

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
المدرسة الوطنية العليا للفلاحة الحراش-الجزائر-
Ecole Nationale Supérieure Agronomique
El-Harrach Alger

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Département : Botanique

Spécialité : Interaction plante-pathogène et Protection des plantes

Thème

**Effets de deux stress abiotiques (salin et osmotique)
sur la germination et le début de croissance de cinq
génotypes de luzerne pérenne (*Medicago sativa* L.).**

Présenté par : M^{lle} ARABA Meriem

Soutenu le : 17 / 12 /2016

Jury :

Présidente :	M ^{me} LAOUAR M.	MCA (ENSA)
Promotrice :	M ^{elle} LASSOUANE N.	MCB (ENSA)
Examineurs :	Mr. MEFTI M.	MCA (ENSA)
	M ^{me} DJEBARI B.	MAA (ENSA)
	M ^{me} BOUGHRAROU F.	MAA (ENSA)

Promotion : 2011-2016

Table de matière

Liste des abréviations	I
Liste des figures.....	II
Liste des tableaux.....	V

Introduction.....	1
-------------------	---

Partie I : Synthèse bibliographique

Chapitre I : La luzerne.....	3
I.I.1. Généralité	3
I.I.2. Origine géographique et historique	3
I.I.3. Situation de la production de la luzerne.....	3
I.I.3.1. Dans le monde	3
I.I.3.2. En Algérie.....	4
I.I.4. Aire de répartition de la luzerne.....	5
I.I.5. Systématique et taxonomie de la luzerne.....	6
I.I.5.1. Types et variétés.....	6
I.I.5.2. Variabilité génétique de la luzerne	6
I.I.6. Caractères morphologiques de la luzerne	6
I.I.7. Cycle de développement	8
I.I.8. Importance et intérêt de la luzerne.....	9
I.I.8.1. Importance zootechnique	9
I.I.8.2. Intérêt agronomique	10
I.I.8.3. Importance économique	10
I.I.8.4. Importance écologique.....	10
I.I.8.5. Intérêt pharmaceutique et industriel.....	10
I.I.9. Cycle d'exploitation	10
I.I.10. Ecologie de la Luzerne.....	11
I.I.10.1. La température	11
I.I.10.2. Besoin en eau	11
I.I.10.3. La lumière.....	12
I.I.10.4. Le sol	12
I.I.10.5. Salinité	12
I.I.11. Les ennemies de la luzerne	12
I.I.12. Quelques données sur la germination des plantes	13
I.I.12.1. Définition	13
I.I.12.2. La physiologie de germination	14
Chapitre II : La salinité.....	15

I.II.1.	Salinité et salinisation	15
I.II.1.1.	Définitions.....	15
I.II.1.2.	Types de salinité	15
I.II.1.2.1.	Salinité des sols.....	15
I.II.1.2.2.	Salinité des eaux	15
I.II.1.3.	Composition en sels solubles des sols salés	15
I.II.1.4.	Origine de la salinité	16
I.II.1.4.1.	Salinité des sols.....	16
I.II.1.4.1.1.	Salinisation primaire.....	16
I.II.1.4.1.2.	Salinisation secondaire.....	16
I.II.1.5.	Distribution géographique de la salinité.....	16
I.II.1.5.1.	Dans le monde	16
I.II.1.5.2.	En Algérie.....	17
I.II.2.	Effet de la salinité sur les plantes	17
I.II.2.1.	Le stress salin	17
I.II.2.2.	Effet du stress salin sur la germination	17
I.II.2.3.	Effets du stress salin sur la croissance et le développement.....	18
I.II.2.4.	Effet du stress salin sur la photosynthèse.....	19
I.II.2.5.	Effets du stress salin sur la nutrition minérale	19
I.II.2.6.	Action sur le rendement	20
I.II.2.7.	Stress oxydatif induit par salinité	20
I.II.3.	Mécanisme de tolérance au stress salin	21
I.II.3.1.	Limitation de l'accumulation de sel.....	22
I.II.3.1.1.	Exclusion des ions	22
I.II.3.1.3.	Prélèvement de K^+	22
I.II.3.2.	Biosynthèse des protéines liée à la tolérance au stress salin	23
I.II.3.3.	Induction des antioxydants et régulation de stress oxydatif	24
I.II.3.3.1.	Les Antioxydants enzymatiques.....	24
I.II.3.3.2.	Les antioxydants non-enzymatiques	24
I.II.3.4.	Biosynthèse des osmoprotecteurs.....	24
Chapitre III : La sécheresse		25
I.III.1.	Le stress hydrique	25
I.III.1.1.	Définition	25
I.III.1.2.	Généralité sur l'eau dans la plante	25
I.III.1.3.	Notion du déficit hydrique et de la sécheresse	25
I.III.1.4.	Importance de la sécheresse	25
I.III.2.	Effet du stress hydrique sur les plantes	26
I.III.2.1.	Effet du stress hydrique sur la germination.....	26
I.III.2.2.	Effet du stress hydrique sur la croissance	26

I.III.2.3. Effet sur la photosynthèse	26
I.III.2.4. Le stress oxydatif induit par le stress osmotique	27
I.III.3. Réponses des plantes au stress hydrique	28
I.III.3.1. Les stratégies morphologiques	28
I.III.3.2. Les stratégies physiologiques.....	28
I.III.3.3. Les stratégies biochimiques	29
I.III.3.3.1. Biosynthèse des protéines liées au stress hydrique	29
I.III.3.3.2. Ajustement osmotique	29

Partie II: Matériel et méthodes

II.1. Matériel végétal.....	30
II.2. Etude de la germination	31
II.2.1. Tests préliminaires.....	31
II.2.2. Mise en germination et application du stress salin	31
II.2.3. Paramètres mesurés.....	32
II.2.3.1. Pourcentage de germination (PG).....	32
II.2.3.2. Cinétique de germination	32
II.2.3.3. Vitesse de germination.....	33
II.2.3.4. Moyenne journalière de germination (MJG)	33
II.2.3.5. Réversibilité de l'effet du NaCl.....	33
II.2.3.6. Paramètre biométrique.....	33
II.2.3.6.1. Réduction de la longueur des parties aériennes et racinaires	33
II.2.3.6.2. Le pourcentage d'augmentation de poids frais.....	34
II.3. Etude des paramètres biochimiques au début de croissance	34
II.3.1. Mise en culture et application du stress	34
II.3.2. Paramètres biochimique mesurés	35
II.3.2.1. Extraction et dosage des pigments photosynthétiques	36
II.3.2.2. Extraction et dosage des protéines solubles	36
II.3.2.3. Extraction et dosage du malondialdéhyde (MDA).....	37
II.4. Analyse statistique	38

Partie III : Résultats et discussion

III.I. Effet du stress salin sur la germination et le début de croissance de <i>Medicago sativa</i> L.....	39
III.I.1. Effet du stress salin sur les paramètres de la germination.....	39
III.I.1.1. Effet du stress salin sur Cinétique et pourcentage de germination	39
III.I.1.2. Effet du stress salin sur Vitesse de germination.....	41
III.I.1.3. Effet du stress salin sur Moyenne journalière de germination	42
III.I.1.4. Réversibilité de l'effet du NaCl.....	42
Discussion	43
III.I.2. Effet du stress salin sur les paramètres biométriques	46

III.I.2.1. Effet du stress salin sur la longueur des parties aérienne et racinaires.....	46
III.I.2.1.1.Effet du stress salin sur la longueurs des parties aériennes	47
III.I.2.1.2. Effet du stress salin sur la longueurs des parties racinaires	47
III.I.2.1.3. Rapport de la longueur <i>PA/PR</i>	47
III.I.2.2. Pourcentage d'augmentation de poids frais	48
Discussion	49
III.I.3. Effet du sel sur les paramètres biochimiques en début de croissance	50
III.I.3.1. Effet du stress salin sur les pigments photosynthétiques	50
III.I.3.1.1. Effet du stress salin sur la teneur en chlorophylle totale (a+b)	50
III.I.3.1.2. Rapport Chl a/b	51
III.I.3.1.3. Effet du stress salin sur la teneur en caroténoïde	52
III.I.3.1.4. Rapport <i>Car/Chl (a+b)</i>	52
Discussion	53
III.I.3.2. Effet du stress salin sur la teneur en protéines solubles	55
Discussion	56
III.I.3.3. Effet de stress salin sur la teneur en malondialdehyde(MDA).....	57
Discussion	58
III.II. Effet du stress osmotique sur la germination et le début de croissance de <i>Medicago</i> <i>sativa</i> L.	60
III.II.1. Effet du stress osmotique sur les paramètres de germination	60
III.II.1.1. Effet du stress osmotique sur la cinétique et le pourcentage de germination	60
III.II.1.2. Effet de stress osmotique sur la vitesse de germination.....	63
III.II.1.3. Effet du stress osmotique sur la moyenne journalière de germination (MJG)	64
III.II.1.4. Réversibilité de l'effet de PEG ₆₀₀₀	64
III.II.2. Effet du stress osmotique sur les paramètres biométriques	68
III.II.2.1. Effet du stress osmotique sur la longueur des parties racinaires et aériennes	68
III.II.2.1.1. Effet du stress osmotique sur la longueur des parties aériennes.....	69
III.II.2.1.2. Effet du stress osmotique sur la longueur des parties racinaires.....	69
III.II.2.1.3. Rapport de la longueur <i>PA/PR</i>	69
III.II.2.2. Effet du stress osmotique sur le pourcentage d'augmentation du poids frais.....	70
Discussion	71
III.II.3. Effet du stress osmotique sur les paramètres biochimiques.....	72
III.II.3.1. Effet du stress osmotique sur la teneur en pigments photosynthétiques	72
III.II.3.1.1. Effet du stress osmotique sur la teneur en chlorophylles totales (a+b).....	72
III.II.3.1.2. Rapport de chl a/b	73
III.II.3.1.3. Effet du stress osmotique sur la teneur en caroténoïdes totaux	74
III.II.3.1.4. Rapport Caroténoïdes totaux /chlorophylles totales.....	75
Discussion	75
III.II.3.2. Effet du stress osmotique sur la teneur de protéines solubles totales	77

Discussion	78
III.II.3.3. Effet du stress osmotique sur la teneur en malondialdéhyde (MDA)	79
Discussion	80
Conclusions et perspectives	82
Référence bibliographique	85

Effets de deux stress abiotique (salin et osmotique) sur la germination et le début de croissance de cinq géotypes de luzerne pérenne (*Medicago sativa L.*)

Résumé. Le présent travail a pour objectif de déterminer les géotypes tolérants parmi 5 géotypes de *Medicago Sativa L.* (Moapa, Hunter-river, Touggourt, In-Salah et El-Goléa) face à un stress salin et autre osmotique. Deux expérimentations ont été menés : La première expérimentation concerne l'évaluation de l'influence de deux stress abiotiques (salin et osmotique) sur quelques paramètres de la germination des graines par l'application de différentes concentrations de NaCl (0, 50, 100, 150, 200, 250, 300 mM) et différentes concentrations de PEG6000 (0, 5, 10, 20, 25 et 30%). La deuxième expérimentation consiste à évaluer l'effet de deux doses de NaCl (100 et 200 mM) et deux doses de PEG₆₀₀₀ (5 et 10 %) sur des plantules âgées 12 jours par la mesure de quelques paramètres biochimiques.

Les résultats obtenus ont montré que l'effet des deux stress est plus accentué en cas de stress sévère. Le géotype Hunter-River se montre le plus sensible sous un stress salin et osmotique atteignant des pourcentages de germination très faibles à 200 mM de NaCl et à 20 % de PEG₆₀₀₀. De plus, cette sensibilité s'est manifestée au stade début de croissance, par une réduction des pigments photosynthétiques due probablement à leur photo-oxydation, et une forte accumulation du MDA qui est le résultat d'une forte peroxydation des lipides membranaires.

Le géotype In-Salah semble le plus tolérant au stress salin et osmotique au stade germination par le maintien du pourcentage de germination supérieur à 80% sous le traitement 250 mM de NaCl et un pourcentage de germination de 40% en présence d'un stress osmotique sévère (20% de PEG₆₀₀₀), comparativement aux autres géotypes où le pourcentage de germination est très faible. Par ailleurs, au stade début de croissance, cette tolérance se manifeste par une accumulation des protéines solubles totales, une augmentation des pigments photosynthétiques et une faible accumulation du MDA signe du maintien de l'intégrité membranaire. Les trois autres géotypes (Moapa, Touggourt et El-Goléa) semblent moyennement tolérants au stress salin et osmotique.

Mots-clés : *Medicago sativa L.*, NaCl, PEG₆₀₀₀, germination, chlorophylles, Protéines, MDA.

Effects of two abiotic (salt and osmotic) stresses on the germination and early growth of five genotype of perennial alfalfa (*Medicago sativa L.*)

Abstract: The aim of this work is to determine the salt and osmotic stress tolerant genotypes among 5 genotypes of *Medicago Sativa L.* (Moapa, Hunter-river, Touggourt, In-Salah and El-Golea). Two experiments were carried out: The first experiment concerning the evaluation of the influence of two abiotic (Salt and osmotic) stresses on some parameters of seed germination by the application of different concentrations of NaCl (0, 50, 100, 150, 200, 250, 300 mM) and different concentrations of PEG₆₀₀₀ (0, 5, 10, 20, 25 and 30%). The second experiment evaluated the effect of two doses of NaCl (100 and 200 mM) and two doses of PEG₆₀₀₀ (5 and 10%) on some biochemical parameters of 12-day-old seedlings.

The results obtained showed that the effect of the two stresses is more accentuated in case of severe stress. The Hunter-River genotype is most sensitive under salt and osmotic stresses, reaching very low germination percentages at 200 mM NaCl and 20% PEG₆₀₀₀. Moreover, this sensitivity was manifested in the early stage of growth, due to a reduction in photosynthetic pigments as a result of their photooxidation, and a strong accumulation of MDA which is the result of high peroxidation of membrane lipids.

The In-Salah genotype most tolerant to salt and osmotic stresses at the germination stage by maintaining the percentage of germination above 80% under the treatment 250 mM NaCl and a percentage of germination of 40% in the presence of severe osmotic stress (20% PEG₆₀₀₀), compared to other genotypes where the percentage of germination is very low. Moreover, in the early stage of growth, this tolerance is manifested by an accumulation of total soluble proteins, an increase in photosynthetic pigments and a low accumulation of MDA sign of maintaining membrane integrity. The three other genotypes (Moapa, Touggourt and El-Goléa) appear to be moderately tolerant to salt and osmotic stresses.

Keywords: *Medicago sativa L.*, NaCl, PEG₆₀₀₀, germination, chlorophylls, proteins, MDA.

تأثير الإجهادين الغير الحيويين (الملحي والاسموزي) على إنتاش وابدائية نمو خمس انماط جينية من البرسيم المعمر (*Medicago sativa L.*)

ملخص: يهدف هذا العمل إلى تحديد الانماط الجينية المحتملة للإجهادين الملحي والاسموزي من بين 5 انماط جينية من البرسيم المعمر (*Medicago sativa L.*) (موابا ، هنتر ريفر، تقرت، عين صالح والغولية) بحيث انه أجريت تجربتين: الأولى تتعلق بتقييم تأثير نوعين من الإجهادات (الملحي والاسموزي) على بعض مقاييس إنتاش البذور بتطبيق تراكيز مختلفة من كلوريد الصوديوم (0، 50، 100، 150، 200، 250، 300 ملغم) وتراكيز مختلفة من PEG₆₀₀₀ (0، 5، 10، 20، 25، 30%). والثانية لتقييم تأثير جرعتين من كلوريد الصوديوم (100 و 200 ملغم) وجرعتين من PEG₆₀₀₀ (5 و 10%) على شتلات عمرها 12 يوما بقياس بعض المعايير البيوكيميائية.

أظهرت النتائج أن تأثير كل من الضغطين كان أكثر وقوى بزيادة شدة الإجهاد. وقد تبين أن النمط الجيني هنتر-ريفر هو الأكثر حساسية من بين الانماط الجينية تحت الإجهاد الملحي والاسموزي للذات أدى إلى نسبة إنتاش منخفضة جدا في 200 ملغم من كلوريد الصوديوم و20% PEG₆₀₀₀. وبالإضافة إلى ذلك، هذه الحساسية ظهرت أيضا في مرحلة مبكرة من النمو، بالحد من الصبغ الضوئي الراجع ربما إلى الأكسدة الضوئية، وتراكم عال من MDA الذي ينتج عن تأكسد شديد للدهنيات الغشائية.

يعد النمط الجيني عين صالح الأكثر تحملا للإجهادين الملحي والاسموزي في مرحلة الإنتاش بالحفاظ على نسبة إنتاش أعلى من 80% تحت العلاج ب 250 ملغم من كلوريد الصوديوم ونسبة تعادل 40% في وجود الإجهاد الاسموزي الشديد (20% PEG₆₀₀₀)، مقارنة مع غيرها من الانماط الجينية أين أن هذه النسبة كانت منخفضة جدا. علاوة على ذلك، ففي مرحلة مبكرة من النمو يتجلى هذا التحمل بتراكم البروتينات القابل للذوبان الكلية، وزيادة الاصبغة الضوئية وتراكم نسب قليلة من MDA دليل للحفاظ على سلامة الغشاء. في حين أن الانماط الجينية الثلاثة الأخرى (موابا، تقرت، والغولية) ابدوا تحملا وسطيا تحت الإجهاد الملحي وأيضا الاسموزي.

الكلمات المفتاحية: البرسيم المعمر، كلوريد الصوديوم، الإنتاش، PEG₆₀₀₀، MDA، الكلوروفيل والبروتين