



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la  
Recherche Scientifique  
جامعة زيان عاشور-الجلفة  
Université Ziane Achour – Djelfa  
كلية علوم الطبيعة و الحياة  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie



## Projet de fin d'études

En vue de l'obtention du Diplôme de Master en Biotechnologie Végétale

### Thème

Contribution à l'étude des effets de stress hydrique  
sur la luzerne arborescente.

Présenté par : KOUADRI Youcef

ZAOUI Mohamed Lamine

Devant le jury composé de :

Président : M. TOUATI M.	M.C.A	UZA Djelfa
Promoteur : M. BEZINI E.	M.A.A	UZA Djelfa
Co-promoteur: M. ADLI B.	M.C.B	UZA Djelfa
Examinatrice 1 : Mme HADADOU D.	M.A.A	UZA Djelfa
Examinatrice 2 : Mme DEHBI F.	M.A.A	UZA Djelfa

Année Universitaire 2018/2019

## **Remerciements**

*Nous remercions Dieu, le tout puissant de nous avoir accordé santé et courage pour accomplir ce modeste travail.*

*Nous remercions chaleureusement notre promoteur, Mr. BEZINI Elhadi pour nous encadrés, pour ses orientation et ses conseils qu'il nous a prodigué tout au long de ce travail.*

*Nous remercions également les membres de jury : Mr TOUATI, Mr ADLI, Mme DAHBI et Mme HADADOU pour l'intérêt qu'ils ont manifesté envers notre travail en acceptant de l'évaluer.*

*Nous voudrions aussi exprimer notre gratitude à tous le personnel du laboratoire des PFE.*

*Enfin, nos remerciements vont à tous ceux et toutes celles, qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

## *Dédicace*

*Je dédié ce travail à :*

*Ma mère Fatima.*

*Mon père Boubakeur.*

*Mon frère Ayoub.*

*Mes sœurs : Messaouda, Mansoura, Merièm et Houria.*

*Les deux petites : Hamsa et Tasnime.*

*Toute ma famille : KOUADRI et BERKAT.*

*Tous les amis qui nous ont connus de près ou de loin.*

**YOUCEF**

*Je dédie ce modeste travail à :*

*Mes très chers parents qui m'ont soutenu depuis toujours.*

*Mon oncle Atallah*

*Mon frère Ahmed et Mes sœurs*

*Toute ma famille Zaoui et Gherbi*

*Mes amis de toujours : Youcef, Ziane, Madani, Mokhtar, Rabeh, Oussama, Ali, Younes, Ahmed, Fares, Daoud, Bilal, Mohamed, Salim, Said, Mourad.*

*La promotion de master 2 Biotechnologie Végétale de l'année universitaire 2018-2019 de Djelfa.*

**LAMINE**

## Liste des abréviations

CAT: Catalase

Cha : chlorophylle a

Chb : chlorophylle b

DO : densité optique

ERO : espèces réactives de l'oxygène

MF : matière fraîche

min: minute

MS : matière sèche

MT : matière turgescente

SPB : sodium phosphate buffer

TE : teneur en eau.

TRE : teneur relative en eau

## Liste des tableaux

<u>N°</u>	<u>Titre</u>	<u>Page</u>
<b>Tableau 01</b>	Dispositif expérimental adopté.....	<b>13</b>
<b>Tableau 02</b>	Analyse de la variance de l'effet du stress hydrique sur la longueur des plantules de <i>M. arborea</i> .....	<b>20</b>
<b>Tableau 03</b>	Analyse de la variance de l'effet du stress hydrique sur le poids frais des plantules de <i>M. arborea</i> .....	<b>21</b>
<b>Tableau 04</b>	Analyse de la variance de l'effet du stress hydrique sur le poids sec de <i>M. arborea</i> .....	<b>22</b>
<b>Tableau 05</b>	Analyse de la variance de l'effet du stress hydrique sur la teneur en eau de <i>M. arborea</i> .....	<b>24</b>
<b>Tableau 06</b>	Test de Newman-Keuls au seuil de 5% de l'effet du stress hydrique sur le poids frais des plantules de <i>M. arborea</i> .....	<b>24</b>
<b>Tableau 07</b>	Analyse de la variance de l'effet du stress hydrique sur la teneur relative en eau de <i>M. arborea</i> .....	<b>25</b>
<b>Tableau 08</b>	Analyse de la variance de l'effet du stress hydrique sur la teneur en chlorophylle a de <i>M. arborea</i> .....	<b>27</b>
<b>Tableau 09</b>	Test de Newman-Keuls au seuil de 5% de l'effet du stress hydrique sur la teneur en chlorophylle a des plantules de <i>M. arborea</i> .....	<b>28</b>
<b>Tableau 10</b>	Analyse de la variance de l'effet du stress hydrique sur la teneur en chlorophylle b de <i>M. arborea</i> .	<b>28</b>
<b>Tableau 11</b>	Analyse de la variance de l'effet du stress hydrique sur la teneur en caroténoïdes de <i>M. arborea</i> .....	<b>28</b>
<b>Tableau 12</b>	Analyse de la variance de l'effet du stress hydrique sur la teneur en proline de <i>M. arborea</i> .....	<b>30</b>
<b>Tableau 13</b>	Analyse de la variance de l'effet du stress hydrique sur la teneur en sucres totaux solubles de <i>M. arborea</i> .....	<b>31</b>
<b>Tableau 14</b>	Analyse de la variance de l'effet du stress hydrique sur l'activité catalase des plantules de <i>M. arborea</i> .....	<b>33</b>

## Liste des figures

<u>N°</u>	<u>Titre</u>	<u>Page</u>
<b>Figure 01</b>	Effet du degré de stress hydrique sur la longueur des plantules de <i>M. arborea</i> .....	<b>20</b>
<b>Figure02</b>	Effet du degré de stress hydrique sur le poids frais de <i>M. arborea</i> ....	<b>21</b>
<b>Figure03</b>	Effet du degré de stress hydrique sur le poids sec de <i>M. arborea</i> .....	<b>22</b>
<b>Figure 04</b>	Effet du degré de stress hydrique sur la teneur en eau de <i>M. arborea</i>	<b>23</b>
<b>Figure 05</b>	Effet du degré de stress hydrique sur la teneur relative en eau de <i>M. arborea</i> .....	<b>25</b>
<b>Figure 06</b>	Effet du degré de stress hydrique sur la teneur en chlorophylles de <i>M. arborea</i> .....	<b>27</b>
<b>Figure 07</b>	Effet du degré de stress hydrique sur la teneur en proline de <i>M. arborea</i> .....	<b>29</b>
<b>Figure 08</b>	Effet du degré de stress hydrique sur la teneur en sucres solubles totaux de <i>M. arborea</i> .....	<b>31</b>
<b>Figure 09</b>	Effet du degré de stress hydrique sur la catalase de <i>M. arborea</i> .....	<b>33</b>

## Liste des photos

<u>Nº</u>	<u>Titre</u>	<u>Page</u>
<b>Photo 01</b>	Préparation des boites de germination.....	<b>12</b>
<b>Photo 02</b>	Suivi des plantules.....	<b>12</b>
<b>Photo 03</b>	Extraits des pigments foliaires .....	<b>15</b>
<b>Photo 04</b>	Extraits des sucres totaux solubles .....	<b>16</b>
<b>Photo 05</b>	Extraits de la proline .....	<b>17</b>
<b>Photo 06</b>	Extraits enzymatiques obtenus .....	<b>18</b>

# SOMMAIRE

Remerciements

Dédicace

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des photos

**INTRODUCTION**.....1

## CHAPITRE I: REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

**I. GENERALITE SUR LES STRESS**..... 3

1. Définition d'un stress.....3

2. Formes de stress.....3

2.1. Stress biotiques.....3

2.2. Stress abiotiques.....3

3. Mécanismes d'adaptation des plantes aux stress abiotiques.....4

3.1. Adaptation.....4

3.2. Tolérance.....4

**II. LE STRESS HYDRIQUE**.....5

1. Importance de l'eau dans la vie des plantes.....5

2. Définition du stress hydrique.....5

3. Effets du stress hydrique sur les plantes .....6

4. Les stratégies adaptatives des plantes face au stress hydrique.....6

4.1. L'esquive.....7

4.2. L'évitement.....7

4.3. La tolérance à la sécheresse.....7

4.3.1. Ajustement osmotique.....8

4.3.2. Détoxification des espèces réactives de l'oxygène.....8

La catalase (CAT).....9

## **CHAPITRE II: MATERIEL ET METHODES**

1.	Objectif de l'étude.....	11
2.	Matériel végétal.....	11
3.	Obtention et transplantation des plantules.....	11
4.	Application du stress hydrique.....	12
5.	Dispositif expérimental adopté.....	13
6.	Paramètres étudiés.....	13
6.1.	Paramètres morphologiques.....	13
6.1.1.	Longueur des plantules .....	13
6.1.2.	Poids frais et sec.....	13
6.2.	Paramètres physiologiques.....	14
6.2.1.	Teneur en eau.....	14
6.2.2.	Teneur relative en eau.....	14
6.3.	Paramètres biochimiques.....	14
6.3.1.	Dosages des pigments foliaires.....	14
6.3.2.	Dosage des sucres totaux solubles.....	15
6.3.3.	Dosage de la proline.....	16
6.4.	Dosages de l'activité enzymatique de la catalase .....	18
6.4.1.	Extraction.....	18
6.4.2.	Dosage .....	18
7.	Traitement des données .....	19

## **CHAPITRE III: RESULTATS ET DISCUSSION**

<b>I. EFFET DE STRESS HYDRIQUE SUR LES PARAMETRES MORPHOLOGIQUES ET PHYSIOLOGIQUES.....</b>	<b>20</b>
1. Effet de stress hydrique la longueur des plantules.....	20
2. Effet de stress hydrique sur le poids frais.....	21
3. Effet de stress hydrique sur le poids sec.....	22
Discussion.....	23
4. Effet de stress hydrique sur la teneur en eau.....	23
5. Effet de stress hydrique sur la teneur relative en eau.....	24

Discussion.....	25
<b>II. EFFET DE STRESS HYDRIQUE SUR LES PARAMETRES BIOCHIMIQUES.....</b>	<b>26</b>
1. Effet de stress hydrique sur la teneur en chlorophylles.....	26
Discussion.....	29
2. Effet de stress hydrique sur la teneur proline.....	29
Discussion.....	30
3. Effet de stress hydrique sur la teneur en sucres totaux solubles.....	31
Discussion.....	32
4. Effet de stress hydrique sur l'activité enzymatique de la catalase .....	32
Discussion.....	33
<b>Conclusion.....</b>	<b>34</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>36</b>
<b>Annexes</b>	

# INTRODUCTION

# INTRODUCTION

Le développement des végétaux est fonction non seulement de l'information génétique que ceux-ci portent et qui est spécifique à chaque individu, mais aussi des caractéristiques de l'environnement. En effet, au cours de leur cycle végétatif, les plantes subissent les conditions défavorables du milieu ambiant dans lequel elles vivent. Du fait qu'elles ne peuvent pas se déplacer, elles doivent s'adapter à ces conditions stressantes de manière à réduire leurs impacts sur leur bon fonctionnement (LEXER, 2005 in CHERIEF et BOUHALILI, 2018).

Selon KOTCHONI et al. (2006), un stress abiotique est toute condition environnementale défavorable empêchant la plante de se développer normalement et de se reproduire.

Le stress hydrique est l'un des principaux stress abiotiques qui affecte la productivité et la qualité des rendements. Selon MOUHOUCHE et BOULASSEL (1997 in MOUELLEF, 2010), toute restriction hydrique qui se traduit par une baisse de potentiel de la plante suite à une perturbation de son activité physiologique provoquée par un déficit de consommation en eau est communément appelé stress hydrique.

La résistance au stress hydrique est dépendante du génotype qui développe des mécanismes morphologiques, physiologiques et /ou biochimiques pour échapper (esquiver), éviter ou tolérer la contrainte (LEVITT, 1982 in NEFFAR, 2012).

L'étude de ces mécanismes, appelée physiologie des stress, est un aspect important de l'écophysiologie végétale. Elle peut contribuer à notre compréhension des facteurs qui limitent la répartition des plantes et des variations physiologiques et métaboliques des plantes stressées. Ainsi, en agriculture, la capacité des cultures à résister aux stress est un facteur important de la détermination du rendement (HOPKINS, 2003).

Le présent travail est une contribution à la compréhension des réponses physiologique et biochimique y'a compris enzymatique des plantules de la luzerne arborescente

*(Medicago arborea L.)* conduite sous stress hydrique. Il comporte deux parties : une bibliographique et l'autre pratique. La partie bibliographique est une synthèse théorique principalement sur le stress hydrique. La partie pratique est constituée de deux chapitres : le premier concerne le matériel et les méthodes d'analyse et de mesure expérimentale utilisées, alors que le second sera consacré aux résultats obtenus et leur discussion.

CHAPITRE I :  
REVUE  
BIBLIOGRAPHIQUE

# **I. GENERALITE SUR LES STRESS**

## **1. Définition d'un stress**

Le stress est fondamentalement un concept de mécanique, définie comme étant une force exercée par unité de surface d'un objet. Biologiquement, il désigne une force ou une influence hostile qui tend à empêcher un système normal de fonctionner (HOPKINS, 2003). Selon JACKSON (1986 in ZIADI, 2001), le terme stress désigne toute condition externe qui affecte la croissance, le développement ou la productivité d'une plante.

## **2. Formes de stress**

Les stress sont soit de nature biotique soit de nature abiotique.

### **2.1. Stress biotiques**

Ils sont nombreux et ont pour origine les virus, les organismes phytophages et les pathogènes. Afin des faire face, la plante met on place un système de défense qui intervenir une chaine de réaction. Les protéines végétales défensives produites font office de rempart contre les agents nuisibles (SHILPI et NARENDRA, 2005 in GHAMNIA, 2014).

### **2.2. Stress abiotiques**

Ce type de stress est causé par les conditions environnementales défavorables. Parmi elles, on distingue les inondations, la sécheresse, les basses ou hautes températures, la salinité excessive des sols ou des eaux, la présence d'un minéral inadéquat dans le sol, cas des métaux lourds, l'excès de lumière qui stimule la photo inhibition, le cas de faible éclairement, les radiations UV, les composés phytotoxiques comme l'ozone qui est un haut réacteur oxydant, la pollution de l'air et les produits oxydés formés à partir des réactions de pesticides (GHAMNIA, 2014). Selon SHILPI et NARENDRA (2005 in GHAMNIA, 2014) la sécheresse, le froid et la salinité sont les stress les plus fréquents et les plus étudiés. Ils peuvent imposer aux plantes des modifications métaboliques, physiologiques et phénologiques.

### **3. Mécanismes d'adaptation des plantes aux stress abiotiques**

L'étude des réponses des plantes aux stress environnementaux est depuis longtemps un thème central pour les éco physiologistes. La façon dont les plantes répondent aux stress permet de comprendre leur répartition géographique et leurs comportements en fonction de l'établissement de gradients des facteurs environnementaux. Comprendre les réponses aux stress est essentiel dans les essais entrepris pour sélectionner des cultivars capables de résister à la sécheresse, à la salinité ainsi qu'aux autres conditions susceptibles de réduire les rendements biologiques (AMENAS, 2007).

Les notions d'adaptation et de résistance ne sont pas toujours claires, ces termes sont parfois employés de façon équivoque l'un à la place de l'autre (AMENAS, 2007).

#### **3.1. Adaptation**

L'adaptation se traduit, en réponse à la contrainte, par une succession de modifications aux niveaux cellulaire, sub-cellulaire et moléculaire qui sont dépendantes des potentialités génétiques de l'espèce (DEMARLY, 1984). Les orientations métaboliques induites aboutissent à des transformations morphologiques et physiologiques déterminant une résistance plus ou moins achevée et efficace de l'individu à la contrainte.

L'adaptation est une modification héréditaire des structures ou fonctions qui augmentent la probabilité de l'organisme à survivre et à se reproduire dans un environnement particulier (TURNER, 1979). Elle correspond donc à une dynamique réactionnelle dont la résultante est la résistance. Elle peut être considérée comme tout dispositif permettant à une plante d'exister dans les conditions de son habitat et même de donner un rendement élevé (BENLARIBI, 1990). L'adaptation des plantes au manque d'eau est liée aux changements métaboliques et aux réarrangements fonctionnels et structuraux des tissus (CHERNYAD'EV, 2005 in AMENAS, 2007).

#### **3.2. Tolérance**

La tolérance d'une plante est un facteur adverse du milieu, par sa faculté de pouvoir se développer ou à demeurer vivante dans des conditions défavorables engendrées par ce facteur. Au cours de cette période, elle maintient l'hydratation et le métabolisme cellulaire (NEMMAR, 1983). L'intensification des contraintes correspond à des diminutions successives du rendement (SARRAFI et al. 1993 in BEN MBAREK et al. 2009).

Selon LEDOIGT et COUDRET (1992 in MAZOUZ, 2006), la tolérance au stress hydrique implique des changements du métabolisme cellulaire caractérisé par l'accumulation de certains produits qui peuvent être synthétisés rapidement sous l'effet des stress. Elle est liée à une aptitude plus ou moins importante du génotype à maintenir l'intégrité de ses structures et de ses fonctions. Ceci dépend donc de la capacité des membranes à résister à la dégradation enzymatique et à la dénaturation des protéines, grâce à certains osmoprotecteurs (proline, sucres solubles, glycine bêtaïne) et à la modification de leur composition phospholipidique (MAZLIAK, 1995 in AMENAS, 2007).

## **II. LE STRESS HYDRIQUE**

### **1. Importance de l'eau dans la vie des plantes**

Selon CHAFAI (2012), l'eau est un facteur important pour la plante, non seulement comme constituant des cellules et des tissus mais elle assure :

- la dissolution des éléments minéraux du sol ;
- la photosynthèse (donneur d'électrons) ;
- la croissance et le développement de la plante ;
- la turgescence cellulaire qui donne la rigidité aux tissus végétaux ;
- le transport des éléments minéraux et des substances organiques ;
- le maintien de la structure biochimique de la cellule et ses constituants ;
- la source d'éléments essentiels et nécessaires pour le métabolisme ;
- la régulation thermique ;

### **2. Définition du stress hydrique**

Le stress hydrique est l'un des principaux facteurs abiotiques limitant la croissance et la production des plantes (CORNIC et MASSACCI, 1996 in ZAIM, 2014). Il peut se définir comme le rapport entre la quantité d'eau nécessaire à la croissance de la plante et la quantité d'eau disponible dans son environnement, sachant que la réserve d'eau utile pour la plante est la quantité d'eau du sol accessible par son système racinaire. La demande en eau de la plante est quant à elle déterminée par le niveau de transpiration ou évapotranspiration, ce qui inclut les pertes d'eau tant au niveau des feuilles qu'au niveau du sol (LABERCHE, 2004).

CRUISIAT (1980 in CASALS, 1996) considèrent qu'une plante est en situation hydrique limitant lorsque son évapotranspiration est inférieure à l'évapotranspiration maximale.

### **3. Effets du stress hydrique sur les plantes**

Le stress hydrique affecte les plantes à différents niveaux de leur organisation suivant sa durée, son intensité, le stade de développement de la plante ainsi que le génotype de cette dernière et son interaction avec l'environnement (YOKOTA et al. 2006 in ZAIM, 2014).

Il touche plusieurs fonctions végétales. D'abord, il est considéré parmi les facteurs défavorables pouvant affecter la germination des semences et par conséquent la qualité et le rendement de semis (HAMROUNI et al. 2012 in BENJELLOUNE, 2013). Une diminution de la teneur en eau de la plante se traduit immédiatement par une réduction de la croissance en dimension avant même que la photosynthèse ne soit affectée (TURNER. 1997 in BENJELLOUNE, 2013), une modification du volume cellulaire et de la forme de la membrane, à une perte de turgescence, à une rupture de l'intégrité membranaire et une dénaturation des protéines (BRAY, 1997). La photosynthèse peut être empêché de plusieurs manières (MUNNS, 2002 in AMENAS, 2007): diminution de la capacité des stomates à fixer les gaz du fait de la diminution du potentiel hydrique (DAMOUR, 2008) ; la réduction du produits de photosynthèse (sucre, amidon) dans les cellules à cause de la diminution de croissance des feuilles (DOWNTON et al. 1990).

Le stress hydrique induit également un stress oxydatif avec la formation des radicaux libres. Par leur nature instable, ces formes actives d'oxygène, sont très nocifs pour les constituants cellulaires et en particulier pour les lipides membranaires (WECKS et CLIJESTERS, 1996). Les espèces réactives oxygénées (ERO) peuvent engendrer des dommages importants dans la structure et le métabolisme cellulaire en dégradant de nombreuses cibles : protéines, lipides, et acides nucléiques (PINCEMAIL et al. 1999 in AIT YAHIA et ZEMMOURA, 2014).

### **4. Les stratégies adaptatives des plantes face au stress hydrique**

Le stress hydrique est l'un des principaux facteurs abiotiques qui limitent la production végétale (BAATOUR et al. 2004). En conditions stressantes, les plantes peuvent réagir en mettant en œuvre des mécanismes physiologiques (PARIDA et DAS, 2005) et biochimiques (BRUGNOLI et LAUTERI, 1991) impliquant une activité enzymatique (CHAFFEI et al. 2004) pour résister à ces facteurs.

La résistance au stress hydrique est définie de différentes manières, ce qui explique l'existence de plusieurs classifications dont la plus largement admise et la plus communément employée est celle proposée par (MILTHORPE, 1962 in CASALS, 1996). Elle considère trois grands types de résistance au stress hydrique comme suit :

#### **4.1. L'esquive**

C'est la situation où la plante grâce à un rythme de développement spécifique, réussit à s'harmoniser à l'environnement de production, en échappant partiellement ou complètement au stress (KABONGO, 2018). Cette stratégie est surtout basée sur la modulation de la durée du cycle de sorte que la plante échappe au pic d'avènement du stress. C'est un changement dans la longévité du cycle phénologique, la plante peut soit le raccourcir soit l'allonger (LEVITT, 1980).

#### **4.2. L'évitement**

La capacité d'une plante à éviter le stress hydrique est lié à la réduction des pertes en eau ou au maintien de l'absorption de l'eau (HIRECHE, 2006). Ceci implique plusieurs mécanismes (HIRECHE, 2006 ; KABONGO, 2018):

- ❖ la fermeture partielle ou totale des stomates
- ❖ le développement d'un système racinaire mieux adapté en profondeur pour chercher de l'eau
- ❖ la sénescence foliaire
- ❖ réduction de la surface foliaire
- ❖ enroulement des feuilles

#### **4.3. La tolérance à la sécheresse**

La tolérance à la sécheresse est le résultat de divers mécanismes complexe permettant à la plante de maintenir un faible potentiel hydrique interne lui assurant le déroulement de ses activités métaboliques. Les mécanismes par lesquels la tolérance ou résistance est achevée diffèrent selon les espèces végétales et la nature du stress (FOULKES et al, 2007 in FELLAHI, 2017).

Sur le plan physiologique, le maintien d'un faible potentiel hydrique interne se réalise notamment par l'accumulation de certains osmolytes compatibles, c'est l'ajustement osmotique (EL MIDAOUI et al. 2007).

#### **4.3.1. Ajustement osmotique**

L'ajustement osmotique est un mécanisme effectif de tolérance à la sécheresse dans une stratégie de bas potentiel hydrique de la plante. Il permet le maintien de la pression de turgescence à un niveau aussi élevé que possible pour des valeurs basses du potentiel hydrique (JOHNSON et al. 1984 in AZZOUZ, 2009; BENKOLLI et BOUZEGHAIA, 2016). L'ajustement osmotique est réalisé grâce à une accumulation des solutés principalement vacuolaires conduisant au maintien de la turgescence (BLUM, 1989 in AZZOUZ, 2009).

L'accumulation des solutés dans le cytoplasme permet à la plante de maintenir sa turgescence et d'éviter la déshydratation (MORGAN et al. 1986). Parmi les solutés, accumulés sous stress hydrique, on note une augmentation des sucres solubles, des acides aminés comme la proline et à un degré moindre de la glycine- bêtaïne, dont le rôle est la protection des membranes (HUSSAIN, 2006 in KABONGO, 2018).

La proline est la molécule organique la plus accumulée chez les organismes lors d'un stress (NAKASHIMA, 1998). Il pourrait jouer un rôle d'osmoticum (STEWART et LEE, 1974 in TOUMI, 2014). En plus de son rôle d'osmoprotecteur, la proline a un rôle dans le renforcement du système antioxydant et de lutte contre les dommages du stress (MOLINARI et al. 2007). Elle pourrait, également intervenir dans la régulation du pH cytoplasmique (PESCI et DEFFAGNA, 1984) ou constituer une réserve d'azote utilisée par la plante postérieurement à la période du stress (TAL et ROSENTHAL, 1979).

Les sucres solubles totaux jouent un rôle protecteur sur les membranes, en particulier mitochondriales, leur présence permettra le maintien des réactions de phosphorylation et de production d'énergie. Les principaux sucres solubles accumulés sous stress hydrique sont : le glucose, le fructose et le saccharose, et ces derniers semblent jouer un rôle très important dans le maintien d'une pression de turgescence élevée qui est à la base des différents processus contrôlant la vie d'une plante (AMENAS, 2007).

#### **4.3.2. Détoxification des espèces réactives de l'oxygène**

Dans les systèmes biologiques, le stress oxydant est la conséquence d'un déséquilibre entre la production des ERO et leur destruction par des systèmes de défense antioxydants (BONNEFONT-ROUSSELOT et al. 2003 in AIT YAHIA et ZEMMOURA, 2014).

La genèse des ERO dans une plante soumise au stress hydrique a pour origine à un dysfonctionnement des métabolismes photosynthétique et respiratoire. Ainsi, une réduction de la photosynthèse suite à une fermeture des stomates conduit à une diminution de la teneur en eau, réduisant les possibilités de piégeage de l'O<sub>2</sub> par les systèmes antioxydants couplés à la photosynthèse (HSU et KAO, 2004).

Les ERO sont des dérives de l'oxygène ou certain électrons se trouvent dans un état énergétique excité et très réactionnel (VALKO et al. 2007 in BENHAMDI, 2014). Elles causent d'importants dommages dans des lipides membranaires, des protéines et acides nucléiques.

La détoxification des ERO constitue un élément clé de défense des plantes contre les stress abiotiques dont le stress hydrique. Les enzymes responsables de cette détoxification nommées antioxydants incluent plusieurs enzymes dont la plus répandue est la catalase. (CAT).

### **La catalase (CAT)**

La catalase est une enzyme commune dans presque tous les organismes vivants exposés à l'oxygène (SWITALA et LOEWEN, 2002). Indispensable pour la détoxification des radicaux libres durant le stress, elle se trouve généralement dans les peroxysomes soit, les cellules végétales impliquées dans la photorespiration (l'utilisation de l'oxygène et la production de dioxyde de carbone) et la fixation symbiotique de l'azote (ALBERTS et al. 2002 in BOUNAB et SAHLI, 2014). Selon ARORA et al (2002 in BENHAMDI, 2014) la CAT est une enzyme peroxysomale assurant la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et en dioxygène.

# **CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES**

### **1. Objectif de l'étude**

Le présent travail est une contribution à l'évaluation du comportement physiologique, morphologique et biochimique y'a compris enzymatique des plantules de la luzerne arborescente (*Medicago arborea* L.) sous stress hydrique.

Il a été réalisé au niveau des laboratoires de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie à l'Université Ziane Achour de Djelfa.

### **2. Matériel végétal**

Les graines de la luzerne arborescente nous ont été gracieusement fournies par la pépinière de Moudjbara.

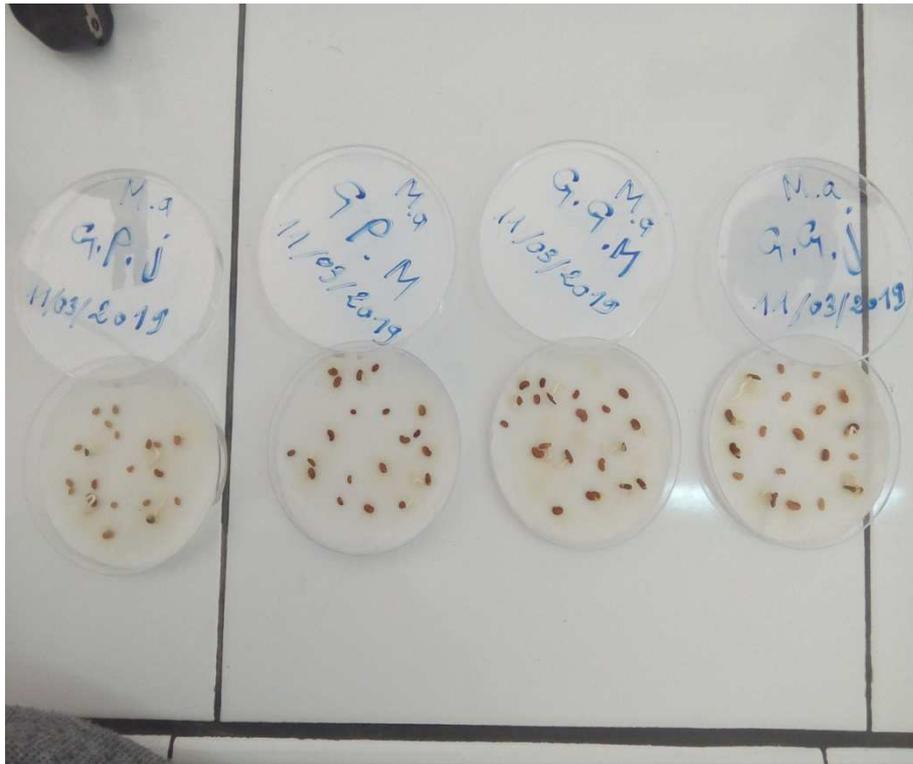
### **3. Obtention et transplantation des plantules**

Les graines de la luzerne arborescente ont été désinfectées par trempage dans l'eau de Javel (1%) pendant 3 min puis abondamment rincées à l'eau distillée.

Elles ont ensuite placées, à raison de 15 à 20 graines/boite, dans des boites de Pétri de 09 cm de diamètre tapissées de papier essuie-tout imbibé d'eau distillée. Les boites ont été disposées dans un incubateur dont la température a été fixée à 20 °C avec un éclairage de 16h. Elles ont été irriguées quotidiennement par 05 ml d'eau distillée.

Après 15 jours, les plantules obtenues ont été repiquées dans des bassines en plastique, de 15 cm de profondeur avec un diamètre de 20 cm (base) à 25 cm (sommet), remplies de sol préparé (2/3 sol agricole et 1/3 sable) avec une couche de gravier au fond.

Le développement des plantules a été poursuivi dans ces bassines en les irriguant régulièrement à la capacité au champ jusqu'au stade de la troisième feuille.



**Photo 01 :** Préparation des boîtes de germination (Bezini et al., 2019)



**Photo 02 :** Suivi des plantules (Bezini et al., 2019)

#### **4. Application du stress hydrique**

Le stress hydrique a été appliqué par arrêt d'irrigation pour 3 différentes durées 3j, 7j et 11 j. Ainsi, un témoin pour chaque niveau de stress hydrique a été retenu.

## 5. Dispositif expérimental adopté

Le dispositif expérimental choisi est de type aléatoire complet (Tableau 01). Il comprend 6 traitements avec répétitions:

- N1: durée d'arrêt d'irrigation de 3j
- N2: durée d'arrêt d'irrigation de 7j
- N3: durée d'arrêt d'irrigation de 11j
- T1, T2 et T3 : traitements témoins de N1, N2 et N3 respectivement.

**Tableau 01** : Dispositif expérimental adopté

T1	N2	T3
N2	T1	N1
T3	T2	N3
N3	T2	N1

## 6. Paramètres étudiés

### 6.1. Paramètres morphologiques

#### 6.1.1. Longueur des plantules

La longueur de l'axe principal des plantules obtenues a été mesurée à l'aide d'une règle (cm).

#### 6.1.2. Poids frais et sec

Le poids frais en g des plantules obtenues a été rapidement noté à la récolte à l'aide d'une balance de précision. Après le passage dans une étuve à 85 °C pendant 48h, le poids sec en g a été également noté.

## **6.2. Paramètres physiologiques**

### **6.2.1. Teneur en eau**

La teneur en eau (TE) est calculée par différence entre le poids de matière fraîche de l'échantillon et son poids de matière sèche (BOUGDAD et BENKADDOUR, 2015).

$$\text{TE}\% = \frac{(\text{MF} - \text{MS})}{\text{MF}} \times 100$$

**TE** : teneur en eau.

**MF** : masse de matière fraîche.

**MS** : masse de matière sèche.

### **6.2.2. Teneur relative en eau**

Le limbe foliaire est coupé à sa base puis immédiatement pesé pour déterminer sa masse de matière fraîche (MF). L'extrémité est ensuite placée dans un tube à essai contenant de l'eau distillée pendant 12 heures. Les feuilles sont récupérées et essuyées délicatement avec un papier buvard et sont à nouveau pesées, c'est la masse de matière turgescente (MT). Les échantillons sont ensuite mis dans une étuve pendant 2 jours à 80°C pour obtenir la masse de matière sèche (MS). La teneur relative en eau (TRE) est calculée selon (SALMI, 2015).

$$\text{TRE}\% = \frac{(\text{MF} - \text{MS})}{(\text{MT} - \text{MS})} \times 100$$

**MF** : masse de matière fraîche

**MS** : masse de matière sèche

**MT** : masse de matière turgescente

## **6.3. Paramètres biochimiques**

### **6.3.1. Dosages des pigments foliaires**

Les chlorophylles et les caroténoïdes ont été dosés selon la méthode de LICHTENTHALER (1987). Elle consiste à broyer 0.1 g de matière fraîche (MF) dans 6 ml d'acétone à 80%. Le broyat est lu aux longueurs d'ondes suivantes :

$\lambda_a = 647 \text{ nm}$ , pour la détermination de la chlorophylle a.

$\lambda_b = 663 \text{ nm}$ , pour la détermination de la chlorophylle b.

$\lambda_c = 470 \text{ nm}$ , pour la détermination du caroténoïde.

Les teneurs en chlorophylles et en caroténoïdes sont déterminées par les équations de LICHTENTHALER (1987) :

$$\text{Cha} = 12.25 (\text{DO}_{\lambda b}) - 2.79 (\text{DO}_{\lambda a}) \mu\text{g/ml}$$

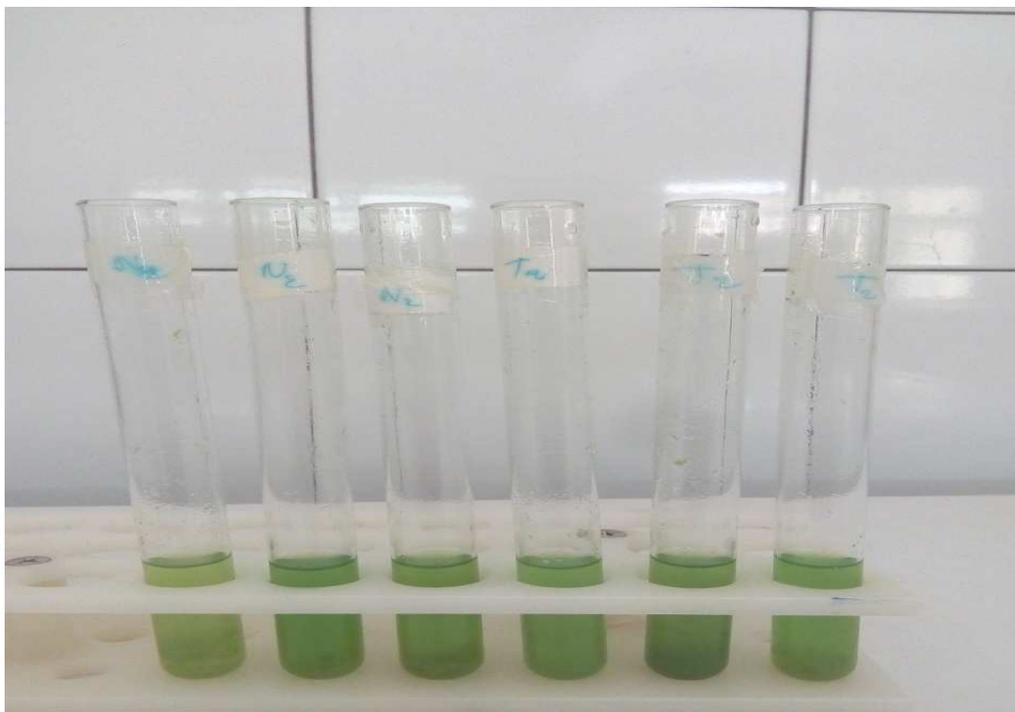
$$\text{Chb} = 21.5 (\text{DO}_{\lambda a}) - 5.1 (\text{DO}_{\lambda b}) \mu\text{g/ml}$$

$$\text{Caroténoïdes} = \{(1000 * \text{DO}_{\lambda c}) - [(1.82 * \text{Cha}) + (85.02 * \text{Chb})]\} / 198 \mu\text{g/ml}$$

**Cha** : chlorophylle a

**Chb** : chlorophylle b

**DO** : densité optique



**Photo 03** : Extraits des pigments foliaires.

### 6.3.2. Dosage des sucres totaux solubles

0,1 g de matière fraîche (feuilles) a été placé dans des tubes à essai contenant 4 ml de méthanol 40 %. Les tubes ont été recouverts avec du papier aluminium pour minimiser les pertes du méthanol par évaporation avant d'être mis dans un bain-marie, préalablement porté à 85 °C, pendant 1 h. Ils sont ensuite refroidis dans un bac à glace et conservés dans des tubes de 5 ml à 4 °C.

La teneur en sucres totaux solubles a été dosée selon la méthode décrite par DUBOIS et al, (1956). 0,5 ml de phénol à 5% a été ajouté à 0,5 ml de l'extrait méthylique. Après agitation au vortex, 2,5 ml d'acide sulfurique (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) concentré ont été additionnés. Après une deuxième agitation au vortex, le mélange ainsi réalisé a été laissé refroidir pendant 15 minutes. La solution vire progressivement vers la couleur rougeâtre. La densité optique a été mesurée à une longueur d'onde de 487 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible de type « BECKMAN DU 520 ».

Les teneurs en sucres solubles sont déduites de l'équation de la courbe de référence qui a été établie en utilisant une gamme de concentrations connues du glucose :

$$y = 0.2084x - 0,226$$



**Photo 04 :** Extraits des sucres totaux solubles.

### **6.3.3. Dosage de la proline**

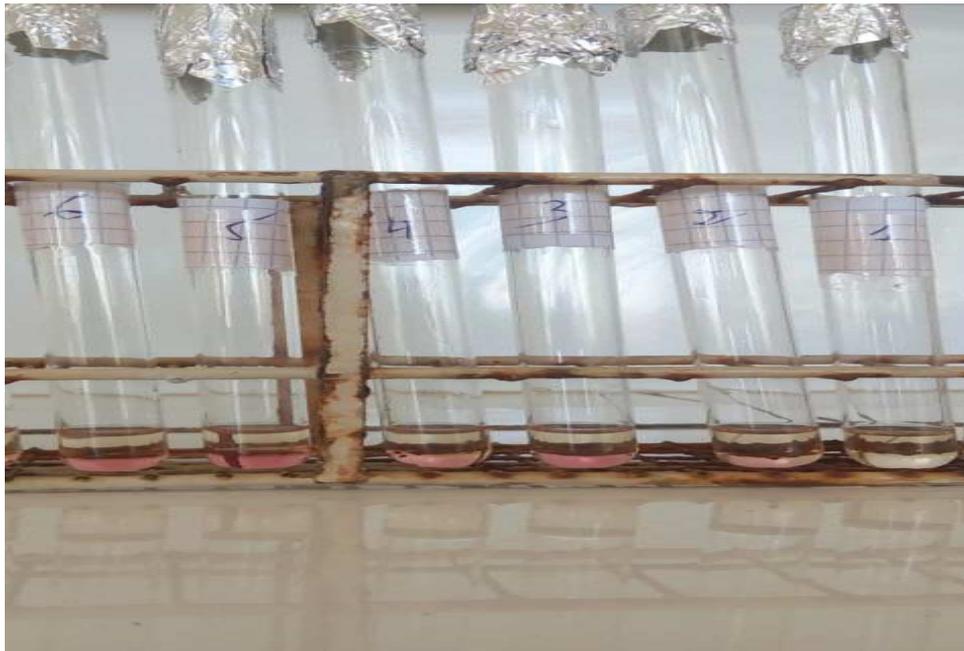
La méthode utilisée est celle de TROLL et LINOSLEY (1955 in AZZOUZ, 2009). Les extraits à doser ont été obtenus par chauffage à 85 °C dans un bain marie pendant 60 min. des tubes à essai contenant 0,1 g de du matériel végétale frais et 4 ml de méthanol à 40%,

A 1 ml de l'extrait, nous avons ajouté 1 ml d'acide acétique, 25 mg de ninhydrine et 1 ml de mélange (120 ml d'eau distillée, 300 ml d'acide acétique et 80 ml d'acide orthophosphorique d= 1,7).

Le mélange ainsi réalisé a été à l'ébullition au bain marie durant 30 minutes. La solution vire progressivement au rouge. Après refroidissement, 5 ml de benzène ont été pour séparer deux phases. La phase supérieure a été récupérée et puis séchée grâce à l'adjonction d'une spatule de sulfate de sodium anhydre ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ). La lecture est effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible de type « BECKMAN DU 520 » à la longueur d'onde de 528 nm.

Les teneurs en proline sont déduites de l'équation de la courbe de référence qui a été établie en utilisant une gamme de concentrations connues de proline :

$$y = 0.0179x - 0.0187$$



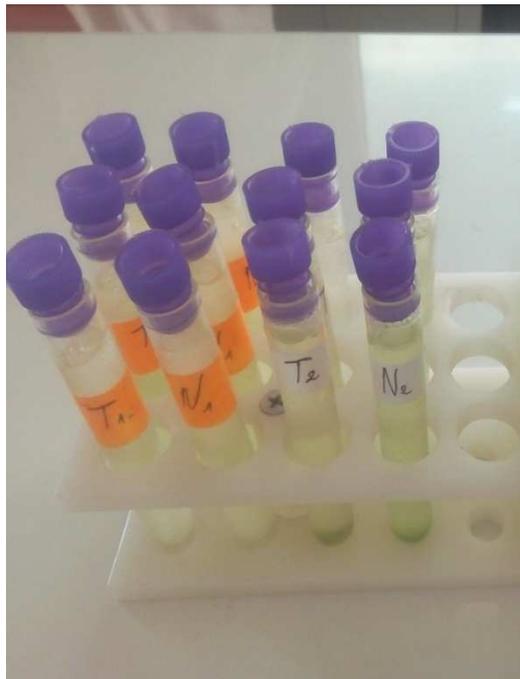
**Photo 05:** Extraits de la proline.

## 6.4. Dosages de l'activité enzymatique de la catalase

### 6.4.1. Extraction

0,2 g de matière fraîche de plantes ont été broyées dans 8 ml de 50 mM SPB (Sodium Phosphate Buffer) (pH 7,0 contenant 1 %(w/v) de polyvinylpyrrolidone) dans un bain de glace.

L'homogénat a été centrifugé à 15000 g/20 min à 4°C. Le surnageant a été utilisé pour la détermination de la teneur en protéines et des dosages de l'activité enzymatique.



**Photo 06** : Extraits enzymatiques obtenus.

### 6.4.2. Dosage

L'activité de la catalase est mesurée selon la méthode de CHANCE et MAEHLIY (1955) avec quelques modifications. La solution réactionnelle de catalase (3 ml) contenait 1,9 ml du SPB 50 mM (pH 7,0), 1 ml de 15 mM de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, et 0,1 ml d'extrait enzymatique. La réaction a été initiée en ajoutant l'extrait enzymatique. Les changements de l'absorbance de la solution réactionnelle à 240 nm sont lus toutes les 15 s.

## **7. Traitement des données**

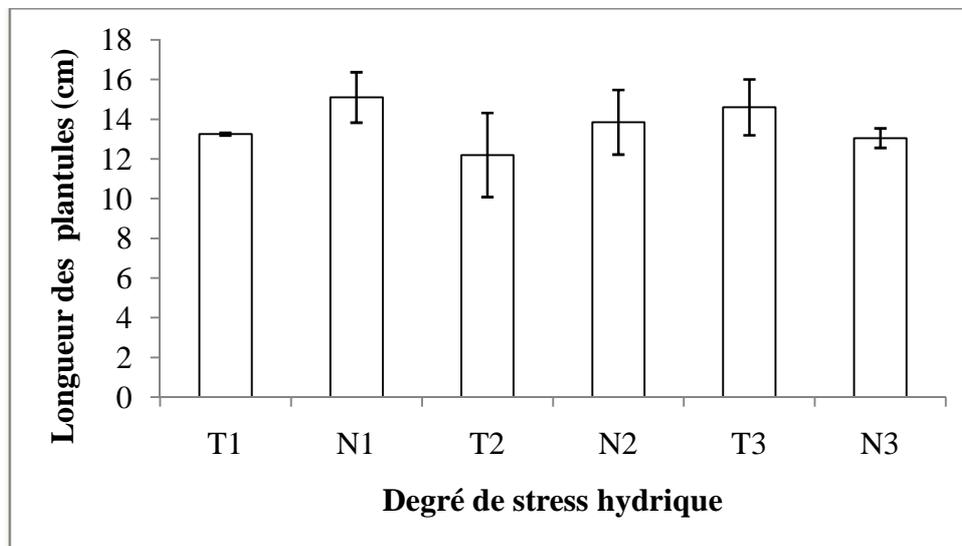
Les résultats obtenus ont fait l'objet d'une analyse statistique à l'aide du logiciel STATISTICA (Version 8). Une analyse de la variance (ANOVA) au seuil de 5% a été appliqué dont le but été de déterminer la signification des différents durées de stress hydrique et leur effets sur les paramètres que nous avons étudiée. En cas de différence significative, le test de Newman-Keuls a été choisi pour identifier les groupes homogènes.

# **CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION**

## I. Effet de stress hydrique sur les paramètres morphologiques et physiologiques

### 1. Effet de stress hydrique la longueur des plantules

La figure 01 représente la variation de la longueur moyenne des plantules selon le degré du stress hydrique appliqué. On remarque que l'impact du stress hydrique sur ce paramètre est variable selon son degré. En effet, les stress faible et moyen ont engendré une augmentation de la taille des plantules jusqu'à 15 et 13,8 cm respectivement par rapport à celle des plantules témoins qui ont marqué une taille de 13,2 et 12 cm. Par contre, le stress hydrique sévère a réduit jusqu'au 13 cm la taille des plantules.



**Figure 01 :** Effet du degré de stress hydrique sur la longueur des plantules de *M. arborea*.

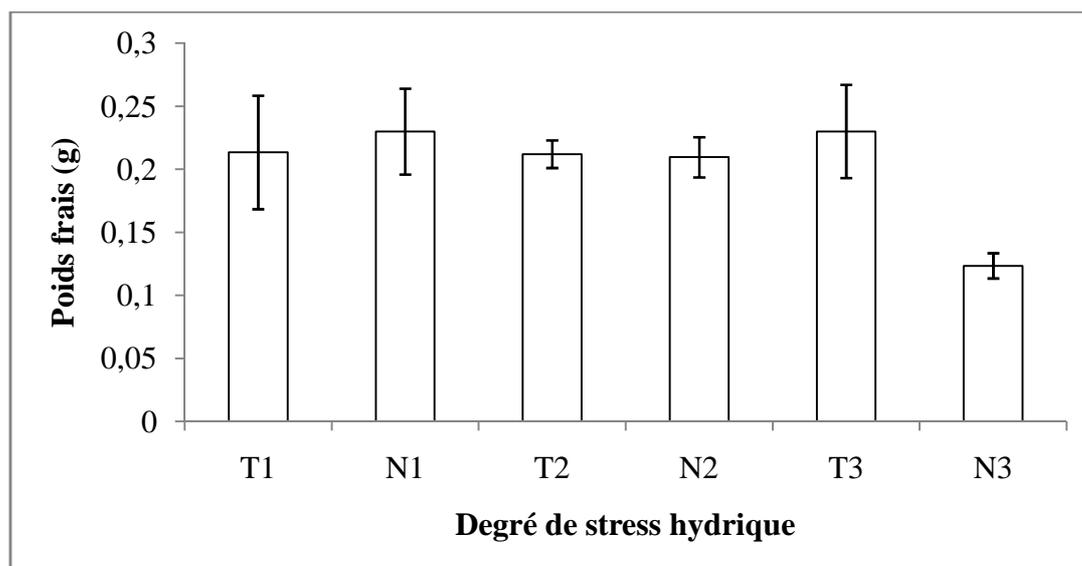
L'analyse statistique des résultats obtenus montre que le degré de stress hydrique n'a aucun effet significatif sur la longueur des plantules.

**Tableau 02 :** Analyse de la variance de l'effet du stress hydrique sur la longueur des plantules de *M. arborea*.

Tests Univariés de Significativité pour Longueur des plantules					
Paramétrisation sigma-restreinte					
Décomposition efficace de l'hypothèse					
Effet	SC	Degr, de liberté	MC	F	P
ord. Origine	2244,068	1	2244,068	1222,370	0,000000
Traitement	11,328	5	2,266	1,234	0,396777
Erreur	11,015	6	1,836		

## 2. Effet de stress hydrique sur le poids frais

L'effet de degré de stress hydrique sur la production de matière fraîche chez les plantules de *M. arborea* est illustré par la figure 02. En effet, le stress faible a engendré une augmentation du poids frais de 0,21 g sous le traitement T1 à 0.22 g sous le traitement N1. Le poids frais des plantules n'a pas été influencé par le traitement N2 par rapport à son témoin, il est presque constant à la valeur de 0.2g. Enfin, le traitement N3 a engendré une diminution de la biomasse fraîche des plantules de 0.1 g comparativement à son lot témoin.



**Figure 02 :** Effet du degré de stress hydrique sur le poids frais de *M. arborea*.

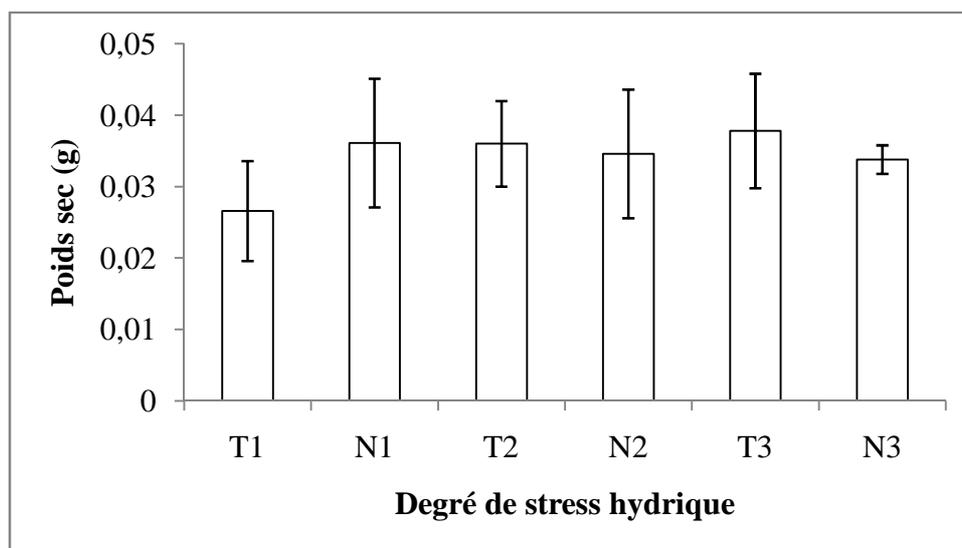
L'analyse statistique des résultats (ANOVA) n'a révélé aucun effet significatif du stress hydrique sur la masse fraîche des plantules de l'espèce étudiée.

**Tableau 03 :** Analyse de la variance de l'effet du stress hydrique sur le poids frais des plantules de *M. arborea*.

Tests Univariés de Significativité pour le poids frais des plantules					
Paramétrisation sigma-restreinte					
Décomposition efficace de l'hypothèse					
Effet	SC	Degr. de liberté	MC	F	P
ord. Origine	0,494711	1	0,494711	547,4683	0,000000
Traitement	0,016046	5	0,003209	3,5514	0,077257
Erreur	0,005422	6	0,000904		

### 3. Effet de stress hydrique sur le poids sec

La figure 03 récapitule les résultats obtenus de l'effet de stress hydrique sur la production de matière sèche chez les plantules de la luzerne arborescente. La conséquence de la contrainte sur le poids sec des plantules de *M. arborea* est semblable à celle observée pour le poids frais. Le traitement N3 a affecté d'une manière plus remarquable le paramètre concerné.



**Figure 03:** Effet du degré de stress hydrique sur le poids sec de *M. arborea*.

Comme pour le poids frais, l'analyse statistique des résultats (ANOVA) n'a révélé aucun effet significatif du stress hydrique sur la masse sèche des plantules de l'espèce étudiée (tableau 04).

**Tableau 04 :** Analyse de la variance de l'effet du stress hydrique sur le poids sec de *M. arborea*.

Tests Univariés de Significativité pour poids sec Paramétrisation sigma-restreinte Décomposition efficace de l'hypothèse					
Effet	SC	Degr, de liberté	MC	F	P
ord. Origine	0,002535	1	0,002535	202,4721	0,000008
Traitement	0,000033	5	0,000007	0,5352	0,745295
Erreur	0,000075	6	0,000013		

## Discussion

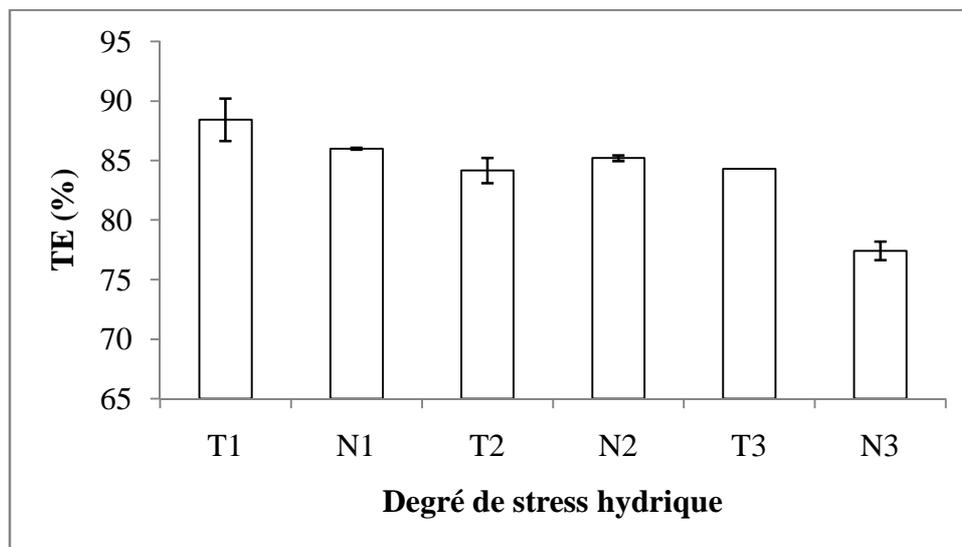
Les résultats que nous avons obtenus concernant l'effet du stress hydrique sur les paramètres morphologiques (longueur et poids) sont en accord avec ceux obtenus par HIRECH (2006), LOUSSAIEF et al (2009) et BOUAZZAMA et al (2015). Ces auteurs ont rapporté que le stress hydrique a affecté la longueur et les masses sèche et fraîche chez différentes variétés de *M. sativa*. Le même effet a été noté sous stress salin par GHAMANIA (2014) chez *Vicia faba*.

La réduction de la croissance est une réponse commune chez les plantes soumises aux stress (JALEEL et al.2008). C'est une capacité adaptative nécessaire à la survie des plantes face à ces facteurs.

Selon BENREBIHA et al.(2011), le manque d'eau entraîne une diminution de l'hydratation des tissus et une réduction de l'expansion et des divisions cellulaires ce qui traduit par une diminution des paramètres morphologiques des végétaux.

### 4. Effet de stress hydrique sur la teneur en eau

Les résultats de l'effet du stress hydrique sur la teneur en eau des plantules de *M. arborea* sont portés sur la figure 04. Comparativement aux témoins, la teneur en eau des plantules diminue lorsque la durée de stress hydrique s'allonge. Cette chute atteint une valeur de 15%, par rapport au témoin, sous le traitement N3.



**Figure 04 :** Effet du degré de stress hydrique sur la teneur en eau de *M. arborea*.

L'analyse statistique des résultats (ANOVA) a confirmé l'effet significatif du stress hydrique sur la teneur en eau des plantules de l'espèce étudiée (tableau 05).

**Tableau 05 :** Analyse de la variance de l'effet du stress hydrique sur la teneur en eau de *M. arborea*.

Tests Univariés de Significativité pour la teneur en eau Paramétrisation sigma-restreinte Décomposition efficace de l'hypothèse					
Effet	SC	Degr, de liberté	MC	F	P
ord. Origine	81511,19	1	81511,19	11990,62	0,000000
Traitement	265,45	5	53,09	7,81	0,013245
Erreur	40,79	6	6,80		

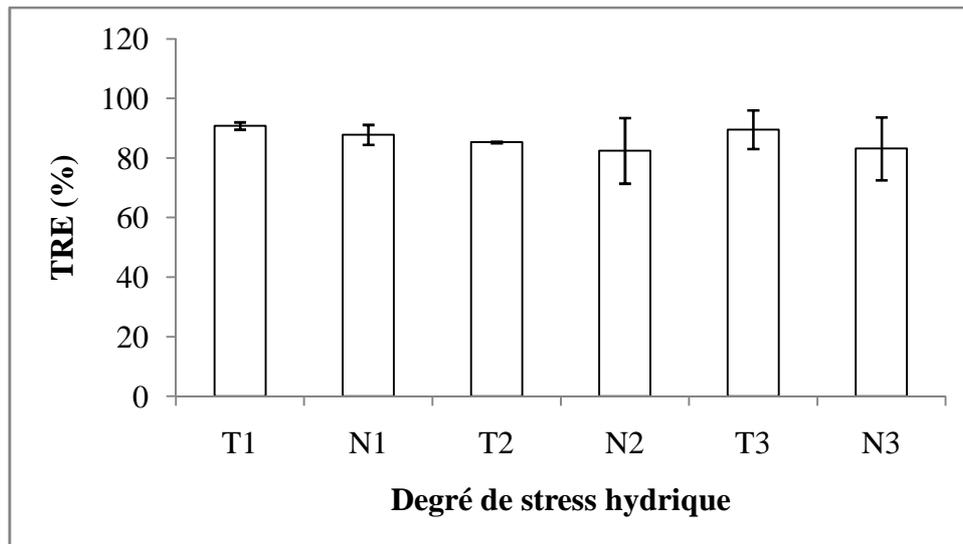
De ce fait, les traitements ont été répartis en deux groupes homogènes, le groupe a qui comporte le traitement N3, et le groupe b qui rassemble les autres traitements c'est-à-dire T1, N1, T2, N2 et T3.

**Tableau 06 :** Test de Newman-Keuls au seuil de 5% de l'effet du stress hydrique sur la teneur en eau des plantules de *M. arborea*.

Traitement	Groupe
T1	a
N1	a
T2	a
N2	a
T3	a
N3	b

### 5. Effet de stress hydrique sur la teneur relative en eau

La variation de la teneur relative en eau de la partie aérienne des plantules de *M. arborea* est indiquée sur la figure 05. L'augmentation de la durée de stress hydrique se reflète par une diminution de la valeur du paramètre concerné. La valeur la plus élevée, de 90,83%, a été obtenue sous le traitement T1, alors que la valeur la plus faible (83,1%) a été enregistrée sous le traitement N3.



**Figure 05 :** Effet du degré de stress hydrique sur la teneur relative en eau de *M. arborea*.

L'analyse statistique des résultats obtenus montre que le degré de stress hydrique n'a mis en évidence aucun effet significatif du stress sur la teneur relative en eau.

**Tableau 07 :** Analyse de la variance de l'effet du stress hydrique sur la teneur relative en eau de *M. arborea*.

Tests Univariés de Significativité pour la teneur relative en eau Paramétrisation sigma-restreinte Décomposition efficace de l'hypothèse					
Effet	SC	Degr, de liberté	MC	F	P
ord. Origine	89898,42	1	89898,42	1871,767	0,000000
Traitement	117,27	5	23,45	0,488	0,775619
Erreur	288,17	6	48,03		

## Discussion

Les résultats obtenus confirment l'effet du stress hydrique sur la situation hydrique, évaluée par la teneur en eau et la teneur relative en eau, de l'espèce étudiée. La même observation sous stress hydrique a été rapporté par BOUGDAD et BENKADDOUR (2015) chez 9 populations de la luzerne dont 7 sont locales et deux introduites, l'une saoudienne et

l'autre italienne, par TOUMI et al. (2014) chez deux variétés *Brassic napus*, par AMENAS, (2007) chez *Atriplex halimus* et par AZZOUZ (2009) chez *Phaseolus vulgaris*. D'autres auteurs ont signalé également ce résultat sous stress salin tels que KADRI et MIDOUN (2015) chez certaines populations de *M. sativa* et GHAMANIA (2014) chez *Vicia faba*.

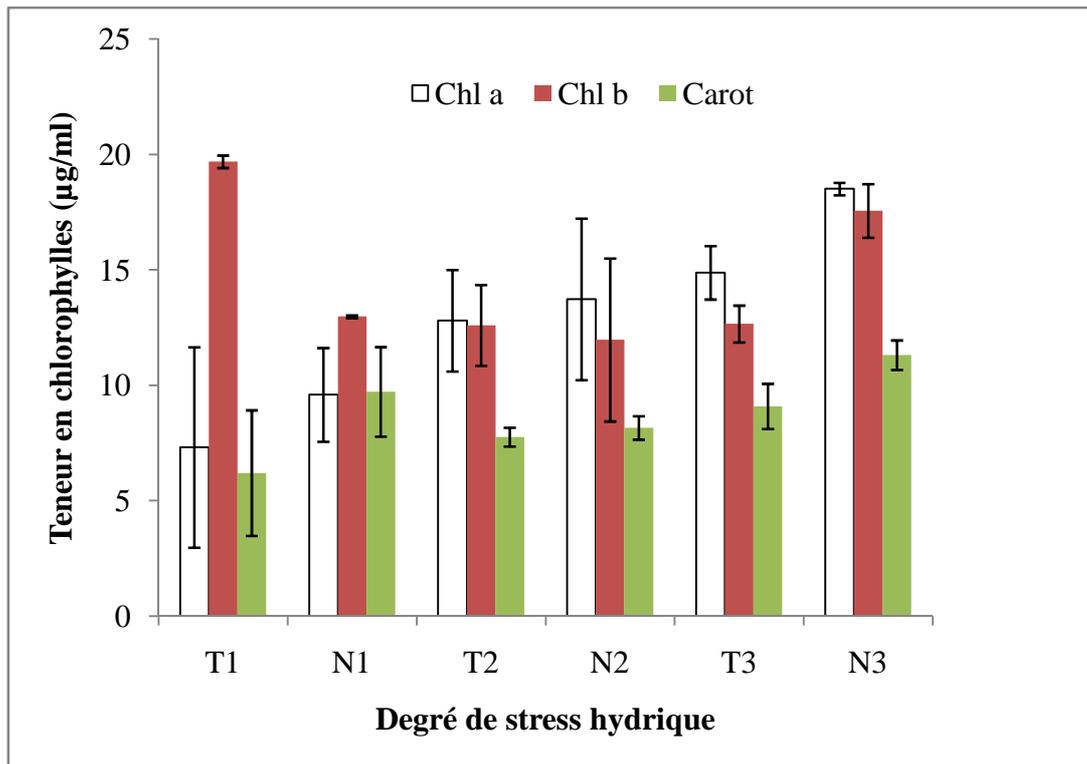
La teneur relative en eau est un bon indicateur de l'état d'équilibre hydrique d'une plante qui exprime la résistance des espèces vis-à-vis d'un stress hydrique (MEFTI et al. 2002 in CHAHBAR et al. 2013). Les espèces végétales qui maintiennent des teneurs foliaires relatives en eau élevées sont considérées comme étant des espèces résistantes à la sécheresse (BERKA et AÏD, 2009).

## **II. Effet de stress hydrique sur les paramètres biochimiques**

### **1. Effet de stress hydrique sur la teneur en chlorophylles**

L'effet de la durée de stress hydrique sur la teneur en chlorophylles a, b et en caroténoïdes est schématisé par la figure 06.

La prolongation de la durée de stress est en relation proportionnelle avec la teneur en c chlorophylle a et en caroténoïdes. A l'opposé, la teneur en chlorophylle b diminue en fonction du degré de stress hydrique.



**Figure 06 :** Effet du degré de stress hydrique sur la teneur en chlorophylles de *M. arborea*.

L'analyse de la variance (ANOVA) des résultats enregistrés a mis en évidence l'effet significatif du stress hydrique sur la teneur en chlorophylle a (tableau 08). Ainsi, le test de Newman-Keuls au seuil de 5% nous a permis de répartir les traitements en 3 groupes homogènes comme l'indique de tableau 09.

**Tableau 08 :** Analyse de la variance de l'effet du stress hydrique sur la teneur en chlorophylle a de *M. arborea*.

Tests Univariés de Significativité pour la teneur en chlorophylle a					
Paramétrisation sigma-restreinte					
Décomposition efficace de l'hypothèse					
Effet	SC	Degr, de liberté	MC	F	P
ord. Origine	1968,963	1	1968,963	282,6041	0,000003
Traitement	156,416	5	31,283	4,4901	0,047586
Erreur	41,803	6	6,967		

**Tableau 09 :** Test de Newman-Keuls au seuil de 5% de l'effet du stress hydrique sur la teneur en chlorophylle a des plantules de *M. arborea*.

Traitement	Groupe
T1	a
N1	ab
T2	ab
N2	ab
T3	ab
N3	b

L'application de l'analyse de la variance pour l'effet de du stress hydrique sur la teneur en chlorophylle b et en caroténoïdes n'a révélée aucune différence significative (tableaux 10 et 11 respectivement).

**Tableau 10 :** Analyse de la variance de l'effet du stress hydrique sur la teneur en chlorophylle b de *M. arborea*.

Tests Univariés de Significativité pour la teneur en chlorophylle b Paramétrisation sigma-restreinte Décomposition efficace de l'hypothèse					
Effet	SC	Degr, de liberté	MC	F	P
ord. Origine	2551,637	1	2551,637	123,5973	0,000032
Traitement	103,794	5	20,759	1,0055	0,486982
Erreur	123,869	6	20,645		

**Tableau 11 :** Analyse de la variance de l'effet du stress hydrique sur la teneur en caroténoïdes de *M. arborea*.

Tests Univariés de Significativité pour la teneur en caroténoïdes Paramétrisation sigma-restreinte Décomposition efficace de l'hypothèse					
Effet	SC	Degr, de liberté	MC	F	P
ord. Origine	910,8221	1	910,8221	418,4471	0,000001
Traitement	30,8696	5	6,1739	2,8364	0,118350
Erreur	13,0600	6	2,1767		

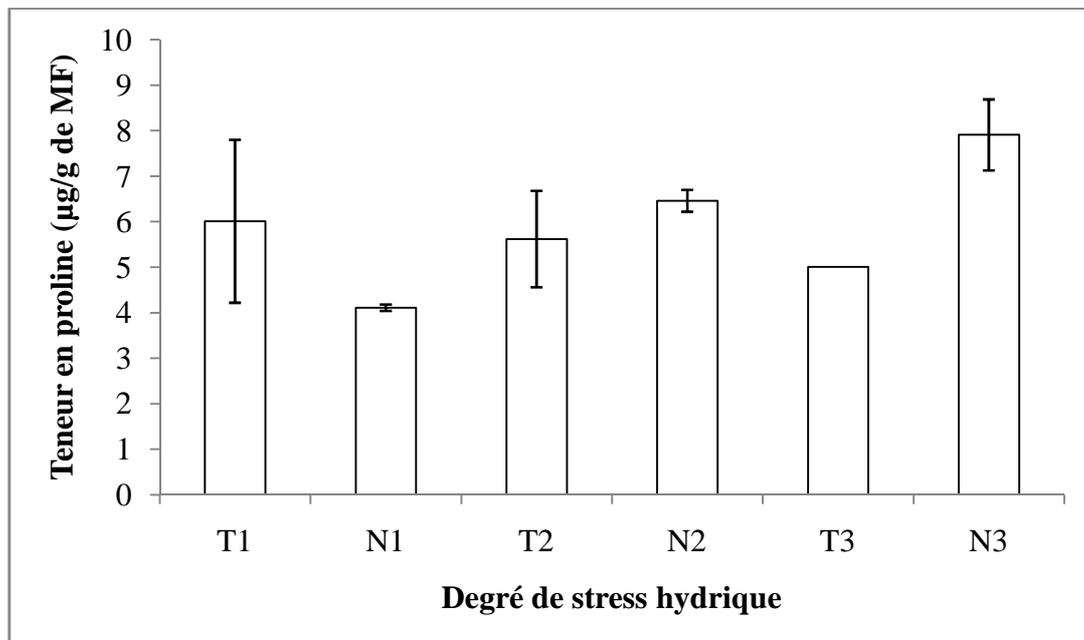
## Discussion

Des résultats semblables, stress hydrique, à nos observations ont été signalé par BOUGDAD et BENKADDOUR (2015) chez 9 populations, dont 7 sont locales et deux sont introduites, de luzerne et par AZZOUZ (2009) chez 4 variétés de *Phaseolus vulgaris*. Aussi, sous stress salin, KADRI et MIDOUN (2015), ont rapporté des résultats identiques chez plusieurs 9 populations de *M. sativa*.

Selon SRIVASTAVA et al. (1988 in AIT YAHIA et ZEMMOURA, 2015), la teneur en chlorophylle est considéré comme paramètre de tolérance au stress abiotique (sécheresse, salinité), chez plusieurs espèces. En condition de déficit hydrique, la teneur en chlorophylles diminue, ceci pouvant être la conséquence de la réduction de la photosynthèse (BOUSBA et al, 2009).

### 2. Effet de stress hydrique sur la teneur en proline

L'accumulation de la proline sous l'effet du stress hydrique dans les plantules de l'espèce étudiée est simplifiée sur la figure 07. En effet, plus le stress hydrique est sévère, plus l'accumulation de la proline est importante. Sous le stress le plus sévère c'est-à-dire le traitement N3, les plantes stressées ont accumulées presque le double de leur témoin.



**Figure 07 :** Effet du degré de stress hydrique sur la teneur en proline de *M. arborea*.

Selon le tableau 12, le stress hydrique présente un effet significatif sur l'accumulation de la proline dans les plantules de *M. arborea*

**Tableau 12:** Analyse de la variance de l'effet du stress hydrique sur la teneur en proline de *M. arborea*.

Tests Univariés de Significativité pour la teneur en proline Paramétrisation sigma-restreinte Décomposition efficace de l'hypothèse					
Effet	SC	Degr, de liberté	MC	F	P
ord. Origine	4360,547	1	4360,547	485,9112	0,000001
Traitement	209,922	5	41,984	4,6785	0,043543
Erreur	53,844	6	8,974		

## Discussion

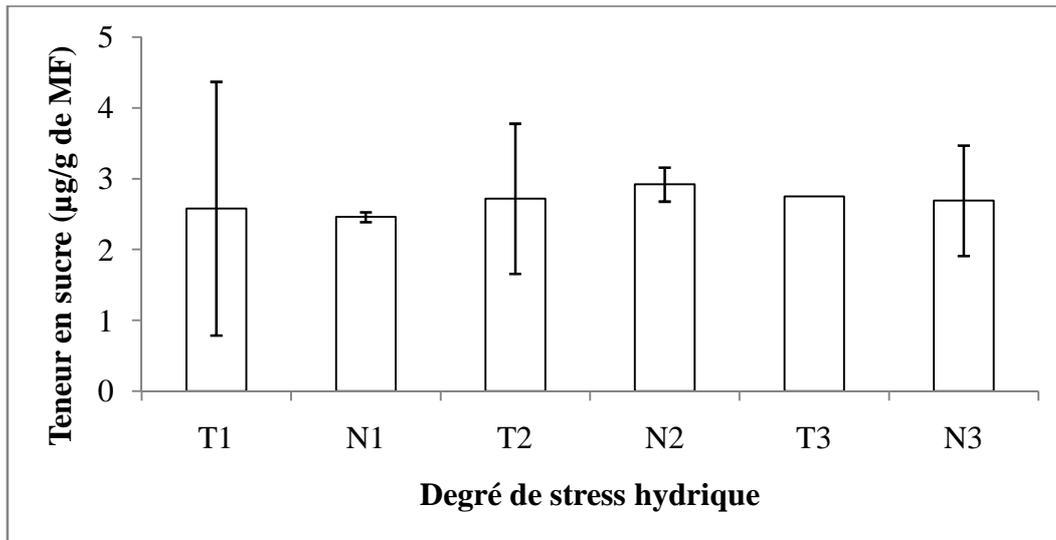
Nous avons noté une accumulation importante et proportionnelle de la proline à la durée de stress. Ceci confirme les observations sous la même contrainte de plusieurs autres tels que HIRECHE (2006) chez *M. sativa*. Ainsi sous stress salin, KADRI et MIDOUN (2015) ont trouvé un résultat identique chez plusieurs populations de la même espèce. Cependant, BOUGDAD et BENKADDOUR (2015) ont rapporté une remarque inverse, c'est à dire une diminution de la teneur en proline, chez certaines populations de *M. sativa* soumises au stress hydrique.

Selon NAKASHIMA (1998), la proline est la molécule organique la plus accumulée chez les organismes lors d'un stress. Son accumulation est une des stratégies adaptatives déclenchées par la plante face aux contraintes de l'environnement (BELKHODJA et BENKABLIA, 2000).

La proline est une molécule organique dominante qui agit comme un médiateur de l'ajustement osmotique sous le stress hydrique, un stabilisateur de structures subcellulaires, un puits d'énergie. Elle participe aussi dans l'osmorégulation de la cellule et de la protection des protéines au cours de la déshydratation, et il peut agir comme un régulateur enzymatique en conditions de stress (RONTAIN et al. 2002 in BOUGDAD et BENKADDOUR, 2015)

### 3. Effet de stress hydrique sur la teneur en sucres totaux solubles

L'effet des différents degrés de stress hydrique sur l'accumulation des sucres totaux solubles dans la partie aérienne des plantules de *M. arborea* est schématisé par la figure 08. Comparées aux plantules des lots témoins, celles soumises à une restriction hydrique produisent plus de sucres. Les plantules soumises au traitement N1 ont accumulé une valeur de 31,3 µg/g MF qui est la plus faible. En revanche, après un stress de 11j, l'accumulation des sucres totaux solubles a atteint une valeur de 32 µg/g MF.



**Figure 08 :** Effet du degré de stress hydrique sur la teneur en sucres solubles totaux de *M. arborea*.

Sur le plan statistique, l'effet du stress hydrique sur l'accumulation des sucres totaux solubles dans les plantules de *M. arborea* n'est pas significatif (tableau 13).

**Tableau 13 :** Analyse de la variance de l'effet du stress hydrique sur la teneur en sucres totaux solubles de *M. arborea*.

Tests Univariés de Significativité pour la teneur en sucres solubles totaux Paramétrisation sigma-restreinte Décomposition efficace de l'hypothèse					
Effet	SC	Degr, de liberté	MC	F	P
ord. Origine	12364,92	1	12364,92	662,1699	0,000000
Traitement	39,64	5	7,93	0,4246	0,817264
Erreur	112,04	6	18,67		

## **Discussion**

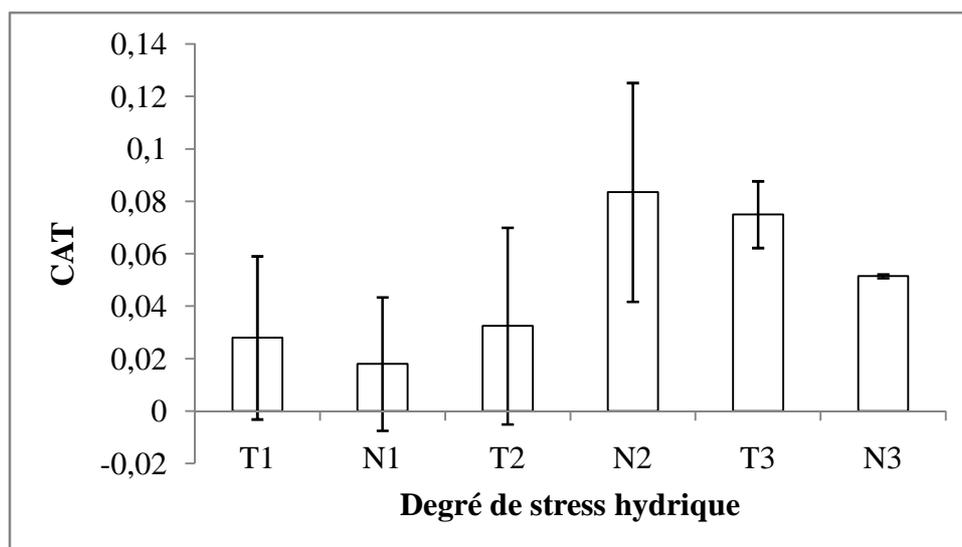
D'une manière générale, nous avons remarqué une augmentation de la teneur en sucres totaux solubles en fonction du degré de stress hydrique. Des résultats analogues et sous le même type de stress ont été publiés par AZZOUZ (2009) chez 4 variétés de *Phaseolus vulgaris* et par HIRECHE (2006) chez 10 populations de *M. sativa*. De même sous stress salin par KADRI et MIDOUN (2015) chez 9 populations de *M. sativa*. Par contre, BOUGDAD et BENKADDOUR (2015) ont remarqué une diminution de la teneur en sucres totaux solubles chez certaines populations de *M. sativa* conduite sous stress hydrique.

Le processus de concentrations des sucres solubles dans les tissus foliaires des plantules stressées est reconnu comme une caractéristique d'adaptation (KAMELI et LOSEL, 1995). C'est une composante non moins importante de l'ajustement osmotique observée chez de nombreuses espèces cultivées comme le blé (ADJAB, 2002 ; ADJAB et KHEZANE, 1998) et la luzerne (MEFTI et al. 2000).

L'accumulation des sucres solubles est un moyen adopté par les plantes en cas de stress, afin de résister aux contraintes du milieu (MOUELLEF, 2010). Les sucres solubles protègent les membranes contre la déshydratation (BOUGDAD et BENKADDOUR, 2015).

### **4. Effet de stress hydrique sur l'activité enzymatique de la catalase**

L'effet du stress hydrique sur l'activité enzymatique de la catalase dans les feuilles des plantules de *M. arborea* est illustré par la figure 09. Il est à remarquer que la contrainte hydrique imposée a causée une augmentation de l'activité de la catalase notamment sous le traitement N2. Cette enzyme assure la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et en dioxygène.



**Figure 09 :** Effet du degré de stress hydrique sur l'activité de la catalase de *M. arborea*.

Selon l'analyse de la variance (ANOVA) que nous avons réalisée, l'effet du stress hydrique sur l'activité enzymatique de la catalase n'est pas significatif au seuil de 5% (tableau 14).

**Tableau 14 :** Analyse de la variance de l'effet du stress hydrique sur l'activité catalase des plantules de *M. arborea*.

Tests Univariés de Significativité pour la teneur en CAT					
Paramétrisation sigma-restreinte					
Décomposition efficace de l'hypothèse					
Effet	SC	Degr, de liberté	MC	F	P
ord. Origine	0,027744	1	0,027744	33,81020	0,001136
Traitement	0,007083	5	0,001417	1,72643	0,261995
Erreur	0,004924	6	0,000821		

## Discussion

D'après nos résultats, le stress hydrique a induit une augmentation de l'activité enzymatique de la catalase. L'augmentation des activités enzymatiques (POD, CAT, SOD, ...) a été largement rapportée chez les plantes soumises au stress hydrique. AIT YAHIA et ZEMMOURA (2015) et AZOUZ et BACHAR (2018) ont noté chez *Triticum durum* et

*Sorghum bicolor* ; respectivement, une augmentation des activités enzymatique de SOD, de POD et de CAT. Ainsi chez *L. spartum*, *H. pallidum* (BENHAMDI, 2014) et *Lens caulinus* (BOUNAB et SAHLI, 2014), le stress métallique a induit une augmentation des activités enzymatique de SOD, de POD et de CAT.

Pour se protéger contre les ROS et leurs intermédiaires, les cellules végétales et leurs organites, comme les chloroplastes, les mitochondries et les peroxysomes, développent des systèmes de défense antioxydants puissants (DUQUESNOY et al. 2010 in BENHAMDI, 2014). Les concentrations des ROS dans les tissus de la plante est le résultat d'un équilibre dynamique entre les taux de leur productions et de leur élimination (DJEBALI et al. 2011 in BENHAMDI, 2014).

La catalase participe à la dégradation de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> généré par la présence en excès de xénobiotiques dans l'environnement de la plante (FARAGO 1994 in KHALDI et al. 2013).

# CONCLUSION

## CONCLUSION

Notre étude consiste à l'évaluation de l'effet du stress hydrique appliqué par arrêt d'irrigation pour différentes durées sur les réponses physiologiques et biochimiques de la luzerne arborescente. Pour achever cette évaluation, nous avons adoptés des paramètres morpho-physiologiques; qui sont le poids, la longueur, la teneur et la teneur relative en eau; et biochimiques c'est-à-dire la teneur en pigments et l'accumulation osmolytes (sucres totaux solubles et proline) ainsi que l'évolution de l'activité du système antioxydant représenté par la catalase.

Selon les résultats obtenus, le stress hydrique a affecté le poids frais, le poids sec et la longueur des plantules. Un effet significatif sur la teneur en eau a été également noté.

La photosynthèse, le processus de base pour la croissance végétale a été ainsi atteint par le manque d'eau. Ceci a été constaté par la diminution des teneurs en chlorophylle a et b.

Face au stress hydrique, et en termes de résistance, nous avons enregistré une augmentation des teneurs en proline et en sucres totaux solubles. Ces deux osmolytes sont les plus remarquablement signalés dans la littérature.

En outre, les résultats enregistrés ont indiqué une intensification de l'activité enzymatique de la catalase qui a été proportionnelle au degré de stress induit. Cette enzyme est parmi les antioxydants majeurs pour la détoxification des ERO.

A l'issue de cette étude, nous proposons de l'approfondir en incluant d'autres paramètres d'évaluation telle que la conductance stomatique.

**REFERENCES**  
**BIBLIOGRAPHIQUES**

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ADJAB M. 2002 - Recherche des traits morphologiques, physiologiques et biochimiques d'adaptation au déficit hydrique chez différents géotypes de blé dur *Triticum durum* Desf. Thèse. Mag. Univ. Badji Mokhtar, Annaba. 84p.
- ADJAB M. et KHEZANE S. 1998 - Etude de l'héritabilité de la proline chez un croisement de blé dur *Triticum durum* Desf. Mém. DES. Univ. Badji Mokhtar. Annaba. 32p.
- AIT YAHIA L. et ZEMMOURA H.D. 2014 - Etude de l'effet d'un stress oxydatif et le système défensif enzymatique chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.). Mém. Master. Univ. Constantine 1. 65p.
- AMENAS Y. 2007 - Caractérisation de la réponse physiologique d'*Atriplex halimus* L. et *Atriplex canescens* sous l'effet de stress hydrique. Thèse. Mag. Univ. Oran Es senia. 132p.
- AZZOUZ C. et BACHAR S. 2018 - Evaluation des réponses enzymatiques chez quelques variétés de blé sous les conditions de stress hydrique. Mém. Master. Univ. Djelfa. 69 p.
- AZZOUZ F. 2009 - Les réponses morpho physiologiques et biochimiques chez l'haricot (*Phaseolus vulgaris* L.) soumis un stress hydrique. Thèse. Mag. Univ. Oran Es senia. 82p.
- BAATOUR O., MRAH S. et BENBRAHIM N. 2004 - Réponse physiologique de la gesse (*Lathyrus sativus*) à la salinité du milieu. Revue des régions arides. 1 : 346-358.
- BELKHODJA M. et BENKABLIA M. 2000 - Proline response of faba bean (*Vicia faba* L.) under salt stress. Egypt. J. of Agric. Res. 78(1): 185-195.
- BEN MBAREK K., BOUJELBEN A., BOUBAKER M. et HANNACHI C. 2009 - Criblage et performances agronomiques de 45 géotypes de pois chiche (*Cicer arietinum* L.) soumis à régime hydrique limité. Biotechnol. Agron. Soc. Environ, 13(3) : 381-393.
- BEN YAHMED J. 2013 - Etude des propriétés de tolérance au déficit hydrique et au stress salin de géotypes appartenant au genre *Poncirus* et au groupe des mandariniers. Thèse. Doc. CIESSA. Montpellier. 210p.
- BENHAMDI A. 2014 - Etude des enzymes de stress oxydatif chez *Hedysarum pallidum* Desf. et *Lygeum spartum* L. en réponse à la pollution du sol par l'antimoine. Thèse. Doc. Univ. Constantine 1. 146p.

- BENJELLOUN M., RAIS C., WAHID N., EL GHADRAOUI L. et ALAOUI MHAMDI M. 2013 - Evaluation de la tolérance de *Myrtus communis*L. au stress hydrique au stade germinatif. Bull. Inst. Sci., Rabat, Section Sciences de la Vie, 35 :19-26
- BENKOLLI M. et BOUZEGHAIA B. 2016 - Etude biochimique de dix variétés de blé dur (*Triticum durum*Desf.) sous l'effet d'un stress oxydatif généré par un stress hydrique. Thèse. Mag. Univ. Mentouri. Constantine 1. 69p.
- BENLARIBI, M. 1990 -Adaptation au déficit hydrique chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.). Etude des caractères morphologiques et physiologiques. Thèse. Doc. Univ. Constantine, 145p.
- BENREBIHA F., TORCHIT N., BOUCHENAK F. et CHAOUIA C. 2011 - Effet du stress salin sur la germination et la croissance de l'armoise blanche (*Artemisia herba alba* Asso).37-42.
- BERKA S. et AÏD F. 2009 - Réponses physiologiques des plants d'*Argania spinosa*L. Skeels soumis à un déficit hydrique édaphique. Sécheresse. 20(3): 296-302.
- BOUAZZAMA B., BOUAZIZ A., XANTHOULIS D. et BAHRI A. 2015 - Effet du déficit hydrique sur la croissance, le rendement et l'efficacité d'utilisation de l'eau chez la luzerne (*Medicago sativa*L.) au Tadla. Rev. Mar. Sci. Agron. Vét. 3(2):16-26.
- BOUGDAD K.F. et BENKADDOUR M. 2015 - Effet de stress hydrique sur quelques paramètres biochimiques de la luzerne (*Medicago sativa*L.).Thèse. Mag. Univ. KasdiMerbah - Ouargla. 61p.
- BOUNAB S. et SAHLI I.N. 2014 - Etude de l'activité de la peroxydase (POD) et de la catalase (CAT) chez *Lens culinaris* contaminé par le cadmium. Mèm. Master. Univ. Constantine 1. 66p.
- BOUSBA R., YKHLEF N. et DJEKOUN A. 2009 - Water use efficiency and flag leaf photosynthetic in response to water deficit of durum wheat (*Triticum durum* Desf). World Journal of Agricultural Sciences. 5: 609-616.
- BRAY E A. 1997 - Plant responses to water deficit. Trends in Plant Science 2: 48-54.
- BRUGNOLI E et LAUTERI H. 1991 - Effects of salinity on stomatal conductance, photosynthetic capacity and carbon isotope discrimination of salt tolerant (*Gossypium hirsutum*L.) and salt sensitive (*Phaseolus vulgaris* L.) C3 non-halophytes. Plant Physiol, 95: 628-635.

- CASALS M.L. 1996 - Introduction des mécanismes de résistance à la sécheresse dans un modèle dynamique de croissance et de développement de blé dur. Thèse. Doc. INRA Paris Grignon, 86: 9-14.
- CHAFAI S. 2012 - Etude de l'effet du stress hydrique sur une collection de lignée de *Medicago truncatula*. Mèm. Master. Univ. ENSA El Harrache Alger. 83p.
- CHAFFEI C., PAGEAU K. et SUZUKI A. 2004 - Cadmium toxicity induced changes in nitrogen in *Lycopersicon esculentum* leading to metabolic safeguard through an amino-acid storage strategy plant. *Cell Physiology*, 45: 1681-1693.
- CHAHBAR S., SAHNOUNE M., ADDA A. et SOUALEM S. 2013 - Des paramètres morpho-physiologiques de la résistance à la sécheresse chez le blé dur (*Triticum durum* DESF). *Revue des Régions Arides*, 35 : 979-989.
- CHANCE B. et MAEHLY A.C. 1955 - Assay of Catalase and Peroxidase. *Methods in Enzymology*, 2: 764-775.
- CHERIEF A. et BOUHALILI M. 2018 - Effet de stress salin sur les paramètres morpho-physiologique, et biochimiques chez la fève *Vicia faba* L. Mèm. Master. Univ. Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem. 135p.
- DAMOUR G. 2008 - Bases théoriques et approches expérimentales de la modélisation des effets de la contrainte hydrique sur les échanges gazeux foliaires du manguier et du litchi. Thèse. Doc. Univ. Réunion. 284p.
- DEMARLY Y. 1984 - Mécanismes génétiques de l'adaptation chez les végétaux, *Bull.soc.bot.Fr, Actual. Bot*, 131: 125-137.
- DOWNTON W.J.S., LOVEYS B.R. et GRANT W.J.R. 1990 -Salinity effects on the stomatal behaviour of grapevine. *New Phytologist*, 116: 499-503.
- DUBOIS M., GILLES K.A., HAMILTON P.A., ROBEG A. et SMITH F. 1956 - Colometric method for determination of sugars and related substances analytical chemistry, 28: 350-356.
- EL MIDAQUI M., BENBELLA M., AÏT HOUSSA A., IBRIZ M. et TALOUIZTE A. 2007 - Contribution à l'étude de quelques mécanismes d'adaptation à la salinité chez le tournesol cultivé (*Helianthus annuus* L.), *Revue HTE*. 136: 29-34.
- ELMSEHLI S. 2009 - Les plantes et la perception des changements environnementaux. Compte rendu de la session 4: Biotic and abiotic stresses. 8ème Colloque National de la SFBV, Strasbourg, France, 20-25.

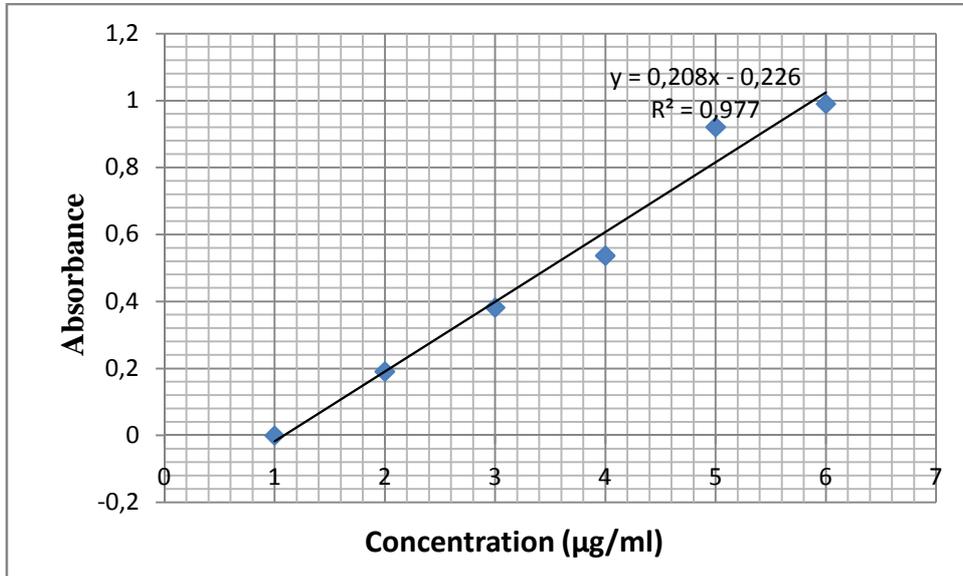
- ÉMILIE M. 2012 - Caractérisation et étude de la régulation d'une isoformecytosolique de peroxyredoxine chez les solanacées. Mém. MSB, Univ, Montréal, Canada. 78p.
- FELLAHI Z. 2017 - Analyse génétique d'un croisement line x tester, réponse à la sélection et tolérance des stress du blé tendre (*Triticum aestivum* L.) sous conditions semi-arides. Thèse. Doc. Univ. Ferhat Abbas Sétif1. 260p.
- GHAMNIA Y. 2014 - Action de la salinité sur les caractéristiques physiologiques, biométriques, hydriques et minérales de la fève *Vicia faba* L. conduite dans un substrat sableux à 7 % de bentonite. Thèse. Mag. Univ. Oran. 129p.
- HIRECHE Y. 2006 - Réponse de la luzerne (*Medicago sativa* L.) au stress hydrique et à la profondeur de semis. Thèse. Mag. Univ. Al Hady Lakhdar-Batna (Algérie), 83p.
- HOPKINS W.G. 2003 - Physiologie végétale. Ed: De Boeck Université, Bruxelles. 514p.
- HSU Y.T. et KAO C.H. 2004 - Phosphinothricin tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) seedlings is associated with elevated abscisic acid in the leaves. Bot. Bull. Acad. Sin. 45: 41-48.
- KABONGO T. 2018 - Evaluation de la sensibilité aux stress hydriques du maïs (*Zea mays* L.) cultivé dans la savane du sud-ouest de la RD Congo, cas de Mvuzi. Thèse. Doc. Univ. KINSHASA 1. 161p.
- KADRI A. et MIDOUN N. 2015 - Effet du stress salin sur quelques paramètres biochimiques de la luzerne cultivée (*Medicago sativa* L.). Mém. Master. Univ. KasdiMerbah Ouargla. 71p.
- KAMELI A. et LOSEL D.M. 1995 - Contribution of carbohydrates and other solutes to osmotic adjustment in wheat leaves under water stress. Plant. Physiol. 145: 363-366.
- KHALDI F. BERREBBAH H. et DJEBAR M.R. 2013 - Induction de biomarqueurs du stress oxydatif associé au stress de NPKs chez *Leucodonsciuroides* (Hedw.) Schwägr. Bulletin de l'Institut Scientifique, Rabat, Section Sciences de la Vie, 35: 67-74.
- KOTCHONI S.O., GACHOMO E.W., OMAFUVBE B.O. et SHONUKAN O.O. 2006 - Purification and Biochemical Characterization of Carboxymethyl Cellulase (CMCase) from a Catabolite Repression Insensitive Mutant of *Bacillus pumilus*. Int. J. Agri. Biol. 8: 286-292.
- LABERCHE J.C. 2004 - Biologie végétale - 2ème édition. Ed: Dunod, Paris. 280p.
- LEVITT J. 1980 - Responses of plants to environmental stress 2ème éd. Water, radiation, salt and other stresses physiological Ecology series. Acad. Press New York, 205-211.

- LICHTENTHALER H.K. 1987 - chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. Edit. Methods Enzymol. 148: 350-380.
- MAVOUNGOU A.Y., LEPENGUE A.N. et M'BATCHI B. 2015 - Antioxydants et phytochelatines dans la tolérance et l'accumulation du manganèse chez *Hibiscus sabdarifalinn*. EuropeanScientific Journal, 11(21): 435.
- MAZOUZ L. 2006 - Etude de la contribution des paramètres pheno-morphologiques dans l'adaptation du blé dur (*Triticumdurumdesf.*) dans l'étage bioclimatiques semi aride. Thèse. Mag. Univ. Hadj Lakhdar Batna. 70p.
- MEFTI M., ABDELGUERFI A. et CHEBOUTI A. 2000 - Etude de la tolérance à la sécheresse chez quelques populations de *Medicagotruncatula* L, Gaerth INA, El Harrach, Alger.
- MOLINARI H.B.C., MARUR C.J., DAROS E., DE CAMPOS M.K.F., DE CARVALHO J.F.R.P. et FILHO J.C.B. 2007 - Evaluation of the stress-inducible production of proline in transgenic sugarcane (*Saccharum spp.*): osmotic adjustment, chlorophyll fluorescence and oxidative stress. Physiol Plant, 130: 218-219.
- MORGAN J.M., HARE P.A. et FELETCHER R.J. 1986 - Genetic variation in asmoregulation in bread in durum wheats and itsrelationshp to grain yield in arrange of field environnements. Aust. J. gric. Res. 37: 449-457.
- MOUELLEF A. 2010 - Caractères physiologiques et biochimiques de tolérance du blé dur (*TriticumdurumDesf.*) au stress hydrique. Thèse. Mag. Univ. Mentouri, Constantine. 118p.
- NAKANO Y. et ASADA K. 1980 - Spinachchloroplastsscavenghydrogen peroxyde on illumination. PloaneCellPhysiol, 21: 1295-1307.
- NAKASHIMA M. 1998 - End-users Governance of Natural Resources: Irrigation Management Transfer in Mexico, Hiroshima Journal of International Studies, 4: 1-16.
- NEFFAR F. 2012 - Analyse de l'expression des gènes impliqués dans la réponse au stress abiotique dans différents génotypes de blé dur (*Triticumdurum*) et d'orge (*Hordeumvulgare*) soumis à la sécheresse. Thèse. Doc. Univ. Ferhat Abbas Sétif, 107p.
- NEMMAR M. 1983 - Contribution à l'étude de la résistance à la sècheresse chez les variétés de blé dur (*Triticumdurum. Desf*) et de blé tendre (*Triticumaestirum* L.) Evolution des teneurs en proline au cours du cycle de développement, Thèse. Doct. Ing. Montpellier, 108p.
  - PARIDA A. L. et DAS A. B. 2005 - Salt tolerance and salinity effect on plants. Review Ecotoxicology and Environmental Safety, 60: 324-349.

- PESCI P. et BEFFAGNA A. 1984 - Inhibiting effect of fusaric acid on abscisic acid induced proline accumulation in barley leaves. *Plant Sci. Letters*, 37: 7-12.
- SALMI M. 2015 - Caractérisation morpho-physiologique et biochimique de quelques générations F2 de blé dur (*Triticum durum* Desf.) sous conditions semi-arides. Thèse. Mag. Univ. Ferhat Abbas Sétif 1. 124p.
- SAULIA L. 2010 - Mise en évidence d'une réponse systémique induite. Caractérisation de l'impact de cette résistance induite sur le contrôle des populations de nématodes du bananier et de l'ananas. Mém. Master. Univ. Avignon. 118p.
- SWITALA J. et LOEWEN P. C. 2002 - Diversity of properties among catalase. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 401: 145-154.
- TAL M. et ROSENTHAL I. 1979 - Salt tolerance in *Simmondsia chinensis* water balance and accumulation of chloride sodium and proline under low and high salinity. *Ann. Bot.* 34: 701-708.
- TOUMI M., BARRIS S. et AID F. 2014 - Effets des stress hydrique et osmotique sur l'accumulation de proline et de malondialdéhyde (MDA) chez deux variétés de colza (*Brassica napus* L.). *Bulletin de l'Institut Scientifique, Rabat, Section Sciences de la Vie*, 36: 17-24.
- TURNER N.C. 1979 - Drought resistance and adaptation to water deficits in crop plants in stress physiology in crop plants, (H.W. Musselnd et, R.C Staples, ed, Wiley, (interscience) New York, 343-372.
- WECKES J.E.J. et CLIJSTERS H.M.M. 1996 - Oxidative damage and defense mechanisms in primary leaves of *Phaseolus vulgaris* L. as a result of root assimilation of toxic amounts of copper. *Physiologia Plantarum*, 96: 506-512.
- ZAIM A. 2014 - Etude de l'effet du manque d'eau sur la régulation de l'expression de quelques gènes chez des génotypes de luzerne annuelle. Mém. Master. Univ. Constantine 1. 57p.
- ZIADI S. 2001 - Les gènes PR-10 du pommier (*malus domestica*): identification, caractérisation et analyse de l'expression spatio-temporelle en réponse à une induction par l'acibenzolar-s-méthyl (ASM), un analogue fonctionnel de l'acide salicylique. Thèse. Doc. Univ. Rennes 1. 182p.

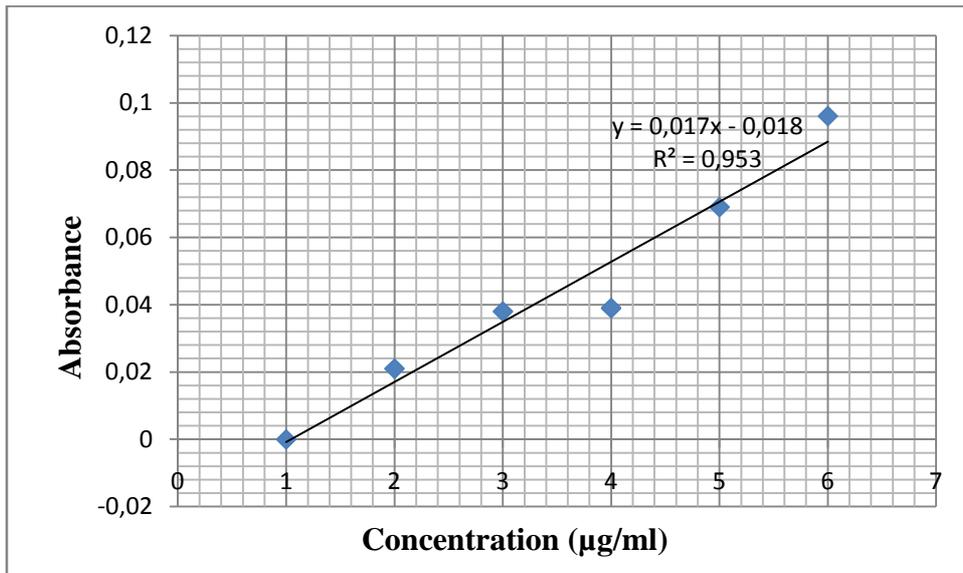
# **ANNEXES**

## Annexe 01 :



Courbe d'étalonnage des sucres solubles totaux.

## Annexe 02 :



Courbe d'étalonnage de la proline.

# RESUME

## المخلص

يهدف عملنا هذا إلى تقييم تأثير الإجهاد المائي على الخصائص الفيزيولوجية و البيوكيميائية لشجيرة الفصة (M.arborea .L).

أظهرت النتائج المتحصل عليها أن للإجهاد المائي تأثيرا على جميع الصفات المورفوفيزيولوجية المقاسة وهي: الوزن، الطول، المحتوى المائي و كمية الأصبغة اليخضورية كما انه يؤدي إلى تراكم المواد الذائبة، السكريات الذائبة والبرولين، مصحوبا بزيادة في النشاط الإنزيمي للكatalاز.

**الكلمات المفتاحية:** الإجهاد المائي، الفصة، الصفات الفيزيولوجية، الصفات البيوكيميائية، النشاط الإنزيمي.

## ABSTRACT

Our work aims to evaluate the effect of water stress on physiological and biochemical parameters of tree alfalfa (*Medicagoarborea L.*). The obtained results showed that this stress has a depressive effect on all measured morpho-physiological characters, namely: weight, length, water content and chlorophyll pigments content. It also results in an accumulation of osmolytes, proline and total soluble sugars, accompanied by an increase in CAT enzymatic activity.

**Key words:** Water stress, alfalfa, physiological parameters, biochemical parameters, enzymatic activity.

## RESUME

Notre travail vise à l'évaluation de l'effet du stress hydrique sur les paramètres physiologique et biochimique de la luzerne arborescente (*Medicagoarborea L.*). Les résultats obtenus ont montré que la sécheresse a un effet dépressif sur tous les caractères morpho-physiologiques mesurés à savoir : le poids, la longueur, la teneur en eau et les teneurs en pigments chlorophylliennes. Il se traduit également par une accumulation des osmolytes, la proline et les sucres totaux solubles, accompagnée par un accroissement de l'ymatique de la catalase.

**Mots clés :** Stress hydrique, luzerne arborescente, paramètres physiologique, paramètres biochimique, activité enzymatique.