

REMERCIEMENTS

Avant tout, nous remercions « Allah » le tout puissant de nous avoir donné le privilège et la chance d'étudier et de suivre le chemin de la science et qui nous a donné le courage ; la volonté et la patience pour faire ce modeste travail, ainsi qu'à mes parents.

J'adresse tout d'abord mes sincères remerciements à Mme. LALLOUCHE B. et Mr. HADJ KOUIDER B. Mes promoteurs pour ses orientations, leur aide, leurs précieux conseils et leur grande patience qui m'ont guidé dans la réalisation de ce travail. Nous adresse notre profonds remerciements à : Mr. GUENDOUZEN O. pour avoir bien voulu accepter de présider notre jury de mémoire. Mr. TOURCHIT N. pour avoir accepté d'examiner ce travail et de faire partie de notre jury de mémoire. Le grand remerciement revient au personnel du département d'agronomie.

SAIDI S. ET THAMEUR M.

ملخص

تهدف هذه الدراسة التجريبية إلى معرفة تأثير مستويات مختلفة من الإجهاد الملحي (0، 0.365، 0.73، 1.46 و 2.92 غرام / لتر كلوريد الصوديوم) على مدة الانتاش، متوسط زمن الانبات، الخصائص المورفولوجية (الساق، الجذر، عدد الأوراق) والبيوكيميائية، محتوى البرولين ومحتوى السكر القابل للذوبان في الاوراق لنوع من الفراولة (*fragaria x ananassa*).

أظهرت النتائج أن كلوريد الصوديوم يتسبب في انخفاض متوسط طول الساق، الجذر و عدد الأوراق إلى مستويات الاجهاد القوية (2.92 غ / لتر-1 كلوريد الصوديوم)، وكذلك في انخفاض محتوى السكر و زيادة محتوى البرولين.

كما بينت الدراسة أن بذور النباتات الزجاجة (*fragaria x ananassa*) مقاومة للغاية و قادرة على الانبات بعد تعريضها لملوحة تصل إلى (2.92 غ / لتر كلوريد الصوديوم) وربما لتركيز أعلى من ذلك.

كلمات البحث: الإجهاد الملحي، الفرولة، مدة الانتاش، متوسط زمن الإنبات الخصائص المورفولوجية و البيو كيميائية ، النباتات الزجاجة.

RESUME

Cette étude à objectif d'étudier l'effet du stress salin sur le taux et temps moyen de latence et sur les caractères morphologiques et biochimiques d'une espèce de fraisier (*fragaria x ananassa*) avec une expérimentation in vitro. Elle a permis de mettre en évidence l'influence des différents niveaux de stress salin (0, 0,365, 0,73, 1,46 et 2,92 g/l⁻¹ de NaCl) sur le taux et temps moyen de germination, sur la morphologique (longueur de tige et de racine, nombre de feuilles), sur la teneur en proline et la teneur en sucres solubles des feuilles. Les résultats obtenus montrent que le NaCl provoqué une diminution taux moyen de germination de longueur de tige et de racine et aussi une diminution de nombre de feuilles à des forts niveaux de stress (2,92 g/l⁻¹ de NaCl) avec une augmentation de de la teneur en proline et dumunion de teneur des sucres solubles. Concernant le comportement des graines et les vitro-semis de *fragaria x ananassa* vis-à-vis de la salinité, notre étude montre qu'elles sont particulièrement tolérantes et qu'elles sont capables de germer après un traitement allant jusqu'à 2,29 g/l⁻¹ NaCl et probablement à une concentration encore plus élevée.

Mots clés : Stress salin, *fragaria x ananassa*, taux de germination, temps de latence, Caractère morphologique, Caractère biochimique, in vitro.

ABSTRACT

This study aims to study the effect of salt stress on the average rate and latency and the morphological and biochemical characteristics of a species of strawberry (*fragaria x ananassa*) with an experiment. It helped to highlight the influence of different salt stress levels (0, 0,356, 0,73, 1,46 and 2,92 g/l⁻¹ NaCl) and the average time of germination, on morphological (stem length and stive, number of leaves), the proline content and soluble sugar content of the leaves. The results show that NaCl caused a decrease in average stem length of germination and root and also a decrease in number of sheets to high stress levels (2,92 g / l⁻¹ NaCl) with an increase of proline content and as soluble sugars. About the behavior of seeds and sod of *fragaria x ananassa* agianst salinity, our study shows that they are particularly tolerant and are capable of germinating after treatment up to 2,29 g/l⁻¹ NaCl and probably to an even higher concentration.

Keywords: Stress saline, *fragaria x ananassa*, germination rate, latency, morphological character, biochemical character. In vitro .

LISTE DES FIGURES

Figure 1.1: Origien de <i>fragaria x ananassa</i>	12
Figure 1.2: Plant de <i>fragaria x ananassa</i>	14
Figure 1.3: Stolons de <i>fragaria x ananassa</i>	14
Figure 1.4: Fleur du fraisier.....	16
Figure 1.5: Fruits du fraiser.....	17
Figure 1.6 : Schéma d'un bourgeon axillaire se développant en stolon	17
Figure 4.1: Taux et temps moyens de germination de <i>fragaria x ananassa</i> sous l'effet de NaCl.....	41
Figure 4.2: Longueur de la tige de <i>fragaria x ananassa</i> sous différentes concentrations de NaCl.....	45
Figure 4.3: Vitro-semis de <i>fragaria x ananassa</i> sous différentes concentrations de NaCl.....	45
Figure 4.4: Longueur de la partie racinaire de <i>fragaria x ananassa</i> sous différentes concentrations de NaCl.....	47
Figure 4.5: Nombre de racine de <i>fragaria x ananassa</i> sous différentes concentrations de NaCl.....	48
Figure 4.6: Variation de la teneur en proline de <i>fragaria x ananassa</i> sous l'effet de NaCl.....	50
Figure 4.7: Variation de la teneur en sucre soluble de <i>fragaria x ananassa</i> sous l'effet de NaCl.....	51

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 3.1. : Composition des milieux de culture utilisés.....	30
Tableau 3.2: Différentes concentration de NaCl utilisée.....	33
Tableau 4.1: Test statistique de signification de Fisher a $\alpha=5\%$ de Taux et temps moyen de germination des plantes de <i>fragaria x ananassa</i> stressées pendant 30 jours aux différents niveaux de NaCl.	40
Tableau 4.2: Test statistique de signification de Fisher a $\alpha=5\%$ de longueur de la tige des plantes de <i>fragaria x ananassa</i> stressées pendant 30 jours aux différents niveaux de NaCl.	43
Tableau 4.3: Test statistique de signification de Fisher a $\alpha=5\%$ de la longueur des racines des plantes de <i>fragaria x ananassa</i> stressées pendant 30 jours aux différents niveaux de NaCl.	47
Tableau 4.4: Test statistique de signification de Fisher a $\alpha=5\%$ de nombre de feuilles des plantes de <i>fragaria x ananassa</i> stressées pendant 30 jours aux différents niveaux de NaCl.	47
Tableau 4.5: Test statistique de signification de Fisher a $\alpha=5\%$ de la teneur en proline des plantes de <i>fragaria x ananassa</i> stressées pendant 30 jours aux différents niveaux de NaCl.	49
Tableau 4.6: Test statistique de signification de Fisher a $\alpha=5\%$ de la teneur en sucres solubles des plantes de <i>fragaria x ananassa</i> stressées pendant 30 jours aux différents niveaux de NaCl.....	51

TABLE DE MATIERE

INTRODUCTION.....	8
CHAPITRE I: PRESENTATION DE L'ESPECE.....	10
1. L’histoire de la culture du fraisier.....	10
2. Classification botanique et description morphologiques.....	13
2.1.Classification botanique.....	13
2.2.Description botanique du fraisier	14
3. Multiplication végétative par la production de stolons.....	17
CHAPITRE II: GENERALITE SUR LA SALINITE CHEZ LES VEGETAUX	18
1. Définition de la salinité	18
2. Cause de la salinisation des sols.....	18
3. Origine de la salinité des sols.....	19
4. Impact du stress salin chez les plantes.....	20
5. Conséquences de la salinité sur la croissance et le développement de la plante	21
6. Réponse et la stratégie adaptative de la plante aux stress salin.....	25
CHAPITRE III: MATERIELS ET METHODES.....	28
CHAPITRE IV: RESULTATS ET DISCUSSIONS.....	39
1. Taux et temps moyens de germination.....	39
2. Paramètres biométriques.....	42
2.1. Longueur de tige.....	42
2.2. Longueur de racine.....	45
2.3. Nombre de feuilles.....	46
3. Paramètre biochimiques.....	48
3.1. Teneur en proline.....	48
3.2. Teneur en sucre solubles.....	49
CONCLUSION.....	53
REFERNES BIBLIOGRAPHIQUES	54
ANNEXE.....	61

INTRODUCTION

La salinisation est le processus majeur de la dégradation des terres. En moyenne, le monde perd 10 hectares de terres cultivables par minute, dont 3 hectares à cause de la salinisation (IPTRID, 2006). 10 à 15% des surfaces irriguées (20 à 30 millions d'hectares) souffrent, à des degrés divers, de problèmes de salinisation (Mermoud, 2006). En Afrique, près de 40 M d'hectares sont affectés par la salinisation, soit près de 2% de la surface totale (IPTRID, 2006). Les sols salins sont très répandus à la surface du globe, leur salinité constitue l'un des principaux problèmes du développement agricole (Beldjoudi, 2002).

Les zones arides et semi-arides couvrent une grande partie des pays de la frange méridionale du pourtour méditerranéen. Dans ces régions, la disponibilité des eaux, leur salinité et celle des sols sont parmi les principaux facteurs limitant la productivité végétale (Zid et Grignon, 1991). L'introduction des espèces tolérantes au stress salin est l'une des techniques utilisées pour faire face à ce problème.

La capacité d'évaluer les performances des plantes cultivées ou spontanées subissant un stress salin est très importante au niveau des programmes de recherche qui visent la réhabilitation et l'amélioration de la production en région semi-aride et aride. De nombreux chercheurs travaillent sur la réponse des plantes à la salinité afin de produire le maximum de biomasse ou de graines en condition de stress salin.

L'identification et la diversification des espèces qui présentent de nombreuses possibilités d'utilisation (médicinale, fourragère, matériaux à haute valeur économique, source de substances bioactives, dessalement des sols et phytoremédiation) adaptées aux conditions contraignantes de ces milieux passent par la compréhension des mécanismes physiologiques et morphologiques impliqués dans leur tolérance à la salinité.

En réponse au stress salin, les plantes simulent des changements significatifs que ce soit sur le plan morphologique ou physiologique.

Parmi ces espèces : *Fragaria X ananasa* qui appartiennent à la famille des Rosacées (*Rosaceae*).

L'objectif de cette étude est de déterminer l'effet du stress salin sur le taux et le temps moyen de germination et sur les caractères morphologiques et biochimiques d'une espèce du fraisier (*Fragaria X ananassa dush*).

CHAPITER I

PRESENTATION DE L'ESPECE

1.1. L'histoire de la culture du fraisier

Le fraisier appartient à la famille des Rosacées (*Rosaceae*) qui compte plus de 90 genres et 3000 espèces (Potter et al. 2007). Cette famille constitue la troisième famille de plantes la plus importante économiquement grâce, d'une part, à la production de fruits de haute qualité nutritionnelle dont notamment les arbres fruitiers tels que le pommier, le poirier, le pêcher et le cerisier, et les petits fruits tels que la fraise et la framboise, et, d'autre part, grâce aux plantes ornementales de haute qualité esthétique comme le rosier ou la potentille (Dirlewanger et al. 2002).

En Europe, les premières citations mentionnant le fraisier datent de la période romaine et portent sur ses propriétés médicinales. Jusqu'au Moyen Age, l'espèce de fraisier récoltée est *Fragaria vesca*, la fraise des bois. Au Moyen Age, *F. moschata*, lui succède car elle présente de plus gros fruits. La culture du fraisier n'apparaît clairement en Europe qu'au milieu du XIV^{ème} siècle. En 1368, le roi Charles V fait demander à son jardinier, Jean Dudoy, de planter 1200 plants de fraisiers dans les jardins royaux du Louvre à Paris. Un autre témoignage de la fraise comme fruit cultivé est sa disponibilité sur les étals londoniens en 1430. Dans les années 1500, les références sur la culture de ce fruit se multiplient. En 1548, la description de la conduite culturale apparaît dans «L'agriculture et Maison rustique». Enfin, à la fin du XVI^{ème} siècle, la popularité des fraisiers est générale (Potter et al., 2007).

Au niveau botanique, le fraisier a fait l'objet d'une description détaillée pour la première fois en 1484 dans «Herbarius latinus monguntiae». Les médecins et apothicaires l'utilisent à fin médicinale. A cette époque, les botanistes décrivent les trois espèces présentes en Europe : *F. vesca*, *F. moschata* et *F. viridis*. Chez *F. vesca*, ils distinguent différentes « races » dont principalement *F. vesca subsp. alba* qui produit

des fruits blancs, et *F. vesca subsp. semperflorens* qui fleurit continuellement. La première description de cette dernière « espèce » remonte au XVIème siècle et a été réalisée par Jérôme Bock en 1532 (Duchesne, 1766). Par la suite, Duchesne en donnera une description très détaillée dans son livre «Domestication de *F. virginiana* et *F. chiloensis* Au XVIIème siècle, des plants de *F. virginiana*, prélevés aux Amériques, en Virginie, sont introduits en Europe (France, Angleterre, Suède). Ces fraisiers plus vigoureux, plus rustiques et produisant de plus gros fruits que les fraisiers européens (*F. moschata* ou *F. vesca*), se développeront rapidement dans la première moitié du XVIIIème siècle, et principalement en Angleterre. Histoire des fraisiers » (1766) (Potter et al., 2007).

En 1716, une autre espèce d'origine américaine, *F. chiloensis*, prélevée au Chili, fut introduite en Europe par le capitaine Amédée Frézier. Au Chili, cette espèce produisait de gros fruits aromatiques, mais, une fois introduits en Europe, ces fraisiers fleurissaient mais ne donnaient plus de fruits. Amédée Frézier avait par inadvertance prélevé des plants mâles stériles. Les plants furent propagés par stolons et cultivés dans de nombreux jardins botaniques d'Europe (Darrow, 1966). Les horticulteurs français avaient cependant découvert que *F. chiloensis* pouvait en produire lorsqu'il était localisé près de plants de *F. moschata*. Le fraisier *F. chiloensis* ne devint jamais populaire en Europe en dehors de la Grande-Bretagne car il nécessitait un pollinisateur. Origine du fraisier cultivé octoploïde, *F. x ananassa* (Potter et al., 2007).

Au XVIIIème siècle, la présence simultanée des deux espèces d'origine américaines, *F. virginiana* et *F. chiloensis* a permis d'obtenir des plants cumulant les avantages des deux espèces, l'arôme et la taille des fruits de *F. chiloensis* et capacité de production de stolons de *F. virginiana*. En 1766, Duchesne est le premier à émettre l'hypothèse que ces nouvelles plantes étaient des hybrides interspécifiques issus de la pollinisation de *F. chiloensis* par *F. virginiana* et l'appela *F. x ananassa* car il trouvait que le fruit sentait l'ananas (Figure 1.1) (Potter et al., 2007).

A partir de 1800, les sélectionneurs ne cesseront pas d'améliorer ce fraisier pour donner les centaines de variétés existantes aujourd'hui.

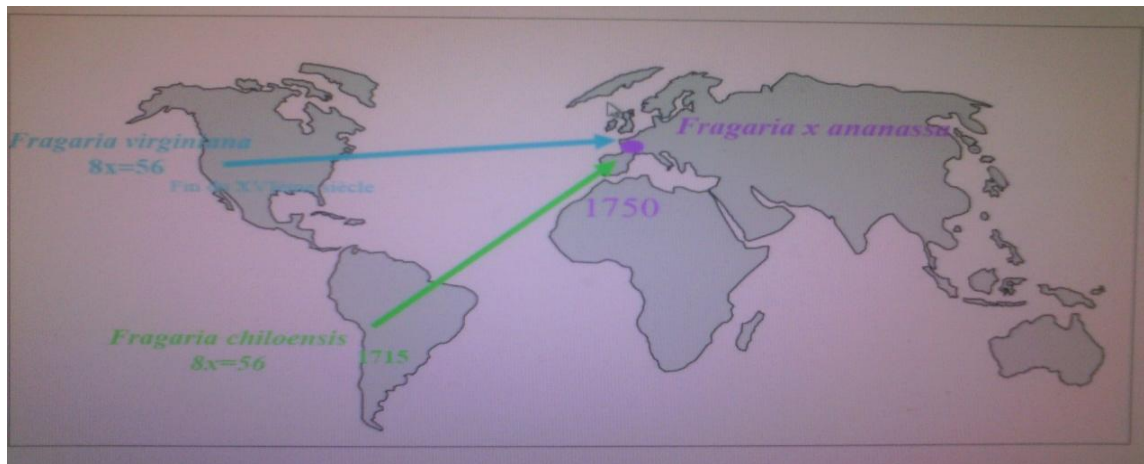


Figure 1.1: Origien de *fragaria x ananassa* (Potter et al., 2007)

1.2. Classification botanique et description morphologiques

1.2.1. Classification botanique (Potter et al., 2007).

Règne : *Plantae*

Sous règne : *Tacheobionta*

Division : *Magnoliopsida*

Classe : *Magnoliopsida*

Sous classe : *Rosidae*

Ordre : *Rosales*

Famille : *Rosaceae*

Genre : *Fragaria*

Le genre *Fragaria* appartient à la famille des *Rosacées*. Cette famille comprend des espèces d'importance économique telles que des arbres fruitiers (pommier, pêcher, cerisier, abricotier), des espèces herbacées fruitières (fraisier, framboisier) et des plantes ornementales (rosier, potentiller) (Figure 14). Le genre *Fragaria* appartient à la sous-famille des *Rosoïdées* qui regroupe également les genres *Rubus*, *Potentilla* et *Rosa* (Potter et al., 2007).

Le genre *Fragaria* regroupe 20 espèces sauvages de différents niveaux de ploïdie, du diploïde (e.g. fraisier des bois *F. vesca*, $2n=2x=14$) à octoploïde ($2n=8x=56$) (Figure 15). Une espèce décaploïde, *F. iturupensis*, a très récemment été décrite

(Hummer et al., 2009). Ainsi, parmi les 20 espèces de fraisier, 11 sont diploïdes, cinq tétraploïdes, une hexaploïde, deux octoploïdes et une décaploïde. Le fraisier cultivé, *F. x ananassa*, est un hybride interspécifique issu du croisement entre deux espèces octoploïdes *F. virginiana* et *F. chiloensis*.

Chez le genre *Fragaria*, la polyploïde semble résulter de l'unification de gamètes non réduits (Hancock et al., 1999; Hummer et al., 2009). Cet événement pourrait être de l'ordre de 1% (Hancock et al., 1999).

1.2.2. Description morphologiques

1.2.2.1. La plante :

Le fraisier est une plante dicotylédone herbacée pérenne formée d'une tige ramassée aux entre-nœuds courts et avec des feuilles trifoliées alternes assemblées en rosette (figure 1.2) (Guttridge 1955). Cependant, on note la présence de xylème secondaire dans les racines et les tiges principales qui le rapproche des plantes ligneuses (Darrow 1966 ; Esau 1977). La tige avec le bourgeon terminal forme une structure appelée « cœur ». Les méristèmes axillaires du cœur présents à l'aisselle de chaque feuille peuvent rester dormants, se différencier en un stolon, ou initier un nouveau cœur annexe qui aura une structure identique au cœur mère. La structure des stolons et des cœurs annexes renvoie à celle des rameaux longs et des rameaux courts des rosacées fruitières comme le pommier, le poirier, le cerisier ou l'abricotier où les rameaux longs présentent de longs entre-nœuds et les rameaux courts ont une apparence de rosette et portent les fleurs (Foster et al. 2003).



Figure 1.2: Plante de fraisie (*fragaria x ananassa dush*)

1.2.2.2. Les stolons

Les stolons sont des ramifications particulières dont les deux premiers entre-nœuds sont très allongés. A partir du second nœud, une nouvelle rosette se met en place en position terminale, puis le développement de nouveaux entre-nœuds se poursuit à partir du méristème axillaire et un nouveau plant se formera à chaque nœud formant ainsi une chaîne (Savini et al. 2005). Le même auteur ajoute que le nouveau plant au contact avec le sol va produire des racines, le jeune plant ainsi formé pourra devenir autonome. Les stolons ont un comportement "sylleptique", leur développement suit immédiatement leur formation à partir des méristèmes axillaires, sans phase de repos. Ainsi leur apparition suit de très près leur initiation (figure 1.3).



Figure 1.3: Stolons de fraisie (*fragaria x ananassa duch*)

Le fraisier est à croissance déterminée, l'inflorescence se formant au niveau du méristème terminal. La différenciation du méristème terminal permet de lever la

dominance apicale, ce qui permet au premier, voire au deuxième, méristème situé juste en dessous du méristème terminal d'être initié. Après le développement de deux à quatre feuilles, le méristème mettra en place une nouvelle hampe en position terminale (Perrotte, 2013)..

Le développement du plant de fraisier est sympodial comme celui de la tomate. Ainsi, après la floraison, la croissance végétative reprend à partir du méristème axillaire le plus proche de l'inflorescence. Cette dernière est rejetée sur le côté du plant au moment de la mise à fruit, ce qui donne l'impression d'une croissance monopodiale.

En résumé, les hampes florales sont toujours formées en position terminale et les stolons et les cœurs annexes sont initiés à partir des méristèmes axillaires (Perrotte, 2013).

1.2.2.3. L'inflorescence :

L'inflorescence est une cyme bipare à croissance déterminée. La fleur primaire, la plus grande, produira le plus gros fruit de la hampe. Chez les variétés modernes, des fleurs secondaires se développent sur chacune des deux ou trois branches formées de façon opposée et en dessous de la fleur primaire sur l'axe floral principal. Elles présentent un stade de différenciation moins avancé, qui correspond à cinq-huit jours de retard par rapport au développement de la fleur primaire chez le diploïde (Hollender et al. 2012). L'inflorescence poursuit son développement et devient strictement bipare avec la formation de deux fleurs tertiaires sur chaque branche secondaire et de deux fleurs quaternaires sur les axes tertiaires (Anderson & Guttridge 1982). Le plus souvent, les fleurs primaires et secondaires se développent normalement alors que la plupart des fleurs tertiaires et quaternaires avorte (Anderson & Guttridge 1982). Le nombre de fleurs se développant par inflorescence est contrôlé partiellement par la température (Le Mière et al. 1996) et par le choix du génotype.

1.2.2.4. La fleur :

Le fraisier cultivé présente la fleur classique des Rosacées. Les verticilles sont construits sur une base typique de 5 et la différenciation des organes se fait de l'extérieur vers l'intérieur. La fleur est composée de cinq bractées vertes, de cinq sépales vertes, de cinq pétales blancs, de 20 étamines chez le fraisier diploïde et 25 chez le fraisier

octoploïde réparties sur deux ou trois cercles à l'intérieur des pétales et enfin d'un nombre très important de pistils incérés en spirale sur un réceptacle charnu. Chaque pistil enferme un carpelle avec un ovaire et un ovule (Figure 1.4). Treize stades de développement ont été décrits pour la mise en place de la fleur : les stades 1 à 4 regroupent le développement précoce de la fleur ; les stades 5 à 7 correspondent à l'initiation et au développement des organes reproducteurs ; les stades 8 à 13 correspondent à la différenciation des organes floraux (Hollender et al. 2012).

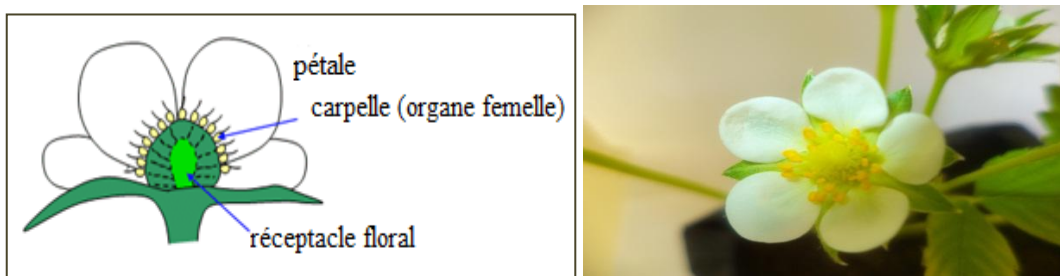


Figure 1.4: Fleur du fraisier

1.2.2.5. Le fruit :

Le fruit du fraisier est l'akène, fruit sec qui contient la graine. Les akènes sont portés par le réceptacle qui se développe au cours du mûrissement en un organe charnu (Figure 1.5). Par la suite, le réceptacle charnu sera désigné sous le terme de fruit. La fraise est considérée comme un fruit non climactérique (Hancock 1999) mais l'influence de l'éthylène sur la teneur en composés volatils, sur la couleur ou encore la production d'enzymes impliquées dans le mûrissement n'est pas encore claire même s'il semble être requis pour le développement normal du fruit (Merchante et al. 2013).

Le grossissement du réceptacle est dû à la sécrétion d'auxine par les akènes fertilisés.

En l'absence de fertilisation ou si les akènes sont supprimés, le réceptacle ne se développe pas (Nitsch, 1950). En revanche, le mûrissement du fruit et la coloration rouge ne commencent qu'une fois la taille définitive du fruit atteinte et sont concordants avec la diminution de la production d'auxine (Archbold et Dennis 1985).

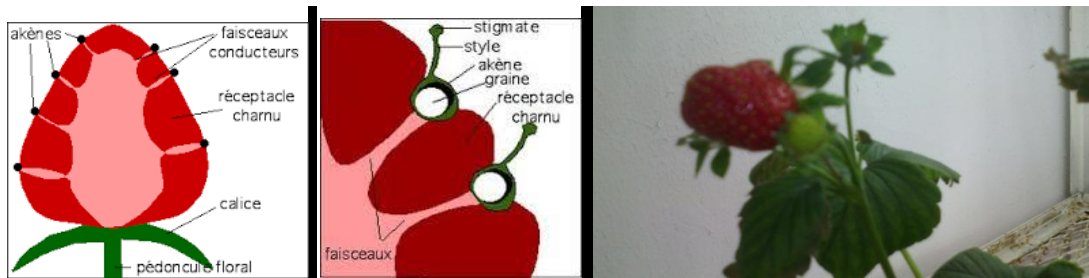


Figure 1.5: Fruits du fraisier

1.3. Multiplication végétative par la production de stolons

Le fraisier est capable de se multiplier végétativement grâce aux stolons. Les stolons sont des ramifications particulières dont les deux premiers entre-nœuds sont anormalement allongés. Le second nœud au contact avec le sol va entraîner la production de racines, puis la vie autonome du jeune plant ainsi formé (Figure 1.6). Les stolons sont produits par les bourgeons axillaires qui selon les conditions environnementales produisent des stolons ou des ramifications secondaires de la tige principale. Les stolons permettent d'obtenir de nombreux clones d'un même génotype. D'une façon générale, tout comme la floraison, la production de stolons est affectée par la température et la photopériode (Stewart and Folta, 2010). Les conditions photo-thermiques favorables à la production de stolons sont spécifiques du génotype. En général, la production de stolons est stimulée par des jours longs (>14-16h) et des températures élevées (>17-20°C) (Bradford et al., 2010). L'inhibition de la production de stolons en jours courts semble liée aux métabolismes des gibbérellines (Hytonen et al., 2009).

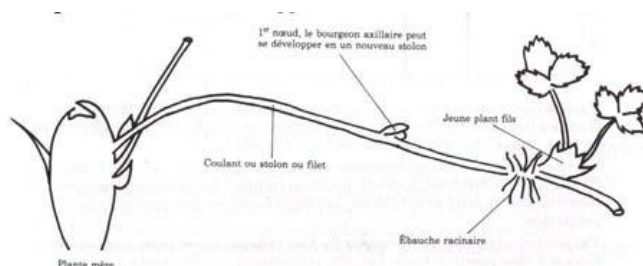


Figure 1.6 : Schéma d'un bourgeon axillaire se développant en stolon (Hytonen et al., 2009)

CHAPITRE II

GENERALITE SUR LE STRESS ET LA SALINITE CHEZ LES VEGETAUX

2.1. Définition de la salinité

Selon Mermoud, 2006 la salinité est le processus d'accumulation des sels à la surface du sol et dans la zone racinaire qui occasionne des effets nocifs sur les végétaux et le sol ; il s'en suit une diminution des rendements et, à terme, une stérilisation du sol. D'après Bouchar, 2010, c'est est la quantité de sels secs dissous dans l'eau. Elle est donnée en partie par milliers notée aussi ‰ ou *psu* (*practical salinity unit*). 1 PSU correspond à 1 gramme de sel sec par kilogramme d'eau). La salinisation est l'accumulation de sels hydrosolubles dans le sol. Ces sels sont le potassium (K^+), le magnésium (Mg^{2+}), le calcium (Ca^{2+}), le chlorure (Cl^-), le sulfate (SO_4^{2-}), le carbonate (CO_3^{2-}), le bicarbonate (HCO_3^-) et le sodium (Na^+). Tout d'abord, la salinisation implique une accumulation de sel par des processus naturels du fait d'une forte teneur en sel du matériau parent ou des nappes souterraines. En second lieu, la salinisation est provoquée par des interventions humaines, telles que des pratiques d'irrigation inappropriées, par exemple avec de l'eau d'irrigation riche en sel et/ou par un drainage insuffisant. On définit en général deux types de salinité : la salinité primaire et la salinité secondaire. La première résulte de la présence initiale de sels dans le sol ou dans la nappe phréatique. La seconde résulte des apports de l'eau d'irrigation (Farissi et *al.*, 2014). Des concentrations élevées en sel dans la rhizosphère provoquent un stress du fait du déficit en eau et de la toxicité des ions. En fait, le terme de stress salin s'applique surtout à un excès d'ions, en particulier, mais pas exclusivement, aux ions Na^+ et Cl^- (Hopkins, 2003).

2.2. Cause et lorigine de la salinisation des sols

2.2.1. La salinisation primaire: 80% des terres salinisées ont une origine naturelle. On parle alors de salinisation "primaire", due aux sels se formant lors de l'altération des roches ou à des apports naturels externes. (FAO, 2006). Selon CITEAU et *al* (2008) la salinisation primaire qui est liée à la proximité de l'océane ou à l'altération de roche salines.

2.2.2. La salinisation secondaire: 20% des terres salinisées, soit près de 15 M ha sur le continent Africain, ont une origine « anthropique ». On parle alors de salinisation “secondaire”, induite par l’activité humaine, liée aux pratiques agricoles et en particulier à l’irrigation (FAO, 2006). Selon Citeau et al, (2008) la salinisation secondaire d'origine anthropique, liée principalement à la pratique de l'irrigation avec des eaux légèrement salée.

2.3. Origine de la salinité des sols

L'origine des sels responsables de cette salinité est diverse : marine actuelle ou ancienne, pétrographique due aux ions libérés par l’altération de certaines roches sédimentaire, volcanique, hydrothermale, éolienne apportée par des embruns ; elle est aussi très souvent anthropique induite par la mise en valeur hydro agricole et autres ménagements (eaux d’irrigation, ré- montées de nappes phréatiques, engrais, solutions nutritives des serres et des cultures hors sol, effluents urbains, etc.) (Loyer, 1991).

2.3.1. Salinisation d'origine géologique: Le matériau géologique, par le biais de l’altération, peut libérer les éléments nécessaires à la formation des sels solubles (altération de minéraux primaires riches en sodium, de roches volcaniques, des produits de l’hydrothermalisme riches en soufre et en chlore, ou encore dissolution des évaporâtes, qui sont des accumulations salines anciennes). (IRD, 2008)

A mesure que les roches et les sols sont érodés par l'eau, de petites quantités des sels minéraux qu'ils contiennent sont entraînées jusque dans les fleuves et les couches aquifères, s'infiltrant ainsi dans l'eau d'irrigation. Si on utilise trop peu d'eau dans un champ, les sels s'incrustent dans le sol. (FAO, 2002).

2.3.2. Salinisation d'origine marine lagunaire: L’origine des sels peut se trouver dans les dépôts lagunaires ou matériaux salés plus ou moins récents qui peuvent être eux-mêmes des roches mères des sols et fournir leurs sels aux oueds qui les transportent jusqu’aux nappes superficielles plus ou moins profondes sous les sols des vallées et basses plaines (Baba Sidi-kaci, 2010). L'eau de mer peut enrichir les sels solubles lors des ray de marée ou lorsque elle est en relation avec des nappes phréatiques peu profondes (Ben azouaou et Djamai, 2012).

2.3.3. Salinisation d'origine anthropique: Selon MARLET (2004) Le développement de l'irrigation s'est, dans la majorité des situations, accompagné de l'apparition de processus de salinisation, de sodisation ou d'alcalinisation des sols à des degrés d'importance divers. Selon Nicolas et al, (2011) «Salinisation secondaire » est principalement due à trois facteurs anthropiques. Les pratiques agricoles, et en particulier une irrigation associée à un mauvais système de drainage. Selon Boualla et al, (2012) le risque de salinisation dépend de la charge en sel de l'eau d'irrigation.

L'aridité du climat, les pratiques culturelles mal adaptées et la mauvaise qualité des eaux d'irrigation amplifient et s'ajoutent à ce phénomène de salinisation (Hamrouni et al, 2011).

2.4. Impact du stress salin chez les plantes

L'accumulation de sels (et en particulier des sels de sodium) est une des principales menaces physiologiques qui pèse sur les écosystèmes. Le sel perturbe le développement des végétaux en limitant l'assimilation des éléments nutritifs et en réduisant la qualité de l'eau à disposition pour les végétaux. Il affecte le métabolisme des organismes du sol et mène à une réduction importante de la fertilité du sol. Un niveau de salinité élevé des sols provoque le flétrissement des plantes du fait d'une augmentation de la pression osmotique et des effets toxiques des sels (Sustainable Agriculture and Soil Conservation 2007-2009). La concentration en sels dans l'environnement d'une plante varie énormément, elle peut être insuffisante ou excessive. Bien qu'elle constitue pratiquement un stress induit par de faibles concentrations salines, une carence en un ion se manifeste généralement sous la forme d'un problème nutritionnel (Hopkins, 2003). Beaucoup de sols et eaux contiennent des teneurs en sels qui peuvent inhiber la croissance et le rendement de l'agriculture (Rochdi et al., 2005). D'après Levigneron et al., 1995 les conséquences d'un stress salin peuvent résulter de trois types d'effets que le sel provoque les plantes.

4.1. Le stress hydrique: Une forte concentration saline dans le sol est tout d'abord perçue par la plante comme une forte diminution de la disponibilité en eau. Cela nécessite un ajustement osmotique adapté, afin que le potentiel hydrique cellulaire demeure inférieur à celui du milieu extracellulaire et à celui du sol. Ce phénomène assure d'une part, la poursuite de l'absorption de l'eau du sol, et d'autre part, la rétention de l'eau intracellulaire et le maintien de la turgescence. Lorsque l'ajustement

osmotique n'est pas suffisant, l'eau a tendance à quitter les cellules, ce qui provoque un déficit hydrique et la perte de la turgescence.

2.4.1. Le stress ionique: En dépit d'un ajustement osmotique correct, la toxicité ionique survient lorsque l'accumulation de sels dans les tissus perturbe l'activité métabolique;

2.4.2. Le stress nutritionnel: Des concentrations salines trop fortes dans le milieu, provoquent une altération de la nutrition minérale, en particulier vis-à-vis des transporteurs ioniques cellulaires. Le sodium entre en compétition avec le potassium et le calcium, et le chlorure avec le nitrate, le phosphore et le sulfate.

2.5. Conséquences de la salinité sur la croissance et le développement de la plante

La salinité excessive affecte la rhizosphère et limite la répartition des plantes dans leur habitat naturel (Denden et al, 2005). Elle affecte la croissance des plantes. Les sels dans les sols sont principalement composée de NaCl, mais aussi de calcium, magnésium, carbonate, bicarbonates, sulfates et d'autre ions. Ces ions sont toxiques pour la plupart des plantes à haut concentration. Le sel peut aussi inhiber la capacité des plantes à capter l'eau du sol (Enita, 2000). La salinité constitue une contrainte importante dans de nombreuses régions du monde et limite sévèrement la fixation symbiotique de l'azote. En effet, la salinité agit sur la survie et la prolifération des rhizobia au niveau du sol et la rhizosphère, inhibe le processus d'infection et affecte directement le fonctionnement des nodules au niveau des racines, affectant ainsi la croissance des plantes, la photosynthèse et la demande en azote, et par suite la productivité et le rendement. En conséquence, les agriculteurs apportent de grandes quantités d'azote pour stimuler cette croissance, ce qui est en contradiction avec les propriétés biologiques des légumineuses et est néfaste pour l'économie des exploitations à revenu limité, ainsi que sur l'environnement en contribuant à la pollution de la nappe phréatique par les nitrates (Farissi et *al.*, 2014).

2.5.1. Effets du stress salin sur la plante :

2.5.1.1. Effets du stress salin sur la germination : La germination est régulée par des caractéristiques génotypiques mais aussi par les conditions environnementales et, en particulier, par la disponibilité de l'eau dans le sol et la présence de sel (Ndour et Danthu, 2000) Ainsi, la germination des graines est le stade le plus sensible aux stress salin et hydrique (Boulghalagh et al., 2006) On peut considérer que la plupart des plantes sont plus sensibles à la salinité durant leurs phases de germination et de levée (Maillard, 2001) Parmi les causes de l'inhibition de la germination en présence de sel, la variation de l'équilibre hormonal a été évoquée (Debez et al., 2001) Plusieurs auteurs ont montré un retard de la germination causé par la salinité chez plusieurs espèces (Boulghalagh *et al.*, 2006), même chez des espèces halophytes (Debez et al., 2001) Des travaux faits sur des halophytes ont montré que l'effet inhibiteur du NaCl sur la germination serait essentiellement de nature osmotique, le sel empêchant l'imbibition de la graine (Debez et al., 2001) La réduction du potentiel osmotique de la solution du sol empêche l'imbibition de la graine suite à une diminution des activités enzymatiques et une forte absorption de Na^+ par rapport à K^+ , ce qui conduit à une toxicité embryonnaire et un retard dans les processus métaboliques (Adel et Bader, 2002).

2.5.1.2. Effets du stress salin sur l'absorption: Chez les plantes cultivées sur milieu témoin sans sel, la concentration totale de la solution foliaire en solutés organiques tend à diminuer avec l'avancement en âge des plantes, alors qu'un effet opposé est noté pour la concentration inorganique totale de la feuille (Ben Naceur et al., 2002). Irriguer avec de l'eau chargée en sels réduit la faculté des racines des plantes à puiser de l'eau du sol. Entre deux irrigations, alors que l'humidité du sol diminue, les sels de la solution du sol peuvent se concentrer à hauteur de 2 à 5 fois leur valeur initiale. Ceci cause une augmentation de la pression osmotique de la solution du sol et rend encore plus difficile pour les racines d'extraire l'eau du sol. C'est ce qu'on appelle une sécheresse physiologique (Maillard, 2001) Les effets osmotiques du stress salin peuvent également limiter la croissance des racines, ce qui limite les possibilités l'absorption des éléments nutritifs du sol (Jabnourne, 2008).

En présence de sel, l'absorption des cations Na^+ , Ca^{2+} et Mg^{2+} dépasse souvent celle des anions Cl^- , PO_4^{4-} et NO_3^- , ce qui engendre un déficit anionique pour le végétal.

Dans les feuilles, les Chlorures (Cl^-) sont toujours accumulés proportionnellement à la teneur globale en sel et en plus grande quantité que le Na^+ (Rahmoune et al, 2000) le chlore, en entrant en compétition avec le NO_3 , inhibe dans les plantes sensibles aux sels l'absorption et le transport à longue distance de cet anion vers les parties aériennes et engendre ainsi une carence nutritionnelle qui est estimée par la différence entre la teneur globale en cations majeurs Ca^{2+} , K^+ , Mg^{2+} et Na^+ et la teneur en Cl^- (Lamzeri, 2007) le stress salin réduit dramatiquement la fixation de l'azote N_2 et l'activité nitrogenase de nodosités chez les légumineuses herbacées. Pessaraki et al, (1990) ont montré que le stress salin inhibe la fixation du nitrogène chez trois cultivars de *Phaseolus vulgaris* L.

2.5.1.3. Effets du stress salin sur la translocation : La régulation du transport et de la distribution des ions dans les différents organes de la plante et à l'intérieur des cellules est un facteur essentiel du mécanisme de tolérance au sel (Greenway et Munns, 1980) Une étude faite par Haouala et al., (2007) sur le ray-grass anglais montre que cette espèce accumule plus de Na^+ et Cl^- dans ses feuilles que dans ses racines. Le ray-gras apparaît ainsi comme une espèce du type «include» alors qu'il est classé comme une espèce moyennement sensible à la salinité. Les glycophytes, plantes poussant dans les sols non salés, paraissent généralement incapables d'assurer à la fois un transfert important d'ions des racines vers les feuilles ainsi qu'une compartimentation cellulaire efficace. D'après Greenway et Munns (1980), les plantes les plus résistantes sont celles qui évitent une absorption trop importante d'ions. Certaines glycophytes, comme le cotonnier ou l'orge, transportent et accumulent de grandes quantités de Na^+ dans leurs feuilles.

Les espèces incapables de compartimenter Na^+ dans leurs feuilles sont nettement plus sensibles à la salinité. En effet, ces espèces semblent peu efficaces pour abaisser la concentration cytoplasmique de Na^+ , ce qui est peut-être l'une des causes essentielles de leur sensibilité au niveau cellulaire. Cependant, l'incapacité de débarrasser le cytoplasme de Na^+ a pour conséquence que cet ion est facilement transporté dans le phloème de ces plantes (Haouala, 2007)

2.5.1.4. Effets du stress salin sur la photosynthèse : La teneur en sel élevée dans les tissus influence directement les enzymes photosynthétiques et par voie de conséquence les réactions d'échange de lumière et de gaz (El Hendawy, 2004) Or, la réduction de la

photosynthèse à long terme entraîne l'inhibition de la formation et de l'expansion de la feuille ainsi que l'abscission précoce de cette dernière (Kozłowski, 1997). La fluorescence chlorophyllienne est utilisée comme outil de diagnostic de l'état fonctionnel du photosystème II en conditions de stress salin (Bouaouina et al, 2000) La salinité affecte en premier lieu la croissance de la plante puis la photosynthèse, causant, suite aux phénomènes de «feed-back», une réduction de la capacité photosynthétique. Particulièrement chez les glycophytes, la présence continue de NaCl dans le milieu de culture entraîne une augmentation, d'une part, de l'épaisseur des limbes (ce qui deviendrait un élément limitant dans la porosité stomatique) et, d'autre part, des vitesses d'ouverture des stomates (Greenway et Munns, 1980) Le sel peut également provoquer la modification de la densité des stomates, du nombre et du diamètre des vaisseaux du xylème chez les halophytes, ou accélérer le cycle biologique avec changement de la voie métabolique de fixation du carbone (Lamzeri, 2007)

2.5.2. Effets du stress salin sur la croissance et le développement :

La salinité est une contrainte majeure qui affecte la croissance et le développement des plantes (Bouaouina et al, 2000) La salinité des sols et des eaux demeure, pour les régions arides et semi arides, un obstacle majeur à la croissance des végétaux. En effet, les sels accumulés dans le sol peuvent limiter ou complètement arrêter la croissance du végétal suite à une élévation de la pression osmotique du milieu et/ou à l'effet toxique spécifique des éléments (Arbaoui et al, 1999 b) La salinité diminue la croissance des glycophytes en modifiant l'équilibre hydrique et ionique des tissus (Greenway et Munns, 1980).

Un stress salin extrême conduit au nanisme et à l'inhibition de la croissance racinaire. Les feuilles deviennent sclérosées avant même d'avoir fini leur croissance et l'organisme tout entier risque de dépérir assez vite (Calu, 2006).

2.5.2.1. Effets toxiques de NaCl sur la plante : Certains sels peuvent être toxiques pour les plantes et peuvent en affecter la balance nutritionnelle s'ils sont présents en concentration excessive ou en proportion anormale.

2.5.2.2. Effet sur la respiration : D'après Schwartz et Gale (1981), la plante augmente sa respiration en condition de stress salin. L'accroissement de la respiration résulte de l'énergie nécessaire à l'absorption ionique, produisant ainsi un effet néfaste sur la balance d'énergie disponible pour la plante.

2.6. Réponse et la stratégie adaptative de la plante aux stress salin

Les plantes peuvent répondre aux stress de diverses façon ; elles accomplissant leur croissance durant les périodes de moindre stress ou bien ne peuvent pas le supporter auquel cas elles peuvent subir des lésions. Ou bien, subies des modifications spécifiques de leur métabolisme leur permettant d'éviter ou de tolérer les effets de stress (Enita, 2000). Les plantes réagissent à ces variations de la salinité dans le biotope pour déclencher des mécanismes de résistance. Parmi ces mécanismes, l'ajustement osmotique joue un rôle primordial dans la résistance ou la tolérance de la plante à un stress (Belfakih et *al.*, 2013). Celui-ci est réalisé grâce à une accumulation de composés osmorégulateurs conduisant à une réduction du potentiel osmotique permettant ainsi le maintien du potentiel de turgescence (El midaoui et *al.*, 2007), principalement des composés aminés et des sucres (Levigneron et *al.*, 1995).

2.6.1. Exclusion La plante empêche le sel de remonter jusqu'aux feuilles ;une première barrière existe au niveau de l'endoderme, couche interne de cellules de la racine. Cependant, cette barrière peut être interrompue, en particulier de l'émergence des ramifications de la racine. D'autres mécanismes limitent le passage de sel des racines vers les feuilles mais les gènes qui les gouvernent sont encore largement inconnus (El madidi, 2003).

2.6.2 Ajustement osmotique : L'ajustement osmotique apparaît aujourd'hui comme un mécanisme majeur d'adaptation, il peut intervenir à tous les stades de développement et son caractère inductible suggère qu'il n'a pas (ou peu) d'incidence sur le rendement potentiel. L'ajustement osmotique joue un rôle primordial dans la résistance ou la tolérance de la plante à un stress (Kara et *al.*, 2011).La plante devra synthétiser des solutés organiques pour ajuster son potentiel hydrique (Belfakih et *al.*, 2013).

2.6.3. Inclusion : La plante capte le sel, qui parvient aux feuilles, au même titre que l'eau, par le mouvement ascendant de la sève dans les vaisseaux. A l'intérieur des cellules, le sel est alors stocké dans les vacuoles grâce à des systèmes de "pompes" moléculaires. Les vacuoles sont des compartiments fermés au sein de la cellule. Le sel est ainsi isolé des constituants cellulaires vitaux (El madidi, 2003).

2.6.4. Accumulation de la proline: La proline, observée chez de nombreuses monocotylédones ou dicotylédones, s'accumule aussi bien chez les glycophytes que chez les halophytes sur des cellules en suspension, ou des plantes entières pour restaurer l'équilibre osmotique entre cytoplasme et vacuole. La synthèse de proline est une mesure adaptative prise par les plantes et sa teneur est corrélée à la tolérance au NaCl (Denden et *al.*, 2005).

2.6.5. Sucres solubles: Les sucres solubles sont des voies des métabolismes végétaux présents aussi à la surface des plantes (Arnault et *al.*, 2011). Ils sont stimulés par un stress salin (Levigneron et *al.*, 1995), produits par blocage de glycolyse ou le saccharose (provenant de l'hydrolyse de l'amidon). Ces sucres sont abondants dans le cas de concentration fortement salins et déshydratants (Bouhaddi, 2009). Les sucres pourraient contribuer à plus de 50% à l'ajustement osmotique des glycophytes soumises aux conditions de salinité (Farissi et *al.*, 2014).

2.6.6. Les protéines de stress

.Protéine LEAS: Les protéines LEAS (Late Embryogenesis Abundant) ont été associées avec la tolérance à la dessiccation des semences. Durant la maturation des graines l'expression des gènes LEA est induit par l'hormone de stress ABA, 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 (BEN AZOUAOU et DJAMAI, 2012).

.Protéines HSP: Les LEA sont des protéines en majorité très hydrophiles qui semblent impliquées dans la Protection des structures cellulaires, ce qui en fait des protéines potentiellement très importantes dans la vie des cellules. Elles sont très nombreuses et diverses et forment un très vaste ensemble de familles de protéines (CHATELAIN, 2007). Selon SUNG et *al* (2001), Les protéines de choc thermique ou

HSP (Heat Shock Protéin) sont des protéines chaperonnes qui aident au repliement, à l'assemblage et au transport des protéines. Si elles ont été mises en évidence lors l'exposition de la plante a la sécheresse, aux fortes teneurs en sels, à des agressions chimiques ou des stress oxydatifs, elle protégerait ainsi les protéines de la dénaturation et de l'agrégation.

CHAPITRE III

MATERIELS ET METHODES

Le présent travail a été entrepris en vue de déterminer les modifications eco-physiologiques chez *fragaria x ananassa* soumise à différents traitements de NaCl. Les différentes doses de NaCl ajoutées à l'eau de robinet déterminent le seuil de tolérances pour cette espèce dans nos conditions expérimentales et les modifications physiologiques et biochimiques pour chaque seuil de tolérance.

3.1.Objectif d'expérimentation

Notre travail consiste à étudier l'effet du stress salin sur le processus de la germination des graines du fraisier (*fragaria x ananassa dush*) et sur les caractères morphologique et biochimique il s'est réalisé sur une seule espèce avec différentes concentrations de NaCl.

3.2.Lieu de l'expérimentation

L'expérimentation est installée au niveau de Laboratoire de botanique des plantes de département des sciences agronomiques à l'université de M'sila.

3.3.Matériel végétal

Tout au long de notre expérimentation, le matériel végétal est constitué des grains des fraisiers de variété (*fragaria x ananassa dush*)

3.4.Matériel et produit de travail

Une balance de précision, spatule, pH-mètre, papier-filtre stériles dans une boîte de pétri (en verre) stériles, 6 béchers stériles pour la désinfection du matériel végétal, 1 bécher de 2 litre, bécher de 500 ml pour les déchets, bécher verre stérile pour placer les instruments dans l'alcool, un bécher stérile (ou récipient servant de poubelle), 2 scalpels stériles à manche métallique et à lame interchangeable, une paire de ciseaux à dissection, 3 pinces stériles, une minuterie, 1 bec Benzène, agitateurs, fioles 1 L,

flacons, tubes à essai, différentes pipettes (2 ml, 10 ml, 25 ml), étuve, autoclave, entonnoir, et la hotte.

Tous les instruments métalliques (pinces, pointes, bistouris...) ou verreries (Béchers, tube de culture, flacons, boîtes de Pétris...) sont enrobés avec du papier aluminium, et sont mis à l'étuve à une température de 130 C pendant 1 heures de temps.

Eau distillée stériles (l'eau distillée a été stérilisée dans l'autoclave à 120° pendant 20 minutes à une pression d'un bar) ;

Eau de javel diluée en des concentrations (5% d'hypochlorite de sodium).

Alcool 70% (extrait de table de Gay-Lussac pour la dilution de l'alcool ; l'alcool utilisé dans notre essai est un Ethanol à 96°. Nous avons effectué la dilution de la manière suivante : 100 ml d'Alcool + 40,85 ml d'eau distillée → Alcool 70°).

3.5.Préparation des milieux de culture

3.5.1.Les solutions mères

Pour chaque produit entrant dans la composition du milieu nous avons utilisé des solutions concentrées (solution mères) de ces produits que l'on dilue de manière adéquate (Tableau 3.1).

Tableau 3.1. : Composition des milieux de culture utilisés

Solutions mère		MS	Concentration	Prélèvement	
Macro_éléments mg/l			20 fois	50 ml	A
NH ₄ NO ₃		1650			
KNO ₃		1900			
CaCl ₂ ,2H ₂ O		440			
KH ₂ PO ₄		170			
MgSo ₄ , 7H ₂ O		370			
Micro_éléments mg/l			50 fois	20 ml	B
Mn So ₄ , H ₂ O	16,90				
H ₃ Bo ₃	6,20				
ZnSo ₄ , 7 H ₂ O	8,60				
KI	0,83				
Na ₂ Mo ₄ , H ₂ O	0,25				
CuSo ₄ , 5 H ₂ O	0,025				
CoCl ₂ , 6 H ₂ O	0,025				
Fe-EDTA (mg/l)			10	10 ml	C
Na ₂ EDTA	37,25				
FesO ₄ , 7H2O	27,85				
Les vitamines (morel) et les acides aminés (mg/100 ml)					
Acide Glycine	0.2		10	10 ml	D
Nicotinique	0.5				
Pyridoxine HCl	0.5				
Thiamine HCl	0.1				
Myo-inisitol	100				
Saccharose	30 g				E
agar	8 G				F

3.5.2.Préparation des solutions mères des milieux de culture

3.5.2.1.Préparation de la solution mère de macroéléments

Elle consiste à : Elle consiste à :

Verser 600 ml d'eau distillée dans un bécher de 1L;

Peser et dissoudre chacun des sels indiqués **(A)** en chauffant légèrement au besoin;

Transférer la solution dans un flacon de 1litre et compléter à 1litre avec l'eau distillée;

Identifier le flacon puis le ranger au réfrigérateur.

3.5.2.2.Préparation de la solution mère de microéléments

Elle consiste à :

Verser 600 ml d'eau distillée dans un bécher de 1L;

Peser et dissoudre chacun des sels indiqués **(B)** en chauffant légèrement au besoin;

Transférer la solution dans un flacon de 1litre et compléter à 1litre avec l'eau distillée;

Identifier le flacon puis le ranger au réfrigérateur.

3.5.2.3.Préparation de la solution mère de Fe-EDTA

Elle consiste à :

Verser 600 ml d'eau distillée dans un bécher de 1L;

Ajouter quelques gouttes de NaOH et chauffer jusqu' à ébullition;

Couper la source de chaleur;

Ajouter le Na₂ EDTA **(C)** et mélanger jusqu'à dissolution;

Ajouter FeSO₄-7H₂O **(C)**;

Transférer la solution dans un flacon de 1litre et compléter à 1litre avec l'eau distillée;

Identifier le flacon puis le ranger au réfrigérateur.

3.5.2.4.Préparation de la solution mère des vitamines

Elle consiste à :

Verser 70ml d'eau distillée dans un bécher de 100ml;

Peser et dissoudre les vitamines indiquées (**D**);

Transférer la solution dans un flacon de 100ml et compléter à 100ml avec l'eau distillée;

Identifier le flacon puis le ranger au réfrigérateur.

3.5.3.5.Préparation et stérilisation du milieu de culture :

A partir de solutions mères préparées, on a pu préparer la solution finale, avec les concentrations exigées, selon le protocole suivant :

Verser approximativement 600 ml d'eau distillée dans un bécher de 1l;

Peser (30 g) et dissoudre le saccharose en chauffant légèrement au besoin;

Ajouter le volume nécessaire de macroéléments, microéléments, FE-EDTA; les vitamines les acides aminée et les hormones → mélanger les différents éléments par agitation ;

Compléter à 1litre avec l'eau distillée;

Ajuster le pH à 5.7 ± 0.1 avec HCl (1N) ou NaOH (1N);

Verser le milieu dans le bécher de 2 litres recouvert d'un papier d'aluminium.

Ajouter l'Agar puis Chauffer jusqu'à l'ébullition ce que le milieu devienne clair (Le déposer sur une plaque chauffante : Chauffer et agiter).

Après la préparation de milieu en ajout (0.121 g) de Myo-inositol

Verser dans des flacons ou des tubes de cultures pour faire la stérilisation.

La stérilisation de milieu de culture, est assurée par l'autoclave à une température de 120° C, pendant 20 minutes, la technique de la culture in vitro exige cette température, à fin de s'assurer de la destruction des bactéries.

3.5.4. Préparation de la solution saline :

3.5.4.1. Préparation et stérilisation du milieu de culture constituant des différentes doses de NaCl :

A partir de solutions mères préparées, on a pu préparer la solution finale, avec les concentrations exigées, selon le protocole suivant :

Verser approximativement 600 ml d'eau distillée dans un bécher de 1l;

Ajouter le volume nécessaire de macroéléments, microéléments, FE-EDTA; les vitamines les acides aminée et les hormones → mélanger les différents éléments par agitation ;

Compléter à 1 litre avec l'eau distillée;

Ajuster le pH à $5,7 \pm 0,1$ avec HCl (1N) ou NaOH (1N);

Devisé le milieu a 4 bécher de 300 ml et verser approximativement 250ml de milieu dans chaque bécher

Peser (7,5g) et dissoudre le saccharose dans chaque bécher en chauffant légèrement au besoin;

Ajouter dans chaque bécher une dose définie de NaCl (T1 ; T2 ; T3 ; T4) (tableau, 3.2)

Ajouter l'Agar (2g) dans chaque bécher recouvert d'un papier d'aluminium. puis Chauffer jusqu'à l'ébullition ce que le milieu devienne clair (Le déposer sur une plaque chauffante : Chauffer et agiter).

Après la préparation de milieu en ajout (0,05g) de Myo-inisitol dans chaque bécher

Verser dans des flacons ou des tubes de cultures pour faire la stérilisation avec étiquette.

La stérilisation de milieu de culture, est assurée par l'autoclave à une température de 120° C, pendant 20 minutes, la technique de la culture in vitro exige cette température, à fin de s'assurer de la destruction des bactéries.

Tableau 3.2: Différentes concentration de NaCl utilisée

	T0	T1	T2	T3	T4
Dose de NaCl (g/l ⁻¹)	0	0,365	0,73	1,46	2,92

3.5.4.2.La Stérilisation des instruments

Tous les instruments métalliques (pinces, pointes, bistouris ...) ou verreries (Béchers, tubes de culture, boîtes de Pétris ...) sont envelopper avec du papier aluminium, et sont mis à l'étuve à une température de 130°C pendant 2 heures de temps.

Au cours des manipulations les instruments métalliques sont plongés dans l'alcool à 70%, puis passés aux flammes du bec bunsen afin de brûler l'alcool.

3.5.4.3.La stérilisation du matériel végétal

Les graines de *fragaria x ananassa*, désinfectées selon le protocole expérimental décrit par Lallouche (2008), qui consiste en un trempage des graines dans l'alcool (l'éthanol 700), pendant 15 seconds suivis d'un trempage dans une solution de l'hypochlorite de calcium 5% pendant 10 minutes (5 g d'hypochlorite de calcium + 100 ml d'eau distillée avec agitation pendant 15 minutes + filtration), puis trois rinçages successifs dans de l'eau distillée stériles sont nécessaires pour éliminer toutes les traces d'hypochlorite de calcium. Elles sont ensuite mises à germer dans des tubes à essais contenant 25 ml de milieu de culture.

3.5.5.Ensemencement des grains

Avant de commencer la manipulation, on se lave les mains avec du savon suivi de l'alcool à 70°. On prépare la hotte par stérilisation et la mise en marche de la ventilation. On prépare tout le nécessaire et on laisse la hotte fonctionner pendant 30 minutes avant de commencer l'ensemencement des grains. On fait la stérilisation du matériel végétal sous la hotte selon la mode de désinfections sur les milieux de culture est effectué à l'aide de pince stérilisée et près de la flamme du bec bensen, tout en flambant l'ouverture du tube avant et après l'opération sous la hotte.

3.5.6.Mise en culture

Dans la boîte de Pétri stérile, les grains stérilisés, sont déposé avec précaution à l'aide d'un scalpel

Ouvrir un tube à essai contenant environ 50 ml de milieu de culture à côté du bec bunsen.

A l'aide de pinces stérile, on prend délicatement les grains et on le dépose dans le tube à essai en contact avec le milieu de culture.

On flambe l'extrémité du flacon et on ferme rapidement en prenant soins de ne pas toucher le bouchon du tube à essai avec les mains.

Afin d'éviter toute forme de contamination, les ouvertures des tubes à essai sont flambées avant et après l'introduction du matériel végétal.

Tubes à essai sont fermés avec des bouchons en métalliques et obturés par du para-film, pour éviter tout contact avec l'air (micro-organismes, spores, poussières...).

Les grains sont répartis suivant les traitements.

Des observations journalières ont été effectuées à fin de suivre toutes les étapes de développement ainsi que l'élimination des tubes à essai contaminés.

3.5.6. Incubation des grains :

Les grains placés dans des tubes à essai sont entreposés dans la chambre de culture où la température et la photopériode sont maintenues au seuil optimum de croissance selon les phases.

- La température réglée dans la chambre de culture est de $23 \pm 1^{\circ} \text{C}$.

Comme le prouvent de nombreux travaux, la lumière est indispensable pour réguler certains processus morphogénétiques, l'éclairement est assuré par une série de néons d'une intensité lumineuse de l'ordre de 2000 à 3000 lux environ.

- La photopériode est réglée par une 16 heures de lumière et de 8 heures d'obscurité.

3.5.7. Les paramètres à étudier

3.5.7.1. Taux de germination final: Ce paramètre constitue le meilleur moyen d'identification de la concentration saline qui présente la limite physiologique de germination des graines. Il est exprimé par le rapport nombre de graines germées sur nombre total de graines.

Taux de germination final = nombre de graines germées / nombre de graines totale

3.5.7.2. Temps de latence: qui représente le moment où la 1ère graine germe

3.5.7.3.Les paramètres biométriques

Durant l'expérimentation, les observations réalisées portent sur les paramètres suivants:

3.5.7.3.1.Nombre de feuilles;

3.5.7.3.2.Mesure de la croissance en longueur: Les longueurs des parties aériennes et souterraines ont été mesurées à l'aide d'une règle graduée. Les valeurs données sont les moyennes des cinq répétitions par traitement.

3.5.7.4.Les paramètres biochimiques :

3.5.7.4.1.Le dosage de proline

La proline est dosée par la méthode de TROLL ET LINDSLEY (1954), simplifiée et mise au point par DRIER et GORING (1974).cette méthode se base sur la coloration rouge produite par l'interaction de la proline avec de la ninhydrine dans un tampon acide.

L'extraction de la proline consiste à :

100mg de matériel végétal, est prélevé puis mis dans de tube à essai auquel on ajoute 2ml de méthanol à 40 %,le tout est ensuite porté au bain marie à 85°C pendant une heure. Les extraits peuvent être conservés dans les piluliers en plastique au congélateur.

Le dosage fait au bain marie à 100°C en prélever, après refroidissement, 1ml de l'extrait de chaque tube et mettre dans de nouveaux tubes auxquels on ajoute 2 ml de la solution B (347 mg de ninhydrine ,147 ml acide acétique et 147 ml de solution A (300ml acide acétique + 80ml acide ortho_ phosphorique D=1.7+120 ml H₂O stérile).

Ces tubes sont sis au bain marie pour une demi-heure on obtient une coloration rose.

Laisser refroidir puis additionner 5 ml de benzène à chaque tube deux phases se distingue :

Une supérieure et une inférieure.

On agite les tubes finalement on pipete la phase organique qu'on dans des tubes propres contenant chacun une spatule de Na₂SO₄ (une pincée).la lecture de la densité optique se fait à 528 nm.

Les valeurs données sont les moyennes obtenues de deux répétition /variété/traitement.

3.5.7.4.2.Dosage des sucres solubles (séparée la partie racinaire et aérienne)

Les sucres solubles sont dosés par la méthode de DREYWOOD(1946), modifiée par SHIEDS et BURNETT(1960), le principe de la réaction est basé sur la coloration des produits de dégradation des oses neutres par l'acide sulfurique se colorant en bleu-vert avec l'anthrone.

100 mg de la matière fraîche son placés dans un tube à essai ajouter 3ml d'éthanol à 80% et laisser l'extrait 48 h à une température ambiante

2 ml d'extrait sont prélevés et mis dans des tubes à essai baignant dans la glace fondante

4 ml de réactif (0.2d'anthrone pure dissout dans un 1 litre de H_2SO_4) est ajoutée dans les tubes

Les tubes sont portés au bain marie pendant 8 minutes

La lecture de la DO se fait à une longueur d'onde de 585nm

3.5.8.Dispositif expérimental : rondeminisation totale (1 seul facteur étudier le fraisier avec 5 niveaux T0,T1,T2,T3,T4).

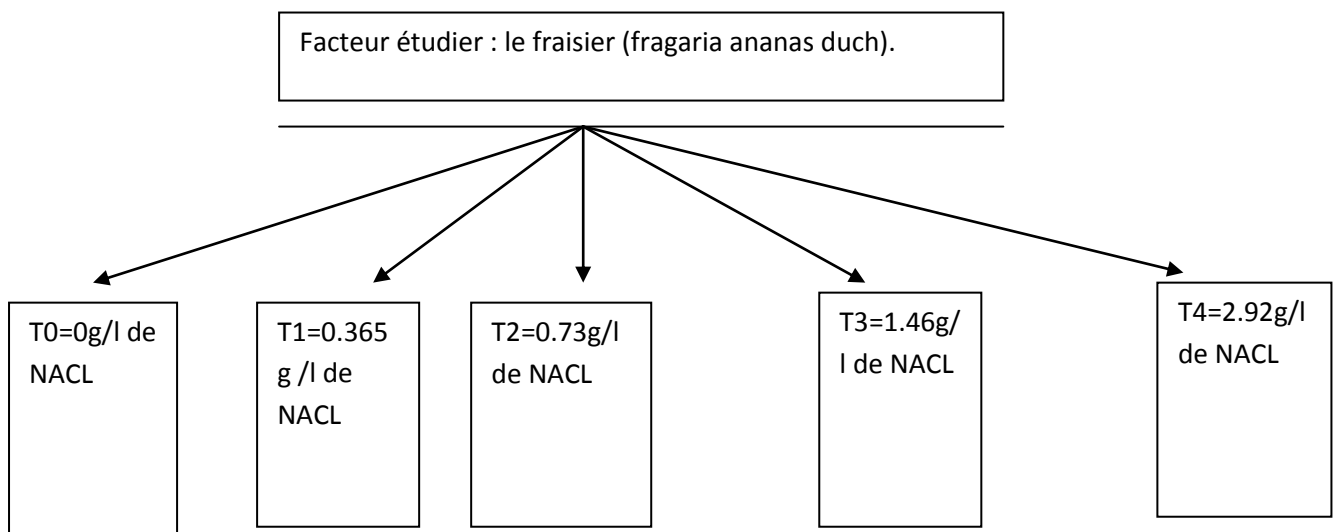


Schéma :de dispositif expérimentale

Les graines de *fragaria x ananassa* sont exposés à différents traitements de NaCl:

Le premier traitement constitue le témoin (T0);

Le deuxième traitement consiste à appliquer un stress faible correspondant à une solution saline de 0.356 g/ l de NaCl;

Le troisième traitement correspond à une solution d'arrosage de 0.73 g/ l de NaCl ;

Le quatrième traitement correspond à une solution d'arrosage de 1.41 g/ L de NaCl ;

Le cinquième traitement correspond à une solution d'arrosage de 2.92 g/L de NaCl ;

Le nombre des plants utilisé : 5 doses X 20 répétitions = 100 graines

3.5.9.Analyse statistique

Le logiciel utilisé pour l'analyse statistique est le STAT BOX 6.4, une analyse de la variance au seuil 5% a été utilisée pour le traitement des résultats et qui consiste à rechercher si l'effet traitement est significatif avec certains risques d'erreurs. La signification des résultats est exprimée en fonction de la probabilité pour une erreur réellement commise. Dans notre cas, nous avons utilisé la probabilité d'erreur de 5%. Le test de NEWMAN et KEULS au seuil de 5% a été utilisé pour la comparaison des moyennes.

CHAPITRE IV

RESULTATS ET DISCUSSIONS

4.1. Influence du NaCl sur le taux et le temps moyen de germination

4.1.1. Taux de germination:

L'influence de la salinité sur la faculté germinative des graines de *fragaria x ananassa* s'annonce variable en fonction des différentes concentrations saline appliqués (tableau 1, figure 1).

Les résultats obtenus indiquent que l'accroissement de la teneur en NaCl au niveau de milieu de germination influe de manière négative sur le taux de germination. Nous notons un ralentissement du processus de germination en fonction de l'augmentation de la salinité.

La concentration de 2.92 g/l-1 fait diminuer considérablement la capacité germinative de l'espèce étudiée. Le taux de germination final est de 60 % qui est significativement plus faible ($p=0$) en comparaison avec le témoin qui est atteint 94.44% (tableau 1; annexe).

La comparaison des moyennes par l'analyse de la variance à un seul critère de classification montre une différence très hautement significative entre les traitements ($p=0$).

Le test de Newman et Keuls fait ressortir cinq groupes homogènes, le groupe (A) représenté par le témoin, ce groupe reflète la moyenne la plus élevée. Le groupe (B) représenté par le traitement T2 (0.356g/l) et le dernier groupe qui reflète la moyenne la plus faible, représenté par le traitement T4 (2.92g/l).

4.1.2. Le temps moyen de germination:

Les graines de *fragaria x ananassa*, traitées ou non aux sels, présentent des comportements remarquablement différents dans la durée de la germination (tableau, 1; figure 1) ; cette durée est exprimée en jours couvrant la période entre le semis et l'apparition de la première graine germée dans chaque traitement jusqu'à la fin de la germination.

fragaria x ananassa exprime une véritable progression de la germination puisque, lorsque les graines sont arrosées seulement à l'eau distillée, la germination ne dure que 6 jours. En présence de sels à hautes concentrations, ce phénomène est retardé de 7 jours à 0.356 g/l de NaCl jusqu'à 19 jours à 2.92 g/l.

La comparaison des moyennes par l'analyse de la variance à un seul critère de classification montre une différence très hautement significative entre les traitements ($p=0$) (tableau 2; annexe).

Le test de Newman et Keuls fait ressortir trois groupes homogènes, le groupe (A) représenté par le témoin, ce groupe reflète la moyenne la plus élevée. Le groupe (B) représenté par le traitement T2 (0.356 g/l) et le dernier groupe qui reflète les moyennes les plus faibles, représenté par les traitements T2, T3 et T4 (0.73, 1.46 et 2.92g/l).

Tableau 4.1: Test statistique de signification de Fisher à $\alpha=5\%$ de Taux et temps moyen de germination des plantes de *fragaria x ananassa* stressées pendant 30 jours aux différents niveaux de NaCl.

Les traitements	% de germination	Taux de latence (jour)
T0 (0g/l)	94,44 $\pm$ 1.2A	6 $\pm$ 0,6 A
T1 (0.365 g/l)	83,33 $\pm$ 0.9B	7 $\pm$ 0,5B
T2 (0.73 g/l)	74,71 $\pm$ 1C	8 $\pm$ 0,1C
T3 (1.46 g/l)	66,66 $\pm$ 1.3D	14 $\pm$ 0.4C
T4 (2.92 g/l)	60,2 $\pm$ 1.6 ^E	19 $\pm$ 0,9C

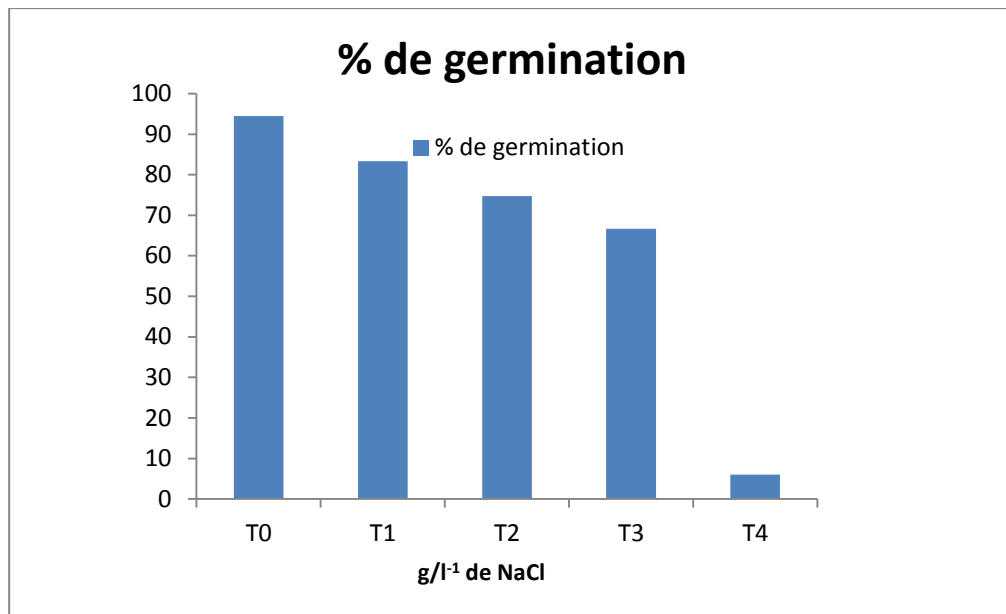


Figure 4.1: Taux de germination de *fragaria x ananassa* sous l'effet de NaCl.

Pour le taux de germination, *fragaria x ananassa* se montre tolérante aux quatre niveaux de stress salin (0.356, 0.73, 1.46 et 2.92 g/l de NaCl), perdant moins de 37 % de leur capacité de germination.

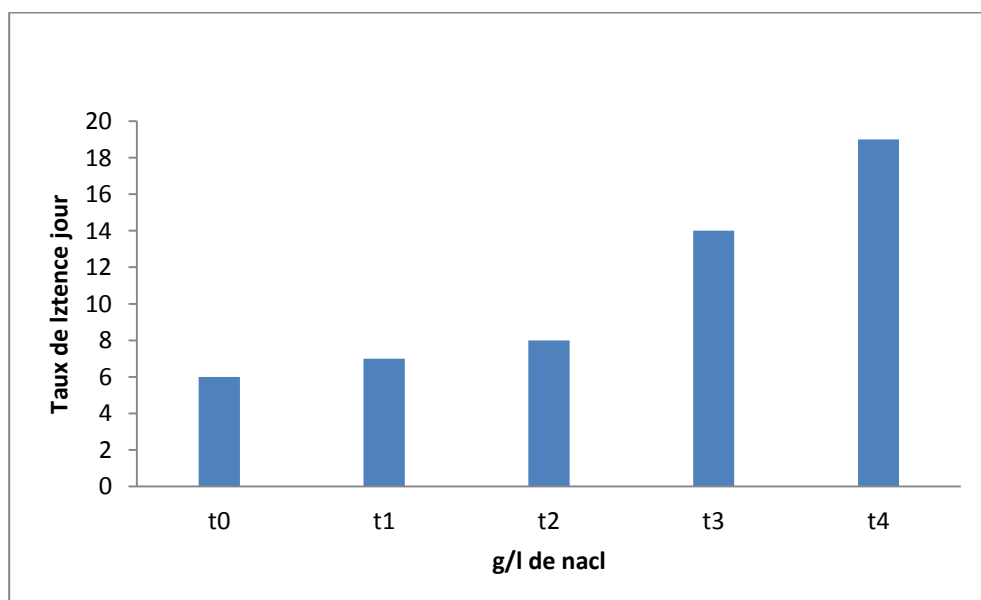


Figure 4.1: Taux de latence de *fragaria x ananassa* sous l'effet de NaCl.

Discussion

L'effet de NaCl sur le comportement germinatif de *fragaria x ananassa* se traduit par une augmentation du temps de latence et une diminution du taux de germination. Ceci corrobore les résultats de l'étude de Amouri et Fyad Lameche portée sur six écotypes d'espèces annuelles de *Medicago* et qui ont noté un ralentissement du processus de germination en fonction du stress salin..

Concernant le comportement des graines de *fragaria x ananassa* vis-à-vis de la salinité, notre étude montre qu'elles sont particulièrement tolérantes et qu'elles sont capables de germer après un traitement allant jusqu'à 2.29 g.l⁻¹ NaCl et probablement à une concentration encore plus élevée. Le retard de la germination des graines ainsi que la diminution de la moyenne de germination journalière de *fragaria x ananassa* avec l'augmentation de la concentration saline est expliqué par le temps nécessaire à la graine de mettre en place des mécanismes lui permettant d'ajuster sa pression osmotique interne (Ben Miled et al., 1986 ; Smaoui et al., 1986). Alors que Ghrib et al. [31] ont expliqué que ce retard pourrait être dû à l'altération des enzymes et des hormones qui se trouvent dans la graine.

4.2.Effet sur les paramètres biométriques

La salinité a un effet sur la croissance et le développement des végétaux. Dans notre étude, nous nous sommes intéressés dans un premier temps à l'effet des différentes concentrations de NaCl testées (0; 0.365 ; 0.73 ; 1.46 et 2.92 g/l) sur la croissance des jeunes plantules de fraisier (*fragaria x ananassa*). Pour cela, la réponse au sel des jeunes semis est évaluée grâce aux paramètres biométriques suivants: longueur de la partie aérienne, longueur de la partie racinaire et le nombre de feuilles formées par vitro-semi.

4.2.1.La longueur de la partie aérienne

L'analyse des résultats montre que la concentration de NaCl dans le milieu influe sur la croissance en longueur des parties aériennes de *fragaria x ananassa* (tableau 2, figure 2 et 3).

Les résultats sont illustrés aux figures (2 et 3). Cette influence est confirmée par l'analyse de la variance à un seul critère de classification dont la différence des moyennes est très hautement significative ($p=0$) (tableau 3; annexe).

Pour la longueur de la partie aérienne, le test de Newman et Keuls fait ressortir trois groupes homogènes, le groupe (A) représenté par les traitements (témoin, 0.365 g/l) ce groupe reflète les moyennes les plus élevées. Le groupe (B) représenté par les traitements (0.73 et 1.46g/l) et le dernier groupe qui reflète la moyenne la plus faible, représenté par le traitement (2.92 g/l).

En résumé la longueur de la tige de *fragaria x ananassa* conserve une biomasse plus ou moins stable malgré l'intensité du stress (41.66 % de réduction sous T3) sauf en cas du traitement sévère T4 (2.92 g/l).

Les plantes de *Fragaria X Ananas* Duch répondent aux différentes concentrations de NaCl par une réduction de la hauteur de la partie aérienne d'autant plus importante que la concentration en sel est élevée.

La longueur de la tige est la plus élevée sur le milieu témoin. La salinité de l'eau d'arrosage affecte ce paramètre dès NaCl 0.73g/l⁻¹. En présence de 2.92 g/l⁻¹, la longueur de la tige chute à 0,1 cm, ce qui représente 91.66 % du témoin.

Tableau 4.2: Test statistique de signification de Fisher à $\alpha=5\%$ de longueur de la tige des plantes de *fragaria x ananassa* stressées pendant 30 jours aux différents niveaux de NaCl.

Les traitements	Moyenne± écart type	Probabilité	Signification
T0 (0g/l)	1,2±0.1A	0	Très hautement significative
T1 (0,365 g/l)	1,1±0.1A		
T2 (0,73 g/l)	0,8±0.01B		
T3 (1,46 g/l)	0,7±0.1B		
T4 (2,92 g/l)	0,1±0.1C		

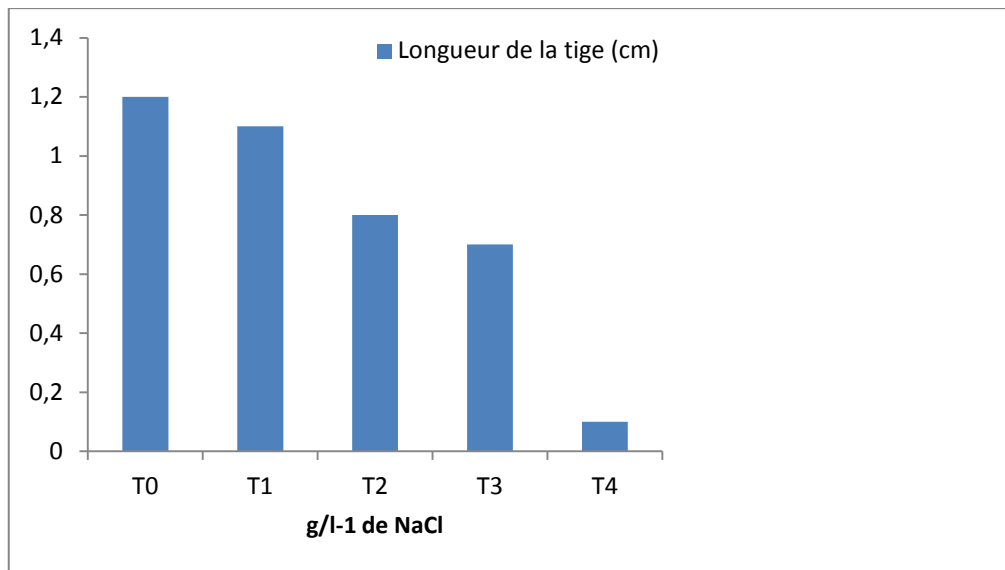


Figure 4.2: Longueur de la tige de *fragaria x ananassa* sous différentes concentrations de NaCl.



Figure 4.3: Vitro-semis de *fragaria* x *ananassa* sous différentes concentrations de NaCl.

La réduction de la hauteur des plantes en conditions de salinité pourrait s'expliquer par l'inhibition de l'élongation de l'axe principal ou la diminution de la longueur des ramifications.

4.2.2. Longueur de la partie racinaire

Le stress salin influe clairement sur le système racinaire dont l'analyse de la variance à un seul critère de classification montre une différence très hautement significative ($p=0$) (tableau 3, figure 4).

La comparaison des moyennes par l'analyse de la variance à un seul critère de classification montre une différence très hautement significative entre les traitements ($p=0$) (tableau 4; annexe).

Le test de Newman et Keuls fait ressortir quatre groupes homogènes, le groupe (A) représenté par le traitement T0 (témoin) ce groupe reflète les moyennes les plus élevées. Le groupe (B) représenté par les traitements T1 et T2 (0.356, 0.73 g/l). le groupe C représenté par le traitement T3 (0.146 g/l) et le dernier groupe qui reflète la moyenne la plus faible, représenté par le traitement (2.92 g/l).

Les plantes de *fragaria x ananassa* répondent aux différentes concentrations de NaCl par une réduction de la longueur de la partie racinaire d'autant plus importante que la concentration en sel est élevée.

fragaria x ananassa se montre sensible aux quatre niveaux de stress salin (0.356, 0.73, 1.46 et 2.92 g/l de NaCl), perdant plus de 54% de leur capacité en matière d'émission racinaire (54.16 %, 58.33 %, 70%, 87.5 % de réduction sous T1, T2, T3 et T4 respectivement).

Tableau 4.3: Test statistique de signification de Fisher a $\alpha=5\%$ de la longueur des racines des plantes de *fragaria x ananassa* stressées pendant 30 jours aux différents niveaux de NaCl.

Les traitements	Moyennes $\pm$ écart type	Probabilité	Signification
T0 (0g/l)	2.4 $\pm$ 0.1A	0	Très hautement significative
T1 (0.365 g/l)	1.1 $\pm$ 0.2B		
T2 (0.73 g/l)	1 $\pm$ 0.01B		
T3 (1.46 g/l)	0.7 $\pm$ 0.01C		
T4 (2.92 g/l)	0.3 $\pm$ 0.01D		

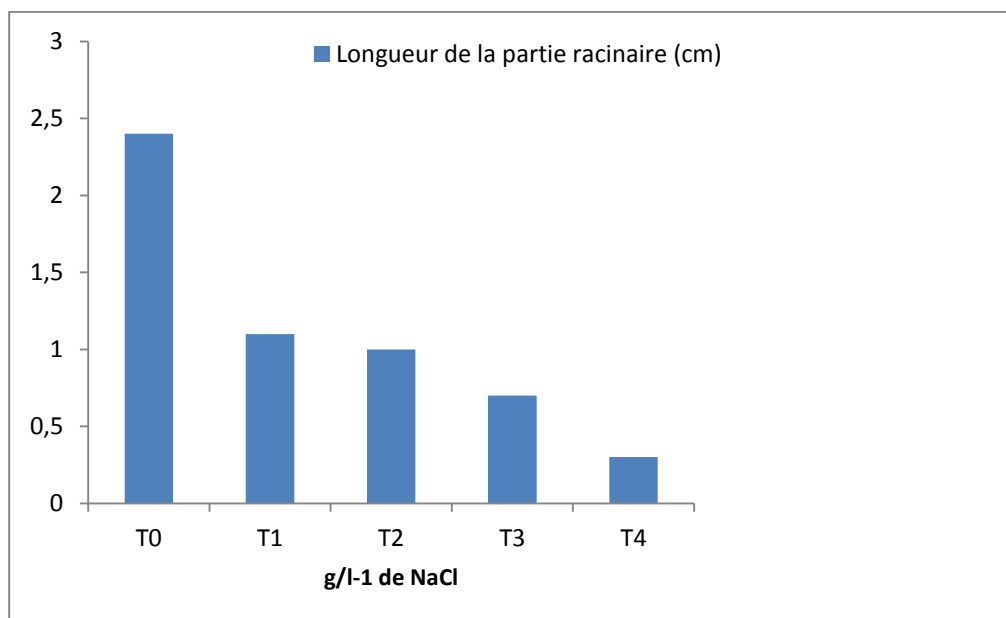


Figure 4.3: Longueur de la partie racinaire de *fragaria x ananassa* sous différentes concentrations de NaCl.

4.2.3. Nombre de feuilles

La comparaison des moyennes par l'analyse de la variance à un seul critère de classification montre une différence très hautement significative entre les traitements ($p=0$) (tableau 5; annexe).

Le test de Newman et Keuls fait ressortir deux groupes homogènes, le groupe (A) représenté par les traitements T0, T1, T2 et T3 (témoin, 0.356, 0.73 et 1.46 g/l) ce

groupe reflète les moyennes les plus élevées et le dernier groupe qui reflète la moyenne la plus faible, représenté par le traitement T4 (2.92 g/l) (tableau 4, figure 5)..

Pour le nombre de feuilles, *fragaria x ananassa* se montre tolérante aux trois niveaux de stress salin (0.356, 0.73 et 1.46 g/l de NaCl), perdant moins de 29% de leur capacité en matière de production des feuilles sauf en cas du traitement sévère T4 (57,14% de réduction en comparaison avec le témoin).

Tableau 4.5: Test statistique de signification de Fischer a $\alpha=5\%$ de nombre de feuilles des plantes de *fragaria x ananassa* stressées pendant 30 jours aux différents niveaux de NaCl.

Les traitements	Moyennes $\pm$ écart type	probabilité	Signification
T0 (0g/l)	7 $\pm$ 0,9A	0,00069	Très hautment significative
T1 (0,365 g/l)	7 $\pm$ 7A		
T2 (0,73 g/l)	6 $\pm$ 1A		
T3 (1,46 g/l)	5 $\pm$ 1,2A		
T4 (2,92 g/l)	2 $\pm$ 0,7B		

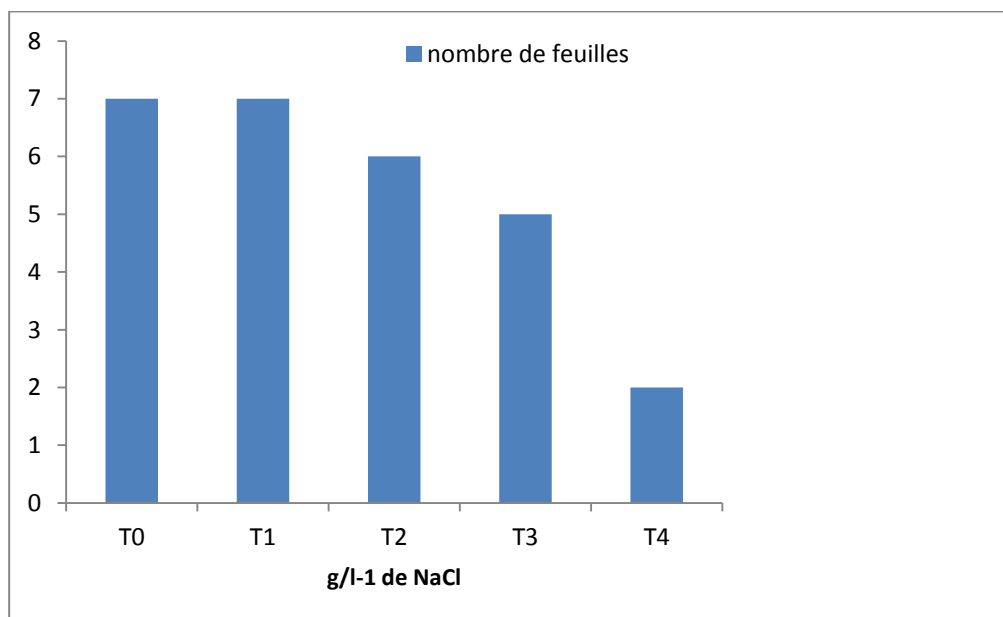


Figure 4.5: Nombre de feuille de *fragaria x ananassa* sous différentes concentrations de NaCl.

Discussion

Pour s'adapter au stress salin, la plante peut éviter les dommages par la réduction de la croissance (Yeo, 1983, Zhu, 2002). C'est l'effet le plus commun des stress abiotiques sur la physiologie des plantes; la réduction de la croissance est une capacité adaptative nécessaire à la survie d'une plante exposée à un stress abiotique. En effet, ce retard de développement permet à la plante d'accumuler de l'énergie et des ressources pour combattre le stress avant que le déséquilibre entre l'intérieur et l'extérieur de l'organisme n'augmente jusqu'à un seuil où les dommages seront irréversibles. La croissance est inversement corrélée à la résistance au stress salin d'une espèce / variété (Zhu, 2001 in Bois, 2005).

4.3.Effet de la salinité sur la teneur en proline :

Chez *fragaria x ananassa*, l'accumulation de proline est graduelle en fonction de l'intensité du stress salin, les taux d'augmentation ont atteint (3,52 %, 9,54 %, 28,19 % et 39,64 %) respectivement à (0,356 g/l, 0,73 g/l, 1,46 g/l et 2,92 g/l) par rapport au témoin (tableau 5, figure 6).

Tableau 4.5: Test statistique de signification de Fisher à $\alpha=5\%$ de la teneur en proline des plantes de *fragaria x ananassa* stressées pendant 30 jours aux différents niveaux de NaCl.

Les traitements	Moyenne± écart type	probabilité	signification
T0 (0g/l)	0,681±0,015 A	0	Très hautement significative
T1 (0,365 g/l)	0,657±0,01 B		
T2 (0,73 g/l)	0,616±0,014 C		
T3 (1,46 g/l)	0,489±0,01 D		
T4 (2,92 g/l)	0,411±0,011 E		

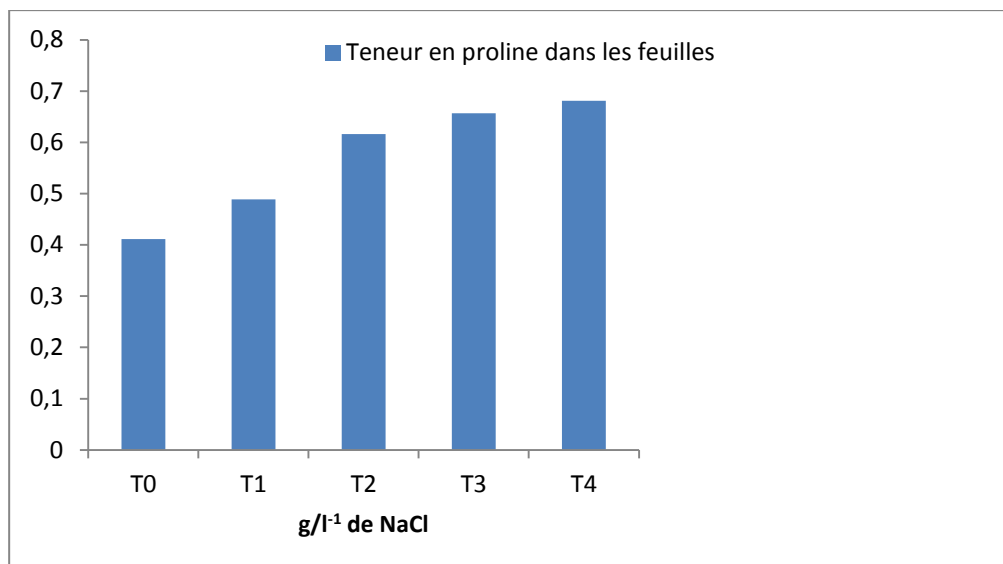


Figure 4.6: Variation de la teneur en proline de *fragaria x ananassa* sous l'effet de NaCl.

L'analyse de la variance à un seul critère de classification montre une différence très hautement significative ($P=0$) (tableau 6; annexe, le test de Newman et Keuls fait ressortir cinq groupes homogènes (A) représenté par le témoin qui reflète la moyennes la plus faibles, et le dernier groupe (E) présenté par le traitement le plus sévère T4 (2.92 g/l) qui reflète la moyenne la plus élevée. Donc en remarque une accumulation des proline chez cette espèce.

4.4.Effet de la salinité sur la teneur en sucre soluble

La comparaison des moyennes par l'analyse de la variance à un seul critère de classification montre une différence très hautement significative entre les traitements ($p=0$) (tableau 7; annexe).

Le test de Newman et Keuls fait ressortir trois groupes homogènes, le groupe (A) représenté par le témoin, ce groupe reflète la moyenne la plus élevée. Le groupe (B) représenté par les traitements T1, T2 et T3 (0,356, 0,73 et 1,46 g/l) et le dernier groupe qui reflète les moyennes les plus faible, représenté par le traitement T4 (2,92 g/l) (tableau 6, figure 7).

Tableau 4.6: Test statistique de signification de Fisher à $\alpha=5\%$ de la teneur en sucres solubles des plantes de *fragaria x ananassa* stressées pendant 30 jours aux différents niveaux de NaCl.

Les traitements	Moyenne± écart type	Probabilité	Signification
T0 (0g/l)	1,07A	0	Très hautement significative
T1 (0,365 g/l)	0,73B		
T2 (0,73 g/l)	0,7B		
T3 (1,46 g/l)	0,65B		
T4 (2,92 g/l)	0,32C		

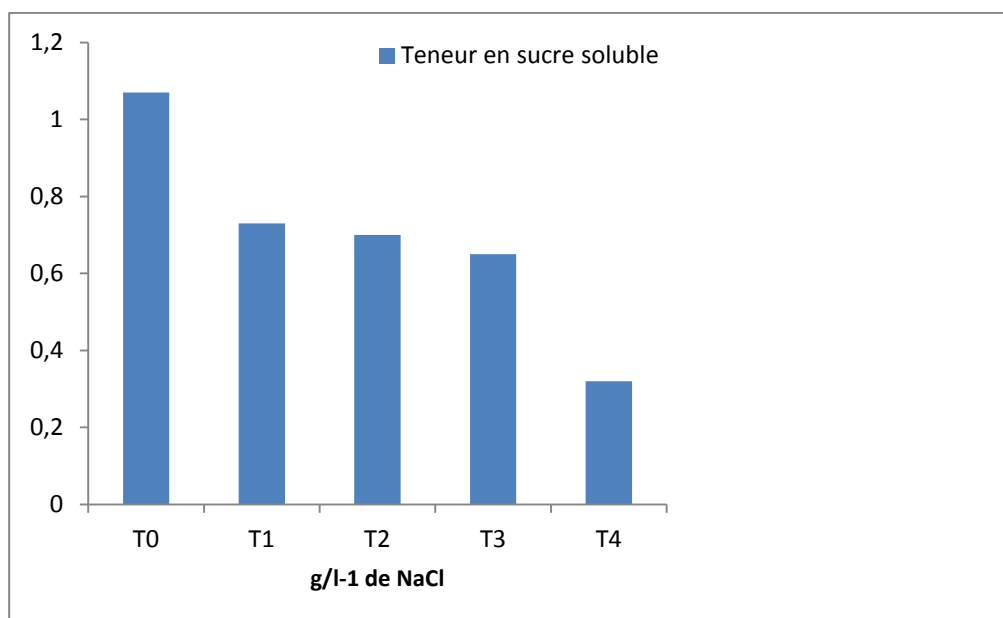


Figure 4.7: Variation de la teneur en sucre soluble de *fragaria x ananassa* sous l'effet de NaCl.

Discussion

Le comportement des plantes de *fragaria x ananassa* stressées aux différentes concentrations de NaCl montre une variabilité dans l'accumulation de proline et des sucres solubles dans les feuilles. De nombreux travaux rapportent que la proline et les sucres solubles s'accumulent dans la plante lorsqu'elle se trouve en conditions

défavorables (Sivaramakrishnan et *al.*, 1988) ce qui traduit le caractère de la résistance aux stress (Greenway et Munns, 1980). Chez les plantes sensibles, la présence de cet acide aminé et les sucres solubles est par contre amoindrie (Chen et *al.*, 1995). Selon Feitosa et *al.* (2001), Meloni et *al.* (2004), le rôle attribué à la proline et les sucres solubles dans la réponse des plantes aux stress reste parfois controversé ; pour Quien et *al.* (2001), ses accumulations contribuent à l'acquisition de cette résistance grâce au maintien de la turgescence cellulaire chez de nombreuses espèces, créé par l'ajustement osmotique dont la proline est responsable. Le mécanisme de l'accumulation de la proline et les sucres solubles permet de penser à la présence de sites de résistance de la plante à la contrainte. En effet, le transport de la proline et des sucres solubles de la source (lieu de synthèse) au site de la résistance est admis depuis longtemps comme un paramètre important dans l'acquisition de cette résistance (Bellinger et *al.*, 1989). Paquin (1986) signale que la proline serait synthétisée dans les feuilles et transportée vers ces sites; d'autres rapportent que l'acide aminé migre chez diverses plantes glycophytes vers les feuilles et s'y localise chez le sorgho (Weimberg, 1987), le coton (Boutelier, 1986), la fève (Belkhodja et Benkablia., 2000), le trèfle d'Alexandrie (Benkhaled et *al.*, 2003).

Conclusion:

Le stress salin exerce chez *fragaria x ananassa* un effet dépressif sur le taux et temps moyen de germination et sur tous les paramètres morphologiques et biochimiques. Le degré de sensibilité ou de tolérance dépend de l'intensité du stress. Concernant, les paramètres morphologique (taux de germination, temps de latence, longueur de la tige, longueur de racine et nombre de feuilles) ont enregistré une baisse en fonction de l'intensité du stress cette baisse résulte d'une perturbation physiologique des plantes en question et pourrait être considérée comme un critère approprié de la tolérance ou de la sensibilité à la salinité. L'action du sel sur *fragaria x ananassa* s'est traduite par des teneurs en proline et en sucres solubles totaux qui vont de pair avec la concentration en NaCl. La sélection du matériel végétal tolérant au sel est tributaire d'une connaissance approfondie des mécanismes physiologiques et biochimiques. De très nombreux composés organiques et minéraux interviennent dans l'ajustement osmotique. Les mécanismes étudiés au cours de ce travail ont permis d'établir le comportement chez *fragaria x ananassa* dans :

- le maintien d'une bonne osmorégulation (sucres solubles et proline).

En conclusion, les accumulations de la proline et des sucres solubles chez *fragaria x ananassa*. Seraient impliquées dans les mécanismes d'ajustement osmotique et serviraient aussi comme osmoprotecteurs. Ces deux éléments biochimiques peuvent être considérés comme « marqueurs biochimiques » du degré de tolérance au stress salin et par conséquent peuvent être utilisés pour la sélection précoce de variétés tolérantes au sel chez l'espèce étudiée.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Anderson,H.&Guttridge,C.,1982.**Strawberry Truss Morphology and the Fate of High Order Flower Buds.Crop Research, 22(2), p.105-&.
- **ANITA DE BORDEAUX., 2000.** Agronomie des bases aux nouvelles orientations. Livre, synthèse agricole 82-84 avenue d'Arès 33000 Bordeaux. P : 104.
- **ATMANE ROCHDI, J. LEMSELLEK, A. BOUSARHAL, ABDELLATIF RACHIDAI, 2005.** Évaluation sous serre de la tolérance à la salinité de quelques porte-greffes d'agrumes : *Citrus aurantium* et deux hybrides de *Poncirus trifoliata* (*Poncirus x Citrus sinensis* et *Poncirus x Mandarinier sunki*). Biotechnol. Agron. Soc. Environ. P : 66.
- **BABA SIDI-KACI S ; 2010** "Effet du stress salin sur quelques paramètres phénologiques (biométrie, anatomie) et nutritionnels de l'Atriplex en vue d'une valorisation agronomique", mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de magister spécialité : agronomie saharienne, Option : Gestion des agrosystèmes sahariens, Algérie. p133.
- **Beldjoudi, Z. et Daoud, Y.,** “Conséquence de la salinité sur l'antagonisme Na^+/K^+ chez six cultivars de blé dur”, IIIème Journées scientifiques sur le blé. 11-12-1 Février G.B.B.V. -D.S.N.V. -I.T.G.C., Univ. Mentouri, Constantine, (2002), 98-99.
- **BEN AZOUAOU I, DJAMAI Z ; 2012** - effet de stress salin sur la comportement morpho-physiologique de trois variétés de tomate dans la condition contrôlées", mémoire en vue de l'obtention du diplôme d'ingénieur d'état en agronomie, M'sila, Algérie. 84p.
- **BEN NACEUR, M ; RAHMOUNE C ; SIDIRI H ; MEDAHI ML ; SALMI M., 2002-** Effet de stress salin sur la croissance et la production en grains de quelques variétés maghrébines de blé. Sécheresse, vol 12 (2001) : p 167-174.
- **BOUALLA N., BENZIANE A., et DERRICH Z., 2012** -Origine de la salinisation des sols de la plaine de M'léta (bordure sud du bassin sebkha

Oran), Journal of Applied Biosciences 53: 3787 – 3796.

- **BOUAOUINA S; ZID E et HAJJI M., 2000-** Tolérance à la salinité, transports ioniques et fluorescence chlorophyllienne chez le blé dur (*Triticum turgidum* L.). CIHEAM-Options Méditerranéennes, p 239-2.
- **BOUHADDI KARIMA, 2009.** Réponses physiologiques, biochimiques et anatomiques chez le haricot (*Phaseolus vulgaris* L.) au stress de la salinité. Thèse, magistère, université d'Oran. P : 23.
- **BOULGHALAGH J, BERRICHI A, EL HALOUANI H et BOUKROUTE A., 2006.** Effet des stress salin et hydrique sur la germination des graines du jojoba (*Simmondsia chinensis* [link] schneider). Recueil des résumés. Le Premier Congrès National sur l'Amélioration de Production Agricole, Settat, Maroc, 24p.
- **Bradford, E., Hancock, J.F. & Warner, R.M., 2010.** Interactions of Temperature and Photoperiod Determine Expression of Repeat Flowering in Strawberry. Journal of the American Society for Horticultural Science, 135(2), p.102-107.
- **CALU, G ; 2006** - Effet du stress salin sur les plantes. Comparaison entre deux plantes

modèles : *Arabidopsis thaliana* et *Thellungiella halophila*". Master1, Recherche biotechnologie : du gène à la molécule SpectroSciences, article 23. 10 p.

- **Darrow, G.M., 1966.** The Strawberry: History, Breeding and Physiology, New York (USA): Holt, Rinehart and Winston.
- **DEBEZ A, CHAIBI W et BOUZID S., 2001.** Effet du NaCl et de régulateurs de croissance sur la germination d'*Atriplex halimus* L. *Agriculture*. 2 (10) : 8-135.
- **M. DENDEN, T. BETTAIEB, ALEF SALHI ET M. MATHLOUTHI, 2005.** Effet de la salinité sur la fluorescence chlorophyllienne, la teneur en proline et la production florale de trois espèces ornementales. *Tropicultura*. P : 1.
- **Dirlewanger, E. et al., 2002.** Development of microsatellite markers in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] and their use.
- **Durner, E.F. et al., 1984.** Photoperiod and temperature effects on flower and runner development in day-neutral, June-bearing, and everbearing strawberries. Journal of the American Society for Horticultural Science, 109(3).

- **EL HENDAWY, S. E. S.** 2004- Salinity tolerance in Egyptian Spring Wheat: thèse de

Doctorat du ray-grass anglais du chiendent. Biotechnol. Agron. Soc. Environ. 11(3).235-244.

- **M. EL MIDAOU, M. BENBELLA, A. AÏT HOUSSA, M. IBRIZ ET A. TALOUIZTE** ,2007. Contribution a l'étude de quelques mécanismes d'adaptation a la salinité chez le tournesol cultive (*helianthus annuus l.*). Revue HTE N°136. P: 1
- **S. El Madidi, B. El Baroudi, F. Bani Aameur, 2003.**Variation de la tolérance à la salinité chez l'orge pendant la germination et la croissance des plantes. Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires,vol 23,No 2.P : 2.
- **Esau,K.,1977.**Anatomy of seed plants., London: John Wiley & Sons.
- **FAO ; 2006** - Conférence électronique sur la salinisation : Extension de la salinisation et Stratégies de prévention et réhabilitation éd IPTRID pp4.
- **FAO ; 2002** - Le sel de la terre: un danger pour la production vivrière". For crop improvement (ed. R. C. Staples) Wiley, New York: 37- 66 for crop improvement". Ed. R. C. Staples Wiley, New York: 37- 66.
- **Foster, T., Johnston, R. & Seleznyova, A., 2003.** A morphological and quantitative characterization of early floral development in apple (*Malus x domestica* Borkh.). Annals of botany, 92(2), p.199-206.
- **FREDERIC BOUCHAR, 2010.**Mesure de Salinité. Tenum. P : 3
- **G.HOPKINS, 2003.**Physiologie végétale. Livre,De Boeck Universite rue des Minimes 39,B-1000 Bruxelles. P: 452- 464.
- **GHOULAM, 2014.**La symbiose Légumineuses-rhizobia sous conditions de salinité : Aspect Agro-physiologique et biochimique de la tolérance. International Journal of Innovation and Scientific Research Vol. 11 No 1. P: 97.99, 101.
- **Guttridge, C.G., 1955.** Observation on the shoot growth of the cultivated strawberry plants. Journal of Horticultural Science,(30),p.1- 11.
- **HAMROUNI L., MOHSEN H., CHEDLY A., ABDELWAHED G., 2011** - Exclusion

du chlorure et inclusion du sodium : deux mécanismes concomitants de tolérance à la salinité chez la vigne sauvage *Vitis vinifera* subsp. *sylvestris* (var. 'Séjnéne□'), Biotechnol. Agron. Soc. Environ. PP 388-400.

- **Hancock, J.F.**, 1999. Strawberries., Wallingford, UK: CABI Publishing.
- **Hancock, J.F., Lavin, A., and Retamales, J.B.** (1999). Our southern strawberry heritage: *Fragaria chiloensis* of Chile. Hortscience 34, 814-816.
- **HAOUALA F., FERJANI H., BEN EL-HADJ S., 2007_** Effet de la Salinite Sur L'eau et Certains Osmolytes Chez L'orge (*Hordeum Vulgare* L) European Journal of Scientific Research. Vol.23, n°1, pp.98LGFAère en Ecologie et Environnement .Option : Ecologie végétale. Université Mentouri Constantine. 141p.
- **Heide, O.M., 1977.** Photoperiod and Temperature Interactions in Growth and Flowering of Strawberry. Physiologia Plantarum, 40(1),p.21-26.
- **Hollender, C.A. et al., 2012.** Flower and early fruit development in a diploid strawberry, *Fragaria vesca*. Planta, 235(6), p.1123-1139.
- **Hummer, K.E., Nathewet, P., and Yanagi, T. (2009).** Decaploidy in *Fragaria Iturupensis* (Rosaceae). American Journal of Botany 96, 713-716. SCFSLY1 E3 Ubiquitin Ligase for DELLA Protein Substrates. The Plant Cell Online, 16(6), p.1406-1418. European Journal of Scientific Research. Vol.23, n°1, pp.98LGFAère en Ecologie et Environnement .Option : Ecologie végétale. Université Mentouri Constantine. 141p.
- **Hytönen, T. et al., 2009.** Gibberellin mediates daylengthO controlled differentiation of vegetative meristems in strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch). BMC Plant Biology, 9,p.18-18.
- **ARNAULT, N. LOMBARKIA, E. FERRE, H. GALY, LAMBION J., J. AUGER ET S. DERRIDJ, 2011.** Les sucres solubles utilisent comme inducteurs de résistance de la plante aux bio-agresseurs.CETU Innophyt, Université François Rabelais de Tours, avenue Monge, 37200 Tours. P : 1.
- **IPTRID** (Programme International pour la Technologie et la Recherche en Irrigation et Drainage) : Conférence électronique sur la salinisation: Extension de la salinisation et stratégies de prévention et réhabilitation, (Du 6 Février au 6 Mars 2006).

- **IRD ; 2008** - Les dossiers thématiques de l'Institut de recherche pour le développement.

Les sols sont fragiles : 1er partie Salinisation et sodisation des sols. 2ème partie La Dégradation.

- **JABNOUNE, M ; 2008** -Adaptation des plantes à l'environnement : S+/t: czress salin.

Présentation Power Point.Plant Physiol . 28 (1–2): 66–74.

- **KOZLOWSKI S ., 1997** -Response of woody plants to flooding and salinity. Tree physiology monograph", n°1, pp. 1-29.
- **LAMZERI, H ; 2007**- Réponses écophysiologicals de trois espèces forestières du genre

Acacia, Eucalyptus et Schinus (*A. cyanophylla*, *E. gomphocephala* et *S. mölle*) soumises à un stress salin".Thèse de magistère en Ecologie et Environnement .Option : Ecologie végétale. Université Mentouri Constantine. 141p.

- **Le Mière, P. et al., 1996.** The effect of temperature and photoperiod on the rate of flower initiation and the onset of dormancy in the strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch). Journal of Horticultural Science, 71(3), p.361-371.
- **LOYER., J.Y. 1991** -Classification des sols salés : les sols Salit " Pédologue Orstom. Vol.
- **MAILLARD J., 2001.** Le point sur l'Irrigation et la salinité des sols en zone sahélienne. Risques et recommandations. *Handicap International*, 34p.
- **MARLET S, 2004**- Evolution des syst`emes d'irrigation et gestion de la salinité des terres irriguées", France CIRAD-AMIS pp 11.
- **Merchante,!C.!et!al.,!2013.!Ethylenel!is!involved!in!strawberry!fruit!**

ripening! in! an! organOspecific! manner.! Journal! of!

Experimental!Botany,!64(14),!p.4421-4439.!

- **MERIEM BELFAKIH, MOHAMMED IBRIZ ET ABDELMJID ZOUAHRI, 2013.** Effet de la salinité sur les paramètres morphophysiologicals de deux variétés de bananier (*Musa acuminata* L). Journal of Applied Biosciences 70:5652– 5662. P: 5643.
- **MOHAMED FARISSI, FAISSAL AZIZ, ABDELAZIZ BOUIZGAREN ET**

CHERKI GHOULAM, 2014.La symbiose Légumineuses-rhizobia sous conditions de salinité : Aspect Agro-physiologique et biochimique de la tolérance. International Journal of Innovation and Scientific Research Vol. 11 No 1. P: 97.99, 101.

- **Mermoud, A.,** “Cours de physique du sol: Maîtrise de la salinité des sols”, Ecole polytechnique fédérale de Lausanne, (2006), 23 p.
- **NDOUR P et DANTHU P., 2000.** Effet des contraintes hydrique et saline sur la germination de quelques acacias africains. Projet National de Semences Forestières du Sénégal. 11 p.
- **NICOLAS .B J, CHRISTINE. P M ET PHILIPPE. U P ; 2011-** Impact de la pollution saline sur la biocénose aquatique de la Moselle ", UFR Sciences Fondamentales et Appliquées – Université Paul Verlaine Metz - Campus Bridoux. Pp 59
- **Nitsch, J.P.,1950.**Growth and Morphogenesis of the Strawberry as Related to Auxin American Journal of Botany, 37(3), p.211.
- **Potter,D. et al., 2007.** Phylogeny and classification of Rosaceae. Plant Systematics and Evolution, 266(1), p.5-43.
- **RAHMOUNE, C., SERIDI, R., BEN NACER, ET PAUL,R ;2004 -** Etude de la

cinétique de désorption du cadmium à partir de racines intactes de pois (*Pisum sativum* L.) cultivé en milieu hydroponique enrichi en zinc. Revue Sciences et Technologie 21 : 39-43.

- **Risser,G.& Navatel, J.C.,1997.** La!fraise : plants et variétés CTIFL.
- Savini. G. et al., 2005.** Strawberry Growth and Flowering : an architectural model. International Journal of Fruit Science, 5, p.29-50.
- **Sustainable Agriculture and Soil Conservation 2007-2009**
- **Stewart, P.J. Folta, K.M., 2010.** A Review of Photoperiodic Flowering Research in Strawberry (*Fragaria* spp.). Critical Reviews in Plant Sciences, 29(1),p.1.
- **Trainotti, L., Pavanello, A & Casadoro, G., 2005.** Different ethylene

Receptors show an increase d'expression during the ripening of strawberries: does such an increment imply a role for ethylene in the ripening of these nonClimacteric fruits
Journal of Experimental Botany,56(418) p.2037-2046.

- **Zid, E. et 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”, Ed. Aupelf-Uref. John Libbey. Eurotext, Paris, 91-108.

ANNEXE

Tableau 1: taux de germination

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	1474.479	9	163.831				
VAR.FACTEUR 1	1464.479	4	366.12	183.06	0.00012		
VAR.RESIDUELLE 1	10	5	2			1.414	1.86%

Tableau 2: temps de latence

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	255.6	9	28.4				
VAR.FACTEUR 1	245.6	4	61.4	30.7	0.00174		
VAR.RESIDUELLE 1	10	5	2			1.414	13.09%

Tableau 3: longueur de la tige

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	2.324	14	0.166				
VAR.FACTEUR 1	2.244	4	0.561	69.95	0		
VAR.RESIDUELLE 1	0.08	10	0.008			0.09	11.48%

Tableau 4: longueur de racine

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	7.6	14	0.543				
VAR.FACTEUR 1	7.5	4	1.875	187.5	0		
VAR.RESIDUELLE 1	0.1	10	0.01			0.1	9.09%

Tableau 5: nombre de feuilles

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	61.6	14	4.4				
VAR.FACTEUR 1	51.6	4	12.9	12.9	0.00069		
VAR.RESIDUELLE 1	10	10	1			1	18.52%

Tableau 6: teneur en proline

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	0.163	14	0.012				
VAR.FACTEUR 1	0.161	4	0.04	274.257	0		
VAR.RESIDUELLE 1	0.001	10	0			0.012	2.12%

Tableau 7: teneur en sucres solubles

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	0.874	14	0.062				
VAR.FACTEUR 1	0.854	4	0.213	102.591	0		
VAR.RESIDUELLE 1	0.021	10	0.002			0.046	6.57%