

**Ecole Nationale Supérieure Agronomique El-Harrach-Alger**  
Ecole Doctorale d'Amélioration des Productions Végétales et Ressources Génétiques  
Thèse en vue de l'obtention du diplôme de magistère en agronomie  
Spécialité : Amélioration des Productions Végétales et Ressources Génétiques

***Etude de la variabilité chez quelques  
lignées Medicago truncatula soumises au  
stress salin***

**Présenté par : Melle. LAHRECH Nour EL Houda**

**Directeur de thèse : M<sup>r</sup>. ABDELGUERFI A. Professeur à l'ENSA Co-**

**Directeur de thèse : M<sup>me</sup>. LAOUAR M. Maître de Recherche à l'INRAA**

***Soutenu le : 27/12/2011***

Jury : **Présidente : M<sup>me</sup>. MEKLICHE-HANIFI L. Professeur à l'ENSA Examineurs : M<sup>r</sup>.  
M'HAMMEDI BOUZINA M. Maître de conférences Univ. de Chlef M<sup>r</sup>. AMRANI S. Maître de  
conférences à l'USTHB**



# Table des matières

Dédicace . . .	6
Résumé . . .	7
Abstract . . .	8
ص خ لم . . .	9
Remerciements . . .	10
Liste d'abréviations . . .	11
Introduction . . .	12
Chapitre I :Description, Biologie et Intérêt de l'espèce <i>Medicago truncatula</i> . Gaertn . . .	15
I.1. Taxonomie et description de l'espèce . . .	15
I.2. Aire de répartition . . .	17
I. 3. Intérêt de <i>M. truncatula</i> et sa place en génomique . . .	17
I.3.1. <i>Medicago truncatula</i> , plante modèle . . .	18
I.3.2. <i>Medicago truncatula</i> , et outils de génomique . . .	19
I.3.3. Analyse du déterminisme génétique par cartographie de QTL . . .	20
I.4. Cycle phénologique de l'espèce, système de nomenclature codée . . .	21
Chapitre II : Définition du stress, effet du stress sur les plantes et la réponse de celles-ci . . .	24
II. 1. Concept et définitions du stress . . .	24
II.1.1. Le stress du point de vue physique . . .	24
II.1.2. Le stress du point de vue biologique . . .	24
II.1.3. Le stress du point de vue agronomique . . .	25
II. 2. Les différents types et effets de stress . . .	26
II.2.1. Différents stress . . .	26
II.2.2. Les différents types de stress chez les plantes . . .	26
II.2.3. Dégâts du stress . . .	27
II.2.4. La plante face aux stress abiotiques . . .	28
II. 5. Les effets du stress salin . . .	33
II. 5. 1. Le stress salin et le développement de la plante . . .	33
II.5.2. L'effet de la salinité sur les feuilles . . .	37
II. 5. 3. Le stress oxydatif, stress secondaire induit par le stress salin . . .	38
II. 6. Les mécanismes de résistance . . .	39
II. 6.1. La défense antioxydante . . .	39
II. 6.2. Régulation et compartimentation des ions . . .	40
II. 6.3. Les osmoprotecteurs . . .	44
II.6.4. Les protéines de stress . . .	49
Chapitre III : Matériel et Méthodes . . .	51
III.1. Matériel végétal . . .	51
III. 2. Mise en culture . . .	57
III. 2. 1. Scarification, stérilisation et germination des graines . . .	57
III. 2. 2. Mise en culture des germes en milieu Fahræus à différentes concentrations de NaCl . . .	59

III. 2. 3. Stade de mesure . . .	60
III.3. Caractères étudiés . . .	60
III.3.1. Caractères biométriques . . .	61
III.3.2. Caractères physiologique et biochimiques . . .	61
Chapitre IV : Résultats et discussions . . .	65
IV.1. Les paramètres de croissance . . .	65
IV.1.1. Comparaison de la croissance des lignées en absence de stress . . .	66
IV. 1.2. Effet de NaCl sur la croissance des lignées par rapport à leurs témoins . . .	68
IV.1.3. L'indice de sensibilité . . .	74
IV.1.4. Comparaison du comportement des lignées selon les différents stress . . .	84
IV. 2. Paramètres biochimiques et physiologiques . . .	88
IV. 2. 1. Comparaison physiologique et biochimique des lignées en absence de stress salin . . .	92
IV. 2.2. Effet de NaCl sur le comportement physiologique et biochimique des lignées par rapport à leurs témoins sans stress. . .	94
IV. 2.3. Comparaison physiologique et biochimique des lignées sous stress salin . . .	99
IV. 2.4. Diversité du comportement des lignées sous stress salin pour les caractères de croissance, de biochimie et de physiologie . . .	101
Conclusion et Perspectives . . .	106
Références Bibliographiques . . .	110
Annexes . . .	126
Annexe 1 : Milieu de culture Cambell « C » . . .	126
<b>Annexe 2</b> : Milieu de culture Fahræus . . .	126
<b>Annexe 3</b> : Courbe étalon de la proline . . .	126
Annexe 4 : Analyse de la variance pour poids frais de la partie aérienne . . .	127
Annexe 5 : Analyse de la variance pour poids frais des racines . . .	127
Annexe 6 : Analyse de la variance pour poids sec de la partie aérienne . . .	128
Annexe 7 : Analyse de la variance pour poids sec des racines . . .	128
Annexe 8 : Analyse de la variance pour longueur des racines . . .	128
Annexe 9 : Analyse de la variance pour longueur de la partie aérienne . . .	129
Annexe 10 : Analyse de la variance pour la teneur en chlorophylle <i>a</i> . . .	129
Annexe 11 : Analyse de la variance pour la teneur en chlorophylle <i>b</i> . . .	129
Annexe 12 : Analyse de la variance pour la teneur en chlorophylle totales (chlorophylle <i>a+b</i> ) . . .	130
Annexe 13 : Analyse de la variance pour la chlorophylle <i>a/b</i> . . .	130
Annexe 14 : Analyse de la variance pour la teneur en caroténoïde . . .	130
Annexe 15 : Analyse de la variance pour la teneur en proline . . .	131
Annexe 16 : Analyse de la variance pour la teneur relative en eau (TRE) . . .	131
Annexe 17 : Tableau cumulatif (moyennes $\pm$ écart type) de l'effet du stress salin sur le poids frais de la partie aérienne et racinaire et sur le poids sec de la partie aérienne et racinaire de 27 lignées algériennes et 7 lignées parentales de <i>Medicago truncatula</i> . . .	131

Annexe 18 : Tableau cumulatif (moyenne $\pm$ écart type) de l'effet du stress salin sur la longueur des racines et de la partie aérienne de 34 lignées de <i>Medicago truncatula</i> . .	132
Annexe 19 : Tableau cumulatif (moyenne $\pm$ écart type) de l'effet du stress salin sur les caractères biochimiques (chlorophylle, caroténoïdes, proline) et physiologique (teneure relative en eau) de 6 lignées algériennes et 4 lignées parentales de <i>Medicago truncatula</i> . .	140
Annexes 20 : ANOVA des paramètres de croissances à un seul facteur sans NaCl . .	142
Annexe 21 : ANOVA des paramètres de croissances à un seul facteur avec sel . .	150
Annexe 22 : ANOVA des paramètres biochimique et physiologique à un seul facteur sans NaCl . .	187
Annexe 23: ANOVA des paramètres biochimique et physiologique à un seul facteur avec sel . .	193

## Dédicace

*Je dédie cet effort aux êtres les plus précieux, ceux avec qui ma vie est illuminée.*

---

## Résumé

Afin d'évaluer d'une manière rapide et efficace la tolérance à la salinité chez *Medicago truncatula*, des graines matures de 34 lignées autochtones et parentales ont été cultivées *in vitro* et soumises durant 37 jours à différentes concentrations salines (0, 50, 100, 150, 200 mM de NaCl). Cette étude s'est fixée deux objectifs : le premier, d'estimer la croissance de l'ensemble des vitro semis en mesurant les paramètres suivants : longueur de la partie aérienne et racinaire ainsi que la production de biomasses totales des matières fraîches et sèches de la partie aérienne et racinaire. Le second, d'évaluer l'effet du stress salin sur la teneur relative en eau et certains métabolites auprès de dix lignées de la collection de départ et quatre doses croissantes de sel. Les résultats acquis montrent une variabilité de réponse selon le génotype testé et les doses de NaCl appliquées. En effet, la croissance et le développement de la totalité des lignées sont affectés par les concentrations 150 et 200 mM. Les génotypes ALG310.209, ALG334.270, ALG433.407, TN1.11, ALG405.340, ALG432.406, ALG429.393, ALG402.319, ALG299.185, ALG440.439, DZA315.16, ALG418.370, favorisent et/ou tolèrent la présence de 50 mM de chlorure de sodium dans le milieu de culture. Le traitement 100mM a un effet négatif prononcé sur la croissance de la majorité des lignées, exception faite de quelques lignées notamment ALG405.340 et ALG331.252. Au deuxième volet, les résultats ont montré que la contrainte saline, entraîne chez la plupart des lignées étudiées une accumulation de la proline, une réduction légère de la teneur relative en eau et une baisse importante de la teneur en chlorophylle a, b, total et caroténoïdes. Les lignées de *Medicago truncatula* relativement tolérantes au sel, ALG331.252, TN1.11, ALG440.439, ont adapté des stratégies différentes de résistance conformément à la différence de taux de synthèse des composés biochimiques étudiés (pigments chlorophylliens et proline).

**Mots clés:** *Medicago truncatula*, stress salin, tolérance, proline, pigments chlorophylliens, TRE.

## Abstract

To evaluate in fast and efficient way *Medicago truncatula*'s salt tolerance, mature seeds of 34 native and parental lines were grown *in vitro* during 37 days at different salt concentration (0, 50, 100, 150, 200 mM of NaCl). This study has two objectives: first one, to estimate growth of all seedlings by measuring the following parameters: length and total biomass production of fresh and dry matter of the shoot and root. The second one, to evaluate the effect of salt stress on RWC (relative water content) and some metabolites within ten lines of the initial collection and four increasing dose of salt. The results obtained show a variability of response depending on the genotype and NaCl concentration applied. Indeed, the growth and development of all lines are affected by the concentrations 150 and 200 mM. Genotypes ALG310.209, ALG334.270, ALG433.407, TN1.11, ALG405.340, ALG432.406, ALG429.393, ALG402.319, ALG299.185, ALG440.439, DZA315.16, ALG418.370, promote and/or tolerate the presence of 50 mM sodium chloride in the culture medium. 100 mM treatment has a negative effect on the growth of most lines, except for a few lines especially ALG405.340 and ALG331.252. For the second part, the results showed that salt stress, leads in most lines studied to the accumulation of proline, a slight reduction of RWC, and a significant decrease in chlorophyll a, b, total and Carotenoïds. *Medicago truncatula* lines ALG331.252, TN1.11, ALG440.439, relatively salt tolerant have adapted different strategies of resistance according with difference rate of biochemical compounds synthesis (proline and chlorophyll pigments).

**Key words:** *Medicago truncatula*, salt stress, tolerance, proline, chlorophyll pigments, RWC

## ص خ لم

للتقييم بطريقة فعالة و سريعة قدرة *Medicago truncatula* على تحمل الملوحة بذور ناضجة لـ 34 فصيلة أصلية و مبروفة زرعت في السخدر لمدة 37 يوم مبرضة لتركيزات مختلفة من الملح (0, 50, 100, 150, 200 ميليولار من NaCl). و قد وضعت هذه الدراسة لتحقيق هدفين: أولاً لتقدير نمو جميع الشتلات السخيرية من خلال قياس طول الجزء الهوائي و الجذور و إجمالي إنتاج الكتلة الحيوية للمادة الجافة و الجافة لكل من الجزئين الهوائي و الترابي.

و الجزء الثاني، لتقييم تأثير ضبط الملح على المحتوى المائي النسبي و بغض الايضات بالنسبة لـ 10 فصائل مزروعة في 4 جرعات متزايدة من الملح. النتائج المتحصل عليها تظهر تباين في استجابة الفصائل و ذلك تبعاً للنمط الوراثي و جرعات كلوريد الصوديوم المستخدمة.

فبلا، النمو و التطور الإجمالي للأنصاف تأثر بالجرعات 150 و 200 ميليولار. الفصائل ALG310.209, ALG334.270, ALG433.407, TN1.11, ALG405.340, ALG432.406, ALG429.393, ALG402.319, ALG299.185, ALG440.439, DZA315.16, ALG418.370, فضل و / أو تحمل وجود 50 ميايولار في وسط الاستنبات. استعمال 100 ميليولار له تأثير سابي قوي على نمو معظم الفصائل باستثناء البعض منها و خاصة ALG405.340 و ALG331.252.

الجزء الثاني أظهر إن الإجهاد الملحي يؤدي لى معظم الفصائل المدروسة إلى تراكم البرولين و إلى انخفاض طفيف في المحتوى المائي النسبي و انخفاض ملحوظ في الكلوروفيل أ، ب، الكلي و الكاروتينات. أصناف *Medicago truncatula* التي تحمل نسبة الملوحة, ALG331.252, ALG440.439, TN1.11 اعتمدت استراتيجيات مختلفة لمقاومة الملوحة و ذلك استناداً لاختلاف معدلات توليف المركبات البيوكيميائية المدروسة (برولين و أصباغ الكلوروفيل).

كلمات المفتاح

*Medicago truncatula*-الإجهاد الملحي - مقاومة - برولين - الكلوروفيل أ، ب، الكلي, RWC

## Remerciements

Mes remerciements vont d'abord à M<sup>r</sup> Abdelguerfi A. Professeur à l'ENSA pour m'avoir confié ce travail de recherche et à M<sup>me</sup> Abdelguerfi- Laouar M. Maître de Recherche à l'INRAA et Co-Directeur de cette thèse pour sa disponibilité.

Toute ma sincère gratitude va aux augustes membres de jury de bien vouloir étoffer ce travail par leurs précieuses et appréciables remarques : M<sup>me</sup> Mekliche-Hanifi L présidente du jury, M<sup>r</sup> M'hammedi Bouzina M. et M<sup>r</sup> Amrani S. examinateurs

J'adresse mes vives reconnaissances à tous les employés de l'INRAA en particulier le staff du laboratoire Physiologie végétale pour leur accueil et leur coopération professionnelle tout au long de mon stage.

Je tiens à remercier tout particulièrement et à témoigner toute ma reconnaissance à M<sup>r</sup> Medjebeur Djamel pour l'expérience enrichissante dont il m'a fait part, et à M<sup>r</sup> Benchabane Messaoud pour son écoute, son soutien et son aide. Ainsi qu'à M<sup>r</sup> Ounane S.M. le responsable de l'école doctorale AP-VRG.

Je transmets un merci tout particulier à M<sup>r</sup> Harrane Khalil et M<sup>elle</sup> Mebdoua Samira pour leur appui.

Enfin, je remercie énormément tous mes proches surtout mes parents, ma sœur et ma tante Kheira pour leur soutien moral, leurs encouragements et leur patience durant les étapes difficiles de ce travail, sans eux cette thèse n'aurait jamais vu le jour.

## Liste d'abréviations

Ø	diamètre
°	degré
°C	degré Celsius
µ	Fournit
λ	longueur d'onde de la chlorophylle a
λ <sub>1</sub>	longueur d'onde de la chlorophylle b
λ <sub>2</sub>	longueur d'onde des caroténoïdes
µ	micro
ABA	acide abscissique
ACP	Analyse en Composants Principale
ADN	acide désoxyribonucléique
ADN-T	ADN de transfert
APX	ascorbate peroxydase
ATP	Adenosine triphosphate
Ca	calcium
CAI	caféine
Chlo	Chlorophylle
cm	centimètre
CO <sub>2</sub>	dioxyde de carbone
DAI3	dia-ylglycolol
DREB	Dehydratation Responsive Element Binding factor
EMS	EthylMéthanesulfonate, Méthanesulfonate d'éthyle
EST	Expressed Sequence tag, étiquette d'une séquence exprimée
F2	2 <sup>ème</sup> génération
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
Fig	Figue
G	gramme
GR	glutathion réductase
GSA	glutamate-semialdéhyde
H <sup>+</sup>	ion hydrogène (proton)
H <sub>2</sub> O	eau
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	peroxyde d'hydrogène
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	acide sulfurique
ha	hectare
ha	hectares
HSP	Heat shock proteins
HEP	hexanol triphosphate
IR	rayonnement infrarouge
IS	indice de sensibilité
Jap	vous savez plantation
K	potassium
LA	longueur de la partie aérienne
LEA	Late Embryogenesis Abundant proteins
LR	Ligne recombinante
ln	longueur des racines
m	mètre
MAPKs	Mitogen-Activated Protein Kinase
Mfp	millions paires de base
MF	matière fraîche
mg	milligramme
min	minute
ml	millilitre
mm	millimètre
mm	millimètre
mmol	millimole
µM	micromole
N <sup>+</sup>	nutriment
Na	sodium
NaCl	chlorure de sodium
NADPH	Nicotinamide adénine dinucléotidyle phosphate
nm	nanomètre
NSC / MSCC	nonselective cation channels
OO <sup>-</sup>	anion superoxyde
OO	oxygène singulet
PSC	pyruvate-3-sulfoxylate
PF	poix frais
PF FA / FFA	Poids frais de la partie aérienne
FFR	Poids frais des racines
pH	logarithme décimal négatif de la concentration de H <sup>+</sup>
PIP <sub>2</sub>	phosphatidylinositol diphosphate
PLC	phospholipase C
P <sub>1</sub>	paramètre chez les plantes soumises au sel
PS	poix sec
PS II	photosystème II
PS FA / FSA	Poids sec de la partie aérienne
FSR	Poids sec des racines
P <sub>2</sub>	paramètre chez les plantes témoin
PT	poix à la régénéscence
QTL	Quantitative Trait Loci
RFOS	Raffinose Family Oligosaccharides
ROS	Reactive Oxygen Species
SOD	superoxyde dismutase
SSC	Salt Overt Sensitive genes
SSD	Single Seed Descent (descendance mono graine)
T <sub>rel</sub>	Tableau
TREI/RWC	Teneur relative en eau / Relative water Content
UV	rayonnement ultraviolet
w	Watt

# Introduction

En général, les plantes se trouvent rarement dans des conditions environnementales optimales, en revanche, elles font souvent face à des conditions extrêmes de non disponibilité d'eau, de température sévère, de salinité accentuée..., menant à la limitation de survie de l'organisme. Le stress est un ou plusieurs effets hostiles, qui en s'exerçant sur un organisme, entravent sa croissance et son développement normale. L'étude de plantes placées dans ces conditions est appelée physiologie du stress, cette discipline est lucrative pour trois raisons. D'abord, l'étude pratiquée sur des plantes en conditions stressantes peut renseigner sur les mécanismes physiologiques normaux. Ensuite, l'étude de la physiologie du stress contribue à la compréhension des facteurs qui limitent la répartition des plantes, et du coup, soutenir une autre branche, l'écophysiologie. Enfin, en agriculture, la capacité des cultures à résister aux stress est un facteur important de la détermination du rendement.

Pour ces raisons, nous avons choisi de contribuer à l'étude de la physiologie du stress salin. Dans la nature certains sels, présents à très faible concentration, sont absorbés comme éléments nutritifs par les végétaux. Cependant, à des concentrations plus élevées, les sels solubles, altèrent la structure du sol, diminuent sa porosité et par conséquent l'aération et la conductivité hydrique, empêchant ainsi les racines d'absorber l'eau et les éléments nutritifs et exerce également un effet toxique spécifique créant un dysfonctionnement général du métabolisme, ce qui, restreint la croissance des plantes cultivées, d'où un rendement plus faible (Wiebe *et al.*, 2004). Le stress salin, est un terme, qui se lie plutôt à un excès d'ions, en particulier, mais pas exclusivement, aux ions  $\text{Na}^+$  et  $\text{Cl}^-$  qu'à une carence en un ion, celle-ci s'installe sous l'embrèle de problème nutritionnel. Notre étude a pour auteur principal une plante modèle de la famille des légumineuses en l'occurrence *Medicago truncatula*. Qui au-delà de l'importance de sa famille botanique aux yeux des écologues, agriculteurs, éleveurs... et sa propre sollicitude auprès des biologistes, physiologistes, généticiens et phytopathologues... (May et Dixon, 2003). Sa sélection repose également sur la simple réalité qu'elle fait partie de la flore algérienne spontanée qui se développe un peu partout sur le littoral et le nord du pays. Zones caractérisées par des bioclimats allant du per humide au semi aride et d'une topographie constituée principalement en deux grandes unités structurales le système tellien et les hautes plaines (Nedjraoui, 2001). Il s'agit alors d'un patrimoine non exploité qu'on veut participer à sa valorisation, en fait 27 lignées de *Medicago truncatula* correspondantes à 24 populations algériennes et 7 lignées parentales ayant des cartes génétiques bien connues, sont les éléments de la thèse.

A la surface de la terre existent de vastes zones où la salinité élevée fait naturellement partie de l'environnement tels que les déserts, qui contiennent typiquement de forte concentration de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$  ainsi que des carbonates (Hopkins, 2003). Ces biotopes hébergent naturellement une phytocénose appropriée est peut-être ne pas être l'objectif cardinal de mise en valeur quoique c'est le cas. Mais c'est la catégorie de sols très salés subsistants suite à l'activité de l'homme, qui inquiète le plus. Catégorie, constituée par les terres agricoles qui ont été très irriguées (ILRI, 1988), ou fertilisées par exemple par l'utilisation du potassium comme engrais, ou mal drainées ou encore due au déboisement, à l'aquaculture... Même pour les agricultures les plus modernes, les stress

---

salins et hydriques constituent une limitation sérieuse des rendements. Aux Etats Unis, par exemple, le rendement moyen des huit principales plantes de grande culture était en 1975 seulement égal à 20 % du rendement potentiel, évalué par les rendements records enregistrés (Boyer, 1982). Sur ces 80 % de pertes de rendement, moins de 10 % sont attribuables aux maladies, ravageurs et mauvaises herbes. Le reste traduit l'impact des mauvaises conditions de climat et de sol, parmi lesquelles la sécheresse et la salinité. Pareil en Algérie, selon Lahmar (1996), où il a suffi cinq campagnes d'irrigation, dans les fermes pilotes de Gassi-Touil, situées au nord-est du Sahara, pour multiplier par six le niveau de salinité des 20 premiers cm du sol, pourtant sableux. Ces niveaux de salinité sont largement suffisants pour provoquer une chute importante des rendements du blé dur. Les rendements ont en effet baissé de près de la moitié.

Tel, il y'a plus d'un quart de siècle, on recensait déjà de part le monde  $322.9 \cdot 10^6$  ha de sols salins et sodiques dont plus de 20 % en Afrique (Brinkman, 1980). Au début du troisième millénaire, les estimations ont montré que près de  $955 \cdot 10^6$  ha du monde sont identifiés comme sols salins, avec cependant différents degrés d'altération (Qadir *et al.*, 2000). Selon l'appréciation de l'FAO à partir des données recueillies par *terrastat*, les domaines affectés par la salinité au niveau du bassin méditerranéen correspondent à  $27.3 \cdot 10^6$  ha (Aragüés *et al.*, 2011).

Ceci implique que le problème est loin d'être contourné, malgré les efforts fournis dès le départ. Maintenant, on réfléchit plus à des solutions verticales qu'aux solutions horizontales pour subvenir au besoin alimentaire universel croissant. Plus intéressant est d'envisager l'acquisition de génotypes tolérants aux stress environnementaux, même avec ce que la science offre actuellement, il est toujours indispensable de repêcher dans la nature des caractères et des gènes intéressants. C'est aussi dans ce contexte que ce travail s'inscrit, repérer, un et / ou des génotypes de *Medicago truncatula* tolérant au stress salin. Pour cela une culture *in vitro* a été résonnée dont l'explant est la graine. Cette technique présente l'avantage d'un meilleur contrôle des conditions de nutrition et d'application du stress, tout en autorisant la manipulation d'un grand nombre de lignées. La culture *in vitro* a pris une importance croissante dans les programmes d'amélioration des plantes pour la sélection de génotypes tolérants à la salinité (Fathi, 1989). Cette technique constitue un test précoce et rapide pour évaluer et caractériser le comportement des espèces végétales face à une contrainte saline (Pourrat, 1994). Certes, *Medicago truncatula* est glycophyte, c'est-à-dire, qui ne peut tolérer que de faible quantité de sel, mais sa particularité réside dans la diversité des biotopes qu'elle occupe, il existera cependant des degrés variable de sensibilité au stress salin.

Nous avons opté pour le chlorure de sodium comme source de salinité, puisque parmi les ions,  $\text{Na}^+$  semble atteindre la concentration toxique avant les autres (Tester et Davenport, 2003). Encore, les ions  $\text{Na}^+$  perturbent l'absorption des cations ( $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ). Alors que l'accumulation excessive du chlorure diminue l'absorption des anions indispensables à la croissance et au développement des végétaux en particulier les nitrates, les nitrites et les sulfates (Soltani *et al.*, 1990 ; Ballesteros *et al.*, 1997 ; Botella *et al.*, 1997 ; Davenport *et al.*, 1997). Il semble le plus néfaste des sels pour la plante.

La thèse se présente en quatre chapitres :

**Chapitre I** : est un illustré bibliographique qui offre une présentation globale de l'espèce *Medicago truncatula* est cela en survolant sa taxonomie, son aire de répartition, les vertus de

sa famille botanique, ses intérêts biologiques, agronomiques et génétiques, sa position dans le monde de la recherche et ses outils génomiques, ainsi que sa description phénologique.

**Chapitre II** : c'est aussi un recueil bibliographique, compartimenté en deux parties. La première partie propose une généralité sur le concept du stress en mentionnant ces différents types et ses modes d'action ; la seconde, se consacre plutôt au stress salin et traite son effet sur la croissance et le développement des plantes, ses stress secondaires consécutifs et les mécanismes de résistance de la plante telle que la défense antioxydante, la régulation et compartimentation des ions (sodium), les osmoprotecteurs (proline) et les protéines de stress.

**Chapitre III** : constitue le corps de la thèse, formule les principales méthodologies que nous avons utilisées, expose successivement la description, du matériel végétal (les 34 lignées de *Medicago truncatula*), des conditions de cultures et les mesures opérées pour caractériser l'effet du stress.

**Chapitre IV** : regroupe l'ensemble des résultats obtenus et leurs discussions en se basant sur les recherches réalisées sur ce sujet.

# Chapitre I :Description, Biologie et Intérêt de l'espèce *Medicago truncatula*. Gaertn

## I.1. Taxonomie et description de l'espèce

*Medicago truncatula*, appelée communément luzerne tronquée ou encore luzerne sauvage, fait partie des luzernes annuelles surnommées « Medics » appartenant à l'ordre des *Fabales* et à la famille des légumineuses (ou *Fabaceae*), qui comprend plus de 14 000 espèces réparties en trois sous-familles : les Césalpiniées, les Mimosacées et les Papilionacées (ou *Papilionoideae*). Les Papilionacées renferment deux clades : les Phaseolides (ou *Phaseoloid*), d'origine tropicale (ex. le soja *Glycine max*, le haricot commun *Phaseolus vulgaris*, le haricot mungo *Vigna radiata*) et les Galégoïdes (ou *Galegoid*) d'origine tempérée de l'hémisphère nord (ex. le pois *Pisum sativum*, la lentille *Lens culinaris*, la luzerne cultivée *Medicago sativa*, la luzerne sauvage *Medicago truncatula*) (Choi *et al.*, 2004 ; Doyle et Luckow, 2003).

D'où la classification de *Medicago truncatula* :

- Règne : *Plantae*
- Division : *Magnoliophyta*
- Classe : *Magnoliopsida*
- Ordre : *Fabales*
- Famille : *Fabaceae*
- Sous-famille : *Papilionoideae*
- Tribu : *Trifolieae*
- Genre : *Medicago*
- Espèce : *Medicago truncatula*

*Medicago truncatula* est une herbacée, de 15 à 80 cm, velue, ramifiée à partir de la base, à port variable, souvent prostré, parfois érigé. Elle porte des feuilles trifoliolées L'inflorescence porte 1 à 5 fleurs jaunes, la fleur hermaphrodite a une longueur comprise entre 5 et 8 mm, contient 10 ovules, des étamines diadelphes (réunies par leurs filets en deux faisceaux égaux). Les gousses sont cylindriques, en forme de vrilles, glabres, très dures, comprenant 2 à 8 spires jointives et serrées, aux épines recourbées, souvent perpendiculaires au plan de spires. Elles contiennent de 3 à 12 graines. Les graines ont une durée de vie importante supérieure à 40 ans, et une dormance qui peut être levée facilement Le poids de 1 000 grains oscille entre 3.3 et 6 g (Lesins et Lesins, 1979 ; Prospero *et al.*, 1995) (Fig. I. 1).

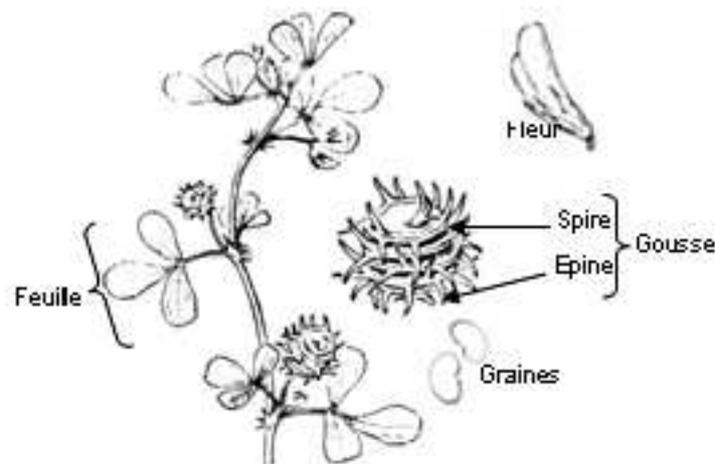


Figure 1.1 : Un rameau de *Medicago truncatula* ; fleur ; gousse ; graines (Hippolyte, 1906 modifié)

Divers sous espèces de *Medicago truncatula* ont été déterminées en se basant particulièrement sur la morphologie de la gousse : taille, nombre de spires et forme des épines. En 1963, Heyn a distingué trois variétés botaniques de *Medicago truncatula*, les principales caractéristiques discriminantes sont le nombre de spires par gousse, la hauteur des gousses et la taille des épines. (Fig. 1. 2)

- *Medicago truncatula* var. *truncatula*

Elle est caractérisée par une hauteur de la gousse supérieure au diamètre (7 à 12 mm de hauteur), 5 à 8 spires fortement serrés et par des épines non incurvées plus au moins collées à la gousse.

- *Medicago truncatula* var. *longispina*

Elle est caractérisée par une hauteur de la gousse inférieure ou égale au diamètre (7 à 10 mm de hauteur), 5 à 8 spires légèrement serrées, et par des épines incurvées non collées à la gousse.

- *Medicago truncatula* var. *tricycla*

Elle est caractérisée par des épines parfois de grande taille supérieures à celle de la gousse. Cette dernière possède une taille plus réduite, 5 à 6 mm de hauteur, et présente 2 à 4 spires.

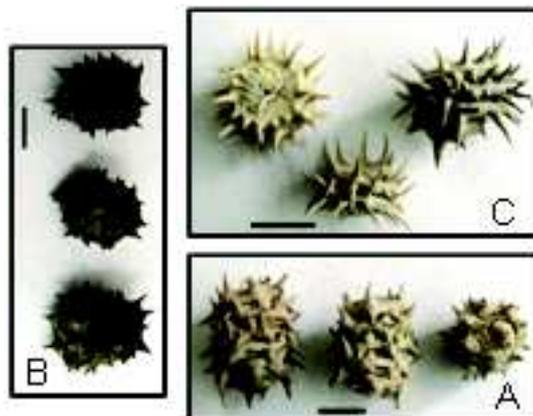


Figure I.2 : Les gousses de *Medicago truncatula* A, variété *truncatula* ; B, variété *longispina* ; C, variété *tricycla* ; barre = 5 mm.

## I.2. Aire de répartition

Le genre *Medicago* provient du croissant fertile qui couvre la Turquie actuelle, l'Iran, l'Iraq, le Suddu Caucaseet le pourtourdu BassinMéditerranéen, ne cessant de se propager. Au XIXe siècle, les *Medicago* adaptent d'autres parties du monde sur le continent Américain et en Australie (Fig. I. 3) (Delalande *et al.*, 2007).

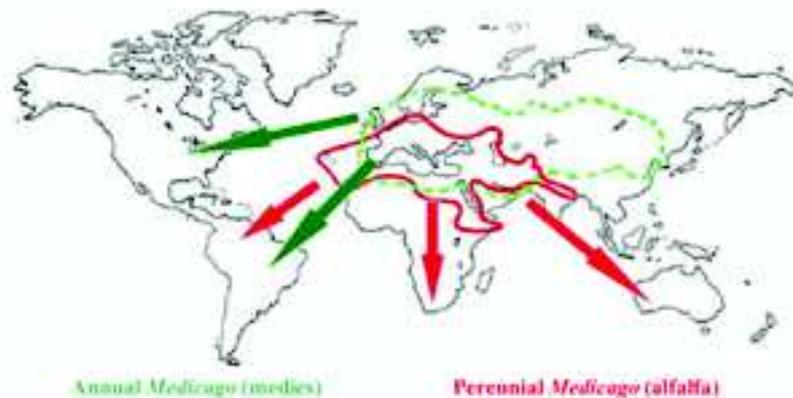


Figure I. 3 : Zone de distribution mondiale du genre *Medicago* (Delalande *et al.*, 2007)

Lesins et Lesins (1979) recensent parmi ce genre 55 espèces, dont une espèce arbustive (*Medicago arborea*), 20 espèces herbacées pérennes et 34 espèces herbacées annuelles.

Les *Medicago* annuelles, dont *Medicago truncatula*, ont fait l'objet de nombreuses collections de part le monde étant donnés leurs importance comme composante principale dans les systèmes de Ley-farming. Un total de 5 700 populations naturelles de *Medicago truncatula* existe dans les collections mondiales (au niveau du centre AMGRA, Australian Medicago Genetic Centre ; ARS-USDA, Agricultural Research Service United States Department of Agriculture...), 13.24% correspondant à 755 populations sont d'origine algérienne et se classent juste après celles d'origine tunisienne et marocaine (16.68% et 15.947% respectivement) (Delalande *et al.*, 2007).

Ainsi, *Medicago truncatula* est abondante en Algérie, Abdelguerfi (1978), signale sa présence un peu partout sous une pluviométrie variant entre 250 et 1 000 mm, avec une fréquence qui augmente proportionnellement à l'altitude, mais diminue au-delà de 800 m. Elle préfère les sols à texture moyenne, et à pH légèrement basique à basique (Abdelguerfi *et al.*, 1988).

## I. 3. Intérêt de *M. truncatula* et sa place en génomique

La spécificité de la famille des légumineuses est leur aptitude à fixer l'azote atmosphérique grâce à une symbiose avec des microorganismes du sol. Cette famille botanique a un important intérêt agronomique que nous allons exposer brièvement. Parmi les légumineuses cultivées on compte : les légumineuses à graines et les légumineuses fourragères, utilisées dans l'alimentation humaine et animale essentiellement. Elles présentent de nombreux atouts environnementaux comme par exemple : la diminution de la fertilisation azotée chimique et par conséquent la réduction de la pollution, la diversification dans les rotations agricoles prévenant le développement des adventices et parasites, leur système racinaire développé favorise la conservation du sol et assure une production de matière organique importante (Ahmed *et al.*, 1984) et présentent une qualité nutritionnelle intéressante (haute teneur en protéines), un rendement très élevé des cultures succédant les légumineuses (Chalck, 1998).

Les légumineuses, plus généralement, se caractérisent par de fortes proportions en oligosaccharides (RFOs, Raffinose Family Oligosaccharides). Ces RFOs seraient une source de carbone rapidement disponible lors de la germination et ils sont impliqués dans des mécanismes de tolérance à la dessiccation (Buitink *et al.*, 2003 ; Garcia *et al.*, 2006; Gallardo *et al.*, 2007 ).

Compte tenu de leur intérêt, les légumineuses ont fait l'objet d'une attention particulière et cela à travers l'exploration de différents axes de recherche tel que : une meilleure étude des mécanismes de fixation symbiotique de l'azote, une caractérisation des variétés cultivées sur des critères de teneurs protéique, détermination des traits de qualités des fourrages tel que la digestibilité, la valeur nutritionnel, le goût et les propriétés d'ensilage et autre.

Cependant la distance phylogénétique entre les familles botaniques représentées par les plantes cultivées est trop importante et rend donc nécessaire de disposer dans chaque famille d'une espèce modèle en génomique, comme par exemple *Arabidopsis thaliana* pour les Crucifères et le riz pour les Céréales. Deux légumineuses peu connues à l'origine, *Medicago truncatula* et *Lotus japonicus*, ont été proposées comme plantes modèles de cette famille, et sont depuis utilisées par de nombreux laboratoires dans le monde (Cook, 1999 ; Frugoli et Harris, 2001). Ces deux espèces présentent des caractéristiques génétiques similaires, mais développent des nodules de types différents (croissance indéterminée/déterminée). Par ailleurs, *Medicago truncatula* est plus proche sur le plan phylogénétique de la plupart des légumineuses cultivées (pois, féveroles, lentilles, vesces, pois chiche, luzernes, trèfles...), toutes appartenant au clade *Galegoid*, et est depuis 1992 plante modèle des légumineuses.

### **I.3.1. *Medicago truncatula*, plante modèle**

---

*Medicago truncatula* présente des caractéristiques permettant et facilitant les analyses génétiques et moléculaires : autogamie ; faible niveau de ploïdie ; génome de petite taille ; aptitude à la culture en laboratoire ; répond au greffage ; à l'embryogénèse somatique et à la transgénése, transformation par *Agrobacterium tumefaciens* ; ainsi qu'une bonne aptitude à entrer en symbiose avec *Sinorhizobium* ou dans la symbiose endomycorhizienne (Denarie et Gamas, 2001) ; elle est également hôte d'un grand nombre d'agents pathogènes (champignons, oomycètes, bactéries et virus) qui attaquent les légumineuses cultivées (Tivoli *et al.*, 2006 ; Rose, 2008). Par ailleurs, le temps de générations de graine à graine est relativement court (10 à 12 semaines en conditions contrôlées) et la production est

importante chaque plante produit 500 à 1 000 graines, ce qui assure une disponibilité rapide du matériel.

*Medicago truncatula* est une espèce diploïde ( $2n = 16$ ) et autogame, à la différence d'autres légumineuses cultivées telle que la luzerne (*Medicago sativa*) qui est allogame. Son génome est de petite taille : il est estimé à 500 ~ 550 millions paires de base (Mbp), c'est-à-dire 3 à 4 fois supérieur à celui d'*Arabidopsis thaliana*, équivalent à celle du riz et est environ dix fois inférieur à celui du pois (Denarie et Gamas, 2001 ; Young *et al.*, 2003). Puisque elle présente un fort degré de synténie avec d'autres légumineuses comme nous l'avons exposé précédemment (Choi *et al.*, 2004 ; Kalo *et al.*, 2000 ; Yan *et al.*, 2003 ; Cannon *et al.*, 2003), cela aidera le transfert de ses informations de cartographie vers des espèces d'intérêt agronomique, dont la taille du génome est bien plus importante.

L'espèce *Medicago truncatula* est caractérisée par une forte variabilité morphologique et génétique intra- et inter-populations et par une importante homozygotie au niveau individuel, vue la diversification des biotopes qu'elle occupe (Bataillon et Ronfort, 2006). L'un des principaux génotypes de *Medicago truncatula* qui a été utilisé au début par les laboratoires est le **A17** issu du cultivar Jemalong (Denarie et Gamas, 2001), depuis, plusieurs autres génotypes font l'objet de recherche contribuant ainsi tous au développement de la base des données.

Une coordination internationale est mise en place, organisant et concentrant les efforts de recherche au niveau mondial concernant *M. truncatula* la plante modèle, similaire au réseau d'*Arabidopsis thaliana*. Visant le développement des connaissances physiologiques, moléculaires et génomiques de cette famille botanique.

Dans ce contexte, une méthode standard pour évaluer le développement phénotypique de *Medicago truncatula* a été établie pour rendre plus facile la comparaison des résultats issus de différentes expériences (la précision de l'étape de développement à laquelle le traitement ou l'analyse était réalisé) et pour aussi détecter les mutants (ex. par l'avortement de certains organes). Un système de nomenclature basé sur des codes numériques est mis en place pour décrire la croissance dès l'apparition des cotylédons jusqu'au début de la fructification et cela en décrivant la croissance végétative de l'axe principal, la croissance végétative le long des pousses axillaires, ainsi que l'apparition et le développement des organes reproducteurs.

### 1.3.2. *Medicago truncatula*, et outils de génomique

---

La coordination internationale des initiatives de génomique organisée autour de *Medicago truncatula*, dans le contexte du développement de la génomique végétale, a accéléré la création des outils de génétique et de génomique pour l'analyse des bases génétiques structurales et fonctionnelles (cartes génétiques ; carte physique du génome ; outils de génomique fonctionnelle ; ressources bioinformatiques ; banque d'EST, « Expressed Sequence tag, étiquette d'une séquence exprimée » on compte près de 250 000 de ces marqueurs moléculaires qui sont transmissibles aux genres étroitement liés) (Decroocq *et al.*, 2003 ; Young et Udvardi, 2009).

Plusieurs instituts collaborent, avec priorité le séquençage des régions d'euchromatine riche en gènes, soit 200 Mpb (40% du génome total de *Medicago truncatula*). L'investissement international consenti sur cette espèce modèle implique le partage des ressources et données, devenu accessible grâce au développement d'outils bioinformatiques. Qui ont pour vocation de faciliter l'accès aux informations des projets de

séquençage, de permettre la recherche et la comparaison des séquences génomiques intra et inter-espèces (Tab. I.1)

Tableau I.1 : La plupart des sites offrant des informations et liens utiles concernant *Medicago* et d'autres légumineuses (Young et Udvardi, 2009)

Sites web du génome de <i>Medicago</i> et autre Légumineuse	
Sites de séquençage de <i>Medicago</i>	
<i>Medicago</i> Genome Sequence Resources	<a href="http://www.medicago.org">http://www.medicago.org</a>
TIGR <i>Medicago</i> Database	<a href="http://www.tigr.org/tdb/e2k1/mta1/">http://www.tigr.org/tdb/e2k1/mta1/</a>
University of Oklahoma Sequencing Project	<a href="http://www.genome.ou.edu/medicago.html">http://www.genome.ou.edu/medicago.html</a>
European <i>Medicago</i> Genome Database	<a href="http://mips.gsf.de/proj/plant/jsf/medi/index.jsp">http://mips.gsf.de/proj/plant/jsf/medi/index.jsp</a>
Sites de génomique fonctionnelle de <i>Medicago</i>	
Noble Foundation <i>Medicago</i> Gene Expression Atlas	<a href="http://bioinfo.noble.org/gene-atlas/">http://bioinfo.noble.org/gene-atlas/</a>
Noble Foundation <i>Medicago</i> Mutant Database	<a href="http://bioinfo4.noble.org/mutant/">http://bioinfo4.noble.org/mutant/</a>
Noble Foundation <i>Medicago</i> Metabolic Pathways	<a href="http://medicccyc.noble.org/">http://medicccyc.noble.org/</a>
<i>Medicago</i> Handbook	<a href="http://www.noble.org/MedicagoHandbook/">http://www.noble.org/MedicagoHandbook/</a>
Sites de comparaison de la génomique des Légumineuses	
Legume Information System (LIS)	<a href="http://www.comparative-legumes.org/">http://www.comparative-legumes.org/</a>
INRA/CNRS Integrative Legume Resources	<a href="http://www.legoo.org/">http://www.legoo.org/</a>
Legume Genome Website Links at LIS	<a href="http://www.comparative-legumes.org/lis/lis_links.html">http://www.comparative-legumes.org/lis/lis_links.html</a>
Sites de génome d'autres Légumineuses	
<i>Lotus japonicus</i> Genome Browser	<a href="http://www.kazusa.or.jp/lotus/">http://www.kazusa.or.jp/lotus/</a>
<i>Lotus japonicus</i> Legume Base	<a href="http://www.shigen.nig.ac.jp/bean/lotusjaponicus/top/top.jsp">http://www.shigen.nig.ac.jp/bean/lotusjaponicus/top/top.jsp</a>
Phytozome <i>Glycine max</i> Genome	<a href="http://www.phytozome.net/soybean">http://www.phytozome.net/soybean</a>
Soybase and Soybean Breeders Toolbox	<a href="http://soybase.org/">http://soybase.org/</a>
Tree of Life: Fabaceae	<a href="http://www.tolweb.org/Fabaceae">http://www.tolweb.org/Fabaceae</a>
International Legume Database	<a href="http://www.ildis.org/">http://www.ildis.org/</a>

Parmi les outils de génomique fonctionnelle disponibles chez *Medicago truncatula*, des puces à ADN ont été développées pour réaliser des analyses transcriptomiques. Par ailleurs, pour valider l'implication d'un gène candidat dans le contrôle d'un caractère et connaître sa fonction, une approche de génétique inverse peut être développée, qui requiert l'analyse de mutants pour le gène considéré. Chez *Medicago truncatula*, plusieurs collections de mutants ont été développées dans la perspective de disposer d'au moins un mutant par gène, la plupart à partir du génotype de référence Jemalong A 17. Elles sont issues de différentes techniques : mutagenèse par irradiation gamma, mutagenèse chimique à l'EMS (Ethyl Methanesulfonate, Méthanesulfonate d'éthyle) qui génère des mutants « TILLING » (Targeting Induced Local Lesion in Genomes), ou mutagenèse insertionnelle (par insertion d'ADN-T ou le transposon Tnt-1 du tabac).

### I.3.3. Analyse du déterminisme génétique par cartographie de QTL

Les caractères d'intérêt agronomique sont majoritairement quantitatifs (ex. masse des semences, rendement en graines...). Leurs variations observées au sein d'une population en ségrégation, c'est-à-dire une descendance présentant un fort éclatement des valeurs du

caractère, sont continues et sont le résultat de l'expression de nombreux gènes et d'effets environnementaux. Ils se distinguent donc des caractères mendéliens qui varient de façon discrète ou discontinue (ex. absence ou présence d'un organe...) et dont l'expression est contrôlée par un ou deux gènes. La variation d'un caractère quantitatif résulte du contrôle de plusieurs loci, ou QTL (Quantitative Trait Loci).

Une des principales approches possibles pour analyser les bases génétiques d'un caractère quantitatif repose sur la détection de QTL par cartographie, c'est une méthode statistique qui relie deux types de données : des données phénotypiques (mesures du trait) et des données génotypiques (généralement des marqueurs moléculaires) dans une tentative d'expliquer les bases génétiques de la variation des caractères complexes (Falconer & Mackay, 1996; Kearsey, 1998; Lynch & Walsh, 1998).

Le développement des techniques de marquage moléculaire a permis la construction de cartes génétiques denses ou cartes de liaisons et ainsi la recherche de QTL en couvrant l'ensemble du génome. Afin d'identifier des locus marqueurs dont le génotype est corrélé au caractère, plusieurs conditions sont à réunir (de Vienne, 1998) :

- disposer d'une descendance en ségrégation et d'une carte génétique associée ; plusieurs types de population en ségrégation sont utilisées chez les végétaux comme les populations d'haploïdes doublés, de gamétophytes, les populations issues d'un croisement en retour ou les populations de lignées recombinantes (LR) ;
- phénotyper chaque individu de cette population ;
- mettre en œuvre des méthodes d'analyses basées sur tests biométriques permettant d'analyser conjointement les données de phénotypage et de génotypage.

Chez *Medicago truncatula*, plusieurs populations de LR sont disponibles. Les LR sont homozygotes et proviennent d'autofécondations successives d'individus F<sub>2</sub> (5 à 6 générations ou plus). A chaque génération, une graine de chaque individu dérivé de la F<sub>2</sub> est retenue et est à l'origine de la génération suivante (descendance monograine ou Single Seed Descent « SSD »). Les premières constructions de populations de LR ont été réalisées pour la résistance aux stress abiotiques (ex. température, salinité, stress hydrique).

## I.4. Cycle phénologique de l'espèce, système de nomenclature codée

La feuille, unifoliée (arrondie à pointe courte), émergeant à partir du méristème apical qui se situe entre les deux cotylédons (ovales, à sommet arrondi, plus ou moins pétiolés), porte la notation m1 (premier métamère), et sert de référence pour la détermination du développement phénotypique, c'est l'unique feuille unifoliée les restantes sont trifoliées (Fig. I.4.A).

La deuxième feuille (associée au métamère m2) se positionne à un angle égal à 180° de m1. La troisième feuille (associée au m3) se développe à 140° relativement à la feuille m2, m3 est adjacente à m1. La quatrième feuille (associée au métamère m4) se développe sur le même côté des cotylédons et environ à 165° de la feuille m3 (Fig. I.4.B), parallèlement au développement de m4 se développe le premier rameau axillaire associé au m1 (m1-1 : le rameau secondaire est identifié par le métamère qui le soutien « m1 » le deuxième code est affecté en fonction de l'ordre de son apparition « 1 ») (Fig. I.4.C).

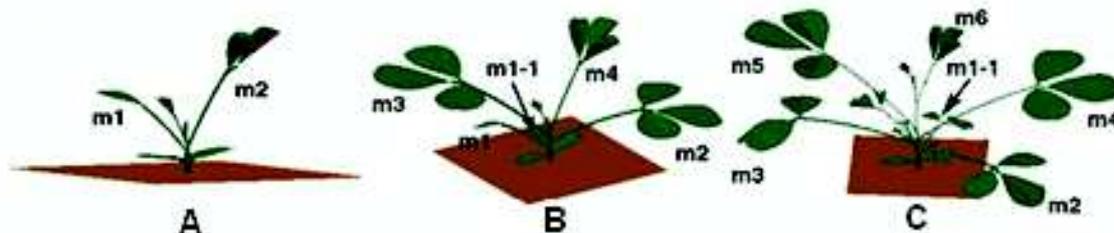


Figure 1.4 : Représentation schématique du développement de la partie aérienne de *Medicago truncatula* durant 28 jours après plantation (jap) ; A, 14 jap ; B, 21 jap ; C, 28 jap. (Hanan et al., 2006)

Une composante décimale du système de nomenclature a été également établie, définissant minutieusement, l'état de croissance de l'organe depuis son apparition jusqu'à sa complète maturité (Tab. 1.2)

Tableau 1.2 : Composants décimales du système de nomenclature du développement de feuille et organe reproducteur de *Medicago truncatula* (Hanan et al., 2006)

Code décimal	Etape de développement de la feuille	Code décimal	Etape de développement de l'organe reproducteur
0.1	Eclatement du bourgeon	0.1	Eclatement du bourgeon
0.2	Jeune pousse difficile de décerner, visible	0.2	Pétales visibles, verts
0.3	Jeune pousse perceptible, petite	0.3	Pétales visibles, jaunes (fermés)
0.4	Brin plié, pétiole visible	0.4	Pétales ouverts
0.5	Jeune pousse entrouverte	0.5	Pétales sénescents
0.6	Jeune pousse plus qu'entrouverte	0.6	Gousse visible
0.7	Jeune pousse presque entièrement ouverte	0.7	Gousse petite (1-5 mm de long)
0.8	Jeune feuille entièrement ouverte, verte	0.8	Gousse moyenne (>5mm de long), vertes
0.9	Jeune feuille entièrement ouverte, bleu-vert	0.9	Gousse de taille complète, marron

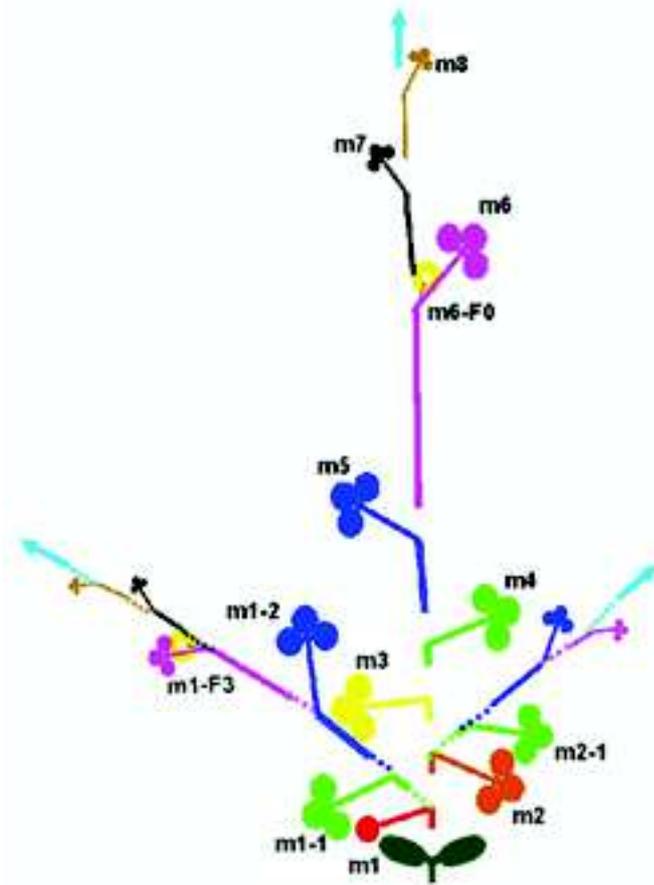


Figure I.5 : Les métamères sont colorés différemment le long de la pousse principale et des pousses axillaires ; la position d'apparition des fleurs est indiquée avec un « F » en tant qu'élément du système de codage. Les structures partageant la même couleur apparaissent simultanément (Hanan et al., 2006)

Pour en conclure un diagramme a été proposé illustrant le développement de *Medicago truncatula* associé au système de nomenclature (Fig. I.5). L'utilisation de ces outils permet une caractérisation précise du développement de la plante afin de repérer les principaux traits génotypiques.

# Chapitre II : Définition du stress, effet du stress sur les plantes et la réponse de celles-ci

## II. 1. Concept et définitions du stress

### II.1.1. Le stress du point de vue physique

---

Selon les lois de mouvement de Newton, une force est toujours accompagnée d'une contre force (Duff, 1937). Quand un corps fait objet d'un stress (force) alors il est sous tension et l'ampleur de celle-ci s'interprète par le changement de la dimension (ex. : longueur, volume), autrement dit déformation (*strain*) du corps sur lequel cette force est appliquée. Ainsi action et réaction, toutes deux font partie de la conception nommée stress.

Toutefois, il y a un point qui est spécifique à chaque corps, une tension peut être entièrement réversible. Elle est dite *élastique*. Au delà de ce point « le point de rupture », la tension ne peut être que partiellement réversible, et la partie non réversible est appelée la *tension constante* ou encore la *tension plastique* (Levitt, 1980).

### II.1.2. Le stress du point de vue biologique

---

Il est défini par n'importe quel agent environnemental capable d'induire de potentielles contraintes nuisibles aux organismes vivants. Puisque le stress biologique n'est pas une force. La tension biologique n'est pas nécessairement un changement de dimension. Les organismes vivants peuvent cependant montrer des changements physiques (ex. une cessation d'écoulement cytoplasmique) ou un changement chimique (une variation dans le métabolisme). Si n'importe quelle contrainte est suffisamment sévère (ce qui engage également, la durée d'exposition au stress) l'effet sur l'organisme vivant peut être permanent : dommage ou mort. Aussi comme pour les corps physiques, les organismes vivants présentent une particularité vis-à-vis d'un tel ou tel stress. Ainsi, ils auront leur propre norme d'élasticité, autrement dit leur propre résistance aux changements physiques ou chimiques. Ce qui est analogue en terme biologique à la résistance aux maladies (Levitt, 1980).

Une autre particularité des organismes vivants, est l'aptitude de s'adapter, ils sont donc une fois soumis à un stress, capable de changer graduellement de telle façon à diminuer ou à empêcher son effet. Cette adaptation peut être *stable*, ayant surgi par évolution sur un grand nombre de générations (niveau évolutif) ou *instable* (niveau individuel : une acclimatation) ; ce qui dépend du stade de développement de la plante et des facteurs environnementaux auxquels elle a été exposée. L'adaptation instable doit, naturellement, aussi ont surgi par l'évolution, mais l'héritabilité est assez faible pour permettre de grands changements pendant la croissance et le développement de l'organisme (Levitt, 1980) (Fig. II. 1).

La transposition au monde biologique proposée par Levitt (1980) est assez intéressante, car il a annoncé que parmi les stratégies possibles pour la plante stressée est d'éviter le stress, éviter le « *strain* », ou tolérer le « *strain* ». Étant donné qu'une plante ne peut pas changer un stress environnemental elle peut, cependant, empêcher ou diminuer la pénétration de celui-ci dans ses tissus. Ce type de résistance est appelée *évitement* (échappement). La plante avec l'évitement elle est capable d'exclure le stress soit partiellement ou complètement au moyen d'une barrière physique qui isole ses cellules vivantes, ou par un état d'exclusion stable du stress (barrière chimique ou métabolique). En évitant le stress, elle évite également la tension.

La plante peut résister même si elle permet au stress d'entrer dans ses tissus à condition qu'elle diminue ou élimine sa tension. Ce type de résistance est appelée *tolérance*.

La plante tolérante au stress est capable d'empêcher ou de diminuer la tension (c'est-à-dire d'éviter la contrainte : la réponse dans ce cas permettrait un évitement de la perte d'homéostasie) ; ou de réparer la contrainte nuisible induite par le stress. Pourvu que le dommage ne soit pas irréversible et que la plante possède le mécanisme de réparation capable de reverser le dommage (autrement dit, ils'agit d'une tolérance de la contrainte, et la réponse en pareil cas, permet de tolérer des tensions élastiques ou plastiques).

### II.1.3. Le stress du point de vue agronomique

Quand un organisme végétal subit un choc environnemental, il réagit en consommant des quantités importantes d'énergie. Cela se fait au détriment de ses processus physiologiques vitaux : croissance, photosynthèse, production de semences... Le stress peut engendrer des pertes de rendement agricole allant jusqu'à 80% dans certaines régions ; qu'il soit modéré sur une longue période de temps, ou extrême sur une période ponctuelle (Langevin et Lévesque, 2005).

On rappelle encore que la résistance signifie que la plante combat un stress, ou réprime la multiplication et la propagation d'un agent pathogène, alors que la tolérance signifie que la plante subit peu ou pas de perte même si un agent pathogène ou un stress se développe (Comeau et Haber, 2002 ; 2004). Or, les deux mécanismes impliquent une déviation des produits de la photosynthèse vers des fins spécifiques, ce qui représente donc un coût énergétique (Geiger et Servaites, 1991 ; Brown, 2002). Le compromis visé par un agronome est d'avoir une plante chez laquelle les coûts de résistance et de tolérance sont moindres que ceux des pertes évitées. Aussi de point de vue agronomique la tolérance au stress va se mesurer par l'impact de celui-ci sur le rendement (graines, parties végétatives, dépendamment des cultures) et/ou la qualité des produits (Fig. II. 1).

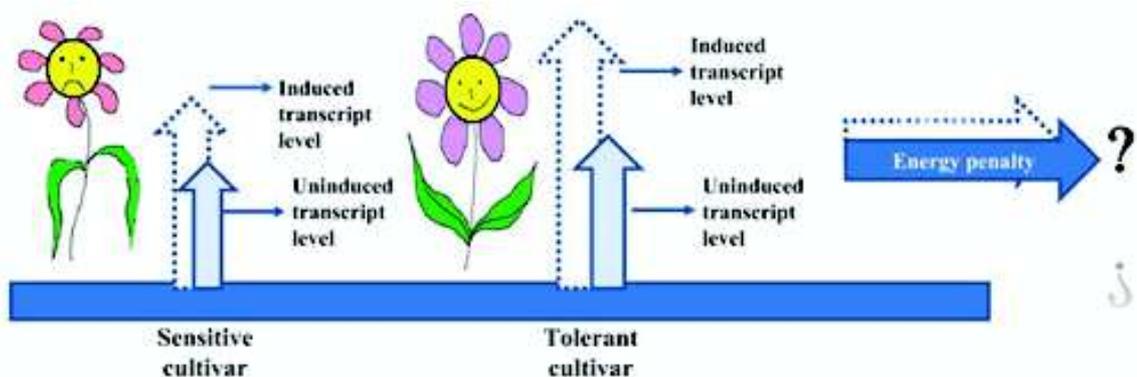


Figure II.1 : Préparation de cultivars tolérants par le maintien d'un niveau relativement haut de transcription des gènes liés au stress (Panjabi-Sabharwal et al., 2010).

## II. 2. Les différents types et effets de stress

### II.2.1. Différents stress

Puisque le stress est à la fois le stressueur, ou agent du stress, et le résultat de cette action, nous allons voir ci-dessous les différents stress auxquels un organisme vivant peut être soumis (Fig. II. 2) et par la suite les divers dommages qu'ils produisent.

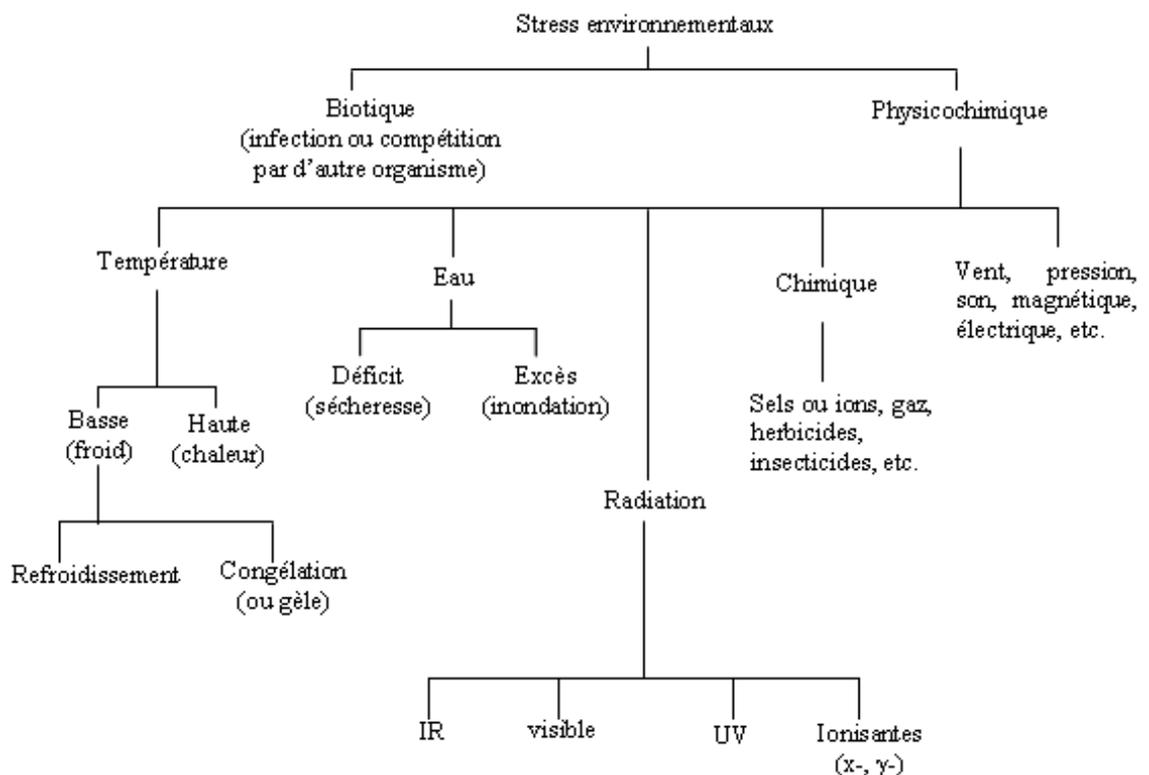


Figure II.2 : Les différents stress environnementaux auxquels un organisme vivant peut être soumis (Levitt, 1980).

### II.2.2. Les différents types de stress chez les plantes

Les types de **stress abiotiques** dont les plantes cultivées souffrent depuis leur semis jusqu'à leur récolte sont couramment :

- la température (incluant : la variation de celle-ci aux stades cruciaux, l'effet de gèle, et l'effet de sécheresse) ;
- les pluies non saisonnières ;

- le microclimat (les changements climatiques en général), l'humidité relative, les rayons solaires... ;
- les éléments nutritifs du sol (salinité des sols, lessivage des éléments de la rhizosphère...);

et d'autres propriétés physicochimiques du sol capables d'engendrer un stress à la plante (telle qu'une structure compacte, un sol asphyxiant, une structure particulière...);

Les **stress biotiques** se résument par :

- les dégâts dus aux maladies : virus, bactéries, champignons ;
- les dégâts dus aux nématodes, insectes ;
- la menace des plantes invasives (Nagarajan et Nagarajan, 2010) ;
- les dégâts dus aux rongeurs...

### II.2.3. Dégâts du stress

---

Il est essentiel de comprendre comment les stress produisent leur effet nuisible et comment certains organismes vivants réussissent à survivre aux stress qui nuisent à d'autres organismes.

Quand un stress agit sur une plante, il peut produire des dommages de différentes façons (Levitt, 1980) (Fig. II. 3) :

1. Il peut induire une tension directe au-delà de la limite élastique de la plante et donc une tension plastique directe qui engendre des dommages. Qu'on nomme dommages de stress direct et sont fréquemment reconnus par la vitesse de leur apparition. Dans un cas pareil, la plante peut être tuée par une très brève exposition au stress (secondes, minutes).
2. Le stress peut produire une tension élastique, et donc non nuisible. Si cette tension élastique (réversible) est maintenue pendant un temps assez long, elle peut donner lieu à une tension plastique (irréversible) indirecte qui endommagera ou conduira à la mort de la plante. Ce qui peut être appelé dommage de stress indirect. Il surgit après une exposition assez longue au stress (heures, jours).
3. Le stress peut endommager la plante non pas par la contrainte qu'il produit, mais en provoquant un stress secondaire ; par exemple une température élevée, peut ne pas être nuisible par elle-même, mais elle peut engendrer un déficit hydrique qui lui est nuisible à la plante. Le dégât dus à un stress secondaire nécessite un temps d'exposition relativement long au stress primaire.

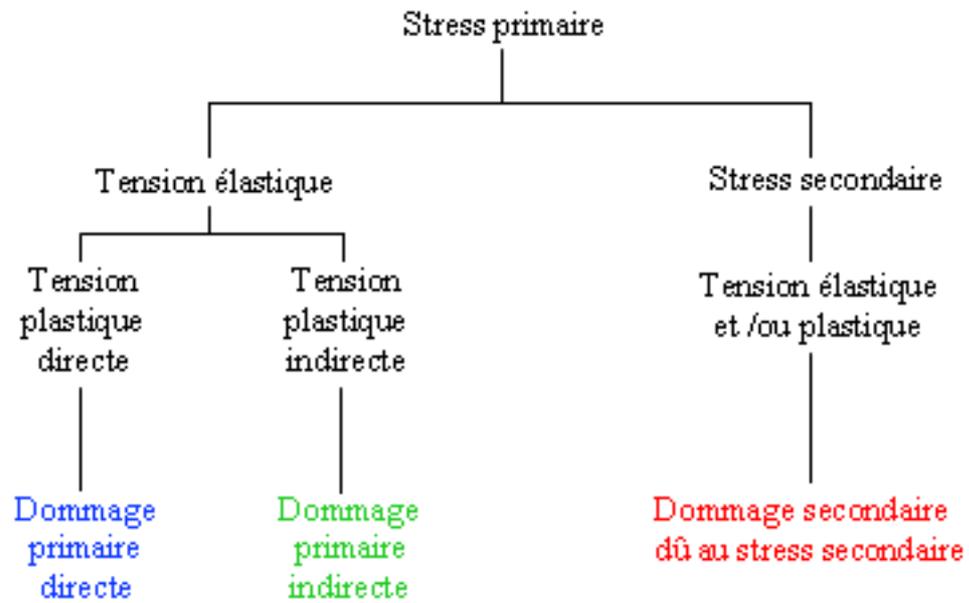


Figure II.3 : Les différents dommages de stress (Levitt, 1980).

## II.2.4. La plante face aux stress abiotiques

---

Cette confrontation va être discutée sur le plan physiologique, moléculaire et génomiques, pas dans ce même agencement, mais comme la situation l'impose.

Les stress abiotiques induis par, la salinité, la sécheresse, le froid ou autre, se traduisent au niveau cellulaire par un stress osmotique et oxydatif ; la plante face à ceci met en place des mécanismes de tolérance et/ou résistance qui implique parfois les mêmes voies de signalisations, conduisant toutes aux même stratégies de protection de la cellule, tel que le rétablissement de l'équilibre osmotique, la protection des membranes et des protéines et la détoxification du milieu (Fig. II. 4).

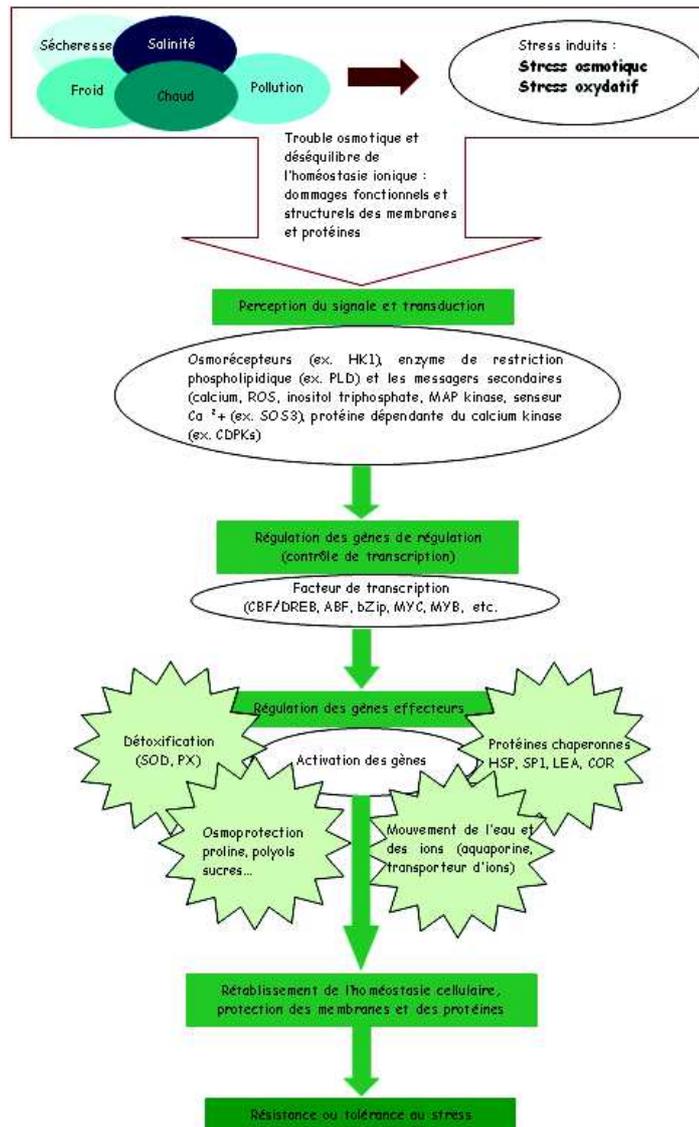


Figure II. 4 : Processus de la perception du signal à la mise en place des mécanismes de résistance et/ou tolérance par la régulation de l'expression des gènes impliqués dans la réponse de la plante à des stress abiotiques. Les gènes régulés peuvent intervenir dans la détoxification, l'osmoprotection, les fonctions chaperonnes et les flux d'eau et d'ions (Wang et al., 2003 modifié)

Chez la plante, la réponse au stress s'initie, quant elle perçoit le stress à l'échelle cellulaire. Le stress déclenche les voies de transduction c'est-à-dire l'expression des gènes régulateurs qui eux induisent l'expression des gènes effecteurs permettant le réajustement du métabolisme au niveau cellulaire (Fig. II. 4). Les récepteurs du stress, sont des molécules qui perçoivent en amont le signal, en conséquent, ils initient (ou suppriment) une cascade pour transmettre le signal intracellulaire, et dans de nombreux cas, activent aussi les facteurs de transcription nucléaire induisant l'expression de certain gènes (Fig. II. 5) (Panjabi-Sabharwal et al., 2010).

### II. 2.4.1. La perception et transduction du stress

Les premiers récepteurs concernés par la signalisation, sont des récepteurs membranaires, ils initient le signal, qui est ensuite transmis par l'intermédiaire d'autres messagers comme le calcium ou les espèces d'oxygènes réactives ou bien l'inositol triphosphate. Un important événement biochimique est impliqué dans toutes les voies de signalisation, il s'agit de la phosphorylation des protéines, c'est la plus importante modification covalente des protéines : elle conduit à un attachement réversible d'un groupement phosphate à un acide aminé (Stulemeijer et Joosten, 2008), un substrat est soit activé ou désactivé par l'addition d'un groupement phosphate ce qui permet la propagation ou la régulation du signal (Chae *et al.*, 2010).

Plus précisément le stress active la *PLC* (*phospholipase C*, enzyme liée à la membrane) qui hydrolyse le PIP2 (phosphatidyl inositol diphosphate) donnant lieu au DAG (diacylglycérol) et l'IP3 (inositol triphosphate),

L'IP3 favorise l'influx de  $\text{Ca}^{++}$  de puis l'apoplaste et l'espace extracellulaire vers le cytosol. Par conséquent, le niveau cytoplasmique du calcium augmente, ce changement est détecté par les senseurs calcium qui provoquent une cascade de phosphorylation avec d'autre récepteurs tels que les protéines kinase «Mitogen-Activated Protein Kinase» (MAPKs) et divers protéines phosphatases conduisant à l'activation des gènes impliqués dans la réponse au stress (régulateurs et effecteurs). Les MAPKs forment un groupe de transducteurs de signaux liés à la reconnaissance gène-pour-gène, elles transfèrent le groupement phosphoryl ( $\text{PO}_3$ ) de l'ATP vers le groupement hydroxyl du résidu acide aminé, conduisant à une liaison phosphoester ( $\text{R-O-PO}_3$ ) (Tena *et al.*, 2001 ; Zhang et Klessig, 2001 ; Stulemeijer et Joosten 2008). Elles interviennent normalement par une cascade de 3 kinases fonctionnellement liées, dans laquelle les MAPKs agissent en aval des MAPK kinases (MAPKKs) et des MAPKK Kinases (MAPKKKs). Les MAPKKs activent les MAPKs par phosphorylation de 2 résidus, thréonine et tyrosine.

Les gènes impliqués dans la réponse au stress, on les classe en deux groupes : les gènes à réponse précoce, s'expriment dans les minutes qui suivent la perception du stress souvent de manière transitoire ; les gènes à réponse tardive sont activés lentement, après des heures du stress, et présentent souvent un niveau d'expression soutenu, ces eux qui confèrent aux plantes l'aptitude de s'acclimater (Fig. II. 5) (Mahajan et Tuteja, 2005 ; Panjabi-Sabharwal *et al.*, 2010).

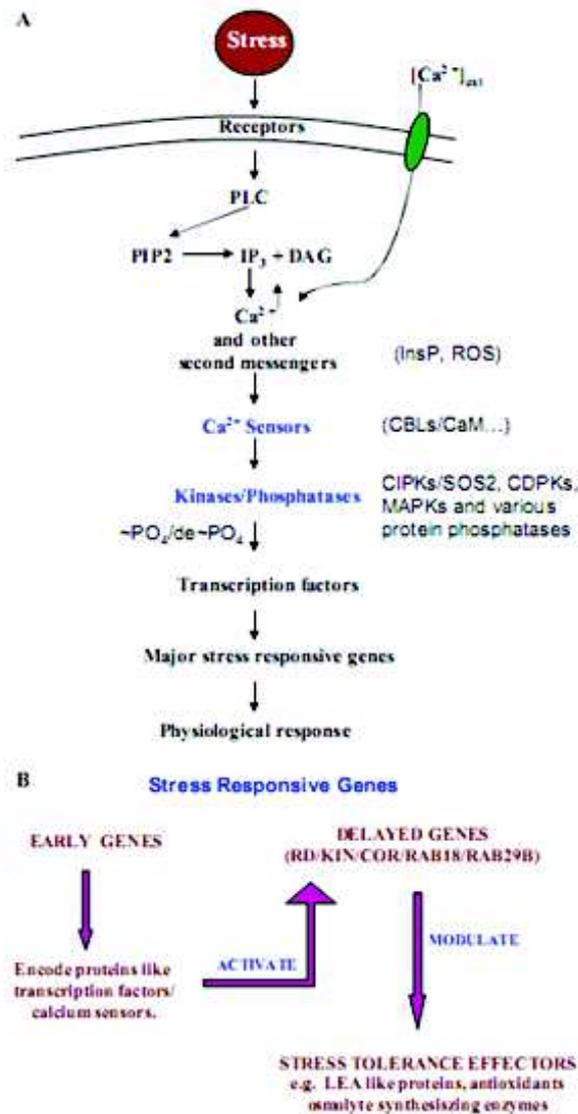


Figure II. 5 : Les voies génériques de transduction de signalisation de stress abiotique et l'expression précoce et tardive des gènes liés au stress (Mahajan et Tuteja, 2005).

### II. 2.4.2. La perception et transduction du stress salin

Le sel exerce son influence sur la cellule en perturbant l'équilibre ionique et osmotique. Ainsi l'excès en ion Na<sup>+</sup> et le changement de la pression de turgescence dus au changement de la pression osmotique, sont les initiales déclencheurs des voies de réponse au sel qui engage une cascade d'événement qu'on peut regrouper en :

- Voies de signalisation ionique ;
- Voies de signalisation osmotique. Ayant pour finalité la tolérance et / ou résistance au stress.

Les études suggèrent que le stress osmotique imposé par la sécheresse ou une grande quantité de sel est transmis au moins par deux voies de signalisation :

- Les voies ABA-dépendante,

· Les ABA-indépendantes impliquées dans le signalement de stress.

L'ABA (acide abscissique) est une importante phytohormone jouant un rôle significatif dans la signalisation de nombreux stress (Thomashow, 1999). En réalité l'ABA aide les graines à surpasser les conditions de stress, et de ne germer que dans des conditions qui favorisent la germination et la croissance. Il empêche aussi la germination précoce des embryons prématurés. L'acide abscissique limite les pertes d'eau intracellulaire par la fermeture des stomates. On le nomme aussi hormone de stress.

*La voie indépendante de l'ABA* conduit à l'activation d'une famille de gènes de facteurs de transcriptions appelés les DREB (Dehydration Responsive Element Binding factor). Chen (2008) a isolé DREB2A à partir de *Medicago truncatula* et affirme son induction particulièrement en réponse au stress salin et hydrique.

Les motifs cibles de la régulation de la transcription par l'ABA sont des éléments promoteurs de régulation en CIS ; nous citerons les ABRE (ABA responsive element), les motifs MYCRs et MYBRs. Les ABRE ont des séquences particulières—« ACGT containing G-box » (Leung et Giraudat, 1998), sur lesquelles se fixent les facteurs de transcription bZIP (Basic leucine zipper) qui sont des protéines constituées d'un domaine de fixation à l'ADN riche en acides aminés basiques suivi d'une « leucine zipper : site commun chez plusieurs protéines qui facilite leur liaison à l'ADN ».

Les facteurs de transcriptions, MYC et MYB, ont une structure à deux hélices séparées par une boucle pour les MYC et un coude pour les MYB. La structure des MYC comportent une région hélice-boucle-hélice basique à motif leucine zipper. Le site de reconnaissance est du type CACATG (Abe *et al.*, 1997). La séquence à l'origine de cette conformation pour les MYB est formée par la répétition imparfaite de trois motifs avec conservation de la position d'un tryptophane tous les 18-19 acides aminés. Il existe un site reconnaissance conservé dont la séquence est (T/C)AACTG (Urao *et al.*, 1993). L'expression de ces facteurs est liée à la déshydratation.

Tous les promoteurs de gènes liés au stress ont typiquement des cis-régulateurs éléments comme nous l'avons vu pour le ABR, l'ABRE (ABA-responsive element), les MYCRs/MYBRs (MYC recognition sequence / MYB recognition sequence), et les DRE (Dehydration Responsive Element) situés tous dans la région promotrice, et sont régulés en amont par les facteurs de transcriptions suscités ces derniers appartiennent à la catégorie de gènes précoces, car ils sont induits dans les minutes qui suivent le stress (Fig. II. 6).

Une recherche destinée à identifier les gènes impliqués dans la tolérance au sel a été entreprise en 1998 par Liu et Zhu (1998) et a abouti à la mise en évidence des gènes SOS (Salt Overly Sensitive). Brièvement, les voies SOS favorisent l'exclusion de l'excès de l'ion  $\text{Na}^+$  de la cellule grâce à l'antiport  $\text{Na}^+ / \text{H}^+$  et aide au rétablissement de l'homéostasie ionique de la cellule (Fig. II. 6) (Liu et Zhu, 1998 ; Zhu *et al.*, 1998 ; Zhu, 2002).

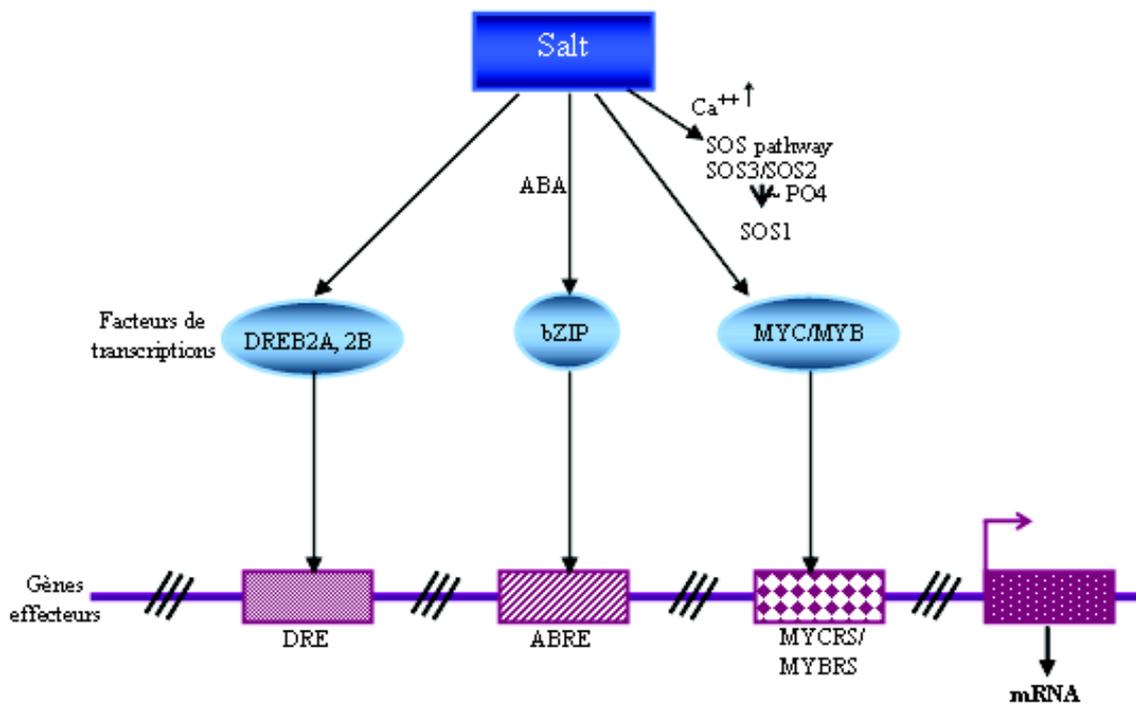


Figure II. 6 : Implication de divers facteurs de transcription dans l'induction des gènes liés au stress dans la réponse à la salinité (Mahajan et Tuteja, 2005 modifié)

## II. 5. Les effets du stress salin

### II. 5. 1. Le stress salin et le développement de la plante

La salinité du sol ou de l'eau due à la présence de quantité excessive de sel le plus souvent le NaCl induit un stress salin qui affecte les plantes de différentes façons en engendrant :

- Une sécheresse physiologique due à une pression osmotique trop élevée, il s'agit du stress osmotique (effet non spécifique) équivalent au stress hydrique ;
- Des concentrations ioniques élevées provoquent un stress ionique spécifique : on cite l'altération du rapport  $K^+ / Na^+$ , par le sodium qui a un fort effet inhibiteur de l'absorption de  $K^+$  par la cellule (Toshio, et Eduardo, 2005). Tandis que l'ion  $K^+$  est l'un des éléments essentiels, et est requis en grande quantité par la plante :  $K^+$  est nécessaire pour le maintien de l'équilibre osmotique, il joue un rôle dans l'ouverture et la fermeture des stomates,  $K^+$  est un cofacteur essentiel de nombreuses enzymes (Mahajan et Tuteja, 2005).

L'ion  $Na^+$  est toxique pour le métabolisme cellulaire et a un effet nocif vis-à-vis du fonctionnement de certaines enzymes (Niu, 1995), un taux élevé de  $Na^+$  conduit aussi à la réduction de la photosynthèse et la production d'espèce d'oxygène réactive (ROS) (Flowers *et al.*, 1977, Yeo, 1998), il engendre une perturbation de l'équilibre ionique (l'homéostasie

ionique) : l'afflux de  $\text{Na}^+$  dissipe le potentiel membranaire et facilite la pénétration de  $\text{Cl}^-$  (Mahajan et Tuteja, 2005).

- Et / ou un déséquilibre nutritionnel (Läuchli et Epstein, 1990). Des concentrations salines trop fortes dans le milieu provoquent une altération de la nutrition minérale des plantes (Levigneron *et al.*, 1995). Le sodium réduit l'absorption du potassium comme nous l'avons vu au début, et le chlorure réduit l'absorption des nitrates (Grattan et Grieve, 1999).

L'intensité par laquelle chaque mécanisme affecte le plus la plante dépend de plusieurs facteurs on en cite : l'espèce (Fig. II. 7), le génotype, l'âge de la plante, l'agressivité ionique, la composition de la solution saline (sels de calcium, sels de sodium...), et l'organe en question (Läuchli et Grattan, 2007).

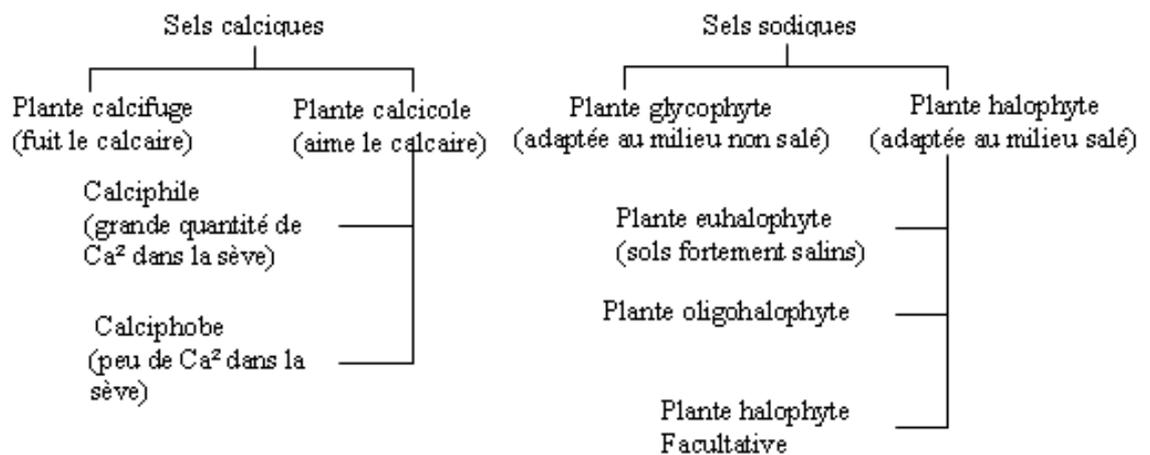


Figure II. 7 : Plantes et leurs dispositions vis-à-vis du calcium et sodium

Or le stress salin affecte tous les processus majeurs de la plante tel que la croissance, la photosynthèse, la synthèse protéique, le métabolisme énergétique, le métabolisme des lipides.

### II.5.1.1. Stress salin et la croissance

D'après Munns (2002), un moment après la salinisation qui confère au sol un caractère salé : les cellules de la plante se déshydratent et se rétrécissent, exemple des cellules racinaires de l'orge qui après 10 min de transfère dans 200mM de Na Cl leur protoplastes (en gris) s'étirent et s'éloignent de la paroi cellulaire, leur volume se réduit à peu près de 50 % conduisant au rétrécissement de la cellule (Fig. II. 8).

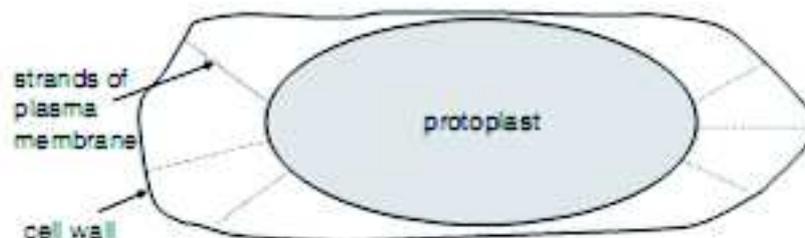


Figure II. 8: Plasmolyse des cellules racinaires (Munns, 2002).

Des heures après les cellules regagnent leur volume original, malgré ce rétablissement il y a une réduction de l'élongation cellulaire, moins prononcée, que celle de la division cellulaire, ce qui diminue le taux de croissance des feuilles et des racines.

Dans les jours qui suivent, la réduction de l'élongation et division cellulaire se traduit par un plus lent développement de feuilles qui sont de plus petites tailles. Les plantes subissant un stress salin sévère présentent des nuisances visibles en raison de l'assimilation excessive de sel. Quelques semaines après, le développement de la tige principale est clairement affecté. Plus tard, des mois, on constate une grande différence entre le témoin non stressé et la plante stressée (de point de vue croissance et dégâts).

La croissance est accomplie à travers la division cellulaire, l'élongation cellulaire et la différenciation, elle implique des événements génétiques, physiologiques, écologiques et morphologiques et leur interaction complexe. La quantité et la qualité de la croissance des plantes résultent de ces événements qui sont altérés par le stress physiologique (Fig. II. 9). La croissance de cellules est le processus physiologique le plus sensible à la sécheresse à cause de la diminution de la pression de turgescence (Taiz et Zeiger, 2006). Aussi la sécheresse engendre un déséquilibre de la photoassimilation, ainsi l'approvisionnement en métabolites indispensables à la division cellulaire.

La détérioration de la mitose, l'élongation et l'expansion cellulaire sous l'effet de la sécheresse aboutit à la réduction de la hauteur de la plante et la surface foliaire, par conséquent le rendement (Nonami, 1998 ; Kaya *et al.*, 2006 ; Hussain *et al.*, 2008).

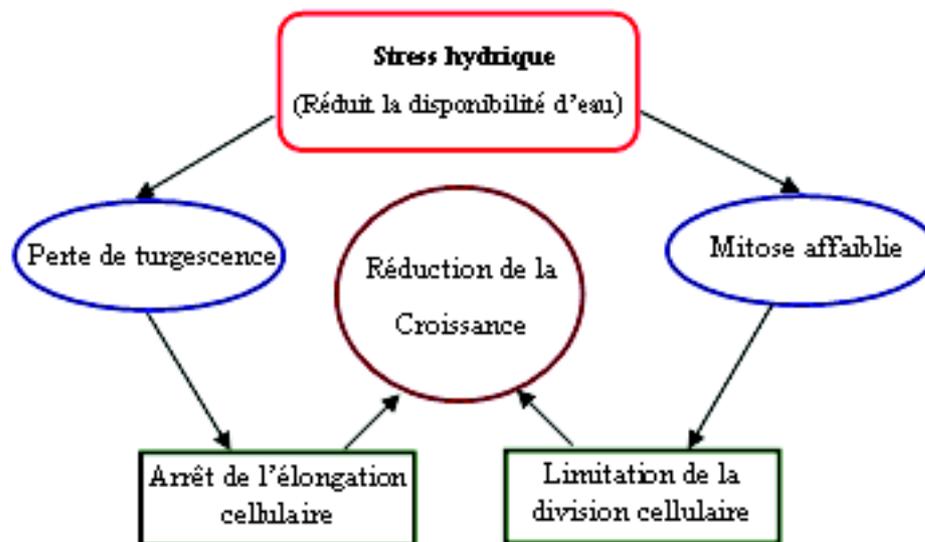


Figure II. 9 : Description des mécanismes possibles entraînant une diminution de la croissance de la plante soumise à une sécheresse (Farooq *et al.*, 2009)

Pour la compréhension temporelle de l'effet de la salinité sur la croissance, Munns (2005) a développé le concept de la réponse à la salinité en deux phases de croissance (Fig. II. 10), la première phase de réduction de la croissance se produit rapidement (en l'espace de quelques minutes) suivant l'exposition au sel. Elle est due au changement de la pression osmotique autour des racines provoquant un changement dans la relation eau – cellule (effet osmotique).

L'effet osmotique initialement réduit la capacité de la plante à absorber l'eau. Cet effet est similaire au stress hydrique. Plusieurs minutes après l'initiale diminution de croissance des feuilles, se produit un rétablissement graduel du taux de croissance jusqu'à ce qu'un

nouvel état stable soit atteint cela est fonction de la concentration du sel dans la rhizosphère (Munns, 2002).

Le second effet beaucoup plus lent, prend plusieurs jours à quelques semaines et/ou mois survenu suite à l'accumulation du sel dans les feuilles, menant à une toxicité de la plante par le sel. Cette toxicité peut avoir comme conséquence la réduction de tout le secteur photosynthétique de la feuille. Il en résulte, une diminution de l'approvisionnement en composés organiques à la plante, bouleversant l'équilibre global de carbone nécessaire pour soutenir sa croissance (Munns, 2002).

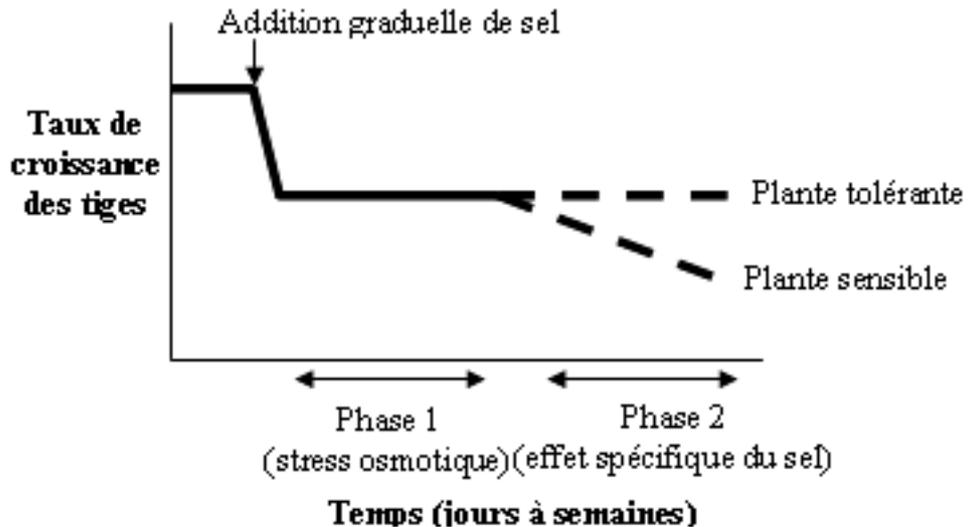


Figure II. 10 : Schéma illustratif de la réponse biphasée de la croissance vis-à-vis de la salinité dans le cas de génotypes qui diffèrent dans le taux auquel le sel atteint les niveaux toxiques dans les feuilles (Munns, 2005)

La toxicité du sel se produit principalement dans les feuilles les plus âgées où le  $\text{Na}^+$  et le  $\text{Cl}^-$  s'accumulent conduisant avec le temps à la sénescence prématurée des feuilles. Cette finalité est due à l'entassement élevé du sel dans la feuille dépassant la capacité de sa compartimentation dans les vacuoles et dont l'excès séjourne dans le cytoplasme et les parois cellulaires à des niveaux toxiques (Munns et Termaat, 1986 ; Munns 2002 ; 2005 ; Munns *et al.*, 2006). La proportion avec laquelle la photosynthèse est altérée, et les feuilles meurent, détermine la survie des plantes. Quand le taux de développement de nouvelles feuilles est plus important que celui de la mort des feuilles âgées, il y a alors suffisamment de feuilles photosynthétiques pour que la plante puisse fleurir et produire des graines quoique en nombre plus réduit. Tandis que si les feuilles âgées périssent plus vite que les nouvelles feuilles se développent, la plante peut ne pas survivre assez longtemps pour fournir suffisamment de produits photosynthétiques aux organes reproducteurs pour qu'ils produisent des graines viables.

En s'appuyant sur le concept biphasé (Fig. II. 10), il y a alors une réduction initiale de la croissance dans le cas des plantes sensibles ainsi que les plantes tolérantes sous l'effet osmotique du sel dans le milieu entourant les racines. Le contraire est prouvé pour la seconde phase où les génotypes sensibles au sel sont incapables de contourner l'accumulation de sel dans les feuilles à un niveau toxique, comme le sont les plantes tolérantes (Munns *et al.*, 2006).

### **II.5.1.2. La sensibilité au sel et les différents stades de développement de la plante**

Il a été reconnu depuis longtemps que la sensibilité des végétaux à la salinité varie d'un stade de développement à l'autre (Bernstein et Hayward, 1958).

Une multitude de recherches indique bien sûr avec des exceptions que la plupart des plantes annuelles sont tolérantes pendant la germination, sensibles durant l'émergence et au début du développement végétatif (Läuchli et Epstein, 1990 ; Maas et Grattan, 1999). En temps que plantes matures, elles deviennent progressivement plus tolérantes à la salinité (Läuchli et Grattan, 2007). Encore, comme nous l'avons suscité tout dépend des conditions de l'environnement, et du stade de développement, et de l'espèce. D'ailleurs, dans le cas de *Medicago sativa* le stress hydrique réduit le potentiel de germination, la longueur d'hypocotyle, le poids frais et sec de la partie aérienne et des racines tandis que la longueur des racines augmente (Zeid et Shedeed, 2006). Aussi la réponse des légumineuses au sel varie énormément. Zahran (1991) a reporté la variabilité de tolérance au sel des espèces cultivées qui vont de sensibles (haricot, pois chiche et pois) à modérément tolérante à la salinité (soja)

## **II.5.2. L'effet de la salinité sur les feuilles**

---

La salinité affecte le limbe foliaire aux niveaux de ses différents tissus : l'épiderme, le mésophylle (parenchyme palissadique et parenchyme lacuneux) en augmentant leurs épaisseur, longueur et diamètre respectivement c'est le cas de l'haricot, coton et atriplex (Longstreth et Nobel, 1979), ou au contraire, en réduisant significativement l'épaisseur de l'épiderme, tel que le mésophylle du palétuvier (Parida *et al.*, 2004). la salinité réduit aussi l'espace intracellulaire dans les feuilles (Delphine *et al.*, 1998). Chez la tomate la salinité entraîne une diminution de la surface foliaire et la densité de stomates (Romeroaranda *et al.*, 2001).

### **II.5.2.1. L'effet de la salinité sur la photosynthèse, pigments et protéines**

La réduction d'expansion foliaire, la sénescence prématurée, détérioration de la machinerie photosynthétique, associées à la réduction de production d'aliments, tous contribuent à l'altération de la photosynthèse (Wahid et Rasul, 2005).

Le potentiel hydrique et le potentiel osmotique deviennent plus négatifs conjointement à l'augmentation de la salinité. Le déclin du potentiel hydrique foliaire et le potentiel osmotique dépendent du potentiel dans la rhizosphère et du mode d'imposition du stress (Rajasekaran *et al.*, 2001). La première réponse pratiquement pour toutes les plantes face à un déficit hydrique intense est la fermeture de leurs stomates pour empêcher la perte d'eau par transpiration (Mansfield et Atkinson, 1990). A cet effet l'apport de CO<sub>2</sub> nécessaire à la photosynthèse diminue dans les feuilles, ce qui engage plus d'électrons vers la formation de Reactive Oxygen Species (ROS) (Fig. II. 11), une quantité excessive de ROS favorise la peroxydation des lipides membranaires et la fuite des électrolytes (Guens *et al.*, 2007). Les ROS provoquent des

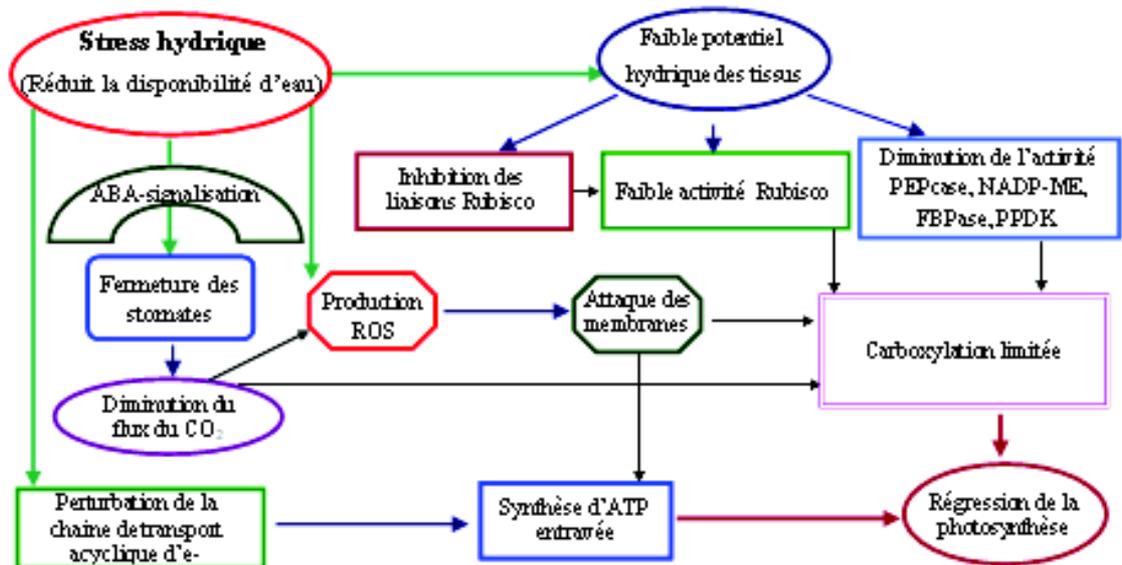


Figure II. 11 : Les différents mécanismes engendrés par le stress qui réduisent la photosynthèse (Farooq *et al.*, 2008)

dommages au niveau des chloroplastes, inhibent les réactions photochimiques ralentissant ainsi la photosynthèse (Steduto *et al.*, 2000). Avec la diminution du taux de transpiration, la quantité de la chaleur qui doit être dissipée augmente, et altère également le processus photosynthétique (Yokota *et al.*, 2002).

Plusieurs expériences ont montré que la fermeture des stomates est liée à l'humidité du sol plutôt qu'au statut hydrique des feuilles ce qui suggère que les stomates répondent à une signalisation chimique élaborée par les racines déshydratées telle que l'acide abscissique, tandis que le statut hydrique des feuilles est tenu consentant (Morgan, 1990 ; Taylor, 1991 ; Turner *et al.*, 2001).

Sous l'effet du stress salin, la chlorophylle et les caroténoïdes totaux contenus dans la feuille diminuent. Les vieilles feuilles commencent à présenter des chloroses en fonction du prolongement du stress salin (Hernandez *et al.*, 1995, 1999 ; Gadallah, 1999 ; Agastian *et al.*, 2000). En réponse à la salinité les protéines solubles contenues dans les feuilles diminuent (Parida *et al.*, 2002). La déshydratation de la cellule et son rétrécissement, et donc la diminution de son volume, rendent le contenu cellulaire plus visqueux. L'augmentation de concentration en solutés contribue aussi à l'augmentation de la viscosité cytoplasmique qui peut être toxique, et peut détériorer les enzymes y compris ceux impliqués dans la machinerie photosynthétique (Hoekstra *et al.*, 2001) : *phosphoénolpyruvate carboxylase* (PEPCase), l'enzyme *nicotine adénine dinucléotide phosphate malique* (NADP-ME), *fructose-1, 6-bisphosphatase* (FBPase), *pyruvate orthophosphate dikinase* (PPDK) et la *ribulose biphosphate carboxylase / oxygénase* (RubisCO) ; le stress perturbe l'équilibre entre la production d'espèce d'oxygène réactive (ROS) et le système de défense détoxifiant, causant ainsi leur accumulation, et induisant un stress oxydatif (Fig. II. 11).

### II. 5. 3. Le stress oxydatif, stress secondaire induit par le stress salin

La production de ROS (Reactive Oxygen Species) est une finalité commune à un grand nombre de stress abiotiques. Un radical libre est une entité chimique possédant un ou plusieurs électrons non appariés sur sa couche externe. Ces molécules, la plupart du

temps, ont une grande instabilité. Les ROS peuvent réagir avec les protéines, les lipides, et les acides désoxyribonucléiques, provoquant des dommages oxydatifs et affaiblissant le fonctionnement normal de la cellule (Foyer et Fletcher, 2001). Les ROS consistent en l'anion superoxyde  $\text{O}_2^-$ , le peroxyde d'hydrogène  $\text{H}_2\text{O}_2$ , le radical hydroxyle  $\text{HO}\cdot$ , l'oxygène singulet  $^1\text{O}_2$ , et l'ozone  $\text{O}_3$ ... Chacun des ROS peut être converti en un autre type de ROS (Fig. II. 12) (Apel et Hirt, 2004).

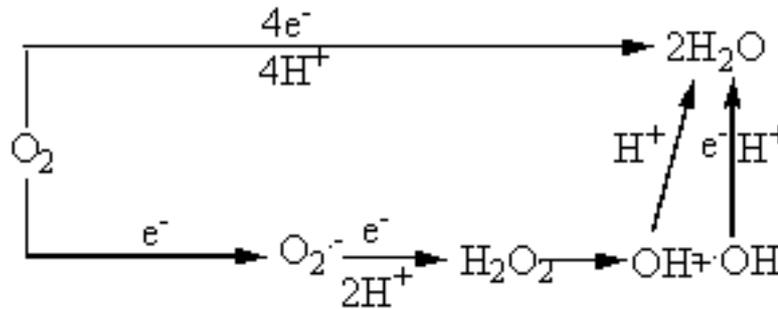


Figure II. 12 : Les différentes voies de réduction de l'oxygène dans le système biologique. La partie supérieure du schéma présente la réduction d'une molécule d'oxygène par 4 électrons dans la chaîne de transport d'électrons et sa combinaison avec les protons. La partie inférieure, démontre la formation de produit intermédiaire (d'espèce d'oxygène réactive) par l'addition consécutive d'un électron à une molécule d'oxygène. Dans les deux cas l'état le plus réduit de l'oxygène est la molécule d'eau (Lushchak, 2010).

## II. 6. Les mécanismes de résistance

### II. 6.1. La défense antioxydante

Les plantes rencontrent constamment des variations environnementales conduisant à des variations dans la disponibilité de nutriments et d'eau, ne pouvant changer ces conditions, ces organismes autotrophes endurent la formation de ROS par la chaîne de transport d'électrons, toutefois les plantes sont supposées bien contrôler l'extrême situation d'oxydation grâce à leur système immunitaire : dans ce cas il s'agit du système enzymatique antioxydant et les antioxydants de masse moléculaire plus faible non enzymatique tel que le tocophérol qui est liposoluble il s'associe à la membrane, et neutralise les ROS à ce niveau (Zhu, 2001), ainsi que l'acide ascorbique et le glutathion qui sont des réducteurs hydrosolubles présents dans les tissus végétaux à des concentrations de l'ordre du millimolaire. La deuxième classe du système antioxydant comporte un ensemble d'enzymes antioxydantes dont principalement, le *superoxyde dismutase* (SOD), la *catalase* (CAT), et l'*ascorbate peroxydase* (APX) qui agissent en complémentarité (Matamoros *et al.*, 2003). La SOD est la première à intervenir pour dégrader l'ion superoxyde en oxygène moléculaire et peroxyde d'hydrogène qui sera ensuite éliminé par les autres enzymes mentionnées. Une complémentarité existe aussi, entre les systèmes enzymatiques et non enzymatiques : les enzymes réductrices de l'acide ascorbique telle que l'*ascorbate réductase*, sont impliquées dans le maintien d'une activité antioxydante élevée, de même pour la *glutathion réductase* (GR), qui réduit le glutathion oxydé (Monk *et al.*, 1989).

C'est dans les conditions de stress que cette balance est déséquilibrée et penche vers la formation de ROS et donc l'initiation d'un stress oxydatif. Cependant, on rappelle que les ROS sont aussi des molécules de signalisation ; plusieurs hormones végétales les utilisent comme un intermédiaire dans le signal de transduction tel que l'acide jasmonique, le mécanisme n'est pas encore complètement élucidé (Lushchak, 2010). Les ROS sont produits au niveau de différents compartiments cellulaires, dans la figure II. 13 on découvre les sites ainsi que les enzymes antioxydantes impliquées dans la détoxification.

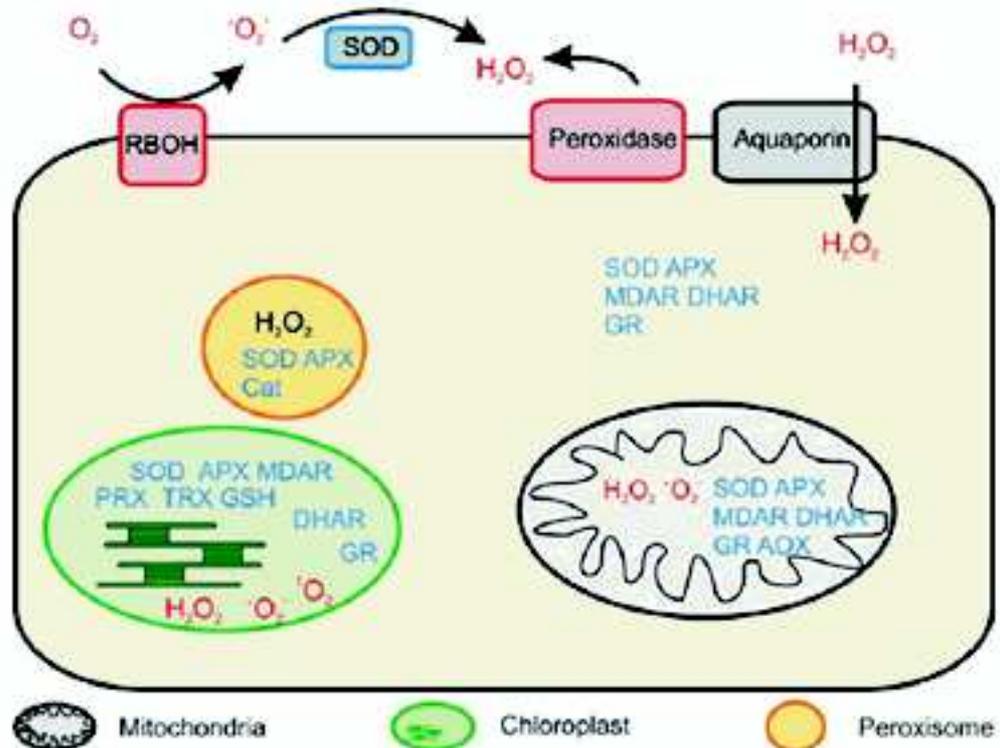


Figure II. 13 : Site de production d'espèce d'oxygène réactive ROS et le système enzymatique antioxydant (indiqué en bleu). Abréviations, SOD, superoxyde dismutase ; APX, ascorbate peroxydase ; MDAR, monodéhydroascorbate réductase ; DHAR, déhydroascorbate réductase ; GR, glutathione réductase ; CAT, catalase ; AOX, alternative oxydase ; PRX, peroxiredoxin ; TRX, thioredoxin. RBOH : respiratory burst oxidase homolo. (Brosché et al., 2010)

## II. 6.2. Régulation et compartimentation des ions

L'absorption et la compartimentation des ions sont cruciaux non seulement pour la croissance en condition normale et d'autant plus pour la croissance sous contrainte saline (Adams et al., 1992). Puisque le stress salin perturbe l'homéostasie ionique, les plantes qu'elles soient glycophytes ou halophytes, ne peuvent pas tolérer une grande quantité de sel dans leurs cytoplasmes. Les halophytes limitent l'excès de sel dans la vacuole, ou compartimentent les ions dans différents tissus pour faciliter le déroulement de leur métabolisme (Reddy et al., 1992; Iyengar et Reddy, 1996; Zhu, 2003). Les glycophytes limitent l'absorption des ions, ou cloisonnent le sodium dans les tissus les plus âgés qui vont éventuellement être sacrifiés (Cheeseman, 1988). D'autres mécanismes de régulation de sel sont la sécrétion et l'accumulation sélective des ions ou exclusion. La sécrétion de sel se

réalise via des structures spécifiques, les glandes à sels (en particulier le Na Cl) localisées au niveau des feuilles (Hogarth, 1999).

Le Na<sup>+</sup> et d'autres ions absorbés par les racines sont transportés dans la partie aérienne par le courant de transpiration où ils s'accumulent avec le temps. La concentration saline la plus élevée se localise dans l'apoplaste, et éventuellement la concentration augmente tandis que l'eau s'évapore (Munns et Tester, 2008). Parmi les ions, Na<sup>+</sup> semble atteindre la concentration toxique avant les autres (Tester et Davenport, 2003).

Le contrôle des concentrations en Na<sup>+</sup> et K<sup>+</sup> est indispensable au fonctionnement de la cellule.

Des protéines spécialisées vont assurer le transport membranaire de ces ions. Il a été montré que l'expression des gènes codant pour ces canaux membranaires est régulée lors des stress.

Shi *et al.* (2000) ont montré que le gène SOS1, codant pour un antiport membranaire Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> d'*Arabidopsis*, était essentiel à la tolérance aux fortes salinités. L'expression de SOS1 chez des plants transgéniques permet une meilleure croissance du système racinaire en condition de stress salin (Shi *et al.*, 2003).

### II. 6.2.1. Le transport de Na<sup>+</sup> dans la plante

Le Na<sup>+</sup> présent dans la rhizosphère est absorbé par la plante, celle-ci tend à le réexpédier vers l'interface extra-racinaire ; divers transporteurs membranaires et canaux participent dans le transport de Na<sup>+</sup> dans la plante, tel que les protéines SOS (Salt Overly Sensitive), les protéines HKT (High affinity K<sup>+</sup> Transporter) et les canaux NSC ou NSCC (nonselective cation channels). Dans le cas des protéines SOS : SOS1 code pour le transporteur membranaire antiport Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>, et joue un rôle essentiel dans l'exclusion du sodium et dans le contrôle à distance de l'afflux de Na<sup>+</sup> depuis le système racinaire vers la partie aérienne (Shi *et al.*, 2000, 2003). Les protéines HKT sont une famille d'uniports sodium sélectif, ou des symports sodium – potassium même s'ils portent le nom de transporteur à haute affinité K<sup>+</sup>. Dans la figure II. 14, nous pouvons suivre la circulation de Na<sup>+</sup> dans la plante. Les canaux NSC et probablement d'autres transporteurs de cations favorisent l'afflux du sodium dans les cellules racinaires, le SOS1 antiport Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> réexporte le sodium vers la rhizosphère. Ce qui diminue l'absorption net de Na<sup>+</sup>. Au niveau des cellules adjacentes parenchyme xylème, SOS1 véhicule les ions Na<sup>+</sup> dans la sève du xylème tandis que HKT assure la réexpédition de Na<sup>+</sup> des vaisseaux du xylème pour éviter son accumulation dans les tissus photosynthétiques. Ce transport opposé du flux Na<sup>+</sup> impliquant les systèmes SOS1 et HKT1- like doit être bien coordonné en vue d'assurer une partition adéquate de Na<sup>+</sup> entre les différents organes. Les ions Na<sup>+</sup> circulant encore dans le xylème peuvent être transportés dans le phloème via la diffusion sympathique (Sunarpi *et al.*, 2005), ou facilité par des protéines HKT1- like supplémentaire (Berthomieu *et al.*, 2003).

L'excès de  $\text{Na}^+$  non évacué au niveau de la cellule foliaire est stocké dans la grande vacuole centrale par l'intermédiaire du transporteur antiport  $\text{NHX}$  ( $\text{Na}^+ / \text{H}^+$ ) au niveau du tonoplaste.

La sensibilité des enzymes cytosoliques au sel est similaire chez les glycophytes que chez les halophytes indiquant que le maintien d'une concentration élevée du taux  $\text{K}^+ / \text{Na}^+$  cytosolique est une exigence clé à la croissance des plantes dans les sols à forte concentration de sel (Glenn *et al.*, 1999).

Les stratégies que les plantes peuvent utiliser pour maintenir un haut rapport  $\text{K}^+ / \text{Na}^+$  dans le cytosol sont l'exclusion de l'ion  $\text{Na}^+$  de la cellule, c'est ce que nous venant de voir ou la compartimentation vacuolaire de l'ion  $\text{Na}^+$ .

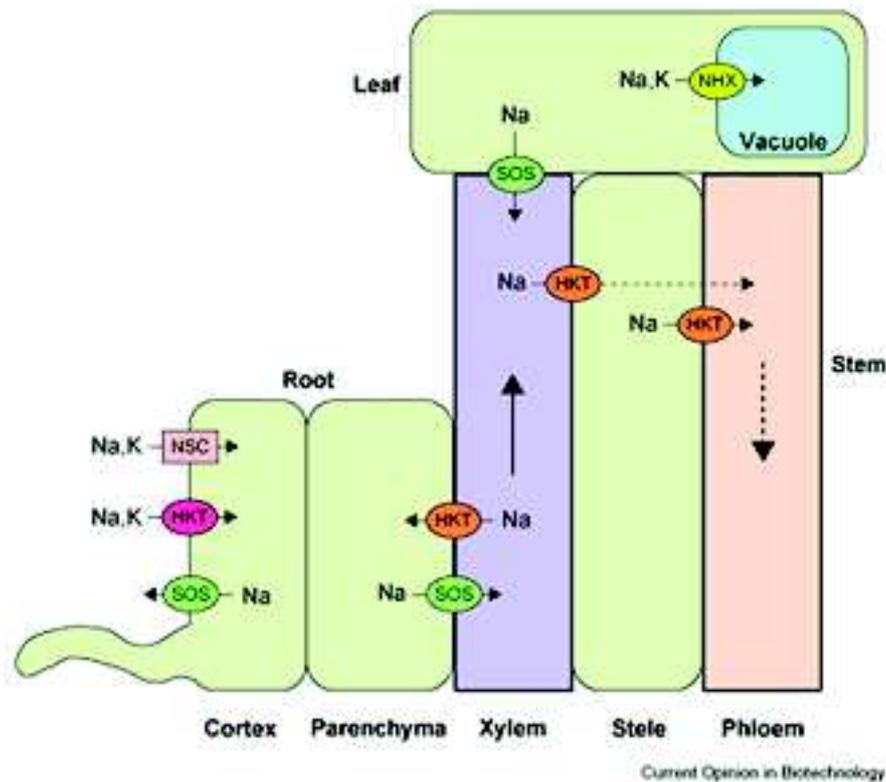


Figure II. 14: Modèle schématiques de l'exclusion de  $\text{Na}^+$  dans une plante soumise au stress salin par les protéines *SOS1* et *HKT*.

Les flèches épaisses dans le xylème et phloème indiquent le flux de  $\text{Na}^+$  dans la sève. Les flèches en pointillés symbolisent la réduction basipète du flux  $\text{Na}^+$  via le phloème. La sous famille 2 des protéines *HKT* représentée en rouge favorise l'entrée de  $\text{Na}^+$  dans le système racinaire lorsque la concentration extra-racinaire en  $\text{Na}^+$  et  $\text{K}^+$  s'affaiblie. Toutefois ils n'ont pas un rôle significatif dans la tolérance des plantes au sel (Horie *et al.*, 2009 ; Pardo, 2010).

## II. 6.2.2. La compartimentation du sodium

Dans des conditions physiologiques typiques la plante maintient un haut niveau cytosolique du rapport  $K^+ / Na^+$  conférant à la membrane plasmique son potentiel (-140 mV) (Higinbotham, 1973). Une augmentation de la concentration extracellulaire de  $Na^+$  créerait un gradient électrochimique favorisant le transport passif de  $Na^+$  à l'intérieur des cellules via différents canaux tel que : AKT1 faisant partie des KIRC (rectification entrante canaux potassium), les NORC (non sélectifs rectification sortante canaux) et les NSCC (non sélectif cation canaux) ; ou carrément transporté par HKT1 (Fig. II. 15).

L'agencement du taux cytosolique de  $Na^+$  de la cellule végétale est alimentée par la pompe à proton  $H^+$ -ATPase qui génère un gradient électrochimique ( $H^+$ ) permettant aux antiports  $Na^+/H^+$  de la membrane plasmique de coupler le mouvement passif des protons dû au potentiel électrochimique à la réexcrétion active de  $Na^+$  de la cellule (Blumwold et Aharon, 2000).

Le transport électrogène  $H^+$  assuré par :  $H^+$ -ATPase au niveau de la membrane plasmique et au niveau de la membrane vacuolaire et par  $H^+$ -PPiase au niveau de la membrane vacuolaire, génère un gradient de pH et un potentiel électrique différent entre le cytosol et la vacuole qui soutient la compartimentation de  $Na^+$  dans la vacuole, la compartimentation du sodium est un mécanisme efficace empêchant l'effet toxique de  $Na^+$  dans le cytosol (Fig. II. 15).

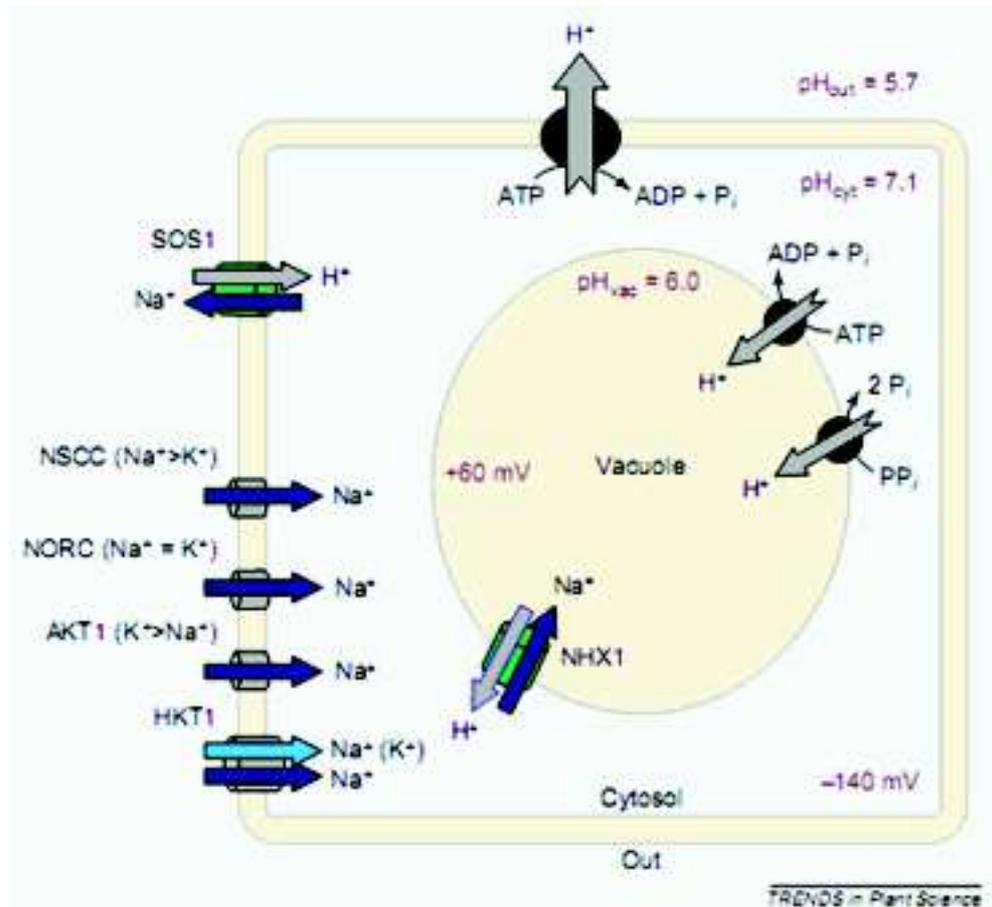


Figure II. 15 : Représentation schématique du transport de  $\text{Na}^+$  dans la cellule végétale (Yamaguchi et Blumwald, 2005).

### II. 6.3. Les osmoprotecteurs

Pour résister au stress osmotique, les plantes ont développé des mécanismes de synthèse et d'accumulation de « solutés compatibles » ou « osmoprotecteurs » qui aident à élever la pression osmotique et à maintenir en même temps la pression de turgescence et un gradient de concentration favorisant l'absorption d'eau. De plus ces composés contribuent au maintien de l'intégrité structurale des enzymes, hormones, membranes et autres composants cellulaires pendant la durée du stress.

Les osmolytes sont des composés organiques de faibles poids moléculaire, ils doivent leur nomination de « compatible » à leur compatibilité aux différents métabolismes intracellulaires, même présents en concentration élevée dans la cellule car ils sont hydrophiles non chargés et à pH neutre (Fig. II. 16). Dans la cellule, les osmolytes se localisent principalement dans le cytosol, chloroplaste et d'autres compartiments cytoplasmiques (ce qui constitue 20 % au moins du volume total de la cellule mature, les 80% restants sont représentés par la grande vacuole centrale). Ce sont ces concentrations qui jouent un rôle crucial dans le soutien de la turgescence et l'absorption d'eau dans les conditions de stress.

Les osmolytes comprennent : les sucres simples (principalement fructose et glucose), les sucres-alcools appelés « itol » ou « polyols » (ex. sorbitol), et les sucres complexes (ex. tréhalose), Les dérivés des acides aminés quaternaires (ex.  $\beta$ -Alanine bêtaïne, glycine bêtaïne, proline) et les composés sulfonium (ex. Choline-*o*-Sulphate) (Fig. II. 17). On peut cependant regrouper les osmolytes en trois types : les bêtaïnes ( $\beta$ -Alanine bêtaïne, glycine bêtaïne...), certains acides aminés (proline...), les polyols (*myo*-inositol, pinitol et autres inositols méthylés), et les sucres non réducteurs (tréhalose...), tous synthétisés par les plantes mais les plus répandus sont : proline, glycine bêtaïne, et mannitol (Guillaume, 2006 ; Majumder *et al.*, 2010).

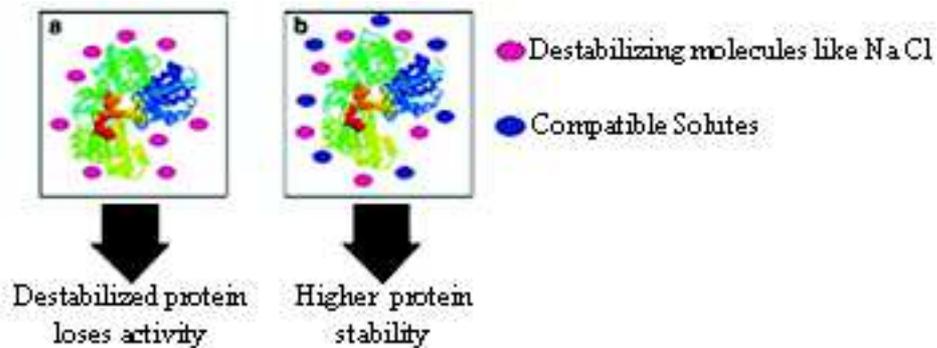


Figure II. 16 : Schéma illustratif de la fonction des solutés compatibles ; (a) l'absence de solutés compatibles à la surface de protéine, et la présence de molécules destabilisantes comme le NaCl qui s'attachent à la protéine provoquant leur dégradation ; (b) la présence de solutés compatibles exclut préférentiellement la fixation des molécules destabilisantes et stabilise la conformation des protéines natives (Majumder *et al.*, 2010).

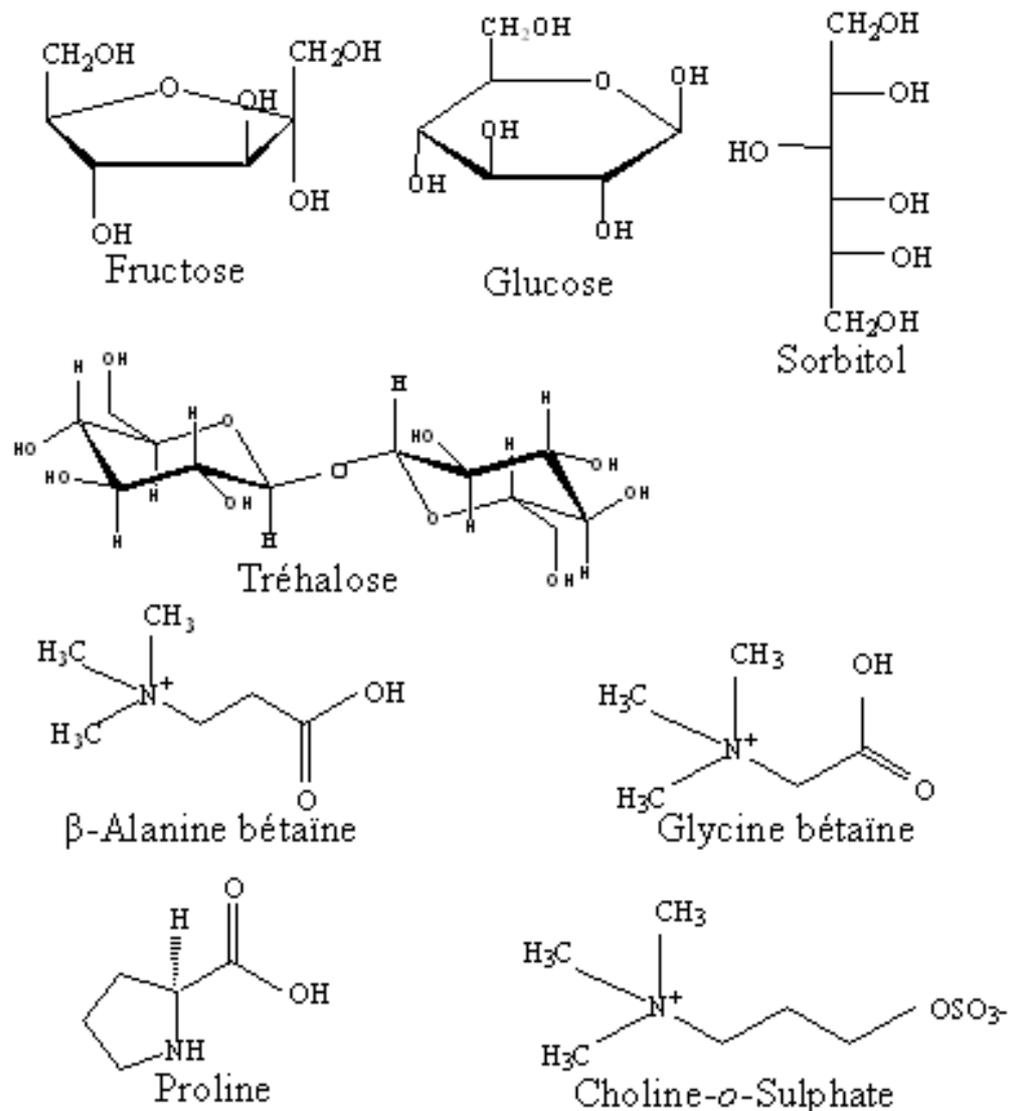


Figure II. 17 : Exemples d'osmorégulateurs synthétisés par les végétaux.

### II. 6. 3.1. La proline

Dans notre cas, nous avons choisi de caractériser la proline, c'est sur cet osmolyte que nous allons nous étaler le plus.

La proline est un acide aminé ayant une exceptionnelle conformation rigide, son accumulation a été signalée dans les conditions de sécheresse, de salinité élevée, à la lumière élevée et aux radiations UV, en présence de métaux lourds, aux stress oxydatifs et aux stress biotiques (Szabados et Savouré, 2009). La proline comme le reste des osmolytes, elle n'est pas chargée, hydrophile et a un pH neutre (Chen et Murata, 2002). En plus de son rôle osmorégulateur la proline a une fonction stabilisatrice des protéines, elle piège les radicaux hydroxyles, stabilise les membranes cellulaires par interaction avec les phospholipides, et sert aussi comme source de carbone et azote (Kavi Kishor *et al.*, 2005). Beaucoup de travaux affirment que le stress abiotique induit l'accumulation de proline chez de nombreuses espèces végétales (Sawahel et Hassan, 2002). Aussi plusieurs études

faisant appel à des plantes transgéniques et/ou des mutants confirment que la présence de proline est importante pour la tolérance de certaines conditions environnementales indésirables (Hong, 2000 ; Miller, 2009).

Le taux intracellulaire de proline dépend de sa biosynthèse, de son catabolisme, et de son transport intracellulaire, entre les différents compartiments.

Chez la plante, la proline est synthétisée principalement à partir du glutamate qui est réduit en glutamate-semialdéhyde (GSA) par l'enzyme *pyrroline-5 carboxylate synthétase* (P5CS), qui est spontanément converti en pyrroline-5-carboxylate (P5C) (Hu *et al.*, 1992 ; Savoré *et al.* 1995). Ensuite la *P5C réductase* (P5CR) réduit l'intermédiaire (P5C) en proline (Fig. II.18, Fig. II. 19). Dans la plupart des espèces de plantes P5CS est codée par deux gènes et P5CR est codée par un seul gène (Verbruggen *et al.*, 1993 ; Armengaud, *et al.*, 2004). Le catabolisme de la proline se produit dans la mitochondrie via l'action séquentielle de la *proline déshydrogénase* ou *proline oxydase* (PDH ou POX) convertissant la proline en P5C, le pyrroline-5-carboxylate est ensuite oxydé en glutamate par P5C déshydrogénase (P5CDH).

Comme voie alternative, la proline peut aussi être synthétisée à partir de l'ornithine qui est en premier transaminé par l'*ornithine-delta-aminotransférase* (OAT) aboutissant à la formation de GSA et P5C transformé finalement en proline (Delauney *et al.*, 1993 ; Rooseens *et al.*, 1998) (Fig. II. 18)

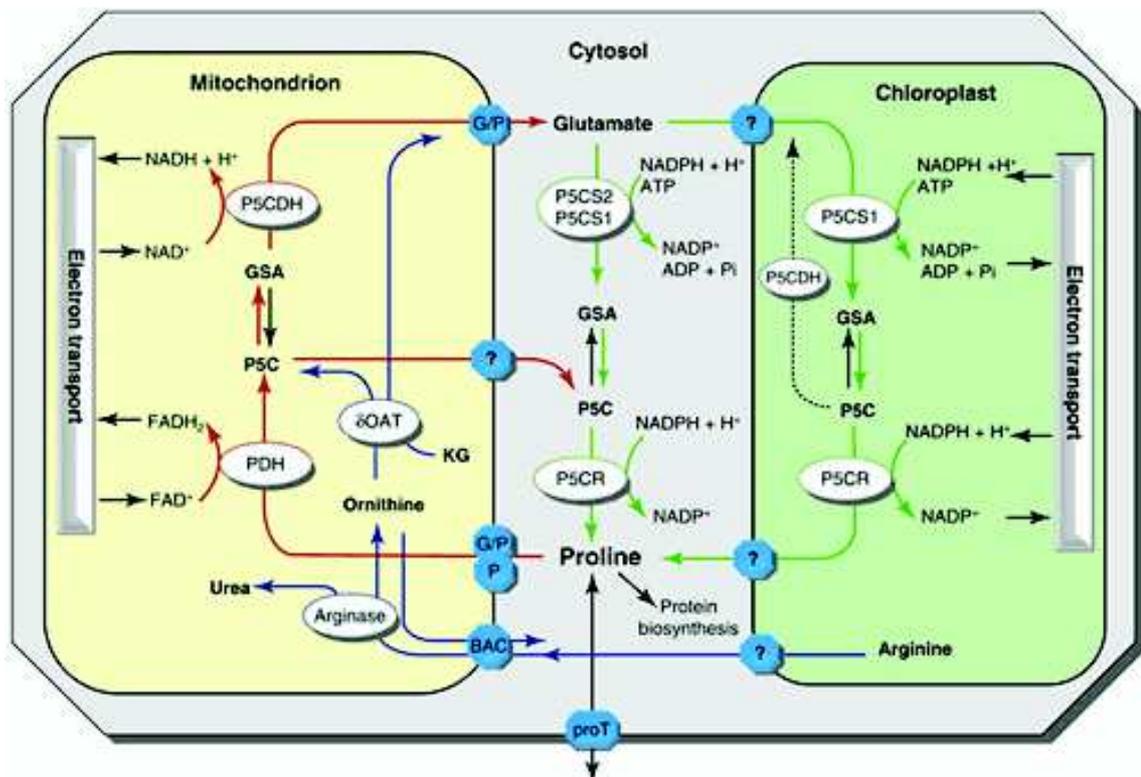


Figure II.18 : Schéma du métabolisme de la proline chez les plantes supérieures. La plupart des données ont été obtenues chez *Arabidopsis*, mais peuvent être interposées aux autres espèces. Les voies de biosynthèse représentées en vert, de catabolisme en rouge, et la voie de l'ornithine en bleu. Abréviations BAC, transporteurs d'acides aminés impliqués dans l'échange d'arginine et d'ornithine ; Glu, glutamate ; G/P, mitochondriale antiport glutamate/proline ; KG, alpha-cétoglutarate ;

*P*, mitochondrial transporteur de proline ; *Pi* inorganique phosphate ; *PorT*, transporteur membranaire de proline ; ?, transporteur prédit (Szabados et Savaouré, 2009).

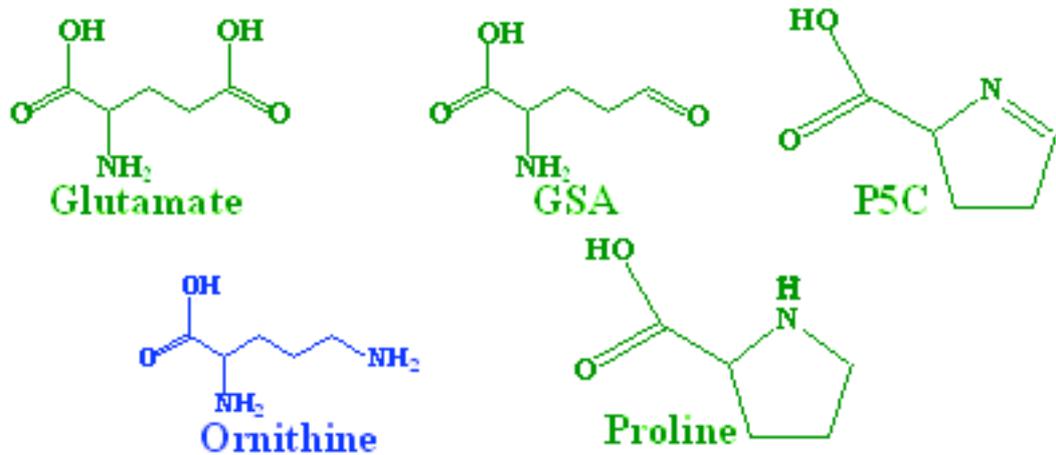


Figure II. 19: Structure chimique ; Glutamate, GSA, P5C, Ornithine, Proline.

Dans les cellules méristématiques et embryonnaires la biosynthèse de proline a lieu dans le cytosol grâce aux enzymes *P5CS* et *P5CR*. En condition de stress, *P5CS1* s'accumule dans les chloroplastes favorisant la biosynthèse de la proline dans les plastes (Szabados et Savaouré, 2009).

L'accumulation de proline favorise la tolérance au stress de différentes façons (Fig. II. 20), en plus de son effet osmorégulateur la proline agit comme une molécule chaperon renforce l'intégrité des protéines, elle améliore aussi l'activité de nombreuses enzymes telle que la ribonucléase (Mishra et Dudey, 2006). Elle contribue dans la maintenance de l'oxydoréduction. Les dommages provoqués par l'oxygène singulet et le radical hydroxyle au niveau du photosystème II (*PS II*) peuvent être réduits dans la membrane thylacoïdale par la proline (Alia et Mohanty, 1997). La biosynthèse de proline est une série de réactions de réduction nécessitant le NADPH pour la réduction du glutamate en P5C, puis la réduction du P5C en proline, et génère le  $\text{NADP}^+$  qui peut être utilisé comme accepteur d'électrons contribuant ainsi au maintien de la chaîne de transport d'électrons et diminuant la formation des ROS (Hare et Cress, 1997). Après le stress, l'oxydation de proline fournit des électrons pour la chaîne respiratoire et participe ainsi dans l'énergie allouée à la croissance (Hare et Cress, 1997 ; Kavi *et al.*, 2005). La proline est également utilisée pour la synthèse de protéines (Fig. II. 20).

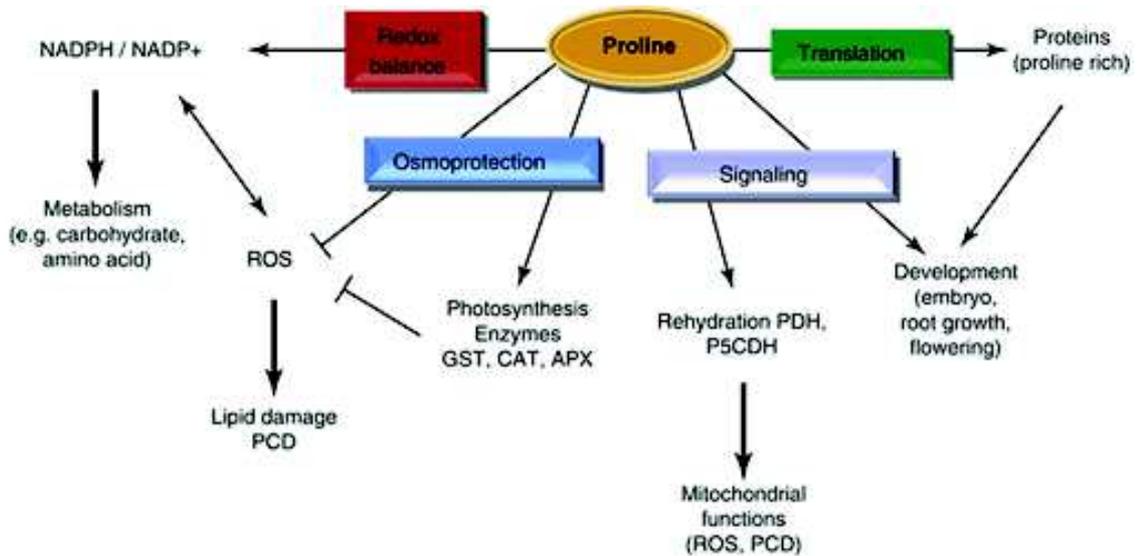


Figure II. 20 : Les multiples fonctions de proline dans les plantes. Elle sert à la synthèse protéique, osmoprotectrice, maintient l'équilibre de l'oxydoréduction, participe dans la signalisation contrôlant le fonctionnement mitochondrial et régulation de croissance, ainsi que la tolérance du stress. Abréviations, APX, ascorbate peroxydase ; CAT, catalase ; PCD, la mort cellulaire programmée (Szabados et Savouré, 2009).

Cependant, la présence de quantité excessive de proline en absence de stress, soit par une application exogène ou une surproduction endogène semble inhibée la croissance et le développement des plantes (Mani *et al.*, 2002).

## II.6.4. Les protéines de stress

Les stress abiotiques sont à l'origine de dysfonctionnements protéiques. La plante va activer de nombreux gènes permettant d'accumuler des protéines parmi lesquelles des LEA (Late embryogenesis abundant proteins), des HSP (Heat-shock proteins) et autres chaperonnes qui vont jouer un rôle de protection de la cellule. Elles vont stabiliser les protéines et les membranes et permettre de retrouver les conformations protéiques actives en condition de stress (Wang *et al.*, 2003).

### II. 6.4.1. Les protéines LEAs

Les protéines LEAs (Late Embryogenesis Abundant), ont été en premier identifiées dans les graines, leurs expression a été associée avec la tolérance à la dessiccation des semences (Bray, 1993 ; Wise et Tunnacliffe, 2004). Durant la maturation des graines l'expression des gènes LEA est induite par l'hormone de stress ABA (Finkelstein *et al.*, 2002). Cependant, il y a certains gènes LEA qui sont induits chez les végétaux en réponse à la sécheresse, à la salinité et aux températures extrêmes (Tunnacliff et Wise, 2007 ; Bies-Etheve *et al.*, 2008). En se basant sur la similarité de séquences et domaines conservés, les protéines LEA ont été classées en neuf groupes (Wise, 2003 ; Bies-Etheve *et al.*, 2008). Chez *Medicago truncatula* l'abondance de 11 polypeptides LEA a été liée à la tolérance à la sécheresse (Leprince, 2007). Les LEAs protègent les autres protéines ainsi que les membranes de la même façon que les sucres (Hoeksha *et al.*, 2001).

### II. 6.4.2. Les protéines HSP

Les protéines de choc thermique ou HSP (Heat Shock Protein) sont des protéines chaperonnes qui aident au repliement, à l'assemblage et au transport des protéines.

Si elles ont été mises en évidence lors d'expositions à des températures élevées, on les trouve également surexprimées lors de l'exposition des plants à la sécheresse, aux fortes teneurs en sel, à des agressions chimiques ou des stress oxydatifs, elle protégeraient ainsi les protéines de la dénaturation et de l'agrégation (Sung *et al.*, 2001).

---

# Chapitre III : Matériel et Méthodes

Le problème de la salinité des sols se rencontre dans les zones arides et semi-arides, ainsi qu'au niveau des terres agricoles, suite à leur surexploitation ; ce fléau est en continuelle avancée en Algérie et partout dans le monde, d'ailleurs il a été prévu que plus de 50% des terres arables auront des problèmes de salinités vers l'année 2050 (Vinocur et Altman, 2005). Depuis, les recherches s'orientent vers l'élucidation de ce problème à différentes échelles y compris la recherche de cultivars adaptés aux sols salins.

Les légumineuses, appréciées à la fois sur le plan écologique et agronomique, elles sont utilisées de plus en plus comme plantes pionnières dans les terres marginales et sous un environnement défavorable (Zahran, 2001). Elles sont des candidates intéressantes pour améliorer la fertilité des sols et l'intégration des sols salés dans l'agriculture.

Contrairement à leur hôte légumineuse, les rhizobiums peuvent survivre dans des niveaux élevés de sels, montrant une forte variabilité de tolérance au sel. Certaines souches sont inhibées par 100 mM de NaCl, alors que les souches de *Rhizobium meliloti* et *Rhizobium fredii* croissent dans des concentrations de sel supérieures à 300 mM (Mohammad *et al.*, 1991 ; Muller et Pererira 1995).

L'amélioration de la productivité des légumineuses dans les zones salines nécessite l'installation d'une symbiose tolérante, ce qui implique que les deux partenaires doivent présenter une tolérance au sel (Laranjo *et al.*, 2002), la tolérance de la plante hôte constitue un facteur déterminant de la tolérance au sel du couple légumineuse/rhizobium (Soussi *et al.*, 1998). Dans notre cas, c'est l'entité végétale uniquement qui va subir le stress salin, dans des conditions strictement contrôlées pendant 37 jours, selon Munns *et al* (1995) la durée du stress influe également sur le comportement du végétal, ainsi une période de 10 jours en stress salin n'a pas permis la mise en évidence d'une différence entre deux espèces proches le blé dur sensible au sel et l'orge qui est plus tolérant. Subséquemment la période adoptée semble suffisamment longue pour montrer les différents effets du sel sur les génotypes étudié

L'essai, est un screening *in vitro* de 34 lignées de *Medicago truncatula*, autochtones majoritairement, plus des lignées parentales de cartographie génétique connues, introduites dans l'essai comme référence.

Le but étant en premier, la caractérisation biométrique des lignées par rapport à leur réponse au stress salin, qui est expertisé par l'emploi de quatre concentrations de NaCl : 50 mM, 100 mM, 150 mM, 200 mM. Et deuxièmement, d'établir une étude comparative de quelque paramètre biochimique et physiologique chez certains génotypes choisis en fonction de leur réponse antérieure au stress salin (Fig. III. 4).

## III.1. Matériel végétal

Le matériel végétal renferme :

1. Vingt sept (27) lignées de *Medicago truncatula* provenant de 24 populations naturelles algériennes (Tab. III.1). Dont les sites de collecte, couvrent le nord de l'Algérie en particulier l'Est du pays (Fig. III. 1). Les prospections ont été réalisées par Pr. Abdelguerfi A. (ENSA ex INA) et les lignées ont été obtenues par Dr. Abdelguerfi-Laouar M. (INRAA). Cette collection comprend deux variétés botaniques (*Medicago truncatula* var. *truncatula*, *Medicago truncatula* var. *longispina*) à des proportions différentes (Fig. III. 2).
2. Sept (7) lignées de *Medicago truncatula* parentales de différentes cartes génétiques, faisant l'objet d'étude comme témoins. Dont les semences ont été transmises par le laboratoire EcoLab UMR 5245 INPT-UPS-CNRS du Dr. Gentzbittel L. (ENSA Toulouse). Les lignées A20, DZA45.5, DZA315.16, F83005.5 sont issues de la collection du laboratoire INRA-SGAP, Mauguio par Dr. Prospero J.M. (Montpellier, France), tandis que les lignées TN1.11, TN1.21, TN8.3 proviennent de celle du Laboratoire d'Interactions Légumineuses Microorganismes, Borj Cedria et obtenues par Pr. Aouani M.E. (Tunisie) (Fig. III. 3).

Les semences en question ont été régénérées dans une serre à l'INRAA (2009).

**Tableau III. 1 : Localisation, pluviométrie, altitude et conductivité électrique des sites de collecte des 24 populations de *Medicago truncatula*.**

Population	Pluviométrie (mm)	Altitude (m)	Conductivité électrique (mmhos/cm)	Ville
255	555	30	0.08	Tipaza
266	370	160	0.17	Oran
294	439	160	0.15	Ain-Temouchent
299	386	350	1.13	Tlemcen
308	710	850	0.10	Tlemcen
310	449	670	0.15	Sidi Bel Abbès
327	794	90	0.45	Blida
331	1053	880	0.05	Tizi ouzou
334	1324	820	0.10	Tizi ouzou
348	620	640	0.11	Guelma
400	433	930	0.08	Sétif
402	443	1010	0.08	Sétif
404	350	730	0.09	Mila
405	347	720	0.10	Mila
412	448	660	0.28	Constantine
418	750	950	0.08	Sétif
423	750	150	0.12	Guelma
429	350	650	0.13	Souk Ahras
431	350	750	0.13	Tébessa
432	550	850	0.10	Aoum Bouaqui
433	450	950	0.08	Aoum Bouaqui
440	450	1050	0.11	Batna
448	550	750	0.08	Bouira
453	450	950	0.08	Bourdj Bouarairij
	Etage bioclimatique Pluviosité annuelle Per humide 1200-1800mm Humide 900 – 1200mm Sub humide 800 – 900mm Semi aride 600 – 300 mm Source Nedjraoui, 2001. FAO		Non salé ≤ 2 (Mémento de l'agronome, 1993)	

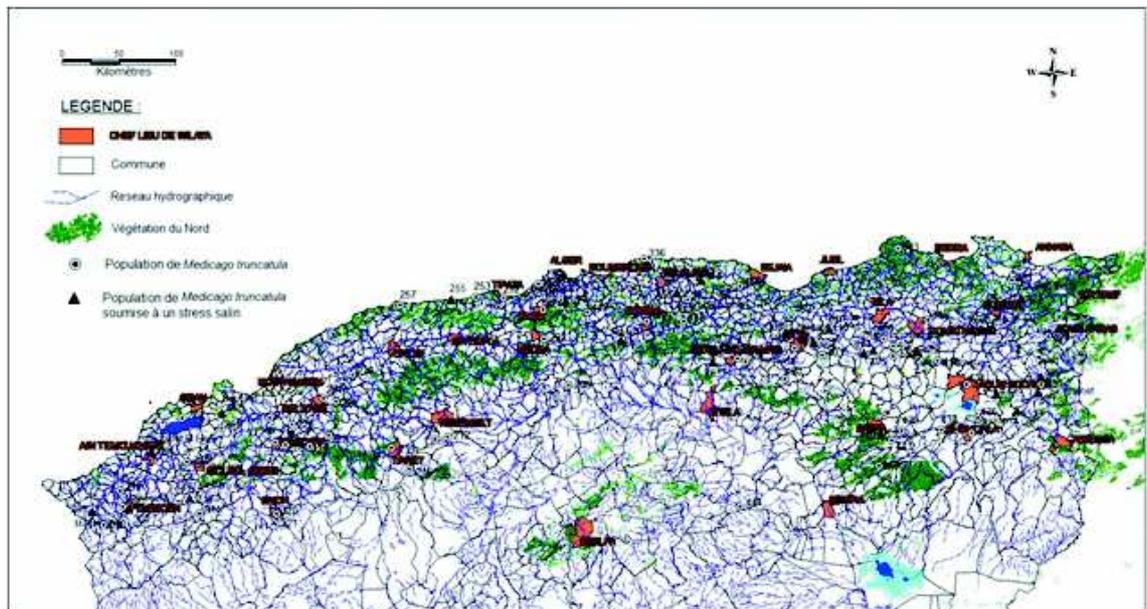


Figure III. 1 : Carte du nord de l'Algérie présentant les sites des 82 populations de *Medicago truncatula* prospectés

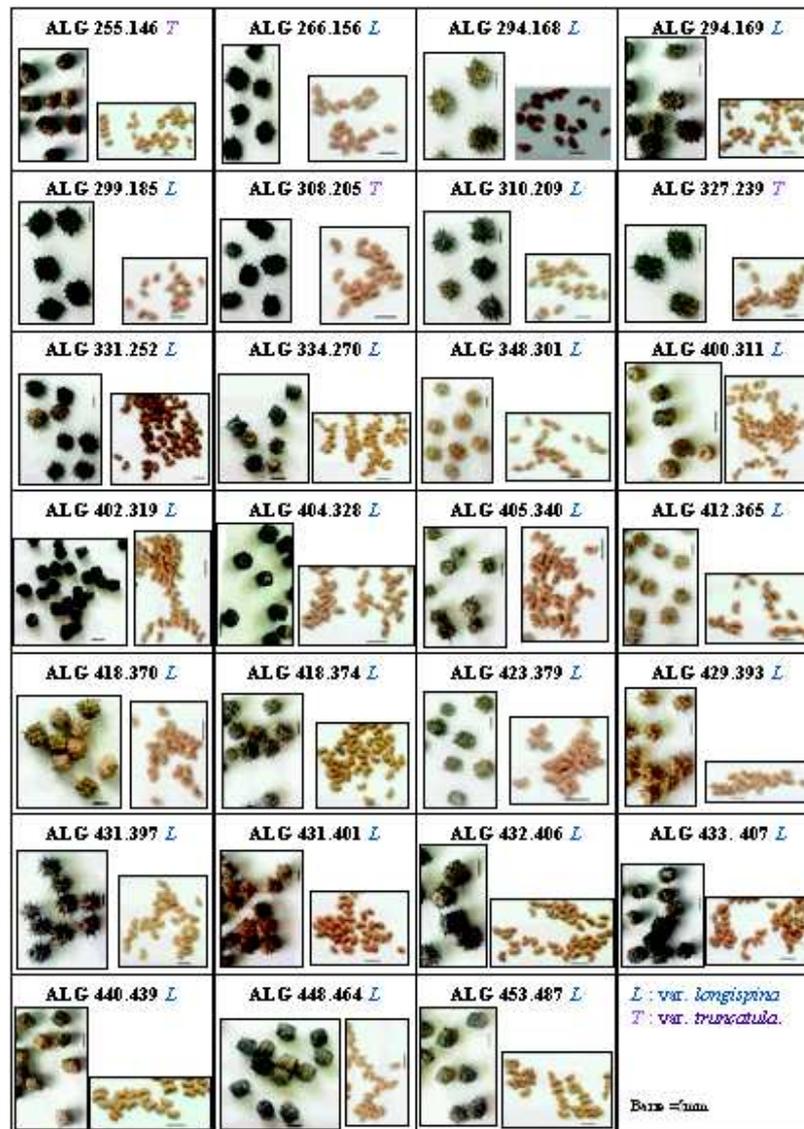


Figure III.2 : Gousses et graines des 27 lignées algériennes de *Medicago truncatula*

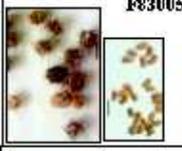
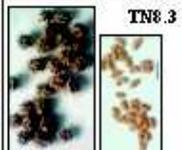
	<p><b>A 20</b></p>	<p>Lignée à priori d'origine Marocaine.</p>	<p>Barre = 5 mm</p>
	<p><b>DZA45.5</b></p>	<p><b>DZA</b> : pour Algérie, pays d'où le génotype a été collecté ;  <b>045</b> : le numéro du site de collection ; <b>5</b> : référence de la plante qui a été prise parmi la population et dont la procréation a régénéré une lignée pure ;  <b>Pays</b> : Algérie, <b>Ville</b> : Annaba, <b>Altitude</b> : 100 m ; <b>Latitude</b> : 36.9 N, <b>Longitude</b> : 7.7 E, <b>Type génétique</b> : accession naturelle ;  <b>Information disponible sur une sensibilité envers un stress abiotique</b> : sensible à la gelée.</p>	<p>Barre = 5mm</p>
	<p><b>DZA315.16</b></p>	<p><b>DZA</b> : pour Algérie, pays d'où le génotype a été collecté ;  <b>315</b> : le numéro du site de collection ;  <b>16</b> : référence de la plante qui a été prise parmi la population et dont la procréation a régénéré une lignée pure ;  <b>Pays</b> : Algérie, <b>Ville</b> : Ain EL Hadjar, <b>Altitude</b> : 1070 m ; <b>Latitude</b> : 34.7 N, <b>Longitude</b> : 0.16 E ;  <b>Type génétique</b> : accession naturelle.</p>	<p>Barre = 5mm</p>
	<p><b>F83005.5</b></p>	<p><b>F</b> : pour France, pays d'où le génotype a été collecté ;  <b>83</b> : numéro du département ;  <b>005</b> : référence de la plante qui a été prise parmi la population et dont la procréation a régénéré une lignée pure ;  <b>Pays</b> : France, <b>Ville</b> : Salernes, <b>Altitude</b> : 261 m ; <b>Latitude</b> : 43.5 N, <b>Longitude</b> : 6.23E ; <b>Type génétique</b> : accession naturelle ;  <b>Information disponible sur une sensibilité envers un stress abiotique</b> : sensible au stress salin</p>	<p>Barre = 5mm</p>
	<p><b>TN1.11</b></p>	<p><b>TN</b> : pour signaler son origine tunisienne ;  <b>1</b> : pour la région de provenance Erfidha ;  <b>11</b> : le numéro de la lignée ;  <b>Pays</b> : Tunisie, <b>Ville</b> : Erfidha, <b>Altitude</b> : 2m, <b>Euroséisme annuelle</b> : 300-400 mm, <b>Salinité</b> : 8.65-27.6 g/l (CRDA, Tunisie)  <b>Information disponible</b> : lignée originaire de sols salins (Ayadi <i>et al.</i>, 2004).</p>	<p>Barre = 5mm</p>
	<p><b>TN1.21</b></p>	<p><b>TN</b> : pour signaler son origine tunisienne ;  <b>1</b> : pour la région de provenance Erfidha ;  <b>12</b> : le numéro de la lignée ;  <b>Pays</b> : Tunisie, <b>Ville</b> : Erfidha, <b>Altitude</b> : 2m, <b>Euroséisme annuelle</b> : 300-400 mm, <b>Salinité</b> : 8.65-27.6 g/l (CRDA, Tunisie)  <b>Information disponible</b> : lignée originaire de sols salins (Ayadi <i>et al.</i>, 2004).</p>	<p>Barre = 5mm</p>
	<p><b>TN8.3</b></p>	<p><b>TN</b> : pour signaler son origine tunisienne ;  <b>8</b> : pour la région de provenance Soliman ;  <b>3</b> : le numéro de la lignée ;  <b>Pays</b> : Tunisie, <b>Ville</b> : Soliman, <b>Altitude</b> : 2m, <b>Euroséisme annuelle</b> : 500-700 mm ; <b>Salinité</b> : 4.40-2.70 g/l (CRDA, Tunisie)  <b>Information disponible</b> : lignée originaire de sols salins (Ayadi <i>et al.</i>, 2004).</p>	<p>Barre = 5mm.</p>

Figure III.3 : Gousses, graines et quelques caractéristiques des lignées parentales de *Medicago truncatula* introduites dans l'essai.

Plusieurs étapes, partant de la préparation des graines à la mise en culture *in vitro* et au déroulement des essais, sont décrites ci dessous.

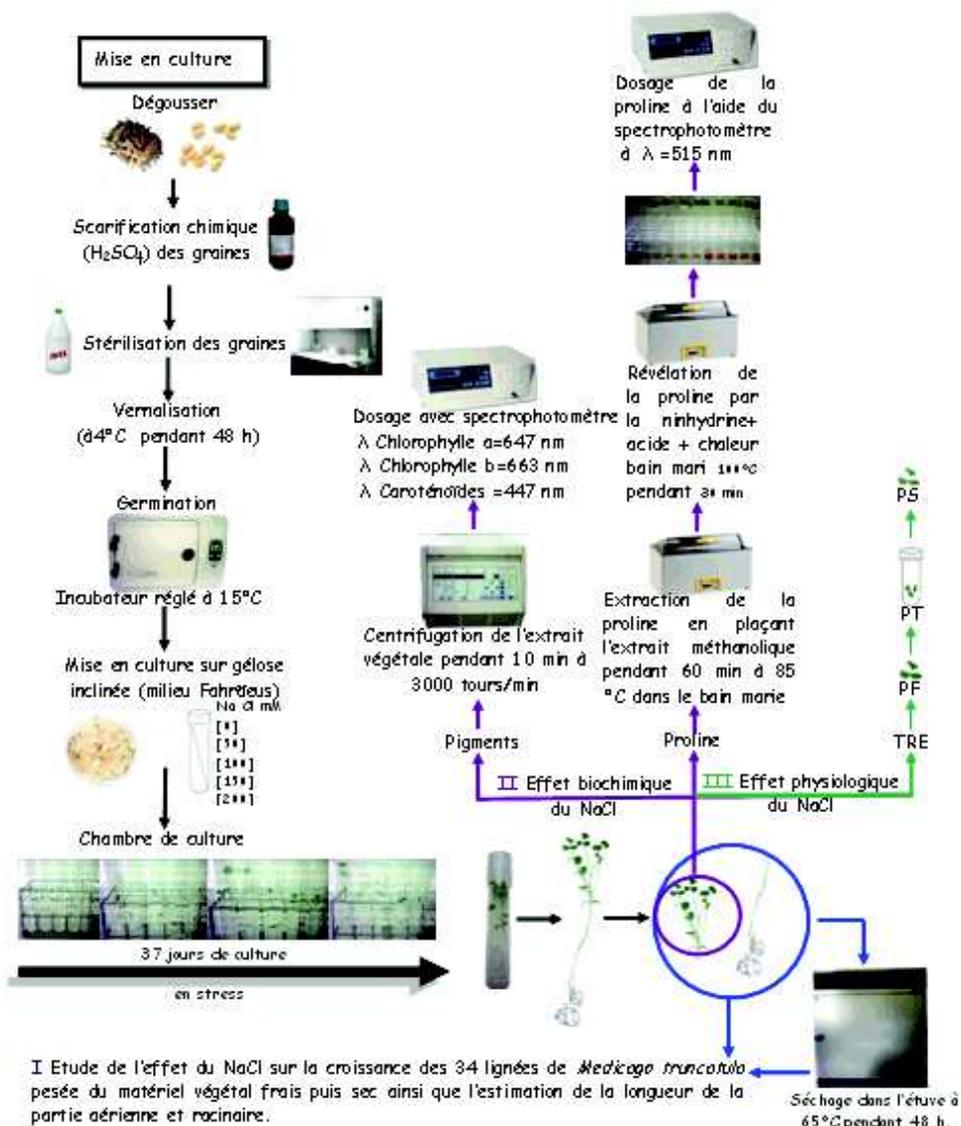


Figure III.4 : Les différentes étapes de l'essai

## III. 2. Mise en culture

### III. 2. 1. Scarification, stérilisation et germination des graines

Les gousses matures de *Medicago truncatula* sont dures, compactes imperméables et viables pendant de nombreuses années (Crawford *et al.*, 1989). Pour les dégousser, on les frotte entre deux papiers verre tout en exerçant une certaine pression.

Les graines matures de *Medicago truncatula* sont entourées d'une enveloppe dure et hydrophobe qui nécessite d'être au moins partiellement rompue pour permettre l'imbibition des graines et leur germination.

Le tégument cireux de la graine peut se rompre grâce à une scarification chimique dont les étapes sont les suivantes (Garcia *et al.*, 2006) :

On place les graines de *Medicago truncatula* dans l'erenmeyer contenant quelques millilitres d'acide sulfurique anhydre, et cela en agitant de façon intermittente. On contrôle le progrès de cette scarification par l'observation de l'apparition graduelle de petits points noirs à la surface tégumentaire ; quand il y a en moyenne cinq taches par graine, d'habitude après 5-12 min de traitement (la durée du traitement dépend de l'origine des graines et de la nature du tégument quelques lots 3 min leurs suffisent, d'autre plus de 20-30 min, la majorité nécessite 5-10 min de traitement), on procède au rinçage avec de l'eau stérile en enlevant l'excès de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> à l'aide d'une pipette en verre et rapidement après on immerge les graines dans une importante quantité d'eau. L'élimination rapide de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> est extrêmement importante pour éviter le réchauffement local des graines qui peut les endommager, l'utilisation d'eau froide est conseillée dans ce cas, et on rince trois fois.

Pour la stérilisation des graines, il est recommandé d'utiliser des ustensiles stériles et manipuler sous haute à flux laminaire, les différentes sources de chlorure actif sont efficaces. On immerge les graines scarifiées pendant 90 à 120 secondes dans une solution d'eau de Javel à 13°, rapidement on enlève l'eau de Javel et on rince 5-6 fois les graines avec de l'eau distillée stérile (Fig. III. 5).

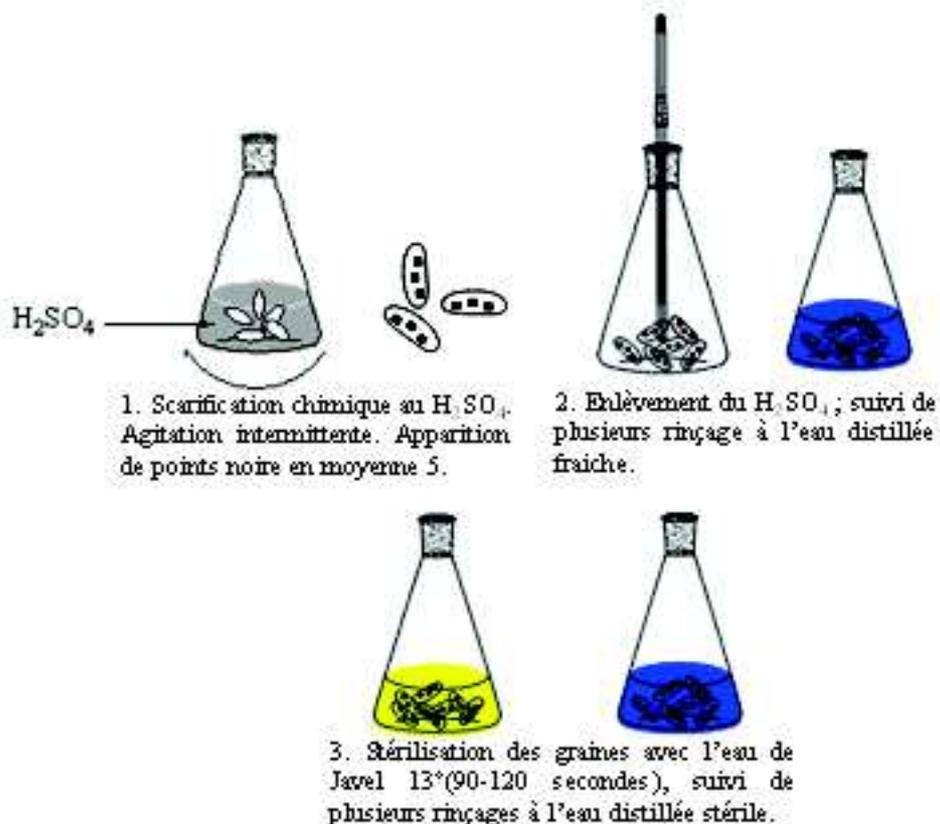


Figure III.5 : Scarification et stérilisation des graines de *Medicago truncatula*

Pour la germination on transfère les graines décantées dans des boîtes de Pétri (Ø = 5 cm) contenant le milieu de culture Cambell (c'est un substrat riche en éléments nutritifs qui convient pour la germination, il permet aussi la détection rapide d'une contamination microbienne résiduelle ; voir annexe 1).

Jusqu'à 30 graines peuvent être réparties uniformément dans la boîte de Pétri en utilisant une pince stérile. On scelle les boîtes avec du parafilm et on les place inversées dans l'obscurité à 4°C pendant 48 heures, il s'agit de la vernalisation, pour réussir une synchronisation optimale de la germination et cela en levant la dormance embryonnaire, par la suite on place les boîtes de Pétri dans l'incubateur réglé à 15°C pendant 24 à 36h période suffisante pour obtenir une longueur de la racicule variant de 5 à 10 mm convenable à leur éventuelle transplantation (Fig. III.6).



Figure III.6 : Vue de haut d'une boîte de Pétri après 48 h d'incubation des graines à 15 °C, les graines de *Medicago truncatula* ont germé et les racicules sont bien développées. Barre = 5 mm.

### III. 2. 2. Mise en culture des germes en milieu Fahræus à différentes concentrations de NaCl

La transplantation a lieu sous haute à flux laminaire dans des tubes à essai (60 ml, Ø = 2 cm) contenant 20 ml de milieu Fahræus incliné (voire annexe 2) additionné de **différentes concentrations de NaCl : 0 mM, 50 mM, 100 mM, 150 mM, 200 mM**, cette addition de sel confère au milieu expérimental une osmolarité. L'équivalence en concentration osmotique des doses de chlorure de sodium employées est représentée dans la figure (Fig. III. 7). L'osmolarité (Osm) se calcule en multipliant la molarité (mol/l) par le nombre de particules produites par ionisation, le NaCl s'ionise en Na<sup>+</sup> et Cl<sup>-</sup> (alors on multiplie par 2).

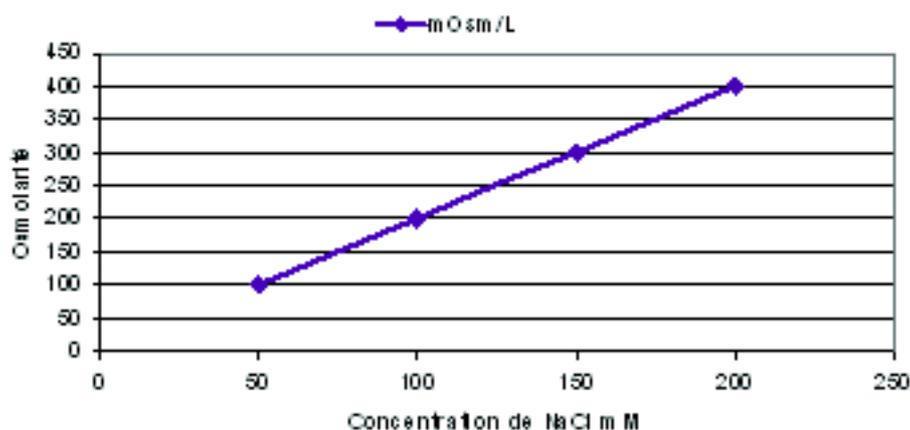


Figure III. 7 : Concentration osmotique (mOsm/L) en fonction de la concentration du milieu en NaCl mM.

Le transfert est réalisé rapidement à l'aide d'une anse de platine pour éviter le dessèchement et l'endommagement des racines, à raison d'un germe par tube. Chaque tube est fermé avec un bouchon transparent permettant la diffusion de la lumière et la circulation de l'air. De la sorte, les tubes sont tenus verticaux (dans les portoirs) dans une chambre de culture (température du jour 20°C, température de nuit 15°C, photopériode (jour/nuit) 16h/8h, humidité relative 60%, l'éclairage est assuré par des tubes fluorescents, les tubes "Daylight" qui ont un spectre combiné très proche de celui de la lumière visible. L'étagère accueillant les portoirs a une largeur égale 54 cm, et loge quatre tubes fluorescents de 36 w, distants des plantules par 8 cm)

Ce mode de culture nous permet d'expertiser tant de lignées dans un espace relativement réduit et d'éviter les symbioses qui confondront l'analyse de la réponse propre de la plante vis-à-vis du stress salin, ce mode de culture nous confère aussi un apport en éléments nutritifs et une application du stress homogène.

### III. 2. 3. Stade de mesure

L'étude de l'effet du stress salin sur le végétal est réalisée après 37 jours de culture sur milieu artificiel, ainsi toutes nos mesures sont prises au terme du stress et ne s'échelonnent pas en fonction de celui-ci.

## III.3. Caractères étudiés

Chez les glycophytes le sel affecte le développement des plantes et réduit leur croissance à différents niveaux d'organisation, de la cellule à la plante entière. Cette diminution varie en fonction de l'espèce, de la variété, de l'écotype etc. Afin d'étudier la variabilité chez les différentes lignées de *Medicago truncatula* cultivées en absence et en présence de diverses concentrations de NaCl, des mesures relatives à la croissance des plantes sont réalisées, et d'autres relatives à certains traits précis de la biochimie et de la physiologie cellulaires qui sont directement corrélés à la tolérance au stress tel que la perturbation des photosystèmes, l'accumulation de substance organique caractéristique de stress dans

notre cas il s'agit de la proline, et le statut hydrique de la plante et cela par l'estimation de la teneur relative en eau.

### III.3.1. Caractères biométriques

Après 37 jours de culture en condition de stress, les vitroplantes sont retirées soigneusement du tube à l'aide d'une pince. Les plantes récoltées sont séparées en deux parties : aérienne et racinaire, on rince les racines une seule fois à l'eau distillée pour enlever les restes du milieu de culture, tout de suite on saisit la longueur des deux parties et on détermine leur poids frais. Pour obtenir leur poids sec, on place les échantillons dans des sacs en papier qu'on installe dans une étuve réglée à 65 °C pendant 48 h. Les pesées sont effectuées grâce à une balance de précision (BP 221 S, Sartorius) et sont exprimées en grammes et ce pour les différents traitements salins.

Afin de classer les géotypes selon leur aptitude à tolérer le sel, nous avons utilisé l'indice de sensibilité (IS). Pour un paramètre donné (P), l'indice de sensibilité correspond à l'écart entre les plantules traitées et les témoins. Il est calculé selon la formule suivante (Slama, 1982 ; Hamrouni *et al.*, 2008) :

$$IS = [(P_s - P_t) / P_t] \times 100$$

Avec  $P_s$  la valeur du paramètre chez les plantes soumises au sel et  $P_t$  la valeur du paramètre chez les plantes témoins.

Il apparaît aussi que, plus l'IS est négatif, plus la variété est sensible.

Dans notre cas nous avons choisi de considérer les paramètres poids frais et sec de la partie aérienne et poids frais et sec des racines

### III.3.2. Caractères physiologique et biochimiques

La seconde phase n'inclue que dix lignées et trois applications de sel. Les lignées utilisées sont : ALG 255.146, ALG 299.185, ALG 310.209, ALG 331.252, ALG 440.439, ALG453.487, A 20, DZA 045.5, F83005.5, TN 1.11, les concentrations de NaCl adoptées sont : 50 mM, 100 mM, 150 mM. Ce choix a été fait en fonction des résultats obtenus suite à la caractérisation biométrique. Ainsi une variabilité est convoitée, une considération est portée également à l'origine géographique des lignées étudiées et à la variété botanique disponible dans le lot de départ. Les résultats biométriques obtenus nous affirment également l'effet prononcé de la dose 200 mM de NaCl sur la croissance et le développement des plantes étudiées raison pour laquelle nous l'avons écarté dans la seconde partie.

#### III.3.2.1 Teneur relative en eau (TRE) ou « Relative Water Content (RWC) » exprimé en %

Ce caractère est un bon indicateur du statut hydrique de la plante, on l'obtient en utilisant la formule suivante :

$$RWC (\%) = ((PF-PS) / (PT-PS)) \times 100$$

Avec PT : représente le poids à la turgescence ;  
 PF : représente le poids de la matière végétale fraîche ;  
 PS : représente le poids de la matière végétale sèche.

Les feuilles échantillonnées après 37 jours de culture sont directement pesées après résection du pétiole pour avoir le poids frais PF. Elles sont ensuite mises dans un tube à essai contenant de l'eau distillée, placé à l'abri de la lumière et à une température égale à 4°C (pour bloquer la croissance) pendant 24 h, pour évaluer le poids à la turgescence PT après les avoir essuyées.

Le poids de la feuille sèche PS est obtenu après passage à l'étuve à 65°C durant 48 h.

### III.3.2.2 Les pigments chlorophylliens

Les chlorophylles sont des chromoprotéines, porphyrine (quatre noyaux pyrrole en cercle) avec un atome magnésium chélaté au centre, ils sont substitués à la périphérie particulièrement par un alcool à longue chaîne : le phytol (Fig. III.8). Ces molécules impliquées dans les processus d'oxydoréduction photochimique des milieux biologiques assurent, d'une part, la collecte énergétique des photons et, d'autre part, le transfert d'énergie, permettant ainsi la transformation du dioxyde de carbone et de l'eau en molécules organiques (Heller *et al.*, 1998). Certaines études ont démontré que la teneur en chlorophylle est positivement corrélée avec le taux de la photosynthèse (Davis *et al.*, 1979; Wang *et al.*, 2003; Thomas *et al.*, 2005).

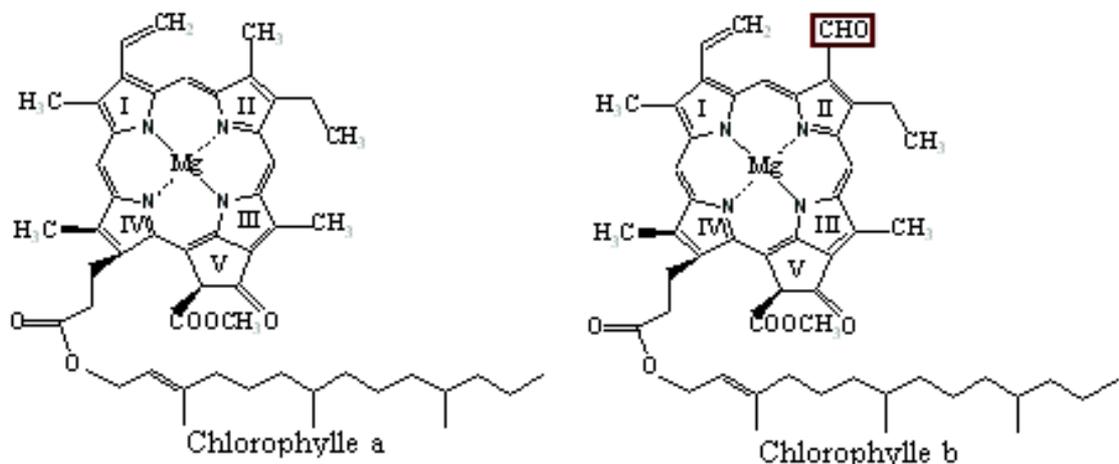


Figure III.8 : Structure des chlorophylles a et b (la chlorophylle b n'en diffère que par -CHO encadré qui remplace le groupement -CH<sub>3</sub>)

Un photosystème (PS) ou unité photosynthétique comprend une antenne collectrice constituée par des molécules de chlorophylle a et b et des molécules de caroténoïdes qui absorbent la lumière et transmettent l'énergie vers le centre réactionnel qui est constitué d'un dimère de chlorophylle a.

Il existe deux photosystèmes qui interviennent en cascade dans la photosynthèse : le photosystème II, a pour centre réactionnel une paire de molécules de chlorophylle a P680 absorbant la lumière de longueur d'onde 680 nm, le photosystème I, son centre est constitué d'une paire de molécules de chlorophylle a P700 absorbant la lumière de longueur d'onde de 700 nm (Hopkins, 2003).

Le stress salin entraîne une diminution de l'efficacité photosynthétique (Sayed, 2003). Le *PSII* est plus sensible à l'ensemble des stress comparé au *PSI* (Apostolova *et al.*, 2006). Toutefois, la photosynthèse est essentiellement perturbée par l'effet direct du stress salin sur la chaîne du transport d'électrons photosynthétiques (Borsani *et al.*, 2001).

Les caroténoïdes sont des pigments végétaux lipophiles formant une famille de plus de 600 molécules. Ils jouent le rôle de pigments accessoires de l'antenne collectrice des photosystèmes. En dehors de cette implication dans le processus photosynthétique que nous avons déjà mentionnée, les caroténoïdes associés au *PSII*, participent à la protection de l'appareil photosynthétique contre les ROS (Asada, 1994; Miller *et al.*, 1996).

### Extraction et dosage des chlorophylles et caroténoïdes

Au bout des 37 jours de culture et pour chaque traitement 0.1 g de feuilles fraîches est broyé dans un mortier à l'aide d'un pilon en présence de 10 ml d'acétone à 80 % (V/V) à l'obscurité (1). Après filtration (2), on centrifuge le broyat pendant 10 min à 3000 tours/minute. Après récupération du surnageant, il est complété à 10 ml avec de l'acétone à 80 % (3) (Fig. III.9).

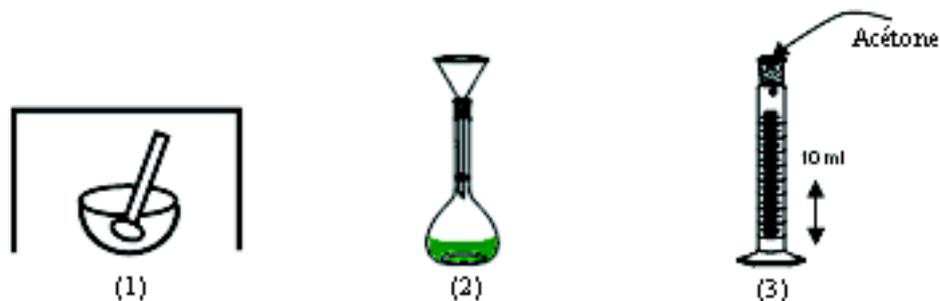


Figure III.9 : Les étapes d'extraction des pigments (1) broyage, (2) filtration du broyat, (3) ajustement du volume du surnageant à 10 ml.

Le dosage des pigments est réalisé à l'aide d'un spectrophotomètre (UV. Visible UV-1601 Shimadzu) qu'on étalonne avec un blanc constitué de 5 ml d'acétone à 80 %, en adoptant les longueurs d'onde : 647 nm, 663 nm, 447 nm correspondant respectivement aux pics d'absorption de la chlorophylle a, la chlorophylle b et des caroténoïdes.

Les concentrations en pigments sont déduites par les formules suivantes (Lichtenthaler et Buschmann, 2001)

$$\text{Chl. a} = 12,25 \times \text{DO} (\lambda_b) - 2,79 \times \text{DO} (\lambda_a) \quad \mu\text{g/ml}$$

$$\text{Chl. b} = 21,50 \times \text{DO} (\lambda_a) - 5,10 \times \text{DO} (\lambda_b) \quad \mu\text{g/ml}$$

$$\text{Chl. a+b} = 7,15 \times \text{DO} (\lambda_a) + 18,71 \times \text{DO} (\lambda_b) \quad \mu\text{g/ml}$$

$$\text{Caroténoïdes} = [1000 (\lambda_c) - 1,82 \times \text{Chl. a} - 85,02 \times \text{Chl. b}] / 198 \quad \mu\text{g/ml}$$

### III.3.2.3 La proline

La proline libre est extraite et dosée selon la méthode de Troll et Lindsley (1954) modifiée par Bates *et al.* (1973). La proline réagit en milieu acide et à chaud (la température élevée catalyse la réaction en augmentant la fréquence de collision entre les molécules) avec la ninhydrine ou tricétohydrindène (qui est un puissant agent d'oxydation) qui provoque une oxydation désaminante de la fonction alpha-amino (Reginald et Grisham, 2000) pour donner un composé rouge (Chinard, 1952 ; Schweet, 1954), soluble dans les solvants organiques, dans notre cas il s'agit du toluène (Fig. III.10).

#### Extraction et dosage de la proline

Après 37 jours de culture dans 0, 50, 100, 150 mM de NaCl, 0.1 g de fragments foliaires sont prélevés de chaque traitement et broyés dans un mortier en présence de 5 ml de méthanol. Après filtration, on introduit le broyat dans des tubes à vis hermétiquement fermés (le méthanol ayant une température d'ébullition = 65°C). On introduit les tubes dans un bain marie réglé à 85 °C pendant 60 min. Après refroidissement et agitation, on prélève dans d'autres tubes à vis 1 ml de l'extrait ainsi obtenu auquel sont ajoutés 1 ml d'acide acétique concentré et 1 ml du réactif contenant de la ninhydrine (1.25 g de Ninhydrine sont dissous dans 30 ml d'acide acétique concentré et 7.5 ml d'acide orthophosphorique à 85 %, on complète le tout à 50 ml avec de l'eau distillée). Ce mixage est placé dans le bain marie à 100°C pendant 30 min, après quoi une coloration rougeâtre apparaît. On retire les tubes et on laisse refroidir puis on y ajoute 5 ml de toluène se qui fait apparaître 2 phases : la phase supérieure sert à la détermination de la proline libre, la phase inférieure aqueuse est éliminée.

Les densités optiques sont lues au spectrophotomètre (UV. Visible UV-1601 *Shimadzu*) à une longueur d'onde de 515 nm. Les teneurs en proline sont déterminées à partir d'une courbe étalon (voir annexe 3).

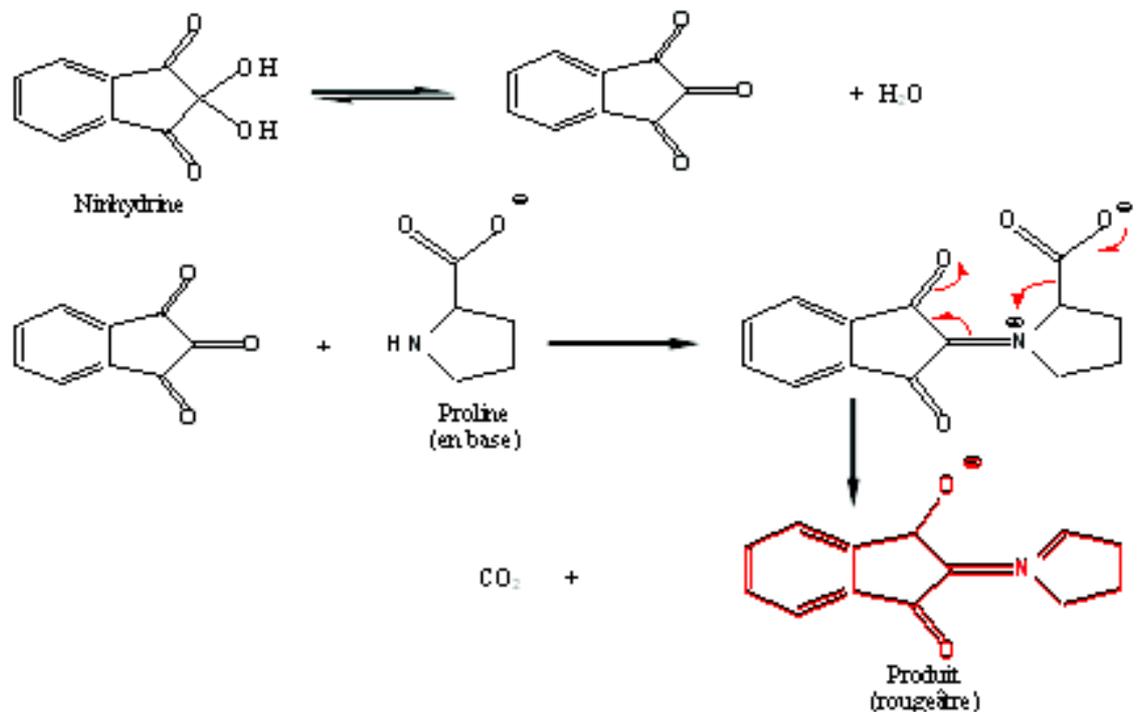


Figure III.10 : La ninhydrine en présence de proline forme un composé coloré

# Chapitre IV : Résultats et discussions

Nous rappelons, que les résultats sont présentés en deux parties, la première concerne la caractérisation biométrique de 34 génotypes de *Medicago truncatula* par rapport à leur réponse au stress salin évalué par 4 concentrations de NaCl pendant 37 jours. La deuxième partie, expose l'effet du stress salin sur les caractères biochimiques et physiologiques chez dix lignées de *Medicago truncatula* après 37 jours de cultures en trois concentrations graduelles de chlorure de sodium.

Les résultats sont soumis à l'analyse de la variance à deux facteurs et les moyennes sont comparées selon la méthode de Newman et Keuls basée sur la plus petite amplitude significative au seuil 5%. (voir annexes 4-16 ; annexes 17-19).

## IV.1. Les paramètres de croissance

L'analyse de la variance a révélé que tous les paramètres biométriques présentent une différence significative, majoritairement, très hautement significative au seuil  $\alpha = 0.001$  (voir annexes 4 à 9). La réponse de la croissance des 34 lignées de *Medicago truncatula* aux différentes concentrations de sel s'interprète globalement par une diminution des paramètres mesurés corrélativement à l'augmentation de la concentration en NaCl. A l'exception de la variable longueur des racines qui a montré une élévation correspondante au traitement 50 mM de NaCl par rapport au témoin sans sel (Tab. IV.1).

**Tableau IV.1 : Présentation de la moyenne des caractères biométriques chez les 34 lignées de *Medicago truncatula* étudiée aux différentes concentrations de NaCl**

[NaCl] mM	Poids frais de la partie aérienne (g)	Poids frais des racines (g)	Poids sec de la partie aérienne (g)	Poids sec des racines (g)	Longueur des racines (cm)	Longueur des racines de la partie aérienne (cm)
0	0,178	0,163	0,025	0,014	15,193	8,971
50	0,153	0,099	0,021	0,008	<b>17,230</b>	6,000
100	0,092	0,051	0,013	0,004	11,536	3,598
150	0,063	0,021	0,010	0,002	6,034	1,829
200	0,035	0,009	0,007	0,001	2,647	1,219

Après quelques jours de culture en milieu salin la croissance des feuilles et des racines s'établit mais à un taux réduit et stable. La salinité réduit souvent plus la croissance des feuilles que celle des racines, un phénomène rencontré également chez les plantes soumises au stress hydrique (Hsiao et Xu, 2000; Munns et Sharp 1993). Ce qui laisse penser que ce comportement est plutôt lié à l'effet osmotique du sel qu'à son effet spécifique. Mais cela n'est fondé que lorsque la concentration de NaCl est inférieure au seuil toxique à la cellule (Hu et Schmidhalter, 1998). Ainsi, l'augmentation de la longueur des racines, de nos lignées, n'est observée qu'à la concentration 50 mM de NaCl ; au-delà de cette application modérée du sel la longueur racinaire diminue. En général, les stress abiotiques affectent

sévèrement la croissance et l'architecture des racines et altèrent plusieurs fonctions d'ordre physiologiques, biochimiques et moléculaires à différentes zones racinaires (Shorp *et al.*, 2004).

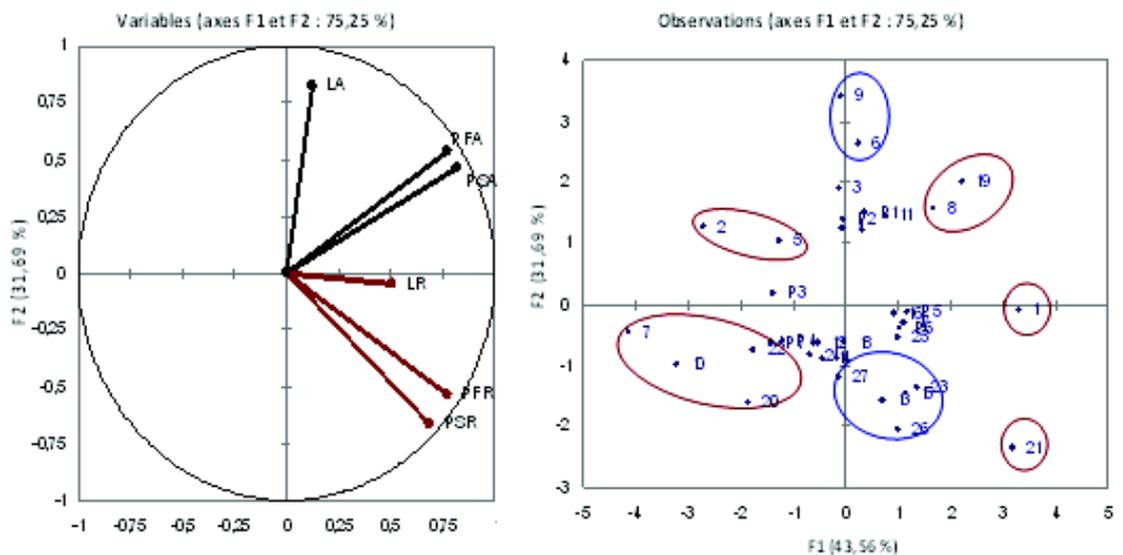
#### IV.1.1. Comparaison de la croissance des lignées en absence de stress

Durant 37 jours de culture en conditions strictement contrôlées dans un milieu non stressé, les vitroplants des 34 lignées de *Medicago truncatula* étudiées étalent une individualisation de croissance pouvant présenter, cependant, des amoncellements de comportement. C'est ce que révèle l'analyse en composante principale (fig. IV. 1) où le cercle de corrélation établi par les variables retenues et les axes (F1 & F2), montre qu'à l'axe F1, contribuent surtout les facteurs étudiés PSA, PFA, PFR et à un degré moins le facteur PSR, de la sorte cette axe représente le développement en biomasse des lignées étudiées.

L'axe 2, symbolise, plutôt la longueur de la partie aérienne du vitroplant.

La répartition des individus sur le plan, antérieurement décrit, nous permet de distinguer ceux ayant un bon développement du système aérien et racinaire, c'est le cas des lignées : 21 (ALG431.397) ,1(ALG255.146), 19 (ALG423.379), 8 (ALG327.239), tandis que les lignées 7 (ALG310.209), 10 (ALG334.270), 20 (ALG429.393) dévoilent une croissance chétive et à une échelle moins déclarée les lignées 2 (ALG266.156), 5 (ALG299.185).

Parmi les 34 génotypes étudiés, la longueur du système aérien élite est enregistrée par la lignée 9 (ALG331.252) suivie par la lignée 6 (ALG308.205), alors que les vitroplants 27 (ALG453.487), 13 (ALG402.319), 26 (ALG448.464), 23 (ALG432.406), 15 (ALG405.340) marquent la longueur la plus faible.



Code des lignées : 1 (ALG255.146), 2 (ALG266.156), 3 (ALG294.168), 4 (ALG294.169), 5 (ALG299.185), 6 (ALG308.205), 7 (ALG310.209), 8 (ALG327.239), 9 (ALG331.252), 10 (ALG334.270), 11 (ALG348.301), 12 (ALG400.311), 13 (ALG402.319), 14 (ALG404.328), 15 (ALG405.340), 16 (ALG412.365), 17 (ALG418.370), 18 (ALG418.374), 19 (ALG423.379), 20 (ALG429.393), 21 (ALG431.397), 22 (ALG431.401), 23 (ALG432.406), 24 (ALG433.407), 25 (ALG440.439), 26 (ALG448.464), 27 (ALG453.487), F1(A.20), F2 (DZA045.5), F3 (DZA315.16), F4 (F83005.5), F5 (TN.1.11), F6 (TN.1.21), F7 (TN.8.3)

— Lié à l'axe 1 ; — Lié à l'axe 2.

Figure IV.1: Cercle des corrélations et plan de répartition des individus de l'essai témoin.

Pour chaque variable étudiée, on distingue, que sans stress salin et sous condition similaire, les 34 lignées ont exposé une variabilité de comportement (Fig. IV.2, annexes 20). L'ensemble des caractères étudiés de la partie aérienne est très hautement significative. Ainsi, le poids frais s'échelonne entre 0,27 et 0,09g correspondant respectivement aux génotypes ALG423.379 et ALG310.209. Le reste des lignées s'organise en 12 groupes homogènes qui se chevauchent.

Le poids sec varie de 0,036 à 0,015 g exprimé par ALG255.146 et ALG334.270 respectivement. La longueur de la partie aérienne des lignées testées a enregistré des grandeurs comprises entre 13 et 5,5 cm, à l'exception de la lignée ALG 331.252 dont la longueur est la plus élevée 20,33 cm formant à elle seule un groupe bien distinct par rapport aux 11 autres groupes pour lesquels la plus part des lignées sont intermédiaires.

Quant aux racines la variabilité de l'ensemble des caractères retenus est très hautement significative. Le poids frais oscille entre 0,36 et 0,023 g, les deux bornes sont manifestées par deux lignées, la borne supérieure par ALG431.397 et inférieure par ALG266.159, les autres 32 lignées se répartissent entre 11 groupes. Le poids sec des racines varie entre 0,028 et 0,0053 g relative à ALG431.397 et à ALG266.159 les génotypes restants se classent en 13 groupes. La longueur des racines s'alterne entre 8,57 et 19,17 cm développée respectivement par ALG310.209 et ALG 405.340, le reste des lignées étudiées se structurent en 7 groupes.

Cette variabilité peut être également liée aux conditions de culture (Lazerk, 2008). L'agar diminue la croissance racinaire, de même la limitation de l'espace disponible à la plante due au tube, peut influencer le développement racinaire.

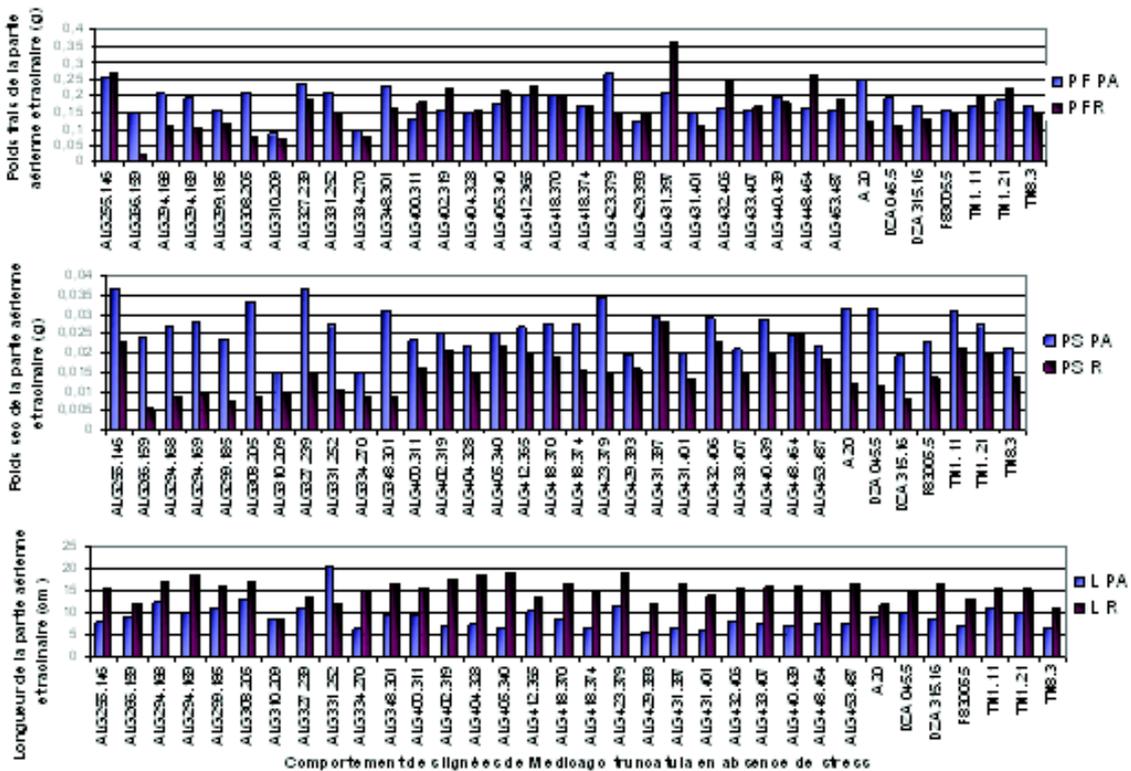


Figure IV. 2 : Variabilité des 34 lignées pour les paramètres de croissance en absence de stress.

#### IV. 1.2. Effet de NaCl sur la croissance des lignées par rapport à leurs témoins

---

Soumises au stress salin les lignées étudiées reflètent une croissance et un développement variables en fonction de l'intensité du stress et de la lignée de *Medicago truncatula*.

Dans les conditions d'un stress modéré, 50mM de NaCl (Fig. IV. 3), le poids frais de la partie aérienne dans l'ensemble a présenté 88,9% du témoin, de ceci la plupart des lignées subissent une diminution légère du poids frais de la partie aérienne comparativement aux témoins respectifs à l'exception des lignées ALG299.185, **ALG310.209**, **ALG334.270**, ALG402.319, **ALG405.340**, **ALG418.370**, ALG429.393, ALG432.406, **ALG433.407**, ALG440.439, DZA315.16, TN1.11, qui étaient mieux développées que leurs témoins (16,12% de plus). Pour le poids sec de la partie aérienne, les 34 lignées ont présenté visiblement des valeurs assez proches de leurs témoins (79,54%) cependant inférieur ; Par contre, ALG294.169, **ALG310.209**, **ALG334.270**, **ALG405.340**, **ALG418.370**, **ALG433.407** ont étalé en moyenne une masse sèche de la partie aérienne supérieure ou égale à 23% de celles de leurs témoins. La plupart des lignées étudiées ont eu un poids frais et sec des racines ne dépassant pas les 61% de leurs témoins, sauf les lignées ALG331.252 et **ALG334.270** qui ont manifesté une masse fraîche des racines supérieure à celle de leurs témoins d'environ 25% et les lignées **ALG334.270**, ALG348.301 qui ont surpassé leur témoin en poids sec des racines par 50%. Pour le paramètre longueur des racines le comportement des lignées excède de 13,5% celui du contrôle sans sel. Toutefois, les lignées ALG 266.159, ALG 294.169, ALG400.311, ALG404.328, ALG412.365, ALG418.374, ALG423.379, ALG440.439, ALG453.487, DZA315.16, F83005.5 ont eu des racines moins longues d'environ 13% du témoin. Par contre, la longueur de la partie aérienne des 34 lignées de *Medicago truncatula* dans l'ensemble n'a pu maintenir que 66,89% du témoin ; la lignée **ALG418.370**, quant à elle, a pu conserver une longueur égale à 104,63 % du témoin.

Donc le comportement des lignées sans stress et sous le stress 50mM est différent. Certaines lignées sont affectées positivement (Fig. IV.3.) et d'autres négativement.

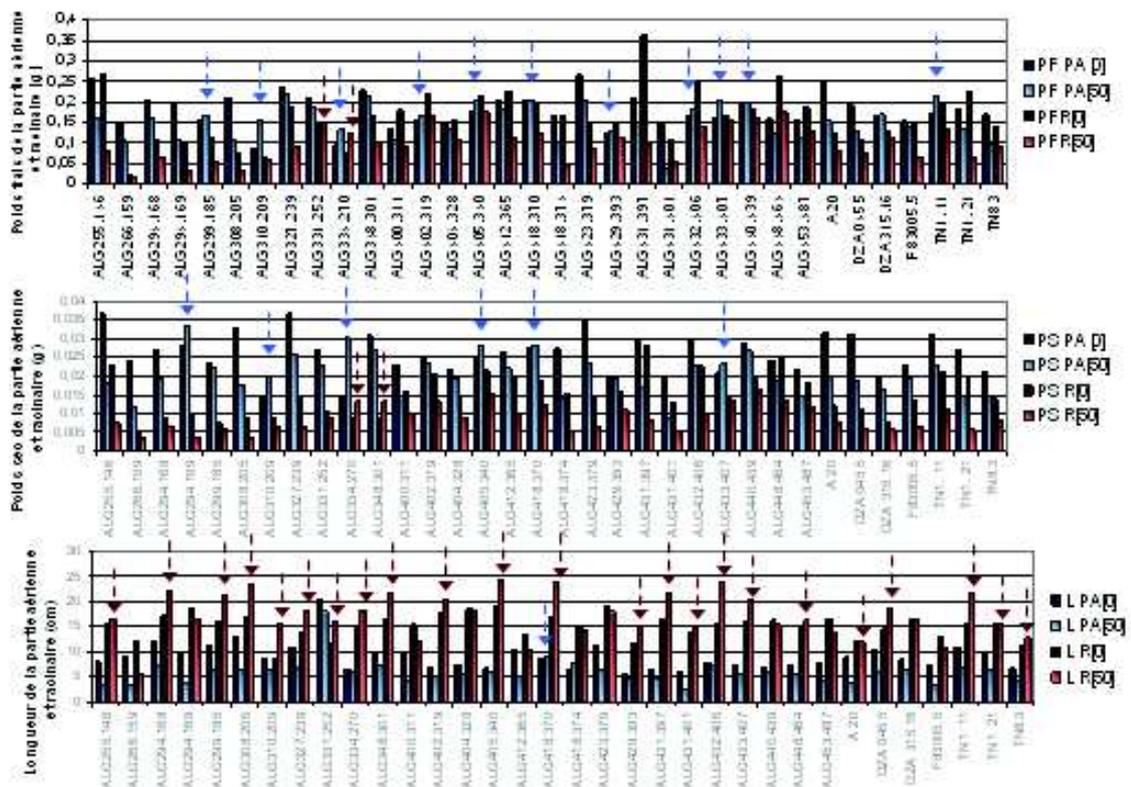


Figure IV.3 : Comparaison du comportement des 34 lignées sans et sous stress salin (50 mM de NaCl)

pour les 6 paramètres biométriques étudiées (PF PA, poids frais partie aérienne ; PF R, poids frais des racines ; PS PA, poids sec partie aérienne ; PS R, poids sec des racines ; L R, longueur des racines ; L A, longueur de la partie aérienne). Les flèches en bleu (PA) et en rouge (PR) montrent la lignée dont la masse à la concentration 100 mM se rapproche de leur témoin qui est sans stress). Les flèches en pointillées désignent les lignées surpassant le témoin (bleu : pour PA ; rouge : pour R)

Dans un milieu contenant 100 mM de NaCl, le poids frais de la partie aérienne de la majorité des lignées étudiées est fortement affecté et on enregistre une masse ne dépassant pas les 50% du témoin. Cependant, 4 lignées ne se comportent pas de la même façon et enregistrent par contre une masse très proche sinon dépassant celle de leur contrôle sans sel **ALG299.185**, **ALG418.370**, **ALG310.209** et **ALG405.340** montrant 82,76%, 91,83 %, 95,78 %, 103,23 % du témoin respectivement (Fig. IV. 4 & Fig. IV. 5). Pour un stress plus sévère, 100 mM de NaCl, la réduction du poids sec de la partie aérienne par rapport à leur témoin varie de 79,54 à 50,9 %. Sous le même stress (100mM), le poids frais des racines des lignées étudiées est sérieusement affaibli, il ne dépasse pas 31% du témoin ; une lignée a fait l'exception (**ALG331.252**) et a préservé un poids qui est légèrement supérieur à celui de son témoin (Fig. IV. 6 & Fig. IV.7). Également le poids sec des racines des vitroplants s'est amoindri de presque 27 % par rapport au témoin de chaque lignée.

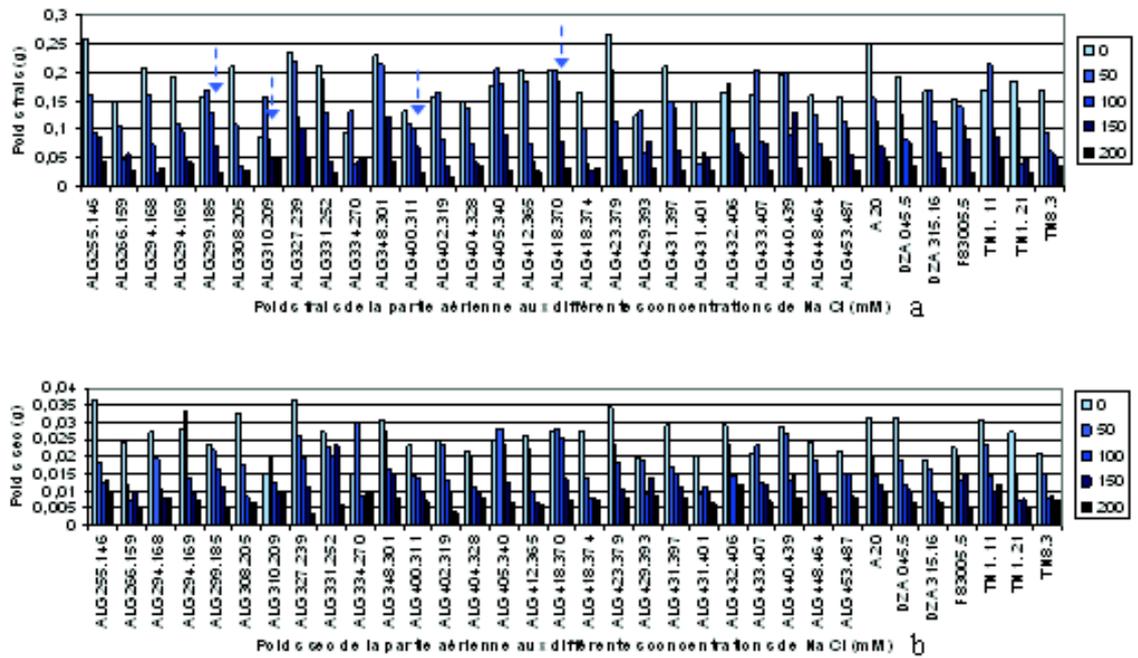


Figure IV.4 : Variation du poids frais (a) et sec (b) de la partie aérienne des 34 lignées de *Medicago truncatula* après 37 jours de culture sous différentes concentrations de NaCl (50, 100, 150 et 200 mM) (Les flèches désignent la lignée dont la masse à la concentration 100 mM se rapproche de celle du témoin).

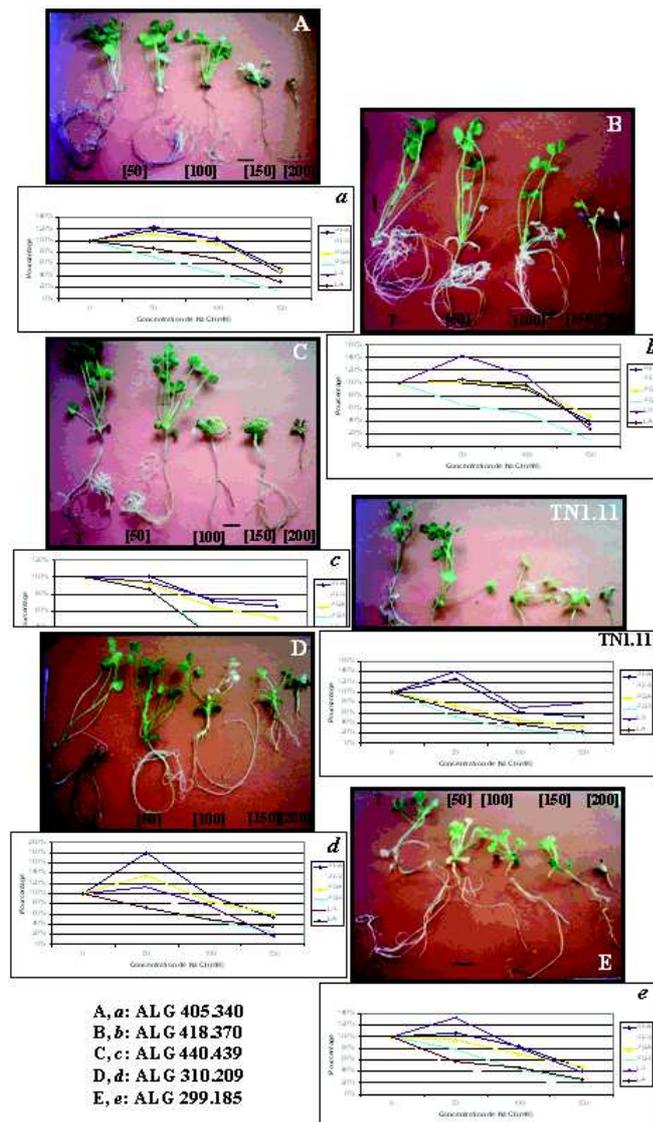


Figure IV. 5 : Variabilité phénotypique par rapport au témoin (%) de certains vitro-pousses sous différents stress salin (50, 100, 150 mM de NaCl) durant 37 jours , (PFA, poids frais partie aérienne ; PFR, poids frais des racines ; PSA, poids sec partie aérienne ; PSR, poids sec des racines ; LR, longueur des racines ; LA, longueur de la partie aérienne. Barre = 1 cm).

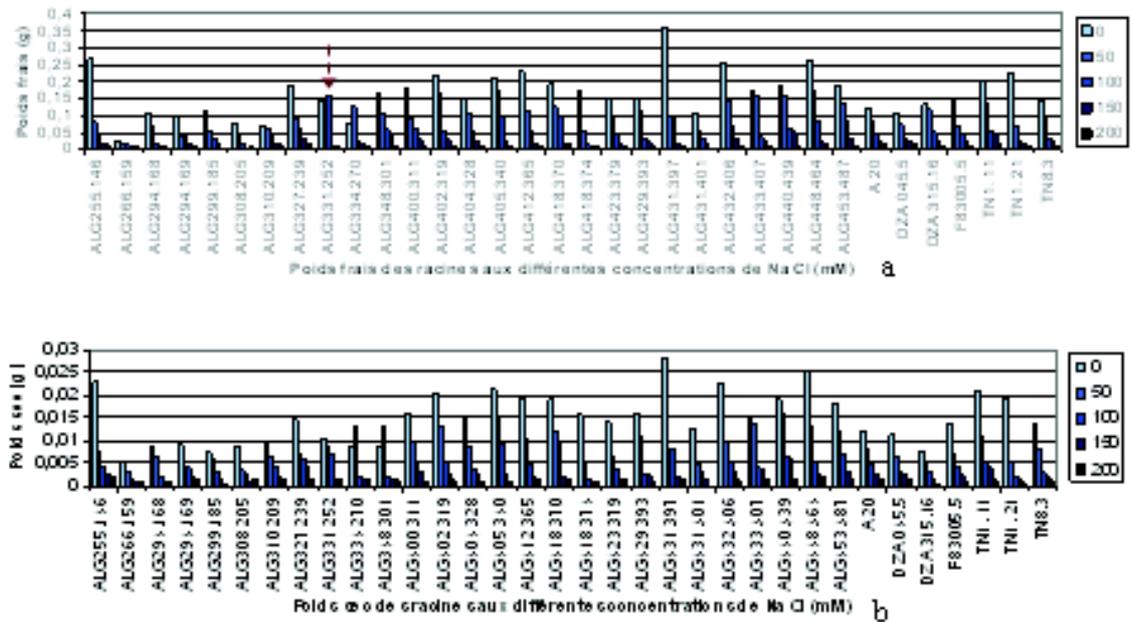


Figure IV.6 : Variation du poids frais (a) et sec (b) des racines des 34 lignées de *Medicago truncatula* après 37 jours de culture en différentes concentrations de NaCl (mM) ; flèche en pointillé indique la lignée qui a un poids frais des racines supérieur à celui de son témoin à 100 mM de NaCl.

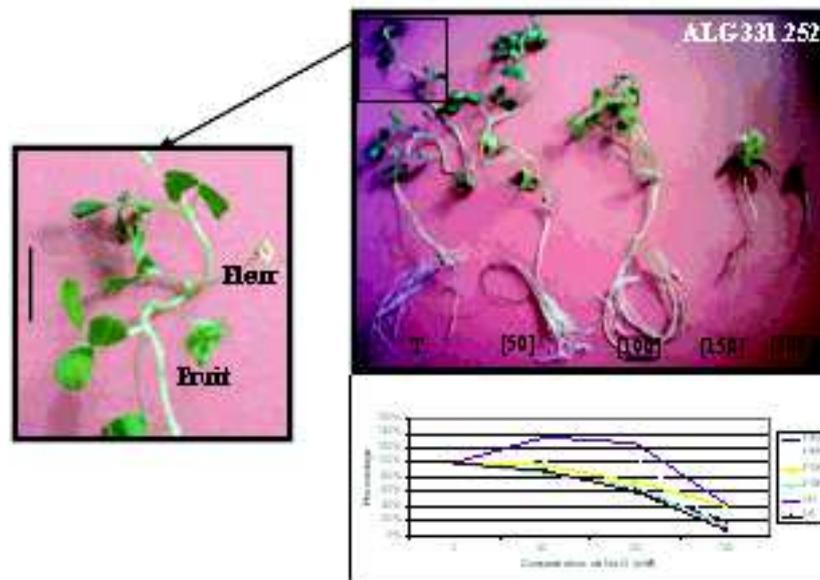


Figure IV.7 : Variabilité phénotypique par rapport au témoin (%) de ALG331.252 sous différents stress salin (50, 100, 150 mM de NaCl) durant 37 jours, (PFA, poids frais partie aérienne ; PFR, poids frais des racines ; PSA, poids sec partie aérienne ; PSR, poids sec des racines ; LR, longueur des racines ; LA, longueur de la partie aérienne. Barre = 1 cm).

Les lignées de *Medicago truncatula* qui ont exprimé une longueur racinaire plus importante que celle du témoin pour la concentration 50 mM de sel, pour la dose double de sel, ces lignées n'ont montré que 76.54% du témoin. Cependant, les lignées suivantes ALG310.209, ALG327.239, ALG331.252, ALG405.340, ALG418.370,

ALG429.393, ALG431.397, ALG432.406 ont eu une hausse de longueur d'environ 17,79 % par rapport à leur témoin (Fig. IV. 8).

La longueur de la partie aérienne des 34 lignées de *Medicago truncatula* en milieu contenant 100 mM de NaCl a subi une baisse de l'ordre de 40 % du témoin (Fig. IV. 8).

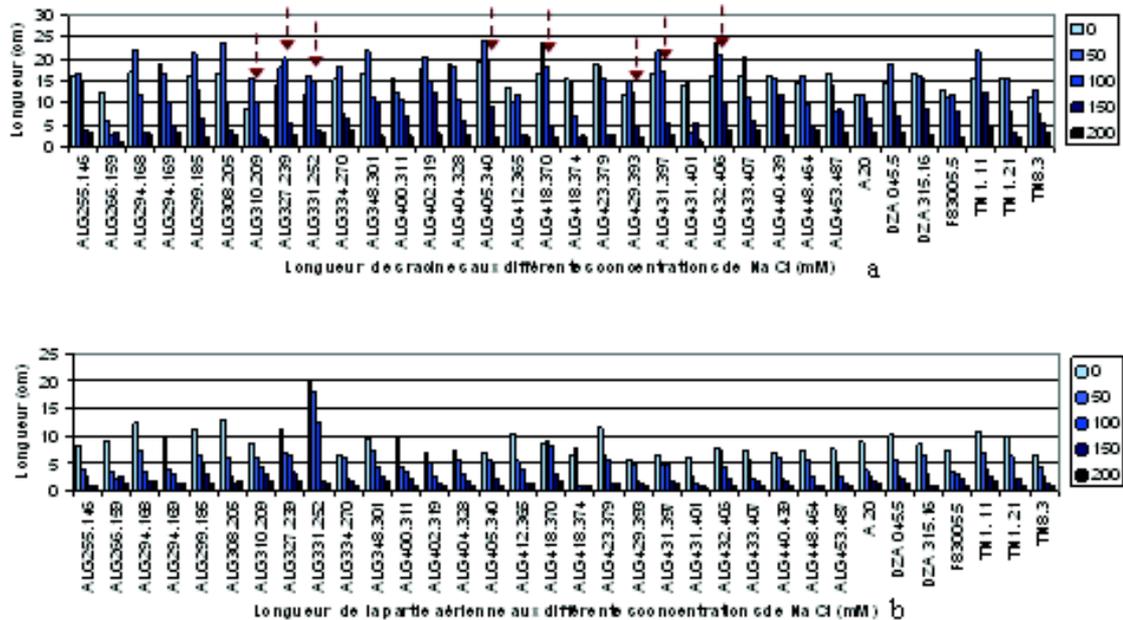


Figure IV.8 : Variation de la longueur des racines (a) et la partie aérienne (b) des 34 lignées de *Medicago truncatula* après 37 jours de culture sous différentes concentrations de NaCl (mM) ; flèche en pointillé indique les lignées dont la longueur des racines est égale ou supérieure à celle du témoin à 100 mM de NaCl.

Aux concentrations 100, 150 et 200 mM de NaCl nos résultats montrent globalement un effet dépressif du sel sur la croissance et le développement des lignées de *Medicago truncatula* ce qui concorde avec ceux d'autres études. La réaction de *Medicago truncatula* à la salinité au stade végétatif se traduit par une production de matière sèche restreinte pour NaCl (110 mM, 160 mM), cet effet est lié à une réduction de la surface foliaire plutôt qu'à une baisse de la vitesse d'assimilation nette de CO<sub>2</sub> (Abdelly *et al.*, 1995). Il a été rapporté aussi que des concentrations de 100 ou 150 mM de NaCl réduisent sévèrement la croissance des racines et la partie aérienne de *Medicago truncatula* Jemalong, et que la concentration 150 mM de NaCl inhibe l'activité méristématique des racines de *Medicago truncatula* (Merchan *et al.*, 2003 ; 2007). Ainsi pour un stress particulièrement sévère, 150 mM de NaCl, le poids frais de la partie aérienne des lignées étudiées ne présente que 35,75 % du poids de leur témoin, pratiquement 2 tiers de la vigueur du vitroplant sont atténués par cette dose. Cependant, une minorité de lignées pour lesquelles, la concentration 150 mM, n'a réduit le poids frais des pousses que de 48,38 %, presque la moitié du témoin homologue, ce sont **ALG440.439**, **ALG348.301**, **ALG327.239**, **ALG255.146**, **TN1.11** (Fig. IV. 9). On constate que, chez toutes les lignées, cette dose de sel affecte fortement la croissance d'ailleurs : le poids sec de la partie aérienne, le poids frais et sec des racines, l'enracinement et la longueur de la partie aérienne ne dépassent respectivement guère en moyenne 50 %, 13%, 15,5 %, 40 %, 21,5 % de leurs témoins similaires.

Les résultats obtenus pour le traitement 200 mM indiquent que la croissance est pratiquement inhibée et cela pour toutes les lignées étudiées ; d'ailleurs elles ont dévoilé un

poids frais et sec de la partie aérienne ne dépassant pas 20 % et 28 %, le poids de leurs témoins respectives, un poids frais et sec des racines ne surpassant pas 6 % et 8,66 %, le poids du témoin, et une longueur des racines et de la partie aérienne 17,44 %, 13,69 % ne dépassant pas celle du témoin.

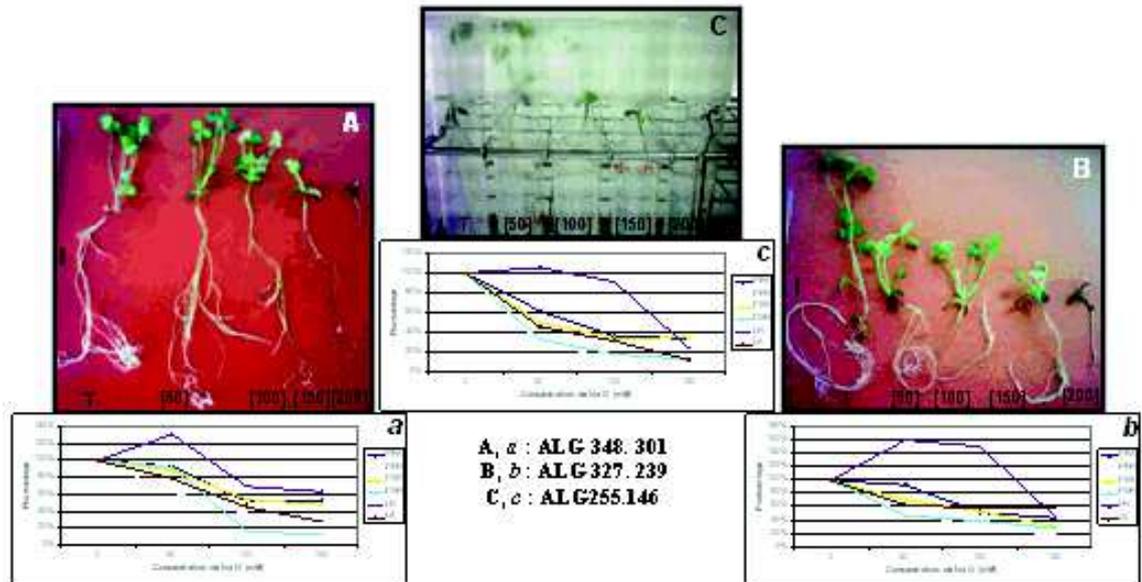


Figure IV.9 : Variabilité phénotypique par rapport au témoin (%) de trois lignées (A,B et C) sous différents stress salin (50, 100, 150 mM de NaCl) durant 37 jours, (PFA, poids frais partie aérienne ; PFR, poids frais des racines ; PSA, poids sec partie aérienne ; PSR, poids sec des racines ; LR, longueur des racines ; LA, longueur de la partie aérienne. Barre = 1 cm).

### IV.1.3. L'indice de sensibilité

L'inhibition de la croissance de la partie racinaire et aérienne est une réponse adjointe à la salinité. On sait que la croissance des plantes est l'un des plus importants indices agricoles de tolérance au stress salin, d'ailleurs, c'est ce que beaucoup d'études ont indiqué (Munns, 2002; Ruiz *et al.*, 2005). Alors, nous avons calculé l'indice de sensibilité (IS) pour le paramètre poids frais et sec de la partie aérienne et racinaire, consécutivement, pour mieux apprécier nos lignées pour les concentrations 50, 100, 150 mM de chlorure de sodium. Pour la concentration 200 mM, toutes les lignées réagissent de la même façon, elles sont énormément sensibles et la croissance est complètement réduite, à ce stade la comparaison des lignées à base de l'IS n'est plus significative.

#### IV.1.3.1. Indice de sensibilité pour les poids frais et sec de la partie aérienne

Pour la concentration 50 mM de NaCl les 34 lignées de *Medicago truncatula* ont réagi différemment, les gammes changent des plantes non sensibles vers les moyennement sensibles pour arriver aux individus sensibles. Plus de la moitié des lignées étudiées ont eu un poids frais de la partie aérienne légèrement amoindri sinon croissant, le reste des lignées dites sensibles ont eu un indice égal en moyenne à -37,34 % (Fig. IV.10).

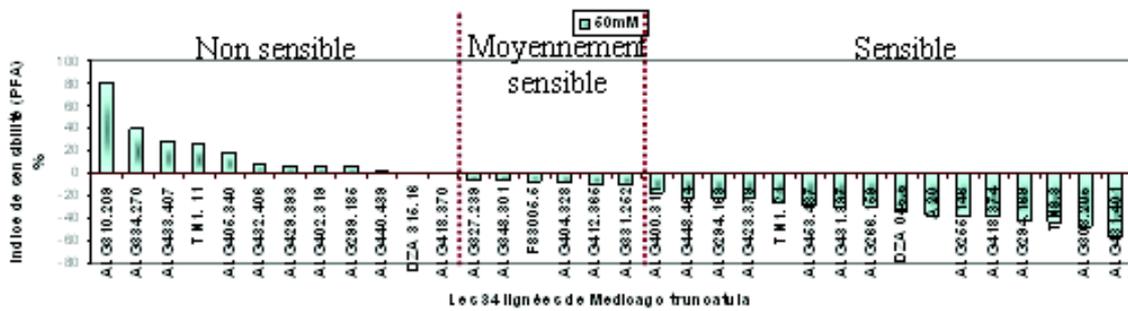


Figure IV. 10 : Classement décroissant des 34 lignées selon l'indice de sensibilité sous l'effet de 50 mM de NaCl pour le paramètre poids frais de la partie aérienne.

Une douzaine de lignées tolèrent cette dose de sel : ALG310.209, ALG334.270, ALG433.407, TN1.11, ALG405.340, ALG432.406, ALG429.393, ALG299.185, ALG440.439, DZA315.16, ALG418.370 (Fig. IV.11), les deux premières c'est-à-dire ALG310.209, ALG334.270, dans le milieu non stressé ont présenté la masse la plus faible parmi les 34 lignées étudiées alors que dans 50 mM de NaCl, elles ont pris le dessus (voir Fig. IV.2.). Les géotypes peu sensibles expriment moyennement un indice égal à -8,47 % ce sont : ALG327.239, ALG348.301, F83005.5, ALG404.328, ALG412.365, ALG331.252 (Fig. IV. 12)

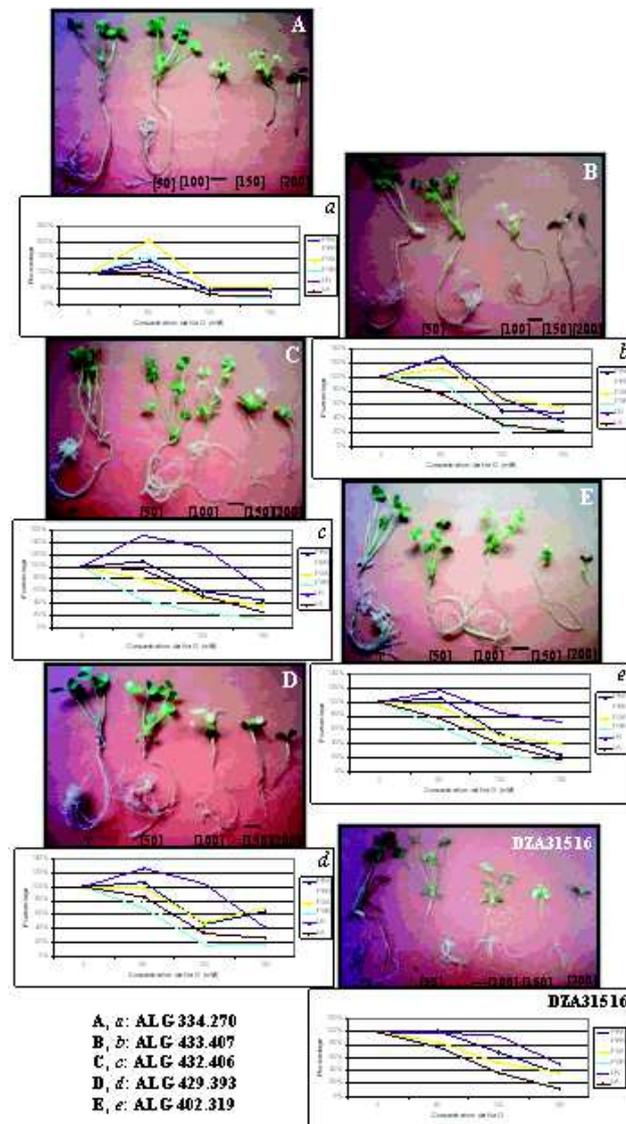


Figure IV. 11 : Variabilité phénotypique par rapport au témoin (%) de certaines lignées (A,B,C,D,E et DZA315.16) sous différents stress salin (50, 100, 150 mM de NaCl) durant 37 jours, (PFA, poids frais partie aérienne ; PFR, poids frais des racines ; PSA, poids sec partie aérienne ; PSR, poids sec des racines ; LR, longueur des racines ; LA, longueur de la partie aérienne. Barre = 1 cm).

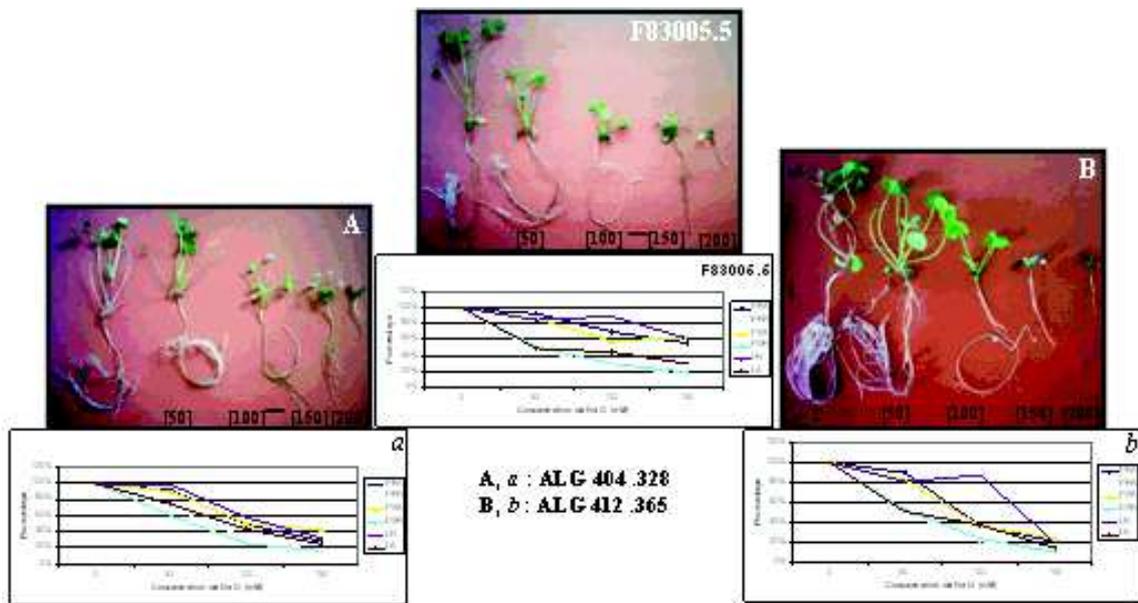


Figure IV. 12: Variabilité phénotypique par rapport au témoin (%) de trois lignées (A, B et F83005.5) sous différents stress salin (50, 100, 150 mM de NaCl) durant 37 jours, (PFA, poids frais partie aérienne ; PFR, poids frais des racines ; PSA, poids sec partie aérienne ; PSR, poids sec des racines ; LR, longueur des racines ; LA, longueur de la partie aérienne. Barre = 1 cm).

Pour ce caractère, ce qu'on peut retirer également, de cette oscillation de sensibilité, est que des lignées appartenant à la même population ont présenté une susceptibilité différente au sel ; en effet les lignées ALG418.370 et TN1.11 sont résistantes, tandis que ALG418.374 et TN 1.21 sont sensibles (Fig. IV. 13).

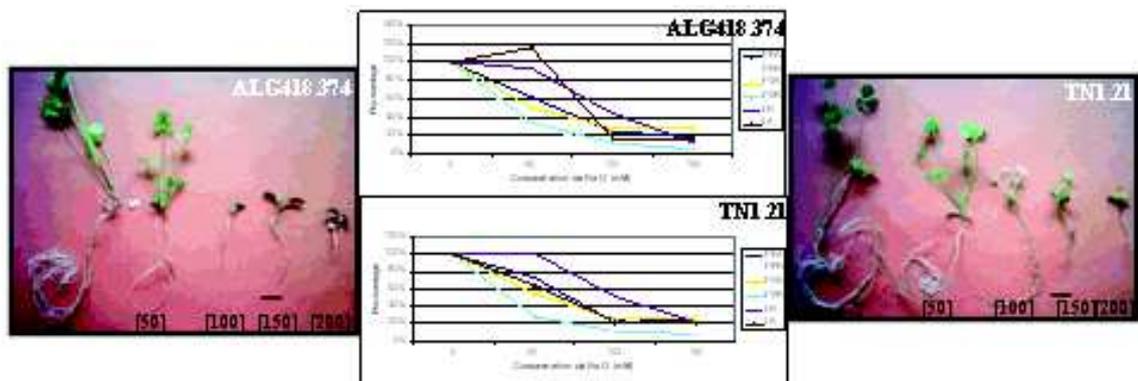


Figure IV. 13 : Variabilité phénotypique par rapport au témoin (%) de ALG418.374 et TN1.21 sous différents stress salin (50, 100, 150 mM de NaCl) durant 37 jours, (PFA, poids frais partie aérienne ; PFR, poids frais des racines ; PSA, poids sec partie aérienne ; PSR, poids sec des racines ; LR, longueur des racines ; LA, longueur de la partie aérienne. Barre = 1 cm).

La dose de sel (100 mM) a révélé un comportement des lignées presque homogène (Fig. IV. 14), une seule lignée a exprimé une non sensibilité vis-à-vis de cette concentration de chlorure de sodium : ALG405.340, douze lignées ont exprimé une sensibilité moyenne : deux d'entre elles ALG310.209 et ALG418.370 ont eu un indice de sensibilité égal à -3,84, -9,37 % respectivement, tandis que les dix autres ALG299.185, ALG400.311, F8005.5,

DZA315.16, ALG440.439, ALG453.487, ALG431.397, TN1.11, ALG331.252, ALG432.406 ont eu dans l'ensemble un IS = -32,32 % (Fig. IV. 15), le reste des 34 lignées est très affecté et présente en moyenne un indice de sensibilité égal à 57,86 %.

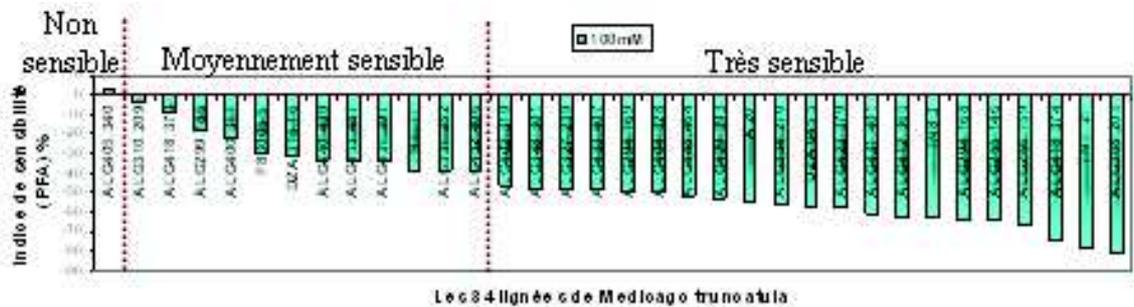


Figure IV. 14 : Classement décroissant des 34 lignées selon l'indice de sensibilité sous l'effet de 100 mM de NaCl pour le paramètre poids frais de la partie aérienne.

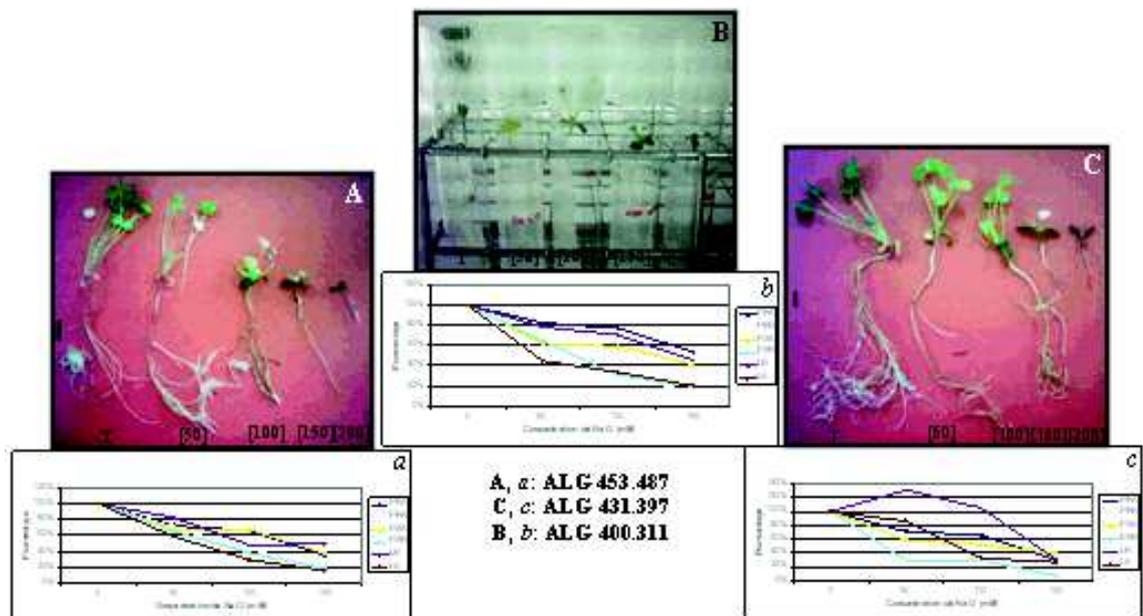


Figure IV. 15 : Variabilité phénotypique par rapport au témoin (%) de trois lignées (A, B et C) sous différents stress salin (50, 100, 150 mM de NaCl) durant 37 jours, (PFA, poids frais partie aérienne ; PFR, poids frais des racines ; PSA, poids sec partie aérienne ; PSR, poids sec des racines ; LR, longueur des racines ; LA, longueur de la partie aérienne. Barre = 1 cm).

Les valeurs de l'indice de sensibilité (IS) pour le traitement 150 mM de NaCl confirment une seconde fois ce qui est mentionné dans la littérature (Fig. IV.16), toutes les lignées réagissent de façon proportionnelle à cette dose de chlorure de sodium, elles sont toutes sensibles sinon extrêmement sensibles. On retient une lignée pour laquelle l'effet du sel est moins prononcé : ALG440.439 avec IS égal à -33,9, relativement au reste des lignées de *Medicago truncatula* étudiées ; on note également que le sel dans cette phase limite le feuillage des vitroplants aux cotylédons qui ont une apparence cireuse, au métamère m1, rarement m2 et m3 avec une surface foliaire très réduite souvent associée à un jaunissement ou des nécroses aux extrémités des feuilles (Fig. IV. 17, Fig. IV. 18), symptômes rapportés aussi par d'autres auteurs (Francois *et al.*, 1986 ; Mass et Grieve, 1986, 1990 ; Munns et

Termatt, 1986 ; Munns *et al.*, 1988 ; Bernstein *et al.*, 1993 ; Francois *et al.*, 1994 ; Al-Karaki, 2001 ; Wang *et al.*, 2001).

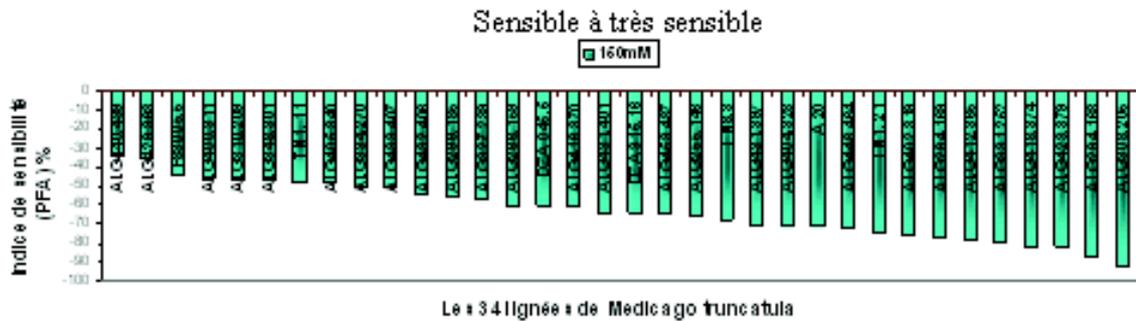


Figure IV. 16 : Classement décroissant des 34 lignées selon l'indice de sensibilité sous l'effet de 150 mM de NaCl pour le paramètre poids frais de la partie aérienne.

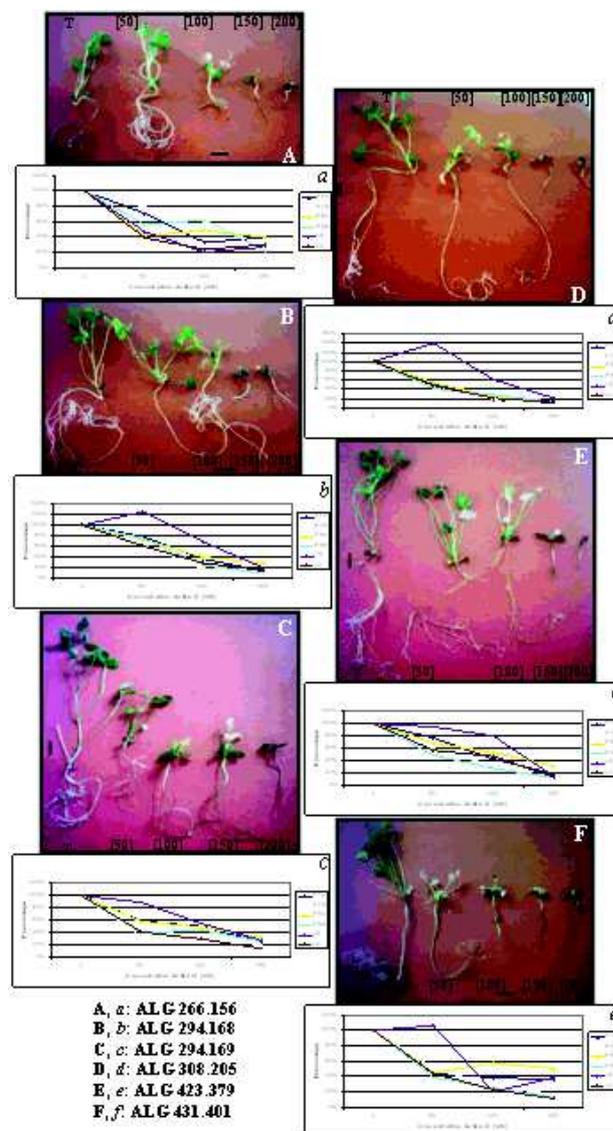


Figure IV. 17 : Variabilité phénotypique par rapport au témoin (%) de certaines lignées (A, B, C, D, E, et F) sous différents stress salin (50, 100, 150

mM de NaCl) durant 37 jours, (PFA, poids frais partie aérienne ; PFR, poids frais des racines ; PSA, poids sec partie aérienne ; PSR, poids sec des racines ; LR, longueur des racines ; LA, longueur de la partie aérienne. Barre = 1 cm).

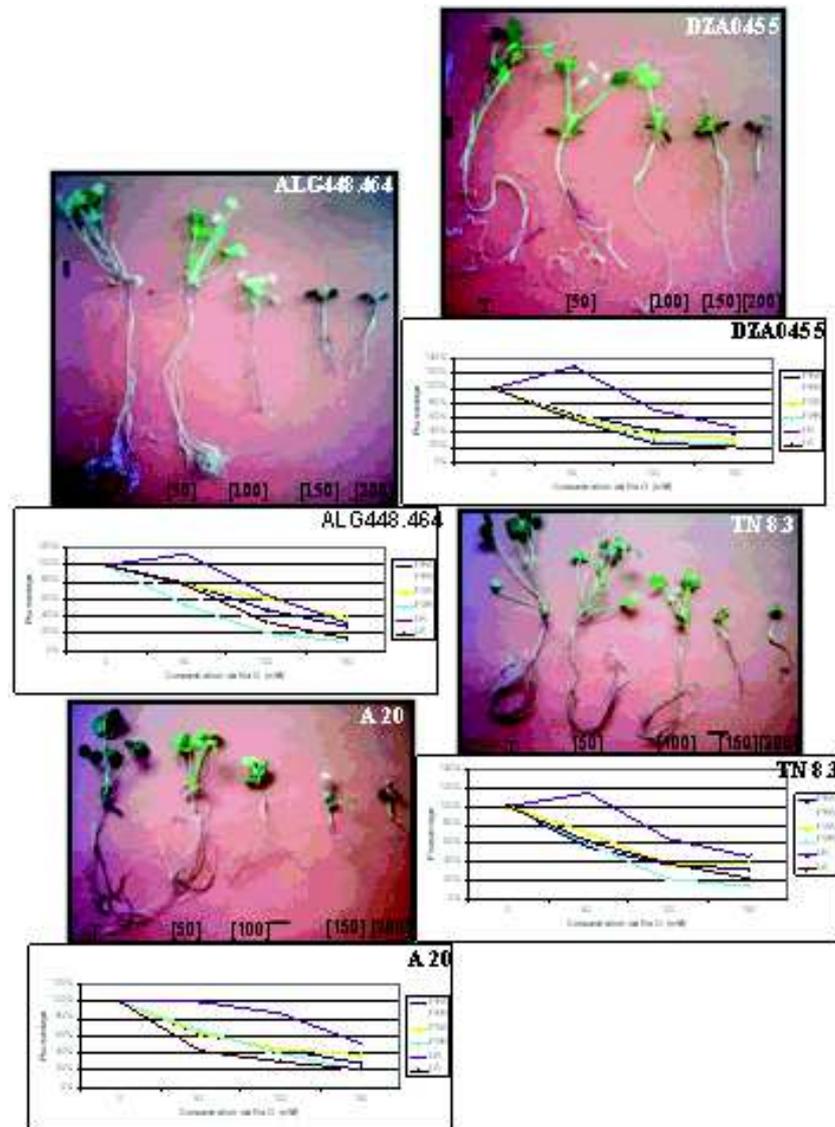


Figure IV. 18 : Variabilité phénotypique par rapport au témoin (%) de certaines lignées (DZA045.5, ALG448.464, TN8.3 et A20) sous différents stress salin (50, 100, 150 mM de NaCl) durant 37 jours, (PFA, poids frais partie aérienne ; PFR, poids frais des racines ; PSA, poids sec partie aérienne ; PSR, poids sec des racines ; LR, longueur des racines ; LA, longueur de la partie aérienne. Barre = 1 cm).

Le poids sec de la partie aérienne expose aussi la même démonstration de l'indice de sensibilité que celle du poids frais ; ainsi la concentration 50 mM de NaCl (Fig. IV. 19.A) témoigne globalement une sensibilité peu accentuée des plantes étudiées, d'ailleurs l'IS varie de +105,94 à -54,96 %, les lignées non sensibles sont ALG334.270, ALG310.209, ALG294.169, ALG405.340, ALG433.407, ALG418.370 et ALG429.393 exprimant toutes également une non sensibilité vis-à-vis du poids frais à l'exception de la lignée ALG294.169 qui est sensible. Les lignées peu sensibles sont au nombre de 17 ayant en moyenne un

indice de sensibilité égal à -18,72 % ; les dix autres lignées présentent dans l'ensemble un IS = -45,29%.

Pour la dose 100 mM de sel (Fig. IV. 19.B), les 34 lignées dévoilent toutes un indice de sensibilité négatif ; les lignées ALG405.340, ALG418.370, ALG310.209, les moins sensibles, présentent en moyenne un IS = -9,17 %. Ces lignées ont eu le même comportement pour le poids frais de la partie aérienne. Les lignées modérément sensibles disposent d'un indice de sensibilité allant de -26,37 à -49,77 % la première valeur étant enregistrée par la lignée ALG331.252. Aussi le reste des lignées est considérablement sensible et a en moyenne un IS = -61,605 %.

La culture dans 150 mM de chlorure de sodium (Fig. IV. 19.C) réduit notablement la masse sèche de la partie aérienne des 34 lignées de *Medicago truncatula* seule la lignée ALG331.252 a montré un IS = -14,66% le plus élevé parmi les autres.

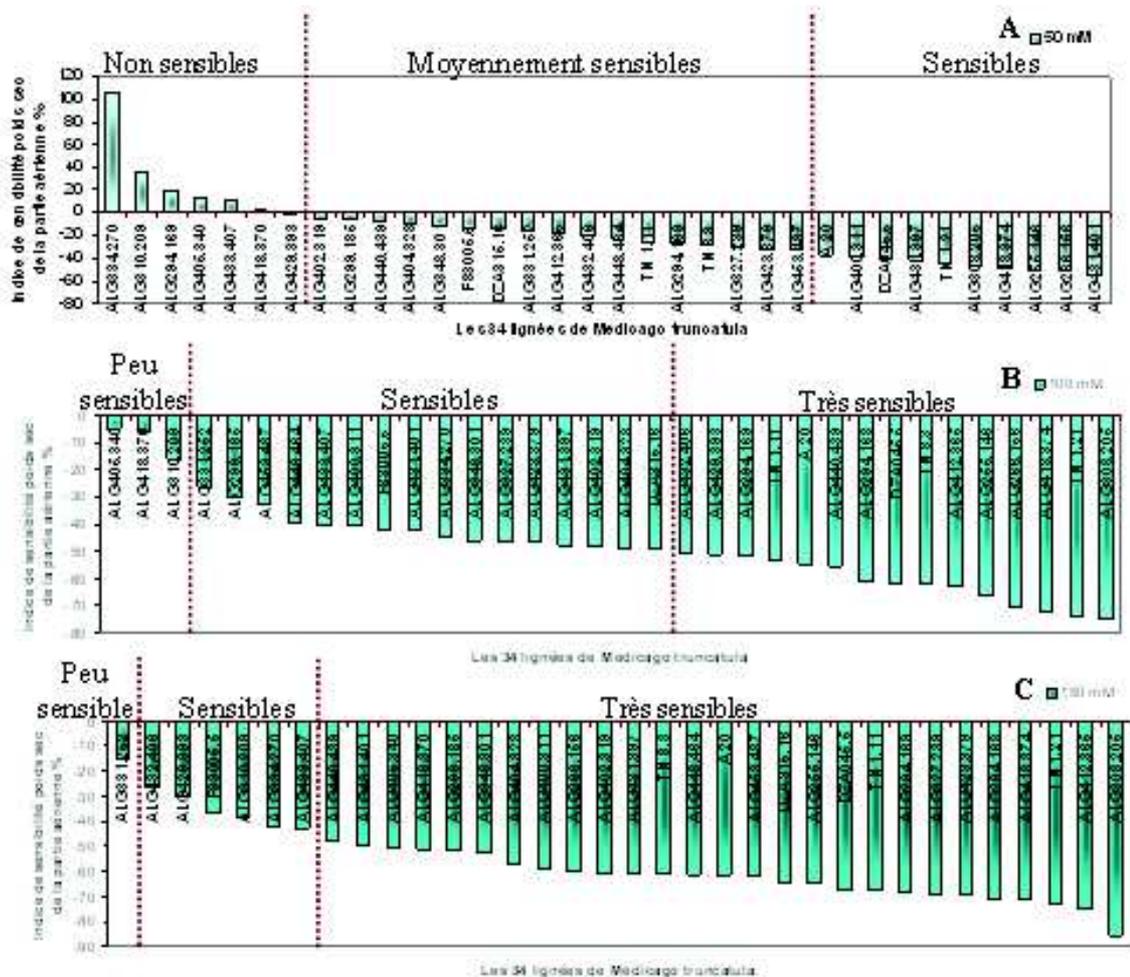


Figure IV. 19: Classement décroissant des lignées étudiées selon leur indice de sensibilité pour le paramètre poids sec de la partie aérienne sous l'effet de 50 mM (A), 100 mM (B) et 150 mM (C) de NaCl.

#### IV .1.3.2 . Indice de sensibilité pour les poids frais et sec des racines

La croissance des racines est sérieusement affectée comparée à la croissance de la partie aérienne où plusieurs lignées ont affiché une non sensibilité ou une croissance stimulée

par la présence modérée de sel. Toutefois, cette concentration (50 mM) de NaCl est la moins agressive d'ailleurs par rapport au poids frais des racines deux lignées ont exprimé une non sensibilité ALG334.270, ALG331.252, dix-sept lignées ont présenté une sensibilité moyenne avec IS = -25,40 % (Fig. IV. 20.A). Durant la culture en milieu contenant 100 mM de chlorure de sodium, le développement racinaire est réduit chez toutes les lignées exception faite de la lignée ALG331.252 dont la masse racinaire fraîche est plus importante que celle du plant poussant en milieu dépourvu de sel. Ainsi le reste des lignées est soit sensible ou très sensible (Fig. IV. 20.B). Alors que la culture en milieu contenant 150 mM de NaCl unifie la réponse des 34 lignées sur une sensibilité prononcée (Fig. IV. 20.C).

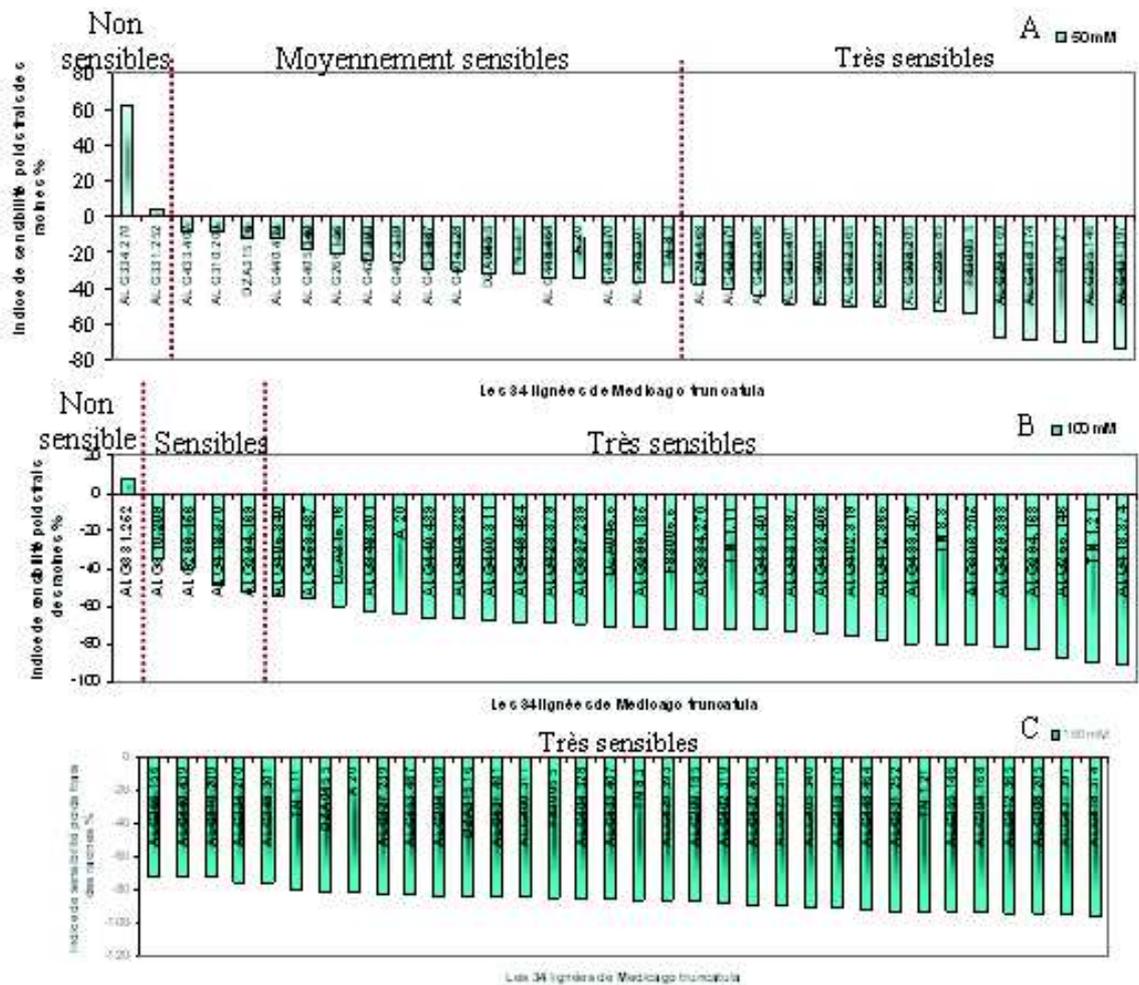


Figure IV. 20: Classement décroissant des lignées étudiées selon leur indice de sensibilité pour le paramètre poids frais des racines sous l'effet de 50 mM (A), 100 mM (B) et 150 mM (C) de NaCl.

Les doses 100 et 150 mM de sel (Fig. IV. 21. B.C) amoindrissent énormément le poids sec des racines de l'ensemble des plantes étudiées, toutes ayant eu un indice de sensibilité négatif fluctuant entre -32,69 et -95,31%. Quant à la concentration 50 mM de chlorure de sodium, une seule lignée marque un indice de sensibilité positif l'ALG334.270 avec IS =

51,44%. Les autres disposent d'un indice de sensibilité variant entre -6,206 et -71,43 % (Fig. IV. 21.A).

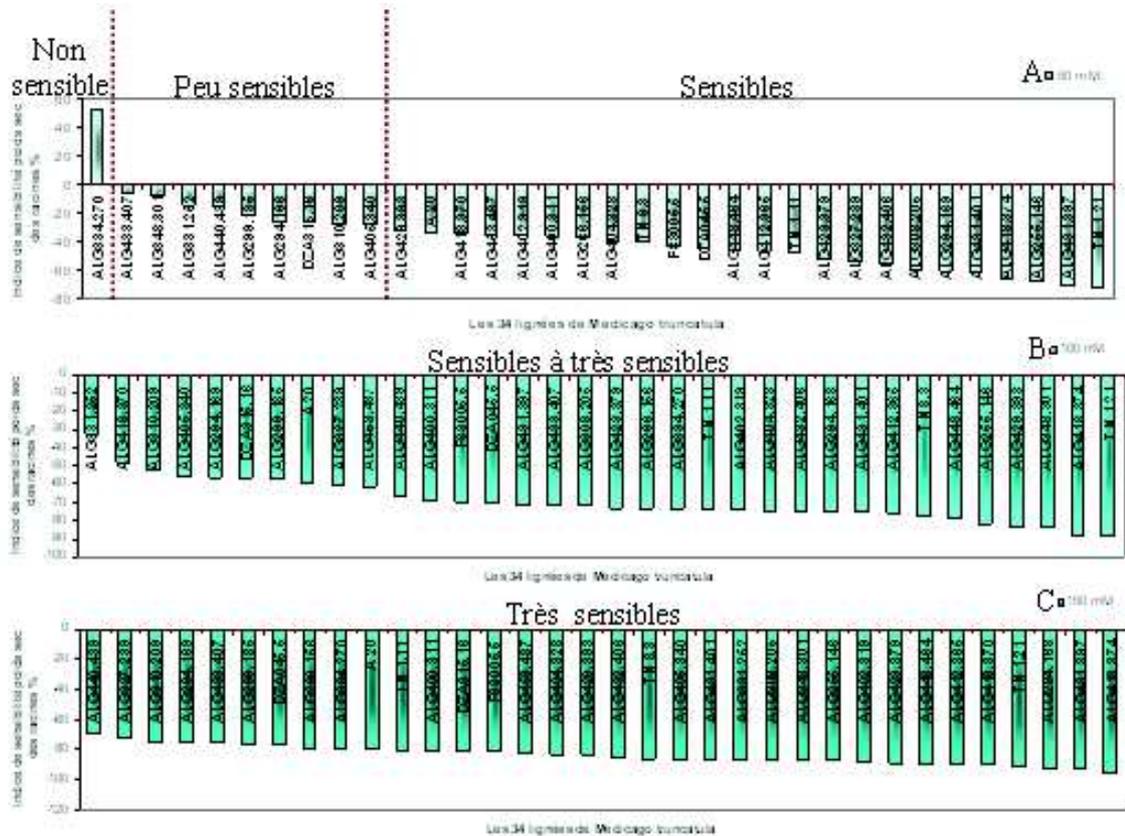


Figure IV. 21: Classement décroissant des lignées étudiées selon leur indice de sensibilité pour le paramètre poids sec des racines sous l'effet de 50 mM (A), 100 mM (B) et 150 mM (C) de NaCl.

Ces résultats s'expliquent par la forte variabilité morphologique et génétique existante intra et inter populations de l'espèce *Medicago truncatula* étant donné la diversification des biotopes qu'elle occupe. Cependant, au niveau individuel, elle présente une forte homozygotie (Bataillon et Ronfort, 2006). Le premier effet du sel est osmotique suivi par l'effet toxique dû aux ions (Munns et Tester, 2008). La salinité affecte généralement la croissance en réduisant le potentiel hydrique et la turgescence cellulaire ; entraînant une diminution de l'expansion des cellules, des entrenœuds et de la surface foliaire (Hasegawa *et al.*, 2000). La tolérance a été définie comme étant la capacité d'un génotype de survivre ou de maintenir un rendement proportionnel relativement à d'autres génotypes tous soumis aux mêmes conditions de stress (Hall, 1993), ou comme étant l'aptitude de produire de la biomasse sous contrainte saline en conditions contrôlées pendant une longue période (Munns, 2002). La tolérance au sel est associée au maintien de la croissance à la fois sous l'effet osmotique et sous l'augmentation du taux d'accumulation de  $\text{Na}^+$ . Toutefois, la réponse à la salinité varie suivant l'ontogénèse de la plante, pour une jeune plante l'augmentation de la tolérance osmotique pourrait être associée à sa capacité à poursuivre le développement de nouvelles feuilles. Tandis que pour les plantes adultes la tolérance au sel des tissus se confirme principalement par le prolongement de survie des feuilles âgées (Munns 2008).

## IV.1.4. Comparaison du comportement des lignées selon les différents stress

### IV. 1.4.1 Caractérisation morphologique

La réalisation de l'ACP, nous permet de présenter graphiquement toute l'information collectée au cours de l'essai, éventuellement, de manière moins encombrante car l'information est capitalisée en deux composantes et autour de celles-ci nous obtenons une perspective de l'attitude des individus étudiés, projetés cependant, sur l'essentiel de la variabilité déterminée par les axes factoriels et non pas toute la variabilité. Nous avons adopté cette analyse statistique à tous nos résultats et discussions.

Concentration 50 mM de NaCl (Fig. IV .22):

L'organisation des variables dans le cercle de corrélation nous communique que l'axe F1 reflète le développement de la partie aérienne et l'axe F2 renvoie vers le développement racinaire des lignées (avec une part de variation égale à 71,73 %).

Autant, l'organisation des individus sur le plan 1-2, nous transmet que les lignées 17 (ALG418.370), 15 (ALG405.340), P5 (TN 1.11), 11 (ALG348.301), 24 (ALG433.407), 23 (ALG432.406), 13 (ALG402.319), 25 (ALG440.439) présentent un bon développement végétatif de l'appareil aérien, par contre les individus 2 (ALG266.156), 22 (ALG431.401), P7 (TN 8.3), 12 (ALG400.311) marquent la croissance aérienne la plus faible parmi les 34 lignées étudiées. Les vitroplants 3 (ALG294.168), 5 (ALG299.185), 19 (ALG423.379), 6 (ALG308.205), 8 (ALG327.239) montrent une croissance racinaire modeste. Par contre, les lignées 20 (ALG429.393), 27 (ALG453.487), 26 (ALG448.464) dévoilent un développement acceptable du système racinaire.

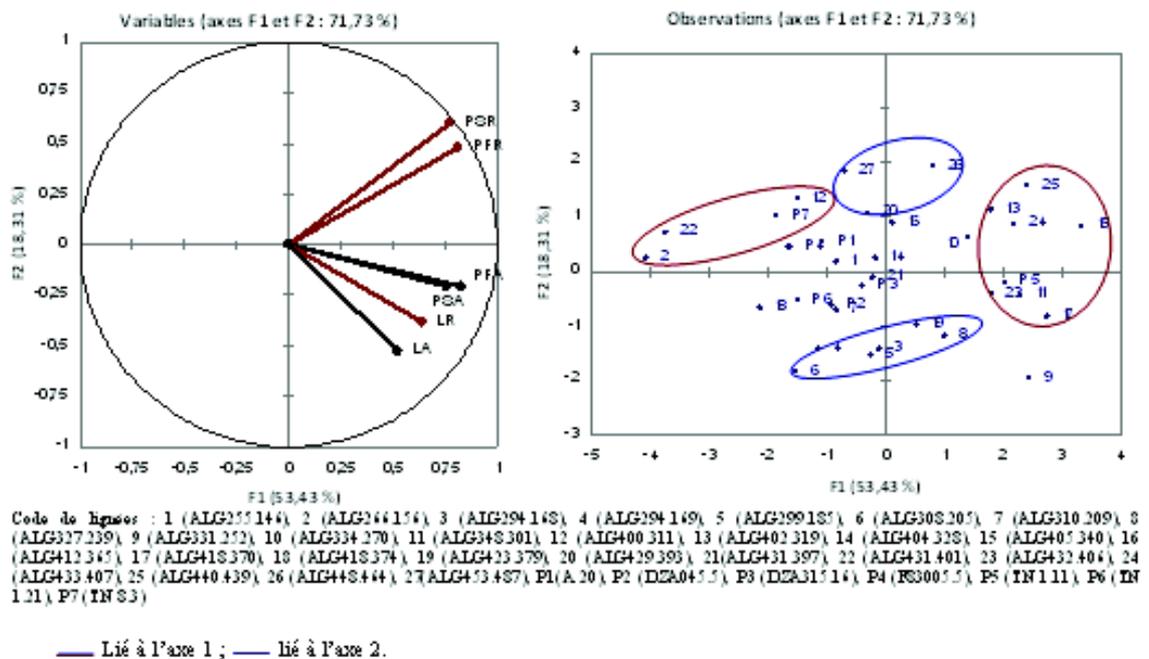


Figure IV. 22: Cercle des corrélations et plan de répartition des individus de l'essai 50 mM de NaCl

Concentration 100 Mm de NaCl (Fig. IV.23)

L'agencement des vecteurs dans le cercle de corrélation attribue à l'axe 1 : le gain ou l'accroissement en biomasse totale des lignées de *Medicago truncatula* étudiées, et à l'axe 2 l'élongation racinaire.

La projection des individus sur le plan principal, montre que les individus 17 (ALG418.370), 15 (ALG405.340), 9 (ALG331.252) ont un intéressant développement de l'appareil racinaire et aérien, alors que, la croissance des lignées 18 (ALG418.374), 10 (ALG334.270), P6 (TN1.21), P7 (TN8.3), 2 (ALG266.156), 6 (ALG308.205), 22 (ALG431.401), est entravée par cette dose de chlorure de sodium, ainsi que l'extension racinaire des lignées 25 (ALG440.439), 27 (ALG453.487), 26 (ALG448.464).

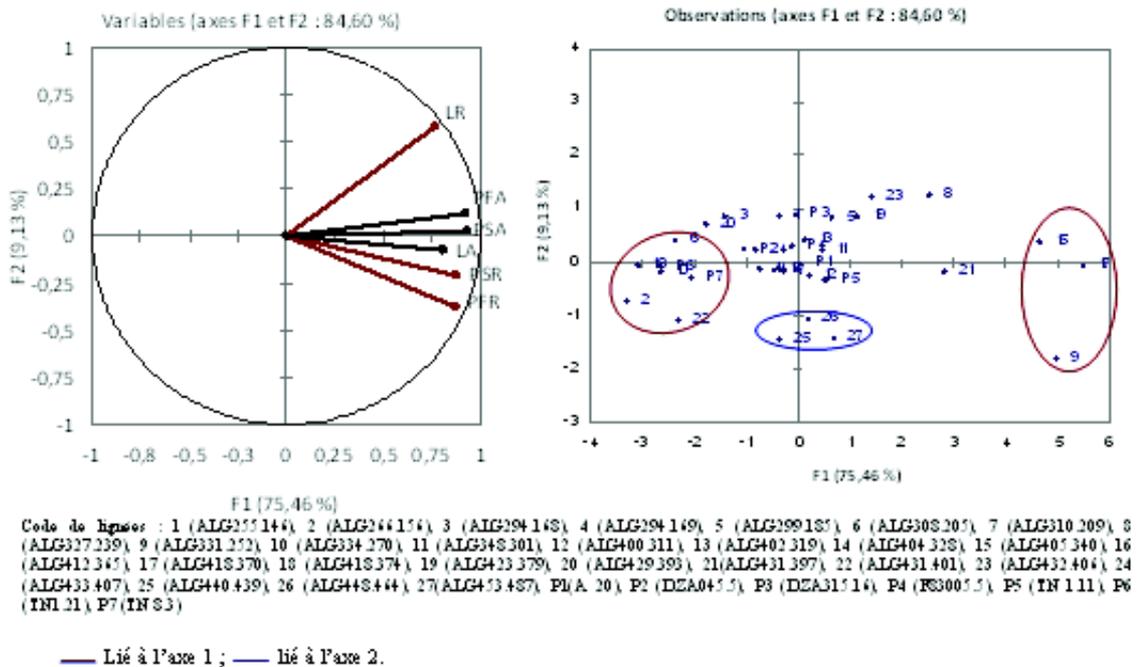


Figure IV.23 : Cercle des corrélations et plan de répartition des individus de l'essai 100 mM de NaCl

Concentration 150 Mm de NaCl (Fig. IV.24)

La structuration des six variables initiales dans le cercle de corrélation arbore à la composante principale F1 la nature du développement de l'entité végétale, et à la composante principale F2 la croissance en longueur de la partie aérienne.

L'agencement des individus refléchi ceux étalant le meilleur développement et ceux exposant le moindre stress, relativement au reste des lignées étudiées. Ce sont respectivement 25 (ALG440.439), P5 (TN1.11), 11 (ALG348.301), 8 (ALG327.239) et 18 (ALG418.374), 3 (ALG294.168), 6 (ALG308.205).

La longueur de la partie aérienne est sérieusement réduite ; toutefois, les lignées 17 (ALG418.370), 5 (ALG299.185) affichent une longueur admissible corrélativement aux 34 lignées étudiées en particulier 27 (ALG453.487), P3 (DZA315.16), 13 (ALG402.319).

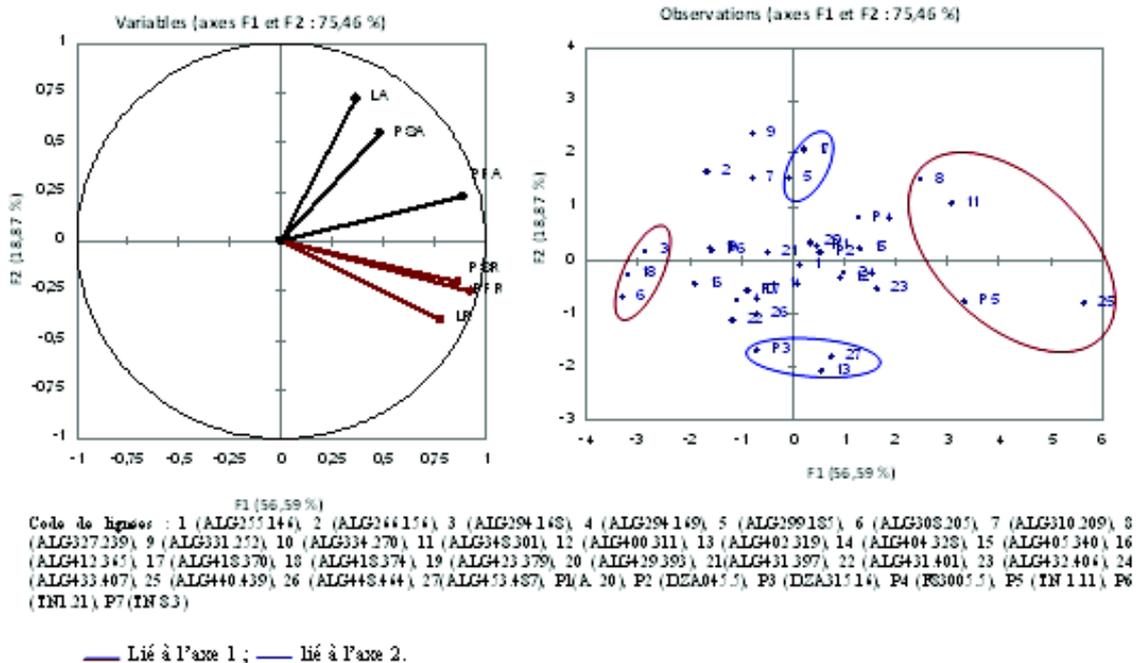


Figure IV. 24: Cercle des corrélations et plan de répartition des individus de l'essai 150 mM de NaCl

Concentration 200 Mm de NaCl (Fig. IV.25)

Les variables qui participent le plus à la formation des axes factoriels appropriés à F1 le gain en biomasse totale, et à F2 l'élongation de la partie aérienne.

On doit signaler que la croissance des lignées est fortement limitée par cette dose de sel, néanmoins, les germes ont poussé de manière fluctuante, les mieux épanouis seraient P1 (A20), 26 (ALG448.464), P5 (TN 1.11), 1 (ALG255.146) en biomasse, et 6 (ALG308.205), 17 (ALG418.370), 8 (ALG327.239) en longueur de la partie aérienne. Les plus chétives sont 15 (ALG405.340), 5 (ALG299.185), P6 (TN1.21), P4 (F83005.5), 22 (ALG431.401), 2 (ALG266.156), P3 (DZA315.16) et 10 (ALG334.270).

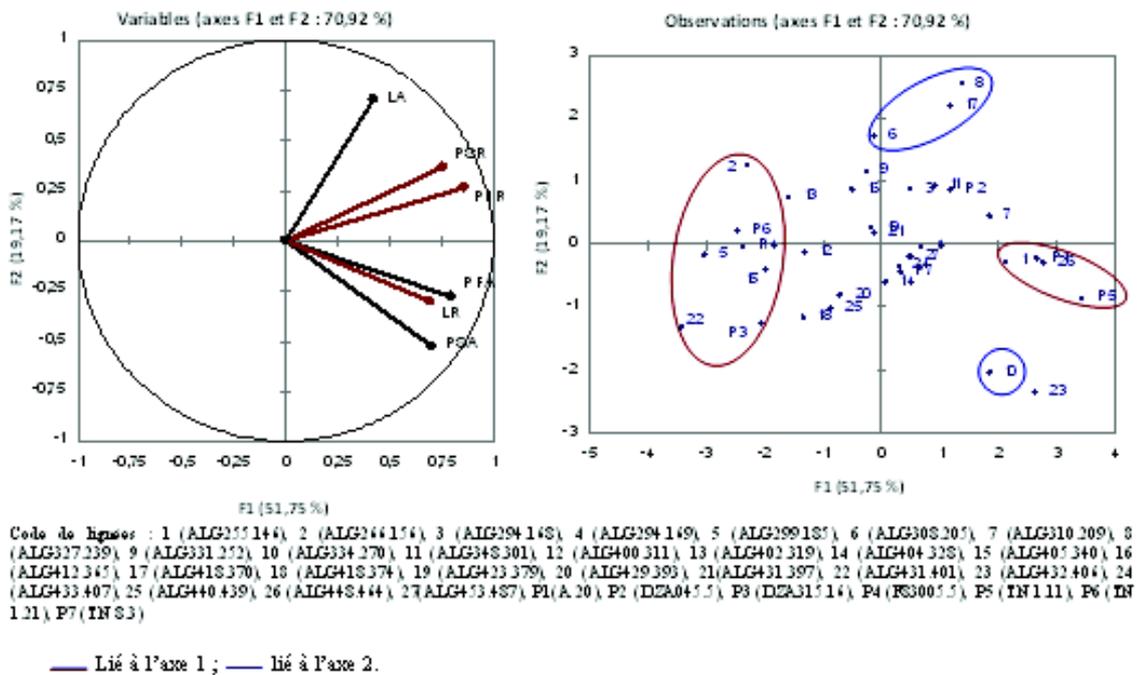


Figure IV. 25: Cercle des corrélations et plan de répartition des individus de l'essai 200 mM de NaCl

En retenant uniquement, le facteur lignée, les tests statistiques ANOVA des variables biométriques explicatives révèlent, majoritairement, l'existence d'une différence significative le plus souvent très hautement significative (voir annexes 21). La procédure des différences significatives minimales de Fisher nous a permis d'établir des groupes homogènes parmi lesquels la lignée de *Medicago truncatula* étudiée expose couramment une participation intermédiaire (voir annexes 21). Or, on recense pour la concentration 50 mM de NaCl employée, relativement à chaque variable étudiée franchissant le seuil de signification, des groupements composés de sept à onze groupes, les lignées qui surgissent continuellement au niveau des groupes supérieurs sont ALG327.239, ALG348.301, ALG331.252, ALG433.407, ALG405.340, ALG418.370, ALG440.439, TN1.11.

L'utilisation de la dose 100 mM de NaCl influe le développement des lignées dont les variables étudiées étalent des groupements homogènes formés de sept à onze groupes où on perçoit régulièrement en tête les lignées ALG327.239, ALG331.252, ALG405.340, ALG418.370, ALG423.379.

Pareil, pour la concentration 150 mM de NaCl, les groupements sont constitués de six à neuf groupes homogènes et on retrouve bondir au sommet les lignées ALG327.239, ALG348.301, ALG440.439, TN1.11. Aussi pour la dose 200 mM de chlorure de sodium, les variables retenues exposent des groupements constitués de huit à dix groupes homogènes, les lignées qui s'associent aux groupes ayant les moyennes élevées sont TN1.11, ALG327.239, ALG418.370.

#### IV.1.4.2. Caractérisation phénologique

Sur 34 lignées étudiées, 33 lignées de *Medicago truncatula* ont présenté le même cycle phénologique, durant la période d'essai partiellement courte, ne dépassant pas les six semaines, relativement à ce qui a été rapporté dans la littérature à propos du temps de génération en conditions contrôlées de graine à graine de l'espèce *Medicago truncatula* qui

s'étendant de 10 à 12 semaines. Toutes les lignées ont cependant formulées à différents degrés une croissance végétative.

Une unique lignée a bouclé son cycle pendant 37 jours en absence de stress et sous stress modéré (NaCl = 50 mM). Il s'agit d'ALG331.252 issu du site Larba Nait Irathen wilaya de Tizi ouzou (Fig. IV. 7).

## IV. 2. Paramètres biochimiques et physiologiques

La salinité réduit la croissance et le développement des plantes et cela par l'atteinte de nombreuses facettes du métabolisme tel que l'altération de la photosynthèse (Belkhodja, 1993), la respiration, la synthèse des protéines et des acides nucléiques (Ben-Hayyim *et al.*, 1989), l'équilibre hormonal et la disponibilité de l'eau (Hamza 1980) et beaucoup d'autres.

Dans cette seconde partie nous avons essayé de rapporter les résultats biométriques à certains traits biochimiques et physiologiques liés à la salinité. Dix géotypes de *Medicago truncatula* de la première expérience seulement ont été évalués à trois niveaux croissants de salinité 50, 100, 150 mM de NaCl : A20, TN1.11, F83005.5, DZA.045.5., ALG331.252, ALG255.146, ALG440.439, ALG299.185, ALG453.487, ALG310.209. Le choix a été fait d'une manière à retenir les géotypes au comportement morphologique le plus représentatif de la diversité des 34 lignées étudiées (Figure IV. 26.)

Les lignées autochtones et parentales choisies sont :

\*. ALG299.185 et ALG310.209, ayant pour origine géographique le nord-ouest de l'Algérie, exposent une croissance qui semble avivée par la présence de doses modérées de sel. Le même comportement a été enregistré par les lignées ALG334.270, ALG402.319, ALG405.340, ALG429.393, ALG432.406, ALG433.407, TN1.11 (Figure IV. a).

\*. ALG255.146 occupe une zone côtière, elle révèle une croissance sensible au sel, à l'exception de sa longueur racinaire qui est maintenue même sous les concentrations 50 et 100 mM de NaCl ; cette allure est exprimée aussi par les lignées ALG294.168, ALG308.205, ALG327.239, ALG348.301, ALG418.370, ALG431.397, ALG431.401, DZA45.5, TN8.3 (Figure IV. b).

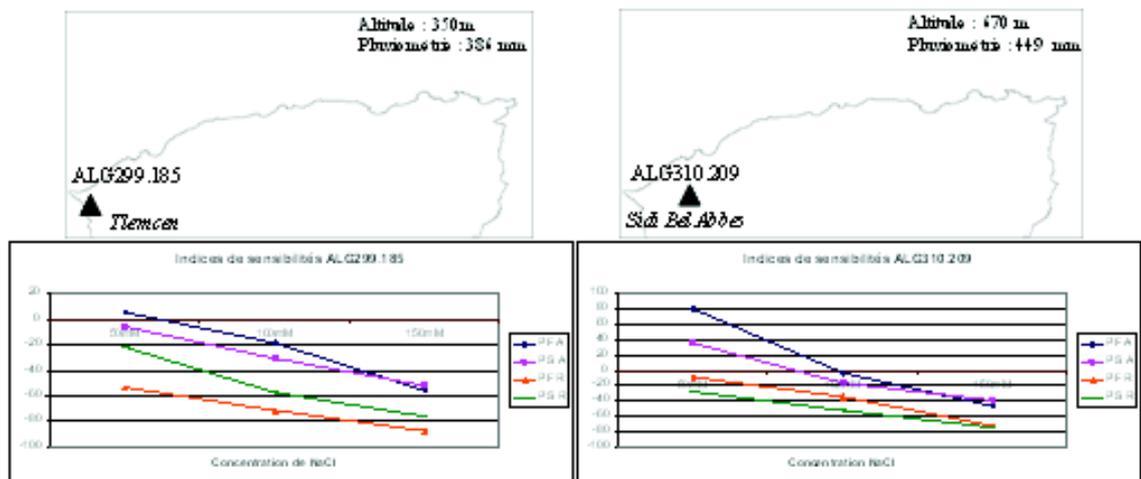


Figure IV.26 a : Présentation des caractéristiques écologiques et de croissance des lignées ALG299.185 et ALG310.209

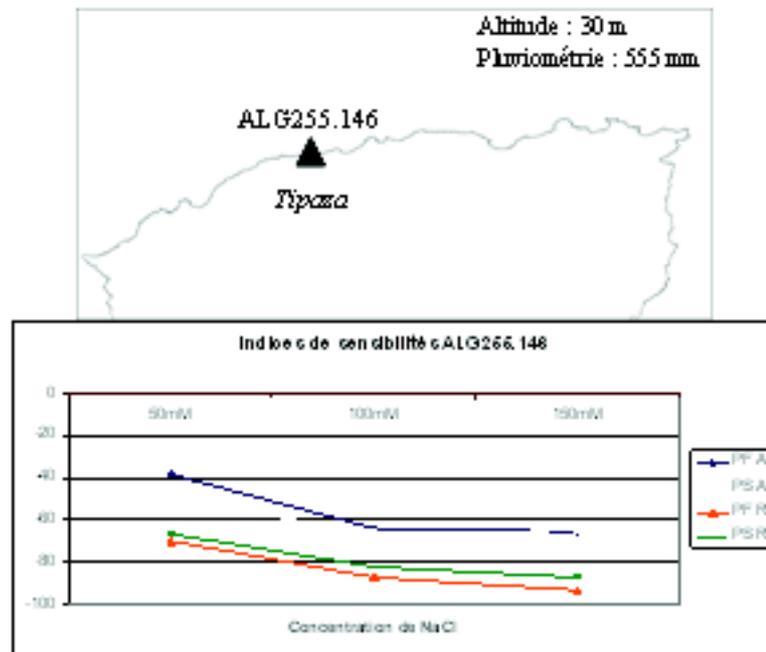


Figure IV.26. b : Présentation des caractéristiques écologiques et de croissance de la lignée ALG255. 146

\*. ALG331.252 originaire de zone montagneuse présente la particularité d'avoir un cycle phénologique court (de 37 jours) dans les conditions non stressées et sous un stress modéré (50 mM de NaCl) comparée au reste des lignées étudiées et d'avoir une croissance racinaire plus importante que celle du témoin que ce soit en longueur ou en poids frais (Figure IV. c).

\*. ALG440.439 et ALG453.487 localisées à l'est algérien, elles montrent une croissance en milieu salin peu sensible à considérablement sensible. Une tendance dévoilée également par les lignées ALG294.169, ALG400.311, ALG404.328, ALG412.365, ALG423.379, ALG448.464, A20, F83005.5, TN1.21 (Figure IV. d).

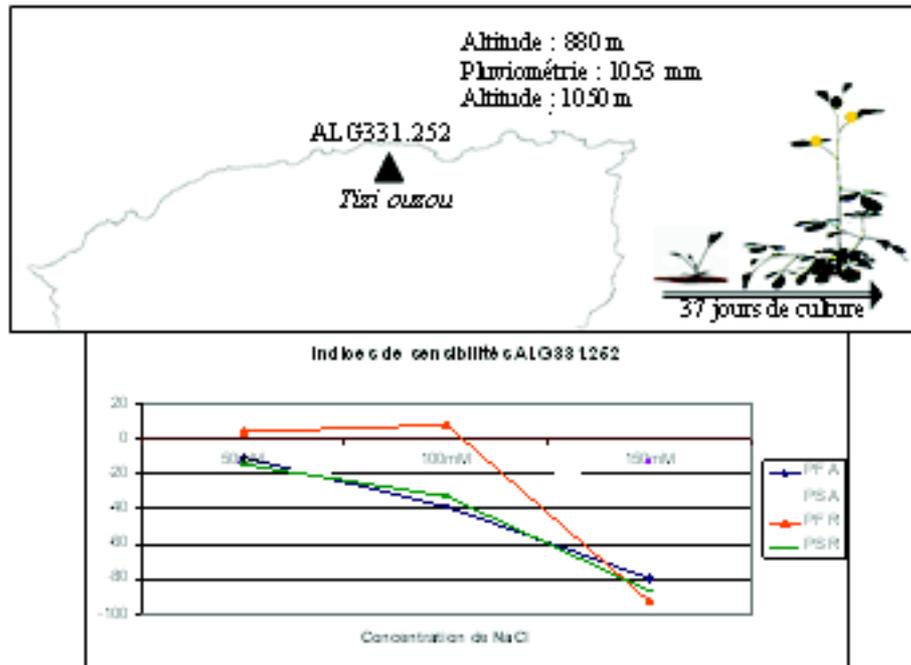


Figure IV. 26.c: Présentation des caractéristiques écologiques et de croissance de la lignée ALG331.252

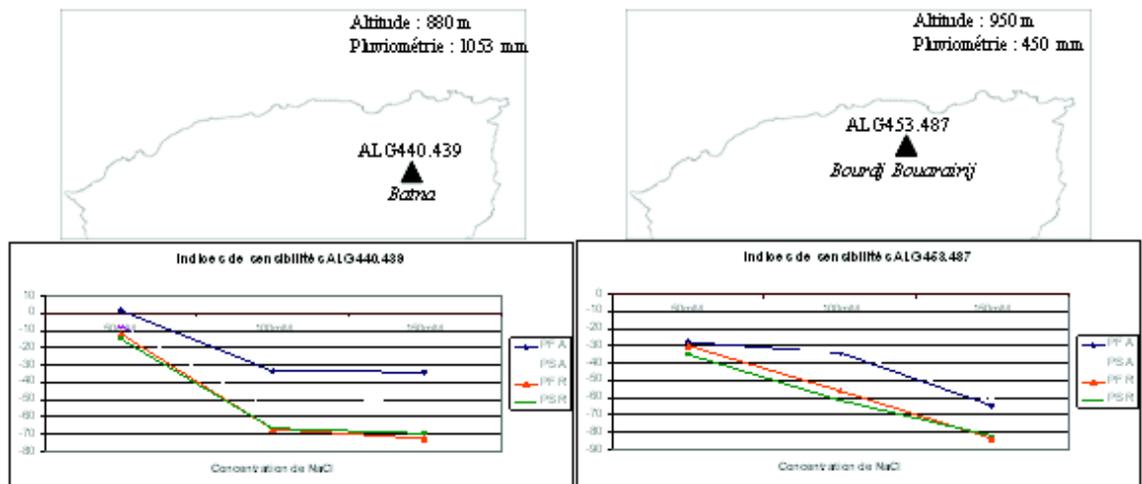


Figure IV.26 d: Présentation des caractéristiques écologiques et de croissance des lignées ALG440.439 et ALG453.487.

\*. A20, DZA045.5, TN1.11 et F83008.8 sont des lignées parentales de plusieurs cartes génétiques. Elles sont de différentes origines respectivement Marocaine, Algérienne, Tunisienne et française (Figure IV. d).

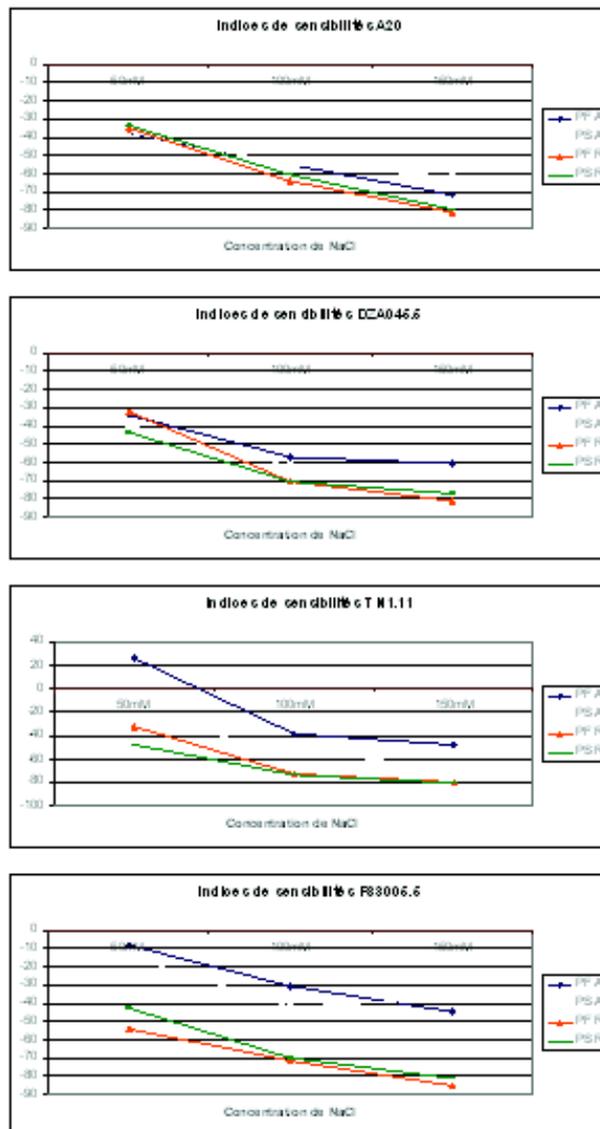


Figure IV 26. e: Les indices de sensibilités des lignées parentales : A20, DZA045.5, F83005.5 et TN1.11.

L'analyse de la variance, à deux facteurs, réalisée a révélé que chez *Medicago truncatula* les paramètres biochimiques présentent une différence significative, souvent très hautement significative, pareillement la variable physiologique a exprimé une différence très hautement significative (voir annexes 10-16 ; annexe 19). Ces paramètres sous l'effet du stress salin enregistrent intégralement des valeurs décroissantes proportionnellement à l'accentuation du sel à l'exception de la teneur en proline libre qui a, par contre, marqué une augmentation légère ce qui est dû selon Fujita (2003) au stress osmotique ; ce dernier induit l'accumulation de proline libre chez les plantes comme chez les bactéries (Tab. IV. 2). La réduction modérée des données retenues résulte aussi de l'effet du sel, vu que l'activité photosynthétique a tendance à diminuer parallèlement à la diminution du potentiel hydrique des feuilles (Iyengar et Reddy, 1996), et que cette activité est l'une des principaux éléments contrôlant la croissance (Shannon, 1998 ; Tezara *et al.*, 2002 ; Ashraf, 2004), ce qui explique également les résultats biométriques obtenus dans la première partie.

Tableau IV. 2 : Présentation de la moyenne des dix lignées de *Medicago truncatula* pour les différents caractères physiologiques et biochimiques étudiés en différentes concentrations de NaCl après 37 jours de culture.

[Na Cl] mM	Chloro a mg/g de MF	Chloro b mg/g de MF	Caroténoïdes mg/g de MF	Chloro a +b mg/g de MF	Chloro a / Chloro b	Proline mg/g de MF	TRE %
0	0.577	0.365	0.304	0.943	1.777	2.200	85.062
50	0.544	0.333	0.288	0.862	1.725	2.187	83.200
100	0.356	0.270	0.196	0.617	1.320	2.550	83.260
150	0.301	0.307	0.198	0.588	1.083	2.495	73.375

### IV. 2. 1. Comparaison physiologique et biochimique des lignées en absence de stress salin

Comme préambule à l'analyse et discussion des résultats obtenus après 37 jours de culture *in vitro* des dix lignées de *Medicago truncatula*, une ACP a été réalisée nous permettant d'entrevoir l'agencement des variables avec les axes principales et d'estimer globalement le comportement des individus étudiés et cela pour le témoin et les trois niveaux progressifs de sel employés.

L'essai témoin (Fig. IV.27)

Le plan principal étale 72,78 % de variabilité. La composante F1 refléchi la teneur en pigments chlorophylliens notamment la chlorophylle a et les caroténoïdes. La composante F2 reflète la teneur en proline et la teneur relative en eau.

Les lignées ALG453.487, ALG310.209, DZA045.5 ont une teneur considérable en pigments chlorophylliens à l'inverse ALG255.146 et ALG299.185 renferment une proportion moindre.

Les lignées ALG440.439, TN1.11 et F83005.5 ont une consistante teneur relative en eau et proline.

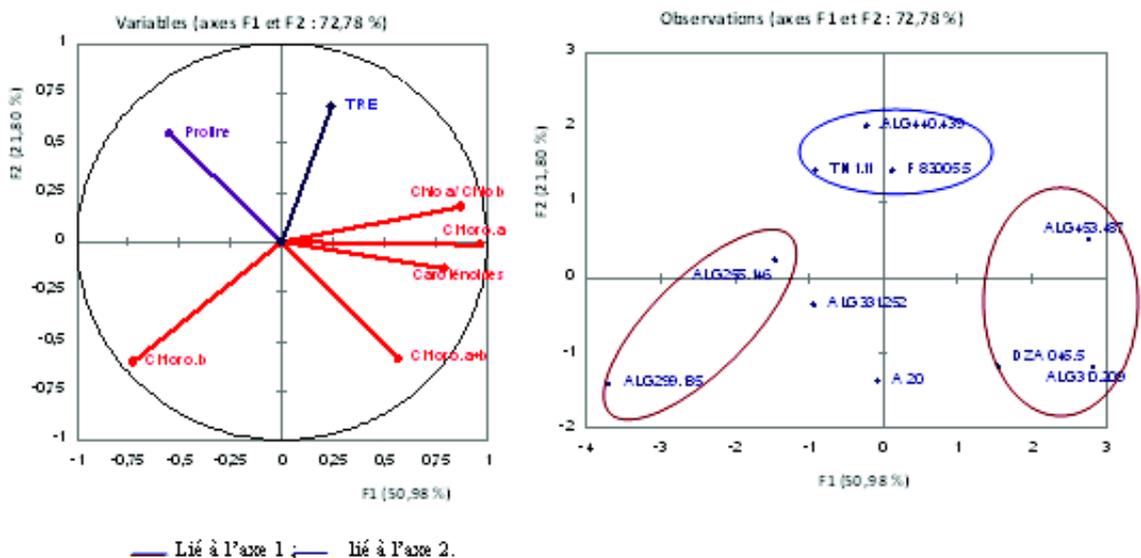


Figure IV. 27 : Cercle des corrélations et plan de répartition des individus de l'essai témoin

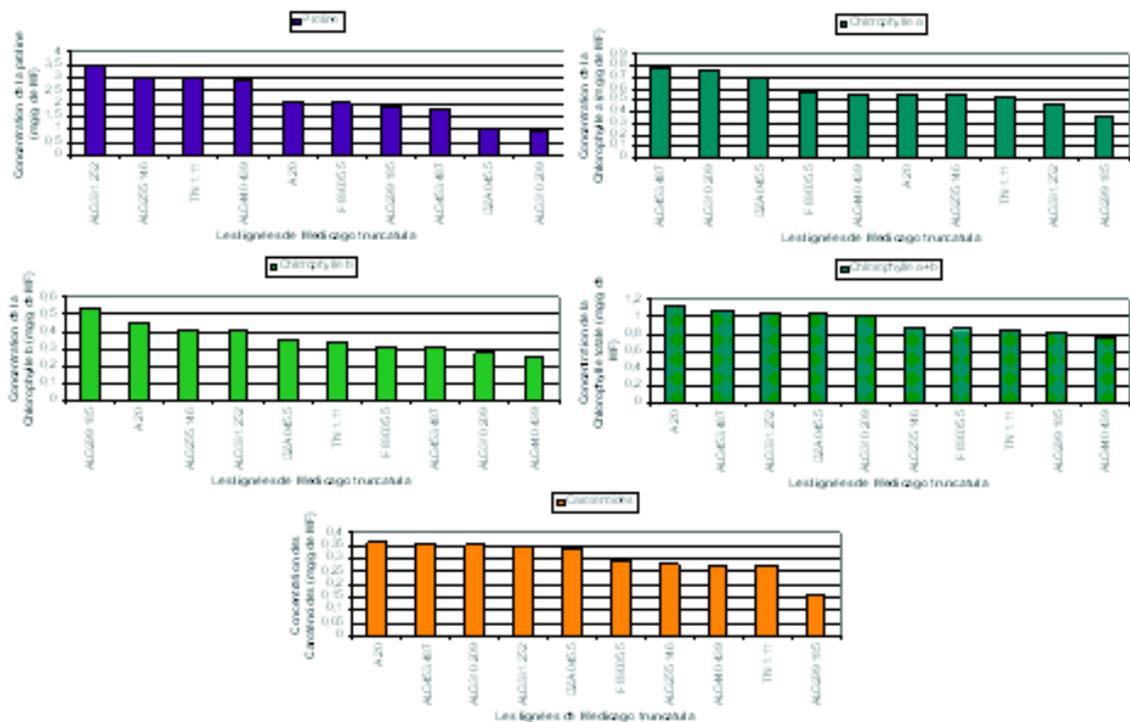
Dans l'ensemble, les génotypes étudiés en condition favorable, non stressés, font ressortir des individualités de proportion en pigments chlorophylliens et osmolytes. En effet, des tests ANOVA à un facteur, effectués en parallèle, considérant uniquement les lignées témoignent l'existence de différences hautement significative pour les variables proline et la proportion chlorophylle a / chlorophylle b (Voir Annexes 22). On peut, pour autant, distinguer généralement que les lignées naturellement riches en proline sont moins riches en chlorophylle totale et celles qui ont des teneurs élevées en chlorophylle a en ont moins en chlorophylle b, alors que la présence de chlorophylle totale et caroténoïdes est mutuelle (Fig. IV. 28). La concentration en proline varie de 3,41 à 0,89 mg/g de MF représentée respectivement par ALG331.252, ALG310.209, simultanément le reste des lignées se répartissent en deux groupes homogènes avec une différence de concentration égale à 1,052 mg/g de MF.

Le taux de chlorophylle a va de 0,776 à 0,358 mg / g de MF, valeurs dosées respectivement chez les lignées ALG453.487 et ALG299.185, tandis que la majorité des lignées renferment en moyenne 0,544 mg / g de MF de chlorophylle a.

La teneur des génotypes étudiés en chlorophylle b s'échelonne de 0,539 à 0,255 mg/g de MF ces deux valeurs se rencontrent chez ALG299.185 et ALG440.439 respectivement, les génotypes restants s'organisent en deux catégories distantes de 0,15 mg / g de MF.

Les concentrations en chlorophylle totale de nos lignées fluctuent de 1,123 à 0,765 mg / g de MF, ainsi en moyenne la moitié des lignées possède 1,057 mg / g de MF et l'autre moitié contient 0,83 mg / g de MF.

La proportion des caroténoïdes dans les plantes se situe entre 0,362 et 0,161 mg / g de MF, une seule lignée se décale du reste du lot est présente le taux le plus faible il s'agit d'ALG299.185, les autres contiennent en moyenne 0,32 mg / g de MF.



*Figure IV.28 : Variation de la teneur en proline et pigments chlorophylliens chez les différentes lignées de *Medicago truncatula*, en absence de stress (classement décroissant).*

## **IV. 2.2. Effet de NaCl sur le comportement physiologique et biochimique des lignées par rapport à leurs témoins sans stress.**

---

### · Les pigments chlorophylliens

Les teneurs en chlorophylle a, chlorophylle b, chlorophylle totale et en caroténoïdes ont été significativement réduites sous l'effet des niveaux progressifs de sel (Fig. IV. 29). Tous les géotypes ont été affectés avec, cependant, un comportement spécifique à la lignée ALG331.252 laquelle a montré une augmentation en moyenne de 33,67 % des teneurs en pigments chlorophylliens par rapport à son témoin sans stress et ceci pour la concentration 50 mM de NaCl. Pour les concentrations supérieures en chlorure de sodium, il y a eu toujours un accroissement qui touche les chlorophylles (15,83 % pour la chlorophylle a et 55,94% pour la chlorophylle b) mais épargnant les caroténoïdes qui montrent une diminution qui n'est pas très marquée. La lignée TN1.11 rejoint la lignée ALG331.252 dans son comportement sous 50 mM de NaCl et marque en moyenne 21,34 % de plus que le témoin, au-delà de ce niveau de stress, elle enregistre une diminution.

La chute la plus prononcée de la chlorophylle a se rencontre chez la lignée ALG453.487 (48,82% [50mM], 85,92% [100mM], 84,13%[150 mM] par rapport au témoin), suivie du géotype ALG310.209 (38,3% [50mM], 42,47% [100mM], 76,45% [150 mM] par rapport au témoin), ensuite du géotype F83005.5 (21,61 % [50mM], 48,23% [100mM], 59,68 % [150 mM] par rapport au témoin).

Les lignées F8005.5 et ALG440.439 sont celles qui ont présenté une régression linéaire suite à l'augmentation de la concentration de NaCl. Pour les autres, il y a des fluctuations particulièrement en 50mM et en 150mM.

Globalement la concentration de la chlorophylle a été 1,47 fois plus élevée que la concentration de la chlorophylle b. La lignée ALG299.185 a été la lignée la plus affectée par le sel pour ce dernier pigment (exprime une réduction de 59,24% [50mM], 71,77% [100mM], 60,93% [150mM] par rapport au témoin) ; tandis ce que le reste des lignées ont enregistré intégralement un pourcentage de réduction  $\leq 24$  % du témoin.

La teneur des feuilles en chlorophylle totale a manifesté une baisse relative à l'accentuation du stress, le pourcentage de réduction chez les lignées étudiées varie de 8,6%[50mM], 34,63%[100mM] à 37,63 % [150 mM] du témoin. D'une façon général nous avons constaté, d'une part, que la teneur en chlorophylle totale diminue proportionnellement à l'augmentation de l'intensité du stress conformément à ce que plusieurs auteurs ont démontré (Walker *et al.*, 1984 ; Chen *et al.*, 1991 ; Glemen et Smith, 1993) et, d'autre part, certaines lignées présentent des teneurs en chlorophylle totale corrélée positivement à l'augmentation du stress (Fig. IV. 29). En effet, les lignées ALG255.146, ALG299.185, ALG331.252, ALG453.487, DZA045.5 cumulent des teneurs équivalentes ou supérieures sous un stress 150mM par rapport à celui de 100mM de NaCl et parfois même par rapport aux témoins (ALG255.146 et ALG331.252).

Certaines des lignées naturellement riches en chlorophylle totale, comme A20, ALG453.487, DZA045.5, ALG310.209, perdent plus facilement leur chlorophylle que les lignées naturellement pauvres telles qu'ALG255.146, ALG299.185, ALG400.439, F83005.5.

Les caroténoïdes font partie du système antioxydant (Schindler *et al.*, 1994 ; Mishra, 1999), leurs présence chez les plantes cultivées est considérée comme un critère de tolérance au sel (Hernandez *et al.*, 1995). Ainsi, en totalité, nos résultats comparés au témoin indiquent que la teneur des plantes étudiées en caroténoïdes subit une diminution d'autant plus sévère que le stress l'est (5,12%[50mM], 35,28 %[100mM], 34,86 %[150mM]), mais de plus près, on repère des lignées qui ont pu garder plus au moins la même concentration des caroténoïdes, de l'état non stressé, sinon excédante telle que ALG331.252, TN1.11, A 20, ALG255.146, ALG299.185. Sous un autre angle, la lignée ALG453.487 a montré la réduction la plus importante de la teneur en caroténoïdes sous l'effet du sel, d'environ 66%. Comme pour la teneur en chlorophylle, les

caroténoïdes de certaines lignées sont plus sensibles sous un stress de 100mM que celui de 150mM (ALG255.46, DZA045.5 et DZA299.185).

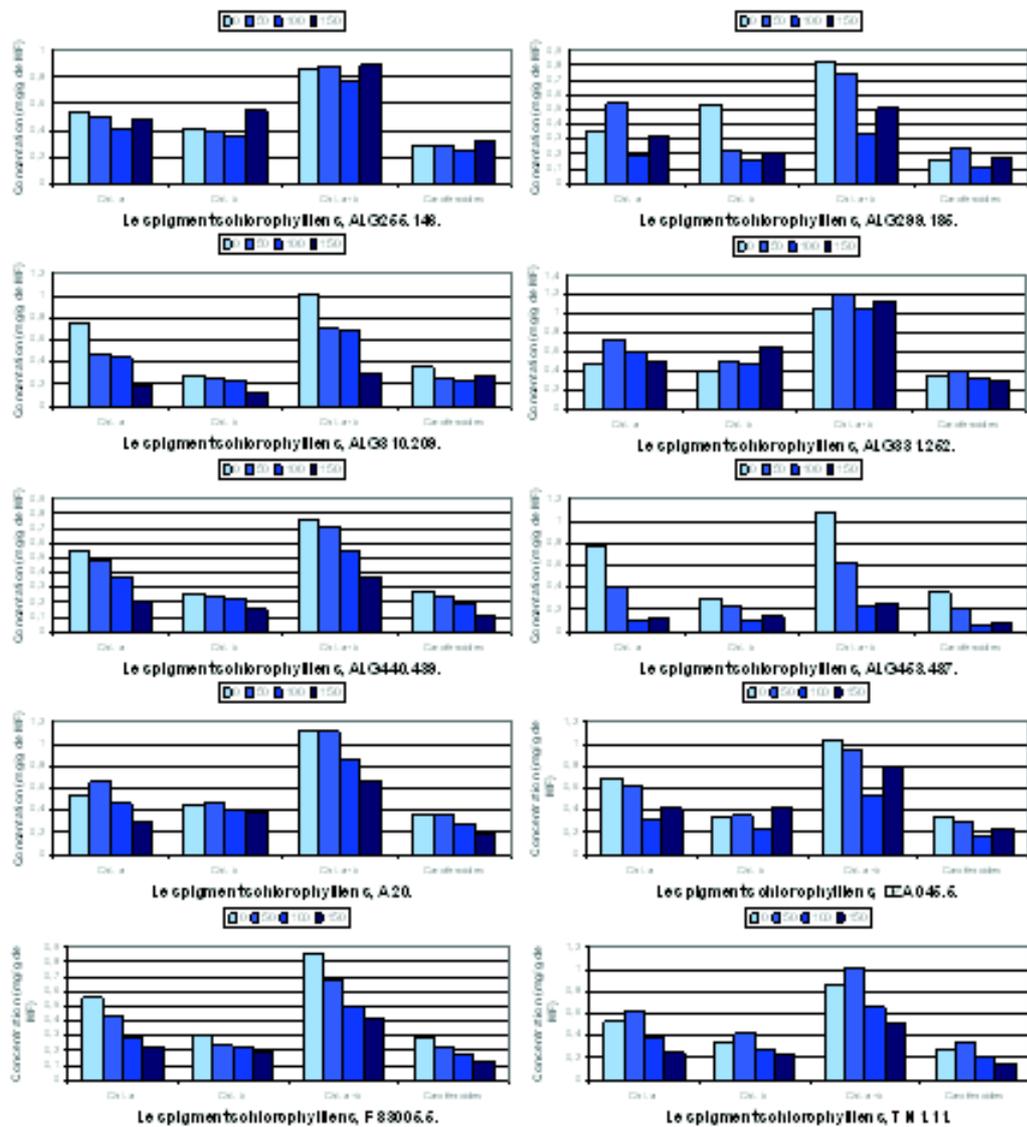


Figure IV. 29 : Variation de la teneur en pigments chlorophylliens chez les différentes lignées de *Medicago truncatula*, en fonction de l'intensité du stress salin (NaCl mM).

Par ailleurs nos résultats montrent que le rapport chlorophylle a / chlorophylle b a tendance à diminuer en fonction du stress salin, la réduction est d'autant plus marquée que la concentration saline est élevée. Cela implique que la chlorophylle a est plus sensible à l'effet du stress salin que la chlorophylle b. À l'exception de la lignée ALG299.185 chez laquelle la chlorophylle b était plus altérée que la chlorophylle a par le stress, du fait, le taux chlorophylle a / chlorophylle b prend une allure croissante (Fig. IV. 30).

La réduction de la chlorophylle a est peut être liée à la sensibilité d'une des étapes de sa biosynthèse au chlorure de sodium. Ce dernier affecte moins la voie de biosynthèse de la chlorophylle b (Tewari et Singh, 1991).

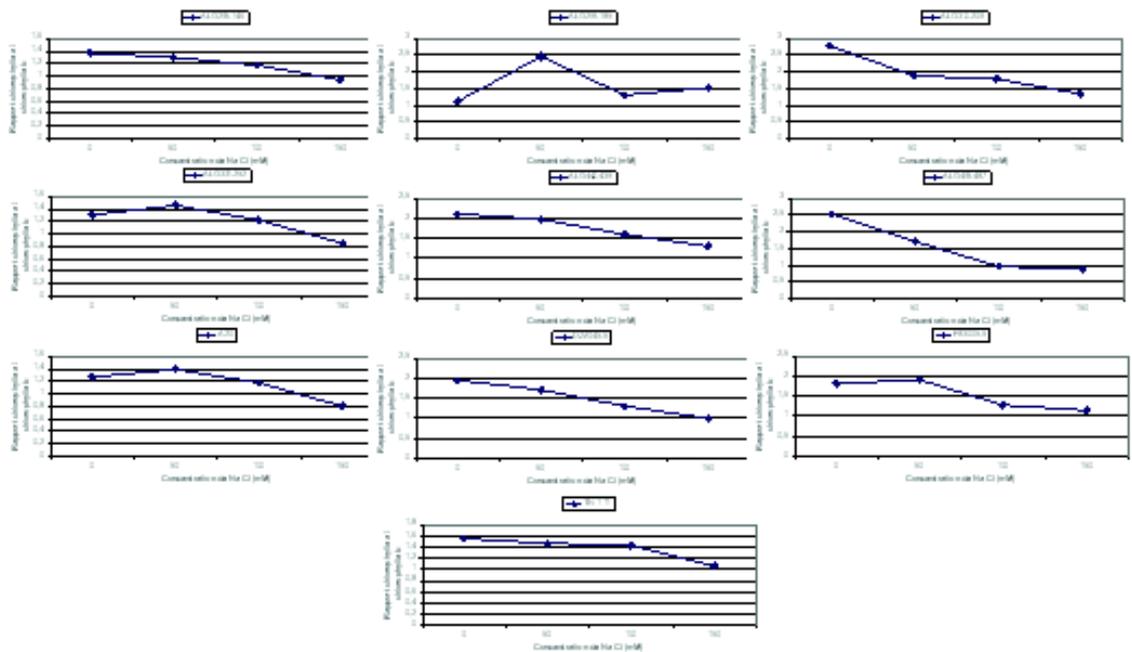


Figure IV. 30 : Variation du rapport chlorophylle a / chlorophylle b chez les différentes lignées de *Medicago truncatula*, en fonction de l'intensité du stress salin (NaCl mM)

#### La proline

Il a été remarqué en absence de stress, une variabilité de la teneur en proline lié à la lignée. Sous l'effet des trois traitements salins, l'accumulation de proline augmente globalement (Fig. IV.31). Cet accroissement relatif en proline est significativement corrélé avec la sévérité du stress ; en général l'accumulation de la proline pour l'ensemble des lignées a pu dépasser de 15 % leur témoin respectif. Néanmoins, certaines lignées n'ont pas accumulé de proline comparées à leur témoin, et ont eu plutôt une diminution de leur teneur en proline, il s'agit des lignées F83005.5, TN1.11, ALG331.25, excepté pour cette dernière lignée, qui a accumulé 2,79 % de plus que le témoin pour la concentration 150 mM de NaCl.

Aussi selon le génotype, l'accumulation maximale de proline libre est rencontrée au niveau de la lignée ALG440.439 (qui a accumulé 18,62 % [50mM], 31,09 % [100mM], 52,75 % [150mM] de plus que son témoin), les six autres génotypes ont manifesté une accumulation intermédiaire n'excédant pas en moyenne 31 % du témoin.

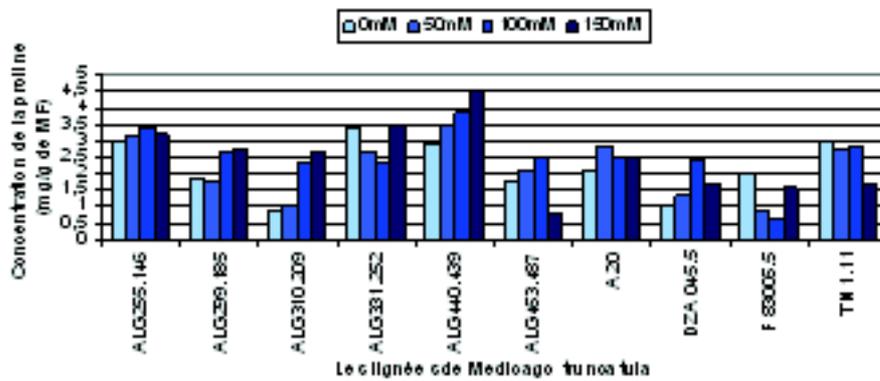


Figure IV. 31 : Variation de la teneur en proline chez les différentes lignées de *Medicago truncatula*, en fonction de l'intensité du stress salin (NaCl mM).

Les résultats biochimiques obtenus montrent une certaine proportionnalité, mais inverse, entre les teneurs en proline accumulées et les teneurs en pigments chlorophylliens perdues par chacune des neuf lignées de *Medicago truncatula* ; toutefois, la F83005.5 ne suit pas cette logique, sans doute à cause de sa nature sensible au sel (Fig. IV.32).

Ainsi, la lignée qui accumule plus de proline est aussi celle qui connaît la plus forte diminution de ses teneurs en pigments chlorophylliens et vice versa. Ces résultats suggèrent l'existence d'une connexion vraisemblable entre les voies de biosynthèse des pigments chlorophylliens et de la proline. Une compétition entre ces deux composés sur leur précurseur commun, le glutamate, peut être à l'origine de cette évolution (Fig. IV. 33) (Bengston *et al.*, 1978 ; Reddy et Veeranjanyulu, 1991).

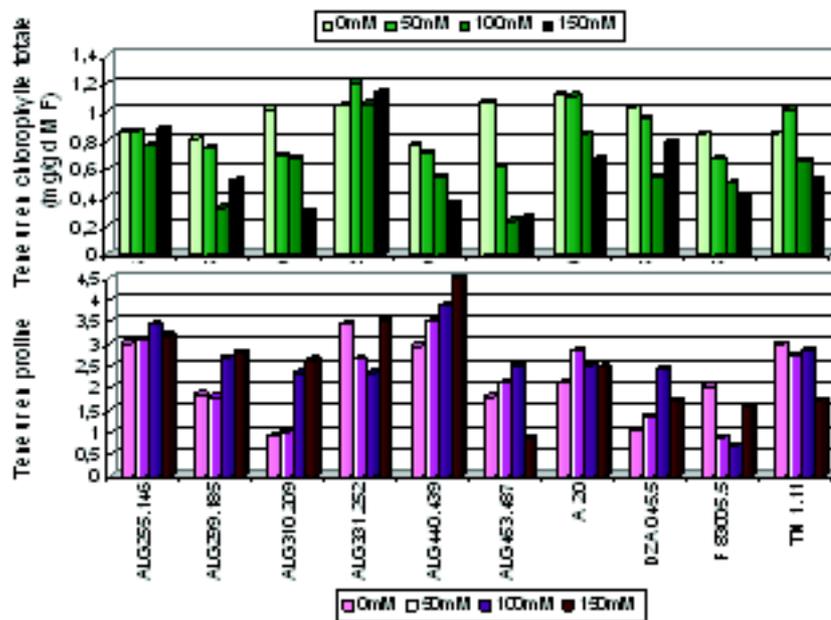
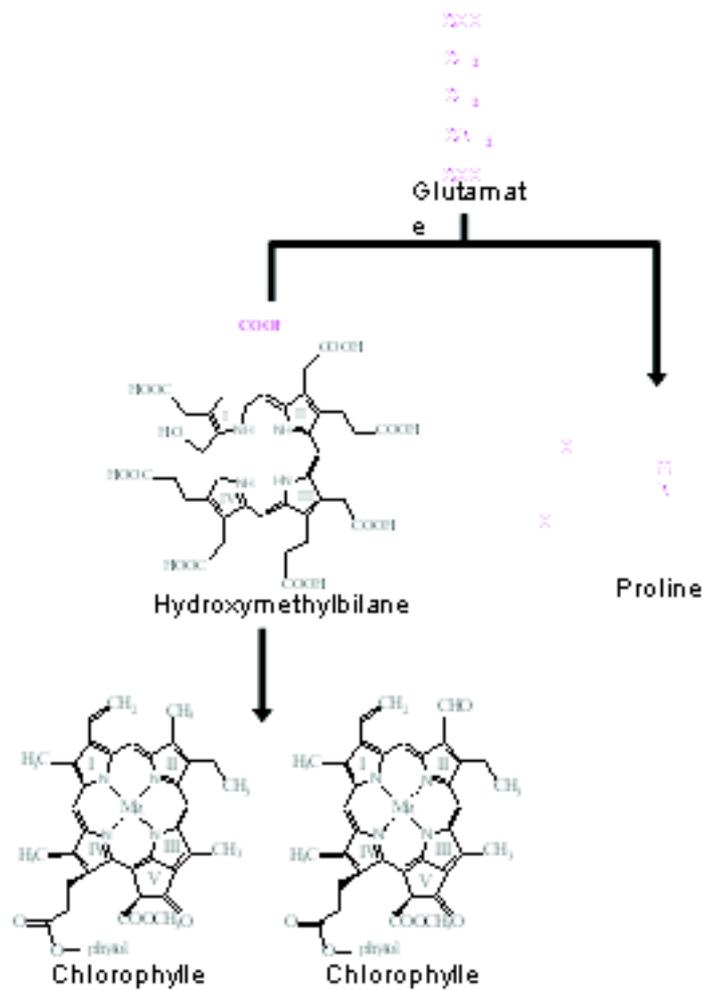


Figure IV. 32 : Proportionnalité, inversée, des variations de la teneur en chlorophylle totale et en proline chez les différentes lignées de *Medicago truncatula*, en fonction de l'intensité du stress salin (NaCl mM).



\_\_\_\_\_ série de réaction faisant intervenir une multitude d'enzymes.

Figure IV.33 : Précurseur commun des pigments chlorophylliens et de la proline,

La teneur relative en eau (TRE)

L'utilisation de la TRE foliaire comme indicateur du statut hydrique de la plante est courante (Chaves, 1991 ; Lawlor et Cornic, 2002). D'ailleurs elle a été adoptée chez plusieurs légumineuses telles que *Phaseolus vulgaris* (Cruz de Carvalho *et al.*, 1998 ; Costa França *et al.*, 2000), *Vigna unguiculata* (Cruz de Carvalho *et al.*, 1998 ; Scotti Campos *et al.*, 1999), *Vigna glabrescens* (Scotti Campos *et al.*, 1999) et *Lupinus albus* (Pinheiro *et al.*, 2001). La relation étroite incontestable, entre la TRE et le potentiel hydrique durant la progression du stress, appuie son utilisation comme indicatrice du statut hydrique de la plante.

D'une manière générale, après 37 jours de culture en milieu salin la teneur relative en eau diminue, sensiblement, aux concentrations 50, 100 et 150 mM de NaCl, par rapport de celle des témoins (Fig. IV. 34). Ces variations modestes sont, peut être, dues à la diminution de la taille des organes transpirants (Martinez *et al.*, 2007).

Chez les témoins la TRE s'étale de 79,27 à 90,27%, elle est significativement élevée chez les lignées ALG453.487, F83005.5 (90,20%), faible chez les lignées ALG299.185, ALG310.209 (79,52%), intermédiaire pour le reste des lignées étudiées (85,15%).

Sous stress, la majorité des lignées ont manifesté une régression de la TRE assez faible, correspondant en moyenne, à 2,2 % [50mM], 4,39% [100mM] et 8,31 % [150mM]. En ce qui concerne les génotypes : ALG299.185, ALG310.209, le premier a exprimé pour la concentration 100 mM de chlorure de sodium, une TRE légèrement supérieure au témoin par 7,17 %, le second a révélé une augmentation de la TRE par rapport au témoin de 6,41% pour les traitements 50 et 100 mM de NaCl. Nunes (2008) affirme que durant un stress modéré, *Medicago truncatula* est capable d'empêcher la déshydratation de ses tissus.

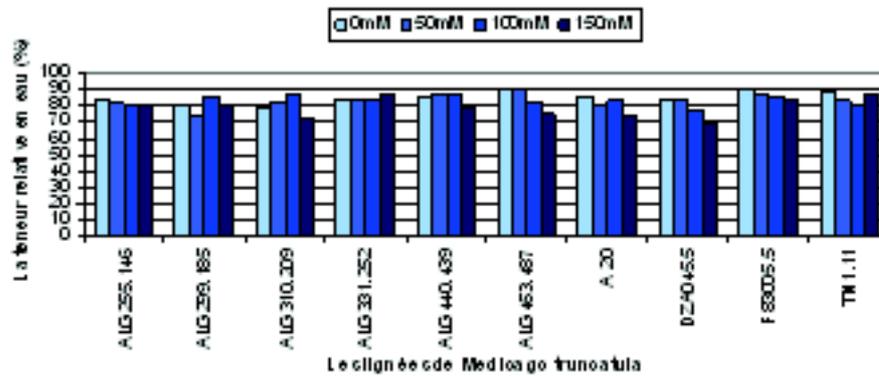


Figure IV. 34 : Variation de la teneur relative en eau chez les différentes lignées de *Medicago truncatula*, en fonction de l'intensité du stress salin (NaCl mM).

### IV. 2.3. Comparaison physiologique et biochimique des lignées sous stress salin

Simultanément à l'ANOVA à deux facteurs, des analyses de variance à un facteur sont calculés, les lignées sont jugées indépendamment auprès de chaque stress appliqués, les variables explicatives ont toutes affichées une différence souvent très hautement significative, particularité faite, par la variable TRE où les lignées en milieu contenant 100 mM de NaCl ont exprimées un comportement analogue (voir annexes 23). La comparaison de moyennes par la méthode de Fisher nous a communiqué les groupes homogènes (voir annexes 23), ainsi pour les concentrations 50 mM et 100 mM de NaCl, les lignées TN1.11, A20, ALG225.146, ALG331.252 prennent le dessus pour la teneur en pigments photosynthétiques et les lignées ALG225.146, ALG440.439 pour la teneur en proline.

La dose 150 mM de chlorure de sodium désigne les lignées DZA045.5, ALG331.252, ALG225.146 comme ayant une meilleure proportion en pigments chlorophylliens et ALG225.146, ALG331.252, ALG440.439 ayant une meilleure proportion en proline

Concentration 50 mM de NaCl (Fig. IV. 35) :

Le plan principal reflète (avec 82,86 %). la teneur en pigments chlorophylliens en F1 et la teneur relative en eau en F2

La coordination des individus dans ce plan démontre qu'A20, TN1.11 et ALG331.252 ont une teneur importante en pigments chlorophylliens en revanche les lignées F83005.5, ALG310.209 et ALG453.487 marquent les proportions les plus faibles.

Parmi les dix lignées étudiées, la lignée ALG299.185 a eu la teneur relative en eau la moins élevée.

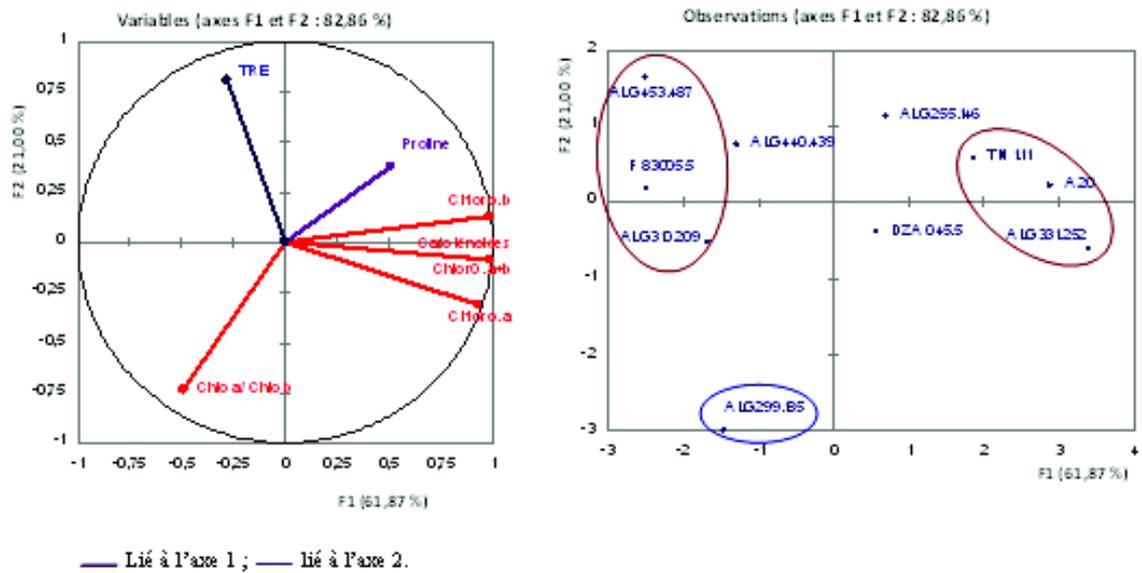


Figure IV. 35 : Cercle des corrélations et plan de répartition des individus de l'essai 50 mM de NaCl

Concentration 100 mM de NaCl (Fig. IV. 36) :

Le plan principal retient (avec 77,12 %), la proportion en pigments chlorophylliens en F1 et la teneur relative en eau et le rapport chlorophylle a/chlorophylle b en F2.

L'agencement des individus sur ce plan affirme que la teneur en pigment photosynthétique est la plus élevée chez ALG331.252 et A20 alors qu'elle s'affaiblit chez ALG299.185 et ALG453.487.

Le rapport chlorophylle a / chlorophylle b et TRE sont impressionnables chez ALG310.209 et ALG440.439.

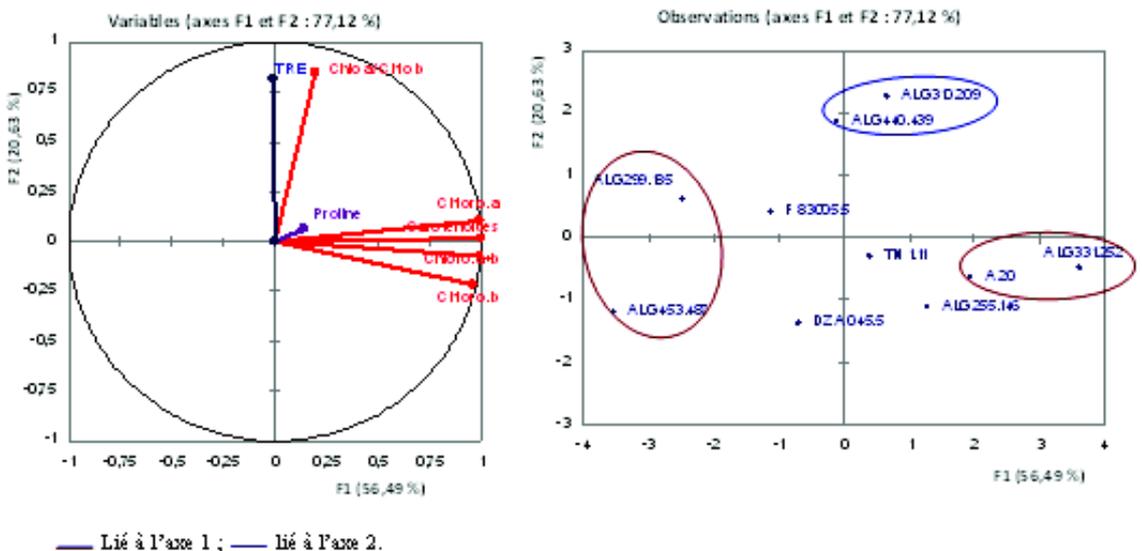


Figure IV.36 : Cercle des corrélations et plan de répartition des individus de l'essai 100 mM de NaCl

Concentration 150 mM de NaCl (Fig. IV.37) :



importants tandis que la lignée ALG453.487 montre plutôt une meilleure croissance racinaire et teneur relative en eau supérieure. L'accroissement de la partie aérienne est faible chez ALG310.209 avec un bon rapport Chlo a /Chlo b, alors que pour la lignée ALG299.185 c'est la poussée racinaire qui est chétive sa proportion en chlorophylle b est la plus élevée des plantes étudiées.

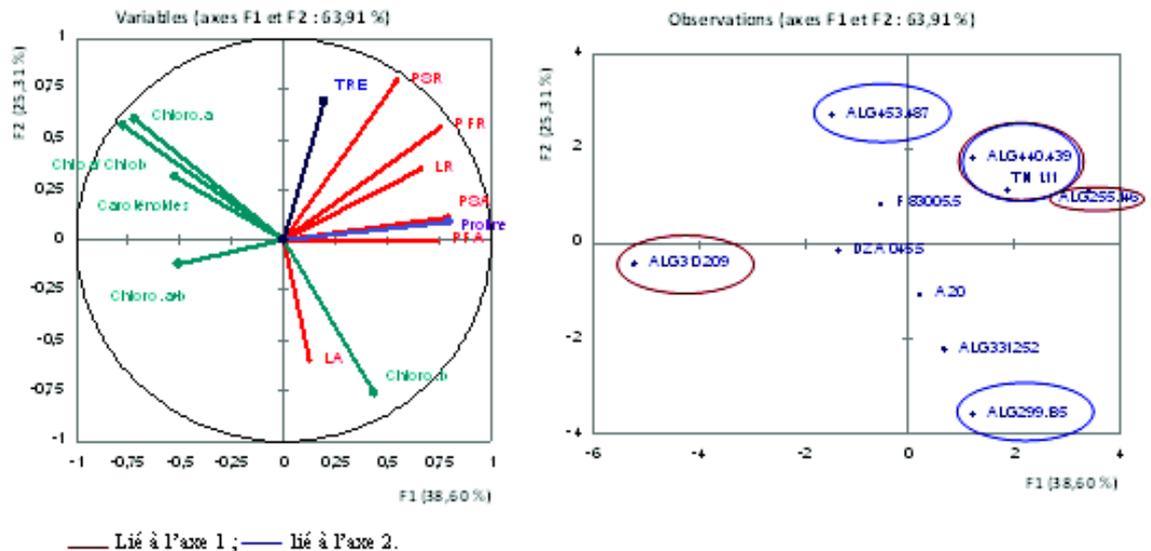


Figure IV. 38: Cercle des corrélations et plans de répartition des individus de l'essai témoin.

**50 mM de NaCl** (Fig. IV. 39)

Les variables qui participent le plus à la constitution du premier axe sont les: caroténoïdes, Chlo a+b, Chlo a, Chlo b, PFA ; de ce fait, cet axe représente l'intégrité du système photosynthétique, puisque la chlorophylle est l'un des éléments principaux de la photosynthèse qui assure la fonction vitale d'absorption des rayons solaires et facilite l'utilisation de l'énergie résultante de cette absorption dans l'élaboration de la matière organique. Aussi, la surface foliaire amplifie le processus photosynthétique (plus de feuilles implique plus de thylakoïdes). Les variables qui participent le plus à la constitution du deuxième axe sont : PSR, PFR de la sorte ces variables déterminent surtout la croissance racinaire.

Les individus poussant dans le milieu contenant 50 mM de chlorure de sodium exposent une conduite dissemblable : les lignées ALG331.252 et TN1.11 ont une très bonne teneur en pigments chlorophylliens tandis qu'ALG453.487 et spécialement F83005.5 ont une proportion en chlorophylle et caroténoïdes énormément réduite. Ainsi le développement du système racinaire de la lignée ALG440.439 est remarquable, pendant que la lignée DZA045.5 a une croissance racinaire modeste.

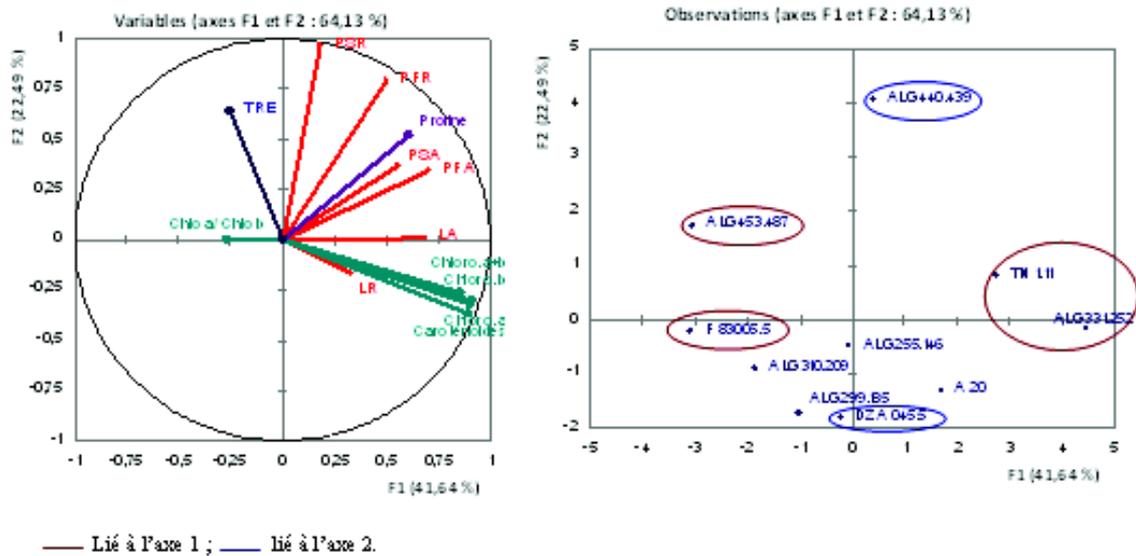


Figure IV. 39: Cercle des corrélations et plans de répartition des individus de l'essai 50 mM de NaCl

100 mM de NaCl (Fig. IV.40)

Les variables qui collaborent le plus au premier axe sont : Chlo b, Chlo a+b, LA, PFR, ce sont celles caractérisant une teneur considérable en chlorophylle garantissant une bonne photosynthèse et celles définissant un allouant à la croissance racinaire. Les variables qui adhèrent le plus au deuxième axe sont : PFA, PSA, Chlo a, caroténoïdes la hausse des deux premières entraîne l'abaissement des deux autres. Ces variables visent la croissance de la partie aérienne qui est négativement corrélée à la Chlo a et les caroténoïdes.

La culture en appliquant cette contrainte saline a révélé la singularité de la lignée ALG331.252 qui a gardé une importante proportion en chlorophylle et un appréciable développement racinaire en revanche les lignées DZA045.et ALG440.439 ont révélé le contraire, leur teneur en chlorophylle et développement racinaire ont chuté.

Les lignées ALG299.185, ALG453.487 ont notablement conservé le développement de leur appareil aérien en contrepartie cette dose de sel altère sérieusement la croissance de la partie aérienne des lignées ALG255.146, ALG310.209.

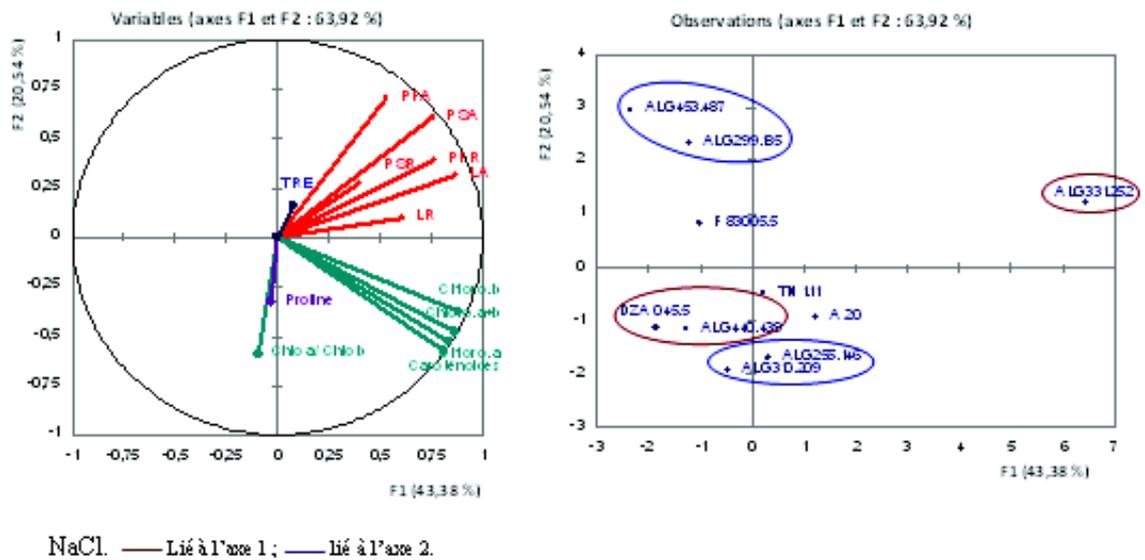


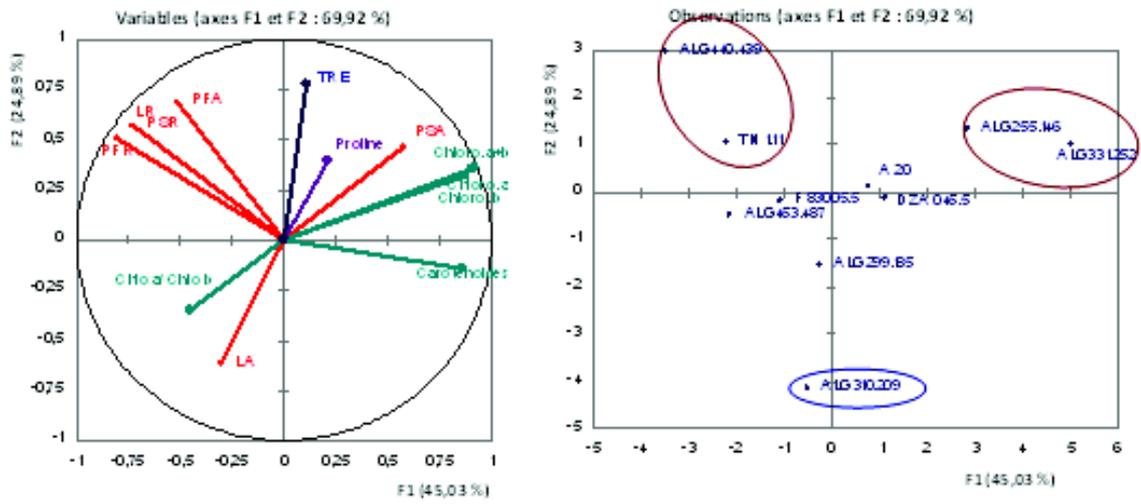
Figure IV. 40 : Cercle des corrélations et plans de répartition des individus de l'essai 100 mM

150 mM de NaCl (Fig. IV. 41)

Les variables qui s'associent d'avantage au premier axe sont : Chlo b, Chlo a+b, caroténoïdes (positivement), PFR, LR, PSR (négativement) ; ces variables se situent sur la même direction mais s'opposent, ceci signifie que certains augmentent quand les autres diminuent.

Les variables qui participent le plus à la formation du deuxième axe sont : TRE, PFA (positivement) et LA (négativement) caractérisant le développement de la partie aérienne en matière fraîche plutôt qu'en longueur.

La concentration 150 mM de chlorure de sodium semble réduire la croissance des plantes étudiées ; ainsi ALG310.209 développe un appareil aérien assez long mais avec peu de feuillage d'où la réduction de sa teneur relative en eau ; en ce qui concerne les lignées ALG255.146, ALG331.252 c'est le système racinaire qui est le plus touché, cependant, elles conservent leurs, considérable teneur en pigments chlorophylliens, toute à fait la situation inverse est constatée chez les lignées ALG440.439 et TN1.11.



Na Cl. — Lié à l'axe 1 ; — Lié à l'axe 2.

Figure IV. 41 : Cercle des corrélations et plans de répartition des individus de l'essai 150 mM

## Conclusion et Perspectives

### Conclusion

La salinisation des sols et la sécheresse sont des facteurs limitatifs majeurs de la production agricole de part le monde (Wang *et al.*, 2003). L'Algérie, dont une grande partie des régions agricoles se caractérise par un climat aride et semi-aride, est touchée par le processus de salinité. Actuellement, près de 3,2 millions d'hectares sont menacés de salinisation dans ce pays (Benmahioul, 2009).

Beaucoup d'efforts s'agglomèrent pour valoriser et développer ces régions, parmi ces initiatives l'adoption de plantations à base de légumineuses capables plus au moins de tolérer le sel : en rotation ou comme culture dérobée ou encore comme plantes pionnières, celles-ci une fois établies contribueront à la réintégration de ces terres et à l'amélioration de leurs fertilités, outre leurs intérêts alimentaires.

*Medicago truncatula* est une des deux espèces modèles choisies pour le séquençage du génome des légumineuses. La raison principale des travaux menés sur celle-ci, étant la compréhension des mécanismes de la fixation symbiotique de l'azote et plus généralement du dialogue hôte-symbionte et hôte-pathogène. Un autre intérêt d'actualité consiste à parvenir chez les légumineuses à l'amélioration (de la productivité, de la résistance aux contraintes environnementales telle que la salinité...). Ces travaux exploitent, la variabilité naturelle et / ou créée (mutation, transformation génétique...) de *Medicago truncatula*. Outre l'intérêt scientifique apporté, elle présente un intérêt agronomique et économique, *Medicago truncatula* est un fourrage très intéressant et pourrait être utilisé dans différents systèmes de production pour combler le déficit fourragé actuel.

Chez plusieurs espèces végétales, les dégâts produits par le stress salin se manifestent communément par une séquence de changements morphologiques et physiologiques (Levigneron, 1995). Notre travail consiste, cependant, à étudier l'effet du stress salin sur le comportement de 34 lignées de *Medicago truncatula* en traitant exclusivement l'entité végétale pendant 37 jours avec des doses croissantes de NaCl (50 mM, 100 mM, 150 mM, 200 mM), en conditions strictement contrôlées pour, enfin, estimer la croissance des vitrosemis en mesurant la longueur de la partie aérienne et racinaire ainsi que la production en biomasse totale des matières fraîches et sèches de la partie aérienne et racinaire.

Par ailleurs, d'apprécier, dans les mêmes conditions mais cette fois pour seulement dix lignées de la collection de départ et trois doses de chlorure de sodium (50 mM, 100 mM, 150 mM), l'effet du sel sur quelques caractères biochimiques (l'accumulation foliaire de la proline, l'intégrité du système photosynthétique) et physiologique (la teneur relative en eau).

Notre travail montre que le matériel végétal utilisé, en l'occurrence les 34 génotypes de *Medicago truncatula*, se caractérise par une variabilité de réponse assez importante. Cette variabilité dépend de la lignée et également de la concentration en NaCl additionnée au milieu de culture.

Le premier volet, qui concerne la croissance et dont les paramètres choisis et analysés au cours de notre étude ont montré une diversité dans la conduite des lignées en absence de stress et éventuellement en sa présence. Ainsi, dans le milieu de culture exempt de sel, deux génotypes ont montré la production en biomasse la plus modeste ALG334.270,

ALG310.209 ; en contre partie les lignées ALG423.379, ALG255.146, ALG327.239 ont présenté la production en biomasse la plus élevée.

Sous un stress modéré (50 mM de NaCl), ces mêmes 5 lignées de *Medicago truncatula* : ALG423.379, ALG255.146, ALG327.239 ont rapidement réduit leur expansion foliaire et leur croissance aérienne mais tendent à maintenir l'accroissement en longueur de leur système racinaire. Tandis que ALG334.270, ALG310.209 ont augmenté leur taux de développement, non seulement elles tolèrent, cette dose de sel, mais celle-ci semble même stimulée leur croissance. Auxquelles se joignent, à différent degré de tolérance, les génotypes ALG299.185, ALG402.319, ALG405.340, ALG418.370, ALG429.393, ALG432.406, ALG433.407, ALG440.439, DZA315.16, TN1.11 qui ont présenté tous un indice de sensibilité positif (pour le paramètre poids frais). Parmi toutes ces lignées, celles qui se mesurent à la lignée tunisienne TN1.11, témoin résistante au sel, sont les génotypes ALG405.340, ALG418.370, ALG440.439 réunissant à la fois une matière fraîche de l'appareil aérien et une tolérance à cette dose de sel analogues sinon supérieures à celle de TN1.11. Cependant, par rapport à la matière sèche de la partie aérienne les onze lignées algériennes suscitées la surpassent de loin.

La lignée ALG331.252 a montré un comportement particulier, par rapport au reste des génotypes étudiés, celui d'allouer le développement de son système racinaire par rapport à la croissance de son système aérien et cela envers les deux traitements salins (50 et 100 mM de NaCl) ce qui est considéré comme un signe de tolérance au sel pour beaucoup d'auteurs (Neumann, 1997). Elle a également présenté un cycle phénologique court de 37 jours qui ne semble pas être freiné par la concentration 50 mM de chlorure de sodium tandis que la concentration 100 mM l'ajourne. En effet, une croissance rapide confère aux plantes une bonne aptitude à diluer les ions toxiques  $\text{Na}^+$  et  $\text{Cl}^-$  et à protéger les tissus contre une accumulation de ces ions à des niveaux toxiques. La corrélation positive entre la vigueur des plantes et la tolérance au sel a été mise en évidence chez des variétés de lentille (Lachâa, 1998) et d'haricot (Sâadallah et Abdelly, 2001).

La dose 100 mM de NaCl ne bloque pas la croissance de la partie aérienne ni l'élongation racinaire de la lignée ALG405.340, ni le développement racinaire de la lignée ALG331.252 ; par contre, elle les incite. En revanche, cette même dose de salinité affecte négativement la croissance de l'appareil végétatif de l'ensemble des 32 lignées de *Medicago truncatula* ; il en est de même pour les concentrations 150 et 200 mM de chlorure de sodium dont l'effet est plus prononcé que la sévérité du sel l'est. Ainsi, le traitement 200 mM inhibe pratiquement la croissance des génotypes étudiés. Les mêmes résultats ont aussi été obtenus par Abdelly *et al.* (1995) et Merchan *et al.* (2003 et 2007) ; également chez d'autres plantes : trèfle (Ben Khaled *et al.*, 2003), agrumes (Rochdi *et al.*, 2005), sétaire (Ben Ahmed *et al.*, 2008). Cette diminution de la croissance est le résultat au niveau cellulaire d'une baisse du nombre de divisions cellulaires lors des stress abiotiques (stress salin et hydrique).

Les résultats obtenus au second volet, attribués à l'étude de certains traits biochimiques et physiologiques associés au stress salin, chez dix lignées de *Medicago truncatula* ALG255.146, ALG299.185, ALG310.209, ALG331.252, ALG440.439, ALG453.487, A20, DZA045.5, F83005.5, TN1.11, soumises à trois concentrations de NaCl durant 37 jours, font ressortir que la réponse au stress présente globalement un effet dépressif. Le degré d'affection dépend : du génotype, la raideur du stress et cependant du paramètre retenu.

En effet, nous avons remarqué que les teneurs en chlorophylles a, b, totale et des caroténoïdes sont des paramètres très sensibles, qui peuvent nous renseigner sur le

degré de tolérance des lignées étudiées à la salinité. La teneur des feuilles en pigment chlorophylliens de la majorité des génotypes étudiés est significativement réduite. On note d'un côté que la chlorophylle a est plus sensible à l'effet du stress salin que la chlorophylle b, les lignées ALG453.487, ALG310.209, F83005.5 ont enregistré la chute la plus prononcée en ce pigment. Et d'un autre côté que les génotypes naturellement riches en chlorophylle totale A20, ALG453.487, DZA045.5, ALG310.209, perdent plus facilement leur chlorophylle que les lignées naturellement pauvres ALG255.146, ALG 299.185, ALG 440.439, F83005.5. Abstraction faite de la lignée ALG331.252 pour laquelle les doses croissantes de chlorure de sodium n'ont pas atténué l'accroissement de sa teneur en chlorophylles, celle des caroténoïdes est plus au moins statique. La lignée TN 1.11 se comporte conformément au génotype ALG331.252 à l'égard de la dose 50 mM de NaCl au-delà de ce seuil elle réagit de la même façon que le reste des lignées.

Du point de vue de la turgescence des feuilles, on remarque généralement que la teneur en eau des plantules n'est que légèrement modifiée. Les différentes concentrations de NaCl appliquées ont un effet modeste sur l'état d'hydratation de la majorité des vitro semis qui n'a diminué que de 4.96 % en moyenne pour les différents traitements. Ce qui concorde avec les résultats obtenus par Nunes (2008). Les plantes accumulent un certain nombre d'osmoticums tel que la proline, les carbohydrates et la betaine (Wang *et al.*, 2003) qui, en association avec d'autres facteurs tels que la réduction de la transpiration par la fermeture des stomates et la réduction de la surface foliaire (Karrou *et al.*, 2001), permettent de garder la turgescence et le volume cytosolique aussi élevé que possible (Monneveux & Nemmar, 1986; Bouzoubaa *et al.*, 2001; Wang *et al.*, 2003).

Le dosage de la proline libre a montré que le stress salin a entraîné l'accumulation de cette molécule chez la plupart des lignées. Cette augmentation de la concentration est nette chez six lignées ALG255.146, ALG299.185, ALG310.209, ALG440.439, ALG453.487, A20, DZA045.5 seulement. Cependant, sa teneur chez ALG331.252 et TN1.11, a régressé en moyenne de 17.82% et de 47.92% chez F83005.5 relativement au témoin sans stress. Sachant que le génotype F83005.5 est identifié sensible au sel ; en effet, le sel réduit à la fois sa teneur en chlorophylle et en proline.

L'accumulation de la proline serait attribuée à l'effet inhibiteur du stress sur son oxydation dans les mitochondries (Sell et Koepp 1981), ainsi que sur son incorporation dans les protéines (Hsiao 1973). La néosynthèse de la proline serait déclenchée par la perte de la turgescence due à la salinité (Huer 1993). L'explication de l'accumulation de la proline est confuse. Si plusieurs auteurs ont lié l'accumulation de la proline à la tolérance des plantes à la salinité (Rhodes et Handa 1989; Delauney et Verma 1993), d'autres rapportent l'absence de cette corrélation (Perez-Alfocea *et al.*, 1993 ; Guerrier 1998 ; Mani *et al.*, 2002) ce qu'est toujours en débat.

Nos résultats accréditent, cependant, les deux opinions. En effet, les génotypes ALG331.252, TN1.11, ALG440.439 qui ont montré une vigueur et une tolérance au sel (NaCl) *in vitro*. Chez les deux premiers nous avons constaté l'absence de relation entre la tolérance des génotypes et l'accumulation de la proline. Lorsque la lignée ALG440.439 a accumulé une quantité élevée de proline ; cependant, celle-ci a montré plutôt une tolérance à la dose 50 mM de sel qu'aux concentrations supérieures. La proline s'accumulerait plus rapidement dans la lignée sensible que dans la lignée résistante au sel (Dix et Pearce, 1981). Une légère accumulation de proline est une réaction d'adaptation de la plante vis-à-vis du stress. Elle est nécessaire pour l'ajustement osmotique (Gadallah, 1999 ; Demir, 2000). Par contre, une forte accumulation de cet acide aminé est un signe de perturbation métabolique (Cheikh M'hamed *et al.*, 2008).

À la lumière des résultats obtenus et en tenant compte de l'ensemble des analyses effectuées, pour déterminer la tolérance des plants au sel (NaCl) *in vitro*, nous pouvons globalement dire, à propos des lignées de *Medicago truncatula* autochtones testées, que celles issues de l'Est des hautes plaines et du centre des zones montagneuses semblent plus tolérantes que celles occupant d'autres reliefs du Nord algérien. Cette observation peut être relative étant donné que la plupart des lignées étudiées proviennent de l'Est du pays.

### Perspectives

La résistance aux stress dépend fortement du stade de développement de la plante, des techniques culturales, des conditions climatiques et édaphiques (Sacher *et al.*, 1982). Elle ne peut donc être ni définie ni prévue de façon absolue, mais doit être vue comme un paramètre relatif. Néanmoins, l'accumulation de plusieurs critères de tolérance, renseigne sur l'aptitude du génotype et constitue un critère potentiel pour caractériser la tolérance à la salinité. Quoiqu'une étude approfondie de l'héritabilité de ces caractères reste primordiale.

Cette étude a mis en évidence l'existence d'une certaine variabilité génotypique pour les métabolites analysés. Ces derniers peuvent constituer des critères potentiels pour caractériser la tolérance à la salinité chez *Medicago truncatula*. Cependant, dans les mêmes conditions de notre essai, il serait intéressant aussi de doser les protéines, d'autres osmotocites ; de doser les ions  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  et  $\text{K}^+$  dans les différents organes de la plante pour :

Déterminer le mode de circulation de  $\text{Na}^+$  dans cette dernière. Le degré de résistance au sel est défini par le contrôle exercé sur cette accumulation : pour une espèce donnée, les variétés les plus tolérantes sont celles qui limitent le plus efficacement le transport de  $\text{Na}^+$  dans les feuilles (Zid et Grignon, 1991). L'accumulation apoplasmique des ions  $\text{Na}^+$  et  $\text{Cl}^-$  serait le paramètre le plus impliqué dans le flétrissement et la mortalité de certaines espèces de *Medicago* soumises au stress salin (Abdelly, 1997).

Les légumineuses sont considérées comme des espèces sensibles au sel, puisque leur croissance est généralement diminuée à des concentrations de 50 mM de NaCl. En outre, elles présentent une grande variabilité pour la résistance au sel et plusieurs d'entre elles répondent à la salinité par l'exclusion de  $\text{Cl}^-$  des parties aériennes. Selon Lauchli (1984), ce critère peut être pris en considération pour la sélection d'espèces ou variétés résistantes au sel.

L'efficacité d'utilisation du potassium en présence d'excès de NaCl est aussi un critère de tolérance (Glass et Perley, 1980).

Egalement, une évaluation avérée d'une résistance au sel des lignées de *Medicago truncatula* nécessitera la conduite simultanée des tests en laboratoire, des expérimentations agronomiques.

## Références Bibliographiques

- Abdeguerfi A. (1978) Contribution à l'étude écologique des luzernes annuelles en Algérie. Thèse Magister Algérie .116p.
- Abdeguerfi A., Chapot J.Y., Conesa A.P., & Roseau R. (1988) Contribution à L'étude des Espèces Spontanées du Genre *Medicago* en Algérie : répartition des espèces en fonction des facteurs du milieu. *Ann. Inst. Agro. El Harrach* **12** 1: 304-328.
- Abdelly C., Lachaa M., Grignon C., Soltani A. & Hajji M. (1995) Association épisodique d'halophytes stricts et de glycophytes dans un écosystème hydromorphe salé en zone semi-aride = Episodic association of strict halophytes and glycophytes in a saline, hydromorphic ecosystem in semi-arid zones *Agronomie* **9** 10 : 557-568.
- Abdelly C. (1997) Mécanismes d'une association de Luzernes spontanées et de halophytes pérennes en bordure de sebkha, thèse d'État, faculté des sciences de Tunis, *université Tunis-2* 290p.
- Abe H., Yamaguchi-Shinozaki K., Urao T., Iwasaki T., Hosokawa D., & Shinozaki K.** (1997) Role of Arabidopsis MYC and MYB homologs in drought- and abscisic acid-regulated gene expression. *Plant Cell* **9** : 1859–1868.
- Adams P., Thomas J.C., Vernon D.M., Bohnert H.J. & Jensen R.G. (1992) Distinct cellular and organismic responses to salt stress. *Plant Cell Physiol.* **33**: 1215–1223.
- Agastian P., Kingsley S.J. & Vivekanandan M. (2000) Effect of salinity on photosynthesis and biochemical characteristics in mulberry genotypes. *Photosynthetica* **38**: 287–290.
- Ahmad M.H., Rafique Uddin M. & McLaughlin W. (1984) Characterization of indigenous rhizobia from wild legumes. *FEMS Microbiol. Lett.* **24**: 197-203.
- Alia P.S. & Mohanty P. (1997) Involvement of proline in protecting thylakoid membranes against free radical-induced photodamage. *J. Photochem. Photobiol.* **38**: 253–257.
- Al-Karaki G.N. (2001) Germination, sodium and potassium concentration of barley seeds as influenced by salinity. *J. Plant Nutr.* **24**: 511–522.
- Analyses faite par le laboratoire d'analyse de Beni Khalled, CRDA (Commissariat Régional de Développement Agricole), Tunis (Tunisie)
- Apel K. & Hirt H. (2004) Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu. Rev. Plant Biol.* **55**: 373–99.
- Apostolova E.L., Dobrikova A.G., Ivanova P.I., Petkanchin I.B. & Taneva S.G. (2006) Relationship between the organisation of the supercomplex and the functions of the photosynthetic apparatus. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* **38**:114-122.
- Aragüés R., Urdanoz V., Çetin M., Kirda C., Daghari H., Lti# W., Lahlou M. & Douaik A. (2011) Soil salinity related to physical soil characteristics and irrigation management in four Mediterranean irrigation districts *Agricultural Water Management* **98**: 959–966.

- Armengaud P., Thiery L., Buhot N., Grenier de March G. & Savouré A. (2004) Transcriptional regulation of proline biosynthesis in *Medicago truncatula* reveals developmental and environmental specific features. *Physiol. Plant* **120**: 442–450.
- Asada K. (1994) Production and action of active oxygen species. In: photosynthetic tissues. Causes of Photooxidative Stress and Amelioration of Defence Systems in Plants. Foyer C.H. & Mullineaux P.M. Boca Raton, CRC Press: 77-104.
- Ashraf M. (2004) Some important physiological selection criteria for salt tolerance in plants. *Flora* **199**: 361–376.
- Aydi S. Drevon J.J. & Abdelly C. (2004) Effect of salinity on root-nodule conductance to the oxygen diffusion in the *Medicago truncatula*-*Sinorhizobium meliloti* symbiosis. *Plant Physiol Biochem* **42**: 833-840.
- Ballesteros E., Blumwal E., Donaire J.P. & Belder A. (1997)  $\text{Na}^+ / \text{H}^+$  antiport activity in tonoplast vesicles isolated from sunflower roots induced by NaCl stress *Physiol. Plant* **99** :328-334.
- Bataillon T. & Ronfort J. (2006) Evolutionary and Ecological Genetics of *Medicago truncatula*. *Medicago truncatula Handbook*.1-13.
- Bates L.S., Waldern R.P. & Teare I.D. (1973) Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil* **39**: 205-207.
- Belkhodja R. (1993) La fluorescence de la chlorophylle sur l'orge (*Hordeum vulgare* L.): une possible voie pour le criblage de variétés tolérantes à la salinité et à la sécheresse. Master of Science Thesis. *Instituto Agronomico Mediterraneo de Zaragoza, Spain*.
- Ben Ahmed H., Manaa A. & Zid E. (2008) Tolérance à la salinité d'une poaceae à cycle court : la sétairie (*Setaria verticillata* L.), *C. R. Biologies* **331**: 164–170.
- Ben-Hayyim G., Vaadia Y. & William B. G. (1989) Proteins associated with salt adaptation in citrus and tomato cells: Involvement of 26 KD polypeptides. *Physiol. Plant*. **77**: 332–340.
- Bengston C., Klockare B., Klockare R., Lasson S. & Sundquist C. (1978) The after effect of water stress on chlorophyll formation during greening and the level of abscisic acid and proline in dark grown wheat seedling. *Plant Physiol* **43**: 205-212.
- Ben Khaled L. Morte Gomez A. Honrubia M. & Oihabi A. (2003) Effet du stress salin en milieu hydroponique sur le trèfle inoculé par Rhizobium, *Agronomie* **23** : 553–560.
- 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* **332** : 752–758.
- Bernstein L. & Hayward H.E. (1958) Physiology of salt tolerance. *Ann. Rev. Plant Physiol.* **9**: 25-46.
- Bernstein N., Silk W.K. & Lauchli A. (1993) Growth and development of sorghum leaves under conditions of Na Cl stress. *Planta* **191**: 433–439.
- Berthomieu P., Conejero G., Nublát A., Brackenbury WJ., Lambert C., Savio C., Uozumi N., Oiki S., Yamada K. & Cellier F. (2003) Functional analysis of AtHKT1 in Arabidopsis shows that  $\text{Na}^+$  recirculation by the phloem is crucial for salt tolerance. *EMBO J* **22**: 2004-2014.

- Bies-Etheve N., Gaubier-Comella P., Debures A., Lasserre E., Jobet E., Raynal M., Cooke R. & Delseny M. (2008) Inventory, evolution and expression profiling diversity of the LEA (late embryogenesis abundant) protein gene family in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Mol. Biol.* **67**: 107–124
- Blumwald, E. & Aharon G.S. (2000) Sodium transport in plant cells. *Biochim. Biophys. Acta* **1465**: 140–151.
- Borsani O., Valpuesta V. & Botella M. (2001) Evidence for a role of salicylic acid in the oxidative damage generated by Na Cl and osmotic stress in *Arabidopsis* seedlings. *Plant Physiol.* **126**:1024-1030.
- Botella M.A., Martinez V., Pardines J. & Cerda A. (1997) Salinity induced potassium deficiency in maize plants *J. Plant Physiol.* **150**:200-205.
- Bouzoubaa Z., El Mourid M., Karrou M. & El Gharous M. (2001) Manuel d'analyse chimique et biochimique des plantes. *INRA Maroc*.
- Boyer J.S. (1982) Plant productivity and environment. *Science* **218**: 443-448.
- Bray E.A. (1993) Molecular responses to water deficit. *Plant Physiol.* **103**:1035–1040.
- Brinkman R. (1980) Sols salins et sodiques. In: la remise en état des terres et gestion de l'eau, Institut international pour la réhabilitation des sols et d'amélioration (ILRI) *Wageningen, Pays-Bas* 62-68.
- Brosché M., Overmyer K., Wrzaczek M. & Kangasjärvi J. (2010) Stress Signaling III: Reactive Oxygen Species (ROS). 91-102 pp. In: Ashwani P., Sudhir K.S., Hans J.B. & Govindjee. Abiotic Stress Adaptation in Plant: physiological, Molecular and Genomic Foundation. *Springer* 523p.
- Brown J.K.M. (2002) Yield penalties of disease resistance in crops. *Curr. Opin. Plant Biol.* **5**: 339–344.
- Buitink J., Ly Vu B., Sator P. & Leprince O. (2003) The reestablishment of desiccation tolerance in germinated radicals of *Medicago truncatula* Gaertn. Seeds. *Seed Science Research* **13**: 273-286.
- Cannon S.B., McCombie W.R., Sato S., Tabata S., Denny R., Palmer L., Katari M., Young N.D. & Stacey G. (2003) Evolution and microsynteny of the apyrase gene family in three legume genomes. *Molecular Genetics Genomics* **270**: 347-361.
- Chae L., Luan S., Pandey G.K., Cheong Y.H. & Kim K-N. (2010) Protein Kinases and Phosphatases for Stress Signal Transduction in Plants. 123-163 pp. In: Ashwani P., Sudhir K., S. Hans J.B. & Govindjee. Abiotic Stress Adaptation in Plant: physiological, Molecular and Genomic Foundation. *Springer* 523p.
- Chalck P.M. (1998) Dynamics of biologically fixed N in legume-cereal rotations: a review. *Aust. J. Res* **49**: 303-316.
- Chaves M.M. (1991) Effects of water deficit on carbon assimilation. *J. Exp. Bot.* **42**:1–16.
- Cheeseman J.M. (1988) Mechanism of salinity tolerance in plants. *Plant Physiol.* **87**: 547–550.
- Chen C.T., Li C.C. & Kao C.H. (1991) Senescence of rice leaves. XXXI changes of chlorophyll, protein and polyamine contents and ethylene production during senescence of a chlorophyll-deficient mutant *J. Plant growth Reg.* **10**: 201-205.

- Chen J.R., Lü J.-J., Wang T.X., Chen S.Y. & Wang H.-F. (2009) Activation of a DRE-binding transcription factor from *Medicago truncatula* by deleting a Ser/Thr-rich region. *In Vitro. Cell.Dev.Biol. Plant* **45**:1–11.
- Chen T.H. & Murata N. (2002) Enhancement of tolerance of abiotic stress by metabolic engineering of betaine and other compatible solutes. *Curr Opin plant Biol* **5**: 250-257.
- Cheng, Z., Targolli J., Huang X. & Wu R. (2002) Wheat LEA genes, PMA80 and PMA1959, enhance dehydration tolerance of transgenic rice (*Oryza sativa* L.). *Mol. Breed.* **10**: 71–82.
- Cheikh M'hamed H., Abdellaoui R., Kadri K., Ben Naceur M. & Bel Hadj S. (2008) Evaluation de la tolérance au stress salin de quelques accessions d'orge (*Hordium vulgare*L.) cultivées en Tunisie: approche physiologique *Sciences & Technologie C* **28** : 30 -37.
- Chinard F. P. (1952) Chlorophylls and Carotenoids: Measurement and Characterization by UV-VIS Spectroscopy *J. Biol. Chem.* **199**: 91p.
- Choi H.K., Mun J.H., Kim D.J., Zhu H., Baek J.M., Mudge J., Roe B., Ellis N., Doyle J., Kiss G.B., Young N.D. & Cook D.R. (2004) Estimating genome conservation between crop and model legume species. *PNAS* **101**: 15289-15294.
- Comeau A. & Haber S. (2002) Breeding for BYDV tolerance in wheat as a basis for a multiple stress tolerance strategy. 82-92pp. In: Henry M. & McNab A. Barley yellow dwarf disease, recent advances and future strategies. *CIMMYT, Mexico*.
- Comeau, A. & Haber S. (2004) Resistance and tolerance to BYDVs/CYDVs in cereals. 204-218pp. In: Lapierre H. & Signoret A. Viruses and virus diseases of Poaceae (Gramineae). *INRA, Paris ISBN 2:7380-10881*.
- Cook D.R. (1999) *Medicago truncatula* a model in the making! *Curr. Opin. Plant Biol.* **2**:301-304.
- Costa Franc M.G., Thi A.T.P., Pimentel C., Rossiello R.O.P., Zuily-Fodil Y. & Laffray D. (2000) Differences in growth and water relations among *Phaseolus vulgaris* cultivars in response to induced drought stress. *Environ. Exp. Bot.* **43**: 227–237.
- Crawford E.J., Lake A.W.H. & Boyce K.G. (1989) Breeding annual *Medicago* species for semiarid conditions in Southern Australia. *Adv Agron* **42**:399-437.
- Cruz de Carvalho M.H., Laffray D. & Louguet P. (1998) Comparison of the physiological responses of *Phaseolus vulgaris* and *Vigna unguiculata* cultivars when submitted to drought conditions. *Environ. Exp. Bot.* **40**: 197–207.
- Davenport R., Reid R.J. & Smith F.A. (1997) Sodium-calcium interactions in two wheat species differing in salinity tolerance *Physiol. Plant* **99** : 323-327.
- Davis M.S., Forman A. & Fajer J. (1979) Ligated chlorophyll cation radicals: their function in photosystem II of plant photosynthesis. *Proc Natl Acad Sci USA*. **76**: 4170–4.
- Decroocq V., Fave M.G., Hagen L., Bordenave L. & Decroocq S. (2003) Development and transferability of apricot and grape EST microsatellite markers across taxa. *Theor Appl Genet* **106**: 912–922.
- Delalande M., Greene S., Hughes S., Nair R., Huguet T., Aouani M. A., & Prospri J.M. (2007) Wild accessions / populations. *Medicago truncatula handbook*. 1-27.

- Delauney A.J., Hu C-AA., Kisher PBK. & Verma DPS. (1993) Cloning of ornithine delta aminotransferase cDNA from *Vigna aconitifolia* by trans-complementation in *Escherichia coli* and regulation of proline biosynthesis. *J. Biol. Chem.* **268**:18673–18678.
- Delauney A.J. & Verma D.P.S. (1993) Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. *Plant J.* **4**: 215–223.
- Delphine S., Alvino A., Zacchini M. & Loreto F. (1998) Consequences of salt stress on conductance to CO<sub>2</sub> diffusion, Rubisco characteristics and anatomy of spinach leaves. *Aust. J. Plant Physiol.* **25**: 395–402.
- Denarie J. & Gamas P. (2001) La légumineuse modèle *Medicago truncatula* : approches génomiques et perspectives. *Ecole thématique Biologie végétale* : 1-9.
- Demir Y. (2000) Growth and proline content of germinating wheat genotypes under ultraviolet light Turk. *J. Bot* **24**: 67-70.
- Dix P.J. & Pearce P.S. (1981) Proline accumulation in Na Cl-resistant and sensitive ce11 lines of *Nicotiana sylvestris*. *Z Pflanzenphysiol Bd* **102 S** : 243-248.
- Doyle J.J. & Luckow M.A. (2003) The rest of the iceberg. Legume diversity and evolution in a phylogenetic context. *Plant Physiology* **131**: 900–910.
- Duff A.W. (1937) Physics. In: (1975) Plant water relations. *Prog. Bot.* **37**: 78-97.
- Falconer D.S. & Mackay T.F.C. (1996) Introduction to Quantitative Genetics, 4th ed. London, *Prentice Hall*.
- Farooq M., Wahid A., Kobayashi N., Fujita D. & Basra S.M.A. (2009) Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agron. Sustain. Dev.* **29**:185-2121.
- Fathi R.A. & Prat D. (1989) Effects of saline stress on Eucalyptus seedlings, *Ann. Sci. For* **46**: 376–378.
- Finkelstein R., Gampala S. & Rock C. (2002) Abscisic acid signaling in seeds and seedlings. *Plant Cell.* **14**: 15–45.
- Flowers T.J., Troke P.F. & Yeo A.R. (1977) The mechanisms of salt tolerance in halophytes. *Annu. Rev. Plant Physiol.* **28**: 89–121.
- Foyer C.H. & Fletcher J.M. (2001) Plant antioxidants: colour me healthy. *Biologist* **48**: 115–120.
- Francois L.E., Maas E.V., Donovan T.J. & Youngs V.L. (1986) Effect of salinity on grain yield and quality, vegetative growth and germination of semi-dwarf and durum wheat. *Agron. J.* **78**:1053–1058.
- Francois L.E., Donovan T.J., Maas E.V. & Lesch S.M. (1994) Time of salt stress affects growth and yield components of irrigated wheat. *Agron. J.* **86**:100–107.
- Frugoli J. & Harris J. (2001) *Medicago truncatula* on the move! *Plant Cell.* **13**:458-463.
- Fujita T., Maggio A., Garcia-Rios M., Staudacher C., Bressan RA. & Csonka LN. (2003) Identification of regions of the tomato gamma-glutamyl kinase that are involved in allosteric regulation by proline *J Biol Chem* **278**: 14203–14210.
- Gadallah M.A.A. (1999) Effects of proline and glycinebetaine on *Vicia faba* response to salt stress. *Biol. Plant.* **42**: 249–257.

- Gallardo K., Le Signor C., Darmency M., Burstin J., Thompson R., Rochat C., Boutin J.P., Kuester H., Buitink J., Leprince O., Limami A. & Grusak M.A. (2007) Seed Biology of *Medicago truncatula*. *Medicago truncatula Handbook*. 1-9.
- Garcia J., Barker D.G. & Journet E.P. (2006) Seed Storage and germination. *Medicago truncatula Handbook*. 1-9.
- Geiger D. & Servaites J. (1991) Carbon allocation and response to stress. 103-127pp. In: Mooney H., Winner W., Pell E. & Chu E. Response of plant to multiple stresses. *Academic Press. San Diego*.
- Glass ADM. & Perley JE. (1980) Varietal differences in potassium uptake by barley *Plant Physiol* **65** : 160-164.
- Glemen M. & Smith F.A. (1993) Gas exchange and chlorophyll content of "Trif blue" rabbitey and "Sharp blue" southern highbush. Blueberry exposed to salinity and supplemental calcium. *J. Amerc. Soc. Horti. Sci. II*: 749-756.
- Glenn E. P., Brown J. & Blumwald E. (1999) Salt tolerance and crop potential of halophytes. *Crit. Rev. Plant Sci.* **18**: 227–255.
- Grattan S.R. & Grieve C.M. (1999) Salinity-mineral nutrient relations in horticultural crops. *Sci. Hortic.* **78**: 127–157.
- Greenway H. & Munns R. (1980) Mechanisms of salt tolerance in nonhalophytes. *Annual Review of Plant Physiology* **31**:149-190
- Guillaume Calu. (2006) *Arabidopsis thaliana* et *Thellungiella halophila*, plantes modèles dans l'étude du stress salin. *SpectroSciences*. 1-14.
- Guerrier G. (1998) Proline accumulation in salt-treated tomato: different proline precursors in *Lycopersicon esculentum* and *Lycopersicon pennillii*. *J. Plant Nutr* **21**: 505–513.
- Gunes A., Inal A., Alpaslan M., Eraslan F., Bagci E.G. & Cicek N. (2007) Salicylic acid induced changes on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress and mineral nutrition in maize (*Zea mays* L.) grown under salinity. *J. Plant Physiol* **164**: 728–36.
- Hamrouni L., Ben Abdallah F., Abdelly C. & Ghorbeld A. (2008) La culture in vitro : un moyen rapide et efficace pour sélectionner des géotypes de vigne tolérant la salinité *C. R. Biologies* **331**:152–163.
- Hamza M. (1980) Réponses des plantes à la salinité. *Physiol. Vég.* **13**: 69–81.
- Hanan J., Bucciarelli B. & Carroll P.V. (2006) Sharing phenotypic data: A coding system and a developmental model. *The Medicago truncatula Handbook*. 1-21.
- Hsiao T.C. & Xu L.K. (2000) Sensitivity of growth of roots versus leaves to water stress: biophysical analysis and relation to water transport *Journal of Experimental Botany* **51**:1595–1616.
- Heller R., Esnault R. & Lance C. (1998) Physiologie végétale 1. *Nutrition. Dunod*, Paris. 323p.
- Hall A. (1993) Is dehydration tolerance relevant to genotypic differences in leaf senescence and crop adaptation to dry environments? In: Close T.J., Bray E.A. *Plant*

- Responses to Cellular Dehydration during Environmental Stress *American Society of Plant Physiologists Series* **10**:1–10.
- Hare P. & Cress W. (1997) Metabolic implications of stress induced proline accumulation in plants. *Plant Growth Regul.* **21**: 79–102.
- Hasegawa P.M., Bressan R.A., Zhu K.J. Bohnert H.J. (2000) Plant cellular and molecular responses to high salinity *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **51**: 463–499.
- Hernandez J.A., Olmos E., Corpas F.J., Sevilla F. & del Rio L.A. (1995) Salt-induced oxidative stress in chloroplasts of pea plants. *Plant Sci.* **105**: 151–167.
- Hernandez J.A., Campillo A., Jimenez A., Alacon J.J. & Sevilla F. (1999) Response of antioxidant systems and leaf water relations to NaCl stress in pea plants. *NewPhytol.* **141**: 241–251.
- Heyn C.C. (1986) The annual species of *Medicago*. *Scripta hierosolymina* **12**: 154 p.
- Higinbotham N. (1973) Electropotentials of plant cells. *Annu. Rev. Plant Physiol.* **24**: 25–46.
- Hippolyte Coste (1901-1906) Flore descriptive et illustrée de la France, de la Corse et des contrées limitrophes, Klincksieck, Paris, 3 volumes.
- Hoekstra F.A., Golovina E.A. & Buitink J. (2001) Mechanisms of plant desiccation tolerance. *Trends Plant Sci.* **6**: 431–438.
- Hogarth P.J. (1999) The Biology of Mangroves. *Oxford University Press, New York.*
- Hong Z. Lakkineni K., Zhang Z. & Verma D.P.S. (2000) Removal of feedback inhibition of delta (1)-pyrroline-5-carboxylate synthetase results in increased proline accumulation and protection of plants from osmotic stress. *Plant Physiol.* **122**: 1129–1136.
- Hopkins W.G. (2003) Physiologie Végétale IIème édition *Boeck Université Bruxelles.* 495 p.
- Horie T., Hauser F. & Schroeder JI. (2009) HKT transporter-mediated salinity resistance mechanisms in Arabidopsis and monocot crop plants. *Trends Plant Sci* **14**: 660-668.
- Hsiao T. C. (1973). Plant responses to water stress. *Ann. Rev. Plant Physiol* **24**: 519–570.
- Hu C.A., Geraghty M., Lin W.-W. & Valle D. (1992) A bifunctional enzyme (delta 1-pyrroline-5-carboxylate synthetase) catalyses the first two steps in proline biosynthesis in plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **89**: 9354–9358.
- Hu Y. & Schmidhalter U. (1998) Spatial distributions and net deposition rates of mineral elements in the elongating wheat (*Triticum aestivum* L.) leaf under saline soil conditions. *Planta* **204**:212–219.
- Huer B. (1993) Osmoregulatory role of proline in water and salt stressed plants. In: Pessaraki M., Handbook of plant and crop stress. *Marcel Dekker, Inc., New York, NY* 363 -381.
- Hussain M., Malik M.A., Farooq M., Ashraf M.Y. & Cheema M.A. (2008) Improving Drought tolerance by exogenous application of glycine betaine and salicylic acid in sunflower. *J. Agron. Crop Sci.* **194**:193–199.

- ILRI Rapport annuel (1988) Efficacité et social / Impacts environnementaux des projets d'irrigation: Un examen Criticial. Institut international pour la réhabilitation des sols et Amélioration *Wageningen, Pays-Bas* p.18-34, [www.waterlog.info / articles.htm](http://www.waterlog.info/articles.htm)
- Iyengar E.R.R. & Reddy M.P. (1996) Photosynthesis in highly salt-tolerant plants. In: Pesserkali M. Handbook of photosynthesis. *Marshal Dekar, Baten Rose, USA*. 897–909.
- Kalo P., Endre G., Zimanyi L., Csanadi G. & Kiss G.B. (2000) Construction of an improved linkage map diploid alfalfa *Medicago sativa*. *Theoretical and Applied Genetics* **100**: 641–657.
- Kavi Kishor P.B., Sangam S., Amrutha R.N., Laxim P.S., Naidu K.R., Rao K.R.S.S., Rao S., Reddy K.J., Theriappan P. & Sreevivasulu N. (2005) Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. *Curr. Sci.* **88**: 424–438.
- Kaya M.D., Okçub G., Ataka M. & Ç#k#l#cY.,Kolsar#c#a Ö. (2006) Seed treatments to overcome salt and drought stress during germination in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Eur. J. Agron.* **24**: 291–295.
- Kearsey M.J. (1998) The principles of QTL analysis (a minimal mathematics approach). *Journal of Experimental Botany* **49**:1619–1623.
- Lachâal M. (1998) Variabilité de la réponse à la salinité chez la lentille et variation en fonction du stade de développement, thèse d'État, faculté des sciences de Tunis *université Tunis-2*, 226 p.
- Lahmar R. (1996) Comment désertifier un désert. Irrigation et salinisation au Sahara algérien dph. [www.ritimo.org](http://www.ritimo.org)
- Langevin F. & Lévesque M. (2005) La Santé des racines: le monde de la complexité. SPPQ. Québec. *Phytoprotection.* **86** 1: 43-52.
- Laranjo M., Branco C., Soares R., Alho L., Carvalho M.D.E. & Oliveira S. (2002) Comparison of chickpea rhizobia isolates from diverse Portuguese natural populations based on symbiotic effectiveness and DNA fingerprint. *J. Appl. Microbiol.* **92**: 1–8.
- Lauchli A. (1984) Salt exclusion : an adaptation of legumes for crops and pastures under saline conditions. In: Staples RC. & Toennienssen GA. Salinity Tolerance in Plants. Strategies for Crop Improvement. *Wiley, New York* 171-187.
- Läuchli A. & Epstein E. (1990) Plant responses to saline and sodic conditions. In: Tanji K.K. Agricultural salinity assessment and management. ASCE manuals and reports on engineering practice. *ASCE New York* **71**: 113-137.
- Läuchli A. & Grattan S.R. (2007) Plant Growth and Development Under Salinity Stress 1-32 pp. In: Jenks M.A., Hasegawa P.M. & Jaun M. Advances in Molecular Breeding Toward Drought and Salt Tolerant Crops. *Springer* 814p.
- Lawlor D.W. & Cornic G. (2002) Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants *Plant Cell Environ.* **25**: 275–294.
- Lazerk-Ben Friha F. (2008) Analyse de la diversité génétique et symbiotique des populations naturelles tunisiennes de *Medicago truncatula* et recherche de QTL liés au stress salin *Thèse de doctorat* Université de Toulouse 254 p.

- Leprince O., Boudet J., Lin X., Boucher V., Aubry C., Buitink J. & Hoekstra F. (2007) Proteomic profiling and structure–function analysis of late embryogenesis abundant (LEA) proteins associated with desiccation tolerance in the legume seed *Medicago truncatula*. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A* **146**:149–157
- Leung J. & Giraudat J. (1998) Abscisic acid signal transduction. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **49**:199–222.
- Levigneron A., Lopez F., Vansuyt G., Berthomieu P., Fourcroy P. & Casse-Delbart F. (1995) Les plantes face au stress salin. *Cah. Agric.* **4** : 263–273.
- Levitt J. (1980) Responses of Plants to Environmental Stress: Water, Radiation, Salt and Other Stresses. Vol. II. *Academic Press. New York.* 607p.
- Lesins K.A. & Lesins I. (1979) The Genus *Medicago* (Leguminosae). *The Hague, Boston, London: Dr W. Junk.* 228p.
- Lichtenthaler H.K. & Buschmann C. (2001) Chlorophylls and Carotenoids: Measurement and Characterization by UV-VIS Spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry* **F4** 3: 1-8.
- Liu J. & Zhu J.K. (1998) A calcium sensor homolog required for plant salt tolerance. *Science* **280**: 1943–1945.
- Longstreth D.J. & Nobel P.S. (1979) Salinity effects on leaf anatomy. *Plant Physiol.* **63**: 700–703.
- Lushchak V.I. (2010) Adaptive response to oxidative stress: Bacteria, fungi, plants and animals. *Comp. Biochem. Physiol. C*: 1-16.
- Lynch M., & Walsh B. (1998) Genetics and Analysis of Quantitative Traits *Sunderland, MA, Sinauer.*
- Maas E.V. & Grattan S.R. (1999) Crop yields as affected by salinity. In: Skaggs R. W. & Schilfgraade J.V. *Agricultural Drainage. Agron. Monograph ASA, CSSA, SSA, Madison, WI* **38**: 55-108.
- Mahajan S. & Tuteja N. (2005) Cold, salinity and drought stresses: An overview. *ABB* **144**: 139-158.
- Majumder A. L., Sengupta S. & Goswami L. (2010) Osmolyte Regulation in Abiotic Stress. Abiotic Stress Adaptation. 349-370 pp. In: Ashwani P., Sudhir K.S., Hans J.B. & Govindjee. *Abiotic Stress Adaptation in Plant: physiological, Molecular and Genomic Foundation. Springer* 523p.
- Mani S., Van De Cotte B., Van Montagu M. & Verbruggen N. (2002) Altered levels of proline dehydrogenase cause hypersensitivity to proline and its analogs in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* **128**: 73-83.
- Mansfield T.J. & Atkinson C.J. (1990) Stomatal behaviour in water stressed plants. In: Alscher R.G. & Cumming J.R. *Stress Responses in Plants: Adaptation and Acclimation Mechanisms. Wiley-Liss, New York* 241–264.
- Martinez JP., Silva H., Ledent JF. & 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.). *Eur J Agron* **26**:30–8

- Mass E.V. & Grieve C. (1986) Salt tolerance of plants. *Appl. Agric. Res.* **1**:12–26.
- Mass E.V. & Grieve C. (1990) Spike and leaf development in salt-stressed wheat *Crop Sci.* **30**: 1309–1313.
- Matamoros M.A., Dalton D.A., Ramos J., Clemente M.R., Rubio M.C. & Becana M. (2003) Biochemistry and molecular biology of antioxidants in the *rhizobia*-legume symbiosis. *Plant Physiol* **133**: 449-509.
- May G.D. & Dixon R.A. (2003) Quick guide *Medicago truncatula* *Current Biology* **14** 5 180.
- Merchan F., de Lorenzo L., González-Rizzo S., Niebel A., Megías M., Frugier F., Sousa C. & Crespi M. (2007) Identification of regulatory pathways involved in the reacquisition of root growth after salt stress in *Medicago truncatula*. *Plant Journal* **51**. 1-17.
- Merchan F., Breda C., Hormaeche JP., Sousa C., Kondorsi A., Aguilar OM., Megías M. & Crespi M. (2003) A Krüppel-like transcription factor gene is involved in salt stress responses in *Medicago* spp. *Plant Soil* **257**: 1-9.
- Miller N.J., Sampson J., Candeias L.P., Bramley P.M. & Rice-Evans C.A. (1996) "Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls." *FEBS Letters* **384**(3): 240-242.
- Miller G. Honig A., Stein H., Suzki N., Mittler R. & Zilberstein A. (2009) Unraveling delta1-pyrroline-5-carboxylate-proline cycle in plants by uncoupled expression of proline oxidation enzymes. *J. Biol. Chem.* **284**: 26482–26492.
- Ministère de la coopération (1993) Mémento de l'agronome France 1601p.
- Mishra SN. (1999) Nutritional and environmental influences on carotenoid level in leaves of crop plants. In: Gakhar SK. & Mishra SN. Recent advances in Developmental Biology. Bombay: *Himalyan Publisher* 116–32.
- Mishra S. & Dubey, R.S. (2006) Inhibition of ribonuclease and protease activities in arsenic exposed rice seedlings: role of proline as enzyme protectant. *J Plant Physiol.* **163**: 927–936.
- Mohammad R.M., Akhavan-Kharazian M., Campbell W.F. & Rumbaugh M.D. (1991) Identification of salt-and drought-tolerant *Rhizobium meliloti* L. strains. *Plant and Soil Biol Biochem* **134**: 271–276.
- Monk S.L., Fagerstedt K.V. & Crawford RMM. (1989) Oxygen toxicity and Superoxide Dismutase as an antioxidant in physiological stress. *Physiol Plant* **76**: 456-459.
- 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.) : étude de l'accumulation de la proline au cours du cycle de développement. *Agronomie* **6**: 583-590.
- Morgan P.W. (1990) Effects of abiotic stresses on plant hormone systems. In: Stress Responses in plants: adaptation and acclimation mechanisms. *Wiley-Liss, Inc.* 113–146.
- Muller S.H. & Pereira P.A.A. (1995) Nitrogen fixation of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) as affected by mineral nitrogen supply at different growth stages. *Plant and Soil* **177**: 55–61.

- Munns R. & Sharp R.E. (1993) Involvement of abscisic acid in controlling plant growth in soils of low water potential. *Australian Journal of Plant Physiology* **20**: 425–437.
- Munns R., Schachtman D.P. & Condon A.G. (1995) The significance of a two-phase growth response to salinity in wheat and barley. *Australian Journal of Plant Physiology* **22**: 561-569.
- Munns R. & Termaat A. (1986) Whole plant responses to salinity. *Aust. J. Plant Physiol.* **13**: 143-160.
- Munns R., Gardner A., Tonnet M.L. & Rawson, H.M. (1988) Growth and development in NaCl treated plants. II. Do Na<sup>+</sup> or Cl<sup>-</sup> concentration in dividing or expanding tissues determine growth in barley? *Aust. J. Plant Physiol.* **15**: 529–540.
- Munns R. (2002) Comparative physiology of salt and water stress. *Plant Cell Environ.* **25**: 239-250.
- Munns R. (2005). Genes and salt tolerance: bringing them together. *New Phytol.* **167**: 645-663.
- Munns R., James R.A. & Läuchli A. (2006) Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. *J. Exp. Bot.* **57**: 1025-1043.
- Munns R. & Tester M. (2008) Mechanisms of salinity tolerance. *Annu Rev Plant Biol* **59**:651-681.
- Nagarajan Subrahmaniam & Nagarajan Shantha. (2010) Abiotic Tolerance and Crop Improvement 1-11pp. In: Ashwani P., Sudhir K.S., Hans J.B. & Govindjee. Abiotic Stress Adaptation in Plant: physiological, Molecular and Genomic Foundation. *Springer* 523p.
- Nedjraoui D. (2001) Profil fourrager FAO [www.fao.org/ag](http://www.fao.org/ag)
- Neumann P.M. (1997) Salinity resistance and plant growth revisited *Plant Cell Environ* **20**: 1193–1198.
- Niu X., Bressan R.A., Hasegawa P.M. & Pardo J.M. (1995) Ion homeostasis in Na Cl stress environments. *Plant Physiol.* **109**: 735–742.
- Nonami H. (1998) Plant water relations and control of cell elongation at low water potentials. *J. Plant Res.* **111**: 373–382.
- Nunes C., de Sousa Araújo S., da Silva J.M., Pedro Salema Fevereiro M. & da Silva A.B. (2008) Physiological responses of the legume model *Medicago truncatula* cv. Jemalong to water deficit *Environmental and Experimental Botany* **63** : 289–296.
- Panjabi-Sabharwal V., Karan R., Khan T. & Pareek A. (2010) Abiotic Stress Responses: Complexities in Gene Expression 177-198 pp. In: Ashwani P., Sudhir K.S., Hans J.B. & Govindjee. Abiotic Stress Adaptation in Plant: physiological, Molecular and Genomic Foundation. *Springer* 523p.
- Pardo J. M. (2010) Biotechnology of water and salinity stress tolerance. *Current Opinion in Biotechnology* **21**:185-196.
- Parida A., Das A.B. & Das P. (2002). NaCl stress causes changes in photosynthetic pigments, proteins and other metabolic components in the leaves of a true mangrove, (*Bruguiera parviflora*).in hydroponic cultures. *J. Plant Biol.* **45**: 28–36.

- Parida A.K., Das A.B. & Mitra B. (2004) Effects of salt on growth, ion accumulation photosynthesis and leaf anatomy of the mangrove, (*Bruguiera parviflora*). *Trees-Struct. Funct.* **18**: 167–174.
- Perez-Alfocea F., Estan M.T., Caro M & Guerrier G. (1993) Osmotic adjustment in *Lycopersicon esculentum* and *Lycopersicon pennillii* under NaCl and polyethylene glycol 6000 isosmotic stress. *Plant Physiol* **87**: 493–498.
- Pinheiro C., Chaves M.M. & Ricardo C.P. (2001) Alterations in carbon and nitrogen metabolism induced by water deficit in the stems and leaves of *Lupinus albus* L. *J. Exp. Bot.* **52**: 1063–1070.
- Pourrat Y. & Dutuit P. (1994) Etude précoce des effets morphologiques et physiologiques du rapport sodium/calcium in vitro sur une population d'*Atriplex halimus*, In : Dubois J. & Demarly Y. Quel avenir pour l'amélioration des plantes ? *Editions John Libbey Eurotext* 283–295.
- Prosperi J.M., Guy P. & Balfourier F. (1995) Les luzernes ou genre *Medicago*. Ressources génétiques des plantes fourragères et à gazon. *INRA et BRG*: 131-167.
- Qadir M., Ghafoor A., Murtaza G., (2000) Amelioration strategies for saline soils. *Land Degrad. and Develop* **11**: 501–521.
- Rajasekaran L.R., Aspinall D., Jones G.P. & Paleg, L.G. (2001) Stress metabolism. IX. Effect of salt stress on trigonelline accumulation in tomato. *Can. J. Plant Sci.* **81**: 487–498.
- Reddy P.S. & Veeranjanyulu, K. (1991) Proline metabolism in senescing leaves of horsgram (*Macrotyoma uniflorum* Lam.). *J. Plant. Physiol.* **137** 381-383.
- Reddy M.P., Sanish S. & Iyengar, E.R.R. (1992) Photosynthetic studies and compartmentation of ions in different tissues of *Salicornia brachiata* Roxb. under saline conditions. *Photosynthetica* **26**: 173–179.
- Reginald H.G. & Grisham C.M. (2000) *Biochimie De Boeck Supérieur*. 1254 p.
- Rhodes D. & Handa S. (1989) Amino acid metabolism in relation to osmotic adjustment in plant cells In: Cherry J.H. Environmental stress in plants, biochemical and physiological mechanisms. *Springer-Verlag, New York, NY* 41–62.
- Rochdi A., Lemsellek J., Bousarhal A. & Rachidai A. (2005) Evaluation sous serre de la tolérance à la salinité de quelques porte-greffes d'agrumes : *Citrus aurantium* et deux hybrides de *Poncirus trifoliata* (*Poncirus* × *Citrus sinensis* et *Poncirus* × *Mandarinier sunki*) *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* **9** 1: 65–73.
- Romeroaranda R., Soria T. & Cuartero J. (2001) Tomato plant water uptake and plant-water relationships under saline growth conditions. *Plant Sci.* **160**: 265–272.
- Roosens N.H., Thu T.T., Iskandar H.M. & Jacobs M. (1998) Isolation of the ornithine-delta-aminotransferase cDNA and effect of salt stress on its expression in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol.* **117**: 263–271.
- Rose R.J. (2008) *Medicago truncatula* as a model for understanding plant interactions with other organisms, plant development and stress biology: past, present and future. *Functional Plant Biol* **35**: 253-264.
- Ruiz J.M., Blasco B., Rivero R.M. & Romero L. (2005) Nicotine-free and salt-tolerant tobacco plants obtained by grafting to salinity-resistant rootstocks of tomato. *Physiol. Plant.* **124**: 465–475.

- Sâadallah K. & Abdelly C. (2001) Réponses physiologiques au sel de deux variétés de Haricot : Coco blanc sensible et BAT 477 tolérante, In : Hana# A. & Kenny L. *Agriculture biologique dans le bassin méditerranéen* 453–463.
- Sacher M.C., Staples R.C. & Robinson RW. (1982) Saline tolerance in hybrids of *Lycopersicon esculentum* x *Solanum pennellii* and selected breeding lines. In: A San Pietro Biosaline Research. A look to the future. *Plenum Press New York* 325-336.
- Savouré A., Jaoua S., Hua X.J., Ardiles W., Van Montagu M. & Verbruggen N. (1995) Isolation, characterization, and chromosomal location of a gene encoding the delta 1-pyrroline-5-carboxylate synthetase in *Arabidopsis thaliana*. *FEBS Lett.* **372**: 13–19.
- Sawahel W.A. & Hassan A.H. (2002) Generation of transgenic wheat plants producing high levels of the osmoprotectant proline. *Biotechnol. Lett.* **24**: 721-725.
- Sayed O.H. (2003) Chlorophyll fluorescence as a tool in cereal crop research. *Photosynthetica* **14**:321-330.
- Schindler C., Reith P. & Lichtenthaler HK. (1994) Differential level of carotenoid and decrease of zeaxanthin cycle performance during leaf development in green and an aurea variety of tobacco. *J Plant Physiol* **143**: 500–7.
- Schweet R. S. (1954) Chlorophylls and Carotenoids: Measurement and Characterization by UV-VIS Spectroscopy *J. Biol. Chem.* **208**: 603p.
- Scotti Campos P., Ramalho J.C., Lauriano J.A., Silva M.J. & C´ eu Matos M. (1999) Effects of drought on photosynthetic performance and water relations of four *Vigna* genotypes. *Photosynthetica* **36**: 79–87.
- Sell G.D. & Koepp D.E. (1981) Oxidation of proline by mitochondria isolated from water stressed maize shoots. *Plant Physiol* **68**: 1058–1063.
- Shannon M.C. (1998) Adaptation of plants to salinity *Adv. Agron.* **60** : 75–119.
- Sharp R.E., Poroyko V., Hejlek L.G., Spollen W.G., Springer G.K., Bohnert H.J. & Nguyen H.T. (2004) Root growth maintenance during water deficits: physiology to functional genomics. *J. Exp. Bot.* **55**: 2343-2351.
- Shi H., Ishitani M., Kim C. & Zhu J.K.S. (2000) The *Arabidopsis thaliana* salt tolerance gene *SOS1* encodes a putative  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  antiporter. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **97**: 6896–6901.
- Shi H.Z., Quintero F.J., Pardo J.M. & Zhu J.K. (2002) The putative plasma membrane  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  antiporter *SOS1* controls long-distance  $\text{Na}^+$  transport in plants. *Plant Cell* **14**: 465-477.
- Shi H. et al. (2003) Overexpression of a plasma membrane  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  antiporter gene improves salt tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Nat. Biotechnol.* **21**: 81–85.
- Slama F. (1982) Effet du chlorure de sodium sur la croissance et la nutrition minérale : Étude comparative de six espèces cultivées, thèse, faculté des sciences de Tunis, *université Tunis-2* 214 p.
- Soltani A., Hajji M. & Grignon C. (1990) Recherche de facteurs limitant la nutrition minérale de l'orge en milieu sale *Agronomie* **10** : 857-866.

- Soussi M., Ocana A. & Lluch C. (1998) Effects of salt stress on growth, photosynthesis and nitrogen fixation in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *J. Exp. Bot.* **49**: 1329–1337.
- Steduto P., Albrizio R., Giorio P. & Sorrentino G. (2000) Gas exchange response and stomatal and non-stomatal limitations to carbon assimilation of sunflower under salinity. *Environ Exp Bot* **44**: 243–55.
- Stulemeijer I.J.E. & Joosten M.H.A.J. (2008) Post-translation modification of host proteins. In: pathogen-triggered defence signaling in plants. *Mol Plant Pathol* **9**: 545-560.
- Sunarpi, Horie T., Motoda J., Kubo M., Yang H., Yoda K., Horie R., Chan W.Y., Leung H.Y., Hattori K. *et al.* (2005) Enhanced salt tolerance mediated by AtHKT1 transporter-induced Na<sup>+</sup> unloading from xylem vessels to xylem parenchyma cells. *Plant J* **44**:928-938.
- Sung D.Y., Vierling E. & Guy C.L. (2001) Comprehensive expression profile analysis of the *Arabidopsis* Hsp70 gene family. *Plant Physiol* **126**: 789-800.
- Szabados L. & Savouré A. (2009) Proline: a multifunction amino acid. *Trends Plant Science Cell press* **15** 2: 89-97.
- Taiz L. & Zeiger E. (2006) Plant Physiology, 4th Ed., *Sinauer Associates Inc. Publishers, Massachusetts.*
- Taylor I.B. (1991) Genetics of ABA synthesis. In: Davies W.J., Jones H.G. Abscisic acid: Physiology and Biochemistry. *Bios Scientific Publishers Ltd. UK.* 23–38.
- Tena G., Asai T., Chiu W-L. & Sheen J. (2001) Plant mitogen-activated protein kinase signaling cascades. *Curr Opin Plant Biol* **4**:392-400.
- Tester M. & Davenport R. (2003) Na<sup>+</sup> tolerance and Na<sup>+</sup> transport in higher plants. *Ann Bot* **91**: 503-527.
- Tewari T.N. & Singh B.B. (1991) Stress studies in lentil (*Lens culculta* M.) II. Sodidity induced changes in chlorophyll, nitrate and nitrate reductase, nucleic acid, proline, yield and yield components in lentil. *Plant Soil* **136**: 225–230.
- Tezara W., Mitchell V., Driscoll S.P. & Lawlor D.W. (2002) Effects of water deficit and its interaction with CO<sub>2</sub> supply on the biochemistry and physiology of photosynthesis in sunflower *J. Exp. Bot.* **53**: 1781–1791.
- Thomas J.A., Jeffrey A.C., Atsuko K. & David M.K. (2005) Regulating the proton budget of higher plant photosynthesis. *Proc Natl Acad Sci USA.* **102**:9709–13.
- Thomashow M.F. (1999) Plant cold acclimation: freezing tolerance genes and regulatory mechanism. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **50**: 571–599.
- Tivoli B., Baranger A., Sivasithamparam K. & Barbetti M.J. (2006) Annual Medicago: From a model crop challenged by a spectrum of necrotrophic pathogens to a model plant to explore the Nature of disease resistance. *Ann Botany* **98**: 1117–1128.
- Toshio Y. & Eduardo B. (2005) Developing salt-tolerant crop plants: challenges and opportunities. *Trends in Plant Science* **10** 12: 616-620.
- Troll W. & Lindsley J. (1954) A Photometric Method for the Determination of Proline From the May Institute for Medical Research of the Jewish Hospital Association. *Cincinnati Ohio* 655-660.

- Tunnacliffe A. & Wise M.J. (2007) The continuing conundrum of LEA proteins. *Naturwissenschaften* **94**: 791–812.
- Turner N.C., Wright G.C. & Siddique K.H.M. (2001) Adaptation of grain legumes (pulses) to water-limited environments. *Adv. Agron.* **71**: 123–231.
- Urao T., Yamaguchi-Shinozaki K., Urao S. & Shinozaki K. (1993) An *Arabidopsis myb* homolog is induced by dehydration stress and its gene product binds to the conserved MYB recognition sequence *Plant Cell* **5**: 1529-1539.
- Verbruggen, N., Villarroel R. & Van Montagu M. (1993) Osmoregulation of a pyrroline-5-carboxylate reductase gene in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol.* **103**: 771–781.
- de Vienne D. (1998) Les marqueurs moléculaires en génétique et biotechnologies végétales. *INRA Editions, Nancy*.
- Vincent JM. (1970) A manual for the practical study of root-nodule bacteria *IBP handbook Blackwells, Oxford* **75**.
- Vinocur B. & Altman A. (2005) Recent advances in engineering plant tolerance to abiotic stress: achievement and limitations. *Current Opinion in Biotechnology* **16**:123–132.
- Wahid A. & Rasul E. (2005) Photosynthesis in leaf, stem, flower and fruit. In: Pessaraki M. Handbook of Photosynthesis, 2nd ed. *CRC Press, Florida*. 479–497.
- Walker R.R., Sedgley M., Blesing M.A. & Douglas T.J. (1984) Anatomy, ultrastructure and assimilate concentrations of roots of citrus genotypes in ability for salt exclusion. *Journal of Experimental Botany* **35** 59:1481-1494.
- Wang D., Shannon M.C. & Grieve C.M. (2001) Salinity reduces radiation absorption and use efficiency in soybean. *Field Crops Res.* **69**: 267–277.
- Wang B., Lan T., Wu W.R. & Li W.M. (2003) Mapping of QTLs controlling chlorophyll content in rice (*Oryza sativa* L.). *Acta Genet Sin.* **30**:11 27–32.
- Wang T.L., Domoney C., Hedley C.L., Casey R. & Grusak M.A. (2003) Can we improve the nutritional quality of legume seeds? *Plant Physiol* **131**: 886–891.
- Wang W., Vinocur B. & Altman A.(2003) Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. *Planta* **218**: 1-14.
- Wang W.X., Brak T., Vinocur B., Shoseyov O. & Altman A. (2003). Abiotic resistance and chaperones: possible physiological role of SP1, a stable and stabilising protein from *Populus*. In: Vasil IK. (2000) Plant biotechnology and beyond. *Kluwer Dordrecht* 439-443.
- Wiebe B.H., Eilers R.G., Eilers W.D. & Brierley J.A. (2004) Salinité du sol *C qualité des sols* **2** : 121-126.
- Wise M.J. (2003) LEAping to conclusions: a computational reanalysis of late embryogenesis abundant proteins and their possible roles. *BMC Bioinform.* **4**: 52p.
- Wise M.J. & Tunnacliffe A. (2004) POPP the question: what do LEA proteins do? *Trends Plant Sci.* **9**: 13–17.
- Yamaguchi T. & Blumwald (2005) Developing salt-tolerant crop plants: challenges and opportunities. *TRENDS in Plant Science.* **10** 12: 615-620.

- 
- Yan H.H., Mudge J., Kim D.J., Larsen D., Schoemaker R.C., Cook D.R. & Young N.D. (2003) Estimates of conserved microsynteny among genomes of *Glycine max*, *Medicago truncatula* and *Arabidopsis thaliana*. *Theoretical and Applied genetic* **106**: 1256- 1265.
- Yeo A.R. (1998) Molecular biology of salt tolerance in the context of whole plant physiology. *J. Exp. Bot.* **49**: 915–929.
- Yokota A., Kawasaki S., Iwano M., Nakamura C., Miyake C. & Akashi K. (2002) Citrulline and DRIP-1 Protein (ArgE Homologue) in Drought Tolerance of Wild Watermelon. *Ann. Bot.* **89**: 825–832.
- Young N.D., Mudge J. & Ellis T.H.N. (2003) Legume genomes: more than peas in a pod. *Current opinion in plant biology* **6**: 199-204.
- Young N.D. & Udvardi M. (2009) Translating *Medicago truncatula* genomics to crop legumes. *Current Opinion in Plant Biology* **12**:193-201.
- Zahrán H.H. (1991) Conditions for successful Rhizobium-legume symbiosis in saline environments. *Biol. Fertil. Soils* **12**: 73-80.
- Zahrán H.H. (2001) Rhizobia from wild legumes: diversity, taxonomy, ecology, nitrogen fixation and biotechnology. *Journal of Biotechnology* **91**:143–153.
- Zeid I.M. & Shedeed Z.A. (2006) Response of alfalfa to putrescine treatment under drought stress. *Biol. Plant.* **50**: 635–640.
- Zhang S. & Klessig D.F. (2001) MAPK cascades in plant defense signaling. *Trends Plant Sci.* **6**: 520-527.
- Zhu J.K., Liu J. & Xiong L. (1998) Genetic analysis of salt tolerance in *Arabidopsis*. Evidence for a critical role of potassium nutrition, *Plant Cell* **10**:1181–1191.
- Zhu J.K. (2001) Plant salt tolerance. *Trends Plant Sci.* **6**: 66-71.
- Zhu J.K. (2002) Salt and drought stress signal transduction in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **53**: 247–273.
- Zhu J.K. (2003) Regulation of ion homeostasis under salt stress. *Curr. Opin. Plant Biol.* **6**: 441–445.
- 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 John Libbey Eurotext* 91-108.

## Annexes

### Annexe 1 : Milieu de culture Cambell « C »

Solution finale	1 litre	2 litres	3 litres	4 litres	5 litres
Phosphate dipotassique K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.5 g	1 g	1.5 g	2 g	2.5 g
Sulfate de magnésium MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	0.2 g	0.4 g	0.6g	0.8 g	1 g
Chlorure de Sodium	0.1 g	0.2 g	0.3 g	0.4 g	0.5 g
Mannitol C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	10 g	20 g	30 g	40 g	50 g
Extrait de levure (yeast extract)	2.5 g	5 g	7.5 g	10 g	12.5 g
Acide cas casamino (Casmino acid)	0.5 g	1 g	1.5 g	2 g	2.5 g

Note : 15 g d'agar par litre de milieu. Ajustez le pH à 7 avant autoclavage.

### Annexe 2 : Milieu de culture Fahræus

#### Macro éléments

	1 l	2 l	3 l	4 l	5 l
H <sub>2</sub> O					
Chlorure de Calcium Ca Cl <sub>2</sub>	1 ml	2 ml	3 ml	4 ml	5 ml
Sulfate de Magnésium Mg SO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	1 ml	2 ml	3 ml	4 ml	5 ml
Phosphate de potassium potassique KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1 ml	2 ml	3 ml	4 ml	5 ml
Phosphate de Sodium Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> 2H <sub>2</sub> O Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1 ml	2 ml	3 ml	4 ml	5 ml
Citrate de Fer C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> FeO <sub>7</sub>	1 ml	2 ml	3 ml	4 ml	5 ml
Nitrate de potassium K NO <sub>3</sub>	1 ml	2 ml	3 ml	4 ml	5 ml

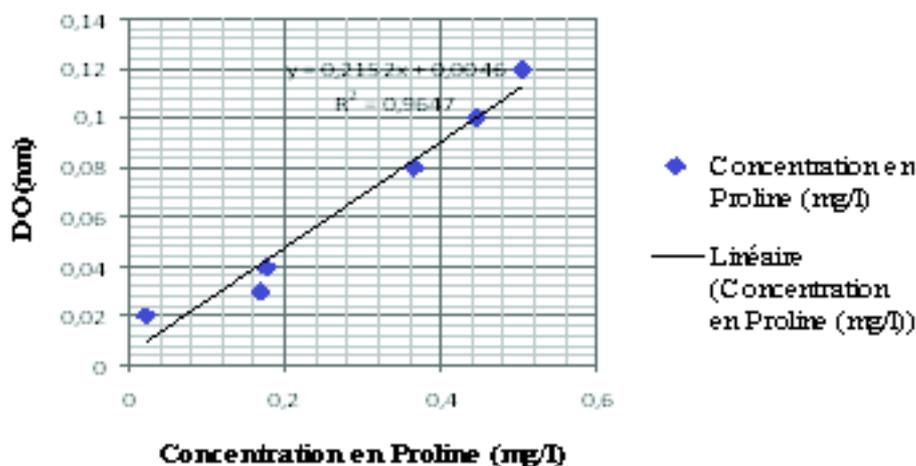
#### Micro éléments

	gouttes	gouttes	gouttes	gouttes	gouttes
Manganèse de chlorure Mn Cl <sub>2</sub>					
Sulfate de cuivre Cu SO <sub>4</sub>	2	4	6	8	10
Chlorure de zinc Zn Cl <sub>2</sub>	2	4	6	8	10
Acide ortho borique H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	2	4	6	8	10
Acide ortho borique Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub>	2	4	6	8	10

Ajuster le pH 7.5 pour avoir une solution à un pH 6.5 après autoclavage. La gélose à raison de 15 g par litre de milieu de culture.

### Annexe 3 : Courbe étalon de la proline

La courbe étalon est établie à partir d'une série de dilutions, préparée à partir d'une solution mère de proline à 0.120 mg/l. Pour 1 ml de chaque concentration, 1 ml d'acide acétique et 1 ml de réactif à la ninhydrine sont additionnés. Puis l'ensemble est placé au bain-marie à 80 °C pendant 30 mn. Après refroidissement 5 ml de toluène sont ajoutés. La courbe des densités optiques obtenues à 515 nm en fonction des concentrations en proline est ensuite tracée.



## Annexe 4 : Analyse de la variance pour poids frais de la partie aérienne

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
EFFETS PRINCIPAUX					
Lignées (Medicago truncatula)	0,243511	33	0,00737913	4,38	0,0000
Concentration de Na Cl	1,47104	4	0,367761	218,40	0,0000
RESIDU	0,794798	472	0,00168389		
TOTAL (CORRIGE)	2,50935	509			

## Annexe 5 : Analyse de la variance pour poids frais des racines

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
EFFETS PRINCIPAUX					
Lignées ( <i>Medicago truncatula</i> )	0,293931	33	0,00890699	4,74	0,0000
Concentration de Na Cl	1,63518	4	0,408794	217,40	0,0000
RESIDU	0,887538	472	0,00188038		
TOTAL (CORRIGE)	2,81664	509			

## Annexe 6 : Analyse de la variance pour poids sec de la partie aérienne

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
EFFETS PRINCIPAUX					
Lignées ( <i>Medicago truncatula</i> )	0,00356828	33	0,00010813	2,94	0,0000
Concentration de Na Cl	0,023851	4	0,00596274	162,37	0,0000
RESIDU	0,0173335	472	0,0000367236		
TOTAL (CORRIGE)	0,0447528	509			

## Annexe 7 : Analyse de la variance pour poids sec des racines

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
EFFETS PRINCIPAUX					
Lignées ( <i>Medicago truncatula</i> )	0,00209775	33	0,0000635681	4,81	0,0000
Concentration de Na Cl	0,0128915	4	0,00322287	244,11	0,0000
RESIDU	0,00623162	472	0,0000132026		
TOTAL (CORRIGE)	0,0212208	509			

## Annexe 8 : Analyse de la variance pour longueur des racines

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
EFFETS PRINCIPAUX					
Lignées ( <i>Medicago truncatula</i> )	2280,41	33	69,1034	4,15	0,0000
Concentration de Na Cl	15300,5	4	3825,12	229,87	0,0000
RESIDU	7854,27	472	16,6404		
TOTAL (CORRIGE)	25435,2	509			

## Annexe 9 : Analyse de la variance pour longueur de la partie aérienne

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
EFFETS PRINCIPAUX					
Lignées ( <i>Medicago truncatula</i> )	1044,38	33	31,6479	9,98	0,0000
Concentration de Na Cl	4161,2	4	1040,3	328,07	0,0000
RESIDU	1496,68	472	3,17093		
TOTAL (CORRIGE)	6702,26	509			

## Annexe 10 : Analyse de la variance pour la teneur en chlorophylle a

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
EFFETS PRINCIPAUX					
Lignées ( <i>Medicago truncatula</i> )	0,587717	9	0,0653019	3,46	0,0009
Concentration de Na Cl	1,68097	3	0,560323	29,66	0,0000
RESIDU	2,02107	107	0,0188885		
TOTAL (CORRIGE)	4,28976	119			

## Annexe 11 : Analyse de la variance pour la teneur en chlorophylle b

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
EFFETS PRINCIPAUX					
Lignées ( <i>Medicago truncatula</i> )	1,19997	9	0,13333	11,74	0,0000
Concentration de Na Cl	0,143688	3	0,047896	4,22	0,0073
RESIDU	1,21476	107	0,0113529		
TOTAL (CORRIGE)	2,55842	119			

## Annexe 12 : Analyse de la variance pour la teneur en chlorophylle totales (chlorophylle a+b)

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
EFFETS PRINCIPAUX					
Lignées ( <i>Medicago truncatula</i> )	3,55318	9	0,394797	10,43	0,0000
Concentration de Na Cl	2,81907	3	0,93969	24,82	0,0000
RESIDU	4,05081	107	0,0378581		
TOTAL (CORRIGE)	10,4231	119			

## Annexe 13 : Analyse de la variance pour la chlorophylle a/b

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
EFFETS PRINCIPAUX					
Lignées ( <i>Medicago truncatula</i> )	7,02394	9	0,780438	5,21	0,0000
Concentration de Na Cl	9,94805	3	3,31602	22,13	0,0000
RESIDU	16,0299	107	0,149812		
TOTAL (CORRIGE)	33,0019	119			

## Annexe 14 : Analyse de la variance pour la teneur en caroténoïde

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
EFFETS PRINCIPAUX					
Lignées ( <i>Medicago truncatula</i> )	0,336293	9	0,0373658	7,07	0,0000
Concentration de Na Cl	0,297176	3	0,0990588	18,75	0,0000
RESIDU	0,565345	107	0,0052836		
TOTAL (CORRIGE)	1,19881	119			

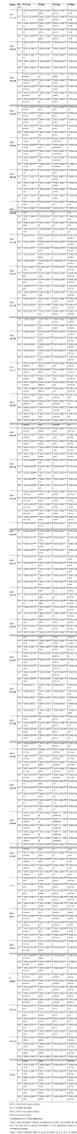
## Annexe 15 : Analyse de la variance pour la teneur en proline

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
EFFETS PRINCIPAUX					
Lignées ( <i>Medicago truncatula</i> )	63,1051	9	7,01167	20,37	0,0000
Concentration de Na Cl	3,30195	3	1,10065	3,20	0,0264
RESIDU	36,8353	107	0,344255		
TOTAL (CORRIGE)	103,242	119			

## Annexe 16 : Analyse de la variance pour la teneur relative en eau (TRE)

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
EFFETS PRINCIPAUX					
Lignées ( <i>Medicago truncatula</i> )	3448,12	9	383,125	3,88	0,0003
Concentration de Na Cl	2531,81	3	843,938	8,55	0,0000
RESIDU	10560,1	107	98,6927		
TOTAL (CORRIGE)	16540,1	119			

## Annexe 17 : Tableau cumulatif (moyennes $\pm$ écart type) de l'effet du stress salin sur le poids frais de la partie aérienne et racinaire et sur le poids sec de la partie aérienne et racinaire de 27 lignées algériennes et 7 lignées parentales de *Medicago truncatula*



**Annexe 18 : Tableau cumulatif (moyenne  $\pm$  écart type) de l'effet du stress salin sur la longueur des racines et de la partie aérienne de 34 lignées de *Medicago .truncatula***

Lignées	[Na Cl]	L R (cm)	L PA (cm)
ALG 255.146	0	*15.7 ± 0.3 <sup>C D E F G</sup> H I J	*8.0 ± 0.00 <sup>A B C</sup>
	50	*16.5 ± 0.9 <sup>C D E F</sup> G H I J	*3.7 ± 1.3 <sup>A B C</sup>
	100	*14.3 ± 5.1 <sup>C D E F</sup> G H I J	*2.5 ± 1.3 <sup>A B C</sup>
	150	*3.8 ± 1.1 <sup>C D E F G</sup> H I J	*1.0 ± 0.3 <sup>A B C</sup>
	200	*2.8 ± 0.3 <sup>C D E F G</sup> H I J	*0.8 ± 0.6 <sup>A B C</sup>
ALG 266.159	0	*12.2 ± 1.3 <sup>A</sup>	*8.8 ± 1.0 <sup>B C D</sup> E
	50	*5.7 ± 5.5 <sup>A</sup>	*3.4 ± 3.2 <sup>B C D</sup> E
	100	*2.5 ± 1.1 <sup>A</sup>	*2.1 ± 1.2 <sup>B C D</sup> E
	150	*3.3 ± 2.5 <sup>A</sup>	*2.7 ± 1.3 <sup>B C D</sup> E
	200	*1.1 ± 0.4 <sup>A</sup>	*1.4 ± 0.4 <sup>B C D</sup> E
ALG 294.168	0	*17.5 ± 3.5 <sup>E F G H I</sup> J K	*12.3 ± 2.0 <sup>H I J</sup>
	50	*21.9 ± 3.8 <sup>E F G H I</sup> J K	*7.5 ± 1.3 <sup>H I J</sup>
	100	*12.0 ± 7.2 <sup>E F G H I</sup> J K	*3.5 ± 0.9 <sup>H I J</sup>
	150	*3.4 ± 1.7 <sup>E F G H I J</sup> K	*1.8 ± 0.3 <sup>H I J</sup>
	200	*2.9 ± 0.1 <sup>E F G H I J</sup> K	*1.9 ± 0.6 <sup>H I J</sup>
ALG 294.169	0	*18.7 ± 1.5 <sup>D E F G</sup> H I J	*9.8 ± 2.4 <sup>B C D</sup> E F
	50	*16.5 ± 10.0 <sup>D E F G</sup> H I J	*4.0 ± 2.2 <sup>B C D</sup> E F
	100	*10.1 ± 1.9 <sup>D E F G</sup> H I J	*2.8 ± 0.8 <sup>B C D</sup> E F
	150	*5.0 ± 1.0 <sup>D E F G H</sup> I J	*1.3 ± 0.6 <sup>B C D</sup> E F
	200	*3.0 ± 0.9 <sup>D E F G H</sup> I J	*1.3 ± 0.3 <sup>B C D</sup> E F



Lignées	[Na Cl]	L R (cm)	L PA (cm)
<b>ALG 334.270</b>	0	*15.2 ± 2.6 <sup>BCDEF</sup> GHIJ	*6.5 ± 0.5 <sup>ABCD</sup>
	50	*18.3 ± 2.3 <sup>BCDEF</sup> GHIJ	*6.0 ± 0.9 <sup>ABCD</sup>
	100	*7.2 ± 0.3 <sup>BCDEF</sup> GHIJ	*2.0 ± 1.0 <sup>ABCD</sup>
	150	*6.5 ± 5.7 <sup>BCDEF</sup> GHIJ	*1.7 ± 1.0 <sup>ABCD</sup>
	200	*3.8 ± 1.6 <sup>BCDEF</sup> GHIJ	*0.9 ± 0.1 <sup>ABCD</sup>
<b>ALG 348.301</b>	0	*16.6 ± 5.9 <sup>HIJKL</sup>	*9.6 ± 1.1 <sup>GHIJ</sup>
	50	*21.7 ± 1.1 <sup>HIJKL</sup>	*7.5 ± 0.4 <sup>GHIJ</sup>
	100	*11.5 ± 7.3 <sup>HIJKL</sup>	*4.3 ± 1.8 <sup>GHIJ</sup>
	150	*10.4 ± 2.1 <sup>HIJKL</sup>	*2.7 ± 0.5 <sup>GHIJ</sup>
	200	*2.4 ± 0.5 <sup>HIJKL</sup>	*1.8 ± 0.3 <sup>GHIJ</sup>
ALG 400.311	0	*15.5 ± 1.8 <sup>BCDEF</sup> GH	*9.7 ± 1.5 <sup>BCDE</sup> FG
	50	*12.2 ± 4.2 <sup>BCDEF</sup> GH	*4.3 ± 2.5 <sup>BCDE</sup> FG
	100	*10.9 ± 8.3 <sup>BCDEF</sup> GH	*3.2 ± 2.2 <sup>BCDE</sup> FG
	150	*7.1 ± 3.7 <sup>BCDEFG</sup> H	*2.0 ± 1.0 <sup>BCDE</sup> FG
	200	*2.4 ± 0.1 <sup>BCDEF</sup> GH	*1.1 ± 0.1 <sup>BCDE</sup> FG
<b>ALG 402.319</b>	0	*17.5 ± 1.0 <sup>KL</sup>	*6.8 ± 0.3 <sup>ABCD</sup>
	50	*20.5 ± 0.9 <sup>KL</sup>	*5.2 ± 0.9 <sup>ABCD</sup>
	100	*14.7 ± 3.2 <sup>KL</sup>	*2.7 ± 1.2 <sup>ABCD</sup>
	150	*12.5 ± 1.5 <sup>KL</sup>	*1.2 ± 0.3 <sup>ABCD</sup>
	200	*2.9 ± 0.4 <sup>KL</sup>	*0.8 ± 0.3 <sup>ABCD</sup>
<b>ALG 404.328</b>	0	*18.7 ± 1.3 <sup>EFGHIJ</sup> K	*7.3 ± 0.6 <sup>BCDE</sup>
	50	*18.3 ± 0.8 <sup>EFGHIJ</sup> K	*5.4 ± 0.4 <sup>BCDE</sup>
	100	*10.8 ± 6.5 <sup>EFGHIJ</sup> K	*3.2 ± 1.4 <sup>BCDE</sup>
	150	*6.0 ± 2.2 <sup>EFGHIJ</sup> K	*1.8 ± 0.8 <sup>BCDE</sup>
	200	*2.6 ± 0.5 <sup>EFGHIJ</sup> K	*1.1 ± 0.1 <sup>BCDE</sup>



Lignées	[Na Cl]	L R (cm)	L PA (cm)
<b>ALG 423.379</b>	0	*19.0 ± 1.0 <sup>E F G H I J</sup> K	*11.5 ± 1.8 <sup>G H I</sup> J
	50	*18.0 ± 4.1 <sup>E F G H I J</sup> K	*6.5 ± 0.5 <sup>G H I J</sup>
	100	*15.2 ± 2.4 <sup>E F G H I J</sup> K	*5.3 ± 0.8 <sup>G H I J</sup>
	150	*2.7 ± 0.3 <sup>E F G H I J</sup> K	*1.5 ± 0.5 <sup>G H I J</sup>
	200	*2.7 ± 0.7 <sup>E F G H I J</sup> K	*1.4 ± 0.2 <sup>G H I J</sup>
<b>ALG 429.393</b>	0	*11.8 ± 3.4 <sup>B C D E F</sup> G	*5.5 ± 1.0 <sup>A B</sup>
	50	*15.0 ± 3.3 <sup>B C D E F</sup> G	*4.7 ± 0.8 <sup>A B</sup>
	100	*12.3 ± 8.5 <sup>B C D E F</sup> G	*1.8 ± 0.8 <sup>A B</sup>
	150	*4.9 ± 1.7 <sup>B C D E F</sup> G	*1.5 ± 0.5 <sup>A B</sup>
	200	*2.1 ± 1.5 <sup>B C D E F</sup> G	*1.0 ± 0.5 <sup>A B</sup>
<b>ALG 431.397</b>	0	*16.5 ± 1.3 <sup>I J K L</sup>	*6.6 ± 0.2 <sup>B C D</sup> E
	50	*21.7 ± 3.8 <sup>I J K L</sup>	*4.8 ± 1.1 <sup>B C D</sup> E
	100	*17.3 ± 1.9 <sup>I J K L</sup>	*4.7 ± 0.6 <sup>B C D</sup> E
	150	*5.1 ± 4.4 <sup>I J K L</sup>	*1.6 ± 0.5 <sup>B C D</sup> E
	200	*2.7 ± 0.2 <sup>I J K L</sup>	*1.2 ± 0.0 <sup>B C D</sup> E
<b>ALG 431.401</b>	0	*13.8 ± 2.8 <sup>A B</sup>	*6.2 ± 0.3 <sup>A</sup>
	50	*14.7 ± 2.2 <sup>A B</sup>	*2.7 ± 0.3 <sup>A</sup>
	100	*2.8 ± 0.4 <sup>A B</sup>	*1.4 ± 0.3 <sup>A</sup>
	150	*5.4 ± 4.5 <sup>A B</sup>	*0.7 ± 0.1 <sup>A</sup>
	200	*1.4 ± 0.2 <sup>A B</sup>	*0.7 ± 0.3 <sup>A</sup>
<b>ALG 432.406</b>	0	*15.7 ± 1.0 <sup>L</sup>	*7.8 ± 0.8 <sup>D E F</sup> G H
	50	*23.8 ± 9.1 <sup>L</sup>	*7.5 ± 0.5 <sup>D E F</sup> G H
	100		



Lignées	[Na Cl]	L R (cm)	L PA (cm)
A 20	0	*12.0 ± 1.3 <sup>BCDE</sup>	*8.8 ± 3.2 <sup>BCDE</sup>
	50	*12.0 ± 6.0 <sup>BCDE</sup>	*3.8 ± 1.2 <sup>BCDE</sup>
	100	*10.3 ± 6.4 <sup>BCDE</sup>	*2.7 ± 1.2 <sup>BCDE</sup>
	150	*6.2 ± 4.6 <sup>BCDE</sup>	*1.9 ± 0.7 <sup>BCDE</sup>
	200	*2.9 ± 0.4 <sup>BCDE</sup>	*1.2 ± 0.2 <sup>BCDE</sup>
DZA 045.5	0	*14.5 ± 2.6 <sup>DEFG</sup> HIJK	*10.2 ± 2.8 <sup>CDEF</sup> GH
	50	*18.8 ± 2.6 <sup>DEFG</sup> HIJK	*5.8 ± 1.3 <sup>CDEF</sup> GH
	100	*10.3 ± 5.9 <sup>DEFG</sup> HIJK	*2.6 ± 1.2 <sup>CDEF</sup> GH
	150	*6.9 ± 3.4 <sup>DEFGH</sup> IJK	*2.1 ± 0.9 <sup>CDEF</sup> GH
	200	*2.9 ± 0.1 <sup>DEFGH</sup> IJK	*1.3 ± 0.2 <sup>CDEF</sup> GH
DZA 315.16	0	*16.5 ± 1.3 <sup>GHIJK</sup>	*8.5 ± 0.1 <sup>BCDE</sup> FG
	50	*16.3 ± 2.0 <sup>GHIJK</sup>	*6.5 ± 0.5 <sup>BCDE</sup> FG
	100	*15.5 ± 1.8 <sup>GHIJK</sup>	*3.1 ± 0.7 <sup>BCDE</sup> FG
	150	*8.3 ± 5.5 <sup>GHIJK</sup>	*1.0 ± 0.5 <sup>BCDE</sup> FG
	200	*2.3 ± 0.8 <sup>GHIJK</sup>	*0.8 ± 0.3 <sup>BCDE</sup> FG
F 83005.5	0	*13.0 ± 0.9 <sup>BCDE</sup> FG	*7.2 ± 0.8 <sup>ABCD</sup>
	50	*11.0 ± 6.9 <sup>BCDE</sup> FG	*3.5 ± 2.2 <sup>ABCD</sup>
	100	*11.6 ± 2.8 <sup>BCDE</sup> FG	*3.2 ± 0.6 <sup>ABCD</sup>
	150	*8.0 ± 3.5 <sup>BCDEF</sup> G	*2.2 ± 0.3 <sup>ABCD</sup>
	200	*2.2 ± 0.2 <sup>BCDEF</sup> G	*0.8 ± 0.3 <sup>ABCD</sup>
TN 1.11	0	*15.5 ± 1.8 <sup>JKL</sup>	*10.8 ± 0.8 <sup>GHIJ</sup>
	50	*21 ± 6.0 <sup>JKL</sup>	*7.0 ± 0.9 <sup>GHIJ</sup>
	100	*10.8 ± 7.6 <sup>JKL</sup>	*4.0 ± 1.1 <sup>GHIJ</sup>
	150	*12.2 ± 1.4 <sup>JKL</sup>	*2.5 ± 0.5 <sup>GHIJ</sup>
	200		

- L PA : Longueur de la partie aérienne ;
- Concentration de NaCl (mM) millimolaire ;

Chaque groupe homogène de lignées est désigné par une lettre, ceux identifiés par deux ou plus d'une lettre sont les groupes intermédiaires. L'ordre alphabétique indique un ordre croissant des moyennes ;

Chaque couleur d'astérisque définit un groupe homogène vis-à-vis de la concentration de NaCl.

**Annexe 19 : Tableau cumulatif (moyenne  $\pm$  écart type) de l'effet du stress salin sur les caractères biochimiques (chlorophylle, caroténoïdes, proline) et physiologique (teneur relative en eau) de 6 lignées algériennes et 4 lignées parentales de *Medicago truncatula***

Lignées	[Na Cl]	Chloro a	Chloro b	Caroténoïdes	Chloro a +b	Chloro a/ Chloro b	Proline (mg /g de MF)	TRE %
ALG 255.146	0	*0.54 ± 0.16 <sup>B CD</sup>	*0.41 ± 0.09 <sup>D</sup>	*0.28 ± 0.09 <sup>C</sup>	*0.86 ± 0.27 <sup>DE</sup>	*1.37 ± 0.47 <sup>AB</sup>	*3.00 ± 0.04 <sup>F</sup>	*84 ± 2.61 <sup>BC</sup>
	50	*0.50 ± 0.04 <sup>B CD</sup>	**0.39 ± 0.01 <sup>D</sup>	*0.28 ± 0.02 <sup>C</sup>	*0.87 ± 0.04 <sup>DE</sup>	*1.30 ± 0.14 <sup>AB</sup>	**3.09 ± 0.09 <sup>F</sup>	*81.6 ± 1.70 <sup>BC</sup>
	100	*0.42 ± 0.05 <sup>B CD</sup>	*0.36 ± 0.03 <sup>D</sup>	*0.24 ± 0.03 <sup>C</sup>	*0.76 ± 0.07 <sup>DE</sup>	*1.18 ± 0.11 <sup>AB</sup>	*3.42 ± 0.02 <sup>F</sup>	*80.8 ± 2.80 <sup>BC</sup>
	150	*0.48 ± 0.07 <sup>B CD</sup>	**0.54 ± 0.17 <sup>D</sup>	*0.32 ± 0.09 <sup>C</sup>	*0.89 ± 0.22 <sup>DE</sup>	*0.94 ± 0.21 <sup>AB</sup>	**3.19 ± 0.01 <sup>F</sup>	*80.0 ± 1.42 <sup>BC</sup>
ALG 299.185	0	*0.36 ± 0.10 <sup>A</sup>	*0.54 ± 0.32 <sup>ABC</sup>	*0.16 ± 0.04 <sup>A</sup>	*0.82 ± 0.21 <sup>A</sup>	*1.11 ± 1.14 <sup>DE</sup>	*1.84 ± 0.55 <sup>CD</sup>	*79.7 ± 3.50 <sup>BC</sup>
	50	*0.54 ± 0.13 <sup>A</sup>	**0.22 ± 0.04 <sup>ABC</sup>	*0.25 ± 0.05 <sup>A</sup>	*0.75 ± 0.16 <sup>A</sup>	*2.46 ± 0.14 <sup>DE</sup>	**1.78 ± 0.38 <sup>CD</sup>	*73.3 ± 5.56 <sup>BC</sup>
	100	*0.18 ± 0.04 <sup>A</sup>	*0.15 ± 0.04 <sup>ABC</sup>	*0.10 ± 0.02 <sup>A</sup>	*0.33 ± 0.03 <sup>A</sup>	*1.30 ± 0.50 <sup>DE</sup>	*2.68 ± 0.78 <sup>CD</sup>	*85.4 ± 12.08 <sup>BC</sup>
	150	*0.31 ± 0.09 <sup>A</sup>	**0.21 ± 0.05 <sup>ABC</sup>	*0.18 ± 0.05 <sup>A</sup>	*0.52 ± 0.11 <sup>A</sup>	*1.52 ± 0.43 <sup>DE</sup>	**2.78 ± 0.49 <sup>CD</sup>	*80.3 ± 7.77 <sup>BC</sup>
ALG 310.209	0	*0.79 ± 0.09 <sup>AB C</sup>	*0.28 ± 0.05 <sup>A</sup>	*0.35 ± 0.05 <sup>C</sup>	*1.02 ± 0.11 <sup>ABC</sup>	*2.78 ± 0.48 <sup>F</sup>	*0.90 ± 0.25 <sup>AB</sup>	*79.4 ± 8.59 <sup>A</sup>
	50	*0.47 ± 0.06 <sup>AB C</sup>	**0.26 ± 0.09 <sup>A</sup>	*0.26 ± 0.05 <sup>C</sup>	*0.70 ± 0.12 <sup>ABC</sup>	*1.88 ± 0.40 <sup>F</sup>	**0.99 ± 0.34 <sup>AB</sup>	*82.7 ± 3.36 <sup>A</sup>
	100	*0.44 ± 0.16 <sup>AB C</sup>	*0.24 ± 0.05 <sup>A</sup>	*0.22 ± 0.06 <sup>C</sup>	*0.68 ± 0.23 <sup>ABC</sup>	*1.78 ± 0.37 <sup>F</sup>	*2.33 ± 1.06 <sup>AB</sup>	*86 ± 11.32 <sup>A</sup>
	150	*0.18 ± 0.04 <sup>AB C</sup>	**0.13 ± 0.01 <sup>A</sup>	*0.27 ± 0.22 <sup>C</sup>	*0.31 ± 0.05 <sup>ABC</sup>	*1.34 ± 0.27 <sup>F</sup>	**2.63 ± 1.20 <sup>AB</sup>	*19.6 ± 2.74 <sup>A</sup>
ALG 331.252	0	*0.47 ± 0.12 <sup>E</sup>	*0.41 ± 0.13 <sup>E</sup>	*0.35 ± 0.11 <sup>D</sup>	*1.04 ± 0.33 <sup>F</sup>	*1.30 ± 0.64 <sup>ABC</sup>	*3.41 ± 0.04 <sup>EF</sup>	*83.9 ± 5.35 <sup>BC</sup>
	50	*0.73 ± 0.10 <sup>E</sup>	**0.51 ± 0.10 <sup>E</sup>	*0.40 ± 0.06 <sup>D</sup>	*1.21 ± 0.21 <sup>F</sup>	*1.45 ± 0.09 <sup>ABC</sup>	**2.66 ± 0.06 <sup>EF</sup>	*83.3 ± 5.79 <sup>BC</sup>
	100	*0.59 ± 0.08 <sup>E</sup>	*0.48 ± 0.05 <sup>E</sup>	*0.32 ± 0.04 <sup>D</sup>	*1.06 ± 0.13 <sup>F</sup>	*1.22 ± 0.03 <sup>ABC</sup>	*2.33 ± 0.08 <sup>EF</sup>	*83.9 ± 5.12 <sup>BC</sup>
	150	*0.50 ± 0.15 <sup>E</sup>	**0.65 ± 0.17 <sup>E</sup>	*0.31 ± 0.09 <sup>D</sup>	*1.14 ± 0.02 <sup>F</sup>	*0.84 ± 0.40 <sup>ABC</sup>	**3.51 ± 0.07 <sup>EF</sup>	*87.6 ± 3.24 <sup>BC</sup>
ALG 440.439	0	*0.55 ± 0.22 <sup>ABC</sup>	*0.26 ± 0.08 <sup>A</sup>	*0.27 ± 0.09 <sup>AB</sup>	*0.77 ± 0.25 <sup>A</sup>	*2.11 ± 0.24 <sup>EF</sup>	*2.93 ± 0.05 <sup>G</sup>	*85.7 ± 3.84 <sup>BC</sup>
	50	*0.48 ± 0.07 <sup>AB C</sup>	**0.24 ± 0.03 <sup>A</sup>	*0.25 ± 0.03 <sup>AB</sup>	*0.72 ± 0.09 <sup>A</sup>	*1.98 ± 0.08 <sup>EF</sup>	**3.48 ± 0.03 <sup>G</sup>	*84.6 ± 1.32 <sup>BC</sup>
	100	*0.37 ± 0.14 <sup>ABC</sup>	*0.23 ± 0.09 <sup>A</sup>	*0.19 ± 0.08 <sup>AB</sup>	*0.54 ± 0.30 <sup>A</sup>	*1.60 ± 0.13 <sup>EF</sup>	*3.85 ± 0.10 <sup>G</sup>	*86.6 ± 6.70 <sup>BC</sup>
	150	*0.21 ±	**0.16 ±	*0.12 ± 0.02	*0.37 ±	*1.31 ±	**4.48 ±	*78.5 ±

*Chloro* : Chlorophylle (**mg /g de MF**) ;

Concentration de NaCl (mM) millimolaire ;

Chaque groupe homogène de lignées est désigné par une lettre, ceux identifiés par deux ou plus d'une lettre sont les groupes intermédiaires ; L'ordre alphabétique indique un ordre croissant des moyennes ;

Chaque couleur d'astérisque définit un groupe homogène vis-à-vis de la concentration de NaCl.

## Annexes 20 : ANOVA des paramètres de croissances à un seul facteur sans NaCl

1. Variable à expliquer: PF PA

- Facteur: Lignées
- Nombre d'observations: 102
- Nombre de niveaux: 34

Tableau de l'ANOVA pour PF PA par Lignées

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
Inter-groupes	0,170594	33	0,00516952	4,09	0,0000
Intra-groupes	0,0859878	68	0,00126453		
Total (Corr.)	0,256582	101			

Tests des étendues multiples pour PF PA par Lignées

Méthode: 95,0 % LSD

Lignées	Effectif	Moyenne	Groupe homogène
ALG310.209	3	0,0866667	A
ALG334.270	3	0,0954667	AB
ALG429.393	3	0,1239	ABC
ALG400.311	3	0,132667	ABCD
ALG266.159	3	0,148	BCDE
ALG431.401	3	0,1482	BCDE
ALG404.328	3	0,149	BCDE
F83005.5	3	0,152567	BCDEF
ALG299.185	3	0,156667	CDEFG
ALG453.487	3	0,156667	CDEFG
ALG402.319	3	0,1574	CDEFG
ALG433.407	3	0,158133	CDEFG
ALG448.464	3	0,16	CDEFG
ALG432.406	3	0,1647	CDEFG
ALG418.374	3	0,166067	CDEFG
DZA 315.16	3	0,167367	CDEFG
TN8.3	3	0,1682	CDEFG
TN1. 11	3	0,1691	CDEFG
ALG405.340	3	0,1745	CDEFGH
TN1. 21	3	0,185567	DEFGHI
ALG294.169	3	0,192067	EFGHIJ
DZA 045.5	3	0,193333	EFGHIJ
ALG440.439	3	0,195633	EFGHIJ
ALG418.370	3	0,202667	EFGHIJK
ALG412.365	3	0,203333	EFGHIJK
ALG294.168	3	0,205667	EFGHIJK
ALG431.397	3	0,208667	FGHIJK
ALG308.205	3	0,209	FGHIJKL
ALG331.252	3	0,211467	GHIJKL
ALG348.301	3	0,229333	HIJKL
ALG327.239	3	0,236	IJKL
A 20	3	0,247767	JKL
ALG255.146	3	0,256967	KL
ALG423.379	3	0,266667	L

12 groupes homogènes sont identifiés en utilisant des lettres.

1. Variable à expliquer: PF R

- Facteur: Lignées
- Nombre d'observations: 102
- Nombre de niveaux: 34

Tableau de l'ANOVA pour PF R par Lignées

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
Inter-groupes	0,445091	33	0,0134876	3,91	0,0000
Intra-groupes	0,234731	68	0,00345193		
Total (Corr.)	0,679822	101			

**Tests des étendues multiples pour PF R par Lignées**

Méthode: 95,0 % LSD

Lignées	Effectif	Moyenne	Groupe homogène
ALG266.1593		0,0226667A	
ALG310.2093		0,0673333AB	
ALG308.2053		0,0756667ABC	
ALG334.2703		0,0762667ABC	
ALG294.1693		0,100633 ABCD	
ALG294.1683		0,107 ABCDE	
ALG431.4013		0,107213 ABCDE	
DZA 045.5	3	0,107667 ABCDE	
ALG299.1853		0,114 ABCDE	
A 20	3	0,1218 BCDEF	
DZA 315.16	3	0,131167 BCDEFG	
TN8.3	3	0,141133 BCDEFG	
F83005.5	3	0,145833 BCDEFG	
ALG331.2523		0,1461 BCDEFG	
ALG429.3933		0,1472 BCDEFG	
ALG423.3793		0,149667 BCDEFG	
ALG404.3283		0,153433 BCDEFG	
ALG348.3013		0,163333 CDEFGH	
ALG433.4073		0,167567 CDEFGH	
ALG418.3743		0,1678 CDEFGHI	
ALG400.311	3	0,180633 DEFGHIK	
ALG440.4393		0,181367 DEFGHIK	
ALG327.2393		0,187 DEFGHIK	
ALG453.4873		0,187333 DEFGHIK	
ALG418.3703		0,193333 DEFGHIK	
TN1. 11	3	0,198433 EFGHIK	
ALG405.3403		0,2117 FGHIK	
ALG402.3193		0,218867 GHIK	
TN1. 21	3	0,224133 GHIK	
ALG412.3653		0,226667 GHIK	
ALG432.4063		0,250633 HIK	
ALG448.4643		0,263333 IK	
ALG255.1463		0,2654 KL	
ALG431.3973		0,360333 L	

11 groupes homogènes sont identifiés en utilisant des lettres.

1. Variable à expliquer: PS PA

- Facteur: Lignées
- Nombre d'observations: 102
- Nombre de niveaux: 34

Tableau de l'ANOVA pour PS PA par Lignées

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
Inter-groupes	0,00296211	33	0,000089761	2,54	0,0006
Intra-groupes	0,00239966	68	0,0000352891		
Total (Corr.)	0,00536178	101			

### Tests des étendues multiples pour PS PA par Lignées

Méthode: 95,0 % LSD

Lignées	Effectif	Moyenne	Groupe homogène
ALG334.2703		0,0146333A	
ALG310.2093		0,0148	AB
DZA 315.16 3		0,0192333ABC	
ALG429.3933		0,0193367ABCD	
ALG431.4013		0,0198333ABCDE	
ALG433.4073		0,0209	ABCDE
TN8.3	3	0,021	ABCDE
ALG453.4873		0,0215833ABCDEF	
ALG404.3283		0,0216	ABCDEF
F83005.5 3		0,0225667ABCDEF	
ALG400.3113		0,0232333ABCDEF	
ALG299.1853		0,0233	ABCDEF
ALG266.1593		0,0239667ABCDEF	
ALG448.4643		0,0243333BCDEF	
ALG402.3193		0,0249333CDEF	
ALG405.3403		0,0249667CDEF	
ALG412.3653		0,0264	CDEF
ALG294.1683		0,0268667CDEF	
ALG331.2523		0,0270667CDEF	
TN1. 21 3		0,0270667CDEF	
ALG418.3743		0,0272333CDEF	
ALG418.3703		0,0273667CDEF	
ALG294.1693		0,02785	CDEF
ALG440.4393		0,0287667CDEF	
ALG432.4063		0,029	DEF
ALG431.3973		0,0291	EFG
ALG348.3013		0,0307333FG	
TN1. 11 3		0,0308333FG	
DZA 045.5 3		0,0313	GHI
A 20 3		0,0314667GHI	
ALG308.2053		0,0329	HIJ
ALG423.3793		0,0343333IJK	
ALG327.2393		0,0365	JK
ALG255.1463		0,0365667K	

11 groupes homogènes sont identifiés en utilisant des lettres.

1. Variable à expliquer: PS R

- Facteur: Lignées
- Nombre d'observations: 102
- Nombre de niveaux: 34

**Tableau de l'ANOVA pour PS R par Lignées**

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
Inter-groupes	0,0031943	33	0,000096797	4,02	0,0000
Intra-groupes	0,00163755	68	0,0000240817		
Total (Corr.)	0,00483185	101			

**Tests des étendues multiples pour PS R par Lignées**

Méthode: 95,0 % LSD

Lignées	Effectif	Moyenne	Groupe homogène
ALG266.1593		0,00526667A	
ALG299.1853		0,00746667AB	
DZA 315.16 3		0,00776667AB	
ALG334.2703		0,00866667ABCD	
ALG348.3013		0,00866667ABCD	
ALG308.2053		0,00876667ABCD	
ALG294.1683		0,00883333ABCD	
ALG310.2093		0,00913333ABCD	
ALG294.1693		0,0092	ABCD
ALG331.2523		0,0104	ABCDE
DZA 045.5 3		0,0112	ABCDEF
A 20	3	0,012	ABCDEF
ALG431.4013		0,0129	ABCDEF
F83005.5 3		0,0136	BCDEFGHI
TN8.3	3	0,0138333	BCDEFGHI
ALG423.3793		0,0140333	BCDEFGHI
ALG433.4073		0,0145	BCDEFGHI
ALG327.2393		0,0147333	BCDEFGHIJ
ALG404.3283		0,0148	BCDEFGHIJ
ALG418.3743		0,0155667	CDEFGHIJK
ALG429.3933		0,0158333	DEFGHIJK
ALG400.3113		0,0159333	DEFGHIJK
ALG453.4873		0,0179333	EFGHIJKL
ALG418.3703		0,0188667	FGHIJKL
ALG440.4393		0,0190333	FGHIJKL
ALG412.3653		0,0194333	GHIJKL
TN1. 21 3		0,0195	GHIJKL
ALG402.3193		0,0205333	HIJKLM
TN1. 11 3		0,0211333	IJKLM
ALG405.3403		0,0213	IJKLM
ALG432.4063		0,0225333	JKLM
ALG255.1463		0,0229333	KLM
ALG448.4643		0,0250667	LM
ALG431.3973		0,0281	M

13 groupes homogènes sont identifiés en utilisant des lettres.

1. Variable à expliquer: L R

- Facteur: Lignées
- Nombre d'observations: 102
- Nombre de niveaux: 34

Tableau de l'ANOVA pour L R par Lignées

**Etude de la variabilité chez quelques lignées *Medicago truncatula* soumises au stress salin**

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
Inter-groupes	587,812	33	17,8125	1,97	0,0091
Intra-groupes	613,333	68	9,01961		
Total (Corr.)	1201,15	101			

**Tests des étendues multiples pour L R par Lignées**

Méthode: 95,0 % LSD

Lignées	Effectif	Moyenne	Groupe homogène
ALG310.2093		8,56667	A
TN8.3	3	11,2333	AB
ALG429.3933		11,8333	ABC
ALG331.2523		11,8333	ABC
A 20	3	12,0	ABCD
ALG266.1593		12,1667	ABCD
F83005.5	3	13,0	ABCDE
ALG412.3653		13,2667	ABCDE
ALG327.2393		13,6667	BCDE
ALG431.4013		13,8333	BCDEF
ALG448.4643		14,5	BCDEFG
DZA 045.5	3	14,5	BCDEFG
ALG334.2703		15,1667	BCDEFG
ALG418.3743		15,1667	BCDEFG
TN1. 21	3	15,3333	BCDEFG
ALG400.311	3	15,5	BCDEFG
TN1. 11	3	15,5	BCDEFG
ALG432.4063		15,6667	BCDEFG
ALG255.1463		15,6667	BCDEFG
ALG433.4073		15,8333	BCDEFG
ALG299.1853		16,0	BCDEFG
ALG440.4393		16,1667	CDEFG
DZA 315.16	3	16,5	CDEFG
ALG453.4873		16,5	CDEFG
ALG431.3973		16,5	CDEFG
ALG348.3013		16,5667	CDEFG
ALG418.3703		16,6	CDEFG
ALG308.2053		16,8333	DEFG
ALG402.3193		17,5	EFG
ALG294.1683		17,5	EFG
ALG404.3283		18,6667	FG
ALG294.1693		18,6667	FG
ALG423.3793		19,0	G
ALG405.3403		19,3333	G

7 groupes homogènes sont identifiés en utilisant des lettres.

## 1. Variable à expliquer: L PA

- Facteur: Lignées
- Nombre d'observations: 102
- Nombre de niveaux: 34

Tableau de l'ANOVA pour L PA par Lignées

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
Inter-groupes	756,508	33	22,9245	5,05	0,0000
Intra-groupes	308,76	68	4,54059		
Total (Corr.)	1065,27	101			

Tests des étendues multiples pour L PA par Lignées

Méthode: 95,0 % LSD

Lignées	Effectif	Moyenne	Groupe homogène
ALG429.3933		5,5	A
ALG431.4013		6,2	AB
ALG334.2703		6,5	ABC
ALG431.3973		6,6	ABCD
ALG418.3743		6,63333	ABCD
TN8.3	3	6,66667	ABCD
ALG405.3403		6,76667	ABCDE
ALG402.3193		6,83333	ABCDE
ALG440.4393		7,06667	ABCDEF
F83005.5	3	7,16667	ABCDEF
ALG404.3283		7,33333	ABCDEF
ALG433.4073		7,4	ABCDEFG
ALG448.4643		7,43333	ABCDEFG
ALG453.4873		7,66667	ABCDEFGH
ALG432.4063		7,83333	ABCDEFGHI
ALG255.1463		8,0	ABCDEFGHI
DZA 315.16	3	8,53333	ABCDEFGHIJ
ALG418.3703		8,63333	ABCDEFGHIJ
ALG310.2093		8,73333	ABCDEFGHIJ
ALG266.1593		8,83333	ABCDEFGHIJ
A 20	3	8,83333	ABCDEFGHIJ
ALG348.3013		9,6	BCDEFGHIJK
ALG400.311	3	9,66667	BCDEFGHIJK
ALG294.1693		9,83333	CDEFGHIJK
TN1. 21	3	10,0	DEFGHIJK
DZA 045.5	3	10,1667	EFGHIJK
ALG412.3653		10,3667	FGHIJK
TN1. 11	3	10,8333	GHIJK
ALG327.2393		11,0667	HIJK
ALG299.1853		11,1667	IJK
ALG423.3793		11,5	JK
ALG294.1683		12,3333	K
ALG308.2053		13,0	K
ALG331.2523		20,3333	L

12 groupes homogènes sont identifiés en utilisant des lettres.

## Annexe 21 : ANOVA des paramètres de croissances à un seul facteur avec sel

NaCl = 50 mM

1. Variable à expliquer: PF PA

· Facteur: Lignées

- 
- Nombre d'observations: 102
  - Nombre de niveaux: 34

**Tableau de l'ANOVA pour PF PA par Lignées**

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
Inter-groupes	0,177188	33	0,00536935	1,72	0,0307
Intra-groupes	0,212835	68	0,00312993		
Total (Corr.)	0,390024	101			

Tests des étendues multiples pour PF PA par Lignées

Méthode: 95,0 % LSD

Lignées	Effectif	Moyenne	Groupe homogène
ALG431.4013		0,0403667	A
TN8.3	3	0,0937667	AB
ALG418.3743		0,102133	ABC
ALG266.1593		0,104667	ABC
ALG308.2053		0,109667	ABCD
ALG400.3113		0,109733	ABCD
ALG294.1693		0,111433	ABCD
ALG453.4873		0,112667	ABCDE
ALG448.4643		0,125667	ABCDEF
DZA 045.5	3	0,127333	ABCDEF
ALG429.3933		0,131933	BCDEFG
ALG334.2703		0,132733	BCDEFG
ALG404.3283		0,1362	BCDEFG
TN1. 21	3	0,136433	BCDEFG
F83005.5	3	0,140733	BCDEFG
ALG431.3973		0,148	BCDEFG
A 20	3	0,1543	BCDEFG
ALG310.2093		0,156333	BCDEFG
ALG255.1463		0,158367	BCDEFG
ALG294.1683		0,16	BCDEFG
ALG402.3193		0,165967	BCDEFG
ALG299.1853		0,167667	BCDEFG
DZA 315.16	3	0,1694	BCDEFG
ALG432.4063		0,1786	BCDEFG
ALG412.3653		0,183333	BCDEFG
ALG331.2523		0,188667	CDEFG
ALG440.4393		0,198833	DEFG
ALG418.3703		0,203333	EFG
ALG433.4073		0,203367	EFG
ALG423.3793		0,204333	FG
ALG405.3403		0,205833	FG
TN1. 11	3	0,2128	FG
ALG348.3013		0,213333	FG
ALG327.2393		0,219667	G

7 groupes homogènes sont identifiés en utilisant les lettres

1. Variable à expliquer: PF R

- Facteur: Lignées
- Nombre d'observations: 102
- Nombre de niveaux: 34

Tableau de l'ANOVA pour PF R par Lignées

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
Inter-groupes	0,174069	33	0,00527481	2,09	0,0052
Intra-groupes	0,171506	68	0,00252215		
Total (Corr.)	0,345575	101			

### Tests des étendues multiples pour PF R par Lignées

Méthode: 95,0 % LSD

Lignées	Effectif	Moyenne	Groupe homogène
ALG266.1593		0,0178333A	
ALG294.1693		0,0330333AB	
ALG308.2053		0,0363333ABC	
ALG418.3743		0,0515667ABCD	
ALG299.1853		0,0531667ABCDE	
ALG431.4013		0,0548333ABCDE	
ALG310.2093		0,0616667ABCDEF	
ALG294.1683		0,067 ABCDEF	
F83005.5	3	0,0671667ABCDEF	
TN1. 21	3	0,0677 ABCDEF	
DZA 045.5	3	0,0733333ABCDEFG	
A 20	3	0,0794667ABCDEFGH	
ALG255.1463		0,0798333ABCDEFGH	
ALG423.3793		0,0883333ABCDEFGHI	
TN8.3	3	0,0889 ABCDEFGHI	
ALG327.2393		0,092 ABCDEFGHIJ	
ALG400.3113		0,0928667ABCDEFGHIJK	
ALG431.3973		0,0966667ABCDEFGHIJK	
ALG348.3013		0,103333 BCDEFGHIJK	
ALG404.3283		0,107067 BCDEFGHIJK	
ALG429.3933		0,112 BCDEFGHIJK	
ALG412.3653		0,112333 BCDEFGHIJK	
DZA 315.16	3	0,115667 CDEFGHIJK	
ALG334.2703		0,123133 DEFGHIJK	
ALG418.3703		0,123333 DEFGHIJK	
ALG453.4873		0,131333 DEFGHIJK	
TN1. 11	3	0,134833 EFGHIJK	
ALG432.4063		0,1408 FGHIJK	
ALG331.2523		0,1521 GHIJK	
ALG433.4073		0,1536 GHIJK	
ALG440.4393		0,159267 HIJK	
ALG402.3193		0,163867 IJK	
ALG448.4643		0,173333 JK	
ALG405.3403		0,1739 K	

11 groupes homogènes sont identifiés en utilisant des lettre.

1. Variable à expliquer: PS PA

- Facteur: Lignées
- Nombre d'observations: 102
- Nombre de niveaux: 34

**Tableau de l'ANOVA pour PS PA par Lignées**

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen F	Probabilité
Inter-groupes	0,00292343	33	0,00008858881,05	0,4195
Intra-groupes	0,00572633	68	0,0000842107	
Total (Corr.)	0,00864976	101		

**Tests des étendues multiples pour PS PA par Lignées**

Méthode: 95,0 % LSD

Lignées	Effectif	Moyenne	Groupe homogène
ALG431.4013		0,00893333	A
ALG266.1593		0,0116667	AB
ALG418.3743		0,0137667	ABC
ALG400.3113		0,0144333	ABC
ALG453.4873		0,0145667	ABC
TN1. 21	3	0,0149	ABC
TN8.3	3	0,0150667	ABC
DZA 315.16	3	0,0164667	ABCD
ALG431.3973		0,0170333	ABCD
ALG308.2053		0,0177333	ABCD
ALG255.1463		0,0181667	ABCD
ALG448.4643		0,0186667	ABCDE
DZA 045.5	3	0,0189667	ABCDE
ALG429.3933		0,0192	ABCDE
ALG404.3283		0,0194	ABCDE
F83005.5	3	0,0194333	ABCDE
ALG294.1683		0,0195667	ABCDE
A 20	3	0,0197667	ABCDE
ALG310.2093		0,0201	ABCDE
ALG412.3653		0,0219	ABCDE
ALG299.1853		0,0219333	ABCDE
ALG331.2523		0,0229333	ABCDE
ALG432.4063		0,0231333	ABCDE
TN1. 11	3	0,0232333	ABCDE
ALG433.4073		0,0233667	ABCDE
ALG423.3793		0,0234667	ABCDE
ALG402.3193		0,0235667	ABCDE
ALG327.2393		0,0259	BCDE
ALG440.4393		0,0267667	CDE
ALG348.3013		0,0270667	CDE
ALG418.3703		0,0280333	CDE
ALG405.3403		0,0280667	CDE
ALG334.2703		0,0301333	DE
ALG294.1693		0,0332667	E

5 groupes homogènes sont identifiés en utilisant des lettres

1. Variable à expliquer: PS R

- Facteur: Lignées
- Nombre d'observations: 102
- Nombre de niveaux: 34

Tableau de l'ANOVA pour PS R par Lignées

Etude de la variabilité chez quelques lignées *Medicago truncatula* soumises au stress salin

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
Inter-groupes	0,00121461	33	0,0000368064	4,90	0,0133
Intra-groupes	0,0013207	68	0,000019422		
Total (Corr.)	0,00253531	101			

**Tests des étendues multiples pour PS R par Lignées**

Méthode: 95,0 % LSD

Lignées	Effectif	Moyenne	Groupe homogène
ALG266.1593		0,0033	A
ALG308.2053		0,00356667	A
ALG294.1693		0,0036	A
ALG431.4013		0,005	AB
ALG418.3743		0,0053	ABC
TN1. 21	3	0,00556667	ABC
DZA 315.16	3	0,00573333	ABC
ALG299.1853		0,00583333	ABC
DZA 045.5	3	0,00633333	ABCD
ALG294.1683		0,00653333	ABCDE
ALG310.2093		0,00656667	ABCDE
ALG423.3793		0,00673333	ABCDE
ALG327.2393		0,00686667	ABCDE
F83005.5	3	0,0069	ABCDE
ALG255.1463		0,0076	ABCDE
A 20	3	0,00796667	ABCDE
ALG431.3973		0,00823333	ABCDEF
TN8.3	3	0,00823667	ABCDEF
ALG404.3283		0,00886667	ABCDEF
ALG331.2523		0,00886667	ABCDEF
ALG432.4063		0,0100333	ABCDEFG
ALG412.3653		0,0102667	ABCDEFG
ALG400.311	3	0,0103667	ABCDEFG
ALG429.3933		0,0108667	BCDEFG
TN1. 11	3	0,0110333	BCDEFG
ALG453.4873		0,0116667	BCDEFG
ALG418.3703		0,0124333	CDEFG
ALG348.3013		0,0131333	DEFG
ALG334.2703		0,0131333	DEFG
ALG402.3193		0,0132	DEFG
ALG448.4643		0,0134	DEFG
ALG433.4073		0,0136	EFG
ALG405.3403		0,0152667	FG
ALG440.4393		0,0162	G

7 groupes homogènes sont identifiés en utilisant des lettre.

---

1. Variable à expliquer: L R

- Facteur: Lignées
- Nombre d'observations: 102
- Nombre de niveaux: 34

**Tableau de l'ANOVA pour L R par Lignées**

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
Inter-groupes	1909,91	33	57,876	2,35	0,0015
Intra-groupes	1673,29	68	24,6072		
Total (Corr.)	3583,2	101			

**Tests des étendues multiples pour L R par Lignées**

Méthode: 95,0 % LSD

Lignées	Effectif	Moyenne	Groupe homogène
ALG266.1593		5,6667	A
ALG412.3653		10,4667	AB
F83005.5	3	11,0	ABC
A 20	3	12,0	ABC
ALG400.3113	3	12,1667	ABC
TN8.3	3	12,8667	ABCD
ALG453.4873	3	13,6667	ABCDE
ALG418.3743	3	14,1667	BCDEF
ALG431.4013	3	14,7333	BCDEF
ALG429.3933	3	15,0	BCDEF
ALG440.4393	3	15,3333	BCDEF
ALG310.2093	3	15,4333	BCDEFG
TN1. 21	3	15,5	BCDEFG
ALG331.2523	3	16,0	BCDEFGH
ALG448.4643	3	16,3333	BCDEFGH
DZA 315.16	3	16,3333	BCDEFGH
ALG294.1693	3	16,5	BCDEFGH
ALG255.1463	3	16,5	BCDEFGH
ALG423.3793	3	18,0	BCDEFGH
ALG327.2393	3	18,1333	BCDEFGH
ALG404.3283	3	18,3333	BCDEFGH
ALG334.2703	3	18,3333	BCDEFGH
DZA 045.5	3	18,8333	CDEFGH
ALG402.3193	3	20,5	DEFGH
ALG433.4073	3	20,5	DEFGH
ALG299.1853	3	21,3333	EFGH
ALG348.3013	3	21,6667	EFGH
ALG431.3973	3	21,6667	EFGH
TN1. 11	3	21,8333	FGH
ALG294.1683	3	21,8667	FGH
ALG308.2053	3	23,5	GH
ALG432.4063	3	23,8333	H
ALG418.3703	3	23,8333	H
ALG405.3403	3	24,0	H

8 groupes homogènes sont identifiés en utilisant des lettres

1. Variable à expliquer: L PA

- Facteur: Lignées
- Nombre d'observations: 102
- Nombre de niveaux: 34

Tableau de l'ANOVA pour L PA par Lignées

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
Inter-groupes	647,922	33	19,634	7,30	0,0000
Intra-groupes	182,813	68	2,68843		
Total (Corr.)	830,735	101			

### Tests des étendues multiples pour L PA par Lignées

Méthode: 95,0 % LSD

Lignées	Effectif	Moyenne	Groupe homogène
ALG431.4013	3	2,7	A
ALG266.1593	3	3,43333	AB
F83005.5	3	3,5	AB
ALG255.1463	3	3,66667	ABC
A 20	3	3,8	ABCD
ALG294.1693	3	4,0	ABCDE
TN8.3	3	4,16667	ABCDE
ALG400.3113	3	4,33333	ABCDEF
ALG453.4873	3	4,5	ABCDEF
ALG429.3933	3	4,7	ABCDEF
ALG402.3193	3	5,23333	ABCDEFG
ALG412.3653	3	5,26667	ABCDEFG
ALG431.3973	3	5,3	ABCDEFG
ALG404.3283	3	5,43333	BCDEFG
ALG433.4073	3	5,6	BCDEFG
ALG448.4643	3	5,66667	BCDEFG
DZA 045.5	3	5,83333	BCDEFG
ALG405.3403	3	5,83333	BCDEFG
ALG334.2703	3	6,0	BCDEFG
ALG440.4393	3	6,06667	BCDEFG
ALG308.2053	3	6,26667	CDEFG
ALG310.2093	3	6,3	CDEFG
ALG299.1853	3	6,33333	CDEFG
TN1. 21	3	6,43333	DEFGH
DZA 315.16	3	6,5	EFGH
ALG423.3793	3	6,5	EFGH
ALG327.2393	3	6,96667	FGH
TN1. 11	3	7,0	FGH
ALG432.4063	3	7,5	GH
ALG348.3013	3	7,5	GH
ALG294.1683	3	7,5	GH
ALG418.3743	3	7,66667	GH
ALG418.3703	3	9,03333	H
ALG331.2523	3	18,0	I

9 groupes homogènes sont identifiés en utilisant des lettres.

**NaCl = 100 mM**

1. Variable à expliquer: PF PA

- Facteur: Lignées
- Nombre d'observations: 102
- Nombre de niveaux: 34

**Tableau de l'ANOVA pour PF PA par Lignées**

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
Inter-groupes	0,125452	33	0,00380157	2,10	0,0050
Intra-groupes	0,122999	68	0,00180881		
Total (Corr.)	0,248451	101			

Tests des étendues multiples pour PF PA par Lignées

Méthode: 95,0 % LSD

Lignées	Effectif	Moyenne	Groupe homogène
ALG308.2053		0,0375333	A
TN1. 21	3	0,0407667	A
ALG334.2703		0,0410333	A
ALG418.3743		0,0411333	A
ALG266.1593		0,049	AB
ALG431.4013		0,0576	ABC
ALG429.3933		0,0576333	ABC
TN8.3	3	0,0618333	ABCD
ALG404.3283		0,0741333	ABCDE
ALG294.1683		0,0743333	ABCDE
ALG412.3653		0,0753333	ABCDE
ALG448.4643		0,0773333	ABCDE
ALG433.4073		0,0808	ABCDE
DZA 045.5	3	0,0826667	ABCDE
ALG310.2093		0,0833333	ABCDE
ALG402.3193		0,0843667	ABCDE
ALG440.4393		0,0896	ABCDE
ALG255.1463		0,0922667	ABCDE
ALG294.1693		0,0957	ABCDE
ALG432.4063		0,0993	ABCDE
ALG400.3113		0,1026	ABCDE
TN1. 11	3	0,1033	ABCDE
ALG453.4873		0,1033333	ABCDE
F83005.5	3	0,106067	ABCDE
A 20	3	0,1118	BCDEF
ALG423.3793		0,113	BCDEF
DZA 315.16	3	0,1142	BCDEF
ALG348.3013		0,118	BCDEFG
ALG327.2393		0,1213333	CDEFG
ALG331.2523		0,129067	DEFG
ALG299.1853		0,129667	DEFG
ALG431.3973		0,136667	EFG
ALG405.3403		0,1801333	FG
ALG418.3703		0,183667	G

7 groupes homogènes sont identifiés en utilisant des lettres.

1. Variable à expliquer: PF R

- Facteur: Lignées
- Nombre d'observations: 102
- Nombre de niveaux: 34

Tableau de l'ANOVA pour PF R par Lignées

Etude de la variabilité chez quelques lignées *Medicago truncatula* soumises au stress salin

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
Inter-groupes	0,0915826	33	0,00277523	4,58	0,0000
Intra-groupes	0,0412225	68	0,000606213		
Total (Corr.)	0,132805	101			

Tests des étendues multiples pour PF R par Lignées

Méthode: 95,0 % LSD

Lignées	Effectif	Moyenne	Groupe homogène
ALG266.1593		0,0135667	A
ALG308.2053		0,0145333	AB
ALG418.3743		0,0151667	AB
ALG294.1683		0,0176667	ABC
ALG334.2703		0,0207	ABCD
TN1. 21	3	0,0222667	ABCD
ALG429.3933		0,0265	ABCDE
TN8.3	3	0,0273	ABCDE
ALG431.4013		0,0290333	ABCDE
DZA 045.5	3	0,0316667	ABCDE
ALG299.1853		0,0326667	ABCDE
ALG433.4073		0,0332667	ABCDE
ALG255.1463		0,0333333	ABCDE
F83005.5	3	0,0413	ABCDE
A 20	3	0,0437333	ABCDEF
ALG310.2093		0,0443333	ABCDEF
ALG423.3793		0,0463333	ABCDEF
ALG294.1693		0,0479667	ABCDEF
ALG404.3283		0,0505333	ABCDEF
ALG412.3653		0,0506667	ABCDEF
ALG402.3193		0,0521667	ABCDEF
DZA 315.16	3	0,0527667	ABCDEF
TN1. 11	3	0,0537667	BCDEF
ALG327.2393		0,0573333	CDEFG
ALG400.311	3	0,057617	CDEFG
ALG440.4393		0,0597667	DEFGH
ALG348.3013		0,06	DEFGH
ALG432.4063		0,0647	EFGH
ALG453.4873		0,082	FGH
ALG448.4643		0,0833333	FGH
ALG405.3403		0,0970667	GH
ALG418.3703		0,098	H
ALG431.3973		0,0996667	H
ALG331.2523		0,157367	I

9 groupes homogènes sont identifiés en utilisant des lettres

1. Variable à expliquer: PS PA

- Facteur: Lignées
- Nombre d'observations: 102
- Nombre de niveaux: 34

**Tableau de l'ANOVA pour PS PA par Lignées**

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
Inter-groupes	0,0019513	33	0,0000591303	3,74	0,0000
Intra-groupes	0,00107616	68	0,0000158258		
Total (Corr.)	0,00302746	101			

Tests des étendues multiples pour PS PA par Lignées

Méthode: 95,0 % LSD

Lignées	Effectif	Moyenne	Groupe homogène
TN1. 21	3	0,007	A
ALG266.1593		0,0071	A
ALG418.3743		0,00763333	AB
TN8.3	3	0,00797	ABC
ALG334.2703		0,00806667	ABC
ALG308.2053		0,00826667	ABCD
ALG429.3933		0,0094	ABCDE
DZA 315.16	3	0,0097	ABCDE
ALG412.3653		0,00973333	ABCDE
ALG294.1683		0,0104667	ABCDEF
ALG404.3283		0,011	ABCDEF
ALG431.4013		0,0114	ABCDEF
DZA 045.5	3	0,0119667	ABCDEFG
ALG310.2093		0,0124	ABCDEFG
ALG433.4073		0,0124333	ABCDEFG
ALG255.1463		0,0124667	ABCDEFG
ALG440.4393		0,0127	ABCDEFG
ALG402.3193		0,0129333	ABCDEFG
F83005.5	3	0,0131	ABCDEFGH
ALG294.1693		0,0133333	ABCDEFGH
ALG400.311	3	0,0137667	BCDEFGHI
A 20	3	0,0141667	CDEFGHI
ALG432.4063		0,0142	CDEFGHI
TN1. 11	3	0,0143333	CDEFGHI
ALG453.4873		0,0146	DEFGHI
ALG448.4643		0,0147333	DEFGHI
ALG431.3973		0,0151333	EFGHI
ALG299.1853		0,0162333	FGHI
ALG348.3013		0,0165333	FGHI
ALG423.3793		0,0182	GHIJ
ALG327.2393		0,0195333	HIJK
ALG331.2523		0,0199333	IJK
ALG405.3403		0,0237333	JK
ALG418.3703		0,0256333	X

11 groupes homogènes sont identifiés en utilisant des lettres.

1. Variable à expliquer: PS R

- Facteur: Lignées
- Nombre d'observations: 102
- Nombre de niveaux: 34

Tableau de l'ANOVA pour PS R par Lignées

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
Inter-groupes	0,000426944	33	0,0000129377	3,51	0,0000
Intra-groupes	0,000250847	68	0,00000368892		
Total (Corr.)	0,00067779	101			

Tests des étendues multiples pour PS R par Lignées

Méthode: 95,0 % LSD

Lignées	Effectif	Moyenne	Groupe homogène
ALG266.1593		0,0014	A
ALG418.3743		0,0018	AB
ALG294.1683		0,00216667	ABC
TN1. 21	3	0,00223333	ABC
ALG348.3013		0,0023	ABC
ALG334.2703		0,0023	ABC
ALG308.2053		0,00246667	ABC
ALG429.3933		0,0026	ABCD
TN8.3	3	0,00303333	ABCDE
ALG431.4013		0,00316667	ABCDE
ALG299.1853		0,0032	ABCDE
DZA 045.5	3	0,0033	ABCDEF
DZA 315.16	3	0,00336667	ABCDEF
ALG404.3283		0,00373333	ABCDEF
ALG423.3793		0,00376667	ABCDEF
ALG294.1693		0,004	ABCDEFG
F83005.5	3	0,0041	ABCDEFG
ALG255.1463		0,0041	ABCDEFG
ALG433.4073		0,00413333	ABCDEFG
ALG310.2093		0,00436667	ABCDEFG
ALG412.3653		0,00466667	BCDEFG
A 20	3	0,00476667	BCDEFG
ALG400.3113		0,00486667	BCDEFG
ALG402.3193		0,00526667	CDEFGH
ALG448.4643		0,00526667	CDEFGH
ALG432.4063		0,0056	DEFGH
TN1. 11	3	0,0056	DEFGH
ALG327.2393		0,00576667	EFGH
ALG440.4393		0,0064	FGH
ALG453.4873		0,0069	GHI
ALG331.2523		0,007	GHI
ALG431.3973		0,00813333	HI
ALG405.3403		0,00953333	I
ALG418.3703		0,00976667	I

9 groupes homogènes sont identifiés en utilisant des lettres.

1. Variable à expliquer: L R

- Facteur: Lignées
- Nombre d'observations: 102
- Nombre de niveaux: 34

Tableau de l'ANOVA pour L R par Lignées

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
Inter-groupes	1856,17	33	56,2475	2,00	0,0080
Intra-groupes	1911,41	68	28,1089		
Total (Corr.)	3767,58	101			

Tests des étendues multiples pour L R par Lignées

Méthode: 95,0 % LSD

Lignées	Effectif	Moyenne	Groupe homogène
ALG266.1593		2,46667	A
ALG431.4013		2,76667	A
ALG440.4393		5,53333	AB
ALG418.3743		6,66667	ABC
ALG334.2703		7,23333	ABCD
TN8.3	3	7,33333	ABCD
TN1. 21	3	7,93333	ABCD
ALG453.4873		7,93333	ABCD
ALG448.4643		9,5	ABCDE
ALG294.1693		10,0667	ABCDEF
A 20	3	10,3333	ABCDEF
ALG308.2053		10,3333	ABCDEF
DZA 045.5	3	10,3333	ABCDEF
ALG310.2093		10,3667	ABCDEF
ALG404.3283		10,8333	ABCDEF
TN1. 11	3	10,8333	ABCDEF
ALG400.3113		10,9333	ABCDEF
ALG433.4073		11,0	ABCDEF
ALG348.3013		11,5	BCDEFG
F83005.5	3	11,6	BCDEFG
ALG412.3653		11,6333	BCDEFG
ALG294.1683		12,0	BCDEFG
ALG429.3933		12,3333	BCDEFGH
ALG299.1853		12,8333	BCDEFGH
ALG255.1463		14,3333	CDEFGH
ALG402.3193		14,6667	CDEFGH
ALG331.2523		15,0	CDEFGH
ALG423.3793		15,1667	CDEFGH
DZA 315.16	3	15,5	DEFGH
ALG327.2393		17,0667	EFGH
ALG431.3973		17,3333	EFGH
ALG418.3703		18,4	FGH
ALG405.3403		19,8	GH
ALG432.4063		20,6667	H

8 groupes homogènes sont identifiés en utilisant des lettres.

1. Variable à expliquer: L PA

- Facteur: Lignées
- Nombre d'observations: 102
- Nombre de niveaux: 34

**Tableau de l'ANOVA pour L PA par Lignées**

Etude de la variabilité chez quelques lignées *Medicago truncatula* soumises au stress salin

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
Inter-groupes	457,46	33	13,8624	11,46	0,0000
Intra-groupes	82,24	68	1,20941		
Total (Corr.)	539,7	101			

Tests des étendues multiples pour L PA par Lignées

Méthode: 95,0 % LSD

Lignées	Effectif	Moyenne	Groupe homogène
ALG418.3743		1,1	A
ALG431.4013		1,4	AB
ALG429.3933		1,8	ABC
ALG334.2703		2,0	ABC
ALG440.4393		2,06667	ABC
ALG266.1593		2,1	ABC
TN1. 21	3	2,3	ABCD
ALG433.4073		2,33333	ABCD
ALG453.4873		2,5	ABCD
ALG255.1463		2,5	ABCD
ALG448.4643		2,5	ABCD
TN8.3	3	2,56667	ABCDE
DZA 045.5	3	2,6	ABCDE
ALG402.3193		2,66667	ABCDE
ALG308.2053		2,66667	ABCDE
A 20	3	2,66667	ABCDE
ALG294.1693		2,83333	ABCDE
DZA 315.16	3	3,1	BCDEF
F83005.5	3	3,16667	BCDEF
ALG404.3283		3,16667	BCDEF
ALG400.311	3	3,23333	CDEF
ALG294.1683		3,5	CDEFG
ALG412.3653		3,9	DEFGH
TN1. 11	3	3,96667	DEFGH
ALG432.4063		4,06667	DEFGH
ALG310.2093		4,3	EFGH
ALG348.3013		4,33333	EFGH
ALG431.3973		4,66667	FGHI
ALG405.3403		4,66667	FGHI
ALG299.1853		5,16667	GHI
ALG423.3793		5,33333	HI
ALG327.2393		6,4	I
ALG418.3703		8,26667	J
ALG331.2523		12,5	K

11 groupes homogènes sont identifiés en utilisant des lettres.

**NaCl = 150 mM**

1. Variable à expliquer: PF PA

- Facteur: Lignées
- Nombre d'observations: 102
- Nombre de niveaux: 34

Tableau de l'ANOVA pour PF PA par Lignées

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
Inter-groupes	0,0630952	33	0,00191197	2,16	0,0037
Intra-groupes	0,060062	68	0,000883264		
Total (Corr.)	0,123157	101			

Tests des étendues multiples pour PF PA par Lignées

Méthode: 95,0 % LSD

Lignées	Effectif	Moyenne	Groupe homogène
ALG308.2053		0,0173333	A
ALG294.1683		0,026	AB
ALG418.3743		0,0301333	ABC
ALG402.3193		0,0377667	ABCD
ALG404.3283		0,0427333	ABCD
ALG331.2523		0,0435333	ABCDE
ALG412.3653		0,0443333	ABCDE
ALG448.4643		0,0453333	ABCDE
ALG294.1693		0,0454733	ABCDE
ALG310.2093		0,0463333	ABCDE
ALG334.2703		0,0466333	ABCDE
TN1. 21	3	0,0477667	ABCDE
ALG423.3793		0,048	ABCDE
ALG431.4013		0,0521667	ABCDE
TN8.3	3	0,0545667	ABCDEF
ALG453.4873		0,0553333	ABCDEF
ALG266.1593		0,0584667	ABCDEF
DZA 315.16	3	0,05974	ABCDEF
ALG431.3973		0,0616667	ABCDEF
ALG299.1853		0,0706667	BCDEF
A 20	3	0,0709333	BCDEF
ALG400.311	3	0,0714	BCDEF
ALG432.4063		0,0743667	BCDEFG
DZA 045.5	3	0,0763333	CDEFG
ALG433.4073		0,0771	CDEFG
ALG418.3703		0,079	DEFG
ALG429.3933		0,0796	DEFG
F83005.5	3	0,0848667	DEFGH
TN1. 11	3	0,0880333	EFGH
ALG255.1463		0,0881333	EFGH
ALG405.3403		0,0901	EFGH
ALG327.2393		0,101333	FGH
ALG348.3013		0,120333	GH
ALG440.4393		0,129167	H

8 groupes homogènes sont identifiés en utilisant des lettres.

1. Variable à expliquer: PF R

- Facteur: Lignées
- Nombre d'observations: 102
- Nombre de niveaux: 34

Tableau de l'ANOVA pour PF R par Lignées

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
Inter-groupes	0,00951376	33	0,000288296	1,63	0,0460
Intra-groupes	0,0120566	68	0,000177303		
Total (Corr.)	0,0215703	101			

Tests des étendues multiples pour PF R par Lignées

Méthode: 95,0 % LSD

Lignées	Effectif	Moyenne	Groupe homogène
ALG308.2053		0,00433333	A
ALG266.1593		0,00632333	AB
ALG418.3743		0,00643333	AB
ALG294.1683		0,00666667	AB
ALG331.2523		0,0103	ABC
ALG412.3653		0,013	ABC
ALG299.1853		0,0146667	ABC
TN1. 21	3	0,0151667	ABC
ALG423.3793		0,0153333	ABC
ALG294.1693		0,0166333	ABC
ALG418.3703		0,017	ABC
ALG431.4013		0,0177	ABCD
ALG255.1463		0,0178	ABCD
ALG431.3973		0,0183333	ABCDE
ALG334.2703		0,0186333	ABCDE
ALG310.2093		0,0186667	ABCDE
TN8.3	3	0,0193667	ABCDE
ALG429.3933		0,0199	ABCDE
ALG405.3403		0,0203333	ABCDE
DZA 045.5	3	0,0206667	ABCDE
DZA 315.16	3	0,0212333	ABCDE
ALG448.4643		0,0213333	ABCDE
F83005.5	3	0,0217	ABCDE
ALG404.3283		0,0227	ABCDE
A 20	3	0,0230667	ABCDE
ALG433.4073		0,0244	ABCDE
ALG402.3193		0,0267667	BCDE
ALG400.3113		0,0271333	BCDE
ALG432.4063		0,0275	BCDE
ALG453.4873		0,0313333	CDEF
ALG327.2393		0,0313333	CDEF
ALG348.3013		0,0393333	DEF
TN1. 11	3	0,0399333	EF
ALG440.4393		0,0503	F

6 groupes homogènes sont identifiés en utilisant des lettres.

1. Variable à expliquer: PS PA

- Facteur: Lignées
- Nombre d'observations: 102
- Nombre de niveaux: 34

Tableau de l'ANOVA pour PS PA par Lignées

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen F	Probabilité
Inter-groupes	0,00106633	33	0,00003231321,05	0,4201
Intra-groupes	0,00208968	68	0,0000307306	
Total (Corr.)	0,00315601	101		

Tests des étendues multiples pour PS PA par Lignées

Méthode: 95,0 % LSD

Lignées	Effectif	Moyenne	Groupe homogène
ALG308.2053		0,0047	A
ALG412.3653		0,00656667	AB
DZA 315.16 3	3	0,0067	AB
TN1. 21 3	3	0,00736667	AB
ALG294.1683		0,00776667	AB
ALG418.3743		0,00783333	AB
TN8.3 3	3	0,0082	AB
ALG453.4873		0,00823333	AB
ALG334.2703		0,00843333	AB
ALG294.1693		0,00876667	AB
ALG310.2093		0,0091	AB
ALG404.3283		0,0093	AB
ALG448.4643		0,00936667	AB
ALG266.1593		0,0096	AB
ALG400.311 3	3	0,00963333	AB
ALG402.3193		0,00976667	AB
ALG431.4013		0,0100333	AB
TN1. 11 3	3	0,0100667	AB
DZA 045.5 3	3	0,0102333	AB
ALG423.3793		0,0104667	AB
ALG432.4063		0,0109	AB
ALG299.1853		0,0112	AB
ALG327.2393		0,0113	AB
ALG431.3973		0,0113667	AB
ALG433.4073		0,0119333	AB
A 20 3	3	0,0121	AB
ALG405.3403		0,0122667	AB
ALG255.1463		0,0127333	AB
ALG418.3703		0,0134	AB
ALG429.3933		0,0135333	AB
F83005.5 3	3	0,0142333	BC
ALG348.3013		0,0145667	BC
ALG440.4393		0,0151	BC
ALG331.2523		0,0231	C

3 groupes homogènes sont identifiés en utilisant des lettres.

1. Variable à expliquer: PS R

- Facteur: Lignées
- Nombre d'observations: 102
- Nombre de niveaux: 34

Tableau de l'ANOVA pour PS R par Lignées

Etude de la variabilité chez quelques lignées *Medicago truncatula* soumises au stress salin

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
Inter-groupes	0,000105791	33	0,00000320579	1,55	0,0640
Intra-groupes	0,000140556	68	0,000002067		
Total (Corr.)	0,000246347	101			

Tests des étendues multiples pour PS R par Lignées

Méthode: 95,0 % LSD

Lignées	Effectif	Moyenne	Groupe homogène
ALG294.1683		0,0007	A
ALG418.3743		0,000733333	A
ALG308.2053		0,00113333	AB
ALG266.1593		0,00113333	AB
ALG331.2523		0,00136667	ABC
DZA 315.16 3		0,00146667	ABC
ALG423.3793		0,00153333	ABC
TN1. 21 3		0,0016	ABC
ALG431.4013		0,0017	ABCD
ALG299.1853		0,00176667	ABCDE
ALG348.3013		0,00183333	ABCDE
ALG334.2703		0,00183333	ABCDE
ALG418.3703		0,00193333	ABCDE
TN8.3 3		0,00193333	ABCDE
ALG431.3973		0,00196667	ABCDE
ALG412.3653		0,002	ABCDE
ALG294.1693		0,00226667	ABCDE
ALG310.2093		0,0023	ABCDE
A 20 3		0,00246667	ABCDE
ALG404.3283		0,00246667	ABCDE
ALG402.3193		0,0025	ABCDE
F83005.5 3		0,00256667	ABCDE
DZA 045.5 3		0,0026	ABCDE
ALG429.3933		0,00263333	ABCDE
ALG448.4643		0,00266667	ABCDE
ALG255.1463		0,00286667	ABCDE
ALG405.3403		0,00287	ABCDE
ALG400.311 3		0,00303333	ABCDE
ALG453.4873		0,00323333	BCDE
ALG432.4063		0,00323333	BCDE
ALG433.4073		0,00356667	CDEF
TN1. 11 3		0,00403333	DEF
ALG327.2393		0,00406667	EF
ALG440.4393		0,0058	F

6 groupes homogènes sont identifiés en utilisant des lettres.

---

1. Variable à expliquer: L R

- Facteur: Lignées
- Nombre d'observations: 102
- Nombre de niveaux: 34

**Tableau de l'ANOVA pour L R par Lignées**

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
Inter-groupes	819,89	33	24,8451	2,47	0,0008
Intra-groupes	682,74	68	10,0403		
Total (Corr.)	1502,63	101			

Tests des étendues multiples pour L R par Lignées

Méthode: 95,0 % LSD

Lignées	Effectif	Moyenne	Groupe homogène
ALG418.3743		1,93333	A
ALG310.2093		2,2	AB
ALG412.3653		2,6	AB
ALG423.3793		2,66667	AB
ALG266.1593		3,3	ABC
TN1. 21	3	3,33333	ABC
ALG294.1683		3,43333	ABC
ALG308.2053		3,5	ABC
ALG331.2523		3,7	ABCD
ALG255.1463		3,76667	ABCD
ALG418.3703		4,53333	ABCD
ALG448.4643		4,73333	ABCD
ALG429.3933		4,9	ABCDE
ALG294.1693		5,0	ABCDE
ALG431.3973		5,1	ABCDE
TN8.3	3	5,16667	ABCDE
ALG327.2393		5,23333	ABCDE
ALG431.4013		5,43333	ABCDEF
ALG433.4073		5,66667	ABCDEF
ALG404.3283		6,0	ABCDEF
ALG299.1853		6,16667	ABCDEF
A 20	3	6,16667	ABCDEF
ALG334.2703		6,5	ABCDEF
DZA 045.5	3	6,9	ABCDEFG
ALG400.3113		7,1	BCDEFGH
F83005.5	3	8,0	CDEFGHI
ALG453.4873		8,2	CDEFGHI
DZA 315.16	3	8,33333	CDEFGHI
ALG405.3403		8,66667	DEFGHI
ALG432.4063		10,0	EFGHI
ALG348.3013		10,4333	FGHI
ALG440.4393		11,8333	GHI
TN1. 11	3	12,1667	HI
ALG402.3193		12,5	I

9 groupes homogènes sont identifiés en utilisant des lettres.

1. Variable à expliquer: L PA

- Facteur: Lignées
- Nombre d'observations: 102
- Nombre de niveaux: 34

Tableau de l'ANOVA pour L PA par Lignées

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
Inter-groupes	40,5651	33	1,22925	2,16	0,0037
Intra-groupes	38,6867	68	0,568922		
Total (Corr.)	79,2518	101			

Tests des étendues multiples pour L PA par Lignées

Méthode: 95,0 % LSD

Lignées	Effectif	Moyenne	Groupe homogène
ALG431.4013		0,7	A
ALG255.1463		0,966667	AB
DZA 315.16 3		1,0	AB
ALG448.4643		1,133333	AB
ALG418.3743		1,133333	AB
ALG402.3193		1,166667	AB
ALG453.4873		1,233333	AB
ALG294.1693		1,3	ABC
ALG429.3933		1,466667	ABCD
ALG308.2053		1,5	ABCD
ALG423.3793		1,5	ABCD
TN8.3	3	1,5	ABCD
ALG412.3653		1,5	ABCD
ALG433.4073		1,566667	ABCD
ALG431.3973		1,633333	ABCD
ALG334.2703		1,666667	ABCD
ALG331.2523		1,666667	ABCDE
ALG294.1683		1,766667	ABCDEF
ALG404.3283		1,833333	ABCDEF
ALG440.4393		1,9	ABCDEFGF
A 20	3	1,9	ABCDEFGF
ALG405.3403		1,966667	BCDEFG
ALG400.3113		2,0	BCDEFG
ALG432.4063		2,0	BCDEFG
TN1. 21	3	2,0	BCDEFG
DZA 045.5	3	2,066667	BCDEFGH
F83005.5	3	2,166667	BCDEFGH
TN1. 11	3	2,5	CDEFGH
ALG348.3013		2,666667	DEFGH
ALG266.1593		2,666667	DEFGH
ALG418.3703		2,866667	EFGH
ALG299.1853		2,9	FGH
ALG310.2093		3,1	GH
ALG327.2393		3,266667	H

8 groupes homogènes sont identifiés en utilisant des lettres.

**NaCl = 200 mM**

1. Variable à expliquer: PF PA

- Facteur: Lignées
- Nombre d'observations: 102
- Nombre de niveaux: 34

**Tableau de l'ANOVA pour PF PA par Lignées**

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
Inter-groupes	0,00908253	33	0,000275228	1,70	0,0330
Intra-groupes	0,0110126	68	0,00016195		
Total (Corr.)	0,0200951	101			

Tests des étendues multiples pour PF PA par Lignées

Méthode: 95,0 % LSD

Lignées	Effectif	Moyenne	Groupe homogène
ALG402.3193		0,0180667	A
ALG331.2523		0,0251333	AB
TN1. 21	3	0,0252667	AB
F83005.5	3	0,0264667	ABC
ALG400.3113		0,0266667	ABC
ALG299.1853		0,0266667	ABC
ALG405.3403		0,0274333	ABC
ALG412.3653		0,028	ABCD
ALG431.3973		0,0283333	ABCD
ALG266.1593		0,0286667	ABCD
ALG453.4873		0,03	ABCD
ALG308.2053		0,0303333	ABCDE
ALG433.4073		0,0303333	ABCDE
ALG423.3793		0,0306667	ABCDE
ALG431.4013		0,0311333	ABCDEF
ALG440.4393		0,0323667	ABCDEFG
ALG418.3703		0,034	ABCDEFG
ALG418.3743		0,0340333	ABCDEFG
ALG429.3933		0,0349	ABCDEFG
ALG294.1683		0,035	ABCDEFG
DZA 315.16	3	0,0350667	ABCDEFG
DZA 045.5	3	0,0368667	ABCDEFG
ALG404.3283		0,0374667	ABCDEFG
TN8.3	3	0,038	ABCDEFGH
ALG294.1693		0,0421333	BCDEFGH
ALG348.3013		0,0446667	BCDEFGH
ALG255.1463		0,0451333	BCDEFGH
ALG448.4643		0,0453333	BCDEFGH
A 20	3	0,0463667	CDEFGH
ALG327.2393		0,0486667	DEFGH
ALG334.2703		0,0507333	EFGH
ALG310.2093		0,0516667	FGH
TN1. 11	3	0,0522333	GH
ALG432.4063		0,0583333	H

8 groupes homogènes sont identifiés en utilisant des lettres.

1. Variable à expliquer: PF R

- Facteur: Lignées
- Nombre d'observations: 102
- Nombre de niveaux: 34

Tableau de l'ANOVA pour PF R par Lignées

Etude de la variabilité chez quelques lignées *Medicago truncatula* soumises au stress salin

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
Inter-groupes	0,000926841	33	0,000028086	2,48	0,0008
Intra-groupes	0,0007693	68	0,0000113132		
Total (Corr.)	0,00169614	101			

**Tests des étendues multiples pour PF R par Lignées**

Méthode: 95,0 % LSD

Lignées	Effectif	Moyenne	Groupe homogène
ALG299.1853		0,004	A
ALG431.4013		0,00516667	AB
F83005.5	3	0,00606667	ABC
ALG266.1593		0,00663333	ABCD
ALG440.4393		0,00666667	ABCD
ALG405.3403		0,00686667	ABCD
DZA 315.16	3	0,00703333	ABCD
ALG400.311	3	0,00743333	ABCDE
ALG418.3743		0,00746667	ABCDE
ALG423.3793		0,008	ABCDE
ALG429.3933		0,00836667	ABCDE
TN1. 21	3	0,00853333	ABCDEF
ALG331.2523		0,00863333	ABCDEF
ALG308.2053		0,00866667	ABCDEF
ALG433.4073		0,00896667	ABCDEFG
ALG431.3973		0,009	ABCDEFG
ALG402.3193		0,0101	BCDEFGH
TN8.3	3	0,0102	BCDEFGH
ALG404.3283		0,0106	BCDEFGH
ALG432.4063		0,01063333	BCDEFGH
ALG334.2703		0,01063333	BCDEFGH
ALG453.4873		0,0106667	CDEFGH
ALG348.3013		0,0106667	CDEFGH
ALG294.1683		0,011	CDEFGH
ALG412.3653		0,01133333	CDEFGHI
ALG294.1693		0,012	DEFGHI
TN1. 11	3	0,0125667	EFGHI
ALG310.2093		0,0126667	EFGHI
DZA 045.5	3	0,0138667	FGHI
ALG327.2393		0,014	FGHI
ALG418.3703		0,01433333	GHI
ALG255.1463		0,0147	HI
ALG448.4643		0,01533333	HI
A 20	3	0,01653333	I

9 groupes homogènes sont identifiés en utilisant des lettres.

---

1. Variable à expliquer: PS PA

- Facteur: Lignées
- Nombre d'observations: 102
- Nombre de niveaux: 34

**Tableau de l'ANOVA pour PS PA par Lignées**

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
Inter-groupes	0,000373075	33	0,0000113053	2,30	0,0019
Intra-groupes	0,00033374	68	0,00000490794		
Total (Corr.)	0,000706815	101			

**Tests des étendues multiples pour PS PA par Lignées**

Méthode: 95,0 % LSD

Lignées	Effectif	Moyenne	Groupe homogène
ALG327.2393		0,003433333	A
ALG402.3193		0,0036	A
TN1. 21	3	0,00436667	AB
F83005.5	3	0,004433333	AB
ALG266.1593		0,00516667	ABC
ALG299.1853		0,00516667	ABC
ALG412.3653		0,0059	ABCD
ALG331.2523		0,0059	ABCD
ALG431.4013		0,00606667	ABCDE
DZA 315.16	3	0,0062	ABCDEF
DZA 045.5	3	0,00636667	ABCDEFG
ALG308.2053		0,0065	ABCDEFG
ALG405.3403		0,0066	ABCDEFG
ALG400.311	3	0,0067	ABCDEFG
ALG433.4073		0,00676667	ABCDEFG
ALG294.1693		0,00676667	ABCDEFG
TN8.3	3	0,007033333	ABCDEFG
ALG418.3743		0,007233333	BCDEFG
ALG418.3703		0,0073	BCDEFG
ALG294.1683		0,0074	BCDEFG
ALG453.4873		0,0075	BCDEFG
ALG423.3793		0,00766667	BCDEFG
ALG348.3013		0,0077	BCDEFG
ALG431.3973		0,0077	BCDEFG
ALG440.4393		0,00776667	BCDEFG
ALG404.3283		0,00796667	BCDEFGH
ALG448.4643		0,00796667	BCDEFGH
ALG429.3933		0,0086	CDEFGHI
ALG255.1463		0,00896667	DEFGHI
ALG334.2703		0,00966667	EFGHI
ALG310.2093		0,00976667	FGHI
A 20	3	0,009833333	GHI
TN1. 11	3	0,01153333	HI
ALG432.4063		0,01163333	I

9 groupes homogènes sont identifiés en utilisant des lettres.

1. Variable à expliquer: PS R

- Facteur: Lignées
- Nombre d'observations: 102
- Nombre de niveaux: 34

Tableau de l'ANOVA pour PS R par Lignées

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
Inter-groupes	0,0000223235	33	6,76471E-7	2,92	0,0001
Intra-groupes	0,00001574	68	2,31471E-7		
Total (Corr.)	0,0000380635	101			

Tests des étendues multiples pour PS R par Lignées

Méthode: 95,0 % LSD

Lignées	Effectif	Moyenne	Groupe homogène
ALG431.4013	3	0,0001	A
DZA 315.163	3	0,0003	AB
ALG299.1853	3	0,0004	ABC
TN1. 21 3	3	0,000666667	ABCD
ALG405.3403	3	0,000733333	ABCDE
ALG418.3743	3	0,000866667	ABCDEF
ALG294.1683	3	0,000966667	BCDEFG
ALG429.3933	3	0,001033333	BCDEFGH
ALG266.1593	3	0,001033333	BCDEFGH
ALG404.3283	3	0,0011	CDEFGH
F83005.5 3	3	0,0011	CDEFGH
ALG400.3113	3	0,001133333	CDEFGH
ALG294.1693	3	0,001166667	CDEFGH
ALG440.4393	3	0,001166667	CDEFGH
TN8.3 3	3	0,001266667	DEFGHI
ALG412.3653	3	0,001266667	DEFGHI
ALG348.3013	3	0,0013	DEFGHI
ALG334.2703	3	0,0013	DEFGHI
ALG402.3193	3	0,001366667	DEFGHI
TN1. 11 3	3	0,001366667	DEFGHI
ALG432.4063	3	0,0014	DEFGHI
ALG433.4073	3	0,001466667	EFGHI
ALG423.3793	3	0,001466667	EFGHI
ALG310.2093	3	0,001533333	FGHIJ
ALG308.2053	3	0,0016	FGHIJ
ALG431.3973	3	0,0016	FGHIJ
ALG331.2523	3	0,001666667	GHIJ
A 20 3	3	0,0017	GHIJ
ALG327.2393	3	0,001733333	GHIJ
DZA 045.5 3	3	0,001766667	HIJ
ALG453.4873	3	0,001766667	HIJ
ALG418.3703	3	0,0018	HIJ
ALG448.4643	3	0,002	IJ
ALG255.1463	3	0,002266667	J

10 groupes homogènes sont identifiés en utilisant des lettres.

1. Variable à expliquer: L R

- Facteur: Lignées
- Nombre d'observations: 102
- Nombre de niveaux: 34

**Tableau de l'ANOVA pour L R par Lignées**

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
Inter-groupes	46,9475	33	1,42265	2,92	0,0001
Intra-groupes	33,1867	68	0,488039		
Total (Corr.)	80,1341	101			

Tests des étendues multiples pour L R par Lignées

Méthode: 95,0 % LSD

Lignées	Effectif	Moyenne	Groupe homogène
ALG266.1593		1,06667	A
ALG431.4013		1,36667	AB
ALG310.2093		1,9	ABC
TN1. 21	3	1,96667	ABC
ALG299.1853		2,0	ABC
ALG418.3703		2,0	ABC
ALG429.3933		2,06667	ABCD
ALG405.3403		2,1	ABCD
F83005.5	3	2,16667	ABCD
ALG308.2053		2,26667	BCD
DZA 315.16	3	2,33333	BCD
ALG418.3743		2,33333	BCD
ALG348.3013		2,36667	BCD
ALG400.3113		2,43333	BCDE
ALG412.3653		2,43333	BCDE
ALG404.3283		2,63333	CDE
ALG327.2393		2,63333	CDE
ALG431.3973		2,66667	CDE
ALG423.3793		2,66667	CDE
ALG440.4393		2,7	CDEF
ALG255.1463		2,76667	CDEFG
ALG402.3193		2,9	CDEFG
A 20	3	2,9	CDEFG
DZA 045.5	3	2,93333	CDEFG
ALG294.1683		2,93333	CDEFG
ALG294.1693		2,96667	CDEFGH
ALG331.2523		3,0	CDEFGH
ALG453.4873		3,16667	DEFGH
TN8.3	3	3,16667	DEFGH
ALG432.4063		3,53333	EFGH
ALG433.4073		3,83333	FGH
ALG334.2703		3,83333	FGH
ALG448.4643		3,86667	GH
TN1. 11	3	4,1	H

8 groupes homogènes sont identifiés en utilisant des lettres.

1. Variable à expliquer: L PA

- Facteur: Lignées
- Nombre d'observations: 102
- Nombre de niveaux: 34

Tableau de l'ANOVA pour L PA par Lignées

Etude de la variabilité chez quelques lignées *Medicago truncatula* soumises au stress salin

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
Inter-groupes	13,3868	33	0,40566	3,85	0,0000
Intra-groupes	7,16	68	0,105294		
Total (Corr.)	20,5468	101			

Tests des étendues multiples pour L PA par Lignées

Méthode: 95,0 % LSD

Lignées	Effectif	Moyenne	Groupe homogène
ALG431.4013		0,666667	A
ALG418.3743		0,766667	AB
F83005.5	3	0,8	ABC
ALG402.3193		0,833333	ABC
ALG255.1463		0,833333	ABC
DZA 315.16	3	0,833333	ABC
ALG440.4393		0,9	ABCD
ALG334.2703		0,933333	ABCD
TN1. 21	3	0,933333	ABCD
ALG453.4873		0,966667	ABCD
ALG429.3933		1,0	ABCDE
ALG405.3403		1,03333	ABCDE
ALG432.4063		1,03333	ABCDE
ALG404.3283		1,06667	ABCDE
ALG448.4643		1,06667	ABCDE
ALG400.311	3	1,06667	ABCDE
TN8.3	3	1,1	ABCDE
ALG433.4073		1,13333	ABCDE
ALG299.1853		1,16667	ABCDEF
ALG431.3973		1,2	BCDEF
A 20	3	1,23333	BCDEF
ALG294.1693		1,26667	BCDEF
DZA 045.5	3	1,3	CDEFG
ALG412.3653		1,3	CDEFG
ALG423.3793		1,36667	DEFGH
ALG266.1593		1,4	DEFGH
ALG331.2523		1,5	EFGHI
ALG310.2093		1,66667	FGHI
TN1. 11	3	1,8	GHI
ALG308.2053		1,83333	HI
ALG348.3013		1,83333	HI
ALG418.3703		1,86667	HI
ALG294.1683		1,86667	HI
ALG327.2393		1,93333	I

9 groupes homogènes sont identifiés en utilisant des lettres.

## Annexe 22 : ANOVA des paramètres biochimique et physiologique à un seul facteur sans NaCl

1. Variable à expliquer: Chlorophylle a

- Facteur: Lignées
- Nombre d'observations: 30
- Nombre de niveaux: 10

Tableau de l'ANOVA pour Chlorophylle a par Lignées

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
Inter-groupes	0,454113	9	0,0504571	2,34	0,0542
Intra-groupes	0,43093	20	0,0215465		
Total (Corr.)	0,885044	29			

### Tests des étendues multiples pour Chlorophylle a par Lignées

Méthode: 95,0 % LSD

Lignées	Effectif	Moyenne	Groupe homogène
ALG 299.185	3	0,358406	A
ALG 331.252	3	0,471671	AB
TN 1.11	3	0,526381	ABC
ALG 255.146	3	0,541907	ABC
A 20	3	0,542769	ABC
ALG 440.439	3	0,550541	ABC
F 83005.5	3	0,556854	ABC
DZA 045.5	3	0,695156	BC
ALG 310.209	3	0,758276	C
ALG 453.487	3	0,776014	C

3 groupes homogènes sont identifiés en utilisant des lettres.

1. Variable à expliquer: Chlorophylle b

- Facteur: Lignées
- Nombre d'observations: 30
- Nombre de niveaux: 10

Tableau de l'ANOVA pour Chlorophylle b par Lignées

## Etude de la variabilité chez quelques lignées *Medicago truncatula* soumises au stress salin

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
Inter-groupes	0,20559	9	0,0228434	1,31	0,2915
Intra-groupes	0,348369	20	0,0174184		
Total (Corr.)	0,553959	29			

Tests des étendues multiples pour Chlorophylle b par Lignées  
Méthode: 95,0 % LSD

Lignées	Effectif	Moyenne	Groupe homogène
ALG 440.439	3	0,25548	A
ALG 310.209	3	0,27699	A
ALG 453.487	3	0,30849	A
F 83005.5	3	0,309673	A
TN 1.11	3	0,337717	AB
DZA 045.5	3	0,353887	AB
ALG 331.252	3	0,405783	AB
ALG 255.146	3	0,411203	AB
A 20	3	0,452893	AB
ALG 299.185	3	0,538621	B

2 groupes homogènes sont identifiés en utilisant des lettres

1. Variable à expliquer: Chlorophylle a + b

- Facteur: Lignées
- Nombre d'observations: 30
- Nombre de niveaux: 10

**Tableau de l'ANOVA pour Chlorophylle a + b par Lignées**

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
Inter-groupes	0,427448	9	0,0474942	0,79	0,6259
Intra-groupes	1,19678	20	0,059839		
Total (Corr.)	1,62423	29			

Tests des étendues multiples pour Chlorophylle a + b par Lignées  
Méthode: 95,0 % LSD

Lignées	Effectif	Moyenne	Groupe homogène
ALG 440.439	3	0,765378	A
ALG 299.185	3	0,817539	A
TN 1.11	3	0,852056	A
F 83005.5	3	0,853064	A
ALG 255.146	3	0,862984	A
ALG 310.209	3	1,01861	A
DZA 045.5	3	1,03621	A
ALG 331.252	3	1,04312	A
ALG 453.487	3	1,06727	A
A 20	3	1,12346	A

1 groupe homogène a été identifié par une lettre.

1. Variable à expliquer: Caroténoïdes

- Facteur: Lignées
- Nombre d'observations: 30
- Nombre de niveaux: 10

**Tableau de l'ANOVA pour Caroténoïdes par Lignées**

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
Inter-groupes	0,106008	9	0,0117786	1,71	0,1531
Intra-groupes	0,138083	20	0,00690417		
Total (Corr.)	0,244091	29			

Tests des étendues multiples pour Caroténoïdes par Lignées

Méthode: 95,0 % LSD

## Etude de la variabilité chez quelques lignées *Medicago truncatula* soumises au stress salin

Lignées	Effectif	Moyenne	Groupe homogène
ALG 299.185	3	0,161227	A
TN 1.11	3	0,272894	AB
ALG 440.439	3	0,274551	AB
ALG 255.146	3	0,277631	AB
F 83005.5	3	0,290905	AB
DZA 045.5	3	0,340731	B
ALG 331.252	3	0,350998	B
ALG 310.209	3	0,354075	B
ALG 453.487	3	0,357252	B
A 20	3	0,361872	B

2 groupes homogènes sont identifiés en utilisant des lettres.

1. Variable à expliquer: Proline

- Facteur: Lignées
- Nombre d'observations: 30
- Nombre de niveaux: 10

**Tableau de l'ANOVA pour Proline par Lignées**

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
Inter-groupes	19,9861	9	2,22068	54,00	0,0000
Intra-groupes	0,82241	20	0,0411205		
Total (Corr.)	20,8085	29			

Tests des étendues multiples pour Proline par Lignées

Méthode: 95,0 % LSD

Lignées	Effectif	Moyenne	Groupe homogène
ALG 310.209	3	0,899628	A
DZA 045.5	3	1,024	A
ALG 453.487	3	1,79575	B
ALG 299.185	3	1,84185	B
F 83005.5	3	2,02204	B
A 20	3	2,09536	B
ALG 440.439	3	2,93347	C
TN 1.11	3	2,98084	C
ALG 255.146	3	2,99788	C
ALG 331.252	3	3,41223	D

4 groupes homogènes sont identifiés en utilisant des lettres.

1. Variable à expliquer: TRE

- Facteur: Lignées
- Nombre d'observations: 30
- Nombre de niveaux: 10

**Tableau de l'ANOVA pour TRE par Lignées**

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
Inter-groupes	388,952	9	43,2169	1,97	0,0999
Intra-groupes	439,769	20	21,9884		
Total (Corr.)	828,72	29			

**Tests des étendues multiples pour TRE par Lignées**

Méthode: 95,0 % LSD

## Etude de la variabilité chez quelques lignées *Medicago truncatula* soumises au stress salin

Lignées	Effectif	Moyenne	Groupe homogène
ALG 310.209	3	79,3607	A
ALG 299.185	3	79,68	A
DZA 045.5	3	83,5773	AB
ALG 331.252	3	83,8867	AB
ALG 255.146	3	83,96	AB
ALG 440.439	3	85,656	AB
A 20	3	86,0	AB
TN 1.11	3	88,09	B
F 83005.5	3	90,1433	B
ALG 453.487	3	90,2733	B

2 groupes homogènes sont identifiés en utilisant des lettres

1. Variable à expliquer: Chlor a / Chlor b

- Facteur: Lignées
- Nombre d'observations: 30
- Nombre de niveaux: 10

**Tableau de l'ANOVA pour Chlor a / Chlor b par Lignées**

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
Inter-groupes	8,63548	9	0,959498	<b>3,83</b>	<b>0,0059</b>
Intra-groupes	5,00989	20	0,250495		
Total (Corr.)	13,6454	29			

Tests des étendues multiples pour Chlor a / Chlor b par Lignées

Méthode: 95,0 % LSD

Lignées	Effectif	Moyenne	Groupe homogène
ALG 299.185	3	1,11047	A
A 20	3	1,26097	AB
ALG 331.252	3	1,30116	AB
ALG 255.146	3	1,36514	AB
TN 1.11	3	1,54683	AB
F 83005.5	3	1,82005	ABC
DZA 045.5	3	1,94922	ABCD
ALG 440.439	3	2,1132	BCD
ALG 453.487	3	2,53262	CD
ALG 310.209	3	2,7787	D

4 groupes homogènes sont identifiés en utilisant des lettres.

## Annexe 23: ANOVA des paramètres biochimique et physiologique à un seul facteur avec sel

**NaCl = 50 mM**

1. Variable à expliquer: Chlorophylle a

- Facteur: Lignées
- Nombre d'observations: 30
- Nombre de niveaux: 10

**Tableau de l'ANOVA pour Chlorophylle a par Lignées**

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
Inter-groupes	0,304176	9	0,0337973	4,36	0,0029
Intra-groupes	0,154918	20	0,0077459		
Total (Corr.)	0,459094	29			

**Tests des étendues multiples pour Chlorophylle a par Lignées**

Méthode: 95,0 % LSD

Lignées	Effectif	Moyenne	Groupe homogène
ALG 453.487	3	0,397124	A
F 83005.5	3	0,436507	A
ALG 310.209	3	0,467841	AB
ALG 440.439	3	0,482559	ABC
ALG 255.146	3	0,4996	ABC
ALG 299.185	3	0,541725	ABCD
DZA 045.5	3	0,613618	BCDE
TN 1.11	3	0,619499	CDE
A 20	3	0,653027	DE
ALG 331.252	3	0,729147	E

5 groupes homogènes sont identifiés en utilisant des lettres

1. Variable à expliquer: Chlorophylle b

- Facteur: Lignées
- Nombre d'observations: 30
- Nombre de niveaux: 10

Tableau de l'ANOVA pour Chlorophylle b par Lignées

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
Inter-groupes	0,321342	9	0,0357047	10,23	0,0000
Intra-groupes	0,0697924	20	0,00348962		
Total (Corr.)	0,391134	29			

Tests des étendues multiples pour Chlorophylle b par Lignées

Méthode: 95,0 % LSD

Lignées	Effectif	Moyenne	Groupe homogène
ALG 299.185	3	0,219467	A
ALG 453.487	3	0,23299	A
F 83005.5	3	0,233713	A
ALG 440.439	3	0,243607	A
ALG 310.209	3	0,260507	AB
DZA 045.5	3	0,355747	BC
ALG 255.146	3	0,385973	CD
TN 1.11	3	0,4223	CDE
A 20	3	0,47473	DE
ALG 331.252	3	0,505437	E

5 groupes homogènes sont identifiés en utilisant des lettres

1. Variable à expliquer: Chlorophylle a + b

- Facteur: Lignées
- Nombre d'observations: 30
- Nombre de niveaux: 10

**Tableau de l'ANOVA pour Chlorophylle a + b par Lignées**

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
Inter-groupes	1,12513	9	0,125014	6,92	0,0002
Intra-groupes	0,361279	20	0,0180639		
Total (Corr.)	1,48641	29			

**Tests des étendues multiples pour Chlorophylle a + b par Lignées**

Méthode: 95,0 % LSD

## Etude de la variabilité chez quelques lignées *Medicago truncatula* soumises au stress salin

Lignées	Effectif	Moyenne	Groupe homogène
ALG 453.487	3	0,621089	A
F 83005.5	3	0,669336	AB
ALG 310.209	3	0,698767	AB
ALG 440.439	3	0,715308	AB
ALG 299.185	3	0,749157	ABC
ALG 255.146	3	0,873965	BCD
DZA 045.5	3	0,955428	CDE
TN 1.11	3	1,02015	DEF
A 20	3	1,11267	EF
ALG 331.252	3	1,21168	F

6 groupes homogènes sont identifiés en utilisant des lettres.

### 1. Variable à expliquer: Caroténoïdes

- Facteur: Lignées
- Nombre d'observations: 30
- Nombre de niveaux: 10

**Tableau de l'ANOVA pour Caroténoïdes par Lignées**

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
Inter-groupes	0,103677	9	0,0115196	5,24	0,0010
Intra-groupes	0,0439326	20	0,00219663		
Total (Corr.)	0,147609	29			

Tests des étendues multiples pour Chlorophylle *a + b* par Lignées

Méthode: 95,0 % LSD

Lignées	Effectif	Moyenne	Groupe homogène
ALG 453.487	3	0,213705	A
F 83005.5	3	0,227109	AB
ALG 440.439	3	0,245167	AB
ALG 299.185	3	0,245465	AB
ALG 310.209	3	0,263966	ABC
ALG 255.146	3	0,284953	ABCD
DZA 045.5	3	0,306214	BCD
TN 1.11	3	0,335477	CDE
A 20	3	0,362517	DE
ALG 331.252	3	0,401869	E

5 groupes homogènes sont identifiés en utilisant des lettres.

1. Variable à expliquer: Proline

- Facteur: Lignées
- Nombre d'observations: 30
- Nombre de niveaux: 10

**Tableau de l'ANOVA pour Proline par Lignées**

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
Inter-groupes	22,4666	9	2,49629	81,37	0,0000
Intra-groupes	0,613599	20	0,03068		
Total (Corr.)	23,0802	29			

**Tests des étendues multiples pour Proline par Lignées**

Méthode: 95,0 % LSD

Lignées	Effectif	Moyenne	Groupe homogène
F 83005.5	3	0,863422	A
ALG 310.209	3	0,988383	A
DZA 045.5	3	1,34695	B
ALG 299.185	3	1,78142	C
ALG 453.487	3	2,10155	D
ALG 331.252	3	2,65544	E
TN 1.11	3	2,72398	E
A 20	3	2,84039	EF
ALG 255.146	3	3,09069	F
ALG 440.439	3	3,47986	G

7 groupes homogènes sont identifiés en utilisant des lettres.

1. Variable à expliquer: TRE

- Facteur: Lignées
- Nombre d'observations: 30
- Nombre de niveaux: 10

Tableau de l'ANOVA pour TRE par Lignées

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
Inter-groupes	567,44	9	63,0489	2,55	0,0387
Intra-groupes	493,717	20	24,6859		
Total (Corr.)	1061,16	29			

**Tests des étendues multiples pour TRE par Lignées**

Méthode: 95,0 % LSD

Lignées	Effectif	Moyenne	Groupe homogène
ALG 299.185	3	73,2633	A
A 20	3	80,33	AB
ALG 255.146	3	81,55	AB
ALG 310.209	3	82,6833	BC
ALG 331.252	3	83,2733	BC
DZA 045.5	3	83,37	BC
TN 1.11	3	83,3967	BC
ALG 440.439	3	86,5633	BC
F 83005.5	3	87,1767	BC
ALG 453.487	3	90,41	C

3 groupes homogènes sont identifiés en utilisant des lettres.

1. Variable à expliquer: Chlor a / Chlor b

- Facteur: Lignées
- Nombre d'observations: 30
- Nombre de niveaux: 10

**Tableau de l'ANOVA pour Chlor a / Chlor b par Lignées**

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
Inter-groupes	3,30581	9	0,367312	10,24	0,0000
Intra-groupes	0,717262	20	0,0358631		
Total (Corr.)	4,02307	29			

Tests des étendues multiples pour Chlor a / Chlor b par Lignées

Méthode: 95,0 % LSD

**Etude de la variabilité chez quelques lignées *Medicago truncatula* soumises au stress salin**

Lignées	Effectif	Moyenne	Groupe homogène
ALG 255.146	3	1,2964	A
A 20	3	1,38414	A
ALG 331.252	3	1,4531	AB
TN 1.11	3	1,46508	AB
ALG 453.487	3	1,70914	BC
DZA 045.5	3	1,7167	BC
ALG 310.209	3	1,88488	C
F 83005.5	3	1,91056	C
ALG 440.439	3	1,9766	C
ALG 299.185	3	2,45777	D

4 groupes homogènes sont identifiés en utilisant des lettres.

**NaCl = 100 mM**

1. Variable à expliquer: Chlorophylle a

Facteur: Lignées

Nombre d'observations: 30

Nombre de niveaux: 10

Tableau de l'ANOVA pour Chlorophylle a par Lignées

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
Inter-groupes	0,523347	9	0,0581497	7,09	0,0001
Intra-groupes	0,164002	20	0,0082001		
Total (Corr.)	0,687349	29			

Tests des étendues multiples pour Chlorophylle a par Lignées

Méthode: 95,0 % LSD

Lignées	Effectif	Moyenne	Groupe homogène
ALG 453.487	3	0,10923	A
ALG 299.185	3	0,184678	AB
F 83005.5	3	0,288269	BC
DZA 045.5	3	0,313113	BCD
ALG 440.439	3	0,369493	CD
TN 1.11	3	0,38849	CD
ALG 255.146	3	0,418248	CD
ALG 310.209	3	0,436183	CDE
A 20	3	0,465574	DE
ALG 331.252	3	0,588868	E

5 groupes homogènes sont identifiés en utilisant des lettres.

1. Variable à expliquer: Chlorophylle b

- Facteur: Lignées
- Nombre d'observations: 30
- Nombre de niveaux: 10

**Tableau de l'ANOVA pour Chlorophylle b par Lignées**

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
Inter-groupes	0,336835	9	0,0374261	17,20	0,0000
Intra-groupes	0,0435125	20	0,00217562		
Total (Corr.)	0,380347	29			

Tests des étendues multiples pour Chlorophylle b par Lignées

Méthode: 95,0 % LSD

## Etude de la variabilité chez quelques lignées *Medicago truncatula* soumises au stress salin

Lignées	Effectif	Moyenne	Groupe homogène
ALG 453.487	3	0,11472	A
ALG 299.185	3	0,152023	AB
F 83005.5	3	0,22039	BC
ALG 440.439	3	0,23001	BC
DZA 045.5	3	0,23875	C
ALG 310.209	3	0,242167	C
TN 1.11	3	0,2752	C
ALG 255.146	3	0,356043	D
A 20	3	0,395783	D
ALG 331.252	3	0,48258	E

5 groupes homogènes sont identifiés en utilisant des lettres.

1. Variable à expliquer: Chlorophylle a + b

- Facteur: Lignées
- Nombre d'observations: 30
- Nombre de niveaux: 10

**Tableau de l'ANOVA pour Chlorophylle a + b par Lignées**

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
Inter-groupes	1,57674	9	0,175194	7,92	0,0001
Intra-groupes	0,442635	20	0,0221318		
Total (Corr.)	2,01938	29			

**Tests des étendues multiples pour Chlorophylle a + b par Lignées**

Méthode: 95,0 % LSD

Lignées	Effectif	Moyenne	Groupe homogène
ALG 453.487	3	0,236858	A
ALG 299.185	3	0,332384	AB
F 83005.5	3	0,501968	BC
ALG 440.439	3	0,542212	BCD
DZA 045.5	3	0,545986	BCD
TN 1.11	3	0,657723	CDE
ALG 310.209	3	0,680895	CDE
ALG 255.146	3	0,764484	DE
A 20	3	0,850441	EF
ALG 331.252	3	1,05769	F

6 groupes homogènes sont identifiés en utilisant des lettres.

1. Variable à expliquer: Caroténoïdes

- Facteur: Lignées
- Nombre d'observations: 30
- Nombre de niveaux: 10

**Tableau de l'ANOVA pour Caroténoïdes par Lignées**

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
Inter-groupes	0,154672	9	0,0171858	8,76	0,0000
Intra-groupes	0,0392216	20	0,00196108		
Total (Corr.)	0,193894	29			

**Tests des étendues multiples pour Caroténoïdes par Lignées**

Méthode: 95,0 % LSD

Lignées	Effectif	Moyenne	Groupe homogène
ALG 453.487	3	0,0689449	A
ALG 299.185	3	0,104243	AB
DZA 045.5	3	0,165056	BC
F 83005.5	3	0,16945	BCD
ALG 440.439	3	0,190962	CD
TN 1.11	3	0,207861	CDE
ALG 310.209	3	0,222204	CDE
ALG 255.146	3	0,2431	DE
A 20	3	0,273234	EF
ALG 331.252	3	0,323687	F

6 groupes homogènes sont identifiés en utilisant des lettres.

1. Variable à expliquer: Proline

- Facteur: Lignées
- Nombre d'observations: 30
- Nombre de niveaux: 10

**Tableau de l'ANOVA pour Proline par Lignées**

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
Inter-groupes	18,3173	9	2,03525	11,42	0,0000
Intra-groupes	3,56575	20	0,178287		
Total (Corr.)	21,883	29			

**Tests des étendues multiples pour Proline par Lignées**

Méthode: 95,0 % LSD

Lignées	Effectif	Moyenne	Groupe homogène
F 83005.5	3	0,692523	A
ALG 310.209	3	2,3268	B
ALG 331.252	3	2,32745	B
DZA 045.5	3	2,41158	B
ALG 453.487	3	2,48017	B
A 20	3	2,49772	B
ALG 299.185	3	2,67673	B
TN 1.11	3	2,83163	BC
ALG 255.146	3	3,41945	CD
ALG 440.439	3	3,84541	D

4 groupes homogènes sont identifiés en utilisant des lettres.

1. Variable à expliquer: TRE

- Facteur: Lignées
- Nombre d'observations: 30
- Nombre de niveaux: 10

**Tableau de l'ANOVA pour TRE par Lignées**

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
Inter-groupes	236,168	9	26,2409	0,46	0,8868
Intra-groupes	1150,73	20	57,5366		
Total (Corr.)	1386,9	29			

**Tests des étendues multiples pour TRE par Lignées**

Méthode: 95,0 % LSD

Lignées	Effectif	Moyenne	Groupe homogène
DZA 045.5	3	77,5233	A
TN 1.11	3	80,476	A
ALG 255.146	3	80,8433	A
ALG 453.487	3	82,3567	A
A 20	3	83,4667	A
ALG 331.252	3	83,9267	A
ALG 299.185	3	85,3967	A
F 83005.5	3	85,7767	A
ALG 310.209	3	86,2633	A
ALG 440.439	3	86,5767	A

1 groupe homogène a été identifié par une lettre.

1. Variable à expliquer: Chlor a / Chlor b

- Facteur: Lignées
- Nombre d'observations: 30
- Nombre de niveaux: 10

Tableau de l'ANOVA pour Chlor a / Chlor b par Lignées

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
Inter-groupes	1,4575	9	0,161944	2,99	0,0198
Intra-groupes	1,08267	20	0,0541333		
Total (Corr.)	2,54017	29			

**Tests des étendues multiples pour Chlor a / Chlor b par Lignées**

Méthode: 95,0 % LSD

Lignées	Effectif	Moyenne	Groupe homogène
ALG 453.487	3	0,956185	A
A 20	3	1,17044	AB
ALG 255.146	3	1,17605	AB
ALG 331.252	3	1,21812	ABC
F 83005.5	3	1,27413	ABC
ALG 299.185	3	1,30065	ABC
DZA 045.5	3	1,31054	ABC
TN 1.11	3	1,42781	BCD
ALG 440.439	3	1,59615	CD
ALG 310.209	3	1,77778	D

4 groupes homogènes sont identifiés en utilisant des lettres.

**NaCl = 150 mM**

1. Variable à expliquer: Chlorophylle a

- Facteur: Lignées
- Nombre d'observations: 30
- Nombre de niveaux: 10

**Tableau de l'ANOVA pour Chlorophylle a par Lignées**

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
Inter-groupes	0,456334	9	0,0507038	8,38	0,0000
Intra-groupes	0,121064	20	0,00605318		
Total (Corr.)	0,577397	29			

Tests des étendues multiples pour Chlorophylle a par Lignées

Méthode: 95,0 % LSD

## Etude de la variabilité chez quelques lignées *Medicago truncatula* soumises au stress salin

Lignées	Effectif	Moyenne	Groupe homogène
ALG 453.487	3	0,123127	A
ALG 310.209	3	0,178581	AB
ALG 440.439	3	0,211334	ABC
F 83005.5	3	0,224504	ABC
TN 1.11	3	0,256334	BC
A 20	3	0,293818	BCD
ALG 299.185	3	0,312852	CD
DZA 045.5	3	0,423001	DE
ALG 255.146	3	0,484366	E
ALG 331.252	3	0,503237	E

5 groupes homogènes sont identifiés en utilisant des lettres.

1. Variable à expliquer: Chlorophylle b

- Facteur: Lignées
- Nombre d'observations: 30
- Nombre de niveaux: 10

**Tableau de l'ANOVA pour Chlorophylle b par Lignées**

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
Inter-groupes	0,899885	9	0,0999872	10,56	0,0000
Intra-groupes	0,189407	20	0,00947035		
Total (Corr.)	1,08929	29			

Tests des étendues multiples pour Chlorophylle b par Lignées

Méthode: 95,0 % LSD

Lignées	Effectif	Moyenne	Groupe homogène
ALG 310.209	3	0,132113	A
ALG 453.487	3	0,139807	A
ALG 440.439	3	0,159473	A
F 83005.5	3	0,194823	A
ALG 299.185	3	0,21036	A
TN 1.11	3	0,237773	AB
A 20	3	0,384413	BC
DZA 045.5	3	0,423103	C
ALG 255.146	3	0,54346	CD
ALG 331.252	3	0,64987	D

4 groupes homogènes sont identifiés en utilisant des lettres.

1. Variable à expliquer: Chlorophylle a + b

- Facteur: Lignées
- Nombre d'observations: 30
- Nombre de niveaux: 10

**Tableau de l'ANOVA pour Chlorophylle a + b par Lignées**

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
Inter-groupes	2,16918	9	0,24102	15,82	0,0000
Intra-groupes	0,304793	20	0,0152397		
Total (Corr.)	2,47397	29			

Tests des étendues multiples pour Chlorophylle a + b par Lignées

Méthode: 95,0 % LSD

Lignées	Effectif	Moyenne	Groupe homogène
ALG 453.487	3	0,25995	A
ALG 310.209	3	0,306561	AB
ALG 440.439	3	0,365907	ABC
F 83005.5	3	0,414052	ABC
ALG 299.185	3	0,516029	BCD
TN 1.11	3	0,524821	CD
A 20	3	0,673356	DE
DZA 045.5	3	0,795345	EF
ALG 255.146	3	0,890875	F
ALG 331.252	3	1,1407	G

7 groupes homogènes sont identifiés en utilisant des lettres.

1. Variable à expliquer: Caroténoïdes

- Facteur: Lignées
- Nombre d'observations: 30
- Nombre de niveaux: 10

Tableau de l'ANOVA pour Caroténoïdes par Lignées

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
Inter-groupes	0,175313	9	0,0194792	2,77	0,0278
Intra-groupes	0,14073	20	0,00703648		
Total (Corr.)	0,316043	29			

**Tests des étendues multiples pour Caroténoïdes par Lignées**

Méthode: 95,0 % LSD

Lignées	Effectif	Moyenne	Groupe homogène
ALG 453.487	3	0,0832777	A
ALG 440.439	3	0,119557	AB
F 83005.5	3	0,130654	ABC
TN 1.11	3	0,148734	ABC
ALG 299.185	3	0,177033	ABCD
A 20	3	0,19686	ABCD
DZA 045.5	3	0,237803	BCD
ALG 310.209	3	0,265904	CD
ALG 331.252	3	0,306135	D
ALG 255.146	3	0,315607	D

4 groupes homogènes sont identifiés en utilisant des lettres.

1. Variable à expliquer: Proline

- Facteur: Lignées
- Nombre d'observations: 30
- Nombre de niveaux: 10

**Tableau de l'ANOVA pour Proline par Lignées**

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
Inter-groupes	30,6948	9	3,41053	19,64	0,0000
Intra-groupes	3,47378	20	0,173689		
Total (Corr.)	34,1685	29			

Tests des étendues multiples pour Proline par Lignées

Méthode: 95,0 % LSD

Lignées	Effectif	Moyenne	Groupe homogène
ALG 453.487	3	0,855561	A
F 83005.5	3	1,60281	B
DZA 045.5	3	1,71639	B
TN 1.11	3	1,72515	B
A 20	3	2,46306	C
ALG 310.209	3	2,63104	CD
ALG 299.185	3	2,78284	CD
ALG 255.146	3	3,18556	DE
ALG 331.252	3	3,50772	E
ALG 440.439	3	4,48097	F

6 groupes homogènes sont identifiés en utilisant des lettres.

1. Variable à expliquer: TRE

- Facteur: Lignées
- Nombre d'observations: 30
- Nombre de niveaux: 10

Tableau de l'ANOVA pour TRE par Lignées

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
Inter-groupes	10553,0	9	1172,56	131,31	0,0000
Intra-groupes	178,596	20	8,92979		
Total (Corr.)	10731,6	29			

**Tests des étendues multiples pour TRE par Lignées**

Méthode: 95,0 % LSD

Lignées	Effectif	Moyenne	Groupe homogène
ALG 310.209	3	19,58	A
DZA 045.5	3	68,7467	B
A 20	3	74,0	C
ALG 453.487	3	75,0	CD
ALG 440.439	3	78,4867	CDE
ALG 255.146	3	79,954	DE
ALG 299.185	3	80,3033	E
F 83005.5	3	83,1233	EF
TN 1.11	3	86,9553	F
ALG 331.252	3	87,6033	F

6 groupes homogènes sont identifiés en utilisant des lettres.

1. Variable à expliquer: Chlor a / Chlor b

- Facteur: Lignées
- Nombre d'observations: 30
- Nombre de niveaux: 10

**Tableau de l'ANOVA pour Chlor a / Chlor b par Lignées**

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Probabilité
Inter-groupes	1,58797	9	0,176441	2,81	0,0262
Intra-groupes	1,25723	20	0,0628617		
Total (Corr.)	2,84521	29			

Tests des étendues multiples pour Chlor a / Chlor b par Lignées

Méthode: 95,0 % LSD

## Etude de la variabilité chez quelques lignées *Medicago truncatula* soumises au stress salin

---

Lignées	Effectif	Moyenne	Groupe homogène
A 20	3	0,796046	A
ALG 331.252	3	0,84428	A
ALG 453.487	3	0,867796	A
ALG 255.146	3	0,935732	AB
DZA 045.5	3	1,0035	AB
TN 1.11	3	1,06012	AB
F 83005.5	3	1,14933	ABC
ALG 440.439	3	1,3144	BC
ALG 310.209	3	1,34463	BC
ALG 299.185	3	1,51746	C

3 groupes homogènes sont identifiés en utilisant des lettres.