium entraîne une amélioration de la croissance des plantes d'orge stressée par des concentrations élevées de NaCl et KCl. D'autre part Cramer, et *al.* (1991) ont signalé l'existence d'une corrélation positive entre la teneur en calcium et la croissance de l'orge.

Le rôle du calcium dans l'amélioration de la tolérance à la salinité est attribué à l'intervention du calcium dans la stabilité membranaire et dans la sélectivité ionique (Subbarao, et *al.*, 1990). Ehret, et *al.*, (1990) ont montré que le calcium joue un rôle important chez le blé dans le maintien de la stabilité membranaire des tissus foliaires dans les conditions du stress salin. Aussi la restriction de l'alimentation calcique inhibe l'établissement de la nodulation chez les plantes soumises au sel et limite leur développement (Zahran, et *al.*, 1986).

### **IV.2.3. Effet de la salinité sur les paramètres hydriques**

La teneur en eau des feuilles renseigne sur la turgescence relative des tissus et figure parmi les critères d'évaluation de tolérance au stress. Pour apprécier l'état hydrique des plantes expérimentées sous stress salin, nous avons suivi les variations de la teneur relative en eau foliaires et racinaires après une semaine d'application de la solution saline composée de NaCl et NaCl+CaCl<sub>2</sub> qui est représenté dans la Figure. 18.

Nos résultats indiquent que chez le cultivar Djadida, la salinité n'a pas un effet significatif sur la teneur relative en eau, quel que soit l'organe et le type du traitement étudié à l'exception de la concentration élevée de (200 meq.l<sup>-1</sup>) de NaCl où la teneur relative en eau foliaire a diminué avec une valeur de 67,99 %. Tandis que chez les plantes témoins cette teneur est égale à 78,16 %.

Le cultivar Sidi Ferredj montre que les teneurs relatives en eau foliaires sont faibles par rapport au témoin (88,15 %) et diminue au fur et à mesure que la concentration en NaCl du milieu augmente. En effet à 100 meq.l<sup>-1</sup> de NaCl (T2), la teneur relative en eau est de 64,70 % et à 200 meq.l<sup>-1</sup> de NaCl (T3) elle est de 59,60 %.

Le statut hydrique racinaire ne présente aucune différence statistiquement significative chez les deux cultivars sauf à la concentration élevée T3 (200meq.l<sup>-1</sup> NaCl) où la variété Djadida augmente son statut hydrique significativement à raison de 79,39 %.

D'après ces résultats obtenus, il semble que Djadida présente une tolérance moyenne à la salinité mieux que le cultivar Sidi Ferredj, étant donné le maintien de la turgescence plus important donc une meilleure régulation osmotique.

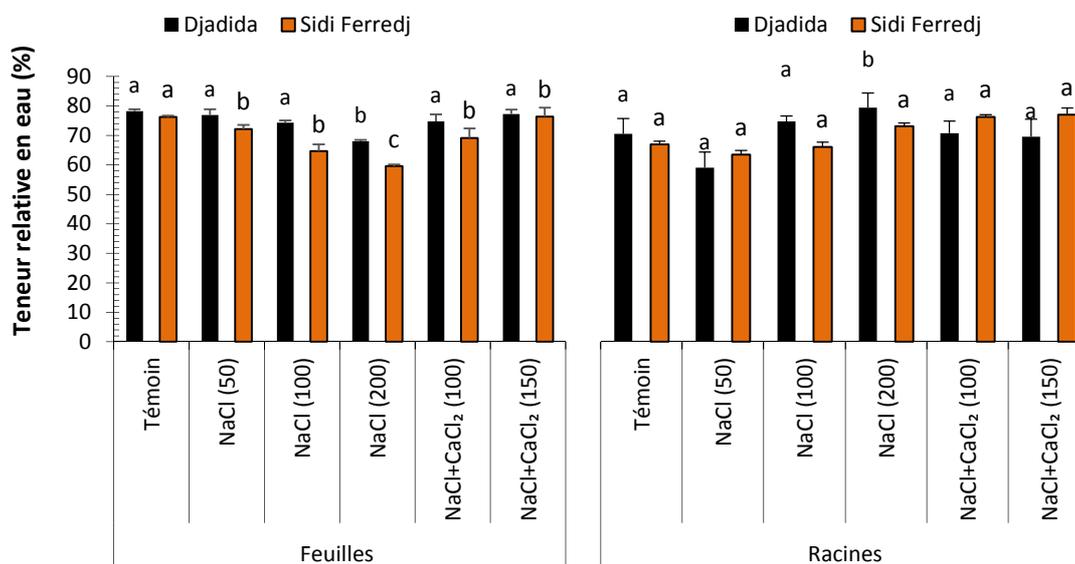


Figure 18. Variation de la teneur relative en eau des deux cultivars de haricot en fonction des concentrations de solution salines.

N.B : Les Barres avec des lettres similaires ne sont pas significativement différentes ( $p > 0,05$ ).

L'eau est une ressource indispensable pour les végétaux et reste un indicateur physiologique intéressant pour l'estimation de l'état d'hydratation des plantes, en fonction de la disponibilité de l'eau dans la rhizosphère et l'aptitude de ces plantes à l'absorber. En conséquence, tout déséquilibre dans la nutrition hydrique se manifeste souvent dans le taux de cette teneur qui semble altérée en situations salines chez les deux cultivars étudiés, ce paramètre varie selon l'espèce et l'intensité du stress. Ces réductions

sont plus importantes chez les cultivars sensibles comparativement aux tolérants et affectent nettement le statut hydrique des feuilles de Sidi Ferredj que celui de Djadida.

Des résultats similaires ont été rapportés par Snoussi, et *al.*, (2004), Taïbi et *al.*, (2013a), Laredj-Zazou, (2013) qui ont montré que le potentiel de l'eau a diminué considérablement dans les plantes de (*Phaseolus vulgaris* L.) traités au sel ; chez *Vicia faba* L (Rabie et Almadini, 2005) et chez *Ceratonia siliqua* L. (El-Refaey et *al.*, 2011). Nos résultats confirment aussi ceux trouvés par Strogonov, (1964) et Gale, (1967) qui affirment que le sel diminue la transpiration en raison que la salinité a augmenté la perte d'eau cellulaire et par la suite les feuilles sont devenues succulentes pour survivre dans des environnements stressés de sel et maintenir une teneur en eau foliaire suffisante (Taïbi et *al.*, 2013a. ). Ainsi l'absorption hydrique par les racines est également réduite comme c'est le cas chez les glycophytes et quelques halophytes. (Kaplan et Gale, 1972).

Le  $\text{Ca}^{2+}$  aide les plantes à maintenir les teneurs en eau relatives et la conductance stomatique (Ahmad, et *al.*, 2016) empêchant ainsi, les dommages causés par la déshydratation du cytoplasme (Rshi et *al.*, 2006).

#### **IV.2.4. Effet de la salinité sur le taux des cendres**

D'après la figure 19, les racines du cultivar Djadida sont plus riches en cendres que ses feuilles avec des taux respectifs de 42% contre 37 % au traitement sans sel T<sub>0</sub>.

L'application du sel à 50 meq.l<sup>-1</sup> et 100 meq.l<sup>-1</sup> de NaCl charge les teneurs foliaires en cendres chez les deux cultivars avec (40 % ; 45 %) chez Djadida et (47 % ; 53 %) chez Sidi Ferredj. L'augmentation de la concentration saline en NaCl (T3) stimule les deux organes feuille et racine, à accumuler le plus haut taux en cendres (64% ; 62%) chez Djadida et (63 % ; 64 %) chez Sidi Ferredj.

Les racines paraissent insensibles au traitement de faible dose de NaCl (50 meq.l<sup>-1</sup> et 100 meq.l<sup>-1</sup>) chez les deux cultivars.

Alors que l'application du  $\text{CaCl}_2$  à différentes doses dans le milieu de culture rend les teneurs foliaires et racinaires en cendres plus importantes chez les deux cultivars étudiés.

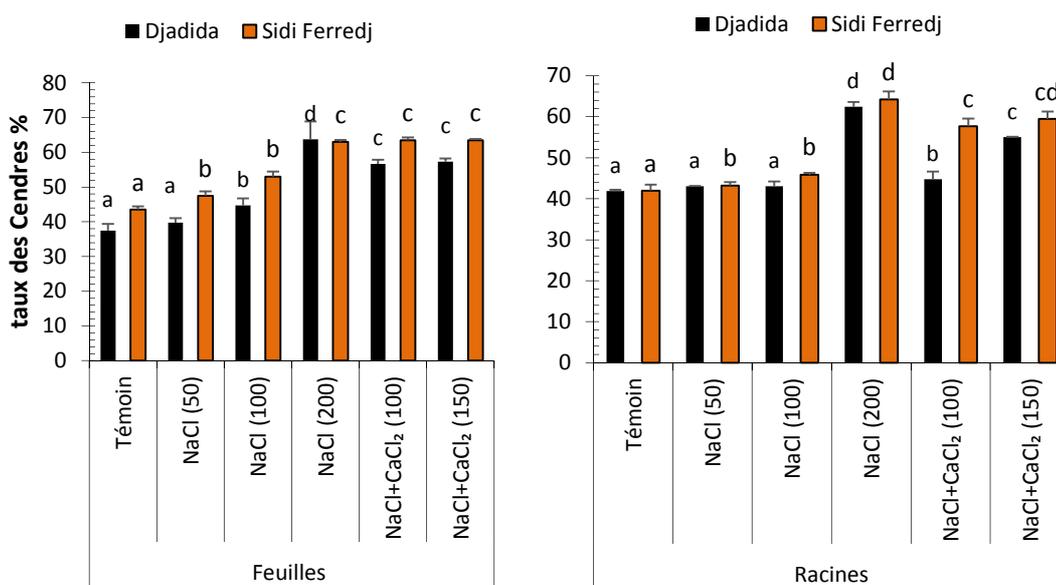


Figure 19. Variation taux des cendres des deux cultivars de haricot en fonction des concentrations des solutions salines.

N.B : Les Barres avec des lettres similaires ne sont pas significativement différentes ( $p > 0,05$ ).

La tolérance des plantes au sel dépend de la façon par laquelle elles contrôlent l'absorption et le transport des éléments nutritifs à travers les organes. Les résultats obtenus des taux des cendres, montrent que tous les traitements appliqués ont conduit les deux cultivars à des charges minérales importantes dans tous les organes. Cette accumulation du taux des cendres dans les feuilles et dans les racines atténue à un niveau considérable, surtout aux concentrations élevées. Nos résultats corroborent les résultats trouvés par Laredj-zizou, (2013) étudiant (*Phaseolus vulgaris* L.).

Dubey, (1997) et Yeo, (1998) signalent que la salinité provoque un stress osmotique et ionique combiné à la fois sur les plantes. Les effets osmotiques des sels sur les plantes résultent de l'abaissement du potentiel hydrique du sol suite à l'augmentation des concentrations des solutés dans le profil racinaire des plantes (Sohan, Jasoni et Zajicek 1999).

---

**Chapitre V : Potentiel biochimique  
énergétique de (*Phaseolus vulgaris*. L) sous  
stress salin.**

---

## **V.1. Matériel et Méthodes**

### **V.1.1. Matériel végétal**

Le matériel végétal utilisé correspond aux feuilles et aux racines des deux cultivars Djadida et Sidi Ferredj, qui ont été précédemment récoltées, séchées dans une étuve à une température de 35 °C pendant 48 heures, puis broyées à l'aide d'un broyeur électrique et conservés dans des flacons en verre.

Les poudres constituent une matière très importante pour notre étude, dont une partie a été utilisée pour l'analyse des paramètres biochimique. Nous signalons que pour certaines analyses on a utilisé le matériel végétal à l'état frais.

### **V.1.2. Méthodologie retenue**

Cette partie est consacré aux dosages des composés énergétique, biochimique qui sont synthétisés suite à l'application des traitements salins.

#### **V.1.2.1. Accumulation et dosage des composés glucidique**

##### **V.1.2.1.a) Accumulation et dosage des sucres solubles**

Les sucres solubles totaux sont dosés par la méthode de Dubois, et *al.*,(1956)

##### **➤ Protocol expérimental**

100 mg de matière végétale, des racines et des feuilles sont moulu et placés dans des tubes à essai, on ajoute 3 ml d'éthanol à 80 % .On laisse reposer à une température ambiante pendant 48 heures, puis on fait évaporer l'alcool en mettant les tubes dans un bain-marie à 70 °C. Après refroidissement, on ajoute 20 ml d'eau distillée dans chaque tube à essai. On prend 1 ml de la solution et on ajoute 1 ml de phénol à 5 %, puis, on agite énergétiquement. On ajoute 5 ml d'acide sulfurique concentré, puis on les passe au vortex. On les laisse au repos pendant 10 min, puis on le passe au bain-marie à 30 °C pendant 15 minutes. On laisse refroidir pendant 30 minutes ; l'absorbance est lue à 490 nm, au spectrophotomètre, en se réfèrent à une courbe d'étalonnage effectuée à partir de concentrations croissantes d'une solution de glucose allant de 10 à 100 µg.ml<sup>-1</sup> (Annexe B).

##### **V.1.2.1.b) Accumulation et dosage des sucres pariétaux (polysaccharides pariétaux)**

##### **✚ Préparation du résidu pariétal**

Le protocole expérimentale appliqué a été adopté et cité par (Harche et *al.*, 1991).

50 g de poudre végétale sont introduits dans un Erlen meyer contenant un mélange Ethanol-Toluène (1V-1V) et mis sous agitation pendant 14 heures sous hotte, cette opération est répétée deux fois. Elle permet d'éliminer les lipides solubles, les tanins et autres constituants cytoplasmiques. Après filtration sur toile à blüter, le résidu pariétal est mis dans l'éthanol sous agitation pendant deux heures pour éliminer les traces du toluène, le résidu est ensuite rincé quatre fois à l'eau distillée, et une dernière fois à l'acétone, puis séché à l'étuve à 60 °C pendant 24 heures. Le résidu obtenu contient les lignines, la cellulose, les hémicelluloses et les pectines.(Harche et *al.*, 1991).

#### **Délicignification du résidu pariétal**

15 g de résidu pariétal sont mélangés à 150 ml d'eau, 1 ml d'acide acétique et 5 g de chlorite de sodium, le tout est mise en agitation à 80 °C pendant 14 heures sous hotte. Puis, 5 g de chlorite de sodium et 1 ml d'acide acétique sont ajoutés au mélange, le tout est laissé en agitation pendant 13 heures. Après filtration sur toile à blüter, le résidu est lavé à l'eau distillée et à l'éthanol puis mis à sécher à l'étuve à 60 °C pendant 24 heures (Harche et *al.*, 1989; Moine, 2005).

#### **Extraction de la cellulose et des hémicelluloses**

5 g de résidu pariétal (brut et délicignifié) sont introduits dans un Erlen meyer contenant 100 ml de NaOH à 4 % et mis sous agitation pendant 14 heures. Cette opération est renouvelée sur le résidu pariétal pour récupérer le maximum des hémicelluloses.

Après filtration sur toile à blüter, le résidu est lavé avec de l'eau distillée puis avec l'acétone, ensuite séché à l'étuve à 60 °C pendant 14 heures et enfin pesé. Cette partie représente la fraction cellulosique.

Les deux filtrats obtenus sont neutralisés par l'acide acétique pur, puis précipités dans l'éthanol (1V-3V) pendant 14 heures. Après centrifugation à 3600t/min et pendant 30 minutes, le culot est lavé par l'eau distillée puis par l'acétone, ensuite séché à l'étuve à 60 °C pendant 14 heures et enfin pesé. Cette partie représente la fraction hémicellulosique. (Habibi, 2004; Ray et *al.*, 2004).

### **V.1.2.2. Accumulation et dosage des composés Azotés**

#### **V.1.2.2.a) Dosage des protéines (Méthode de Kjeldhal)**

Le dosage de cette fraction est réalisé selon la méthode de Kjeldahl (AFNOR, 1993). Il s'agit d'une méthode indirecte de dosage des protéines par détermination de la quantité d'azote des protéines à l'état minéral.

➤ **Protocole expérimental**

 **Minéralisation**

Dans un matras du minéralisateur, on introduit 0,1 g d'échantillon ; 10 ml d'acide sulfurique concentré et 01 g de catalyseur (mélange de sulfate de cuivre(CuSO<sub>4</sub>) et du sulfate de potassium(K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)).

Le matras est chauffé jusqu'à ce que son contenu devienne limpide, soit environ 6 heures.

 **Distillation**

Après refroidissement, le minéralisât, ainsi que l'eau de rinçage du matras, sont transvasés dans le tube du distillateur, pour la distillation, en présence de 80 ml de soude à 30 %. Le distillat est recueilli dans un bêcher contenant 25 ml d'acide borique à 4 % et 2 gouttes de rouge de méthyle.

 **Dosage de l'ammoniac libéré**

Le distillat contenant l'ammoniac est dosé avec une solution d'acide sulfurique 0,1 N jusqu'au virage de la coloration au rose. Le volume d'acide sulfurique nécessaire est noté. La teneur en azote total est calculée comme suit :

$$N\% = \frac{V \times N \times 0,014 \times 100}{m}$$

N% : teneur en Azote totale en pourcentage.

V : Volume en ml de la solution d'acide sulfurique nécessaire pour obtenir le virage

N : Normalité de la solution d'acide sulfurique utilisée lors du titrage (0,1N)

m : masse en g de l'échantillon

La teneur en protéines totales correspondante, P%, est obtenue en multipliant la teneur en azote total (N%) par le facteur de conversion 6,25, sachant que les protéines sont constituées par 16% d'azote (Godon et Loisel, 1991; Adrian et *al.*, 1995) (figure.20).

$$P\% = N\% \times 6,25$$



Figure 20. Minéralisateur et Distillateur Kjeldhal. (Laredj-Zazou ; 2018).

#### V.1.2.2.b) Dosage de la proline

Le principe de cette méthode consiste à la quantification de la proline à partir de sa réaction avec la ninhydrine. La proline se couple avec la ninhydrine en formant un complexe coloré, l'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de proline dans l'échantillon.

##### ➤ **Protocole expérimental**

100 mg de matériel végétal (racines ou des feuilles) sont broyés et macérés dans 2 ml de méthanol (40 %) puis chauffés au bain-marie à 85 °C pendant 60 min. Les tubes sont ensuite recouverts de papier aluminium et conservés jusqu'au moment du dosage.

La proline est dosée selon la technique utilisée par Troll et Lindesely, (1955) simplifiée et mise au point par Dreier et Göring, (1974) et modifiée par Monneveux et Nemmar, (1986). Après refroidissement, 1 ml de la solution a été prélevé de chaque tube et mis dans de nouveaux tubes auquel nous avons ajouté 1 ml d'acide acétique et 25 mg de ninhydrine. Ensuite, on ajoute dans chaque tube 1 ml d'un mélange contenant ;

120 ml d'eau distillée,

300 ml d'acide acétique,

80 ml d'acide orthophosphorique

On porte les tubes à essai à ébullition au bain-marie durant 30 minutes. Après refroidissement des solutions on ajoute 5 ml de toluène dans chaque tube. Après agitation au vortex deux phases apparaissent. On prélève la phase supérieure à laquelle on ajoute 5 mg du sulfate de sodium, puis on les laisse au repos pendant 48 heures (Figure. 21).

On procède à la lecture de la densité optique des échantillons avec le spectrophotomètre à la longueur d'onde de 528 nm.

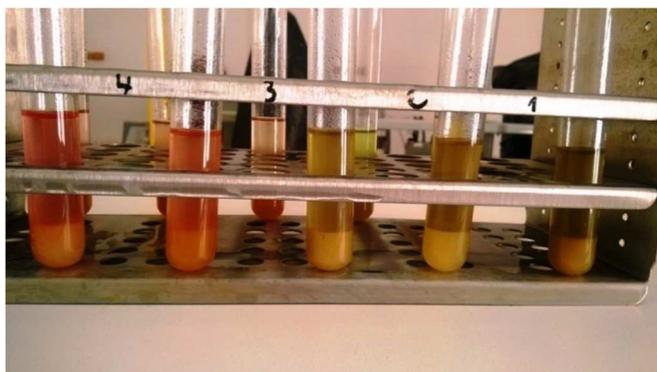


Figure 21. Extraction et dosage de la proline. (Laredj-Zazou, 2018).

### V.1.2.3. Dosage des composés lipidique

Selon Lecoq, (1965), l'extraction des composés lipidiques est faite par l'appareil de Soxhlet en utilisant comme solvant organique l'hexane. (La méthode indirecte ou méthode des résidus pour extraire la matière grasse (Adrian et *al.*, 1998) ).

Après évaporation du solvant, le résidu est séché puis pesé (Wolff, 1991). Cette pesée correspond au poids total de la matière grasse contenue dans une prise d'essai.

#### ➤ **Protocole expérimental**

Un échantillon de 3 g de broyat de feuilles est introduit dans la cartouche d'extraction de l'appareil de Soxhlet (Figure 22), contenant 100 ml d'hexane.

L'extraction dure 6 heures. Le solvant est récupéré par distillation. Le ballon contenant la matière grasse et le résidu de solvant est mis dans l'étuve à 105 °C pendant une heure pour enlever le résidu de l'hexane, puis pesé afin de déterminer la teneur en composés lipidiques.



Figure 22. Appareil de Soxhlet. (Laredj-Zazou, 2018).

Le taux de la matière grasse est calculé par la formule suivante :

$$\text{Taux(MG)\%} = \frac{\text{P2} - \text{P1}}{\text{E}} \times 100$$

Avec :

P1 : Poids du ballon vide (avant l'extraction).

P2 : Poids du ballon avec résidus (après l'extraction).

E : prise d'essai.

## V.2. Résultats et Discussion

### V.2.1. Effet de la salinité sur l'accumulation des composés glucidique

#### V.2.1.1. Accumulation des sucres solubles

La figure 23 présente l'influence du stress salin sur l'accumulation des sucres solubles dans les feuilles et les racines de deux cultivars Djadida et Sidi Ferredj. Ces teneurs sont plus élevées chez Sidi Ferredj que chez Djadida. Ainsi ; l'accumulation la plus importante a été enregistrée au niveau des feuilles de Sidi Ferredj à 50 meq.l<sup>-1</sup> de NaCl (67,88 µg/ml) et chez Djadida à 100 meq.l<sup>-1</sup> de NaCl (60,94 µg/ml).

Par ailleurs, des chutes ont été enregistrées sous l'effet des concentrations élevées de NaCl (200 meq.l<sup>-1</sup>) pour les feuilles et les racines respectivement avec (38,22 µg/ml et 25,16 µg/ml) chez Djadida et (21,83 µg/ml et 17,22 µg/ml) chez Sidi Ferredj.

Le traitement salin à base du NaCl+ CaCl<sub>2</sub> (T4 et T5) provoque une diminution significative des sures solubles aux niveaux des feuilles et des racines des deux cultivars Djadida et Sidi Ferredj par rapport aux plantes soumise au test témoin, mais, cette diminution reste non significative chez la variété Djadida par rapport aux concentrations salines modérées en NaCl 50 meq.l<sup>-1</sup> et 100 meq.l<sup>-1</sup> (T1 et T2).

En effet, l'accumulation des sucres soluble totaux au niveau des feuilles et des racines de la variété Djadida soumise au traitement de NaCl+CaCl<sub>2</sub> (T4, T5), parait plus importante, par rapport à celle enregistrée au niveau de la même variété soumise au traitement de NaCl uniquement à fort concentration T3 (200 meq.l<sup>-1</sup>), mais, semble être proche de celle enregistrée au traitement T2 à une concentration modère de 50 meq.l<sup>-1</sup>.

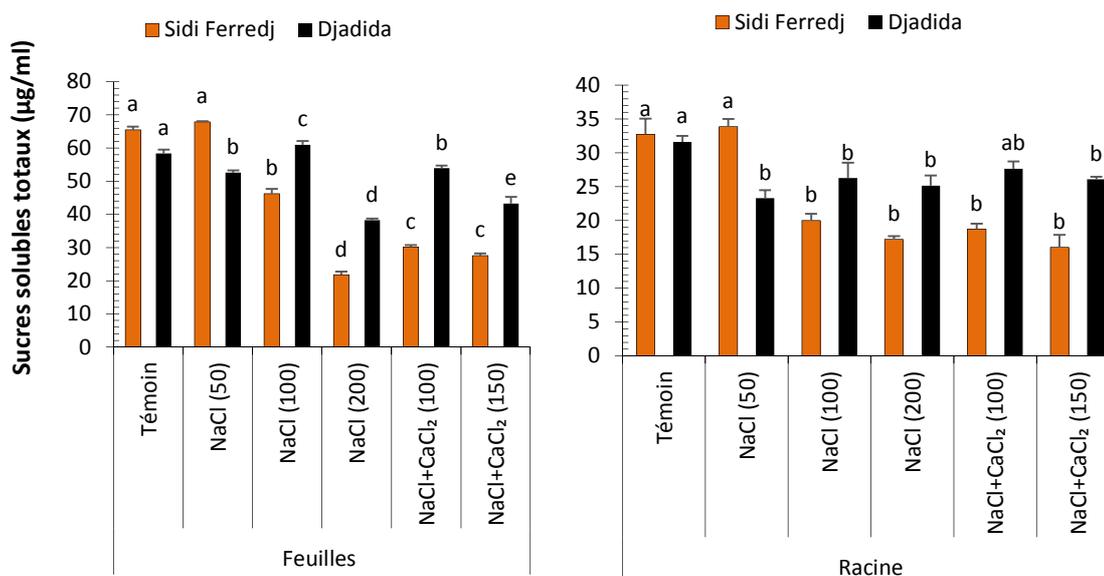


Figure 23. Variation de la teneur des sucres solubles totaux ( $\mu\text{g/ml}$ ) chez les deux cultivars de Haricot en fonction de différentes concentrations de solutions salines. N.B. Les Barres avec des lettres similaires ne sont pas significativement différentes ( $p > 0,05$ ).

Nous déduisant que, le stress salin appliqué aux plantes de (*Phaseolus vulgaris*.L) modifie le métabolisme des glucides et provoque une variation de la teneur en sucres solubles pour les deux génotypes au niveau des feuilles et des racines. On remarque que l'accumulation la plus importante a été enregistrée chez les feuilles des deux cultivars aux concentrations modérées de NaCl. Par ailleurs, des chutes ont été enregistrées sous l'effet des concentrations élevées chez les deux organes des deux cultivars.

Nos résultats rejoignent ceux obtenus par d'autres auteurs (Bayuelo-Jiménez et al., 2012; Tejera et al., 2005) qui constatent des augmentations des teneurs en sucres solubles en présence de la contrainte saline chez les plantes de *Phaseolus vulgaris*. L.

Également, ces observations sont en accord avec celles de Cachorro et al., (1993) qui ont noté une augmentation de 51 % par rapport au traitement témoin chez les plantes de la même espèce stressée par 100 mM de NaCl.

L'augmentation de la teneur en sucres solubles lors d'un stress salin est parmi les phénomènes les plus observés dans la réponse au stress (Hajihashemi et al., 2006) malgré une diminution significative du taux net d'assimilation de  $\text{CO}_2$  (Murakezy et al., 2003). Lorsque les glycophytes sont exposés à une forte salinité, l'augmentation des taux

des sucres solubles contribue jusqu'à une augmentation de 50 % du potentiel osmotique (Parvaiz et Satyawati, 2008). L'accumulation des sucres solubles chez les plantes a été largement rapportée de nombreuses autres différentes espèces telles que l'orge (Hassani et al., 2008), le tournesol (ElMidaoui et al., 2007), *Vicia faba* cv. Misr 2 (Mohsen et al., 2013) et chez *Medicago sativa* (Farissi et al., 2011; Ibriz et al., 2004).

Ashraf et Tufail, (1995) ont constaté que les variétés tolérantes accumulent des proportions plus importantes de sucres que celles des variétés sensibles chez le tournesol.

En revanche Gadallah, (1999) a noté une diminution des teneurs en sucres chez (*Vicia faba* cv. Calvor 103 ), il a été aussi trouvé que des fortes concentrations salines induisent une chute brutale de la teneur en sucres solubles chez la tomate (Perez-Alfocea et al., 1996). Cette diminution pourrait être attribuée aux effets négatifs de la salinité sur le métabolisme des glucides, par l'inhibition de la photosynthèse due aux ions toxique et dans les racines peut être expliquée par sa migration vers les feuilles pour s'y compartimenter sous contrainte saline d'où le rôle important des sucres dans l'osmorégulation. Nos résultats sont en parfait accord avec ces études sous l'effet de forte concentration saline.

Ashra et Harris ,(2004) considèrent que les sucres solubles pourraient contribuer à plus de 50 % à l'ajustement osmotique des glycophytes soumises aux conditions de salinité. En effet, les sucres solubles assurent des fonctions majeures dans l'osmoprotectant, le stockage du carbone, le piégeage des radicaux libres (Parida et al., 2004) et le maintien de l'équilibre hydrique entre le cytoplasme et la vacuole, comme c'est le cas d'*Hordeum Vulgare* (Haouala, 1999).

Le traitement salin NaCl+ CaCl<sub>2</sub> montre une diminution significative aux niveaux foliaires et racinaires des deux cultivars par rapport aux plantes de contrôles. Le cultivars Djadida présente des valeurs proches au valeurs des concentrations salines modérées en NaCl 50 meq.l<sup>-1</sup> et 100 meq.l<sup>-1</sup>, ceci peut être dû à l'effet améliorateur attribué au Ca<sup>2+</sup> supplémentaire via l'augmentation de l'accumulation des solutés organiques dont les sucres solubles totaux font partie (Silva et al., 2003).

### V.2.1.2. Accumulation des sucres pariétaux (polysaccharides pariétaux)

#### V.2.1.2.a) Quantification de la cellulose

Les résultats illustrés dans la figure 24, présentent l'effet de la salinité sur la teneur de la cellulose. Nous révélons une diminution sous l'effet des concentrations modérées de NaCl (50 meq.l<sup>-1</sup> et 100 meq.l<sup>-1</sup>) dans les feuilles et les racines du cultivar Djadida respectivement avec (16,52 % et 13,44 %), au traitement T1, et (14,20 % et 12,42 %) au traitement T2, mais cette diminution jugée non significative par rapport au traitement sans sel T0 (17,60% et 14.42%).

Tandis que chez les feuilles et les racines de Sidi Ferredj une concentration modérée de 50 meq.l<sup>-1</sup> de NaCl a un effet dépressif sur la teneur de cellulose (10,08% ; 8,63%), par rapport aux plantes de contrôles (20,32 % ; 14,96 %).

Ces teneurs en cellulose foliaires et racinaire évoluent de façon très remarquable et significative avec l'augmentation des concentrations saline en NaCl (T3) chez les deux cultivars.

Les concentrations combinées au CaCl<sub>2</sub> provoquent une accumulation significative de cellulose chez les deux organes et les deux cultivars par rapport au témoin.

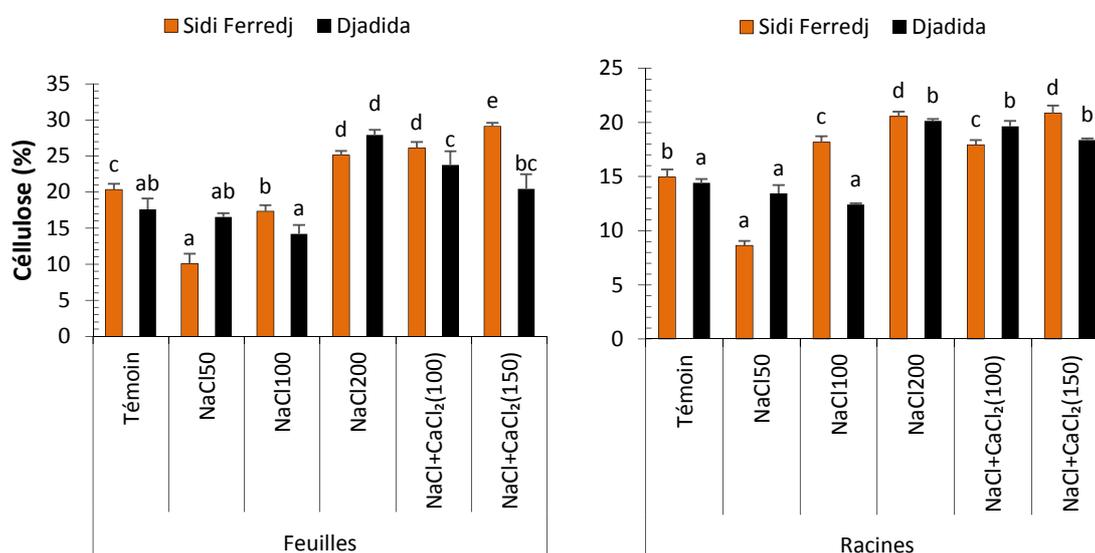


Figure 24. Variation de taux de cellulose (%) chez les deux cultivars de haricot en fonction de différentes concentrations de solutions salines.

N.B. Les Barres avec des lettres similaires ne sont pas significativement différentes. ( $p > 0,05$ ).

Les résultats de la composition des polysaccharides des parois cellulaires des feuilles et des racines de deux cultivars de *Phaseolus vulgaris* L, suite à ce stress salin montrent une variabilité dans les teneurs obtenues de la cellulose, en fonction des organes (feuilles, racines) et en fonction de la nature et l'intensité du stress salin.

La teneur en cellulose foliaire et racinaire était légèrement abaissée par des concentrations modérées de NaCl chez Djadida, tandis que chez Sidi Ferredj une faible concentration (50 meq.l<sup>-1</sup>) de NaCl a considérablement réduit la teneur en cellulose des deux organes.

Les fortes concentrations (200 meq.l<sup>-1</sup>) de sel du NaCl entraînent des augmentations significatives des teneurs en celluloses chez les deux cultivars.

Le Ca<sup>2+</sup> supplémentaire chez le cultivar Djadida atténue cet effet inhibiteur chez les deux organes par rapport au cultivar Sidi Ferredj qui affiche des valeurs plus élevées de cellulose que le témoin.

Une réduction similaire de la teneur en cellulose favorisée par les conditions salines a été rapportée par plusieurs travaux ; sur trois hybrides de maïs avec une tolérance au sel contrastée, ont montré une diminution de la concentration de cellulose dans tous les génotypes (Muszyńska et al., 2014), dans les feuilles de maïs sous stress salin (Uddin, et al. 2013), dans les cellules de tabac (*Nicotiana tabacum* L.) croîtraient dans 0,428 M de NaCl dont la synthèse de la cellulose a été inhibée sensiblement dans des cellules adaptées et qui présentaient des proportions beaucoup plus faibles de cellulose (Iraki et al., 1989) et dans les plantes de coton (*Grossium hirsute* L.) (Zhong et Lauchli, 1993).

Le traitement au sel peut également entraîner une déstabilisation des microtubules (Wang et al., 2007) ce qui peut affecter les trajectoires de cellulose synthéase (CesA) dans la membrane plasmique et par conséquent les dépôts de cellulose (Paredez et al., 2006). Récemment, Endler et al., (2015) ont identifié deux protéines dans le complexe de cellulose synthéase qui aident à relier le complexe aux microtubules et sont importantes pour la croissance des plantes sous stress salin.

D'après l'analyse de ces résultats, il semble que l'accroissement du taux de cellulose sous les fortes concentrations de sel, pourrait être un résultat d'une toxicité favorisé par les fortes concentrations de NaCl. Nos résultats sont en conformité à ceux rapportés par Serra et al., (2015) qui ont montré que des niveaux subtoxiques d'agents de

stress chimiques pouvaient provoquer des changements métaboliques inattendus avec des impacts différents sur la croissance et la composition métabolique des organes végétaux, en effet, le dépôt de cellulose dans la paroi cellulaire affecte la trajectoire et la vitesse de diffusion des protéines membranaires plasmiques d'où le rôle de la paroi cellulaire dans les processus d'immobilisation des protéines membranaires plasmiques (Martinière et al., 2012).

#### **V.2.1.2.b) Quantification de l'hémicellulose**

Les résultats présentés dans la figure 25 ont révélé que le stress salin a entraîné des diminutions considérables des teneurs d'hémicellulose foliaires chez les deux cultivars, par rapport au témoin, quel que soit la concentration et le type des sels utilisés.

Néanmoins, la réduction de la teneur d'hémicellulose au niveau racinaires induite par le stress salin du NaCl est presque similaires au témoin chez Djadida, et aucun changement n'est marqué, sauf au traitement 100 meq.l<sup>-1</sup> de NaCl (T2) qui a révélé une valeur de 3,06 % et celui combiné avec 150 meq.l<sup>-1</sup> de CaCl<sub>2</sub> (T5) qui a enregistré une valeur de 3,04%, qui provoquent des diminutions significatives par rapport au traitement témoin (4,97 %).

Chez Sidi Ferredj, les différentes doses du groupe NaCl et les doses groupes CaCl<sub>2</sub> donnent des taux presque similaires d'hémicelluloses racinaires, mais restent significatives et inférieures par rapport au témoin (6,03 %), sauf le traitement T4 de CaCl<sub>2</sub> qui indique des valeurs proches de celles du teste témoin (4,99 %).

Le taux en hémicelluloses des feuilles des deux cultivars sous stress combiné NaCl+CaCl<sub>2</sub> enregistrent des valeurs inférieures à celle obtenues au témoin mais la 1 ère dose de CaCl<sub>2</sub> a atténué l'effet de NaCl et donne des valeurs approximatives avec un effet non significatif au niveau racinaires chez les deux cultivars. Le Ca<sup>2+</sup> assure un rôle important dans la stabilité des structures pariétales (Dupont et al., 1990), c'est un facteur important dans le maintien de l'intégrité structurelle et fonctionnelle de la membrane (Epstein, 1972; Lauchli et Epstein, 1970; Legge et al., 1982).

La membrane cellulaire et la paroi cellulaire ont une charge négative en raison des groupes carboxyliques et phosphoriques, le calcium agit comme un pont électrique entre ces charges et renforce la membrane cellulaire et la paroi cellulaire. D'autre part, l'existence d'un tel ion dans l'espace intercellulaire des composés pectiques est responsable à la stabilité des tissus (Marschner, 1995).

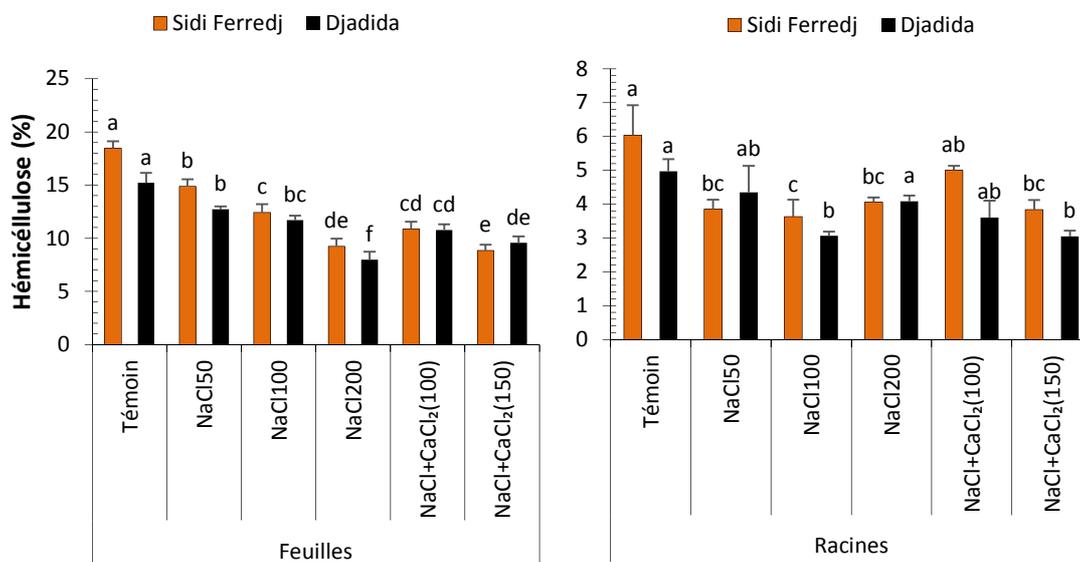


Figure 25. Variation du taux de l'hémicellulose chez les deux cultivars de haricot en fonction de différentes concentrations de solutions salines.

N.B. Les Barres avec des lettres similaires ne sont pas significativement différentes. ( $p > 0,05$ ).

Nous savons que l'hémicellulose peut former un réseau primaire via une liaison hydrogène avec des microfibrilles de cellulose (Cosgrove, 2005). Le changement de structure et de la composition de l'hémicellulose est un moyen pour l'extension de la paroi et l'élongation cellulaire, de ce fait c'est un composant essentiel pour le maintien de la paroi.

Des diminutions de la teneur en hémicellulose foliaire sont observées chez les deux cultivars étudiés en fonction de l'intensité du stress par du NaCl, qui a également entraîné des diminutions de ce paramètre au niveau racinaires chez Sidi Ferredj, l'autre cultivar Djadida n'a marqué aucun effet significatif sauf à la concentration de  $100 \text{ meq.l}^{-1}$  de NaCl. Nos résultats concorde avec celle obtenus par Ben Nja, (2014), où le traitement de la luzerne avec  $150 \text{ mM}$  de NaCl se traduit par une baisse de 20% à 50 % des proportions relatives des hémicelluloses dans les feuilles, en outre, le taux de l'hémicellulose a affiché un niveau d'équilibre chez les racines d'un génotype de soja tolérant au sel en réponse au stress salin (An et al., 2014). Une autre suggestion signalée par Mustard et Renault, (2004) chez les plantes de cornouiller rouge une plante adaptée au sel, la composition en

hémicellulose n'a pas été altérée malgré une diminution de la croissance des plantes est observé.

Des résultats obtenus par Sadak, et *al.*, (2010) et Taie, *al.*, (2013) et Sadak, et *al.*, (2015) sur les plants de féverole montrent une diminution significative de la teneur totale en polysaccharides des feuilles de féverole ; cette tendance pourrait résulter d'une réduction de l'activité photosynthétique et/ou de la respiration afin de fournir suffisamment d'énergie pour l'absorption d'eau et de nutriments.

Piro, et *al.*, (2003) ont rapporté que la biosynthèse des polysaccharides de la paroi cellulaire a diminué de moins dans le cultivar de blé résistant à la sécheresse que dans le cultivar sensible sous stress hydrique, tandis que Aquino, et *al.*, (2011) ont cultivé des plantes d'*Oryza sativa* en présence et en absence de 200 mM de NaCl, la concentration en polysaccharides carboxyles a été multipliée par plus de trois chez les plantes cultivées en présence de sel.

## **V.2.2. Effet de la salinité sur l'accumulation des composés Azotés**

### **V.2.2.1. Accumulation des protéines totale**

Les résultats indiqués dans la figure 26, indiquent que l'addition du sel à différentes concentrations à la solution d'arrosage, modifie la teneur des protéines totale.

On observe, alors, une baisse du contenu en protéines au niveau des feuilles des deux cultivars à raison de (28,85 % ; 26,47% et 12,19%) chez Djadida et (23,45 % ; 19,42% et 11,14%) chez Sidi Ferredj au traitement T1, T2 et T3 respectivement, par rapport au traitement T0 (30,64 % et 29,26 %).

Nous pouvons déduire que la variété Sidi Ferredj affiche des réductions significatives en fonction de l'intensité du stress salin ; si on la compare au test témoin et même au cultivar Djadida.

En outre, et au niveau des racines du cultivar Djadida, nous constatons que l'accumulation des protéines à des concentrations modérées de NaCl T1 et T2 (50 meq.l<sup>-1</sup> et 100 meq.l<sup>-1</sup>), (19,04% et 21,37 %) , ne présente aucun effet significatif, par rapport aux test témoins (17,04 %) .Cela est considéré comme une réponse adaptative de cet organe, face au stress salin à des concentrations modérées.

Par contre chez le cultivar Sidi Ferredj la teneur en protéine au niveau des racines, montre une fluctuation considérable ; elle augmente significativement sous l'effet

du traitement T1 (50 meq.l<sup>-1</sup> de NaCl) (20,10 %) par rapport au test témoin (16%), puis une chute importante et significative réapparaît sous les traitements 100 meq.l<sup>-1</sup> et 200 meq.l<sup>-1</sup> de NaCl avec des teneurs de (14,78% et 6,15 %) respectivement.

Cependant, les plantes arrosées au NaCl+CaCl<sub>2</sub> (T4, T5) par rapport à celles arrosées seulement au NaCl, présentent une amélioration des teneurs en protéines totales aux niveaux des deux organes du cultivar Djadida, tandis que chez Sidi Ferredj l'apport du CaCl<sub>2</sub> (T4 et T5) n'a pas amélioré la quantité des protéines totale par rapport à ceux enregistrés chez les plantes témoins.

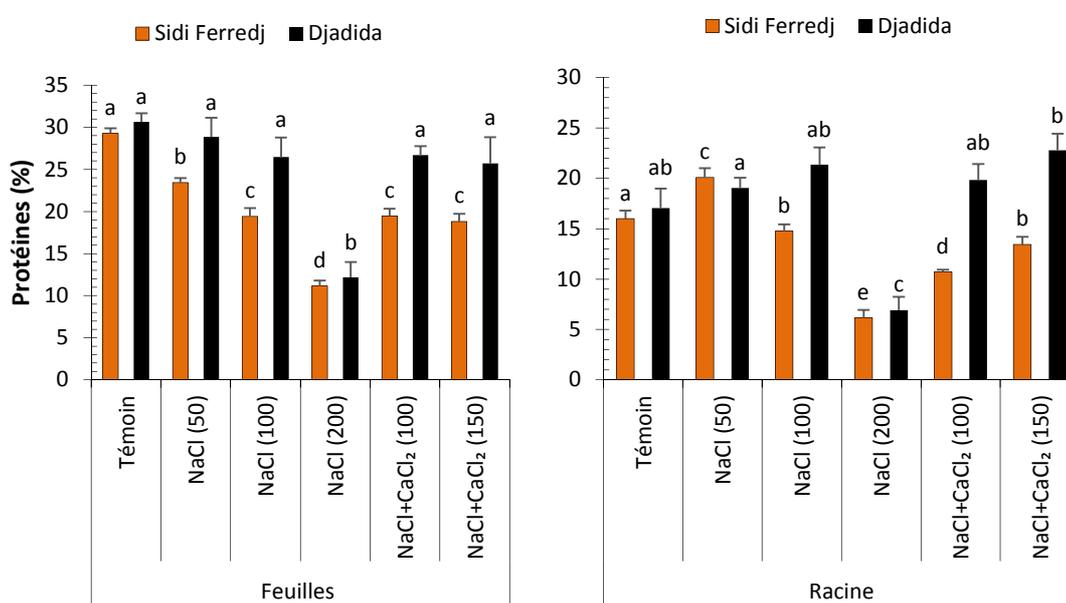


Figure 26 . Variation des teneurs des protéines totales (%) chez les deux cultivars de haricot en fonction de différentes concentrations salines.

NB .Les Barres avec des lettres similaires ne sont pas significativement différentes ( $p > 0,05$ ).

L'accumulation des protéines, sous l'effet du sel, peut jouer un rôle majeur en termes de tolérance, où les protéines peuvent servir comme de réservoir d'énergie ou peuvent être un ajusteur du potentiel osmotique dans les plantes soumises à la salinité (Pessaraki et Huber, 1991 ; Ingram et Bartels, 1996; Mansour, 2000).

Des résultats rapportés par Meloni, et al., (2004) et Yurekli, et al., (2004) en travaillant sur *Phaseolus vulgaris*, résument que les teneurs en protéines des feuilles ont diminué en réponse à la salinité (Alamgir et Al, 1999; Agastian et al., 2000; Gadallah, 1999; Muthukumarasamy et al., 2000; Parida et al., 2002). En outre, d'autres études soutiennent nos résultats, comme André et Dias (2004) dans leurs travaux sur le sorgho,

Khosravinejad, et *al.*,(2009) sur deux variétés de l'orge (*Hordeum vulgare*.L.) (Afzal et EMB2-12), Amini, et *al.*,(2007) dans leurs travaux sur la variété de tomate (Shirazy), aussi , Chen, et *al.*, (2007) ont constaté que l'exposition des plantes de (*Vigna unguiculata* L.) âgés de 14 jours à un traitement salin en utilisant 75 mM de chlorure de sodium réduit la teneur en protéines.

La salinité interfère avec la consommation et l'absorption de l'azote, les conditions salines affectent les différents stades du métabolisme azoté comme l'absorption, la réduction ionique et la synthèse des protéines. D'autre part, cette diminution des teneurs foliaires en protéines sous stress salin serait en partie, due à l'effet inhibiteur du NaCl sur la nodulation et sur la fixation symbiotique de l'azote (Zahran, 1999 ), peut être due aux changements dans l'activité cytoplasmique et de leur niveau à la suite de la perturbation du mécanisme de synthèse.

Cependant, cette réduction des taux des protéines totales foliaires de *Phaseolus vulgaris* soumise à la salinité est surtout liée à l'inhibition de la voie métabolique des protéines (Doganlar, et *al.* 2010), aussi dû probablement à une dégradation de ces composés pour fournir des acides aminés qui jouent un rôle important dans l'ajustement osmotique (Mohammadkhani et Heidari, 2007), due aussi à la protéolyse accélérée et à la dénaturation des enzymes impliquées dans leur synthèse (Jaleel et *al.*, 2007; Lakhdar et *al.*, 2008) ;peut-être dû aussi due à la baisse de l'activité photosynthétique suite à la dégradation des pigments chlorophylliens (Santiago et *al.*, 2000 ).

#### **V.2.2.2. Accumulation de Proline**

Les résultats obtenus quant au dosage de la proline montrent que les deux cultivars produisent une teneur plus importante de cet acide aminé quand elles sont soumises à des concentrations de NaCl plus agressives. (Figure .27).

Ainsi, à une concentration modérée de 50 meq.l<sup>-1</sup> de NaCl la teneur en proline passe de (19,77 µg.g<sup>-1</sup> ; 12,22 µg.g<sup>-1</sup>) pour la variété Djadida et de (11,11 µg.g<sup>-1</sup> ; 09,00 µg.g<sup>-1</sup>) pour la variété Sidi Ferredj, à de (40,44µg.g<sup>-1</sup> ; 10,22 µg.g<sup>-1</sup>) pour la variété Djadida et de (61,22µg.g<sup>-1</sup> ; 15,66 µg.g<sup>-1</sup>) pour la variété Sidi Ferredj à une concentration de 200 meq.l<sup>-1</sup> de NaCl, feuilles et racines respectivement, en passant par une teneur de proline de (29,22 µg.g<sup>-1</sup> ; 19,55 µg.g<sup>-1</sup>) pour la variété Djadida et de (50,33 µg.g<sup>-1</sup> ; 25,22µg.g<sup>-1</sup>) pour la variété Sidi Ferredj, à une concentration de 100 meq.l<sup>-1</sup> de NaCl.

---

Le test témoin indique des valeurs relativement faible de ( $16,60 \mu\text{g.g}^{-1}$  ;  $13,77 \mu\text{g.g}^{-1}$ ) pour la variété Djadida et de ( $15,11 \mu\text{g.g}^{-1}$  ;  $12,33\mu\text{g.g}^{-1}$ ) pour la variété Sidi Ferredj, feuilles et racines respectivement.

Par ailleurs, l'application du traitement salin complété avec  $\text{CaCl}_2$ , s'avère relativement intéressant.

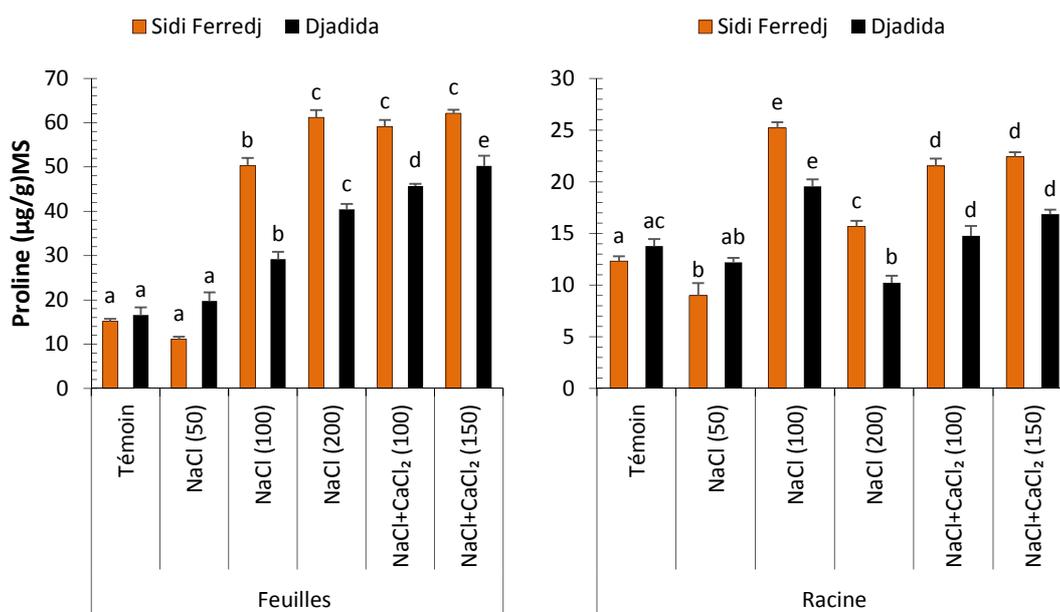


Figure 27. Variation de la teneur en proline chez les deux cultivars de haricot en fonction de différentes concentrations salines.

N.B. Barres avec des lettres similaires ne sont pas significativement différentes ( $p > 0,05$ ).

Les cellules végétales ont une tendance à accumuler des substances d'ajustement osmotiques solubles pour soulager le stress osmotique causé par le stress salin, particulièrement la biosynthèse de proline qui est clairement activée (Silveira et al., 2003). Cet acide aminé majeur s'accumule dans la plante à un taux plus élevé que les autres acides aminés (Torabi et Halim, 2010; Abraham et al., 2003).

L'accumulation rapide de proline libre est typique réponse au stress salin (Parida et al., 2008). Des niveaux de proline ont parfois été signalés dans plusieurs cultivars plus sensibles : dans *Phaseolus vulgaris* (Jiménez-Bremont et al., 2006; Kaymakanova et Stoeva, 2008) dans *Glycine max* (Phang et al., 2008), ainsi que dans d'autres espèces végétales de la famille des Fabacées comme *Cicer arietinum* (Flowers et al., 2010,) et *Pisum sativum* (Shahid et al., 2013.).

Notre étude a révélé que l'accumulation de proline est une réponse commune au stress salin et se concentre préférentiellement dans les feuilles à des teneurs significativement élevées, lorsque la salinité du milieu en NaCl augmente dans les deux cultivars analysés ; ceci est en accord avec les résultats publiés précédemment.

Cependant, l'accumulation du taux de proline induite par des concentrations élevées (200 meq.l<sup>-1</sup>) de NaCl était considérablement plus élevée chez Sidi Ferredj que son homologue Djadida. Des réponses Similaire ont été démontrées par Hassanein et *al.*, (2012) chez *Vicia faba* cv. Sakha, qui montrent une augmentation des teneurs en proline plus importante en cas de stress sévère ; aussi ce constat a préalablement été rapporté par Lutts, et *al.* (1999) qui montrent que la concentration de proline dans les sensibles cultivars de riz était plus élevée que les génotypes tolérants, par Bidai, (2001) et Djerroudi, et *al.*,(2010) chez l'*Atriplex* et par EL-iklil, et *al.*, (2002) chez la tomate.

L'accumulation de la proline dans les plantes soumises à une contrainte est le résultat de deux voies : l'augmentation de l'expression des enzymes de synthèse de la proline (1-pyrroline-5-carboxylate synthétase (P5CS) et 1-pyrroline-5-carboxylate réductase (P5CR) et l'activité réprimée de la dégradation de Proline (Delauney et Verma, 1993; Peng et *al.*, 1996) avec une faible activité des enzymes oxydants (proline déshydrogénase) qui est contrôlée par les stress osmotique et salin (Rivero et *al.*, 2014).

Il existe également des rapports opposés, des niveaux élevés de proline ont parfois été signalés dans plusieurs cultivars de soja tolérantes au sel que dans les moins tolérants (Cárdenas-Avila et *al.*, 2006) , les mêmes résultats dans la luzerne ont été trouvées par Fougère, et *al.*,( 1991) et sur le riz, le sorgho et le maïs, en comparant les variétés résistantes et les variétés sensibles au niveau de la même espèce (Iqbal et *al.*, 2015). Certains auteurs admettent que l'accumulation de proline dans certaines plantes était une conséquence d'une blessure au sel et non pas d'une condition préalable à la tolérance au sel pour l'ajustement osmotique qui a toujours été considéré comme la fonction principale des osmolytes chez les plantes (Hasegawa et *al.*, 2000) , mais ce n'est pas toujours le cas, en particulier chez les glycophytes exposés au sel par exemple ; l'accumulation de proline chez *Arabidopsis thaliana* est trop faible pour jouer un rôle dans l'ajustement osmotique des cellules (Liu et Zhu, 1997; Ghars et *al.*, 2008) et comme le montre le riz (De Lacerda et *al.*, 2003).

La Proline semble être un marqueur fiable de stress dans *Phaseolus*, mais la corrélation entre l'accumulation de proline et la tolérance au stress est restée floue, bien qu'il y ait controverse concernant si son accumulation est un mécanisme de résistance au stress, un simple indicateur de l'existence de stress (Thakur et Sharma, 2005) ou est un signe de perturbation métabolique (Cheikh M'hamed et *al.*, 2008).

L'addition du  $\text{CaCl}_2$  à différentes concentrations a indiqué des accumulations significatives de la teneur en proline dans les feuilles et les racines des deux cultivars par rapport aux plantes de contrôles. Ces résultats sont compatibles avec les travaux qui sont faits sur *Vigna radiata* L (Wilczek) où la teneur en proline s'accroît sous stress salin au  $\text{NaCl}+\text{CaCl}_2$  (Paramasivan et *al.*, 2007). Selon Manivannan, Jalee, et *al.*, (2007a) l'ajout de  $\text{CaCl}_2$  au  $\text{NaCl}$  augmente la teneur en proline, principalement en raison de la dégradation des protéines et la synthèse de la proline.

### V.2.3. Effet de la salinité sur les composés lipidiques

Les résultats de ce paramètre sont indiqués dans la figure 28. Ce paramètre présente, aussi, une caractéristique des deux cultivars stressés par différentes concentrations de solutions saline ; en effet, la teneur en matière grasse connaît une baisse significative dans les feuilles des deux cultivars étudiés, à partir de  $100 \text{ meq.l}^{-1}$  de  $\text{NaCl}$  chez Djadida (1,11 %) et à partir de  $50 \text{ meq.l}^{-1}$  de  $\text{NaCl}$  chez Sidi Ferredj (1,16 %) comparativement aux plantes témoin (2,77 % ; 2,14%).

L'addition du  $\text{CaCl}_2$  aux solutions salines (T4 et T5) exprime des différences non significatives aux niveaux des feuilles des plantes des deux cultivars, par rapport aux plantes traités qu'avec  $100 \text{ meq.l}^{-1}$  et  $200 \text{ meq.l}^{-1}$   $\text{NaCl}$ , mais ces diminutions paraient significatives par rapport au traitement témoin, avec des valeurs de (0,94% ; 0,86% ) et (0,64% ; 0,59%) pour la variété Djadida et Sidi Ferredj respectivement et (2,77% et 2,14%) pour le teste témoin.

Nous déduisant que le traitement combiné (T4 et T5) n'affecte pas significativement la teneur des lipides foliaire par rapport aux concentrations  $100 \text{ meq.l}^{-1}$  et  $200 \text{ meq.l}^{-1}$  de  $\text{NaCl}$  chez les deux cultivars malgré une légère augmentation par rapport à  $200 \text{ meq.l}^{-1}$  de  $\text{NaCl}$  est observé.

Toutes les plantes à racines présentent une très faible teneur en lipides. Il s'agit principalement de lipides structuraux de la membrane cellulaire qui renforcent l'intégrité

cellulaire, offrent une résistance aux meurtrissures et contribuent à réduire le brunissement enzymatique (Mondy et Mueller 1977); la raison pour laquelle on n'a pas procédé au dosage des lipides au niveau des racines de l'espèce sujet de notre étude.

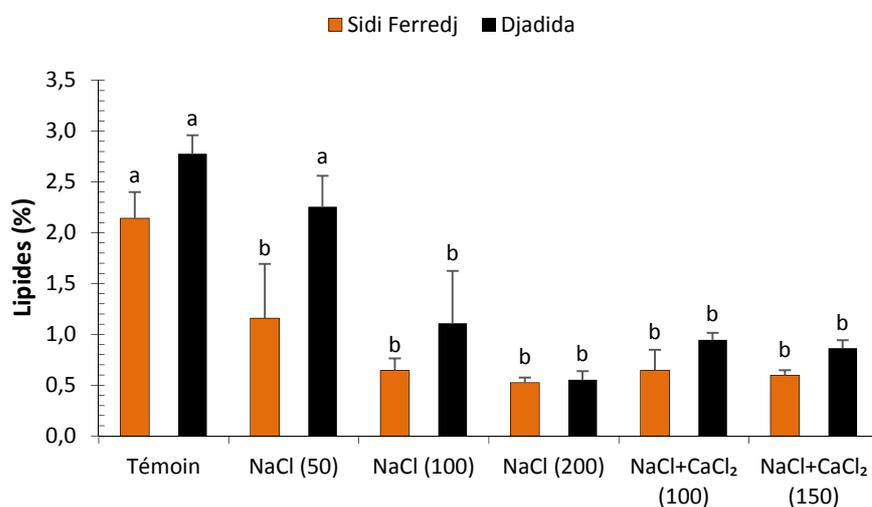


Figure 28. Variation de la teneur des lipides des feuilles des deux cultivars de haricot en fonction des différentes concentrations de solutions salines.

N.B. Les Barres avec des lettres similaires ne sont pas significativement différentes ( $p > 0,05$ ).

Nous déduisant que la présence de sel dans le milieu entraîne une baisse substantielle des teneurs en lipides des feuilles des deux cultivars comparativement au témoin. Nos résultats sont en accord avec Taffouo, et *al.*, (2004) qui ont noté que l'augmentation de la concentration en sel dans le milieu réduisait significativement la teneur des feuilles en lipides chez *Glycine max* L., *Mucuna poggei* Taub., *Phaseolus adenanthus* L., *Phaseolus vulgaris* L. et *Vigna unguiculata* L.

Ces résultats concordent aussi avec ceux de Gharsal et Cherif, (1979) qui ont indiqué que le pourcentage des acides gras augmente avec la croissance chez les plants de tournesol (*Helianthus annuus*) en milieu non salé tandis qu'en présence de NaCl, il en résulte une baisse. Une réduction de la teneur en lipides sous stress salin a également été observée chez un cultivar d'orge sensible au sel *Hordeum. Vulgare* L. cv. Manel, alors qu'aucun changement n'a été observé dans une espèce sauvage tolérante au sel *Hordeum maritimum* (Chalbi et *al.*, 2013). De même, les travaux de Müller et Stantarius, (1978) révèlent que l'augmentation de la pression osmotique par le polyéthylène glycol n'entraîne

pas de changement significatif dans les lipides membranaires du chloroplaste d'orge mais serait plutôt due à l'action ionique du chlorure de sodium.

Dans ces conditions, il a été suggéré que la diminution de la teneur totale en lipides membranaires induite par le stress était une conséquence de l'amélioration de la lipolyse et de la peroxydation, ainsi que des voies d'inhibition de la biosynthèse des lipides (Li et *al.*, 2008; Yasar et *al.*, 2010).

D'autres auteurs envisagent un effet direct sur le système enzymatique de désaturation des lipides. Le sel provoquerait une inhibition ou le ralentissement de l'activité de cette désaturase. Taamalli, et *al.*, (2004) montrent que le sel à fortes concentrations ralentit la mobilisation des réserves lipidiques ainsi que la teneur et la composition des différentes catégories des lipides.

**Chapitre VI : Potentiel phytochimique  
fonctionnel de (*Phaseolus vulgaris*. L) sous  
stress salin.**

---

Nous rappelons que l'objectif de cette partie du travail est d'évaluer le potentiel fonctionnel des deux cultivars de le haricot commun en quantifiant les composés terpénoïdes (les chlorophylles et les caroténoïdes) et les composés phénoliques (les phénols totaux, les flavonoïdes et les tannins), qui représentent une forme d'adaptation au stress salin.

## **VI.1. Matériel et Méthodes**

### **VI.1.1. Matériel Végétal**

Le matériel végétal utilisé est bien les feuilles et les racines des deux cultivars Djadida et Sidi Ferredj qui ont été précédemment récoltées, séchées au laboratoire à une température entre 35 à 40 °C pendant 48 heures dans une étuve, puis broyées en poudre à l'aide d'un broyeur électrique et conservés dans des flacons en verre. Les poudres constituent une matière très importante pour notre étude, dont une partie a été utilisée pour l'analyse des paramètres phytochimiques. Nous signalons que pour certaines analyses on utilise le matériel végétal à l'état frais.

### **VI.1.2. Méthodologies retenues**

#### **VI.1.2.1. Dosage des chlorophylles et des caroténoïdes**

Les teneurs en chlorophylle (a), chlorophylle (b), les Caroténoïdes (Car) et chlorophylle totale sont déterminées, selon la méthode de Lichtenthaler, (1987) et Shabala, et *al.*(1998), au niveau d'une prise d'essai des feuilles des deux cultivars.

##### **➤ Protocole expérimental**

Dans des tubes à essais, on ajoute sur 100 mg d'échantillon frais, coupé en petits fragments, 10 ml d'acétone à 95 %, l'ensemble est conservé à l'obscurité à 4 °C pendant 48 heures. Les concentrations des chlorophylles et les caroténoïdes dans les feuilles sont déterminés à l'aide d'un spectrophotomètre à des densités optiques respectives de 663nm, 645nm et 470 nm. (Figure. 29).

L'appareil est étalonné avec la solution témoin à base d'acétone à 95 %, les équations suivantes sont utilisées pour calculer les concentrations des chlorophylles et les caroténoïdes (en µg/g MF) :

$$\text{Chl (a)} = 12,25 \times A_{663} - 2,79 \times A_{645}$$

$$\text{Chl (b)} = 21,50 \times A_{645} - 5,10 \times A_{663}$$

$$\text{Chl T} = \text{Chl a} + \text{Chl b.}$$

$$\text{Caroténoïdes} = (1000 \times A_{470} - 1,82 \times \text{Chl a} - 85,02 \times \text{Chl b})/198. \text{ (Wang, et al., 2010).}$$



Figure 29. Dosage et extraction des chlorophylles. (Laredj-Zazou, 2018).

#### VI.1.2.2. Extraction des composés phénoliques

Les extraits ont été préparés à partir des feuilles et des racines des deux cultivars Djadida et Sidi Ferredj. La méthode d'extraction optée est celle du liquide-liquide.

Ainsi, 1 g de feuilles sèches en poudre a été placé dans un Erlenmeyer, mélangé avec 20 ml de méthanol (96 %) pendant 24 heures. Après filtration (en utilisant du papier wattman), les solutions méthanolique ont été évaporées, sous pression réduite, dans un évaporateur rotatif, à une température de 60 °C.

Les extraits obtenus ont été conservés et stockés dans des tubes couverts du papier aluminium au réfrigérateur à 4 °C et à l'abri de la lumière jusqu'au moment de leur utilisation (Basli et *al.*, 2012 ) ; Les mêmes procédés ont été appliqués sur les racines (Figure.30)



Figure 30. Macération de la poudre végétale et filtration (Laredj-Zazou, 2018).

#### VI.1.2.3. Criblage phytochimique

Les tests phytochimiques ont pour but de caractériser la présence ou l'absence des constituants phytochimique au sein d'une plante. Les résultats sont notés

---

immédiatement après la fin de la réaction de chaque extrait de la plante, en présence des différents réactifs utilisés dans ces tests.

#### **Caractérisation des terpénoïdes**

On prend 5 ml de chaque extrait dans des tubes à essais et on ajoute 2 ml de chloroforme pur (CHCl<sub>3</sub>) et 3 ml d'acide sulfurique (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) 96 % (goutte à goutte). Un test positif est révélé dès l'apparition d'une coloration rouge marron (Abdul et al., 2013).

#### **Caractérisation des phénols**

On traite un ml de chaque extrait avec quelques gouttes d'acide nitrique (HNO<sub>3</sub>) diluée à 1 %. La présence des phénols est mise en évidence par l'apparition d'une couleur jaune orangé (Ramkrishna et al., 2013).

#### **Caractérisation des flavonoïdes**

On traite un ml de chaque extrait avec quelques gouttes de soude (NaOH) dilué à 4 %. La couleur vire au jaune intense en présence de flavonoïdes (Mohammad Amzad et al., 2013).

#### **Caractérisation des anthocyanes**

2 ml d'infusé sont ajoutés à 2 ml d'acide chlorhydrique 2 N. L'apparition d'une coloration rose rouge qui vire au bleu violacé par addition d'ammoniac indique la présence d'anthocyanes (Debray et al., 1971).

#### **Caractérisation des proanthocyanidols**

2 ml d'infusé sont additionnés 2 ml d'acide chlorhydrique concentré ; le tout est laissé pendant cinq minutes dans un bain-marie bouillant ; l'apparition d'une coloration rouge indique une réaction positive.

#### **Caractérisation des tanins**

On ajoute à un 1 ml de chaque extrait, 2 ml d'eau distillée et 2 à 3 gouttes de trichlorure de fer (FeCl<sub>3</sub>) à 1 %. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration verdâtre (tanins catéchique) ou bleu noirâtre (tanins galliques).(Ramkrishna et al., 2013).

#### **Caractérisation des saponines**

Les extraits ont été dilués avec 20 ml l'eau distillée, puis secoués dans un cylindre gradué pendant 15 minutes. La formation d'une couche de mousse de 1 cm indique la présence des saponines (Prashant et al., 2011).

#### VI.1.2.4. Dosage des phénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux par le réactif de Folin-Ciocalteu a été décrit par Singleton et Joseph (1965). Le réactif est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>43</sub>) et d'acide phosphomolybdique (H<sub>3</sub>PMo<sub>12</sub>O<sub>40</sub>). Il est réduit lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (Ribéreau-Gayon, 1968). La coloration produite, dont l'absorption maximum est comprise entre 725nm et 765 nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (Boizot et Charpentier, 2006).

##### ➤ Protocole expérimental

Un volume de 250 µl de l'extrait brut méthanolique est introduit dans des tubes à essai, le mélange (1 ml du réactif de Folin-Ciocalteu dilué 10 fois et 0,8 ml de carbonate de sodium à 7.5 %) est additionné. Les tubes sont agités et conservés durant 30 minutes à la température ambiante (figure .31)

L'absorbance est mesuré à 765 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre Jenway 6504 UV/VIS (Figure.32).

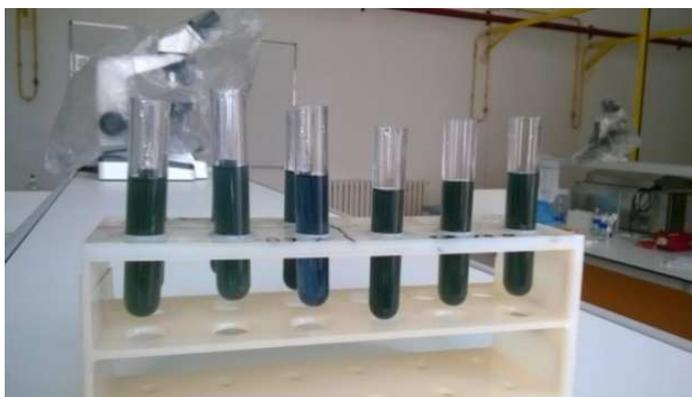


Figure 31. Dosage des polyphénols (Laredj-Zazou, 2018).

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme contrôle positif.

Les résultats sont exprimés en milligramme (mg) équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg GAE/g MS).



Figure 32. Spectrophotomètre

#### VI.1.2.5. Dosage des flavonoïdes

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode adaptée par (Zhishen *et al.*, 1999), avec le trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) et la soude ( $\text{NaOH}$ ). Le trichlorure d'aluminium forme un complexe jaune avec les flavonoïdes et la soude forme un complexe de couleur rose absorbe dans le visible à 510 nm.

##### ➤ **Protocole expérimental**

500  $\mu\text{l}$  de l'extrait brut méthanolique des feuilles convenablement diluées sont mélangés avec 1500  $\mu\text{l}$  d'eau distillée, suivis de 150  $\mu\text{l}$  de nitrite de sodium ( $\text{NaNO}_2$ ) à 5 %. Après 5 minutes, 150  $\mu\text{l}$  de trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) à 10 % (m/v) est rajouté au mélange. Après 6 minutes d'incubation à l'obscurité et à la température ambiante, 500  $\mu\text{l}$  d'hydroxyde de sodium ( $\text{NaOH}$ ) à 4 % est additionné. Immédiatement, le mélange est complètement agité afin d'homogénéiser le contenu. L'absorbance de la solution de couleur rosâtre est déterminée à 510 nm contre un test à blanc (Figure.33).

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant de la catéchine comme contrôle positif (Annexe c). Les mêmes procédés ont été appliqués sur les racines.



Figure 33. Dosage des flavonoïdes (Laredj-Zazou, 2018).

La teneur en flavonoïdes totaux des extraits des deux cultivars étudiée est exprimée en milligramme (mg) équivalent de la catéchine par gramme de matière sèche (mg EC/g MS).

#### VI.1.2.6. Dosage des tanins condensés

Les tanins condensés sont déterminés par la méthode à la vanilline en milieu acide (Price *et al.*, 1978). Cette méthode est basée sur la capacité de la vanilline à réagir avec les unités des tanins condensés en présence d'acide pour produire un complexe coloré mesuré à 500 nm. La réactivité de la vanilline avec les tanins n'implique que la première unité du polymère. Les quantités des tannins sont estimées en utilisant la méthode de vanilline décrite par (Julkunen-Titto, 1985).

##### ➤ **Protocol expérimental**

Un volume de 50  $\mu$ l de l'extrait brut est ajouté à 1500  $\mu$ l de la solution vanilline/méthanol (4%, m/v) puis mélangé à l'aide d'un vortex. Ensuite, 750  $\mu$ l de l'acide chlorhydrique concentré (HCl) est additionné. Le mélange obtenu est laissé réagir à la température ambiante pendant 20 min (Figure.34).

L'absorbance est mesurée à 550 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre Jenway 6504 UV/VIS.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant de la catéchine comme contrôle positif. (Annexe c).

Les résultats de des deux cultivars étudiés sont exprimés en milligramme (mg) équivalent de la catéchine par gramme de matière sèche (mg EC/g MS).

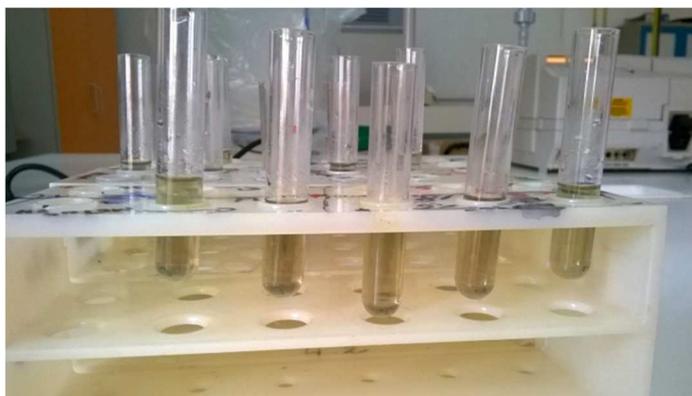


Figure 34. Dosage des tanins condensés (Laredj-Zazou, 2018).

### VI.1.2.7. Détermination de l'activité antioxydante des composés phénoliques extraits des feuilles des deux cultivars de (*Phaseolus vulgaris* .L)

La méthode utilisée pour la détermination de l'activité anti oxydante est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger par Le radical 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl (DPPH). C'est la méthode adéquate pour les composés phénoliques. L'effet de chaque extrait sur le DPPH est mesuré par la procédure décrite par Benhammou, et *al.* (2009). La décoloration de la solution ou la migration de la couleur violette vers la couleur jaune est proportionnelle à la concentration et au potentiel réducteur des échantillons.

L'ajout des échantillons au même volume et à la même concentration va permettre donc une évaluation uniquement du potentiel réducteur.

#### ➤ **Protocol expérimental**

Un volume de 50 µl de différentes concentrations de chaque extrait est ajouté à 1,950 ml de la solution méthanolique du DPPH (2,5 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol.) fraîchement préparée. En ce qui concerne le contrôle négatif, ce dernier est préparé en parallèle en mélangeant 50 µl du méthanol avec 1,950 ml d'une solution méthanolique de DPPH à la même concentration utilisée (Figure.35).

Après incubation à l'obscurité pendant 30 minutes et à la température ambiante, la lecture des absorbances est effectuée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.



Figure 35. Évaluation de l'activité antioxydante des extraits (Laredj-Zazou, 2018).

### ***Expression des résultats***

#### ***Calcul des pourcentages d'inhibitions***

Nous calculons ainsi les pourcentages d'inhibition par la formule suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition (\%)} = \frac{(\text{Abs blanc} - \text{Abs échantillon}) \times 100}{\text{Abs blanc}}$$

#### ***Calcul des IC<sub>50</sub>***

IC<sub>50</sub> ou concentration inhibitrice de 50 % (aussi appelée EC50 pour Efficient concentration 50) est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % de radical DPPH.

Les IC<sub>50</sub> sont calculées graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés, les pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions testées.

## **VI.2. Résultats et discussion**

### **VI.2.1. Résultat de l'effet de la salinité sur les pigments chlorophylliens**

#### **VI.2.1.1. Teneur en Chlorophylle a (Chl a)**

Les résultats de cette étude indiquent que la teneur en chlorophylle (a) est significativement diminuée chez les deux cultivars en présences des deux traitements de sels utilisés, le NaCl seul et le NaCl combinée au CaCl<sub>2</sub> (Fig.36).

Aussi le cultivar Sidi Ferredj est la plus affecté par le sel, en constatant baisser sa teneur en chlorophylle(a) de 83 % par rapport au témoin, en présence du T1 (50 meq.l<sup>-1</sup> de NaCl), tandis que le cultivar Djadida présente une réduction de 26 % seulement.

Les réductions enregistrées respectivement chez Djadida et Sidi Ferredj en présence du T2 (100 meq.l<sup>-1</sup> NaCl) sont de 75 % et 84 % par rapport aux témoins, alors que le taux de réduction le plus marqué en Chl(a) est de 91 % et 90 % au traitement T3 (200 meq.l<sup>-1</sup> NaCl) respectivement pour les deux cultivars Sidi Ferredj et Djadida.

L'application des différentes concentrations de NaCl+CaCl<sub>2</sub> (T4 et T5), permet d'avoir une différence significative, quant à la teneur en chlorophylle (a) et par rapport aux tests témoins.

Ainsi, en présence du T4 et T5 le taux en Chl (a) enregistré chez le cultivar Sidi Ferredj est de  $0,74 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{MF}$  et  $0,89\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{MF}$  respectivement, alors que celui enregistré chez Djadida est de  $1,26 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{MF}$  et  $1,23 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{MF}$  respectivement.

Par contre les plantes témoins qui n'ont reçus aucun traitement du sel, présentent des teneurs de  $8,39 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{MF}$  chez Djadida et  $7,60 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{MF}$  chez Sidi Ferredj.

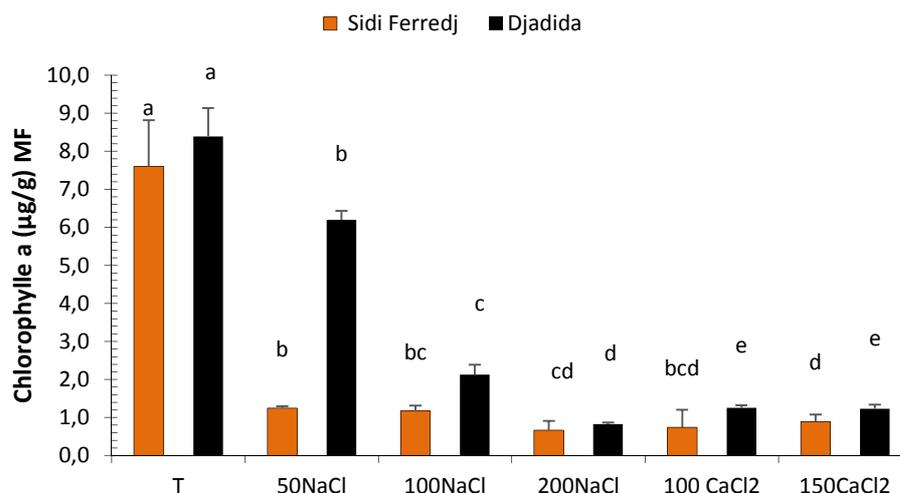


Figure 36. Variation de la teneur en chlorophylle (a) des feuilles des deux cultivars de haricot en fonction de différentes concentrations salines.

N.B. Les Barres avec des lettres similaires ne sont pas significativement différentes ( $p > 0,05$ ).

### VI.2.1.2. Teneur en Chlorophylle b (Chl b)

La présence du sel dans le milieu engendre également des baisses des teneurs en chlorophylle (b) chez les deux cultivars (fig. 37).

Les réductions des teneurs les plus importantes ont été notées à partir de  $100 \text{ meq}\cdot\text{l}^{-1}$  de NaCl (T2) chez Djadida (66 %) et à partir de  $50 \text{ meq}\cdot\text{l}^{-1}$  NaCl (T1) chez Sidi Ferredj (68 %).

Le traitement combiné au  $\text{CaCl}_2$  (T4 et T5) ne présente pas de différence significative de chlorophylles (b) par rapport aux plantes traitées au NaCl seul chez les deux cultivars, avec des valeurs de  $(1,39 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{MF}$  et  $1,40 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{MF}$ ) respectivement chez Djadida et des valeurs de  $(0,67 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{MF}$  et  $1,04 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{MF}$ ) respectivement chez le cultivar Sidi Ferredj.

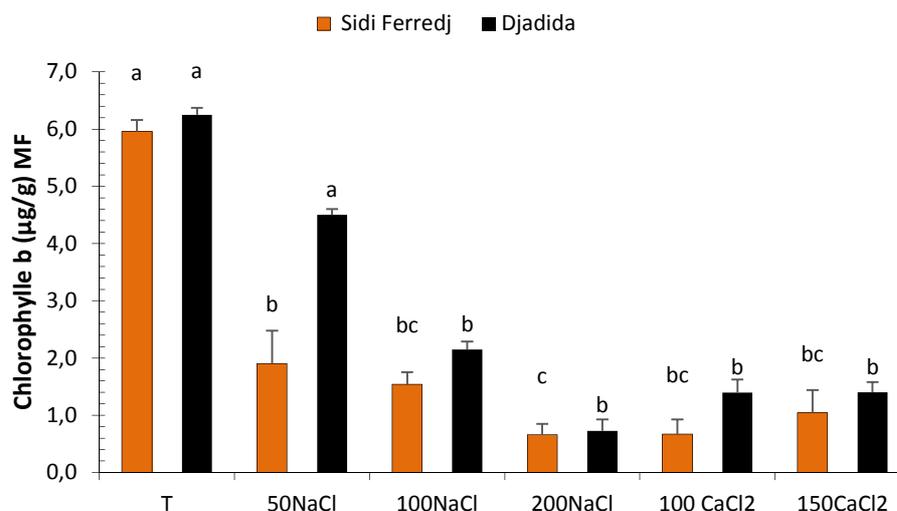


Figure 37. Variation de la teneur en chlorophylle (a) des feuilles des deux cultivars de haricot en fonction de différentes concentrations salines.

N.B. Les Barres avec des lettres similaires ne sont pas significativement différentes ( $p > 0,05$ ).

### VI.2.1.3. Teneur en caroténoïdes

Les résultats obtenus en figure 38 illustrent que la teneur des caroténoïdes la plus élevée est enregistrée chez les témoins avec une valeur maximale de  $0,49 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{MF}$  et  $0,54 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{MF}$ , chez Sidi Ferredj et Djadida respectivement, puis une baisse du contenu des caroténoïdes est observée avec l'augmentation des concentrations salines appliquées (T1, T2 et T3) qui enregistrent des valeurs de ( $0,38 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{MF}$  ;  $0,21 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{MF}$  et  $0,15 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{MF}$ ) chez le cultivar Sidi Ferredj et de ( $0,51 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{MF}$  ;  $0,42 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{MF}$  et  $0,35 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{MF}$ ) chez le cultivar Djadida .

Nous déduisons que l'application de  $\text{CaCl}_2$  (T4 et T5) présente des réductions qui paraissent non significatives entre le groupe du traitement du  $\text{NaCl}$  seul (T1, T2 et T3) et le groupe du traitement du  $\text{NaCl}$  associé au  $\text{CaCl}_2$  (T4 et T5), pour les deux variétés.

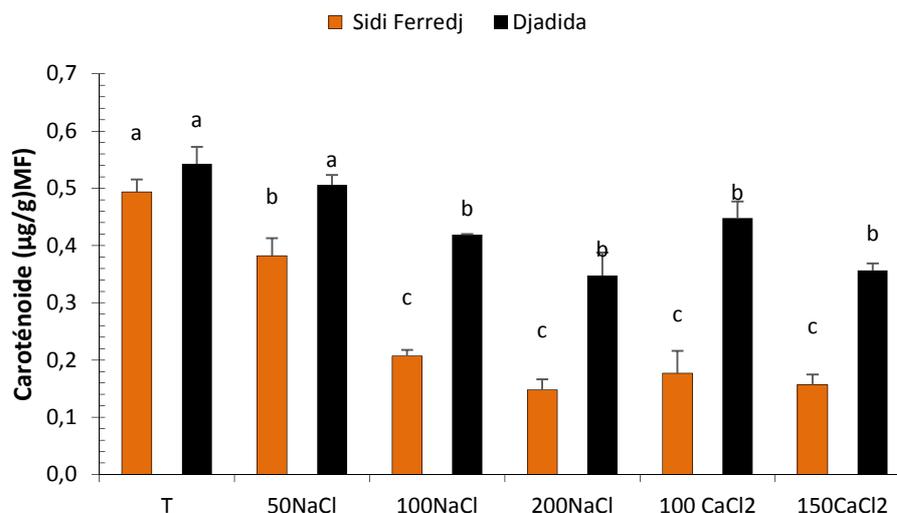


Figure 38. Variation de la teneur en caroténoïde des feuilles des deux cultivars de haricot en fonction de différentes concentrations salines.

N.B : Les Barres avec des lettres similaires ne sont pas significativement différentes ( $p > 0,05$ ).

#### VI.2.1.4. Teneur en Chlorophylle totale (chlorophylle a + chlorophylle b)

Les teneurs en chlorophylle totale des deux cultivars étudiées sont réduites de manière significative sous l'effet des différentes concentrations du sel (Figure 39).

Nous constatant que Sidi Ferredj s'avère être la plus touchée, avec un taux de réduction de (90 %), en chlorophylle totale, aux concentrations sévères (200 meq.l<sup>-1</sup> de NaCl), et même des baisses ont été enregistrées à partir de 50 meq.l<sup>-1</sup> de NaCl (T1), avec un taux de réduction de (77 %).

Le cultivar Djadida affiche une réduction de 27 % en Chlorophylle totale au T1 (50 meq.l<sup>-1</sup> de NaCl) et une réduction de 89 % en Chlorophylle totale à la concentration de 200meq.l<sup>-1</sup> de NaCl (T3).

L'application de CaCl<sub>2</sub> à différentes concentrations (T4 et T5) n'a pas vraiment amélioré la teneur en chlorophylle totale chez les deux cultivars étudiés, avec une nette signification de l'effet dépressive de la salinité sur ce paramètre est observée. En effet les valeurs enregistrés chez Djadida sont de (2,65 µg.g<sup>-1</sup>MF et 2,63 µg.g<sup>-1</sup>MF) respectivement contre un témoin de 14.64 µg.g<sup>-1</sup>MF et des valeurs enregistrées chez Sidi Ferredj sont de (1,41 µg.g<sup>-1</sup>MF et 1,94 µg.g<sup>-1</sup>MF) respectivement contre un témoin de 13.56 µg.g<sup>-1</sup>MF.

Dans notre étude nous déduisant que le NaCl 100 meq.l<sup>-1</sup> et 200 meq.l<sup>-1</sup> seules réduisait significativement la chlorophylle (a), (b) et les caroténoïdes, alors que

l'application de différentes concentrations de  $\text{CaCl}_2$  n'a pas amélioré ces teneurs mais un léger effet bénéfique du  $\text{CaCl}_2$  sur les niveaux des pigments chlorophylliens était évident à partir de  $150 \text{ meq.l}^{-1}$  de  $\text{CaCl}_2$  par rapport au traitement de  $200 \text{ meq.l}^{-1}$  de  $\text{NaCl}$ .

Le  $\text{Ca}^{2+}$  Supplémentaire ou élevé partiellement améliore ou inverse la perturbation du transport sélectif des ions, de l'équilibre ionique et de la croissance due au stress  $\text{NaCl}$ .

L'addition de  $\text{Ca}^{2+}$  soit comme  $\text{CaCl}_2$  ou  $\text{CaSO}_4$  à tous les niveaux de  $\text{NaCl}$  augmente la teneur en chlorophylle des feuilles de *Phaseolus vulgaris* L. cv. Contenter (Akhavan-Kharazian et al., 1991). Une Supplémentation en  $\text{Ca}^{2+}$  améliorerait la teneur en Chl et en caroténoïdes dans des conditions de stress abiotiques (Ahmad, et al., 2015; Rahman, et al., 2015b). La biosynthèse des caroténoïdes améliorée au cours du stress salin peut être due au fait que les caroténoïdes agissent en tant qu'antioxydant et contribuent à la gestion du stress oxydant (Ahmad, et al., 2016). De plus, la supplémentation en  $\text{Ca}^{2+}$  a augmenté la teneur en caroténoïde, ce qui a réduit les dommages oxydatif causés par la toxicité du sel; ceci est étayé par des études sur deux variétés de poivre (Abbas, et al., 2013) et de pois chiche (Ahmad, et al., 2017).

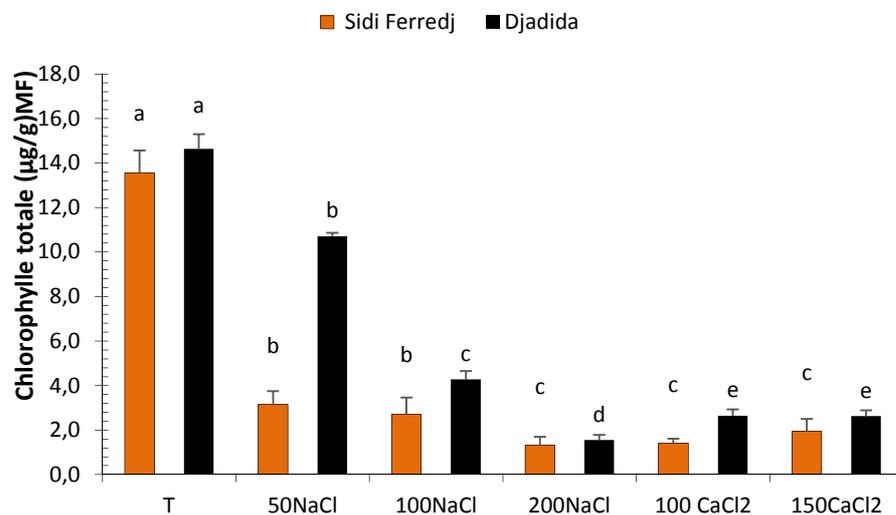


Figure 39. Variation de la teneur de la chlorophylle totale des feuilles des deux cultivars de haricot en fonction de différentes concentrations salines.

N.B : Les Barres avec des lettres similaires ne sont pas significativement différentes ( $p > 0,05$ ).

Les résultats relatifs aux teneurs en pigments chlorophylliens (chlorophylle a, chlorophylle b, caroténoïdes et chlorophylle totale) ont montré que les plantes soumises à

un stress salin qu'il soit modéré ou sévère pour les deux variétés ont présenté de faibles teneurs en chlorophylles et en caroténoïdes en comparaison avec celles des plantes témoins. Cette diminution est d'autant plus marquée avec la sévérité de la contrainte saline.

Nos résultats concordent donc avec ceux trouvés par Taïbi, et *al.*, (2016) ; Bouzid, et *al.*,(2012) qui ont rapporté que la salinité, réduit la teneur des pigments chlorophylliens chez (*Phaseolus vulgaris* .L . cv. Djadida), ElMidaoui, et *al.*,(2007) chez le tournesol, Ibriz, et *al.*, (2007) chez la luzerne, Cheikh, et *al.*, (2008) chez l'orge, Kennedy, et *al.*, (1999) chez *Grevillea ilicifolia* et Ben Abdallah, et *al.*, (2018) chez l'olive (*Olea europaea* L. cv. Chétoui). Aussi Achour (2016) ont signalé que les teneurs en chlorophylle et en caroténoïdes chez le gombo sont influencées négativement par le régime salin.

La réduction des chlorophylles peut être liée à la sensibilité de l'une des étapes de sa biosynthèse, au chlorure de sodium (EL-iklil et *al.*, 2002; Mane et *al.*, 2010). Levingneron, et *al.*, (1995) rapportent que l'effet néfaste de la salinité sur les teneurs en pigments chlorophylliens est partiellement à l'origine de la diminution de la synthèse des hydrates de carbone (Levit, 1980), à la destruction des pigments chlorophylliens et à l'instabilité du complexe pigmentaire protéique perturbé par l'excès des ions Na<sup>+</sup> et Cl<sup>-</sup>. Grattan et Grieve, (1994) expliquent aussi que la diminution de la teneur en chlorophylle sous stress salin, peut être due au fait que le NaCl à un effet antagoniste sur l'absorption de l'azote qui est une composante essentielle dans la structure de la molécule de chlorophylle, peut trouver également l'explication des baisses des teneurs en pigments chlorophylliens sous l'effet du stress salin dans l'augmentation de l'activité de la chlorophyllase (Garg et Singla, 2004) et/ou dans la détérioration de la membrane thylacoïdale liée à un changement de la composition ionique de l'espace stromatique (Al-Sobhi et *al.*, 2006; Mane et *al.*, 2010) .

### **VI.2.2. Résultats de criblage phytochimique**

Le screening phytochimique nous a permis de mettre en évidence la présence des métabolites secondaires au niveau de nos échantillons.

La détection de ces composés est basée sur des essais de réactions en donnant une turbidité, un changement de couleur spécifique selon le degré de la réaction entre nos extraits et les réactifs utilisés dans le criblage phytochimique (Tableau .5).

À l'issue des résultats de l'analyse qualitative de nos plantes et suivant les disponibilités des réactifs nous avons constaté que dans les feuilles de *Phaseolus vulgaris*.L, les acides phénoliques, les flavonoïdes, les anthocyanes, les saponines et les tannins catéchique sont les principaux composés phénoliques de nos deux cultivars étudiés.

Par contre les tanins et les proanthocyanidols sont présents en petites quantités. Cela n'exclut pas la présence d'autres substances, notamment les terpénoïdes qui présentent des quantités minimales.

Tableau 5 : Les résultats expérimentaux des tests phytochimique réalisés sur deux cultivars de *Phaseolus vulgaris*.

<b>Groupes chimiques</b>	<b>Extrait Djadida</b>	<b>Extrait Sidi. Ferredj</b>
<b>Phénols</b>	+++	+++
<b>Flavonoïdes</b>	++	++
<b>Anthocyanes</b>	+++	++
<b>Proanthocyanidols</b>	+	+
<b>Tanins</b>	+	+
<b>Tanins catéchique</b>	+++	++
<b>terpénoïdes</b>	+	+
<b>Saponines</b>	+++	++

+ : Test légèrement positif ++ : Test positif . +++ : Test fortement positif

Les plantes manifestent une capacité unique à synthétiser des métabolites secondaires non-enzymatiques, tels que les composés phénoliques, qui jouent un rôle antioxydant dans les ROS piégeurs (Reddy et *al.*, 2004). La synthèse et la libération de composés phénoliques sont induites par divers facteurs de stress biotiques et abiotiques.

Les résultats du screening phytochimique montrent que tous les tests de caractérisation des groupes chimiques dans l'extrait méthanolique ont été positifs dans les deux échantillons. Beaucoup de travaux réalisés dans le même contexte sur (*Phaseolus vulgaris* .L) affirment que les composés phénoliques, qui incluent les acides phénoliques, les flavonoïdes et les proanthocyanidines, sont particulièrement remarquables en raison de leurs puissantes propriétés antioxydantes (Arcía-Lafuente, et *al.*, 2014).

López et *al.* (2013) ont étudié la composition phénolique de haricot noir (*Phaseolus vulgaris* L.) et ont identifié 22 composés phénoliques. Les flavonoïdes ont six

sous-classes, y compris les flavonols, les flavones, les isoflavonoïdes, les flavanols, les flavanones et les anthocyanines (Nayak et al., 2015). Les anthocyanes constituent un type important de flavonoïdes dans les haricots communs pigmentés (López et al., 2013), aussi sont considérés comme de très bons agents antioxydants (Skerget, et al. 2005). Outre les acides phénoliques et les flavonoïdes, les proanthocyanidines ont également été largement détectés dans les haricots communs (Sancho et al., 2015), aussi les saponines, les tanins et les terpénoïdes (Pradeepkumar, et al. 2015).

La présence de ces métabolites dans les feuilles de *Phaseolus vulgaris*.L tend à soutenir ses utilisations médicales, cela pourrait être responsable de leurs propriétés antibactériennes telles que rapportées par (Sofowora 1993). Ce test phytochimique a conclu que les deux cultivars sont riches en substances phytochimiques.

Une évaluation complète de toutes les formes de composés phénoliques permet de mieux comprendre les métabolites secondaires.

### **VI.2.3. Résultats de l'effet de salinité sur l'accumulation des composés phénoliques**

#### **VI.2.3.1. Résultats du dosage des phénols totaux**

Chez le cultivar Djadida, le contenu phénolique n'a pas changé, si on le compare au teste témoin, ceci à une concentration de 50 meq.l<sup>-1</sup> et 200 meq.l<sup>-1</sup> de NaCl (T1 et T3) avec des valeurs de 4,42 mg GAE/g MS et 3,92 mg GAE/g MS respectivement. Les plantes du test témoin enregistrent un taux de 4,37 mg GAE/g MS.

Toutefois, une augmentation en taux des phénols totaux est révélée, à une concentration de 100 meq.l<sup>-1</sup> de NaCl (T2), par rapport au test témoin, avec une valeur de (5,30 mg GAE/g MS)

La même constatations a été faite pour les plantes de Djadida soumises au traitement T4 et T5, on notant une teneur de 5,37 mg GAE/g MS et 5,71 mg GAE/g MS respectivement.

Chez le cultivar Sidi Ferredj l'accumulation des phénols totaux est marquée, particulièrement à la concentration de 100 meq.l<sup>-1</sup> de NaCl (T2), avec une différence significative par rapport au témoin (T0) (4,98 mg GAE/g MS et 3,47 mg GAE/g MS) respectivement.

Au niveau des racines, tous les traitements appliqués, quel que soit le NaCl seul ou combinés au CaCl<sub>2</sub>, ne présentent aucune différence significative par rapport au témoin (0,81 mg GAE/g MS) ,chez le cultivar Djadida, tandis qu'il y a des diminutions significatives chez Sidi Ferredj au traitement de 200 meq.l<sup>-1</sup>de NaCl (0,46 mg GAE/g MS) et aux deux concentrations du traitement de NaCl +CaCl<sub>2</sub> (T4 et T5) avec des valeurs de (0,42 mg GAE/g MS et 0,52 mg GAE/g MS) respectivement par rapport au témoin (0.83 mg GAE/g MS).

La teneur en phénols totaux dans les racines a montré une différence significative entre le contrôle et le traitement du stress salin à 200 meq.l<sup>-1</sup> de NaCl avec des réductions notables chez le cultivar Sidi Ferredj tandis que chez Djadida cette phase de stress de NaCl n'a pas stimulé l'accumulation des phénols totaux malgré une légère augmentation est observée.

Dans notre expérimentation, nous avons enregistré une baisse dans la teneur en phénols totaux à forte dose de NaCl malgré que ces réductions restent non significatives par rapport aux plantes du traitement témoin.

Nos résultats rejoignent ceux de plusieurs auteurs qui ont travaillé sur la famille des fabacées et autres. Nous citons à titre d'exemple : les travaux de Télésinski, et al, (2008) qui ont expliqué l'effet de la salinité sur les plantes de *Phaseolus vulgaris*; et qui ont signalé une baisse de la teneur en phénols totaux avec l'agressivité du stress salin ; Neffati, et al. (2011) qui ont rapporté une diminution de la teneur en phénols totaux de 37 %, 43 % et 66 % sous des traitements salins de 20 mM, 50 mM et 75 mM en comparaison avec le traitement témoin (1,04 mg EAG/g MS) ,et chez un certain nombre d'espèces dont le radis (*Raphanus sativus*) (Tattin et al., 2006).

Cette diminution est probablement due au degré de sensibilité de la plante vis-à-vis au sel (Neffati et al., 2011), dans la même idée, de nombreuses études ont révélé que la concentration en phénols était plus élevée dans les plantes tolérantes que dans les plantes sensibles au stress (Ashraf et Harris, 2004), récemment, Danai-Tambhale, et al. (2011) ont signalé une accumulation plus élevée de polyphénols totaux chez les cultivars tolérants au riz que chez les cultivars sensibles soumis à un stress dû à la salinité.

## Partie expérimentale

### Chapitre VI : Potentiel phytochimique fonctionnel de (*Phaseolus vulgaris*. L) sous stress salin.

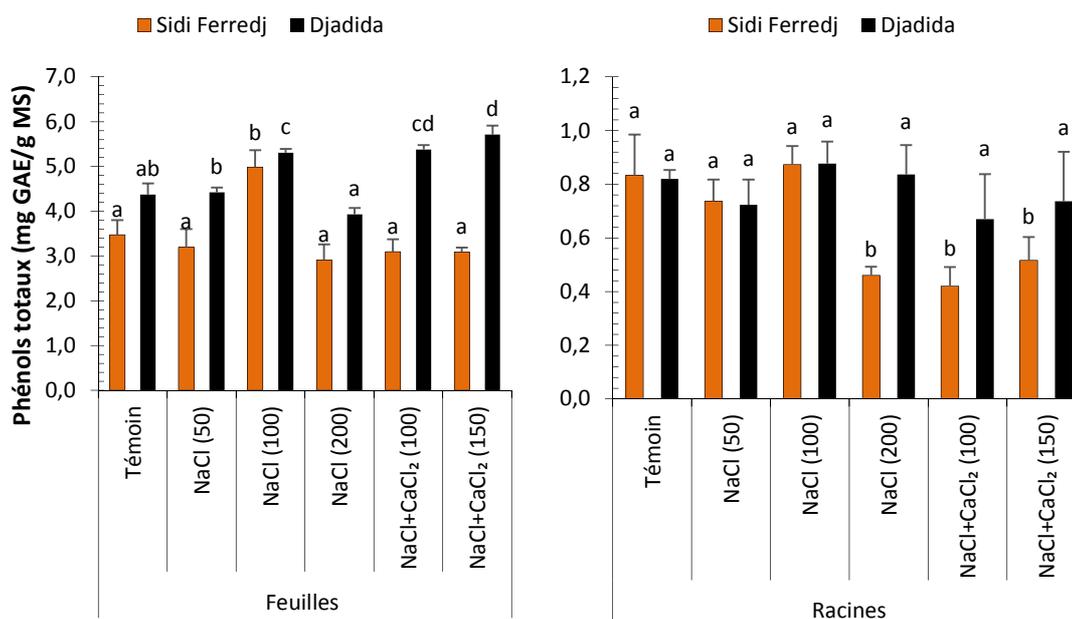


Figure 40. Variation des phénols totaux (mg GAE/g MS) des feuilles et des racines des deux cultivars de haricot en fonction de différentes concentrations salines.

N.B : Les Barres avec des lettres similaires ne sont pas significativement différentes ( $p > 0,05$ ).

Une accumulation importante des phénols totaux dans les plantes soumises à un stress salin joue un rôle physiologique impératif, leur permettant de s'adapter aux contraintes du milieu et de rectifier le stress oxydatif induit par cette salinité (Hichem et *al.*, 2009).

Les résultats de ce travail ont montré que les traitements salins modérés provoquaient des augmentations des teneurs des composés phénoliques ce qui corroborent avec ceux de plusieurs auteurs : Noreen et Ashraf, (2009) ont étudié l'effet de la salinité sur des cultivars de pois (*Pisum sativum*) soumises à des niveaux de NaCl de 0, 40 mM, 80 mM et 120 mM, Hajlaoui, et *al.*,(2009) ont noté que le traitement croissant en NaCl allant de 0 à 100 mM a fait augmenter la teneur en phénols totaux dans deux variétés de Maïs (*Zea mays*) (var .Aristo et Arper) ,et Lepengue, et *al.*,(2012) sur (var. LG 60), Mishra, et *al.*, (2009) sur le pois chiche (*Cicer arietinum* L. CV. Abrodhi).

Des résultats similaires sont rapportés par Parida, et *al.*,(2002) qui ont signalé une augmentation des concentrations de polyphénols chez (*Brugiera parviflora*), sous stress salin, Yuan, et *al.*, (2010) dans une étude sur des plantules de radis (*Raphanus sativus* L.). Cette augmentation des polyphénols avec l'accroissement du niveau de sel a été également signalée dans plusieurs études récentes, de Dkhil et Denden, (2010) sur le

gombo (*Abelmoschus esculentus* L.); Tiwari, et *al.*,(2010) sur le concombre (*Cucumis sativus*), Mahmoudi, et *al.*, (2010) ont de leur côté trouvé une augmentation des phénols dans une étude sur la laitue romaine (*Lactuca sativa*) soumise au stress salin, Danai-Tambhale, et *al.*, (2011) sur le riz (*Oryza sativa*).

La structure polyphénolique a la capacité d'éliminer les espèces radicalaires, empêchant ainsi, la propagation des réactions en chaîne oxydatives (Sgherri et Navari-Izw, 1995) et il soutient la théorie selon laquelle les polyphénols foliaires protègent la plante contre le stress oxydatif généré par la salinité et les métabolites secondaires peuvent jouer un rôle dans la tolérance à la salinité (Rezazadeh et *al.*, 2012).

Zeyen, et *al.*, (1995) et Abdi, et *al.*,(2012) ont indiqué que la teneur en phénols racinaires était un type de résistance des plantes à un stress biotique.

#### **VI.2.3.2. Résultats du dosage des flavonoïdes totaux**

La figure 41 présente les variations des flavonoïdes des feuilles et des racines en fonction des concentrations de NaCl et de NaCl + CaCl<sub>2</sub>. L'augmentation de la concentration de NaCl entraîne une augmentation remarquable du taux des flavonoïdes dans les feuilles de deux cultivars Djadida et Sidi Ferredj ,respectivement avec (3,20 mg EC/g MS et 2,88 mg EC/g MS) au traitement T2 et (4,23 mg EC/g MS et 3,43 mg EC/g MS) au traitement T3, tandis que la concentration de 50 meq.l<sup>-1</sup> (T1) chez Djadida ne présente aucune différence significative (2,51 mg EC/g MS) par rapport aux plantes du contrôle (2,48 mg EC/g MS).

Les traitements amendés au CaCl<sub>2</sub> (T4 et T5) présentent une différence significative par rapport au traitement du contrôle chez les deux cultivars, avec des valeurs a raison de (3,08 mg EC/g MS et 3,07 mg EC/g MS) respectivement par rapport au témoin (2,48 mg EC/g MS ) chez Djadida, et des valeurs a raison de (2,87 mg EC/g MS et 2,80 mg EC/g MS) respectivement par rapport au témoin (2,38 mg EC/g MS) chez Sidi Ferredj, cependant il n'y a pas de différence significative par rapport aux traitements modérés de NaCl.

La salinité n'a pas un effet significatif sur les racines du cultivar Djadida quel que soit la concentration et le type du sel utilisé.

Cependant, la teneur des flavonoïdes extraite des racines du cultivar Sidi Ferredj soumis au stress salin varie entre 0,80 mg EC/g MS et 1,20 mg EC/g MS, avec

un maximum de 1,20 mg EC/g MS enregistré à la forte concentration saline de 200 meq.l<sup>-1</sup> du NaCl (T3).

Le CaCl<sub>2</sub> (T4 et T5) provoque une accumulation importante avec une différence significative par rapport au témoin et est non significatives par rapport au group NaCl, et affiche des valeurs de (1,01 mg EC/g MS et 0,98 mg EC/g MS) respectivement chez Djadida, et des valeurs de (1,11 mg EC/g MS et 1,10 mg EC/g MS) respectivement chez Sidi Ferredj.

Il est à noter que les valeurs au niveau racinaire restent moins considérables par rapport à celles observées chez les feuilles pour les deux cultivars étudiés.

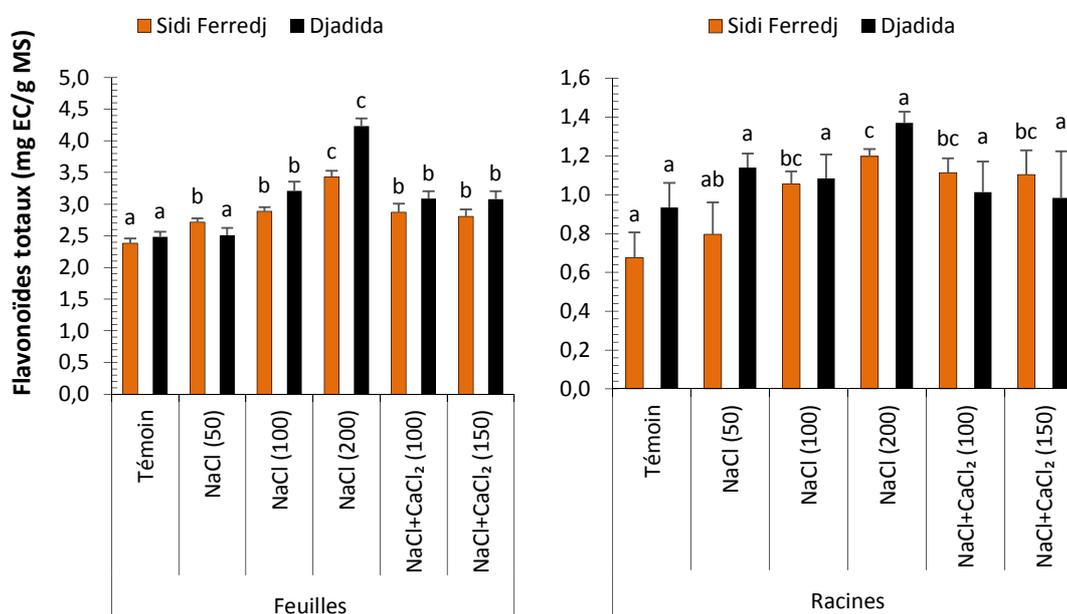


Figure 41. Variation de taux de flavonoïdes totaux (mg EC/g MS) des feuilles et des racines des deux cultivars de haricot en fonction de différentes concentrations salines.

N.B. Les barres avec des lettres similaires ne sont pas significativement différentes ( $p > 0,05$ ).

Les flavonoïdes représentent le sous-groupe principal et le plus complexe des composés phénoliques, avec un large éventail de fonctions biologiques (Di Ferdinando et al., 2012.) .

Dans notre étude les flavonoïdes ont augmenté, chez les plantes exposées au stress de NaCl, proportionnellement aux doses appliquées chez les deux cultivars, avec des accumulations importantes chez Djadida que chez Sidi Ferredj.

Nos résultats se joignent à ceux de Taïbi, et al., (2016) sur (*Phaseolus vulgaris* .L) ; Hajlaoui, et al.,(2009) qui ont enregistré pour (*Zea mays*) une teneur en flavonoïdes égale à 1,21 mg EC/g MS, alors que sous une contrainte saline de (102 mM)

NaCl, cette teneur augmente jusqu'à 9,20 mg EC/g MS. Les teneurs en flavonoïdes totaux dans les plantes d'artichauts sous stress salin ont été considérablement augmentées (Rezazadeh *et al.*, 2012) , Frary, *et al.*, (2010) sur quelques lignées de tomate (*Solanum pennellii*), mais après seulement des taux de NaCl supérieurs à 100 mM de NaCl appliqué pendant 21 jours , et Mahmoudi *et al.*, (2010) sur *Lactuca sativa* L pendant 12 jours .

En plus, Tattini, *et al.*, (2006) mentionnent une relation étroite entre la tolérance au stress oxydatif et l'accumulation des flavonoïdes. Dans le même sens, Hendrich (2006) suggéré que l'incorporation de flavonoïdes dans la bicouche lipidique est parfois la première étape dans la séquence des événements induits par les composés polyphénoliques. Plusieurs flavonoïdes agissent comme des inhibiteurs de la lipoxigénase, l'enzyme qui convertit les acides gras polyinsaturés en dérivés contenant de l'oxygène (Nijveldt *et al.*, 2001). Ces composés accumulés dans le tissu végétal pourraient aider à les protéger des effets néfastes et pourraient aider à inhiber la peroxydation des lipides chez les plantes stressées (Potapovich et Kostyuk, 2003).

Une supplémentation en calcium a augmenté la teneur en flavonoïde, nos résultats correspondent à ceux trouvés par Ahmad, *et al.*, (2017) chez le pois chiche, et Yücel et Heybet ,(2016) qui ont montré que l'application de SA et/ou  $Ca^{2+}$  nettement intégrée les teneurs des phénols totaux et les teneurs en flavonoïdes et semblaient être les plus efficaces traitements pour contrer les effets négatifs du sel. L'augmentation de la teneur en flavonoïdes des plantules stressées au NaCl fourni en calcium est attribuée à l'absorption limitée des ions  $Na^+$  par  $Ca^{++}$ , et induction de l'expression des gènes pour la biosynthèse des polyphénols (Xu, *et al.*, 2013) .

### **VI.2.3.3. Résultats du dosage des tanins condensés**

Les résultats obtenus sur la quantification des tanins condensés extraits des feuilles et des racines des deux cultivars Djadida et Sidi Ferredj sont illustrés dans la figure 42, qui relève que les teneurs des tanins condensés augmentent avec la sévérité de la salinité, chez les feuilles des deux cultivars Djadida et Sidi Ferredj pour atteindre respectivement un taux de (1,66 mg EC/g MS et 1,94 mg EC/g MS) au traitement (T3) de 200 meq.l<sup>-1</sup> de NaCl qui provoque une synthèse considérable et significative en tanins condensés par rapport au traitement témoin.

Tandis qu'au niveau des racines, la valeur en tanins condensés la plus importante a été obtenue à une concentration de 100 meq.l<sup>-1</sup> de NaCl chez Djadida et Sidi

Ferredj avec des valeurs respectives de (0,63 mg EC/g MS et 0,72 mg EC/g MS) par rapport au traitement sans sel (0,48 mg EC/g MS et 0,43 mg EC/g MS).

Les lots amendés au  $\text{CaCl}_2$  ne présentent aucun effet significatif chez les deux organes des deux cultivars par rapport au témoin.

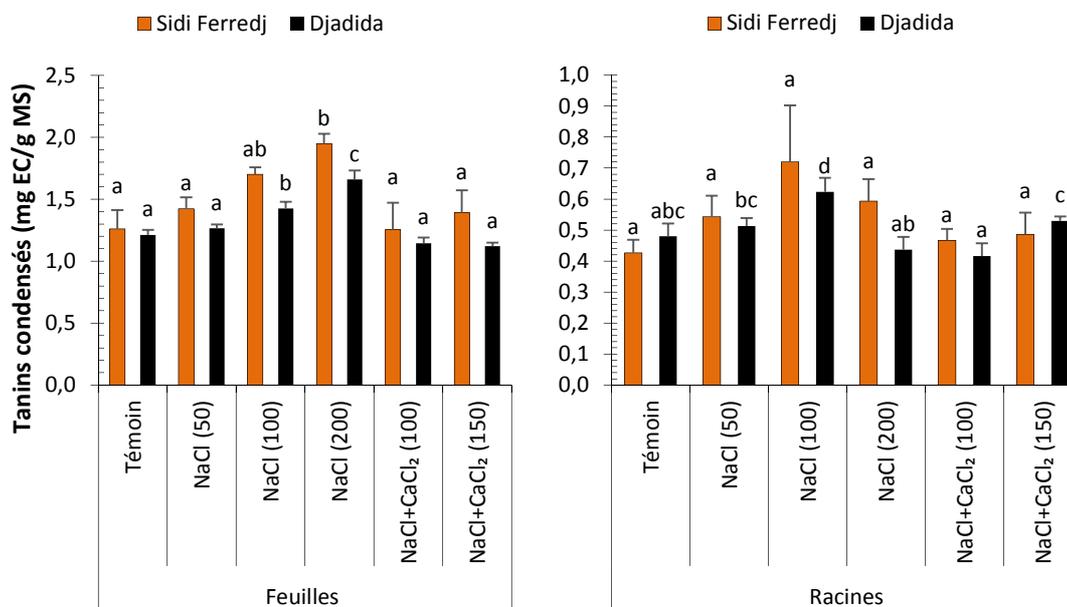


Figure 42. Variation des taux des tanins condensés (mg EC/g MS) des feuilles et des racines des deux cultivars de haricot en fonction de différentes concentrations salines. N.B : Les Barres avec des lettres similaires ne sont pas significativement différentes ( $p > 0,05$ ).

La salinité a eu le même effet sur l'accumulation des tanins, en permettant une augmentation considérable pour les plantes soumises aux différents traitements, avec une différence significative par rapport au test témoin, comme il a été indiqué sur *Achillea fragrantissima*, où la teneur en tanin augmentait de manière significative avec l'augmentation de la salinité (Abd EL-Azim et Ahmed, 2009). Le stress du sel (NaCl) a déclenché l'accumulation des tanins chez les cultivars de blé (LOK-1) conservant des teneurs plus élevées que le cultivar (MP-1203) (Ahanger et Agarwal, 2017).

Le calcium ( $\text{Ca}^{2+}$ ) joue un rôle important en améliorant les processus métaboliques. Dans notre expérience, nous avons observé que la supplémentation en  $\text{Ca}^{2+}$  rétablissait la teneur des composés phénoliques (polyphénols, flavonoïdes et tanins) par rapport aux plantes dans des conditions stressantes par le NaCl seul ; ces résultats sont en accord avec les rapports de Yücel, et *al.*, (2016).

#### VI.2.4. Résultat de l'effet de salinité sur l'activité antioxydante et IC50

L'activité antioxydante des extraits des feuilles des deux cultivars dépend de la concentration en sel dans le milieu (Fig.43).

On a constaté que l'activité radicale de l'extrait augmente sur toute la gamme de la concentration en sel quel que soit la nature du sel utilisé, seul ou associé au  $\text{CaCl}_2$ .

À cet égard, l'activité antioxydante était maximale au niveau de la salinité la plus élevée (200 meq.l<sup>-1</sup> de NaCl), où la valeur la plus importante a été obtenue chez Djadida avec  $\text{IC}_{50} = 0,34 \text{ mg.ml}^{-1}$ . Les diminutions d'IC50 sont synonymes de l'augmentation du pouvoir antioxydant des extraits, avec l'élévation de la concentration en sels des solutions nutritives d'irrigation.

Chez Sidi Ferredj, malgré la hausse des valeurs des IC50 à la concentration de 50 meq.l<sup>-1</sup> de NaCl (0,48 mg. ml<sup>-1</sup>) par rapport à celle du traitement témoin (0,53 mg. ml<sup>-1</sup>), on a constaté de nouveau, leur diminution aux traitements de forte salinité, pour atteindre (0,36mg.ml<sup>-1</sup>) au traitement le plus sévère (T3). Cette dernière représente l'activité antioxydante la plus importante chez Sidi Ferredj.

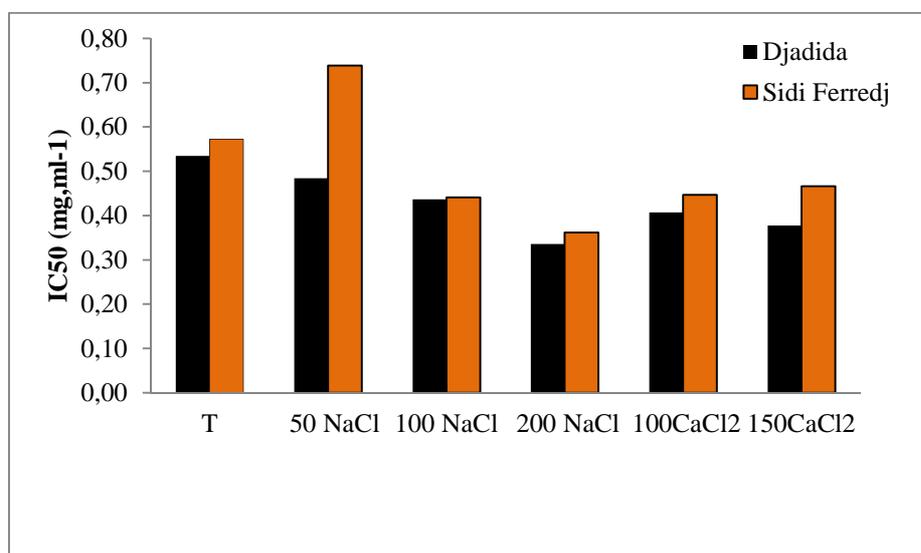


Figure 43. Variation des IC50 des feuilles des deux cultivars de haricot en fonction de différentes concentrations salines.

N.B : Les Barres avec des lettres similaires ne sont pas significativement différentes ( $p > 0,05$ ).

Les plantes produisent un grand nombre d'antioxydants destinés à piéger ou à détoxifier les ROS (Grace, 2005). La réponse antioxydante des plantes aux facteurs abiotiques dépend du type de stress appliqué et de l'organe considéré (Mittler, 2006).

Le radical DPPH stable était largement utilisé pour évaluer cette activité dans les extraits de nombreuses plantes. Dans notre étude l'évaluation de l'activité antioxydante a montré que le potentiel antioxydant devient plus élevé avec l'augmentation de la concentration en sels chez les deux cultivars. Cette augmentation de l'activité antioxydante a été signalée chez le riz (Fadzilla et *al.*, 1997; Lee et *al.*, 2001), le blé (Meneguzzo et *al.*, 1999) et la lentille (Bandeolu et *al.*, 2004).

On a signalé un lien étroit entre la capacité antioxydante et la tolérance à la salinité dans plusieurs cultures, comme le pois (*Pisum sativum* L.) (Hernandez et *al.*, 2000), le coton (*Gossypium sp.*)(Gosset et *al.*, 1994), le riz (Dionisio-Sese et Tobita, 1998) et la sétaria d'Italie (*Setaria italica*), (Sceenivasulu et *al.*, 2000).

Il y a quelques différences entre les génotypes, en termes de tolérance à l'oxydation, chez les plantes. Munns et *al.*, (2008) ont mentionné que les différences génétiques dans la tolérance à la salinité ne sont pas nécessairement dues à des différences dans la capacité de détoxifier les ROS, mais peuvent être dus à des différences génotypiques dans les degrés de fermeture stomatique ou dans d'autres réponses qui modifient le taux de fixation du CO<sub>2</sub>, des différences qui mettent en jeu les processus qui évite la photo inhibition et pour laquelle, la plante a une capacité abondante. Cette augmentation peut, d'une part, être expliquée par l'augmentation des composés phénoliques (une accumulation des phénols et des flavonoïdes) qui confère probablement une plus grande activité de piégeage des radicaux libres (Okem et *al.*, 2015).

Le calcium a également augmenté la détoxification des ROS en améliorant les systèmes de défense antioxydants ce qui est expliqué dans notre étude par une diminution des IC<sub>50</sub> par rapport aux plantes témoin chez les deux cultivars.

Ce résultat est corroboré par des études antérieures trouvées par (Cramer et *al.*, 1985; Nedjimi et Daoud, 2009; Ahmad et *al.*, 2015; Rahman et *al.*, 2016) dans lesquelles, la signalisation exogène rétablie par le Ca<sup>2+</sup> maintien l'homéostasie des nutriments et la réduction du stress oxydatif et induit également des activités enzymatiques antioxydantes sous stress abiotique (Jiang, et *al.*, 2001.)

L'effet du calcium améliore la tolérance au sel chez deux cultivars de tomates contrastés par Manaa, et *al.*, (2014) et protège le blé contre la salinité (Al-Whaibi, et *al.*, 2012. ).

---

*CONCLUSION GENERALE*  
*ET PERSPECTIVES*

---

---

## CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

Les réponses morphophysiological des deux cultivars sont clairement manifestées par des modifications générales au niveau de la germination, la croissance, le développement de la plante et également sur son statut hydrique. L'action du stress salin dans notre travail est d'autant plus marquée que la concentration saline est élevée et les valeurs inscrites de toutes les paramètres étudiés présentent des fluctuations importantes, à travers les différents régimes salins testés. Ces résultats confirment la sensibilité particulière du haricot à cette contrainte environnementale. Le stress salin exerce chez les deux cultivars étudiés Djadida et Sidi Ferredj, un effet dépressif sur tous les paramètres physiologiques, biochimiques et phytochimiques.

La germination des graines et la levée des plantules sont des processus biologiques fondamentaux dans les cycles de croissance et de développement des plantes. Par conséquent, une germination et une émergence de graines excellentes sont importantes pour atteindre des rendements élevés et des concentrations croissantes de sel nuisent au processus de germination (Anuradha et Rao, 2001 ; Laghmouchi, *et al.*, 2017).

Dans la présente étude, la réduction de tous les paramètres de germination avec l'augmentation de la salinité se traduit par des effets négatifs sur le nombre de graines germés, une faible capacité germinative, une faible vitesse de germination et de la cinétique de germination. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par d'autres chercheurs qui ont indiqué que les graines des glycophytes et des halophytes répondent de la même manière à la salinité, en réduisant le nombre total des graines germées et accusant un retard dans l'initiation du processus de la germination (Rubio-Casal, *et al.*, 2003 ; Wei, Requena et Fischer, 2003)

L'augmentation du degré de la salinité entraîne une augmentation de la teneur en sodium, qui n'est que partiellement compensée par une diminution des autres cations, notamment, du potassium et du calcium (Laredj-Zazou, 2013), cette accumulation des ions dans les cellules crée fréquemment une toxicité et cela se manifeste par la réduction ou un arrêt complet de la croissance des plantes à la suite de la réduction du potentiel osmotique, qui inhibe l'absorption de l'eau par les racines.

Dans notre étude aussi la diminution du statut hydrique sous différentes traitements de salinité par rapport aux plantes témoins, suggèrent également que le stress dû à la salinité pourrait affecter la croissance des plantes en réduisant tous les paramètres

morphologiques étudiés avec : un retard de croissance important signalé chez la plupart des organes des deux cultivars notamment « Sidi Ferredj », inhibent le nombre de feuilles, les longueurs aérienne et racinaire, la masse fraîche et sèche, le développement des nodules, en nombre et en poids frais .

Les causes précises de la diminution de la croissance en fonction de l'accroissement de la salinité restent à élucider, pour déterminer si cette diminution sous stress salin est due à des perturbations d'ordres hydriques, minéraux ou métaboliques. Notre étude a été complétée par d'autres travaux concernant les métabolismes cellulaires essentiels dans l'osmorégulation dans ces conditions, ou l'ajustement osmotique joue le rôle primordial dans la résistance ou la tolérance de la plante à un stress (Munns, 2002 ; Bartels et Sunkar, 2005) qui s'expriment par la capacité d'un végétal à synthétiser des osmoprotecteurs et les accumulés dans le cytoplasme et les organites (Ashraf, 2007; Chen, et *al.*, 2010; Majumder, et *al.*, 2010.) .

Le rôle de l'osmorégulation des composés accumulés est parfois discutable, mais représente une réponse métabolique spécifique dans les conditions de stress.

Dans notre étude des mécanismes d'ajustement osmotique nous a permis de conclure que les concentrations élevées en NaCl avantagent l'accumulation de la proline que celle des sucres solubles, donc la proline reste un marqueur fiable du niveau de stress salin mais ne semble pas être directement liée à souligner les mécanismes de tolérance et serviraient comme osmoprotecteurs, car le rôle principal de la proline n'est peut-être pas uniquement un osmolyte, mais il aide également les cellules à surmonter le stress oxydatif chez les plantes stressées par le sel (Rajendrakumar et *al.*, 1994). Donc nous devrions clarifier la confusion souvent trouvée dans la littérature entre les concepts de «réponses au stress» et de «tolérance au stress».

Les valeurs moyennes des sucres totaux affichés dans notre étude étaient principalement affectées par les concentrations élevées de sel tandis que les accumulations en sucres solubles totaux aux concentrations modérées de NaCl destinée à ajuster le potentiel osmotique et à améliorer l'absorption d'eau sous salinité.

Parida et *al.*, (2002) ont rapporté que des glucides tels que les mono et disaccharides et les polysaccharides s'accumulent sous l'effet du sel et jouent un rôle majeur dans l'osmoprotection, l'ajustement osmotique, le stockage du carbone et le piégeage des radicaux. Les polysaccharides soulignent le rôle important de la paroi cellulaire dans la tolérance au stress salin, non seulement comme une barrière entre la cellule et les enjeux

---

extérieures, mais également ces composants sont fonctionnelles et très sensibles, en effet la synthèse de cellulose et hémicellulose peuvent servir comme mécanisme de résistance chez (*Phaseolus vulgaris*.L. ) sous des contraintes abiotiques comme le cas de la salinité est vraiment recommandée pour discriminer entre les cultivars a tolérance moyenne et ceux jugés sensibles .

Compte tenu de cette partie des résultats de notre étude reflètent que la composition des parois cellulaires a été modifié en *Phaseolus* lorsqu'elles ont été soumises à des concentrations élevées (200 meq.l<sup>-1</sup>) de NaCl, présentent des proportions élevées de cellulose et par conséquent des quantités réduite d'hémicelluloses. Nos résultats sont accord de ce qu'a été trouvé par (Iraki, et *al.*, 1989) qui indique que les parois cellulaires des cellules adaptées présentaient des proportions beaucoup plus faibles de cellulose et par conséquent des proportions plus élevées d'hémicellulose que celles des cellules non adaptées ,cela indique la sensibilité des parois cellulaires de *Phaseolus vulgaris*. L à de forte concentration de NaCl. Les modifications dans les parois cellulaires ont été considérées comme une caractéristique commune de la réponse à la salinité dans les plantes (Le Gall, et *al.* 2015) et des preuves de la capacité des cellules à ajuster la composition de la paroi cellulaire dans des conditions de stress de sel, dans le cadre de la stratégie pour soutenir leur croissance dans un tel environnement (Fuentes, et *al.*, 2015).

Il semble que nos deux cultivars étudiés sont sensibles au sel, mais Sidi Ferredj peut être considéré comme le cultivar le plus sensible par rapport à Djadida sous des concentrations modérées de sel

Il est clair aussi qu'à partir des résultats obtenus, les deux cultivars n'ont pas pu préserver leurs appareils photosynthétiques, et des dommages causés par les ions toxiques. Plusieurs études suggèrent que la teneur en chlorophylle est un marqueur biochimique de la tolérance au sel chez les plantes (Ishikawa et Shabala 2019, Taïbi, Taïbi et Ait Abderrahima, et *al.* 2016, Sairam, et *al.* 2005). On sait que les plantes tolérantes au sel présentent des niveaux de chlorophylle augmentés ou inchangés dans des conditions de salinité, tandis que leur teneur en chlorophylle diminue chez les plantes sensibles au sel (Stępień et Johnson 2009) .

De même, l'accumulation de composés protéiques joue un rôle essentiel dans les réponses physiologiques du stress des plantes à la salinité. Dans la présente étude, l'effet d'inhibition du sel sur la composition protéique a été significativement noté. Une production accrue de protéines et d'autres composés contenant de l'azote peut induire la

---

biosynthèse de composés organiques à l'activité osmotique, y compris des protéines dotées de capacités osmoprotectrices, conférant ainsi une résistance à la salinité (Ashraf et Harris, 2004).

Des altérations des lipides en réponse à la salinité ont été observées dans notre étude, il y a plusieurs études qui ont démontré des modifications dans les enzymes impliquées dans le métabolisme lipidique sous stress salin, au niveau des expressions des gènes, mais ils ne fournissent pas de données sur la manière dont ces changements pourraient régir sur la teneur en lipides en réponse à la salinité. Les lipides restent rarement mentionnés dans les revues traitant des mécanismes de stress salin. Les lipides restent rarement mentionnés dans les revues traitant des mécanismes de stress salin.

De plus, nos résultats phytochimiques démontrent que les composés phénoliques constituent une partie importante des antioxydants dans le haricot. On peut conclure que la salinité modérée induit des accumulations des niveaux de composés phénoliques chez Djadida que Sidi Ferredj en augmentant les phénols totaux, les flavonoïdes et les tanins condensés.

Le niveau accru de composés polyphénoliques dans différents tissus dans des conditions de stress salin a été signalé dans un certain nombre de plantes (Navarro, et al., 2006; Tattin, et al., 2006). Donc la capacité de réponse au stress salin par la synthèse de composés phénoliques a été aussi observée chez les génotypes de fraises tolérants et sensibles (Keutgen, et al., 2008). Nos résultats sont en accord avec Al Hassan, et al. (2015) qui ont observé une augmentation significative des composés phénoliques dans les feuilles de la tomate cerise (*S. lycopersicum* L. cv. Cerasiforme) stressées sous des concentrations de sel modérées et élevées. Une augmentation de ces composés dans les feuilles d'artichaut avec une salinité modérée a été rapportée par (Hanen, et al., 2008.) . L'augmentation de la réponse des composés phénoliques à la salinité a également été rapportée dans l'extrait de différents tissus de certaines autres plantes (Agastian, et al., 2000; Muthukumarasamy, et al., 2000).

Cela témoigne de l'effet antioxydant de ces métabolites dans la lutte contre le stress oxydant généré par la salinité, comme cela est mis en évidence par le test antioxydant au DPPH des extraits qui a révélé que l'IC<sub>50</sub> diminue avec l'augmentation du degré de salinité. Donc les métabolites secondaires jouent un rôle important dans la tolérance des espèces sensibles comme *Phaseolus vulgaris* L au stress salin.

La salinité pourraient améliorer considérablement la capacité antioxydant des deux cultivars et pourraient refléter comme une réponse d'adaptation au stress. En conséquence, les plantes à stress salin peuvent être des sources potentielles intéressantes de polyphénols à usage économique.

L'addition de calcium  $\text{Ca}^{2+}$  au milieu de croissance chez (*Phaseolus vulgaris*.L) peut éviter une réduction importante de la croissance et aussi joue un rôle dans l'ajustement osmotique, la transduction des signaux et soulage la salinité par l'accumulation de la proline et la synthèse des protéines. Le  $\text{Ca}^{2+}$  protège les membranes des effets indésirables du  $\text{Na}^+$ , maintenant ainsi l'intégrité de la membrane et augmente de manière synergique la capacité de piégeage des ROS, ce qui peut correspondre à l'augmentation de la teneur en flavonoïdes sous stress salin, dans la présente étude en améliorant les systèmes de défense antioxydants, ce qui est expliqué dans notre étude par une diminution des IC50 par rapport aux plantes témoin.

Bien que l'effet apaisant du  $\text{Ca}^{2+}$  a été démontré chez plusieurs espèces végétales confrontées à la salinité, mais, le mécanisme par lequel l'application de  $\text{Ca}^{2+}$  aide les plantes à surmonter l'effet néfaste du stress n'est toujours pas clair.

Néanmoins les études et les indices auxquels on est parvenue lors de ce travail demeurent forcément parcellaire, et nécessite un approfondissement, basés sur les bases moléculaires et génétiques constituent l'outil de dépistage ultime qui pourrait aider à comprendre les mécanismes sous-jacents à ces réponses au stress à travers l'identification des gènes impliqués dans la tolérance à la salinité, pour l'obtention des variétés qui accède à une croissance optimale sous ces conditions.

---

*REFERENCES*  
*BIBLIOGRAPHIQUES*

---

---

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Abbas, S., Latif, H., & Elsherbiny, E. (2013). Effect of 24-epibrassinolide on the physiological and genetic changes on two varieties of pepper under salt stress conditions. . *Pak. J. Bot*, 45, 1273–1284.
2. Abdenour. H., 1982. Etude de la fixation d'azote chez quelques légumineuses. Mémoire fin d'études. Ensa, El Harach 72p.
3. Abdelly, C. (1997). . *Mécanismes d'une association de luzernes spontanées et d'halophytes pérennes en bordure de sebkha*. Thèse Doctorat d'Etat Es-Sciences Naturelles. FST. , Univ. Tunis II.
4. Abderrazak, M., & Joë, I. R. (2007). *La botanique de A à Z*. paris: Dounod.
5. Abdi, N., Bargaz, A., Bouraou, i. M., Ltaief, B., Ghoulam, C., & Sifi, B. (2012). Symbiotic responses to insoluble phosphorus supply in common bean ( *Phaseolus vulgaris* L.): Rhizobia symbiosis. *Afr. Jour Biotech* , 19(11 ), 4360-4367.
6. Abdul Qados, A. (2011). Effect of salt stress on plant growth and metabolism of bean plant *Vicia faba* L. . *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences* , 10( Issue 1), 7-1.
7. Abdul, W., Mehreen, G., Syed Babar, J., Muhammad Naeem, M., Khan, A., & Rukhsana, G. A. (2013). Phytochemical Analysis of Medicinal Plants Occurring in local area of Mardan. *Biochemisry Analytical Biochemistry*, 2(4), 1-4.
8. Abraham, E., Rig, G. S., Nagy, R., Koncz, C., & Szabados, L. (2003). Light-dependent induction of proline biosynthesis by abscisic acid and salt stress is inhibited by brassinosteroid in *Arabidopsis*. . *Plant Molecular Biology*, 51, 363-372.
9. Achour, A. (2016). Caractérisations Physiologique et Biochimique du Gombo (*Abelmoschus esculentus* L.) sous Stress Salin. *These de Doctorat en sciences de la Nature et de la Vie (SNV).Univ Oran* , 1-140.
10. Adrian, J., Potus, J., & Frangne, R. (1995). *La science alimentaire de A à Z, 2èd. Technique et documentation* . Paris : LAVOISIER.
11. Adrian, J., Potus, J., Poiffat, A., & Dauvillier, P. (1998). Introduction à l'analyse nutritionnelle des denrées alimentaires. 38.
12. AFNOR. (1993). *Corps gras, graines oléagineuses, produits dérivés*. (AFNOR, Éd.)
13. AFNOR, A. (1982). *Recueil de normes françaises des produits dérivés des fruits et légumes jus defruit*. (AFNOR, Éd.)
14. Agastian, P., Kingsley, S., & Vivekanandan, M. (2000). Effect of salinity on photosynthesis and biochemical characteristics in mulberry genotypes. *Photosynthetica*, 38, 287-290.

- 
15. Ahanger, M., & Agarwal, R. (2017). Salinity stress induced alterations in antioxidant metabolism and nitrogen assimilation in wheat (*Triticum aestivum* L) as influenced by potassium supplementation. *Plant Physiology et Biochemistry*.
  16. Ahmad, M., Javed, F., & Asharf, M. (2007). Iso-osmotic effect of NaCl and PEG on growth cations and free proline accumulation in callus tissue of two indica rice (*Oriza sativa* L.) genotypes . *Plant Growth Regul*, 53, 53-63.
  17. Ahmad, P., Abdel Latef, A., Abd Allah, E., Hashem, A., Sarwat, M., Anjum, N., & Gucel, S. (2016). Calcium and Potassium Supplementation Enhanced Growth, Osmolyte Secondary Metabolite Production, and Enzymatic Antioxidant Machinery in Cadmium-Exposed Chickpea (*Cicer arietinum* L.). . *Front. Plant Sci*, 27(7), 513.
  18. Ahmad, P., Ahanger, M., Egamberdieva, D., Pravej, A., & Mohammed Nasser Alyemeni, M. A. (2017). Modification of Osmolytes and Antioxidant Enzymes by 24-Epibrassinolide in Chickpea Seedlings Under Mercury (Hg) Toxicity. . *J. Plant Growth Regul*, 37, 309–322.
  19. Ahmad, P., Sarwat, M., Bhat, N. A., Wani, M. R., Kazi, A. G., & Tran, L. P. (2015). Alleviation of cadmium toxicity in *Brassica juncea* L. (Czern. & Coss.) by calcium application involves various physiological and biochemical strategies. *PLoS ONE*, 10(1), 0114571.
  20. Aisset, A., & Mehdadi, Z. (2016). Effect of salinity and water stress on the germination of *Medicago arborea* L. seeds. *J. Appl. Environ. Bid. Sci*, 6, 113-121.
  21. Akhavan-Kharazian, M., Campbel, W. F., Jurinak, J. J., & Dudley, L. M. (1991). Calcium amelioration of NaCl effects on plant rowth chlorophyll and ion concentration *Phaseolus vulgaris*. *Arid Soil Research and Rehabilitation*, 5, 9-19.
  22. Akhtar, P., & Hussain, F. (2009). Growth performance of *Vicia sativa* L. under saline conditions. *Pak. J. Bot*, 41, 3075-3080.
  23. Al Hassan, M., Martinez Fuertes, M., Ramos Sanchez, F., Vicente, O., & Boscaiu, M. (2015.). Effects of salt and water stress on plant growth and on accumulation of osmolytes and antioxidant compounds in cherry tomato. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanic iCluj-Napoca* , 43, 1–11.
  24. Alam, M.Z., T. Stuchbury, R.E.L. Naylor and M.A. Rashid, (2004). Effect of salinity on growth of some modern rice cultivar. *J. Agron.*, 3: 1-10.
  25. Alamgir, A., & Al, i. M. (1999). Effect of salinity on leaf pigments sugar and protein concentrations and chloroplast ATPase activity of rice (*Oryza sativa* L.). *Bangladesh J. Botany*, 28, 145-149.
  26. Albersheim, P., Darvill, A., Roberts, K., Sederoff, R., & Staehelin, A. ( 2011). PlantCell Walls, from Chemistry to Biology. *Garland Science, New York*,, 227-272.
  27. Aldesuquy, H. (1998). Effect of seawater salinity and gibberellic acid on abscisic acid, amino acids and water-use efficiency by wheat plants. *Agrochimica* , 42, 147-157.
-

- 
28. Alem, C., & Amri, A. (2005). Importance de la stabilité des membranes cellulaires dans la tolérance à la salinité chez l'orge. *Reviews in Biology and Biotechnology*, 4(1), 20- 31.
  29. Alexander, M. (1984). Ecology of Rhizobium, in: Biological Nitrogen Fixation, Ecology Technology and Physiology,. *Plenum Press N.Y.*, pp 39–50.
  30. Alshamary, S., Qian, Y., & Wallner, S. ( 2004). Growth response of four turfgrass species to salinity. *Agr Water Manag*, 66, 97-111.
  31. Al-Sobhi, O., Al-Zaharani, H., & Al-Ahmadi, S. (2006). Effect of salinity on chlorophyll and carbohydrate contents of Calotropis procera seedlings. *Scientific Journal of King Faisal University (Basic and Applied Sciences)*, 7 , 11427H.
  32. Al-Whaibi, M., Manzer, H., Siddiqui, H., Mohammed, O., & Basalah. ( 2012. ). Salicylic Acid and Calcium-Induced Protection of Wheat against Salinity. . *Protoplasma* , 249, 769–778.
  33. Amini, F., Ehsanpour, A., Hoang, Q., & Shin, J. (2007). Protein Pattern Changes in Tomato under In Vitro Salt Stress. *Russ.J. Plant Phys*, 54(4), 464-471.
  34. Amjad, M., Akhtar, J., Anwar-ul-Haq, M., Yang, A., & Akhtar, S. S. (2014). Integrating role of ethylene and ABA in tomato plants adaptation to salt stress. *Scientia Horticulturae*, 172, 109-116.
  35. Amouri, A., & F.Z.F, L. ( 2012. ). Analyse comparative de la tolérance à la salinité du gaméophyte mâle et du sporophyte chez Medicago au stade germination. *Acta botánica malacitana*, 37, 93-102.
  36. An, P., Li, X., Zheng, Y., Matsuura, A., Abe, J., Eneji, A., . . . Inanaga, S. (2014). Effects of NaCl on root growth and cell wall composition of two soya bean cultivars with contrasting salt tolerance. *J. Agro. Crop Sci*, 200, 212–218.
  37. Andriamasinandraina, M. (2012). *Etude de la consommation et de la valeur nutritionnelle des graines de légumineuses de l'Androy*. Antananarivo, Mémoire de DEA en Biochimie Appliquée aux Sciences de l'alimentation et de la Nutrition, : Université d'Antananarivo.
  38. Andriamazaoro, H. (1994). *Contribution à l'étude de la valeur nutritionnelle de 5 variétés de haricot commun (Phaseolus vulgaris)*. Antananarivo, (Mémoire de DEA). Université d'Antananarivo.
  39. Aninbon, C., Jogloy, S., Vorasoot, N., Patanothai, A., & Nuchadomrong, S. S. (2016). Effect of end of season water deficit on phenolic compounds in peanut genotypes with different levels of resistance to drought. *Food Chem.* , 196, 123-129.
  40. Anuradha, S., & Rao, S. S. (2001). Effect of brassinosteroids on salinity stress induced inhibition of seed germination and seedling growth of rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Growth Regulation*, 33(2), 151-153.
  41. Apse, M., Aharon, G., Snedden, W., & Blumwald, E. (1999). Salt tolerance conferred by overexpression of a vacuolar Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> antiport in Arabidopsis. *Science*, 285, 1256-1258.
-

- 
42. Aquino, R. S., Grativol, C., & Mourão, P. A. (2011). Rising from the sea: correlations between sulfated polysaccharides and salinity in plants. *PLoSOne*, 6(4), 1-7.
  43. Arcía-Lafuente, A., Moro, C., Manchon, N., Gonzalo-Ruiz, A., Villares, A., Guillamon, E., & Mateo-Vivaracho, L. (2014). In vitro anti-inflammatory activity of phenolic rich extracts from white and red common beans. *Food Chemistry*, 161, 216– 223.
  44. Ashihara, H., Adachi, K., Otawa, M., Yasumoto, E., Fukushima, Y., Kato, M., . . . Baba, S. ( 1997). Compatible solutes and inorganic ions in the mangrove plant *Avicennia marina* and their effects on the activities of enzymes. . *Zeitschrift fur Naturfo C. A journal of biosciences*, 52, 433-440.
  45. Ashraf, M. (1994). Organic substances responsible for salt tolerance in *Eruca sativa* . *Biol. Plant*, 36, 255-259.
  46. Ashraf, M. (1999). breeding for salinity tolerance proteins in plants *Crit. Rev. Plant Sci*, 13, 17-42.
  47. Ashraf, M. (2001). 2001 Relationships between growth and gas exchange characteristics in some salt-tolerant amphidiploid Brassica species in relation to their diploid parent. *Environmental and experimental botany*, 45, 155 - 163.
  48. Ashraf, M. (2008). Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using antioxidants as markers. *Biotechnol. Adv*, 27(1), 84–93.
  49. Ashraf, M., & Foolad, M. (2007). Roles of Glycine Betaine and Proline in Improving Plant Abiotic Stress Resistance. *Environmental and Experimental Botany*, 59, 206-216.
  50. Ashraf, M., & Harris, P. (2004). Biochemical indicators of salinity tolerance in plant. *Plant Science*, 166, 3-16.
  51. Ashraf, M., & Harris, P. (2013). Photosynthesis under stressful environments. *Photosynthetica*, 51, 163-190.
  52. Ashraf, M., & Tufail, M. (1995). Variation in salinity tolerance in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Journal of Agronomy and Crop Science*, 174, 351-362.
  53. Atak, M., Kaya, M., Kaya, G. C., & Ciftci, C. (2006). Effects of NaCl on the germination, seedling growth and water uptake of triticale. *Turk J Agric For*, 30, 39-47.
  54. Ayaz, F., Kadioglu, A., & Turgut, A. ( 2000). Water stress effects on the content of low molecular weight carbohydrates and phenolic acids in *Ctenanthe setosa* (Rosc.) Eichler. . *Can J Plant Sci*, 80, 373-378.
  55. Aykroyd, w. R., & Doughty, J. (1964). Les graines des légumineuses dans l'alimentation humaine.
  56. Babu, M., Singh, D., & Gothandam, K. (2012). The effect of salinity on growth, hormones and mineral elements in leaf and fruit of tomato cultivar PKM1. *J Anim Plant Sci* , 22, 159-164.
-

- 
57. Bajji, M., Kinet, J., & Lutts, S. (1998). Salt stress effects on roots and leaves of *Atriplex halimus* L. and their corresponding callus cultures. *Plant Sci*, 137, 131–142.
58. Balasundram, N., Sundram, K., & Samman, S. (2006). Phenolic Compounds in Plants and Agri-Industrial By-Products: Antioxidant Activity, Occurrence, and Potential Uses. *Food Chemistry*, 99, 191–203.
59. Ballesteros, E., Blumwald, E., Donaire, J., & Belver, A. (1997). Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> antiporter activity in tonoplast vesicles isolated from sunflower roots induced by NaCl stress. *Physiol. Plantarum*, 99, 328–334.
60. Bandeolu, E., Eyido, a. F., Yücel, M., & Avniktem, H. (2004). Antioxidant responses of shoots and roots of lentil to NaCl-salinity stress. *Plant Growth Regulation*, 42, 69–77.
61. Bargaz, A., Nassar, R., Rady, M., Gaballah, M., Thompson, S., Brestic, M., . . . Abdelhamid, M. (2016). Improved salinity tolerance by phosphorus fertilizer in two *Phaseolus vulgaris* recombinant inbred lines contrasting in their P-efficiency. *J. Agron .Crop Sci.*, 202, 497–507.
62. Bartels, D., & Sunkar, R. (2005). Drought and salt tolerance in plants. *Crit. Rev. Plant Sci*, 24(1), 23–58.
63. Baskaran, R., Usha Devi, A., Nayak, C. A., Kudachikar, V. B., Keshava Prakash, M. N., Prakash, M., Ramana, K. V. R., & Rastogi, N. K. (2007). Effect of low-dose  $\gamma$ -irradiation on the shelf life and quality characteristics of minimally processed potato cubes under modified atmosphere packaging. *Radiation Physics and Chemistry*, 76(6), 1042–1049.
64. Basli, A., Chibane, M., Madani, K., & Oukil, N. (2012 ). Activité antibactérienne des polyphénols extraits d'une plante médicinale de la flore d'Algérie *Origanum glandulosum* Desf. *Phytothérapie*, 10, 2-9.
65. Bayuelo-Jiménez, J., Craig, R., & Lynch, J. (2002). Salinity tolerance of *Phaseolus* Species during Germination end early Seedling Growth. *Crop Sci*, 42, 1584–1594.
66. Bayuelo-Jiménez, J., Jasso-Plata, N., & Ochoa. (2012). Croissance et réponses physiologiques de *Phaseolus* espèces au stress de la salinité. *Int. J. Agron*, 80, 207–222.
67. Beatriz, G., Piestun, N., & Bernstein, N. (2001 ). Salinity-induced inhibition of leaf elongation in maize is not mediated by changes in cell wall acidification capacity. *Plant Physiol*, 125, 1419–1428.
68. Bekki, A., Trichant, J. C., & Riaud, J. (1987). Nitroaen fixation (C<sub>2</sub>H<sub>2</sub> reduction) by *Medicago* nodules and bacteroids under sodium chloride stress. *Physiologia Plantarum*, 71, 61–67.
69. Belkhodja, M.(1996). Action de la salinité sur le comportement physiologique, métabolique, minérale et recherche de marqueurs moléculaires chez la fève (*Vicia faba* L.). Thèse de Doctorat en Es-science naturelle.
-

- 
70. Belkhodja, M., & Bidai, Y. (2004). réponse des graines d'*Atriplex halimus* L. à la salinité au stade de la germination. *Sécheresse*, 4(15), 331-335.
71. Bell, A. (1994.). La morphologie descriptive et dynamique des plantes à fleurs in *Plantes à fleurs*. Paris: Masson, .
72. Bellucci, E., Bitocchi, E., Rau, D., Rodriguez, M., Biagetti, E., Giardini, A., . . . Papa, R. 2. (2014). Genomics d'origine, la domestication et l'évolution de *Phaseolus vulgaris*. (F. R. A., Éd.) *In la génomique des plantes Ressources Génétique*, 1, pp. 483–507.
73. Ben Abdallah, M., Trupiano, D., Polzella, A., De Zio, E., Sassi, M., A, S., . . . Scippa Gabriella, S. (2018). Unraveling physiological biochemical and molecular mechanisms involved in olive (*Olea europaea* L. cv. Chétoui) tolerance to drought and salt stresses. *Journal of Plant Physiology*, 220, 83–95.
74. Ben Fredj, M., Zhani, K., Hannachi, C., Mehwachi, T., & Belanger, A. (2014). Effect of priming of growth biochemical parameters and mineral composition of different cultivars of coriander (*Coriandrum sativum* L.) under salt stress.. *Journal of Stress Physiology and Biochemistry* , 10(3), 84-109.
75. Ben Khetrou, H. (2010). Contribution à l'étude de l'aptitude à la germination des graines d'*Agrania spinosa* L. (SAPOTACEAE) dans la région d'Ouargla. *Mémoire ing. éco*.
76. Ben Miled, D., Boussaid, M., & Abdelguerfi, A. (1986). Tolérance au sel d'espèces annuelles du genre *Medicago* au cours de la germination. I. n : *Colloque sur les végétaux au milieu aride* .
77. Ben Nacer, M., Cheikh-M'hamed, H., Maalem, S., & Rahmoune, C. (2005). Les indicateurs précoces de la tolérance à la salinité. *1er Colloque Euro-méditerranéen de Biologie Végétale et Environnement*. Annaba.
78. Ben Nja, R. (2014). Effet d'un stress salin sur la teneur en polymères pariétaux dans les feuilles de luzerne (*Medicago sativa* cv Gabès) et sur la distribution dans les cellules de transfert des fines nervures. Thèse de Doctorat ..Département de Biologie et Physiologie Végétales.UNIVERSITE DE CARTHAGE .
79. Ben Salah, I., Slatni, T., Gruber, M., Messadi, D., Gandour, M., Benzarti-Haouala, M., & Zribi, K. H.-A. ( 2011). Relationship between symbiotic nitrogen fixation, sucrose synthesis and anti-oxidant activities in source leaves of two *Medicago ciliaris* lines cultivated under salt stress. *Env. Exp. Bot*, 70, 166-173.
80. Benaceur, C., Rahmoun, H., Sdiri, M., & Medahi, M. S. (2001). Effet du stress salin sur la germination, la croissance et la production de grains de blé. *Secheresse*, 12(3), 167-174.
81. Benhammou, N., Atik-Bekkara, F., & Kadifkova-Panovska, T. (2009). Antioxidant activity of methanolic extracts and some bioactive compounds of *Atriplex halimus*. *Comptes Rendus Chimie*, 12(12), 1259–1266.
-

- 
82. Benidire, L., Daoui, K., Fatemi, Z., Achouak, W., Bouarab, L., & Oufdou, K. (2015). Effet du stress salin sur la germination et le développement des plantules de *Vicia faba* L. . *J Mater Environ. Sci* , 6(3), 800-851.
  83. 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.). *C.R. Biologies*, 8(332), 752-758.
  84. Benzioni, A., Nerd, A., Rosengartner, Y., & Mills, D. (1992). Effect on NaCl salinity on growth and development of jojoba clones I. Young plants. *J.Plant Physiol*, 139, 731-736.
  85. Bernstein, N., Läuchli, A., & Silk, W. (1993). Kinematics and dynamics of sorghum (*Sorghum bicolor* L.) leaf development at various Na/Ca salinities. I. Elongation and growth. *Plant Physiology*, 103,, 1107-1114.
  86. Berthomieu, P., Conéjero, G., Nublat, A., Brackenbury, W., Lambert, C., Savio, C., . . . Casse, F. (2003). Functional analysis of AtHKT1 in Arabidops hows that Na<sup>+</sup> recirculation by the phloem is crucial for salt tolerance,. *EMBO J.* , 22, 2004-2014.
  87. Bib, i. A., Sadaqat, H., Tahir, M., & Akram, H. (2012). Screening of sorghum (*Sorghum bicolor* Var Monech) for drought tolerance at seedling stage in polyethylene Glycol. *The J. of Ani. & Plant Sci*, 3(22), 671-678.
  88. Bidai, Y. (2001). *Le métabolisme de la proline chez l'Atriplex halimus L. stressée à la salinité*. Université Es-Senia, Oran., Mémoire de magister en physiologie végétale.
  89. Blaha, G., Stelzl, U., Spahn, C. M., Agrawal, R. K., & Frank, J. a. (2000). Preparation of functional ribosomal complexes and effect of buffer conditions on tRNA positions observed by cryoelectron microscopy. . *Methods Enzymol*, 317, 292-309.
  90. Bohnet, H., & Jensen, R. (1996). Strategies for engineering water stress tolerance in plants. *TIBTECH*, 14, 89–97.
  91. Bois, G. (2005). *Ecophysiologie de semis de conifères ectomycorhisés en milieu salin et soclique*. Thèse de doctorat .
  92. Boizot, N., & Charpentier, J. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre foustier. . *Le cahier des techniques de l'Inra.* , 79-82.
  93. Bor, M., Ozdemir, F., & Turkan, I. (2003). The effect of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in leaves of sugar beet *Beta vulgaris* L and wild beet *Beta maritima* L. *Plant Sci*, 164, 77-84.
  94. Borsani, O., Valpuesta, V., & T Botella, M. (2003). Developing salt tolerant plants in a new century A molecular biology approach. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 73, 101- 115.
  95. Botia, P., Carvajal, M., Cerda, A., & Martinez, V. (1998). Response of eight *Cucumis melo* cultivars to salinity during germination and early vegetative growth ., *Agronomie*, 18, 503-513.
-

- 
96. Bottini, R., Cassan, F., & Picolli, P. (2004). Gibberellin production by bacteria and its involvement in plant growth promotion. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* , 65 , 497–503.
97. Bouhadjra, k. (2011). *étude de l'effet des antioxydants naturels et de synthèse sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge, thèse pour l'obtention du diplôme de magister, Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou.*
98. Bouhmouch, I., Mouhsine, B., Brhada, F., & Aurag, J. ( 2005). Influence of host cultivars and Rhizobium species on the growth and symbiotic performance of Phaseolus vulgaris under salt stress.. *J. Plant Physiol*, 162, 1103- 1113.
99. Boulghalagh, J., Berrichi, A., El Halouani, H., & Kouddane, N. (2008). Impact de la salinité sur la germination et la croissance in vitro du Jojoba (Simmondsia chinensis [Link] Schneider). *Cahiers UAE*, 23, 25-30.
100. Bouzid, S., & Rahmoune, C. (2012). Enhancement of Saline Water for Irrigation of Phaseolus vulgaris L. Species in Presence of Molybdenum. *Procedia Engineering* , 33, 168 – 173.
101. Brett, C. (2000). *Cellulose microfibrils in plants: biosynthesis, deposition, and integration in to the cell wall.* (Vol. 199). (J. KW, Éd.) New York: Intern. Rev. Cytol. Acad. Press, .
102. Brosché, M., Overmyer, K., Wrzaczek, M., Kangasjärvi, J., & et Kangasjärvi, S. (2010). Stress signaling III: Reactive oxygenspecies (ROS). Chap. 5. Dans s. l. Pareek, S. Sopory, H. Bohnert, & Govindjee. (Éds.), *Dans Abiotic stress adaptation in plants:Physiological, molecular and genomic foundation.* (pp. 91–102.).
103. Broughton, W., Hernandez, G., M, B., Beebe, S., Gepts, P., & Vanderleyden, J. ( 2003). Beans (Phaseolus spp.) . *Model food legumes. Plant and Soil* , 252, 55–128.
104. Brown, R. (1985). Cellulose microfibril assembly and orientation: recent developments. *Cell Sci. Suppl.*, 2, 13–32.
105. Bruneton, J. (1999). *pharmacognosie. Phytochimie. Plantes médicinales.* Paris: Technique et documentation Lavoisier .
106. Brunetti, C., Guidi, L., Sebastiani, F., & Tattini, M. ( 2015). Isoprenoids and phenylpropanoids are key components of the antioxidant defense system of plants facing severe excess light stress. . *Environ. Exp. Bot.* , 119, 54-62.
107. Brungnoli, E., & Bjorkman, O. (1992). Growth of cotton under continuous salinity stress Influence on allocation pattern stomatal and non stomatal components of photosynthesis and dissipation of exeslight energy,. *Planta* , 187 , 335–347.
108. Burg, M., & Kwon, a. ( 1997). Regulation of gene expression by hypertonicityl. *Annual Review of Physiology* , 59, 437-455.
-

- 
109. Burguieres, E., McCxue, P., Kwon, Y., & Shely, K. (2006). Effect of vitamin C and folic acid on seed vigour response and phenolic-antioxidant activity. *Bioresource Technology*, 95, 1393–1404.
  110. Burton, R., Gidley, M., & Fincher, G. (2010). Heterogeneity in the chemistry, structure and function of plant cell walls. *Nat Chem Biol*, 6, 724-732.
  111. Cachorro, P., Ortiz, A., & Cerda., A. (1994). Implications of calcium nutrition on the response of *Phaseolus vulgaris* L. to salinity. *Plant Soil*, 159, 205-212.
  112. Cachorro, P., Ortiz, A., AR, B., & A, C. ( 1993). Lignin deposition in vascular tissues of *Phaseolus vulgaris* roots in response to salt stress and Ca<sup>2+</sup> ions. *Phyton*, 33, 33-40.
  113. Canado IC., Doussinague C., Villena E., 2003. *Tecnicien en agriculture*. Ed. Culturel S.A.,Madrid. 519p.
  114. Campestre, M. B., Origone, A., Menéndez, A., Ruiz, A., & Rodríguez, A. (2011). Polyamine catabolism is involved in response to salt stress in soybean hypocotils. *J. Plant Physiol*, 168:, 1234-1240.
  115. Cárdenas-Avila, M., Verde-Star, J., Maiti, R., Foroughbakhch-P, R., Gámez-González, H., Martínez-Lozano, S., . . . Morales-Vallarta, M. (2006). Variability in accumulation of free proline on in vitro calli of four bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars exposed to salinity and induced moisture stress. *Phyton*, 75, 103–108.
  116. Carillo, P., Mastrolonardo, G., Nacca, F., & Fuggi, A. (2005). Nitrate reductase in durum wheat seedlings as affected by nitrate nutrition and salinity. *Funct. Plant Biol*, 32, 209-219.
  117. Carpita, N. C., & Gibeaut, .. M. (1993). Structural models of primary cell walls in flowering plants: consistency of molecular structure with the physical properties of the walls during growth. *Plant J*, 3, 1–30.
  118. Carroll, B. J., & Gresshoff, P. (1983). Nitrate inhibition of nodulation and nitrogen fixation in white clover, *Z. Pflanzenphysiol*, 110, 69-76.
  119. Çelik, Ö., & Atak, Ç. (2012). The effect of salt stress on antioxidative enzymes and proline content of two Turkish tobacco varieties. . *Turkish Journal of Biology*, 36, 339–356.
  120. Chalbi, N., Hessini, K., Gandour, M., Mohamed, S., Smaoui, A., Abdelly, C., & Ben Youssef, N. (2013). Are changes in membrane lipids and fatty acid composition related to salt-stress resistance in wild and cultivated barley? . *J. Plant Nutr. Soil Sci*, 167, 138-147.
  121. Chanda, S., Hirst, E., Jones, J., & Percivale, E. ( 1950). The construction of xylan from esparto grass (*Stipa tenacissima* L.). *J. Chem. Soc*, 1289-1297.
  122. Chao, W., Gu, Y., Pautot, V., Bray, E., & Walling, L. (1999). Leucine aminopeptidase RNAs, proteins, and activities increase in response to water deficit, salinity, and the wound signals systemin, methyl jasmonate, and abscisic acid. . *Plant Physiol.*, 120, , 979–992.
-

- 
123. Chaparzadeh, N., D'Amico, M., Khavari-Nejad, R., Izzo, R., & Navari-Izzo, F. (2004). Antioxidative responses of *Calendula officinalis* under salinity conditions. . *Plant Physiol. Biochem.* , 42, 695–701.
  124. Chapeville, N., Mckell, C., & Strain, B. (1970). Intraspecific differences in temperature included respiratory acclimation of desert saltbush. *Ecology* , 51, 545-547.
  125. Chartzoulakis, K. (2005). Salinity and olive: growth, salt tolerance, photosynthesis and yield. *Agric. Water Man.*, 78, 108–121.
  126. Chartzoulakis, K., & Klapaki, G. ( 2000). Response of two greenhouse pepper hybrids to NaCl salinity during different growth stages. . *Scientia Horticulturae*, 86, 247- 260.
  127. Cheikh M'hamed, H., Abdellaoui, R., Kadri, K., Naceur, B., & Bel hadj, S. (2008). Evaluation de la tolérance au stress salin de quelques accessions d'orge (*Hordium vulgare* L.) cultivées en Tunisie: . *Approche physiologique. Sci. Tech.*, 28, 30 -37.
  128. Chelli-Chaabouni, A., Hammami, M., Gouia, M., Gargouri, K., Gargouri, R., & Drira, N. (2010). Effect of salt stress on *Pistacia atlantica* rootstock seedlings in nursery conditions. Dans Z. G (Éd.). (pp. 135-140). XIV GREMPA Meeting on Pistachios and Almonds. Zaragoza : CIHEAM / FAO / AUA / TEI Kalamatas / NAGREF.
  129. Chen, C., Tao, C., Peng, H., & Ding, Y. ( 2007). Genetic analysis of saltstress responses in asparagus bean (*Vigna unguiculata* L. ssp. *Sesquipedalis* verdc.). . *J. Hered.*, 98( 7), 655–665.
  130. Chen, H., & Jiang, J. (2010). Osmotic adjustment and plant adaptation to environmental changes related to drought and salinity. . *Environ. Rev.*, 18 .
  131. Cheruth, J. R., Ashot, K., Paramasivam, M., Beemaroo, S., & Rajaram, P. (2008.). Interactive effects of triadimefon and salt stress on antioxidative status and ajmalicine accumulation in *Catharanthus roseus*. *Acta Physiol. Plant.*, 30(3), 287–292.
  132. Cheynier, V., Comte, G., Davies, K., Lattanzio, V., & Martens, S. ( 2013.). Plant phenolics: recent advances on their biosynthesis, genetics, and ecophysiology. *Plant Physiology and Biochemistry*, 72, 1–20.
  133. Cheynier, W., Souquet, J., Fulcrand, H., P, S., & M., M. (1998). Stabilisation Tanins-Anthocyanines: Données Générales. IPV-INRA. Extrait les composés phénoliques. *J. Tech.*, 1-10.
  134. Chi, L., & Kao, C. (2001). Abscisic acid induced changes in cell wall peroxidase activity and hydrogen peroxide level in roots of rice seedlings. *Plant. Sci*, 160, 323-329.
  135. Cokkizgin, A. (2012). Stress in Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Seed Germination Not Bot Horti Agrobo. 40(1), 177-182.
  136. Côme, D. (1970). *Les obstacles à la germination*. (M. e. Cie, Éd.) Paris.
  137. Cosgrove, D. J. ( 2005). Growth of the plant cell wall. . *Nat. Rev.Mol. Cell Biol*, 6, 850–861.
-

- 
138. Cramer, G. ..., Abdel-basset, R., & Seemann, J. (1990.). Salinity- calcium interaction on root growth and osmotic adjustment of two corn cultivars differing in salt tolerance. *J.Plant.Nutr*, 13 , 1453-4162.
  139. Cramer, G. (1992). Kinetics of maize leaf elongation. II. Responses of Na-excluding cultivar and a Na-including cultivar to varying Na/Ca salinities. . *J. Exp. Bot*, 48, 857-864.
  140. Cramer, G. R. (1997). Uptake and role of ions in salt tolerance, in P K JAIWAL., R P SINGH and A GULATI, (Eds). Strategies for improving salt tolerance in higher plants., *Oxford and IBH publishing CO. Pvt. Ltd*, 55-86.
  141. Cramer, G., Epstein, E., & Läuchli, A. (1991). Effect of sodium, potassium and calcium on salt stressed barley. Elemental analysis. *Physiol. Plant.* , 81, 197-202.
  142. Cramer, G., Läuchli, A., & Polito, V. (1985). Displacement of Ca<sup>2+</sup> and Na<sup>+</sup> from the plasma lemma of root cells. *Plant Physiol*, 79 , 207–211.
  143. Cushman, J. ( 2001). Osmoregulation in plants: Implication for agriculture. *Am. Zool*, 41 (4), 758–769. .
  144. Danai-Tambhale, S., Kumar, V., & Shiram, V. (2011). Differential response of two scented indica rice (*Oryza sativa*) cultivars under salt stress. *J. Stress Physiol. Biochem.*, 7, 387–397.
  145. Daoud, Y., & Halitim, A. (1994). Irrigation et salinisation au Sahara algérien. *Sécheresse*, 5(3), 151-160.
  146. De AzevedoNeto, A., Prisco, J., Enéas-Filho, J., de Abreu, C., & Gomes-Filho, E. (2006). Effect of salt stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of salt-tolerant and salt-sensitive maize genotypes. . *Environmental and Experimental Botany*, 56(1), 87-94.
  147. De Lacerda, C., Cambraia, J., Oliva, M., Ruiz, H., & Prisco, J. ( 2003). Solute accumulation and distribution during shoot and leaf development in two sorghum genotypes under salt stress. . *Environmental and Experimental Botany* , 49, 107-120.
  148. De Rijke, E., Out, P., Niessen, W., Ariese, F., Gooijer, C., & et Brinkman, U. (2006). Analytical separation and detection methods for flavonoids. . *Journal of Chromatography*, 112, 31 - 63.
  149. Debouba, M., Gouia, H., & Ghorbel, M. (2006b). NaCl effects growth, ions and water status of Tomato ( *Lycopersicon esculentum* ) seedlings. *Acta Botanica Gallica*, 153, 297 - 307.
  150. Debray, M., Jacquemin, H., & Razafindrambo, R. (1971). Travaux et documents de l'Orstom.
  151. Delauney, A., & Verma, D. (1993). Biosynthèse et osmorégulation de la proline dans les plantes. *Plant J*, 4, 215-223.
-

- 
152. Delgado, M., Garrido, J., Ligeró, F., & Lluch, C. (1993). Nitrogen fixation and carbon metabolism by nodules and bacteroids of pea plants under sodium chloride stress. *Physiol. Plant*, 89, 824-829.
  153. Delgado, M., Ligeró, F., & Lluch, C. (1994). Effect of salt stress on growth and nitrogen fixation by pea, faba bean, common bean and soybean plants. *Soil Biol. Biochem*, 26, 371–376.
  154. Delmer, D. (1999). Cellulose biosynthesis: exciting times for a difficult field of study. *Annu.Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol*, 50, 245–276.
  155. Demiral, T., & Turkan, I. (2005.). Comparative lipid peroxidation, antioxidant systems and proline content in roots of two rice cultivars differing in salt tolerance. *Environ. Exp. Bot.*, 53, 247-257.
  156. Denden, M., Bettaieb, T., Salhi, A., & Mathlouthi, M. (2005). Effect of Chloride Sodium on Chlorophyll Fluorescence, Plant Proline Content and flowers production of three ornamental species. . *Tropicultura*, 23 (4), 220- 225.
  157. Dhingra, H. R., & Varghese, T. (1985). Effect of salt stress on viability germination and endogenous levels of some metabolites and ions in maize (*Zea mays* L.) pollen. *Ann Bot.*(55), 415-420.
  158. Di Ferdinando, M., Brunetti, C., Fini, A., & Tattini, M. (2012.). *Flavonoids as Antioxidants inPlants under Abiotic Stresses. Abiotic Stress Responses in Plants: Metabolism, Productivity and Sustainability.* (P. P. In: Ahmad, Éd.) New York: Springer.
  159. Dionisio-Sese, M., & Tobita, S. (1998). Antioxidant responses of rice seedlings to salinity stress. *Plant Sci.*, 135, 1-9. .
  160. Djerroudi, Z. O., Belkhodja, M., S, B., & Hadjadj, S. (2010). Effet du Stress Salin sur l’accumulation de Proline chez deux espèces d’*Atriplex halimus* L. et *Atriplex canescens*. (*Pursh*) Nutt. *European Journal of Scientific Research.*, 41(2), 249.
  161. Djeugap, F.J., Mefire, M.h., Nguéfack, J. N., Gueguim, M.et Fontem, D.A. (2014). Effet varietal et du traitement fongicide sur la sévérité de la maladie des taches angulaires et le rendement du haricot commun (*Phaseolus vulgaris* L.) a l’Ouest-Cameroun. *International Journal of Biological and chemical science.* 8(3): 1221-1233.
  162. Dkhil, B., & Denden, M. (2010). Salt stress induced changes in germination, sugars, starch and enzyme of carbohydrate metabolism in *Abelmoschus esculentus* L. (Moench.) seeds. *Afr J Agric Res*, 5, 1412–1418.
  163. Doganlar, Z, B., Demir, K., Basak, H., & Gul, I. (2010). Effects of salt stress on pigment and total soluble protein contents of three different tomato cultivars . *Afr. J. Agric. Res*, 5 , 2056–2065.
  164. Donatien, K. (2008). *Enquête ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes - extraction, identification d’alcaloïdes - caractérisation, quantification de polyphénols : étude de leur activité antioxydante.* Thèse de doctorat. Université de Bamako.
-

- 
165. Dreier, W., & Göring, M. (1974). Der Einfluss hoher Salzkonzentration auf verschiedene physiologische Parameters von Maiswurzeln. *Wiss. Z. Humboldt Univ. Berlin, Reihe/Math. Naturwiss*, 23, 641-644.
  166. Du, J., Cullen, J., & Buettner, G. (2012). Ascorbic acid: chemistry, biology and the treatment of cancer. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2(1826), 443-457.
  167. Dua, R. ( 1992 ). Differential response of chickpea (*Cicer arietinum*) genotypes to salinity. *J. Agric. Sci*, 119, 367 - 371.
  168. Dubey, R. (1997). Photosynthesis in plants under stressful conditions. (H. o. M. Pessarakli, Éd.) 859-875.
  169. Dubey, R., & Singh, A. (1999). Salinity induces accumulation of soluble sugars and alters the activity of sugar metabolising enzymes in rice plants. *Biol. Plant*, 42, 233-239.
  170. Dubois, M., Gillesk, L., Hamilton, J., Reberg, A., & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugar and related substance analytical. *Chemistry*, 14-15.
  171. Dupont, F., Bush, D., Windle, J., & Russell, L. ( 1990 ). Calcium and proton transport in membrane vesicles from barely roots. *Plant Physiol*, 94, 179-188.
  172. Eastman, P., & Camm, E. (1995). Regulation of photosynthesis in interior spruce during water stress – changes in gas-exchange and chlorophyll fluorescence. *Tree Physiol* , 15, 229–235.
  173. Ehret, D., Redman, R., Harvy, B., & Cipywnyk, A. . (1990). Salinity-induced calcium deficiencies in wheat and barley. *Plant and Soil*, 128, 143-151.
  174. El Hariri, D., Sadak, M., & El-Bassiouny, H. (2010). Response of flax cultivars to ascorbic acid and  $\alpha$  – tocopherol under salinity stress conditions. *Inter. J. Acad. Res.*, 2 ((6)), 101-109.
  175. EL-iklil, Y., Karrou, M., Mrabet, R., & Benichou, M. (2002). Effet du stress salin sur la variation de certains métabolites chez *Lycopersicum esculentum* et *Lycopersicum sheesm Eanii*. *Canadian Journal of Plant Science*, 82, 177-183.
  176. ElMidaoui, M, B., A, A. H., M, I., & A, T. (2007). Contribution à l'étude de quelques mécanismes d'adaptation a la salinité chez le tournesol cultivé (*Helianthus annuus* L.). *Revue Hommes Terre et Eaux*(136.).
  177. El-Monem, A., & Sharaf, M. (2008). Tolerance of five genotypes of lentil to NaCl-salinity stress. *NY Sci J*, 1, 70-80.
  178. El-Nady, M., & Bellal, E. (2005). Responses of faba bean (*Vicia faba* L.) plants to root nodule bacteria under salinity conditions. *J. Agric. Res.*, 49, 245-253.
  179. El-Refaey, El-Dengawy, F., Ahmed Hussein, A., & Saad Alamri, A. (2011). Improving Growth and Salinity Tolerance of Carob Seedlings (*Ceratonia siliqua* L.) by *Azospirillum* Inoculation. . *American-Eurasian J Agric Environ Sci*, 11, 371-384.
-

- 
180. Emons, A., & Mulder, B. (2000). How the deposition of cellulose microfibrils builds cell wall architecture. *Trends Plant Sci*, 5, 35-40.
  181. Endler, A., Schneider, R., Zhang, Y., Ivakov, A., Froehlich, A., Funken, N., & Persson, S. (2015). A mechanism for sustained cellulose synthesis during salt stress. *Cell*, 162 , 1353-1364.
  182. Epstein, E. (1972). Mineral Nutrition of Plants. (John Wiley & Sons, Éd.) *Principles and Perspectives*.
  183. Fadzilla, N., Finch, R., & Burdon, R. (1997). Salinity, oxidative stress and antioxidant responses in shoot cultures of rice. *Journal of Experimental Botany* , 48, 325-331.
  184. Fan, P., Nie, L., Jiang, P., Feng, J., Lv, S., Chen, X., . . . Tai, F. (2013). Wang, J.; et al. Transcriptome Analysis of *Salicornia europaea* under saline conditions revealed the adaptive primary metabolic pathways as early events to facilitate salt adaptation. *PLoS One* , 8, e80595.
  185. FAO. (1982). *Les graines de légumineuses dans l'alimentation humaine*. Rome: Alimentation et nutrition 20 .
  186. FAO. (2013). *Mission FAO/PAM d'évaluation de la sécurité alimentaire à Madagascar*.
  187. Farissi, M., Bouizgaren, A., AZIZ, F., Faghire, M., & Ghoulam, C. (2014). Isolation and screening of rhizobial strains nodulating alfalfa for their tolerance to some environmental stresses. *PJAR*, 2, 9-19.
  188. Farissi, M., Bouizgaren, A., Faghire, M., Bargaz, A., & Ghoulam, C. (2011). Agro-physiological responses of Moroccan alfalfa (*Medicago sativa* L.) populations to salt stress during germination and early seedling stages. *Seed Sci Techno*, 39, 389-401.
  189. Feno, M. (2011). Etude de la consommation des légumineuses dans les ménages d'Antananarivo et détermination de la contribution de contribution de différentes variétés de légumineuses à l'équilibre nutritionnel des ménages. Antananarivo, (Mémoire de DEA en Biochimie Appliquée aux Sciences de l'Alimentation et de la nutrition). : Université d'Antananarivo
  190. Feraga, E. (2015). *METABOLISME DES GLUCIDES APPORTS- DIGESTION- ABSORPTION –TRANSPORT*. 2 ème année médecine Module de biochimie métabolique, COURS.
  191. Flowers, T., & Hajibagheri, M. (2001). Salinity tolerance in *Hordeum vulgare*: ion concentrations in root cells of cultivars differing in salt tolerance. *Plant Soil*, 231, 1-9.
  192. Flowers, T., Gaur, P., Gowda, C., Krishnamurthy, L., Samineni, S., Siddique, K., . . . Colmer, T. (2010). Salt sensitivity in chickpea. . *Plant Cell Environ.*, 33, 490–509.
  193. Flowers, T., Troke, P., & Yeo, A. (1977). The mechanism of salt tolerance in halophytes. *Annual Review of Plant Physiology* , 28, 89-121.
-

- 
194. Ford, C. (1984). Accumulation of low molecular weight solutes in water-stressed tropical legumes. . *Phytochemistry*, 23, 1007–1015.
  195. Fougère, F., Le Rudulier, D., & Streeter, J. (1991). Effects of salt stress on amino acid organic acid and carbohydrate composition of roots bacteroids and cytosol of alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Plant Physiology*, 96, 1228-1236.
  196. FPM1. (2014). *Pharmacognosie .Chapitre 8 les tanins*. Faculté de pharmacie de Monastir - DCEP 1 .
  197. Frankel, E. (1984). Lipid Oxidation: Mechanisms, Products and Biological Significance. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 61, 1908-1917.
  198. Frary, A., Göl, D., Keleş, D., Ökmen, B., Pinar, H., Şığva, H. Ö., & Doğanlar, S. (2010). Salt tolerance in *Solanum pennellii*: antioxidant response and related QTL . *BMC Plant Biology*, 58(10 ).
  199. Freytag, G., & Debouck, D. (2002). Taxonomy distribution and ecology of the genus *Phaseolus* (Leguminosae–Papilionoideae) in North America, Mexico and Central America. *Sida Bot Misc 23. Botanical Research Institute of Texas*.
  200. Fuentes, L., Amalia DomÍnguez, A., Pérez, Y., Mesa, A., Gonzalez, S., Acebes, J., . . . G, A. (2015). Monitoring of cell wall modifications during callogenesis in *Stylosanthes guianensis* (Fabaceae) under salt stress conditions. *Botanical Society of Sao Paulo* .
  201. Gaballah, M., & et Gomaa, A. (2005). Interactive effect of *Rhizobium* inoculation, sodium benzoate and salinity on performance and oxidative stress in two *Faba* bean varieties. *Inter. J. Agri. Bio*, 7, 495-498.
  202. Gadallah, M. (1999). Effects of proline and glycinebetaine on *Vicia faba* responses to salt stress. *Biologia Plantarum*, 42, 249-257.
  203. Gale, J. ( 1967). Changes in the water balance and photosynthesis of onion, bean and cotton plants under saline conditions. *Plant*, 20(2), 408-20.
  204. Gama, P. B., Inanaga, S., Tanaka, K., & Nakazawa, R. (2007). Physiological response of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seedlings to salinity stress. *Afr. J. Biotechnol*, 6,, 79–88.
  205. Gao, S., Ouyang, C., Wang, S., Xu, Y., Tang, L., & Chen, F. (2008). Effects of salt stress on growth, antioxidant enzyme and phenylalanine ammonia-lyase activities in *Jatropha curcas* L. seedlings. *Plant Soil Environ.*, 54, 374–381.
  206. Garait, B. (2006). *Le stress oxydant induit par voie métabolique (régime alimentaire) au par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la glisodin*. Thèse dedoctorat, l'université de Joseph Fourier.
  207. Garbarino, J., & DuPont, F. (1989 ). Rapid Induction of Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> Exchange Activity in Barley Root Tonoplast. *Plant Physiol.* , 89 (1), 1–4.
-

- 
208. Garg, G. (2008). Salinity and its effects on the functional biology of legumes. . *Acta Physiologiae Plantarum*, 30, 595-618.
209. Garg, N., & Singla, R. (2004). Growth, photosynthesis nodule nitrogen and carbon fixation in the chickpea cultivars under salt stress. *Braz. J. Plant Physiol.*, 16, 137-146.
210. Garrido, J., & Borges, F. (2013). Wine and grape polyphenols -A chemical perspective. *Food Research International*, 2(54), 1844-1858.
211. Geilfus, C., Zörb, C., Neuhaus, C., Hansen, T., Lüthen, H., & Mühling, K. (2011). Differential transcript expression of wall-loosening candidates in leaves of maize cultivars differing in salt resistance. . *J. Plant Growth Regul.*, 30, 387–395.
212. Gepts, P., Francisco, J., Barros, A. E., Matthew, W. B., & Rosana Brondani, .. (2008). Genomics of Phaseolus Beans, a Major Source of Dietary Protein and Micronutrients in the Tropics. (R. M. In: P.H. Moore, Éd.) *Genomics of Tropical Crop Plant*, 113-143.
213. Gerard, D. (1996). *Valeur alimentaire et usage des graines de légumineuses*.
214. Gharsal, i. M., & Cherif, A. (1979). Action du chlorure de sodium sur la croissance et la teneur en lipides de plants de tournesol (*Helianthus annuus L.*). *Physiol. vég.*, 17(2), 215 - 229.
215. Gholami, M, Reimer C, Erbe M, Preisinger R, Weigend A, Weigend S, B Servin, et H Simianer. (2015). Genome Scan for Selection in Structured Layer Chicken Populations Exploiting Linkage Disequilibrium Information. *PLoS ONE*, 10(7), 1-15.
216. Ghrib, C. D., Gharbi, F., Rejeb, S., Khoudja, L., & Rejeb, M. (2011). Tolérance à la salinité de trois espèces d 'Eucalyptus aux stades germinatif et plantule . *European Journal of Scientific Research*, 50(2), 208 – 217.
217. Gibeaut, D. M., Pauly, M., Bacic, A., & Fincher, G. B. (2005). Changes in cell wall polysaccharides indeveloping barley (*Hoedeum vulgare*) coleoptiles. . *Planta* , 221, 729–738.
218. Gill, P. K., Sharma, A. D., Singh, P., & Bhullar, S. S. ( 2003 ). Changes in germination, growth and soluble sugar contents of Sorghum bicolor (L.) Moench seeds under various abiotic stresses. *Plant Growth Regulation*, 40(2), 157-162.
219. Gilmour, S. J., Sebolt, A. M., Salazar, M. P., Everad, J., & ThomashowH, M. F. (2000). Overexpression of the Arabidopsis CBF3 transcriptional activator mimics multiple biochemical changes associated with cold acclimation. *Plant Physiology*, 124(4), 1854–1865.
220. Glenn, E., Brown, J., & Blumwald, E. (1999). Salt-tolerant mechanisms and crop potential of halophytes. *Crit. Rev. Plant Sci*, 18, 227-255.
221. Godon, B., & Loisel, W. (1991). *Dosage des protéines, Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries Agro-alimentaires, MULTON JL, Analyse des constituants alimentaires*. (Vol. 4). (T. D. Lavoisier, Éd.) 2ème édition.
-

- 
222. Gondim, F., Gomes-Filho, E., Lacerda, C., Tarquinio-Prisco, J., Azevedo Neto, A., & Marques, E. (2010). Pretreatment with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in maize seeds: effects on germination and seedlings acclimation to salt stress. *Braz. Sco.of Plant Physiol*, 22, 103-112.
223. Gordon, A., Minchin, F., Skot., L., & James, C. (1997 ). Stress-induced declines in soybean N<sub>2</sub> fixation are related to sucrose synthase activity. *Plant Physiology*, 114, 937 - 946.
224. Gosset, D., Millhollon, E., & Lucas, M. (1994). Antioxidant response to NaCl stress in salt-tolerant and salt-sensitive cultivars of cotton. *Crop Sci*, 34, 706-714.
225. Grace, S. (2005). *Phenolics as antioxidants. Antioxidants and reactive oxygen species in plants.* (S. N, Éd.) Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd.
226. Grace, S., & Logan, B. (2000.). Energy dissipation and radical scavenging by the plant henylpropanoid pathway. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 355, 1499–1510.
227. Gratão, P., Prasad, M., Cardoso, P., Lea, P., & Azevedo, R. ( 2005). Phytoremediation: green technology for the clean up of toxic metals in the environment. *Braz. J. Plant Physiol*, 17, 53-64.
228. Grattan, S. R., & Grieve, C. M. (1994). Mineral nutrient acquisition and response by plants grown in saline environments. (M. D. Passarakil, Éd.) *Handbook of Plant and Crop Stress Marcel Dekker New York*, 203-226.
229. Greelman, R., & Mullet, J. (1997). Biosynthesis and action of jasmonates in plants. *Plant physiolog*, 48, 355-381.
230. Greenway, H., & Munns, R. (1980). Mechanism of salt tolerance in non halophytes. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, 31, 149-190.
231. Grennan, A. (2006). An Omic Approach High Impact Abiotic Stress in Rice. *Plant physiology*, 144, 1139–1141.
232. Guignard, J. (1996). *Biochimie végétale.* Edition France Masson.
233. Gul, B., & Khan, M. (2006). Role of calcium in alleviating salinity effects in coastal halophytes. *. In: Ecophy. High Sal. Tol. Plants. Springer. Printed in the Netherlands*, 107-114.
234. Ha, M., & Martinez, C. (2001). Contribution of proline and inorganic solutes to osmotic adjustment in cotton under salt stress. *Journal of Plant Nutrition* , 24, 599-612.
235. Habibi, Y. (2004). Contribution to the morphological, ultrastructural and chemical study of the prickly pear. The cell wall polysaccharides: characterization and chemical modification. *Ph.D. Thesis, UJF of Grenoble.*
236. Hafeez, F., Aslam, Z., & Malik, K. (1988). Effect of salinity and inoculation on growth,nitrogen fixation and nutrient uptake of (*Vigna radiata* L.) . *Wilszek, Plant and Soil.*, 106., 3-8.
-

- 
237. Hagemeyer, J. (1996). *Salt. In Plant Ecophysiology. New York.* (J. W. Sons, Éd.) Inc. ISBN : 0-471-13157-11.
238. Hajhashemi, S., Kiarostami, K., Enteshari, S., & Sabbora, A. (2006). The effects of salt Stress and Paclobutrazol on Some Physiological of two salt tolerant and salt sensitive cultivars of wheat. . *Pakista J. Biol.* , 9, 1370-1374.
239. Hajlaoui, H. D. (2007). Etude de la variabilité intraspécifique de tolérance au stress salin du pois chiche (*Cicer arietinum* L.) au stade germination. *TROPICULTURA*, 25(3), 168-173.
240. Hajlaoui, H., Denden, M., & Ayeb, N. (2009). Changes in fatty acids composition, hydrogen peroxide generation and lipid peroxidation of salt-stressed corn (*Zea mays* L.) roots. *Acta Physiol Plant*, 31, 787–796.
241. Hamoud, N. (2012). Effet du stress salin sur la croissance et la physiologie de la féverole (*Vicia faba* L.). *these Magister en sciences Agronomiques ,Ecole Nationale Supérieure Agronomiques* , 1-59.
242. Hanen, F., . Ksouri, R., . Megdiche, W., Trabelsi, N., Boulaaba, M., & Abdelly, C. (2008.). *Effect of Salinity on Growth, Leaf Phenolic Content and Antioxidant Scavenging Activity in Cynara cardunculus L. In: Biosaline Agriculture and High Salinity Tolerance.* (C. AbdeAbdelli, M. Ozturk, M. Ashraf, & Y. Grignon, Éd.) Birkhauser Verlag, Switzerland, .
243. Haouala, R. (1999). les Effets du NaCl sur la croissance, les caractéristiques hydriques et les activités photochimiques et enzymatiques d'un blé dur et d'une orge cultivée. thèse Doctorat en biologie. Fac. Sci. , Tunis.
244. Harche, M., Tarzels, D., & Catesson, A. (1989). Etude expérimentale de la lignification des fibres foliaires de l'Alfa (*Stipa tenacissima* L.). . *Annales des Sciences Naturelles: Botanique et Biologie Végétale*, 27-34.
245. Harche, M., Tollier, M., Monties, B., & Catesson, A. (1991). Caractérisation comparée des constituants (polyosides, lignines et acides phénoliques) des parois cellulaires de trois Graminées subdésertiques pérennes : *Stipa tenacissima* L., *Lygeum spartum* L. et *Aristida pungens* L. *Cellulose. Chem. Technol*, 11-17(25).
246. Harholt, J., Suttangkakul, A., & Vibe Scheller, H. (2010). Biosynthesis of pectin. *Plant Physiol*, 153, 384-395.
247. Hasegawa, P., Bressan, R., Zhu, J., & Bohnert, H. (2000). Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annual Review of Plant Biology*, 51, 463-499.
248. Hassanein ,RA., Hashem ,HA., Khalil ,RR (2012) Stigmasterol treatment increases salt stress tolerance of faba bean plants by enhancing antioxidant systems. *POJ* 5(5): 476-485.
249. Hassani, A., Dellal, A., Belkhodja, M., & Kaid- Harche, M. (2008). Effet de la Salinité Sur L'eau et Certains Osmolytes Chez L'orge (*Hordeum Vulgare*). *European Journal of Scientific Research*, 23(1), pp. 61-69.
-

- 
250. Hayashi, H., & Murata, N. (1998). *Genetically Engineered Enhancement of Salt Tolerance in Higher Plants. In: Stress Response of Photosynthetic Organisms: Molecular Mechanisms and Molecular Regulation* . (N. Sato Murata, Éd.) Elsevier, Amsterdam.
251. Heller, R., Esnault, R., & Lance, C. (1994. ). *Physiologie végétale. Nutrition*. Paris: 5e édition de l'abrégé, Editions Masson, .
252. Hendrich, B. ( 2006). Flavonoid–membrane interactions: possible consequences for biological effects of some polyphenolic compounds. *Acta Pharm. Sin.* , 27, 27–40.
253. Hernandez, J., Jimenez, A., Mullineaux, P., & Sevilla, F. (2000). Tolerance of pea ( *Pisum sativum* L.) to long-term salt stress is associated with induction of antioxidant defences. *Plant Cell and Environ.* , 23, 853–862.
254. Hernandez, P., A, M., & G, D. (1999). Development of SCARs by direct sequencing of RAPD products: A practical tool for the introgression and marker-assisted selection of wheat. *Mol. Breed*, 5, 245-253.
255. Hichem, H., Mounir, D., & Naceur, E. (2009). Differential responses of two maize (*Zea mays* L.) varieties to salt stress: changes on polyphenols composition of foliage and oxidative damages. *Industrial Crops and Products* ., 30, 144–151.
256. Hijazi, M. (2011 ). *Caractérisation structurale et fonctionnelle d'AGP31, une glycoprotéine atypique de la paroi chez Arabidopsis thaliana*. . Thèse Doctorat, Université de Toulouse.
257. Hoagland, D., & Arnon, D. (1938). The water culture method for growing plants without soil. *California Agricultural Experiment Station Circulation*, 347.,, 32.
258. Hoffmann, R., Tufariello, J., & Bison, A. (1989). Effect of divalent cations Na<sup>+</sup> on permeability of Chara coralline and fresh water grows Chara buckelli. *J. of Exp.Bot*, 40( 217), 875-881.
259. Hopkins, G. (2003). *Physiologie végétale*. B-1000 Bruxelles., Livre, De Boeck Universite rue des Minimes 39.
260. Huber, W., Kreutmer, F., & Sankhala, N. (1977). Ecophysiological studies on indian arid zone plants. Effects of sodium chlorides and abscissic acid on amino–acid and protein metabolism in leaves of phaseolus contifolius. *Z. Planger physiol*, 234-247.
261. Hungria, M., & Vargas, M. (2000 ). Environmental factors affecting N<sub>2</sub> fixation in grain legumes in tropics, with an emphasis on Brazil. . *Field Crops Research*, 65, 151–164.
262. Hussain, G., Al-Jaloud, A., Al-Shammery, S., & Karimulla, S. (1995). Effect of saline irrigation on the biomass yield, and the protein, nitrogen and phosphorus, and potassium composition of alfalfa in a pot experiment,. *J. Plant Nutr*, 18 , 2289–2408.
-

- 
263. Hutzler, P., Fischbach, R., Heller, W., Jungblut, T., Reuber, S., Schmitz, R., . . . Schnitzler, J. (1998). Tissue localization of phenolic compounds in plants by confocal laser scanning microscopy. *J. Exp Bot.*, *4*, 953–965.
264. Ibriz, M., Thami Alam, i. I., Amotfi, S., Al Faiz, C., & Rachidai, A. (2004, Mai 3-6). Réponse de quelques écotypes marocains de luzerne (*Medicago sativa* L.) à différentes concentrations de chlorure de sodium. *Congrès International de Biochimie. Marrakech, Maroc, 3-6 Mai 2004*. Marrakech, Maroc,.
265. Ibriz, M., Thami Alami, I., Amotfi, S., Al Faiz, C., & Rachidai, A. (2007). Réponse de quelques écotypes marocains de luzerne (*Medicago sativa* L.) à différentes concentrations de chlorure de sodium. *Congrès International de Biochimie. Marrakech Maroc 3-6 Mai 2004*.
266. Ignat I., V. I. (2011). A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food chemistry*, *126*, 1821-1835.
267. Imlay, J., & Linn, S. (1986). DNA damage and oxygen radical toxicity. *Science*, *240*, 1302-1309.
268. Ingram, J., & Bartels, D. (1996). The molecular basis of dehydration tolerance in plants. *Annual Review of Plant Biology*, *47*, 377-403.
269. Iqbal, N., Umar, S., & Khan, N. A. (2015). Nitrogen availability regulates proline and ethylene production and alleviates salinity stress in mustard (*Brassica juncea*). *J. Plant Physiol.*, *178*, 84–91.
270. Iraki, N. M., Bressan, R. A., & Carpita, N. C. (1989). Extracellular polysaccharides and proteins of tobacco cell cultures and changes in composition associated with growth-limiting adaptation to water and saline stress. *Plant Physiology*, *91*, 54-61.
271. Ishikawa, T., & Shabala, S. (2019). Control of xylem Na<sup>+</sup> loading and transport to the shoot in rice and barley as a determinant of differential salinity stress tolerance. *Physiologia Plantarum*, *165*(3).
272. Iyengar, E., & Reddy, M. (1996). *Photosynthesis in highly salt tolerant plants. Handbook of photosynthesis*. (B. R. Marshal Dekar, Éd.) USA.
273. Jacob John, M., & Thomas, S. (2008). Biofres and biocomposites Carbohydrate Polymers. *71*, 343-364.
274. Jaleel, C., Manivannan, P., Lakshmanan, G., Sridharan, R., & Panneerselvam, R. (2007). NaCl as a physiological modulator of proline metabolism and antioxidant potential in *Phyllanthus amarus*. *CompRend Biol*, *330*, 806-813.
275. James, E., Sprent, J., Hay, G., & Minchin, F. (1993). The effect of irradiance on the recovery of soybean nodules from sodium chloride-induced senescence. *J. Exp. Bot*, *44*, 997-1005.
-

- 
276. Jamil, M., & RHA, E. (2004). The effect of salinity (NaCl) on the germination and seedling of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) and cabbage (*Brassica oleracea capitata* L.). *Korean Journal of Plant Resources*, 7, 226-232.
277. Janz, D., Lautner, S., Wildhagen, H., Behnke, K., Schnitzler, J., Rennenberg, H., . . . Polle, A. (2011). Salt stress induces the formation of a novel type of 'pressure wood' in two *Populus* species. *New Phytol*, 194, 129-141.
278. Jaouadi, W., Hamrouni, L., Souayah, N., & Khouja, M. (2010). Étude de la germination des graines d'*Acacia tortilis* sous différentes contraintes abiotiques. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*, 14(4), 643-652.
279. Javid, M., Sorooshzadeh, A., Moradi, F., Sanavy, S., & Allahdadi, I. (2011). The role of phytohormones in alleviating salt stress in crop plants. *Aust J Crop Sci*, 5, 726-734.
280. Jeong-Ho, L., Kee-Jai, P., Bum-Keun, K., Jin-Woong, J., & Hyun-Jin, K. (2012). Effect of salinity stress on phenolic compounds and caro-tenoids in buckwheat (*Fagopyrum esculentum* M.). *sprout. Food Chem* , 135, 1065-1070 .
281. Jiang, Y., & Huang, B. ( 2001.). Effects of calcium on antioxidant activities and water relations associated with heat tolerance in two cool-season grasses. *J. Exp. Bot.*, 52, 341–349.
282. Jiménez-Bremont, J., Becerra-Flora, A., Hernández-Lucero, E., Rodríguez-Kessler, M., Acosta-Gallegos, J., & Ramírez Pimentel, J. (2006). Proline accumulation in two bean cultivars under salt stress and the effect of polyamines and ornithine. *Biol. Plant.*, , 50, 763–766.
283. Julkumen-Titto, R. (1985). Phenolic constituent in the leaves of northern willows: Methods for the analysis of certain phenolics. *J Agricult Food Chem* , 33, 213–217.
284. Kabar, K. (1986). Alleviation of salinity stress by growth regulators on seed germination. *J Plant Physiol* , 128, 179-183.
285. Kao, H., Verdel, A., Tsai, C., Simon, C., Juguilon, H., & Khochbin, S. (2001). Mechanism for nucleocytoplasmic shuttling of histone deacetylase 7. *The Journal of biological chemistry*, 276, 47496-47507.
286. Kaplan, A., & Gale, J. (1972). Effets of sodium chloride salinity on the water balance of *Atriplex halimus*. *Aust. Journ. Biol. Sci.*, 25, 895-903.
287. Kaymakanova, M. (2009). Effect of Salinity on Germination and Seed Physiology in Bean ( *Phaseolus Vulgaris* L. ). *Biotechnology\_Biotechnological\_Equipment*, 326-329.
288. Kaymakanova, M., & Stoeva, N. (2008). Physiological reaction of bean plant (*Phaseoluse Vulg* L.) to salt stress. *Gen. Appl. Plant Physiology* , 34, 177-188.
289. Keegstra, K. (2010). Plant Cell Walls. *Plant Physiol.* , 154, 483–486.
-

- 
290. Kennedy, B., & De Filippis, L. (1999). Physiological and oxidative response to NaCl of the salt tolerant *Grevillea ilicifolia* and the salt sensitive *Grevillea arenaria*. *Journal of plant physiology*, *155*, 746-754.
291. Kentour S., 1999. Contribution à l'étude des propriétés des graines du haricot dollique (*Vigna unguiculata* L. Walp) au cours d'un essai à l'ITMA de Boukhalfa wilaya de Tizi-Ouzou. DES de biologie. 44p.
292. Keutgen, A., & Pawelzik, E. (2008). Quality and nutritional value of strawberry fruit under long term salt stress. . *Food Chem.* , *107*, 141 3-1420.
293. Khadri, M., Tejera, N., & Lluch, C. (2006). Alleviation of Salt Stress in Common Bean (*Phaseolus vulgaris*) by Exogenous Abscisic Acid Supply-. *J. Plant Growth Regul*, *25*, 110-119.
294. khadir Fatima Zohra, 2018. Contribution à l'étude de l'influence de la salinité en conditions contrôlées sur les paramètres (morphologiques, biochimiques et physiologiques) de quelques légumineuses et leurs possibilités d'utilisation pour la désalinisation des sols.p15-16.
295. Khales, A., & Baaziz, M. (2006). Etude des peroxydases d'écotypes d'*Opuntia ficus indica* L. en relation avec le développement dans les conditions de stress salin. *Congrès international de Biochimie*.
296. Khan, M., & Gulzar, S. (2003). Light salinity and temperature effects on the seed germinationof perennial grasses. *Am. J. Bot*, *90*(1), 131-134.
297. Khattab, H. (2007). Role of glutathione and polyadenylic acid on the oxidative defense systems of two different cultivars of canola seedlings grown under saline conditions. . *Australian Journal of Basic and Applied Sciences* , *1*, 323–334.
298. Khosravinejad, F., Heydari, R., & Farboodnia, T. (2009). Effect of salinity on organic solutes contents in barley. *Pak. J. Biol. Sci.*, *12*(2), 158–162.
299. Kim, D., Jeong, S., & Lee, C. (2003). Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food Chemistry*, *81*, 321-326.
300. Kimura, S., & Itoh, T. (1995). Evidence for the role of the glomerulocyte in cellulose synthesis in the tunicate *Metandrocarpa uedai*. *Protoplasma*, *186*, 24-33.
301. Klein, A., Keyster, M., Ludidi, N., & . (2015). Response of soybean nodules to exogenously applied caffeic acid during NaCl-induced salinity. *South African. Journal. Botanique.* , *96*, 13-18.
302. Klyshev, L., & Rakova, N. (1964). Effect of salinisation of the substrate on the protein composition of the roots in pea shoots. *Tr. Bot. Inst. Akad. .Nauk. Kaz, SSR.*, *20*, 156- 167.
303. Knox, J. P. (2008). Revealing the structural and functional diversity of plant cell walls. *Curr Opin Plant Biol* , *11*, 308-313.
-

- 
304. Kotowski, F. ( 1926.). Temperatures relations to germination of vegetable seed. . *Proc. Amer. Soc. Horticult. Sei*, 23, 176-184 .
305. Koyro, H. (2006). Effect of salinity on growth, photosynthesis, water relations and solute composition of the potential cash crop halophyte *Plantago coronopus* (L.). *Environmental and Experimental Botany*, 56, 136-146.
306. Kreimer, G., Melkonian, M., Oltum, J., & Latzko, E. ( 1988). Stromal free Ca concentration and light mediated activation of chloroplast fructose-1,6Bisphosphatase. . *Plant.physiol*, 86, 423-428.
307. Kreimer, G., Surek, B., Woodrow, I., & Latzo, E. (1985). Calcium binding by Spinach stromal proteins. . *Planta*, 171, 259-265.
308. Kruh, J. (1987). *Etudes médicales et biologiques. I- Biologie cellulaire et moléculaire.* (Hermann, Éd.) Paris.
309. Kshetrimayum, E., Prasad Sahoo, D., Mitra, J., & Panda, S. (2017). Regulation of Seed Germination and the Role of Aquaporins under Abiotic Stress. *International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology (IJEAB)*, 2(2), 607-615.
310. Ksouri, R., Megdiche, W., Debez, A., Falleh, H., Gri-gnon, C., & Abdelly, C. (2007). Salinity effects on poly-phenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*. . *Plant Physiology and Biochemistry* , 45, 244-249.
311. Kuiper, F., Chen, D., & De Filippis, F. (1998). Respiratory, photosynthetic and ultrastructural changes accompanying salt adaptation in culture of *Eucalyptus microcorys*. *J. Plant Physiol*, 152 , 564–573.
312. Lachhab, L., Louahla, S., Laamarti, M., & Hammani, K. (2013). Effect d'un stress salin sur la germination et l'activité enzymatique de deux genotypes de *Medicago satives*. *International Journal of Innovation and Applied Studies* , 2(3), 511-516.
313. Lafon, J., Tharaud –Prayer, C., & Levy, G. ( 1996 ). *Biologie des Plantes Cultivées. Tome I. Org Phys De La Nutrition* (Vol. 165). (Lavoisier, Éd.)
314. Laghmouchi, Y., Belmehdi, O., Bouyahya, A., Senhaji, N. S., & Abrini, J. (2017). Effect of temperature, salt stress and pH on seed germination of medicinal plant *Origanum compactum*. . *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 10, 156-160.
315. Lakhdar, A., Hafsi, C., Rabhi, M., Debez, A., Montemurro, F., Abdelly, C., . . . Ouerghi, Z. ( 2008). Application of municipal solid waste compost reduces the negative effects of saline water in (*Hordeum maritimum* L.). *Bioresour Technol*, 99, 71 60-71 67.
316. Lamzeri, H. (2007). *Réponses écophysiologicals de trois espèces forestières du genre Acacia, Eucalyptus et Schinus (A. cyanophylla, E. gomphocephala et S. mölle) soumises à un stress salin.* Université Mentouri Constantine, Thèse de magistère en Ecologie et Environnement : Ecologie végétale.
-

- 
317. Laredj-Zazou, R. (2013). *Effet de la salinité sur le comportement hydrique et minérale du Haricot (Phaseolus Vulgaris L )*. Oran, these de magister , Algerie.
318. Laredj-Zazou, R., Toumi-Benali, F., & Bouazza, S. (2017). The effect of salinity on the growth, water status, and ion content on Common bean (*Phaseolus vulgaris*. L. var. El-Djadida). *South Asian J Exp Biol*, 7(4), 147-156; 2017.
319. Lauchli, A., & Epstein, E. (1970). Transport of potassium and rubidium in plant roots: the significance of calcium. *Plant Physiol* , 45, 639-641.
320. Läuchli, A., & Stelter, W. (1982). Salt tolerance of cotton genotypes in relation to K/Na selectivity. *Plenum press New-York*, 511-514.
321. Laurent, & L. (1991). *Eléments minéraux. In: Technique d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires*. (Vol. 4). (Lavoisier, Éd.) Paris.
322. Le Digabel-Houllier, F. (2004 ). *Incorporation de co-produits de paille de blé dans des matrices thermoplastiques : approche de la compatibilité charge-matrice et propriétés des composites*. Thèse de doctorat, Université de Reims Charpagne Ardene.
323. Le Gall, H., Philippe, F., Domon, J.-M., Gillet, F., Pelloux, J., & Rayon, C. (2015). Cell Wall Metabolism in Response to Abiotic Stress. *Plants*, 4(1), 112-166.
324. Lecoq, R. (1965). *Manuel d'analyses alimentaires tome II*. (E. Dion, Éd.) Paris.
325. Lee, D., Kim, Y., & Lee, C. (2001). The inductive responses of the antioxidant enzymes by salt stress in the rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of plant physiology* , 158, 737-745.
326. Lee, K., Marcus, S., & Knox, J. (2011). Cell wall biology perspectives from cell wall imaging. *Mol Plant*, 4, 212-219.
327. Lepengue, A., Mouaraga, I., Ibrahim, B., Ake, S., & M'batchi, B. ( 2012). Réponse du maïs (*Zea mays* var.LG 60) au stress salin : étude de la synthèse de quelques composés biochimiques. *Journal of Animal & Plant Sciences*, 1(14), 1866-1872.
328. Lesaos, J. (1978). Effets du NaCl et du CaCl<sub>2</sub> sur la croissance du *Cochelearla ang/ica*. *Bull. Soc. bot. Fr , Actual. bot*, 125(3), 453-459.
329. Levingneron, A., Lopez, F., Vansuyt, G., Berthomieu, P., Poureroy, P., & Casse-Delbart, F. (1995). Les plantes face au stress salin. *Cahier agricultures*, 4, 263-273
330. Levitt, J. «Responses of Plants to Environmental Stresses: Water, Radiation, Salt, and other stresses.» *Academic Press*, 1980: 365-488.
331. Levy, y., & Shalhevet, J. (1990). Ranking the salt tolerance of citrus rootstocks by juice analysis. *Scientia Horticulturae*, 45(1-2), 89-98.
332. Lewis, N., & Yamamoto, E. (1990). Lignin: occurrence, biosynthesis and,biodegradation. . *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 41, 455-561.
-

- 
333. Li, Q.-Y., Niu, H.-B., Yin, J., Wang, M.-B., Shao, H.-B., Deng, D.-Z., . . . Li, Y.-C. (2008). Protective role of exogenous nitric oxide against oxidative-stress induced by salt stress in barley (*Hordeum vulgare*). *Colloids Surfaces B. Biointerfaces*, *65*, 220–225.
334. Li, Y. T., Chen, M. M., Wang, Z. M., Liu, G. M., Wang, L. L., & Liu., D. X. (2016). Effects of exogenous calcium on the seed germination in *Phragmites australis* under NaCl stress. *Acta. Agr. Bor-Sin.*, *31*: 270-275. *Acta. Agr. Bor-Sin*, *31*, 270-275.
335. Lichtenthaler, H. (1987). *Chlorophylls and Carotenoids: Pigments of Photosynthetic Biomembranes. Methods in Enzymology* . (Vol. 1). Orlando, FL, USA: Academic Press. 144.
336. Linden, G. (1981). *Technique d'analyse et de contrôle dans les industries :Principe des techniques d'analyse. Science et Technique Agroalimentaire.*
337. Liu, J., & Zhu, J. (1997). Proline accumulation and salt-stress-induced gene expression in a salt-hypersensitive mutant of *Arabidopsis* . *Plant Physiology*, *114* , 591 – 596.
338. Liu, R. (2007). Whole Grain Phytochemicals and Health. *Journal of Cereal Science*, *46*, 207-219.
339. Logan, B. (2005). Les espèces réactives d'oxygène et la photosynthèse. In: Smirnoff N, éditeur d'antioxydants et d'espèces réactives d'oxygène dans les plantes. *Oxford: Blackwell*, 250-67.
340. López, A., El-Naggar, T., Dueñas, M., Ortega, T., Estrella, I., Hernández, T., . . . Carretero, M. (2013). Effect of cooking and germination on phenolic composition and biological properties of dark beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food Chem*, *138*, 547–550.
341. López-Pérez, L., Martínez-Ballesta, M., Maurel, C., & Carvajal, M. (2009). Changes in plasma membrane lipids, aquaporins and proton pump of broccoli roots, as an adaptation mechanism to salinity. . *Phytochem.*, *70*, 492–500.
342. Lu, N, Q., Q, L. W., & Kuang, T. (2002). Does salt stress lead to increased susceptibility of photosystem II to photo inhibition and changes in photosynthetic pigment composition in halophyte *Suaeda salsa* grown outdoors. *Plant Science*, *163*, 1063-1068.
343. Lugasi, A., Hovari, J., Sasi, K., & Biro, L. (2003). The role of antioxidant phytonutriments in the prevention of diseases. . *Act Biologica szegedientsis* , *1*(4), 119-125.
344. Lutge, U., Kluge, M., & Bauer, G. (2002). *Botanique 3ème ed.* Paris: technique et documentation Lavoisier.
345. Lutts, S., Majerus, V., & Kinet, J. (1999). NaCl effects on proline metabolism in rice (*Oryza sativa*) seedlings. *Physiologia Plantarum* , *105*, 450-458.
346. Lycoskoufis, I., Savvas, D., & Mavrogianopoulos, G. (2005). Growth, gas exchange, and nutrient status in pepper (*Capsicum annuum* L.) grown in recirculating nutrient
-

- 
- solution as affected by salinity imposed to half of the root system. *Scientia Horticulturae*, 106, 147- 161 .
347. Maas, E., & Hoffman, G. (1977). Crop Salt Tolerance–Current Assessment. *J. Irrig. Drainer. Eng.*, 103, 115-134.
348. Macheix, J., Fleuriet, A., & Jay-Allemand, C. (2005). *Les composés phénoliques des végétaux*. Italie: Edition Lausame.
349. Maggio, A., Miyazaki, S., Veronese, P., Fujita, T., Ibeas, J., Damsz, B., . . . Bressan, R. (2002). Does proline accumulation play an active role in stress-induced growth reduction? *Plant J.*, 31(6), 699-712.
350. Mahmoudi, H., Huang, J., Gruber, M., Kaddour, R., Lachaal, M., Ouerghi, Z., & Hannoufa, A. (2010). The impact of genotype and salinity on physiological function, secondary metabolite accumulation, and antioxidative responses in lettuce. *J. Agric Food Chem*, 58, 5122–5130.
351. Maillard, J. (2001). Le point sur l'Irrigation et la salinité des sols en zone aride. *Risques et Recommandations. Handicap International*, 35.
352. Majumder, A., Sengupta, S., & Goswami, L. ( 2010). *Osmolyte regulation in abiotic stress. Chap. 16. Dans Abiotic stress adaptation in plants: Physiological, molecular and genomic foundation*. (S. S. A. Pareek, Éd.)
353. Manaa, A., Gharbi, E., Mimouni, H., Wasti, S., Aschi-Smiti, S., Lutts, S., & Ben Ahmed, H. (2014). Simultaneous application of salicylic acid and calcium improves salt toleranc in two contrasting tomato (*Solanum Lycopersicum*) Cultivars. *S. Afr. J. Bot*, 95, 32–39.
354. Mane, A., Deshpande, T., Wagh, V., Karadge, B., & Samant, J. (2010). A critical review on physiological changes associated with reference to salinity. *Inter J Env Sci*, 1:, 1192-1216.
355. Manfield, I., Orfila, C., McCartney, L., Harholt, J., Bernal, A., Scheller, H., . . . Willats, .. (2004). Novel cell wall architecture of isoxaben-habituated Arabidopsis suspension-cultured cells: global transcript profiling and cellular analysis. *Plant J*, 40, 260–275.
356. Manivannan, P., Jaleel, C. A., Sankar, B., Somasundaram, R., Murali, P. V., Sridharan, R., & Panneerselvam, R. (2007a). Salt stress mitigation by calcium chloride in *Vigna radiata* (L.) Wilczek. . *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, 49(2), 105-109.
357. Mansour, M. (2000). Nitrogen containing compounds and adaptation of plants to salinity stress. . *Biologia Plantarum* , 43, 491-500.
358. Maréchal, R., Mascherpa, J., & Stainier, F. (1978. ). *Etude taxonomique d'un groupe complexe d'espèces des genres Phaseolus et Vigna sur la base de données morphologiques et polliniques traitées par l'analyse infor matique* (Vol. 28). Boisiera .
-

- 
359. Marschner, H. (1995). *Mineral nutrition of higher plants*. London: second edition. Academic Press.
360. Martin, S., & Andriantsitohaina, R. (2002). Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et d'angiologie*, 51, 304-315.
361. Martinez, J., Silva, H., Ledent, J., & Pinto, M. (2007). Effect of drought stress on the osmotic adjustment cell wall elasticity and cell volume of six cultivars of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *European journal of agronomy*., 26(1), 30-38.
362. Martinière, A., Lavagi, I., Nageswaran, G., Rolfe, D., Maneta-Peyret, L., Doan-Trung Luu, .. B., . . . Runions, J. (2012). Cell wall constrains lateral diffusion of plant plasma-membrane proteins. *Proceedings of the National Academy of Sciences* , 109 (31), 12805-12810.
363. Martin-Prevel, P., Gagnard, J., Gautier, P., & Drouineau, G. (1984 ). *Analyse végétale dans le contrôle de l'alimentation des plantes tempérées et tropicales. Technique et documentation- Lavoisier*.,
364. Mazliak, P. (1982). *croissance et physiologie végétale*. Paris France: Ed Masson.
365. McFarlane, H., Doring, A., & Persson, S. (2014). The cell biology of cellulose synthesis. *Annual Review of Plant Biology* , 65, 69–94.
366. Melgar, J., Abney, TS, & Vierling, R. (2006 ). Peroxidase activity in soybeans following inoculation with *Phytophthora sojae*. *Mycopathologia* . , 161(1), 37-42.
367. Meloni, D., Gulotta, M., Martínez, C., & Oliva, M. (2004. ). The effects of salt stress on growth, nitrate reduction and proline and glycinebetaine accumulation in *Prosopis alba*. *Braz. J. Plant Physiol*, 16, 39–46.
368. Meloni, D., Oliva, C., & Cambraia, J. (2003). Photosynthesis and activity of superoxide dismutase, peroxidase and glutathione reductase in cotton under salt stress. *Braz. J. Plant Physiology*, 15, 12–21.
369. Meloni, D., Oliva, M., Ruiz, H., & Martinez, C. ( 2001). Contribution of proline and inorganic solutes to osmotic adjustment in cotton under salt stress. *J. Plant Nutr*, 24, 599-612.
370. Meneguzzo, S., Navari-Izzo, F., & Izzo, R. (1999). Antioxidative responses of shoots and roots of wheat to increasing NaCl concentrations. *Journal of plant physiology* , 155, 274-280.
371. Menezes-Benavente, L., Kernodle, S., Margis-Pinheiro, M., & Scandalios, J. (2004). Salt-induced antioxidant metabolism defenses in maize (*Zea mays* L.) seedlings. *Redox Rep.*, 9, 29–36.
372. Merghem, R. (2000). *Rôle des polyphénols et tanins condensés dans l'alimentation* (Vol. 3). Université de Constantine Institut des Sciences de la Nature et de la Vie.
-

- 
373. Mermoud, A. (2006). *Cour de physique du sol*. Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne.
374. Michalak, A. (2006). Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. *Polish Journal of Environmental Studies*, 15.
375. Miller, G., Shulaev, V., & Mittler, R. (2008). Reactive oxygen signaling and abiotic stress. *Physiologia Plantarum*, 133(3), 481–489.
376. Miller, G., Suzuki, N., Ciftci-Yilmaz, S., & Mittler, R. (2010). Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses. *Plant, Cell & Environment*, 33(4), 453-467.
377. Mirmazloun, S., Szabó, ,, PoorKalhor, V., & Németh, É. (2010). Effets de différents niveaux de NaCl et CaCl<sub>2</sub> sur les caractéristiques de germination des graines de *Melissa officinalis* L. et *Ocimum basilicum* L. . *Journal international de la science horticole* , 16(5), 21-25.
378. Mishra, M., Mishra, P., Kumar, U., & Prakash, V. (2009). NaCl Phytotoxicity Induces Oxidative Stress and Response of Antioxidant Systems in *Cicer arietinum* L. CV. Abrodhi. *Botany Research International*, 2(2), 74-82.
379. Mittler, R. (2002). Oxidative stress: antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Sci*, 7, 405-410.
380. Mittler, R. (2006). Abiotic stress, the field environment and stress combination. *Trends Plant Sci*, 11:(1), 15-9.
381. Mittova, V., Guy, M., Tal, M., & Volokita, M. (2004). Salinity up-regulates the antioxidative system in root mitochondria and peroxisomes of the wild salt-tolerant tomato species *Lycopersicon pennellii* . *J. Exp. Bot.* , 55, 1105–1113.
382. Mohamed, A., & Aly, A. ( 2008). Alternations of some secondary metabolites and enzymes activity by using exogenous antioxidant compound in onion plants grown under seawater salt stress. *American-Eurasian Journal of Scientific Research*, 3, 139-146.
383. Mohammad Amzad, H., Khulood Ahmed, S., Zawan Hamood, A., & Afaf Mohammed, W. (2013). Study of total phenol, flavonoids contents and phytochemical screening of various leaves crude extracts of locally grown *Thymus vulgaris*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3(6), 705-710.
384. Mohammad, M., Shibli, R., Ajouni, M., & Nimri, L. ( 1998). Tomato root and shoot responses to salt stress under different levels of phosphorus nutrition. *J. Plant Nutr*, 21, 1667–1680.
385. Mohammadkhani, N., & Heidari, R. (2007). Effect of drought stress on soluble proteins in two Maize varieties. *Turk journal of biology*, 32, 32-30.
386. Mohnen, D. (2008). Pectin structure and biosynthesis. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 11, 266–277.
-

- 
387. Mohsen, A., Ebrahim, M., & Ghoraba, W. (2013). Response of salt-stressed *Vicia faba* plant to application of ascorbic acid on the growth and some metabolites. *Iranian J. of Plant Physiol*, 4 (2), 957-976.
388. Moine, C. (2005). Extraction, caractérisation structurale et valorisation d'une famille d'hémicelluloses du bois : obtention de matériaux plastiques par modification des xyloanes, Ph.D. . Thesis, Université de Limoges.
389. Mondy, N., & Mueller, T. (1977). Potato discoloration in relation to anatomy and lipid composition. *J. Food Sci*, 42, 14-18.
390. Monnet, Y., Pigeon, M., & Thibault, J. (1999). *Produits phytosanitaires autorisés à la vente : cultures légumières et fraisiers*. Paris: INRA.
391. Monneveux, P & Nemmar, M. (1986). Contribution à l'étude de la résistance à la sécheresse chez le blé tendre (*Triticum aestivum* L.) et chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.): Etude de l'accumulation de la proline au cours du cycle de développement. *Agronomie*, 6(6), 583-590.
392. Morant-Manceau, A., Pradier, E., & G, T. (2004). Its parental species under salt stress Osmotic adjustment gas exchange chlorophyll fluorescence of a hexaploid triticale and its parental species under salt stress. *J plant physiology*, 161., 25–33.
393. Müller, M., & Stantarius, K. (1978). Changes in chloroplast membrane lipids during adaptation of barley to extreme salinity. . *Plant Physiol.*, 62 , 326 - 329.
394. Munns, R. (2002). Comparative physiology of salt and water stress. *Plant Cell Environ*, 25(2), 239–250.
395. Munns, R., & Termaat, A. (1986). Whole Plant Responses to Salinity. *Australian Journal of Plant Physiology*, 13, 143-160.
396. Munns, R., & Tester, M. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annu. Rev. Plant Biol* , 59, 651-681.
397. Munns, R., James, R., & Lauchli, A. ( 2006). Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. . *J. Exp. Bot.* , 57, 1025-1043.
398. Munns, R., Schachtman, D., & Condon, A. ( 1995). The significance of a two-phase growth response to salinity in wheat and barley. *Functional Plant Biology*, 4(22), 561-569.
399. Murakezy, P., Nagy, Z., Duhazé, C., Bouchereau, A., & Tuba, Z. (2003). Seasonal changes in the levels of compatible osmolytes in three halophytic species of inland saline vegetation in Hungary. . *Journal of Plant Physiology* , 160, 395-401.
400. MurilloAmador, B., Yamada, S., . Yamaguch, ., Puente, E., Serrano, N., Hernandez, L., Garibay, A. (2007). Salinity toxicity influence of calcium silicate on growth physiological parameters and mineral nutrition in two legumespecies under salt stress . *J. Agron. Crop Sci*, 193(6), 413-421.
-

- 
401. Musakamba, M. (1995). Effet de la défoliation du haricot sur son potentiel de fixation biologique d'azote et son rendement. 4.
402. Mustard, J., & Renault, S. (2004). Effects of NaCl on water relations and cell wall elasticity and composition of red-osier dogwood (*Cornus stolonifera*) seedlings. *Physiol. Plant*, 121, 265–271.
403. Muszyńska, A., Jarocka, K., & Kurczynska, E. (2014). Plasma membrane and cell wall properties of an aspen hybrid (*Populus tremula* × *tremuloides*) parenchyma cells under the influence of salt stress. *Acta Physiol. Plant*, 36, 1155–1165.
404. Muthukumarasamy, M., Gupta, S., & Panneerselvam, R. (2000). Enhancement of Peroxidase, Polyphenol Oxidase and Superoxide Dismutase Activities by Triadimefon in NaCl Stressed *Raphanus Sativus* L. *Biologia Plantarum*, 43, 317-320.
405. Nabil, M., & Coudret, A. (1995). Effects of sodium chloride on growth, tissue elasticity and solute adjustment in two *Acacia nilotica* subspecies. *Physiol. Plant*, 93, 217-224.
406. Nabors, M., Gibbs, S., Bernstein, C., & Neis, M. (1980). NaCl-tolerant tobacco plant from cultured cells. *Z.P.F. Lauzen Physiology*, 97, 13-17.
407. Naczka, M., & Shahidi, F. (2004). Extraction et analyse des composés phénoliques dans les aliments. *J Chromatogr A*, 105, 95-111.
408. Navarro, J., Flores, P., Garrido, V., & Martinez, V. (2006). Changements dans les teneurs en composés antioxydants des fruits du poivre aux stades d'affinage, influencés par la salinité. *Food Chem*, 96, 66-73.
409. Navarro, J., Ohmann, E., Sanchez, D., Botella, J., Liebisch, G., Moltó, M., . . . Schneuwly, S. (2010). Altered lipid metabolism in a *Drosophila* model of Friedreich's ataxia. *Hum. Mol. Genet*, 19(14), 2828--2840.
410. Nayak, B., Liu, R. H., & Tang, J. (2015). Effect of processing on phenolic antioxidants of fruits, vegetables, and grains—A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(7), 887– 918.
411. Ndèye, F. (2002). *Utilisation des inoculums de rhizobium pour la culture du haricot (Phaseolus vulgaris)*. Dakar, Thèse de docteur de biologie végétale. Faculté des Sciences et Techniques, Université Cheikh Anta Diop, Sénégal.
412. Nadjimi, B., & Daoud, Y. (2009). Ameliorative effect of CaCl<sub>2</sub> on growth, membrane permeability and nutrient uptake in *Atriplex halimus* subsp. *schweinfurthii* grown at high (NaCl) salinity. *Desalination*, 249, 163–166.
413. Nadjimi, B., Daoud, Y., Carvajal, M., & Martinez-Ballesta, M. (2010). Improvement of the adaptation of *Lygeum spartum* L. to salinity under the presence of calcium. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 41(19), 2301–2317.
-

- 
414. Neffati, M., Sriti, J., Hamdaoui, G., Kchouk, M., & Marzouk, B. (2011). Salinity impact on fruit yield, essential oil composition and antioxidant activities of *Coriandrum sativum* fruit extracts. *Food Chem.*, *124*, 221- 225.
415. Neumann, P. (1993). Rapid and reversible modifications of extension capacity of cell walls in elongating maize leaf tissues responding to root addition and removal of NaCl. *Plant Cell Environ*, *16*, 1107-1114.
416. Neumann, P. (1997). Salinity resistance and plant growth revisited. *Plant Cell Environ*, *20*, 1193-1198.
417. Neumann, P., Azaizeh, H., & Leon, D. (1994). Hardening of root cell walls: A growth inhibitory response to salinity stress. *Plant Cell Environ*, *16*, 303-309.
418. Nichols, P., Malik, A., Stockdale, M., & Colmer, T. (2009). Salt tolerance and avoidance mechanisms at germination of annual pasture legumes: importance for adaptation to saline environments. *Plant and Soil*, *315* (1-2), 241- 255.
419. Nieman R.H. (1965). Expansion of bean leaves and its suppression salinity. *Plant Physiol*, *10*, 156-161.
420. Nijveldt, R., van Nood, E., van Hoorn, D., Boelens, P., van Norren, K., & van Leeuwen, P. (2001). Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *American Society for Nutrition*, *74*, 418-425.
421. Niu, H., Chung, W., Zhu, Z., Kwon, Y., Zhao, W., Chi, P., . . . Sung, P. (2010). Mechanism of the ATP-dependent DNA end-resection machinery from *Saccharomyces cerevisiae*. *Nature*, *467*(7311), 108-111.
422. Noreen, Z., & Ashraf, M. (2009). Assessment of variation in antioxidative defense system in salt-treated pea (*Pisum sativum*) cultivars and its putative use as salinity tolerance markers. *Journal of plant physiology*, *166*, 1764-1774.
423. Nouman, W., Siddiqui, M., Basra, S., Khan, R., Gull, T., Olson, M., & Munir, H. (2012). Response of *Moringa oleifera* to saline conditions. *Int. J. Agric. Biol*, *14*, 757-762.
424. Okçu, G., Kaya, M., & Atak, M. (2005). Effects of salt and drought stresses on germination and seedling growth of pea (*Pisum sativum* L.). *Turk J. Agric For*, *29*, 237-242.
425. Okem, A., Stirk, W., Street, R., Southway, C., Finnie, J., & Staden, J. (2015). Effects of Cd and Al stress on secondary metabolites, antioxidant and antibacterial activity of *Hypoxis hemerocallidea*. *Plant Physiol. Biochem.* , *97*, 147-155.
426. Okusanya, O. (1977). Effect of sea water and temperature on germination behavior of *Crithmum maritimum*. *Physiol. Plant*, *41*, 265-267.
427. Orcutt, D., & Nilsen, E. (2000). The Physiology of Plants under Stress Soil and Biotic Factors. *JohnWiley and Sons Inc*, 680.
-

- 
428. Ortega, L., Fry, S., & Taleisnik, E. (2006). Why are *Chloris gayana* leaves shorter in salt affected plants? Analyses in the elongation zone. . *J. Exp. Bot*, *57*, 3945–3952.
429. Ortega, R., Bohic, S., Tucoulou, R., Somogyi, A., & Devès, G. (2004). Microchemical element imaging of yeast and human cells using synchrotron X-ray microprobe with Kirkpatrick-Baez optics. . *Anal Chem*, *76*(2), 309-314.
430. Oteiza, P., Erlejman, A., Verstraeten, S., Keen, C., & Fraga, C. (2005). Flavonoid membrane interactions: A protective role of flavonoids at the membrane surface? . *Clinical Dev. Immun.*, *12*, 19-25.
431. Paramasivan, M., Cheruth, A. J., Beemaro, S., Ramamur, T., Pallipalayam, .. M., Ramalingam, S., & Rajaram, P. (2007). Salt Stress Mitigation by Calcium Chloride in *Vigna Radiata* L.Wilczek. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, *49*(2), 105-109.
432. Paredez, A., Somerville, C., & Ehrhardt, D. ( 2006). Visualization of cellulose synthase demonstrates functional association with microtubules. *Science*, *312*, 1491–1495.
433. Parida, A., & Das, A. (2005). Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *60*, 324-349.
434. Parida, A., Dagaonkar, V., Phalak, M., & Aurangabadkar, L. (2008). .Differential responses of the enzymes involved in proline biosynthesis and degradation in drought tolerant and sensitive cotton genotypes during drought stress and recovery. A. *Acta Physiol Plant.*, , *30*, 619–627.
435. Parida, A., Das, A., & Das, P. (2002). NaCl stress causes changes in photosynthetic pigments proteins and other metabolic components in the leaves of a true mangrove (*Bruguiera parviflorain*) hydroponic cultures. *Journal of Plant Biology*, *45*, 28-36.
436. Parida, A., Das, A., & Mitra, B. (2004). Effects of salt on growth, ion accumulation, photosynthesis and leaf anatomy of the mangrove, (*Bruguiera parviflora*). *Trees-Structure and Function*, *18*, 167-174.
437. Parvaiz, A., & and Satyawati, S. (2008). Salt Stress and Phyto-Biochemical Responses of Plants. A Review. *Plant, Soil and Environment*,, *54*, 88-99.
438. Peng, Z., Lu, Q., & Verma, D. (1996). Régulation réciproque des 1-pyrroline-5-carboxylate synthétase et proline gènes déshydrogénase contrôlent les niveaux pendant et après un stress osmotique dans les plantes. *Mol. Gen*, *253*, 334-341.
439. Perez-Alfocea, F., Balibrea, M., Cruz, A., & Estan, M. (1996). Agronomical and physiological characterization of salinity tolerance in a commercial tomato hybrid. *Plant and Soil*, *180*, 251-257.
440. Peron J.Y., 2006. Productions legumieres. 2eme edition. Lavoisier. 389 p.
441. Pessaraki, M., & Huber, J. (1991). Biomass production and protein synthesis by alfalfa under salt stress. *Journal of Plant Nutrition*, *14*, 283-293.
-

- 
442. Pessaraki, M., Huber, J., & Tucker, T. (1989). Protein synthesis in green beans under salt stress with two nitrogen sources. *J. Plant Nutr*, *12*, p 261-1377.
443. Pessaraki, M., Tucker, T., & Nakabayashi, K. (1991). Growth response of barley and wheat to salt stress. *Journal of Plant Nutrition*, *14*, 331-340.
444. Phang, T., Shao, G., & Lam, H. (2008). Salt tolerance in soybean. *J. Integr. Plant Biol*, *50*, 1196–1212.
445. Phillips, J. O., & et Bartels, D. (s.d.). 2002. Molecular genetics of desiccation and tolerant systems. Dans *Desiccation and survival in plants: Drying without dying*. Sous la direction de M. Black et H. Pritchard. *CAB International, Mol. Gen. Genet*, 319–341.
446. Piro, G., Leucc, M. R., Waldron, K., & Dalessandro, G. ( 2003). Exposure to water stress causes changes in the biosynthesis of cell wall polysaccharides in roots of wheat cultivars varying in drought tolerance. *Plant Sci*, *165*, 559–569.
447. Poolman, B., & Glaasker, E. (1998 ). Regulation of compatible solute accumulation in bacteria. *Mol. Microbiol*, *29*, p 397- 407.
448. Potapovich, A., & Kostyuk, V. (2003). Comparative study of antioxidant properties and cytoprotective activity of flavonoids. *Biochemistry*, *68*, 514–519.
449. Pradeepkumar, M., Shrinivas, D., Kulkarni, V., & Chetan Savant. (2015). Phytochemical screening and evaluation of analgesic and anti-inflammatory activities of *Phaseolus vulgaris* linn., seeds in rodents *Journal of Applied Pharmaceutical Science. Journal of Applied Pharmaceutical Science*, *5*(6), 066-069.
450. Prashant, T., Bimlesh, K., Mandeep, K., Gurpreet, K., & Harleen, K. (2011). Phytochemical screening and Extraction. *A Review Internationale pharmaceutica sciencia. Jan-March*, *1*(1).
451. Price, M., Van Scoyoc, S., & Butler, L. (1978). A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. *J. Agr. Food Chem*, *26*, 1214-1218.
452. Pujari, D., & Chanda, S. ( 2002). Effect of salinity stress on growth, peroxidase and IAA oxidase activities in *Vigna* seedlings. *Acta Physiol. Plant*, *24*, 435-439.
453. Qian, Y., Fu, J., Wilhelm, S., Christensen, D., & Koski, A. (2007). Relative salinity tolerance of turf-type salt grass selections. *Hortscience*, *42*, 205-209.
454. Rabie, G., & Almadini, A. (2005). Role of bioinoculants in development of salt-tolerance of *Vicia faba* L. plants under salinity stress . *Afr J Biotech*, *4*, 210-222.
455. Rahelimandimby, H. (2011). *Etude de la consommation des légumineuses dans les ménages d'Antananarivo et de l'influence des modes de préparation sur la réduction des teneurs en phytates*. Mémoire de DEA en Biochimie Appliquée aux Sciences de l'Alimentation et de la nutrition, Université d'Antananarivo.
456. Rahman, A., Mostofa, M. G., Nahar, K., Hasanuzzaman, M., & Fujita, M. (2015b). (2015b). Exogenous calcium alleviates cadmium-induced oxidative stress in rice (*Oryza*
-

- 
- sativa L.) seedlings by regulating the antioxidant defense and glyoxalase systems. *Braz. J. Bot*, 1–15.
457. Rahman, A., Nahar, K., Hasanuzzaman, M., & Fujita, M. (2016). Calcium Supplementation Improves Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> Ratio, Antioxidant Defense and Glyoxalase Systems in Salt-Stressed Rice Seedlings. *Front Plant Sci*, 7, 609.
458. Rai, V., Shing, G., Thakur, P., & Banyal, S. (1983). Protein and amino-acid relationship during water stress in relation to drought resistance. *Plant Physiol. Biochem*, 10, 161.
459. Rajendrakumar, C., Reddy, B., & Reddy, A. (1994). Proline-Protein Interactions: Protection of Structural and Functional Integrity of M4 Lactate Dehydrogenase. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 201(2), 957-963.
460. Ramaherisoa, M. (2004). *Potentialités nutritionnelles des graines de voandzou : utilisation dans l'alimentation de complément du jeune enfant*. . Mémoire de DEA en Biochimie Appliquée aux Sciences de l'alimentation et de la Nutrition, Antananarivo : Université.
461. Ramel, F. (2009). implications des sucres solubles dans les réponses aux stress. *Thèse de doctorat université de Rennes* .
462. Ramkrishna, U., Dinesh kumar, B., Narayan, S., & Ratna, P. (2013). Phytochemical screening and polyphenol estimation by HPLC of Terminalia arjuna. *Intrnational journal of research in pharmacology and pharmcotherapeutics*, 2(3), 471-482.
463. Randrianasolo, O. (2013). Consommation et caractéristiques nutritionnelles des graines de légumineuses dans la région Androy; antinutritionnels., effets des procédés de préparation sur les teneurs en facteurs. Antananarivo, . Mémoire de DEA en Biochimie Appliquée aux Sciences de l'alimentation et de la Nutrition. Université d'Antananarivo.
464. Rao, S., Kalva, S., Yerramilli, A., & Mamidi, S. (2011). Free Radicals and Tissue Damage: Role of Antioxidants. *Free Radicals and Antioxidants*, 4(1), 2-7.
465. Raven, P., Evert, R., Eichhorn, S., & Freeman, W. (1999). *Biology of plants*. New York: 6ème édition.
466. Ravohitrarivo, C. (1988). Programme de recherche sur les légumineuses à graines de Madagascar. In : Demarly Y. Les légumineuses à graines de Madagascar. 95-99.
467. Ray, B., Loutier-Bourhis, C., Condamine, E., Driouich, A., & Lerouge, p. (2004). Structural investigation of hemicellulosic polysaccharides from *Argania spinosa*: Characterisation of novel xyloglucan motif. *Carbohydrate Research*, 339, 201-208.
468. Reddy, A., Chaitanya, K. V., & Vivekanandan, M. (2004). Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *Journal of Plant Physiology*, 161, 1189–1202.
469. Reiter, W. (2002). Biosynthesis and properties of the plant cell wall. *Curr. Opin. . Plant Biol*, 5, 536–542.
-

- 
470. Rejili, M., Vadel, M. A., & Neffat, P. M. (2006). Comportements germinatifs de deux populations de *Lotus creticus* (L.) en présence du NaCl. *Revue des Régions Arides*, 17(1), 65- 78.
471. Renard, J. G., & Quillec, A. F. (1975). Une nouvelle maladie du cocotier en pépinière. Symptômes, moyens de lutte. *Oléagineux*, 30(3), 109-112.
472. Rezazadeh, A., Ghasemnezha, A., Barani, M., & Telmadarrehei, T. (2012). . Effet de la salinité sur la composition phénolique et l'activité antioxydante des feuilles d'artichaut ( *Cynara scolymus* L.) .. *Res. J. Med. Plant*, 6, 245-252.
473. Rhodes, V., Kriek, G., Lazear, N., Kasakevich, J., Martinko, M., Heggs, R., . . . Satola, J. ( 2002). Development of Emission Factors for Polycarbonate Processing. *Journal of the Air & Waste Management Association*, 52(7), 781-788.
474. Ribéreau-Gayon, P. (1968). *Les composés phénoliques des végétaux*. Paris: Dunod.
475. Rivero, R. T., Garcia-Sanchez, F., & Martinez, V. (2014). The combined effect of salinity and heat reveals a specific physiological biochemical and molecular response in tomato plants *Plant. Cell and Environment*, 37, 1059–1073.
476. Rohde, A., Morreel, K., Ralph, J., Gowminne, G., Hostyn, V., Rycke, R., . . . Boerjan, W. (2004.). Molecular phenotyping of the pal 1 and pal 2 mutants of *Arabidopsis thaliana* reveals far-reaching consequences on phenylpropanoid, amino acid and carbohydrate metabolism. *Plant Cell* , 16, 2749–2771.
477. Romero-Aranda, M., Jurado, O., & Cuartero, J. (2006). Silicon alleviates the deleterious salt effect on tomato plant growth by improving plant water status. *Journal of plant physiology*, 163, 847-855.
478. Romero-Aranda, R., Soria, T., & Cuartero, J. (2001). Tomato plant-water uptake and plant-water relationships under saline growth conditions. *Plant Science* , 160, 265-272.
479. Roppolo, D., & Geldner, N. (2012). Membrane and walls: who is master, who is servant? *Curr Opin Plant Biol* , 15, 608-617.
480. Roudani, M. (1996. ). *Physiologie comparée de deux espèces de blé en relation avec les conditions de nutrition. Métabolisme racinaire en milieu salé*. . Thèse d'Universite . Science . Biologie, Tunis II.
481. Rout, N., & Shaw, B. (2001.). Salt tolerance in aquatic macrophytes: possible involvement of the antioxidative enzymes. *Plant Sciences* , 160, 415–423.
482. Rowell, R., Han, J., & Rowell, J. (2000.). Characterization and Factors Effecting Fiber Properties Natural Polymers and agrofibers Composites. 115- 134.
483. Rshi, A., Abdin, M., & Iqbal, M. (2006). Effect of CaCl<sub>2</sub> on growth performance, photosynthetic efficiency and nitrogen assimilation of *Cichorium intybus* L. grown under NaCl stress. *Acta Physiol. Plant*, 28, 137–147.
-

- 
484. Rubio-Casal, A., Castillo, J., Luque, C., & Figueroa, M. (2003). Influence of salinity on germination and seeds viability of two primary colonizers of mediterranean salt pans. *Journal of Arid Environments*, 53, 145–154.
485. Saadallaha, k., Drevonb, J. J., Hajjic, M., & Abdellya, C. (2001a). Genotypic variability for tolerance to salinity of N<sub>2</sub>-fixing common bean (*Phaseolus vulgaris*). *Agronomie*, 21, 675-682.
486. Saadallaha, K., Drevonb, J., & Abdellya, C. (2001b). Nodulation et croissance nodulaire chez le haricot (*Phaseolus vulgaris*) sous contrainte saline. *Agronomie*, 21, 627-634.
487. Sadak, M., Abdelhamid, M., & El- Saady, A. (2010). Physiological responses of Faba Bean Plant to Ascorbic Acid Grown under Salinity Stress. *Egypt. J Agron*, 32(1), 89-106.
488. Sadak, S. M., Abdelhamid, M. T., & Schmidhalter, U. (2015). Effect of foliar application of aminoacids on plant yield and physiological parameters in bean plants irrigated with seawater. . *Acta biol. Colomb*, 20(1), 141-152.
489. Saidi, J. (2004). *Influence de la phase saline sur les propriétés physiques des matériaux argileux du bas Cheliff. Thèse de Doctorat d'Etat en Science Agronomiques.*
490. Sairam, R., & Tyagi, A. ( 2004). Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. *Curr. Sci*, 86 , 407–421.
491. Sairam, R., Srivastava, G., Agarwal, S., & Meena, R. ( 2005). Differences in antioxidant activity in response to salinity stress in tolerant and susceptible wheat genotypes. *Biol Plant*, 49, 85–89.
492. Sánchez-Blanco, M. J., Bolarín, M. C., Alarcón, J. J., & Torrecillas, A. (1991). Salinity effects on water relations in *Lycopersicon esculentum* and its wild salt-tolerant relative species *L. pennellii*. 83(2), 269-274.
493. Sánchez-Rodríguez, E., Moreno, D. A., Ferreres, F., Rubio-Wilhelmi, M., & Ruiz, J. M. (2011). Differential responses of five cherry tomato varieties to water stress: Changes on phenolic metabolites and related enzymes. *Phytochemistry*, 72( 8), 723–729.
494. Sancho, R. A., Pavan, V., & Pastore, G. M. (2015). Effect of in vitro digestion on bioactive compounds and antioxidant activity of common bean seed coats. *Food Research International*, 76, 74– 78.
495. Santiago, L., T.S, L., P.J, M., & G, S. O. (2000 ). Morphological and physiological responses of hawaiian *Hibiscus tiliaceus* populations to light and salinity,. *Int. J. Plant Sci*, 161 , 99-106.
496. Santiago, R., & Termaat, A. (1986). Whole plant responses to salinity. *Aust.J. Plant Physiol*, 13 , 143–160.
497. Sarni-Manchado, P., & Cheynier, V. (2006). *Les polyphénols en agroalimentaire*. . Paris: Edition Lavoisier.
-

- 
498. Sceenivasulu, N., Grimm, R., Wobus, U., & Weachke, W. (2000). Differential response of antioxidant compounds to salinity stress in salt tolerant and salt sensitive seedlings of foxtail millet (*Setaria italica*). *Physiol. Plant*, *109*, 435-442.
499. Scheller, H., & Ulvskov, P. (2010). Hemicelluloses. *Annual Review of Plant Biology*, *61*, 263–289.
500. Serra, A., Couee, I., Renault, D., Gouesbet, G., & Sulmon, C. (2015). Metabolic profiling of *Lolium perenne* shows functional integration of metabolic responses to diverse subtoxic conditions of chemical stress. *J Exp Bot*, *66*, 1801–1816.
501. Sgherri, C. L., & Navari-Izw, F. (1995). Sunflower seedlings subjected to increasing water deficit stress: oxidative stress and defence mechanisms. *Physiol. Plant.*, *93*, 25-30.
502. Shabala, S., Shabala, S., Martynenko, A., Babourina, O., & I.A, N. (1998). Salinity effect on bioelectric activity, growth, Na<sup>+</sup> accumulation and chlorophyll fluorescence of maize leaves: a comparative survey and prospects for screening. *Aust. J. Plant Physiol*, *25*, 609-616.
503. Shannon, M. (1997). Adaptation of plants to salinity. *Advances in agronomy*. *60*, 75-120.
504. Sharma, P., Jha Ambuj, B., Dubey Rama, S., & Pessaraki, M. (2012). Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions, a review. *Journal of Botany*, *2012*, 26.
505. Shinozaki, K., & et Yamaguchi-Shinozaki, K. (2006). Gene networks involved in drought stress response and tolerance. *J. Exp. Bot.*, *58* (2), 221–227.
506. Silva, J., De Lacerda, .., De Costa, .., Filho., P., Joaquim, .., & Tarquino, .. (2003). - Physiological response of NaCl stressed cowpea plants grown in nutrient solution supplemented with CaCl<sub>2</sub>. *Brazilian Journal Of Plants Physiology* ., *15*(2).
507. Silva-Ortega, C., Ochoa-Alfaro, A., Reyes-Aguero, J., Aguado-Santacruz, G., & Jimenez-Bremont, J. (2007). Salt stress increases the expression of p5cs gene and induces proline accumulation in cactus pear. *Plant Physiol. Biochem*, *46*(1), 82–92.
508. Silveira, J., Vi\_egas, R. d., Rocha, I. d., Moreira, A., & R. de Azevedo Moreira, J. O. (2003). Proline accumulation and glutamine synthetase activity are increased by salt-induced proteolysis in cashew leaves,. *J. Plant Physiol.* , *160* , 115-123.
509. Singleton, P., & Ben Behloo, I. B. (1984). Effect of salinity on nodule formation by soybean. *Plant Soil*, *4*, 72-76.
510. Singleton, V. L., & Joseph, A. (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *Am J Enol Vitic*, *16*, 144-158.
511. Skerget, M., Kotnik, P., Hadolin, M., Hras, A., Simonic, M., & Knez, Z. (2005). Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food. chem*, *89*, 191-198.
-

- 
512. Slama, F. (2004 ). La salinité et la production végétale. *Centre de publication universitaire*, 163.
513. Snoussi, S., Halitim, A., & Valles, V. (2004). Absorption hydrique en milieu salin chez la tomate et le haricot. . *Cah Agric*, 13, 283.
514. Sofowora, A. (1993). *Medicinal Plants and Traditional Medicinal in Africa*. (I. N. Sunshine House, Éd.) Spectrum Books Ltd Screening Plants for Bioactive Agents.
515. Sohan, D., Jasoni, R., & Zajicek, J. (1999). Plant–water relations of NaCl and calcium-treated sunflower plants. *Environmental and Experimental Botany*, 42, 105-111.
516. Somerville, C. (2006). Cellulose synthesis in higher plants. *Annu. Rev. Cell. Dev. Biol.*, 22, 53–78.
517. Somerville, C., Bauer, S., Brininstool, G., Facette, M., Hamann, T., Milne, J., . . . Youngs, H. (2004). Toward a systems approach to understanding plant cell walls. *Science*, 306, 2206-2211.
518. Soussi, M., Lluch, C., & Ocana, A. (1996). Comparative study of nitrogen fixation and carbon metabolism in two chick-pea (*Cicer arietinum* L.) cultivars under salt stress,. *J.Exp.Bot*, 50, 1701-1708.
519. Sprent, J., & Zahran, H. (1988). *Infection, development and functioning of nodules under drought and salinity*. (M. L. Beck D.P., Éd.) Netherlands: Nitrogen Fixation by Legumes in Mediterranean Agriculture, Martinus Nijhoff, Dordrecht,.
520. Srivastava, R. K., Pandey, P., Rajpoot, R., Rani, A., Gautam, A., & Dubey, R. S. (2014). Exogenous application of calcium and silica alleviates cadmium toxicity by suppressing oxidative damage in rice. *Protoplasma*, 252, 959–975.
521. Staal, M., Maathuis, F., Elzenga, J., Overbeek, J., & Prins, H. (1991). Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> antiport activity in tonoplast vesicles from roots of the salt-tolerant *Plantago maritima* and the salt-sensitive *Plantago media*. . *Physiologia Plantarum*, 82, 179-184.
522. Stępień, P., & Johnson, G. (2009). Contrasting responses of photosynthesis to salt stress in the glycophyte *Arabidopsis* and the halophyte *Thellungiella*: role of the plastid terminal oxidase as an alternative electron sink. *Plant Physiol*, 149, 1154–1165.
523. Stevanovic, T. A. (2005). . *Chimie du bois*. CHM-22170. Québec., Université Laval.
524. Storey, R., Schachtman, D., & Thomas, M. (2003). Root structure and cellular chloride, sodium and potassium distribution in salinized grapevines. *Plant Cell Environ*, 26(6), 789–800.
525. Streeter, J., Lohnes, D., & Fioritto, R. (2001). Patterns of pinitol accumulation in soybean plants and relationships to drought tolerance . *Plant, Cell et Environment*, 24, 429 - 438 .
526. Strogonov, B. (1964). Physiological basis of salt tolerance of plants as affected by various type of salinity. *Old bourne Press*, 163-204.
-

- 
527. Subbarao, G., Johansen, C., Jana, M., & Kunraraoj, V. (1990). Physiological Basis of Differences in Salinity Tolerance of Pigeonpea and its Related Wild Species. *J. Plant Physiol.*, 137, 64-71.
528. Sudhir, P., & Murthy, S. (2004). Effect of salt stress on basic processes of photosynthesis. *Photosynthetica*, 42(4), 481-486.
529. Szilagy, L. (2003). Influence of drought on seed yield components in common bean. (S. issue, Éd.) *Bulg. J. Plant Physiol*, 320–330.
530. Taamalli, W., Abaza, L., Ben Youssef, N., Daoud Ben Miled, D., & Zarrouk, M. (2004). Dégradation des lipides dans les semences de tournesol (*Helianthus annuus* L.) au cours de la croissance post germinative en conditions de stress salin. *La Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse*, 2, 90 - 97.
531. Taârit, M., Msaada, K., Hosni, K., & Marzouk, B. (2012). Physiological changes, phenolic content and antioxidant activity of *Salvia officinalis* L. grown under saline conditions. *J. Sci. Food Agric*, 92, 1614–1619.
532. Tabatabaei, S. (2006). Effects of salinity and N on the growth, photosynthesis and N status of olive (*Olea europaea* L.) trees. *Sci. Hort*, 108, 432- 438..
533. Taffouo, V., Kenne, M., R, F. T., W.O, F., T, F., & Z. V. (2004). Salt stress variation response in five leguminous plants. *Agron. Afr.*, 16, 33-44.
534. Taffouo, V.D., J.K. Kouamou, L.M.T. Ngalangue, B.A.N. Ndjedji and A. Akoa, 2009. Effects of salinity stress on growth, ions partitioning and yield of some cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) cultivars. *Int. J. Bot.*, 5: 135-143.
535. Taffouo, V., Wamba, O., Yombi, E., Nono, G., & Akoe, A. (2010). Growth, yield, water status and ionic distribution response of three bambara groundnut (*Vigna subterranean* (L.) verdc.) landraces grown under saline conditions. *Int. J. Bot*, 6(1), 53-58.
536. Taïbi, K., Taïbi, F., & Belkhodja, M. (2013a). Plants growth, water relations and photosynthesis of two bean genotypes *Phaseolus vulgaris* L. treated with NaCl and fluridone. *African Journal of Biotechnology*, 12, 3811–3821.
537. Taïbi, k., Taïbi, F., Ait Abderrahima, L., Ennajahb, A., Belkhodja, M., & Mulet, J. (2016). Effect of salt stress on growth, chlorophyll content, lipid peroxidation and antioxidant defence systems in *Phaseolus vulgaris* L. *South African Journal of Botany*, 105, 306–312.
538. Taie, H., Abdelhamid, M., Dawood, M., & Nassar, R. (2013). Pre-sowing Seed Treatment with Proline Improves some Physiological, Biochemical and Anatomical Attributes of Faba Bean Plants under Sea Water Stress. *J Appl Sci Res*, 9(4), 2853-2867.
539. Taji, T., Ohsumi, C., Iuchi, S., Seki, M., Kasuga, M., Kobayashi, M., . . . et Shinozaki, K. (2002). Important roles of drought- and cold inducible genes for galactinol synthase in stress tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*, 29(4), 417-426.
-

- 
540. Tal, M. (1984). *Physiological genetics of salt resistance in higher plants : Studies on the level of the whole plant and isolated organs, tissues and cells*. In: *Salinity tolerance in plants: strategies of crop improvement*. (C. Staples R, & G. H. Toenissen, Éds.) Wiley, New-york .
541. Talano, M., Agostini, E., Medina, M., Reinoso, H., Tordable, M., Tigier, H., & de Forchetti, S. (2006). Changes in ligno-suberization of cell walls of tomato hairy roots produced by salt treatment: the relationship with the release of a basic peroxidase. *J. Plant Physiol.* , 163, 740–749.
542. Tarascou, I., Souquet, J., Mazauric, J., Carrillo, S., Coq, S. C., Fulcrand, H., & Cheynier, V. ( 2010). The hidden face of food phenolic composition. *Archives of Biochemistry and Biophysics*,, 50, 16–22.
543. Tattini, M. R., Pinelli, P., Agati, G., Saracini, E., Traversi, M., & Massai, R. (2006). Morpho-anatomical, physiological and biochemical adjustments in response to root zone salinity stress and high solar radiation in two Mediterranean evergreen shrubs *Myrtus communis* and *Pistacia lentiscus*. *New Phytol.*, 170, 779–794.
544. Tattini, M., & Traversi, M. (2009). On the mechanism of salt tolerance in olive (*Olea europaea* L.) under low- or high-Ca<sup>2+</sup> supply. *Environmental and Experimental Botany* , 65 , 72–81.
545. Tausz, M., Sircelj, H., & Grill, D. (2004). The glutathione system as a stress marker in plant ecophysiology: is a stress-response concept valid? . *J. Exp. Bot*, 55(404), 1955–1962.
546. Tejera, N., Soussi, M., & Lluch, C. (2005). Physiological and nutritional indicators of tolerance to salinity in chickpea plants growing under symbiotic conditions. *Env. Exp. Bot.* , 58, 17-24.
547. Tejera, N., Soussi, M., & Lluch, C. (2006). Physiological and nutritional indicators of tolerance to salinity in chickpea plants growing under symbiotic conditions. *Environmental and Experimental Botany* , 58, 17–24.
548. Télésinski, A., Nowak, J., Smolik, B., Dubowska, A., & Skrzypiec, N. (2008 ). Effect of soil salinity on activity of antioxidant enzymes and content of ascorbic acid and phenols in bean (*Pahaseolus vulgaris* L.) plants. *J. Elementol*, 13(3), 401-409.
549. Tenhaken, R. (2014). Cell wall remodeling under abiotic stress. *Front. Plant Sci*, 5 , 771..
550. Tester, M., & Davenport, R. (2003). Na<sup>+</sup> tolerance and Na<sup>+</sup> transport in higher plants. *Ann. Bot*, 91 (5), 503–527.
551. Thakur, M., & Sharma, A. (2005). Salt-stress-induced proline accumulation in germinating embryos: evidence suggesting a role of proline in seed germination. *J. Arid Environ.*, 62, 517–523.
552. Thiebaud, S. (1995). Valorisation chimique de composés lignocellulosiques: Obtention de nouveaux matériaux. these de doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse, .
-

- 
553. Thomas, J., McElwain, E., & Bohnert, H. (1992). Convergent induction of osmotic stress-responses: abscisic acid, cytokinin, and the effects of NaCl. *Plant Physiology*, *100*, 416-423.
554. Thompson, J., & Fry, S. (2000). Evidence for covalent linkage between xyloglucan and acidic pectins in suspension-cultured rose cells. *Planta*, *211*, 275–286.
555. Tiwari, J., Munshi, A., Kumar, R., Pandey, R., Arora, A., Bhat, J., & Sureja, A. (2010). Effect of salt stress on cucumber: Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ratio, osmolyte concentration, phenols and chlorophyll content. *Acta Physiol Plant*, *32*, 103–114.
556. Tlig, T., M., G., & Neffati, M. (2012). Factors influencing seed germination of *Cleome amblyocarpa* Barr et Murb. (Capparidaceae) occurring in southern Tunisia. *Rev. Écol. (Terre et Vie)*, *67*, 305-312.
557. Todorova, D., Katerova, Z., & Sergiev, I. a. (2013). *Role of Polyamines in Alleviating Salt Stress*. (M. a. P. Ahmad, Éd.) Springer New York Heidelberg Dordrecht London.
- 558.
559. Torabi, M., & Halim, R. A. (2010). Variation of root and shoot growth and free proline accumulation in Iranian alfalfa ecotypes under salt stress. *Journal of Food, Agriculture & Environment* *8*, 3-4, 323-327.
560. Touitou, Y. (2005). *Biochimie : structure des Glucide et des lipides Niveau PAES*. Université Pierre et Marie Curie faculte de medcines .
561. Troll, W., & Lindesly, J. (1955). A photometric method for the determination of proline. *J. Biol.Chem*, *215*, 655-660.
562. Tu, J. (1981). Effect of salinity on rhizobium–root-hair interaction, nodulation and growth of soybean. *Canadian Journal of Plant Science*, *61*, 231 -239.
563. Tuna, A., Kaya, C., Ashraf, M., Altunlu, H., Yokas, I., & Yağmur, B. (2007). The effects of calcium sulphate on growth, membrane stability and nutrient uptake of tomato plants grown under salt stress. *Environ. Exp. Bot*, *59*, 173–178 .
564. Turan, M., Elkarim, A., Taban, N., & Taban, S. I. (2009). Effect of salt stress on growth, stomata resistance, proline and chlorophyll concentrations on maize plant. *African Journal of Agricultural Research*, *4*, 893–897.
565. Turkan, I., Bor, M., Ozdemir, F., & H, K. (2005). Differential responses of lipid peroxidation and antioxidants in the leaves of drought-tolerant *P. acutifolius* Gray and drought-sensitive *P.vulgaris* L. subjected to polyethylene glycol mediated water stress. *Plant Sci.*, *168*, 223-231.
566. Uddin, M., Hanstein, S., Faust, F., Eitenmüller, P., Pitann, B., & Schubert, S. ... (2014). Diferulic acids in the cell wall may contribute to the suppression of shoot growth in the first phase of salt stress in maize. *Phytochemistry*, *102*, 126–136.
-

- 
567. Uddin, M., Hanstein, S., Leubner, R., & Schubert, S. (2013). Leaf cell-wall components as influenced in the first phase of salt stress in three maize (*Zea mays* L.) hybrids differing in salt resistance. *J Agro Crop Sci* , 199, 405–415.
568. Ungar, I. ( 1996 ). Effect of salinity on seed germination growth and ion accumulation of *Atriplex patula* (Chenopodiaceae). *Am J Bot*, 83, 604-607.
569. Vaidyanathan, H. S. (2003). Scavenging of reactive oxygen species in NaCl-stressed rice (*Oryza sativa* L.): differential response highyielding and sensitive varieties. *Plant Science* , 165, 1411–1418.
570. Vaidyanathan, R., Kuruvilla, S., & Thomas, G. (1999). Characterization and expression pattern of an abscisic acid and osmotic stress responsive gene from rice. *Plant science (Limerick)*, 140, 21-30.
571. Valls, J., Millan, S., Marti, M., Borrás, E., & Arola, L. (2009) .Advanced separation methods of food anthocyanins, isoflavones and flavanols. *Journal of chromatography A*, 1216, 7143-7172.
572. Van der Moezel, P. G., Watson, L., Pearce-Pinto, G. V., & Bell, D. T. (1989). Gas exchange responses of two Eucalyptus species to salinity and waterlogging. *Tree Physiology* , 5, 251-257.
573. Voragen, A., Coenen, G.-J., Verhoef, R., & Schols, H. (2009). Pectin a versatile polysaccharide present in plant cell walls. *Struct Chem*, 20, 263-275.
574. Wahid, A., & Ghazanfar, A. ( 2006). Possible involvement of some secondary metabolites in salt tolerance of sugarcane. *J. Plant Physiol*, 163, 723–730.
575. Wahome, P., Jesch, H., & Grittner, I. (2001). Mechanisms of salt stress tolerance in two rose rootstocks: *Rosa chinensis* „Major“ and *R. rubiginosa*. *Scientia Horticulturae*, 87, 207-216.
576. Wang, C., Li, J., & Yuan, M. (2007). Salt tolerance requires cortical microtubule reorganization in arabidopsis. *Plant and Cell Physiology* , 48, 1534–1547.
577. Wang, J., Li, C., & Wang, E. (2010). Potential and flux landscapes quantify the stability and robustness of budding yeast cell cycle network. . *Proc Natl Acad Sci USA* , 107(18), 8195-200.
578. Wang, S., & Stacey, G. ( 1990 ). Ammonia regulation of nod genes in *Bradyrhizobium japonicum*. *Molecular and General Genetics*, 223, 329 - 331.
579. Wang, Y., & Nil, N. (2000). Changes in chlorophyll, ribulosebiphosphate carboxylase oxygenase, glycine betaine content, photosynthesis and transpiration in *Amaranthus tricolor* leaves during salt stress . *J. Hortic. Science Biotechnol* , 75, 623-627.
580. Wang, Z. J., Wang, J., Jiao, X. Y., Chen, Y. S., D.Xu, Z., Ou, Z. L., . . . He., Z. A. (2016). Effects of salt stress and exogenous calcium on seed germination of *Rhus chinensis*. *Gen. App. Bio*, 35(3), 706-714.
-

- 
581. Wangn, T., McFarlane, H., & Persson, S. (2016). The impact of abiotic factors on cellulose synthesis. *J Exp Bot*, 67, 543-552.
582. Wei, H., Requena, N., & Fischer, R. (2003). The MAPKK kinase SteC regulates conidiophore morphology and is essential for heterokaryon formation and sexual development in the homothallic fungus *Aspergillus nidulans*. *Mol Microbiol*, 47(6), 1577-1588.
583. Wei, T., Qing, w. M., Brestic, M., Olsovska, K., & Xinghong, Y. (2011). Photosynthesis is improved by exogenous calcium in head-stressed tobacco plants. *Journal of Plant Physiology*, 168, 2063-2071.
584. Weimberg, R. (1987). Solute adjustments in leaves of two species of wheat at to different stages of growth in response to salinity. *Physiol.plantarum*, 70, 381-388.
585. Wells, B., McCann, M., Shedletzky, E., Delmer, D., & Roberts, K. (1994). Structural features of cell walls from tomato cells adapted to grow on the herbicide 2,6-dichlorobenzonitrile. *J Microsc*, 173, 155-164.
586. Willats, W., Knox, J., & Mikkelsen, J. (2006). Pectin: new insights into an old polymer are starting to gel. . *Trends Food Sci Technol*, 17, 97-104.
587. William, D., & Hopkins, G. ( 2003). *Physiologie végétale*. Bruxelles De Boeck DL.
588. Wilson, C., X. Liu, S.M. Lesch and D.L. Suarez, (2006). Growth response of major U.S. cowpea cultivars. I. Biomass accumulation and salt tolerance. *HortScience*, 41: 225-230.
589. Wilson, C., & Shannon, M. (1995). Salt-induced Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> antiport in root plasma membrane of a glycophytic and halophytic species of tomato. . *Plant Sci*, 107, 147-157.
590. Win, K.T., A.Z. Oo, T. Hirasawa, T. Ookawa and H. Yutaka, (2011). Genetic analysis of Myanmar *Vigna* species in responses to salt stress at the seedling stage. *Afr. J. Biotechnol.*, 10: 1615-1624.
591. Winicov, I. (1998). New molecular approaches to improving salt tolerance in crop plants. *Ann. Bot*, 82(6), 703-710.
592. Winterbourn, C. ( 2015). Are free radicals involved in thiol based redox signaling? *Free Radical Biology and Medicine*, 80, 164-170.
593. Wojtaszek, P. (2000). Genes and plant cell walls a difficult relationship. *Biol Rev Camb Philos Soc*, 75, 437-475.
594. Wolff, J. P. (1991). Analyse et dosage des lipides. In : Multon J.L. Technique d'analyse et contrôle dans les industries agroalimentaire : Technique et documentation. 4, 157-199.
595. Wu, C., Wang, Q., Xie, B., Wang, Z., Cui, J., & Hu, T. (2011). Effects of drought and salt stress on seed germination of three leguminous species. *African Journal of Biotechnology*, 10(78), 17954-17961.
-

- 
596. Xie, Z. D., Tian, X., Wang, B., Eneji, A., & Li, Z. .. (2008). Coronatine alleviates salinity stress in cotton by improving the antioxidative defense system and radical-scavenging activity. *Plant Physiol*, 165, 375-384.
597. Xiong, L., Schumaker, K., & Zhu, J. (2002). Cell signaling during cold, drought and salt stress. *Plant Cell. 14 Suppl*, 165-183.
598. Xu, C., Li, X., & Zhang, L. (2013). The Effect of Calcium Chloride on Growth, Photosynthesis, and Antioxidant Responses of *Zoysia japonica* under Drought Conditions. *Plos One*. .
599. Yamaguchi, T., & Blumwald, E. (2005). Developing salt-tolerant crop plants: challenges and opportunities. *Trends Plant Sci.* , 12(10).
600. Yancey, P. (2005). Organic osmolytes as compatible, metabolic and counteracting cytoprotectants in high osmolarity and other stresses (Vol. 208).
601. Yang, F., Xiao, X., Zhang, S., Korpelainen, H., & Li, C. (2009). Salt stress responses in *Populus cathayana* Rehder. *Plant Sci.* , 176, 669–677.
602. Yasar, F., Uzal, O., & Ozpay, T. (2010). Changes of the lipid peroxidation and chlorophyll amount of green bean genotypes under drought stress. *Afr. J. Agric. Res*, 5, 2705–2709.
603. Yeo, A. (1998 ). Molecular biology of salt tolerance in the context of whole-plant physiology. *Journal of Experimental Botany* , 49, 915-929.
604. Yoshida, Y., Nanjo, T., Miura, S., Yamaguchi-Shinozaki, K., & Shinozaki, K. (1999 ). Stress-responsive and developmental regulation of (1)-pyrroline-5-carboxylate synthetase 1 (P5CS1) gene expression in *Arabidopsis thaliana*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* , 261 , 766–772.
605. Yousef, A., & Sprent, J. (1983). Effect of NaCl on growth, nitrogen incorporation and chemical composition of inoculated and NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> fertilized *vicia faba* L. Plants., *J.Exp.Bot*, 143, 941-950.
606. Yuan, G., Wang, X., Guo, R., & Wang, Q. (2010). Effect of salt stress on phenolic compounds, glucosinolates, myrosinase and antioxidant activity in radish sprouts. *Food Chem*, 121, 1014-1019.
607. Yücel, N., & Heybet, E. (2016). Salicylic Acid and Calcium Treatments Improves Wheat Vigor, Lipids and Phenolics Under High Salinity. *Acta Chim. Slov*, 63, 738–746.
608. Yurekli, F., Porgali, Z. B., & Turkan, I. ( 2004.). Variations in abscisic acid, indole-3-acetic acid, gibberellic acid and zeatin concentrations in two bean species subjected to salt stress. . *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, 46, 201-212.
609. Zydorczyk, C. (2011). *Rôle de stress oxydant en période néonatale dans l’Hypertension artérielle et la dysfonction vasculaire et métabolique du l’adulte. Thèse de doctorat, l’université d’Auvergne.*
-

- 
610. Zahran, H. (1999). Rhizobium–legume symbiosis and nitrogen fixation under severe conditions and in an arid climate. . *Microbiology and Molecular Biology Review*, 63, 968 - 989.
611. Zahran, H., & Sprent, J. (1986). Effects of sodium chloride and polyethylene glycol on root-hair infection and nodulation of *Vicia faba* L. plants by *Rhizobium leguminosarum*,. *Planta*, 167, 303–309.
612. Zeyen, R., Bushnell, W., Carver, T., Robbins, M., Clark, T., Boyles, D., & CP, V. (1995). Inhibiting phenylalanine ammonia lyase and cinnamyl-alcohol dehydrogenase suppresses Mla1 (HR) but not mlo5 (non-HR) barley powdery mildew resistances. *Physiol Mol Plant Pathol*, 47, 119-140.
613. Zhang, H., Hodson, J., Williams, J., & Blumwald, E. (2001). engineering salt-tolerant Brassica plants: characterization of yield and seed oil quality in transgenic plants with increased vacuolar sodium accumulation. . *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 98, 12832-12836.
614. Zheng, Y., Wang, Z., Sun, X., Jia, A., Jiang, G., & Li, Z. (2008). Higher salinity tolerance cultivars of winter wheat relieved senescence at reproductive stage. *Environ Exp Bot*, 62, 129-138.
615. Zhifang, G., & Loescher, W. (2003). Expression of a celery mannose 6-phosphate reductase in *Arabidopsis thaliana* enhances salt tolerance and induces biosynthesis of both mannitol and a glucosyl-mannitol dimer. *Plant Cell and Environment* , 26, 275-283.
616. Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64, 555-559.
617. Zhong, H., & Lauchli, A. (1993). Spatial and temporal aspects of growth in the primary root of cotton seedlings: Effects of NaCl and CaCl<sub>2</sub>. *J. Exp. Bot*, 44, 763-771.
618. Zhu, J. (2002). Salt and drought stress signal transduction in plants. . *Annu. Rev. Plant Biol*, 53, 247-273.
619. Zid, E. (1982). Relations hydriques dans la feuille de *Citrus aurantium* : effets de l'âge et de la salinité. *Rev. FAC. Sc. Tunis*, 2, 195-205.
620. Zid, E., & Grignon, C. (1991). Les tests de sélection précoce pour la résistance des plantes aux stress, cas des stress salin et hydrique. *L'amélioration des plantes pour l'adaptation aux milieux arides*. . (Aupelf-Uref, Éd.)

---

---

---

# *ANNEXES*

---

## LES ANNEXES

**Annexe A :**

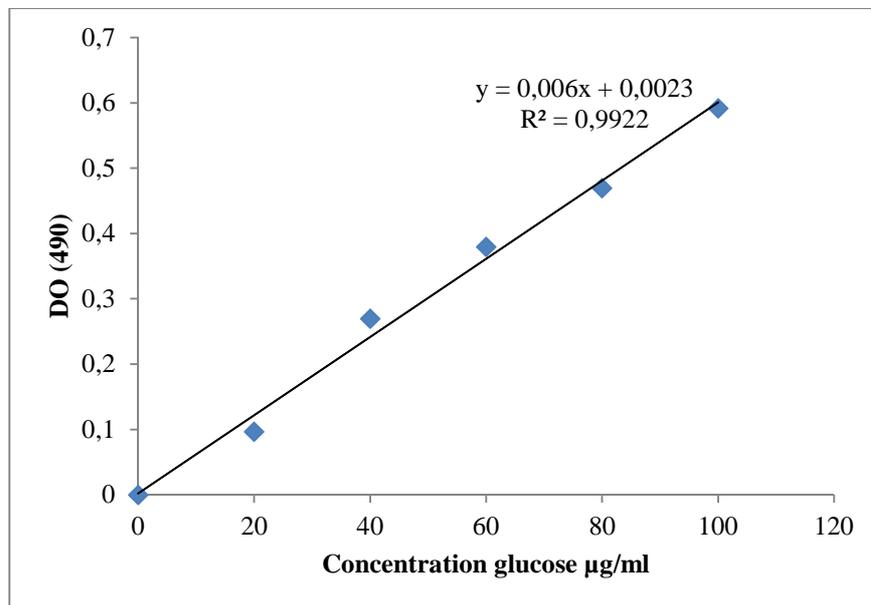
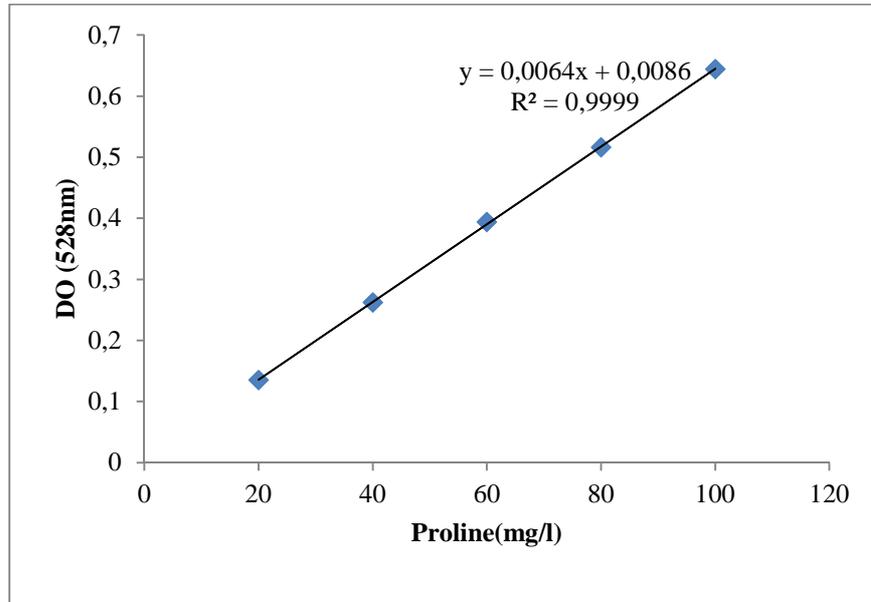
Tableau1-Composition de la solution nutritive de HOAGLAND (1938).

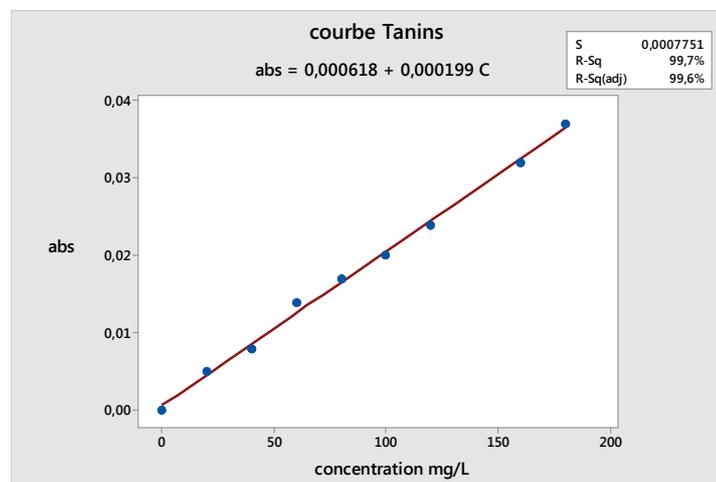
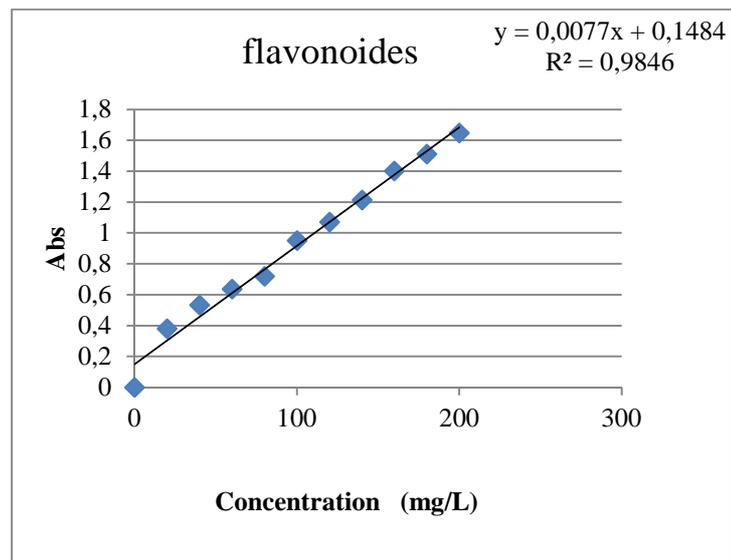
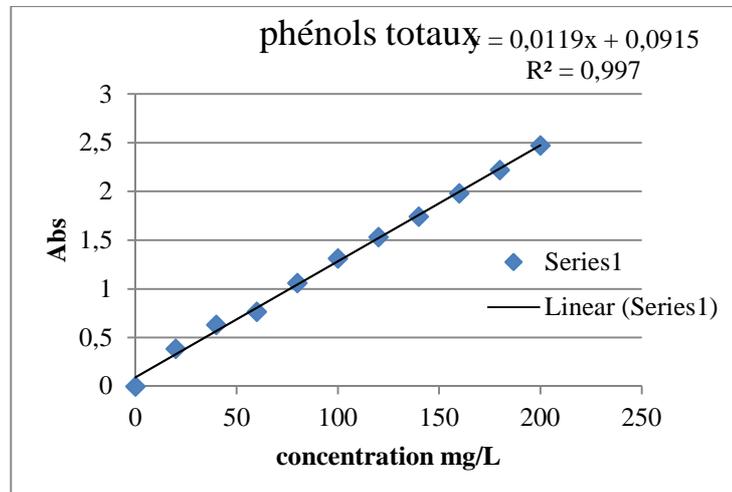
Produit	Formule Chimique	Concentration En g.l <sup>-1</sup>
Nitrate de potassium	KN0 <sub>3</sub>	191.90
Nitrate de calcium	(N0 <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> Ca 4H <sub>2</sub> O	129.80
Nitrate d'ammonium	NO <sub>3</sub> NH <sub>4</sub>	210
Sulfate de magnésium	S0 <sub>4</sub> Mg 7H <sub>2</sub> O	61.5
Phosphate monopotassique	PO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> K	54.40
Hydrogenophosphate di-potassium	PO <sub>4</sub> K <sub>2</sub> H 3H <sub>2</sub> O	34.23
Chlorure de manganèse	Cl <sub>2</sub> Mn 4H <sub>2</sub> O	1.80
Sulfate de cuivre	CuS0 <sub>4</sub> 5H <sub>2</sub> O	0.176
Sulfate de zinc	Zn SO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	0.219
Acide borique	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	2.861
Molybdate d'ammonium	M0 <sub>7</sub> O <sub>24</sub> (NH <sub>4</sub> )7H <sub>2</sub> O	0.285
Complexe ferrique EDTA Ferrique	(C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> FeN <sub>2</sub> Na0 <sub>8</sub> )	0.050

Tableau2 - Composition de la solution saline.

	Témoin	50 meq.l <sup>-1</sup>	100 meq.l <sup>-1</sup>	200 meq.l <sup>-1</sup>
NaCl g.l <sup>-1</sup>	0	2.92	5.84	11,7

	Témoin	100 meq.l <sup>-1</sup>	150 meq.l <sup>-1</sup>
CaCl <sub>2</sub> g.l <sup>-1</sup>	0	5.54	8,31

**Annexe B : Les Courbes étalonnages de proline et sucre soluble**

**Annexe C : Les Courbes d'étalonnage des composés phénoliques**

## RESUME

*Phaseolus vulgaris* L., est une Fabacée sensible à la salinité. Le degré d'adaptation à cette salinité varie d'un cultivar ou variété à l'autre. Le choix dans cette étude est porté sur deux cultivars : Sidi Ferredj et Djadida. L'objectif de ce travail est d'évaluer la sensibilité de ces deux variétés mises en culture, dans les conditions sous serre et soumises aux différentes concentrations du sel, à base de NaCl (50 méq.l<sup>-1</sup>, 100méq.l<sup>-1</sup> et 200méq.l<sup>-1</sup>), et à base du NaCl+CaCl<sub>2</sub> (100méq.l<sup>-1</sup> et 150 méq.l<sup>-1</sup>), à travers le comportement physiologique, biochimique et phytochimique des deux parties aériennes et souterraine des deux cultivars soumises au stress salin.

Le premier effet le plus évident de ce stress, est la réduction du potentiel osmotique, entraînant une diminution de l'état hydrique foliaire de la plante, qui s'adapte en ajustant progressivement sa pression osmotique, grâce au maintien des concentrations élevées de Ca<sup>2+</sup>. Aussi, un effet dépressif est remarqué des paramètres physiologiques mesurés qui varient en fonction de l'intensité du stress.

De même, sur le plan biochimique, l'adaptation des deux cultivars, aux différentes doses croissantes de sel, se traduit soit, par une diminution de certains solutés organiques, notamment, une assimilation photosynthétique perturbée, avec des faibles teneurs en chlorophylle a, b, totale et les caroténoïdes, une chute significative des teneurs en lipides et en protéines et une modification en teneur des sucres pariétaux, (cellulose, hémicellulose), avec un taux de cellulose qui diminue aux faibles doses de NaCl et augmente aux concentrations élevées, et un taux d'hémicellulose qui s'abaisse avec l'augmentation des concentrations en sel. Soit par une accumulation d'autres solutés organiques qui varie en fonction du cultivar, du type du sel et du niveau de traitement salin appliqué, alors, une augmentation en sucres soluble totaux est remarquée, aux doses faibles et moyennes de NaCl et une diminution des mêmes composés aux concentrations plus élevée. La proline, un acide aminé, lui aussi est significativement accumulé dans les feuilles des deux cultivars, cette accumulation varie aussi en fonction des traitements salins appliqués.

Toutefois, sur le plan phytochimique, les résultats des deux cultivars ont montré que les concentrations modérées de 50 méq.l<sup>-1</sup> et 100 meq.l<sup>-1</sup> de NaCl stimulent l'accumulation des phénols totaux, des flavonoïdes et des tanins condensés, comme aspect adaptatif et défensif face au stress abiotique, puis une diminution de ces composés est observée avec l'agressivité du traitement salin appliqué. De même, le potentiel antioxydant augmente avec l'augmentation du stress salin et le test DPPH a révélé des concentrations inhibitrices (IC50) des extraits bruts des feuilles, diminuant avec l'augmentation de la concentration en sels.

**Mots clé :** *Phaseolus vulgaris* L., cultivars Sidi Ferredj et Djadida, traitements et stress salins, aspect adaptatif physiologique, biochimique, phytochimique.