

UNIVERSITÉ DE BLIDA 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Biotechnologies

THÈSE DE DOCTORAT

En Sciences Agronomiques

**IMPLICATION DES PHYTOFORTIFIANTS DANS LA
RÉGULATION DES DIFFÉRENTS RÉGIMES DE STRESS :
CAS D'UN BIOFERTILISANT ISSU DU
LOMBRICOMPOSTAGE**

Par

Salima BENZAOUK

Devant le jury composé de :

A. BENRIMA	Professeure, U. Blida 1	Présidente
Z-E. DJAZOULI	Professeur, U. Blida 1	Directeur de thèse
S. LUTTS	Professeur, UCL. Belgique	Co-directeur de thèse
M. LAZALI	MCA, U. Khemis Miliana	Examineur
M.S. BRADEA	Professeure, U. Blida 1	Examinatrice

Blida, 2018

REMERCIEMENTS

Voilà donc la fin de cette thèse et l'expérience humaine et scientifique qui m'a profondément marquée au cours de ces quatre années.

Je tiens à exprimer mes remerciements et mes respects aux membres du jury de thèse d'avoir accepté d'honorer et d'enrichir mon travail. Pour cela, je leur exprime ma profonde reconnaissance.

Je commencerais par remercier Madame GUENDOUZ-BENRIMA Atika professeure à l'Université de Blida 1 pour avoir aimablement accepté la responsabilité de présider le jury de ma thèse.

Je suis également honorée d'avoir eu comme rapporteur de cette thèse Monsieur le Docteur LAZALI Mohamed Maître de conférences A à l'Université de Khemis Meliana I. Je le remercie énormément.

Je voudrais remercier aussi Madame BRADEA Maria Stella, Professeure à l'Université de Blida 1, d'avoir accepté de faire partie du jury de ma thèse.

Je tiens à remercier le Professeur Z.E. DJAZOULI, mon directeur de thèse pour m'avoir fait confiance et pour son accompagnement tout au long de ces quatre ans de thèse. Je le remercie pour cette liberté de travail qu'il m'a accordé. Je le remercie pour sa disponibilité, ses conseils et ses orientations. Je le remercie également de m'avoir apporté son optimisme, son enthousiasme et ses encouragements, ainsi que sa présence dans les moments difficiles. Il a toujours su me motiver et me pousser à aller de l'avant. Je lui suis très reconnaissante, merci pour tout. Je le remercie également d'avoir cru en moi, qu'il trouve ici l'expression de mes remerciements les plus sincères.

C'est avec beaucoup de gratitude que je remercie vivement le Professeur Stanley LUTTS pour avoir accepté de codiriger ma thèse d'une part, et d'autre part de m'avoir accepté et accueilli chaleureusement au sein de son groupe de recherche à l'université catholique de Louvain La Neuve(UCL) en Belgique où j'ai effectué tout mon travail de thèse. Je le remercie d'avoir mis à ma disposition tous les moyens humains et techniques nécessaires au bon déroulement de mes travaux de recherches, sans son aide cette thèse ne serait sans doute pas terminée. Je le remercie également pour ses qualités scientifiques et humaines, sa rigueur et ses conseils éclairés. Je le remercie pour l'intérêt accordé à mon sujet de thèse bien qu'il lui soit étranger et nouveau. Je le remercie aussi pour sa contribution à la rédaction de mes articles. J'ai beaucoup appris avec lui durant mes stages effectués dans son laboratoire. C'est toujours un plaisir de travailler avec lui et j'espère pouvoir continuer à collaborer avec lui dans l'avenir.

Je tiens aussi à remercier mon amie Nassima qui m'a beaucoup soutenu et orienté lors de mon premier stage au GRPV en Belgique, sans oublier mes amies Emna et Donia, avec qui j'ai partagé des moments forts lors de mes séjours en Belgique, pour leur soutien, encouragement et surtout leur bonne humeur.

Un grand merci aux membres de GRPV de m'avoir assuré un climat de travail agréable: merci à Muriel d'avoir répondu à mes questions, merci à Brigitte pour son aide durant les différentes mesures physio et pour être toujours à mon secours en cas de besoin, merci à Helene pour les dosages par HPLC, merci à Marie Eve pour son aide pour le dosage des minéraux , merci à Jaque, Baudouin, Anne Sophie et Marie pour leur sympathie et leur gentillesse.

Un grand merci à Beatrice pour sa disponibilité et pour avoir mis à ma disposition les produits nécessaires à mes manipulations.

Je voudrai également remercier mes amies de Blida, Radia et Selma sans oublier mon amie Naima à qui je souhaite beaucoup de réussite.

Je tiens également à remercier chaleureusement ma maman pour sa présence et son soutien. Je la remercie pour m'avoir donné les moyens et le temps nécessaires pour poursuivre mes études jusqu'à la réalisation de ce travail. Quelle trouve ici l'expression de ma profonde affection. Je lui souhaite longue vie et beaucoup de santé.

S.BENAZZOUK

Dédicace

*Ce travail est dédié à l'âme de mon cher Papa Abdelhamid Benazzouk,
Je te dédie ce travail en témoignage de mon éternel amour et mon immense
gratitude,*

S.BENAZZOUK

ملخص

المادة المستعملة في هذه الدراسة ناتجة عن هضم النفايات المنزلية من طرف ديدان الأرض و تسمى الفيرميكوبوست تم تحديد و تقدير كمية السيتوكينين, الأوكسين, حمض الأبسيسيك, الجاسمونات, حمض البنزويك و البوليامينات بالإضافة إلى البوليفينول, الأنتوسيان و المغذيات الموجودة في مادة الفيرميكوبوست. هذا التنوع الغني في منظمات النمو و المواد الكيميائية النباتية يمكن أن يساهم في الاستجابات الفيزيولوجية الإيجابية و الناتجة عن معالجة النباتات بمادة الفيرميكوبوست استجابة للضغوط الحيوية و الغير حيوية مثل الملوحة التي تعتبر واحدة من أهم الضغوط البيئية التي تؤثر على الإنتاج الزراعي في العالم.

لاختبار هذه الفرضية, يتم إجراء عدة تجارب. نباتات الطماطم تعرض للملوحة بإضافة كلوريد الصوديوم إلى المحلول المغذي و تعامل ب 6 مل/ل من الفيرميكوبوست قبل التعرض (المعالجة) و أثناء (بالتلازم مع الملح). أخفضت الملوحة وزن و رطوبة الأوراق, زادت من تركيز الصوديوم في الجذور و أخفضت مستوى البوتاسيوم و كذا تبادل الغازات و عوامل التركيب الضوئي

تطبيق مادة الفيرميكوبوست بالتزام مع الملوحة يزيد من وزن الأوراق, تركيز البرولين و تخفيض نسبة الصوديوم في الأوراق (21,4%) و زيادة نسبة الصوديوم في الجذور (16,9%). المعالجة المسبقة متنوعة بالملوحة تسمح بتعديل التكيف الأسموزي, الحفاظ على التركيب الضوئي و عامل صوديوم/بوتاسيوم أفضل و كذا ارتفاع تركيز البرولين و السكريات

لذلك, فإن تطبيق المعالجة المسبقة للفيرميكوبوست متبوعاً بالتعرض للملوحة أكثر فاعلية مقارنة بتطبيقه مع الملح

تم تطبيق الفيرميكوبوست خلال فترة الشفاء بعد التعرض لفترة قصيرة من الملوحة و أظهرت النتائج أن ملوحة قصيرة الأجل ينتج تأثيرات عكسية على النمو, رطوبة النبات, عوامل التركيب الضوئي. لم يلاحظ أي فرق بين العلاج بوجود أو غياب الفيرميكوبوست للعوامل المذكورة أعلاه. الفيرميكوبوست لم يجعل أو يحسن في استعادة النباتات.

لتحديد الدور المفترض للهormونات النباتية الموجودة في الفيرميكومبيست في تنظيم تحمل الملوحة و تعديل تراكم الهرمونات الذاتية, تم تحليل المظهر الهرموني لأنسجة الطماطم المعالجة بالملح و الفيرميكومبيست لمدة 7 أيام.

أظهرت النتائج أن الملوحة أثرت سلباً على نمو النبات بينما زاد نمو النبات باستعمال الفيرميكومبيست مع الملح و ذلك بانخفاض القدرة الأسموزية في الجذور, ارتفاع البرولين, تراكم البوتاسيوم و انخفاض الصوديوم في الأوراق. أظهر تحليل الهرمونات للطماطم أن النبات لديه حالة هرمونية متباينة اعتماداً على العلاجات و الأعضاء. خفف الفيرميكومبيست من الأثار الضارة للملح عن طريق تعديل مستوى الهرمونات الذاتية مما ساعد على استئناف النمو. نتائجه تشير إلى أن النبات بوجود الفيرميكومبيست يقوم بتعديل تركيب الهرمونات أو/ و يمتص انتقائياً المركبات الموجودة في الفيرميكومبيست.

اختبرنا دور الفيرميكومبيست في إنبات بذور اللفت (كولزا). استخدمنا صنفين من البذور: بذور حديثة من صنف هاري و بذور قديمة من صنف ألبومير. الفيرميكومبيست يزيد من نسبة إنبات البذور المسنة ي غياب الملح و يزيد من طول الشتلات لكلا الصنفين. لم يكن للفيرميكومبيست إلا أثر طفيف عند إضافته لمحلول الإنبات بوجود الملح. و على النقيض من ذلك, فإن التحضير باستخدام الفيرميكومبيست قد أدى إلى تحسين كبير في الإنبات في وجود الملح و ذلك بإدارة فعالية للأكسدة في كلا الصنفين. لم يكن التحسن في مقاومة الملوحة بوجود الفيرميكومبيست ناتجاً عن تغيير المحتوى الأيوني أو البرولين. نستنتج أن الفيرميكومبيست يمكن أن يعمل كعامل تجديد لاستعادة البذور القديمة و كعامل أول لتحسين مقاومة الملوحة في مرحلة الإنبات

تؤكد نتائج هذا العمل أن الفيرميكومبيست هو عامل وقائي فعال لتحسين مقاومة الملوحة في النباتات في مراحل النمو المختلفة ربما هذا هو النتيجة النهائية للوجود المتزامن للعديد من المركبات الفعالة وليس نتيجة مركب واحد

Résumé

Le lixiviat de Vermicompost (LVC) utilisé dans la présente étude résulte de la digestion de déchets ménagers par les vers de terre *Eisenia foetida*. Les cytokinines, les auxines, l'acide absissique, les jasmonates, l'acide benzoïque et les polyamines ainsi que les polyphénols, les anthocyanes et les nutriments sont identifiés et quantifiés dans le LVC. Cette riche diversité en régulateurs de croissance et en substances phytochimiques peut contribuer à de favorables réponses physiologiques élicitées par le traitement des plantes au LVC en réponse aux stress biotique et abiotique tel que la salinité qui est l'un des principaux stress environnementaux affectant la production agricole dans le monde.

Pour tester cette hypothèse, plusieurs expériences sont réalisées. De jeunes plants de *Solanum lycopersicum*, cv. Ailsa Craig sont exposés à la salinité (150mM NaCl ajouté à la solution nutritive) et traités au LVC (6ml/l) avant exposition (prétraitement) et pendant (concomitamment avec NaCl). Le stress salin a diminué les poids frais et secs des feuilles, a réduit la teneur en eau des feuilles, a augmenté les concentrations en Na^+ des racines et des feuilles et a diminué celles de K^+ . La salinité a réduit la conductance stomatique, les échanges gazeux, ainsi que les paramètres de la photosynthèse. L'application du LVC en concomitance avec le NaCl a augmenté le poids frais des feuilles, la conductance stomatique et la concentration en proline. La concentration en Na^+ a été réduite dans les feuilles (de 21,4%) et a augmenté dans les racines (de 16,9%). Le prétraitement des plantes suivi d'un stress salin, permet un meilleur ajustement osmotique, avec le maintien de la photosynthèse nette (A) et un meilleur ratio K^+/Na^+ . Le prétraitement induit une meilleure synthèse de solutés solubles à savoir, la proline et les sucres solubles. Il permet une meilleure stabilité et une bonne efficacité du système PSII. De ce fait, l'application du LVC en prétraitement suivi de l'exposition à la salinité est plus efficace comparée à son application concomitamment avec le NaCl, bien que les deux modes d'application permettent l'atténuation des effets néfastes du NaCl.

L'application du LVC durant la période de récupération après une courte exposition à la salinité a été examinée. Les résultats ont montré que le stress à court terme produit des effets réversibles sur la croissance, le statut hydrique de la plante, les paramètres de la photosynthèse, la photosynthèse nette et la transpiration instantanée. Aucune différence significative entre les traitements avec et sans LVC n'a été observée pour les paramètres mentionnés ci-dessus. Le traitement au LVC après un stress salin n'a pas amélioré ou accéléré la récupération des plantes.

Pour déterminer le rôle présumé des phytohormones présentes dans le LVC dans la régulation de la tolérance au sel et la modification de l'accumulation des phytohormones endogènes, le profil hormonal des tissus de tomate traités au NaCl (125 mM) et VCL (18 ml / l) pendant 7 jours a été analysé par HPLC couplé à un spectromètre de masse hybride. Nos résultats ont montré que la salinité a affecté négativement la croissance des plantes tandis que le traitement au LVC a augmenté leur croissance sous stress salin, associée à la diminution du potentiel osmotique des racines, l'augmentation de la teneur en proline des feuilles, l'accumulation de K^+ dans les racines et les feuilles et la réduction de la teneur en Na^+ des feuilles. L'analyse des phytohormones de *S. lycopersicum* a montré que la plante présente un statut hormonal contrasté en fonction des traitements et des organes. Le LVC a atténué les effets néfastes du stress salin en modifiant le niveau des phytohormones endogènes, aidant ainsi la plante à reprendre sa croissance. Nos résultats suggèrent que la plante en présence du LVC modifie sa synthèse endogène de phytohormones et / ou absorbe sélectivement les composés présents dans le LVC.

Nous avons également testé le rôle du LVC dans la germination des graines. Deux lots de semences ont été utilisés : un ancien (cv. Libomir) et un récent (cv. Harry). Le LVC a augmenté le pourcentage de germination des graines âgées en absence de NaCl et a augmenté la longueur des plantules des deux cultivars. Le LVC n'a eu qu'un impact mineur lorsqu'il est directement additionné la solution de germination contenant du NaCl. En revanche, le priming au LVC a fortement amélioré la germination en présence du NaCl en relation avec une gestion plus efficace du stress oxydatif chez les deux cultivars. L'amélioration de la résistance à la salinité fournie par le priming au LVC n'était pas due à une modification de la teneur en ions ou en proline. On en conclut que le LVC peut agir comme un agent de rajeunissement pour restaurer les anciens lots de semences et comme un agent de priming pour améliorer la résistance à la salinité au stade de la germination.

Les résultats du présent travail confirment que le LVC représente un agent protecteur efficace pour améliorer la résistance au stress salin des plantes à différents stades de croissance. C'est probablement la conséquence ultime de la présence simultanée de plusieurs composés en interaction plutôt que le résultat d'une seule molécule.

Mots clé : ajustement osmotique, Colza, Concentration Na^+ , Phytohormones, Phytohormones endogènes, Salinité, *S. lycopersicum*, stress oxydatif, vieilles graines.

The phytofortifying implication in the regulation of different stresses: case from biofertilizer resulting of vermicompostage.

Abstract

Vermicompost leachate (VCL) used in the present study results from the activity of earthworms *Eisenia foetida* on food wastes. Cytokinins, auxins, abscisic acid, jasmonates, benzoic acid, and polyamines as well as polyphenols, anthocyanes, soluble sugars and nutrients content in samples of VCL were quantified. This rich diversity in natural plant growth regulator (PGRs) and phytochemicals in VCL may contribute to the numerous favorable physiological responses elicited by VCL application to plants in response to various biotic and abiotic stresses such as salinity which is one of the major environmental stresses affecting crop production worldwide.

To test this hypothesis, various experiments were achieved. Young tomato seedlings (*Solanum lycopersicum*, cv. Ailsa Craig) were exposed in nutrient solution to salinity (150 mM NaCl) for 7 days after or during an exposure to 6 mL.L⁻¹ VCL application. Salt stress decreased leaf fresh and dry weights, reduced leaf water content, increased root and leaf Na⁺ concentrations, and decreased K⁺ concentrations. Salt stress also decreased stomatal conductance, net photosynthesis, instantaneous transpiration, maximal efficiency of PSII photochemistry in the dark-adapted state, photochemical quenching, and actual PSII photochemical efficiency. VCL applied during salt stress increased leaf fresh weight and stomatal conductance, but did not reduce leaf osmotic potential, despite an increased proline content in the salt-treated plants. VCL reduced Na⁺ concentrations in leaves (by 21.4%), but increased them in roots (by 16.9%). VCL pre-treatment followed by salt stress was more efficient than VCL concomitant to salt stress, since VCL pre-treatment provided the greatest osmotic adjustment recorded, with maintenance of net photosynthesis and K⁺/Na⁺ ratios following salt stress. VCL pre-treatment also led to the highest proline content in leaves (50 μmol g⁻¹ FW) and the highest sugar content in roots (9.2 μmol g⁻¹ FW). Fluorescence-related parameters confirmed that VCL pre-treatment of salt-stressed plants showed higher PSII stability and efficiency compared to plants under concomitant VCL and salt stress.

Metabolic profile response during salt stress recovery in tomato treated with VCL was examined. The results showed that short-term NaCl stress produces reversible effect on growth, plant water relation, photosynthetic parameters, net photosynthesis (*A*), and instantaneous transpiration (*E*). No significant difference among treatment with and without VCL was observed for above mentioned parameters. VCL treatment after salt stress did not improve or hasten plant's recovery.

To determine the putative role of phytohormones presents in VCL in regulation of salt tolerance and stress-induced modification in endogenous phytohormone levels, phytohormone profile of tomato plants tissue were analyzed by HPLC coupled to a hybrid triple quadrupole/linear ion trap mass spectrometer following application of NaCl (125mM) and VCL (18ml/l) during 7 days. Our results showed that salinity adversely affected plant growth while VCL treatment increased seedling's growth under salt stress, which was concomitant with the decrease of osmotic potential of root, increase of leaves proline content and the accumulation of K⁺ in roots and leaves and reduction of Na⁺ content in leaves. Phytohormones analysis of *S. lycopersicum* showed that the plant displays a contrasting hormonal status depending on treatments and organs. VCL mitigated the adverse effects of salt stress by changing the level of endogenous phytohormones, thus aiding the plant in resuming its normal growth and development. Our findings suggest that the plant in presence of VCL modifies its endogenous phytohormones synthesis and/or absorbed selectively the compounds within VCL.

We also tested the role of VCL in seed germination. Two seed lots were used: one old seed lot (cv. Libomir) and a recent one (cv. Harry). VCL increased the germination percentage of aged seeds in the absence of NaCl and increased seedling length in both cultivars. VCL had only a minor impact when directly added to the NaCl-containing germinating solution. In contrast, priming with VCL strongly improved subsequent germination in the presence of NaCl in relation to a more efficient management of oxidative stress in both cultivars. The improvement of salinity resistance provided by VCL priming was not due to modification in ion or proline content. It is concluded that VCL may act as a rejuvenation agent invigorating old seed lots and as an efficient priming agent for improvement of salinity resistance at the germination stage.

The findings of the present studies confirm that VCL represents an efficient protective agent for improvement of salt-stress resistance of plant at different stages growth. This is probably the ultimate consequences of the simultaneous presence of several interacting compounds rather than the result of one single molecule.

Keywords: ageing seeds. endogenous phytohormones. Na⁺ concentration. osmotic adjustment. Oxidative stress. Phytohormones. Priming. Rapeseed. Salinity. *S. lycopersicum*.

SOMMAIRE

Introduction	1
Chapitre I : Aperçu bibliographique	6
1. La salinité.....	7
2. Le stress salin : l'ennemi des plantes cultivées.....	8
2.1. Effet du stress salin sur la germination.....	9
2.2. Effet du stress salin sur la croissance et le développement.....	10
2.3. Effet du stress salin sur le statut hydrique.....	11
2.4. Effet de la salinité sur la photosynthèse.....	12
2.5. Effet de la salinité sur l'équilibre nutritionnel.....	12
2.6. Le stress oxydatif.....	13
3. Mécanismes de tolérance au stress salin chez les plantes	15
3.1. Homéostasie ionique.....	16
3.2. Stratégie osmotique.....	17
3.3. La gestion des antioxydants.....	18
3.4. Les polyamines (PAs).....	19
3.5. Induction hormonale.....	21
3.5.1. Les auxines.....	21
3.5.2. Acide abscissique (ABA)	22
3.5.3. Les cytokinines (CKs).....	22
3.5.4. L'acide salicylique (AS).....	22
3.5.5. L'acide jasmonique (AJ).....	23
3.5.6. L'acide gibbérellique (AG).....	23
4. Stratégies d'atténuation des effets néfastes du stress salin chez les plantes cultivées.....	23
4.1. Application de protecteurs exogènes	24
4.1.1. Les osmoprotectants	24
4.1.2. Les phytohormones.....	25
4.1.3. Les antioxydants.....	26
4.1.4. Les polyamines.....	27
4.2. Le priming.....	28
4.2.1. Le processus du priming des graines.....	28
4.2.2. Les changements physiologiques, biochimiques et moléculaires induits par le priming.....	29
4.2.3. Impact du priming sur la tolérance à la salinité des graines et plantules.....	30
4.3. Les biostimulants	31
4.3.1. Inoculum de bactéries.....	32
4.3.2. Les extraits d'algues.....	32
4.3.3. Les hydrolysats ou extraits de plantes.....	32
4.3.4. Les substances humiques	33
4.3.5. Le vermicompost ou lombricompost.....	33
5. Le vermicompostage et le vermicompost.....	33
5.1. Le vermicompostage : technique de traitement des déchets.....	33
5.1.1. Définition du vermicompostage.....	33
5.1.2. Principe du vermicompostage.....	34

5.2.	Le vermicompost (VC).....	35
5.2.1.	Les propriétés du vermicompost (VC).....	35
5.2.2.	Les diverses applications du vermicompost.....	36
5.2.2.1.	le rôle du vermicompost dans la fertilité du sol	36
5.2.2.2.	le rôle du vermicompost dans l'amélioration de la croissance des plantes	36
5.2.2.3.	le rôle du vermicompost dans la gestion des stress biotiques	37
5.2.2.4.	le rôle du vermicompost dans la gestion des stress abiotiques	38
Chapitre II : Matériel et méthodes		39
1.	Caractérisation du vermicompost.....	41
1.1.	Origine et préparation du lixiviat de vermicompost (LVC).....	41
1.2.	Analyse du lixiviat de vermicompost (LVC).....	42
1.2.1.	extraction, dansylation et quantification des polyamines	42
1.2.2.	Détermination de l'activité antioxydante.....	42
1.2.3.	Teneurs en Na ⁺ , K ⁺ , Ca ⁺² et Mg ⁺²	43
1.2.4.	Dosage des polyphénols totaux.....	43
1.2.5.	Dosage des anthocyanes.....	43
1.2.6.	Dosage des sucres solubles	43
1.2.7.	Dosage des phytohormones.....	43
2.	Evaluation de l'impact des différents modes d'application du vermicompost (LVC) sur la résistance de la tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> cv. Ailsa Craig) exposée à la salinité.....	43
2.1.	Matériel végétal et conditions de culture.....	44
2.1.1.	Matériel végétal.....	44
2.1.2.	Conditions de culture.....	44
2.1.2.1.	application du LVC en prétraitement suivi d'un stress salin	44
2.1.2.2.	application du LVC en concomitance avec le stress salin	45
2.1.2.3.	application du LVC en post-stress.....	45
2.2.	Paramètres étudiés.....	46
2.2.1.	Paramètres morphologiques.....	46
2.2.1.1.	production de biomasse	46
2.2.2.	Paramètres physiologiques.....	46
2.2.2.1.	teneur en eau	46
2.2.2.2.	le potentiel osmotique	46
2.2.3.	L'activité photosynthétique	47
2.2.3.1.	la conductance stomatique.....	47
2.2.3.2.	les échanges gazeux.....	47
2.2.3.3.	fluorescence de la chlorophylle	47
2.2.4.	La production de solutés solubles	48
2.2.4.1.	extraction et dosage de la proline	48
2.2.4.2.	extraction et dosage des sucres solubles.....	48
2.2.5.	Minéralisation et dosage des éléments minéraux (Na ⁺ , K ⁺).....	48
3.	Le rôle des phytohormones présentes dans le LVC dans la régulation de la tolérance à la salinité et l'accumulation des phytohormones chez <i>S.lycopersicum</i> exposée au stress salin.....	49
3.1.	Matériel végétal et conditions de culture.....	49
3.1.1.	Matériel végétal.....	49

3.1.2. Conditions de culture.....	49
3.2. Paramètres étudiés.....	50
3.2.1. La croissance de la plante, la teneur en eau et le potentiel osmotique....	50
3.2.2. Extraction et quantification de la proline.....	50
3.2.3. Détermination des teneurs en Na ⁺ , K ⁺ , Ca ⁺² et Mg ⁺²	50
3.2.4. Dosage des phytohormones	51
4. le lixiviat de vermicompost (LVC) : milieu de germination ou agent de priming pour améliorer la germination de <i>Brassica napus</i> en conditions de contrôle et de salinité.....	51
4.1. Le matériel végétal et le vermicompost	51
4.2. Le dispositif expérimental.....	52
4.2.1.1 ^{ère} expérience : Le LVC appliqué comme milieu de germination	52
4.2.2. 2 ^{ème} expérience : Le LVC comme agent de priming	53
4.3. Quantification de proline, MDA et éléments minéraux.....	54
4.3.1. La teneur en proline.....	54
4.3.2. La teneur en MDA.....	54
4.3.3. La teneur en Na ⁺ et K ⁺	54
5. Traitement statistique	54
Chapitre III : Résultats.....	56
1. La caractérisation du lixiviat de vermicompost.....	57
1.1. Les constituants du LVC.....	57
1.2. Quantification des phytohormones.....	57
1.2.1. Concentration en cytokinines (CKs).....	58
1.2.2. Concentration en auxines	58
1.2.3. Concentration en ABA,JA,BzA,ACC,SA et PAA.....	59
2. Impact des différents modes d'application du vermicompost (LVC) sur la résistance de la tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> cv. Ailsa Craig) à la salinité.....	59
2.1. Impact de l'application du vermicompost après exposition des plantes à la salinité (phase de récupération).....	59
2.1.1. La croissance des plantes.....	59
2.1.2. La teneur en eau	60
2.1.3. Les échanges gazeux et La conductance stomatique.....	61
2.1.4. Les paramètres liés à la photosynthèse	62
2.2. Impact de l'application du vermicompost en prétraitement (préventif) et en concomitance avec le stress salin	63
2.2.1. La croissance de la plante.....	63
2.2.2. Le statut hydrique	64
2.2.3. Échanges gazeux et la conductance stomatique	65
2.2.4. Les paramètres liés à la photosynthèse	66
2.2.5. La production de solutés solubles	67
2.2.5.1. la teneur en proline.....	67
2.2.5.2. la teneur en sucres solubles.....	68
2.2.6. Teneurs en Na ⁺ , K ⁺	69
3. le profil hormonal de <i>Solanum lycopersicum</i> cv. Ailsa Craig traitée au LVC et exposée au stress salin en relation avec la synthèse de proline, la réduction de Na ⁺ et l'accumulation de K ⁺ , Mg ⁺² et Ca ⁺²	70
3.1. Les paramètres de croissance et le statut hydrique.....	70
3.2. La teneur en proline.....	72
3.3. Les teneurs en Na ⁺ , K ⁺ , Ca ⁺² et Mg ⁺²	73

3.4.	Effet du LVC sur l'accumulation des phytohormones.....	75
3.4.1.	le statut hormonal des racines.....	75
3.4.2.	le statut hormonal des feuilles.....	78
4.	Les traitements au lixiviat de vermicompost affectent différemment la germination et l'émergence de jeunes plantules de <i>B.napus</i> en condition de contrôle et de salinité.....	82
4.1.	Le LVC additionné au milieu de germination.....	82
4.1.1.	Les paramètres de germination et la croissance des plantules.....	82
4.1.2.	Les teneurs en Na ⁺ et K ⁺	85
4.1.3.	Les teneurs en proline et MDA.....	86
4.2.	Le lixiviat de vermicompost (LVC) comme agent de priming.....	88
4.2.1.	Les paramètres de germination et la croissance des plantules.....	88
4.2.2.	Les teneurs en Na ⁺ et K ⁺	91
4.2.3.	Les teneurs en proline et MDA.....	92
	Chapitre IV : Discussion.....	94
1.	La caractérisation du lixiviat de vermicompost.....	95
2.	Impact des différents modes d'application du vermicompost (LVC) sur la résistance de la tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> cv. Ailsa Craig) à la salinité	98
2.1.	Impact de l'application du vermicompost en post stress (phase de récupération).....	99
2.2.	Impact de l'application du vermicompost en prétraitement (préventif) et en concomitance avec le stress salin.....	99
3.	le profil hormonal de <i>Solanum lycopersicum</i> cv. Ailsa Craig traitée au LVC et exposée au stress salin en relation avec la synthèse de proline, la réduction de Na ⁺ et l'accumulation de K ⁺ , Mg ⁺² et Ca ⁺²	103
4.	le lixiviat de vermicompost (LVC) en tant qu'agent prometteur pour le priming et le rajeunissement des graines de <i>Brassica napus</i> en germination en conditions d contrôle et de salinité.....	106
	V. Conclusion et perspectives	111
	Références Bibliographiques.....	114

LISTE DES FIGURES

Figure I.1.	Schéma montrant l'effet de la salinité sur les plantes sensibles au sel (A) et tolérantes au sel.....	9
Figure I.2.	Equilibre entre les ROS et le système antioxydant.....	14
Figure I.3.	Les ROS et les mécanismes de défense des antioxydants.....	15
Figure I.4.	Synthèse des principaux mécanismes cellulaires de perception, signalisation et réponse au stress salin (NaCl) chez la plante.....	16
Figure I.5.	Voies de biosynthèse des polyamines	20
Figure I.6.	Rôle du glutathion dans le métabolisme de la plante.....	27
Figure I.7.	Les courbes d'hydratation et les phases de germination des graines non traitées et des graines amorcées.....	28
Figure I.8.	Aperçu général de l'effet du priming sur les paramètres biochimiques et physiologiques.....	30
Figure II.1.	Schéma hypothétique de l'impact des différents traitements au LVC dans l'atténuation du stress salin chez la tomate et le colza.....	40
Figure II.2.	Vermicomposteur à compartiments verticales.....	41
Figure III.1.	Les phytohormones (%) quantifiées dans le LVC obtenu par le processus du vermicompostage de déchets ménagers.....	57
Figure III.2.	Effet de l'arrêt du stress avec ou sans l'application de LVC pendant 7 jours sur les poids frais et sec des racines (a et c) et des feuilles (b et d) de plants de <i>Solanum lycopersicum</i> cv Ailsa Craig ayant subi un stress de 7 jours.....	58
Figure III.3.	Effet de l'arrêt du stress avec ou sans l'application de LVC pendant 7 jours sur la conductance stomatique (gs) (a), la photosynthèse nette (A), la transpiration instantanée (E), la concentration en CO ₂ interne (ci) (b, c et d) chez des plants de <i>Solanum lycopersicum</i> cv Ailsa Craig stressés durant 7 jours.....	61
Figure III.4.	Effet de l'application du vermicompost en prétraitement ou en concomitance avec le stress salin sur les poids frais et sec des racines (a et c) et des feuilles (b et d) de plants de <i>Solanum lycopersicum</i> cv Ailsa Craig exposés au stress salin pendant 7 jours.....	63
Figure III.5.	Effet de l'application du vermicompost en prétraitement et en concomitance avec le stress salin sur la photosynthèse nette (A), la transpiration instantanée (E), la concentration en CO ₂ interne (ci) (b, c et d) et la conductance stomatique (gs) (a) chez <i>Solanum lycopersicum</i> cv Ailsa Craig exposés au stress salin pendant 7 jours.....	65
Figure III.6.	Effet de l'application du vermicompost en prétraitement ou en concomitance avec le stress salin sur la teneur en proline et en sucres totaux des racines (a et c) et des feuilles (b et d) de plants de <i>Solanum lycopersicum</i> cv Ailsa Craig exposés au stress salin pendant 7 jours.....	66
Figure III.7.	Effet de l'application du vermicompost en prétraitement et en concomitance avec le stress salin sur les teneurs en Na ⁺ et K ⁺ des racines (a et c) et des feuilles (b et d) de plants de <i>Solanum lycopersicum</i> cv Ailsa Craig exposés au stress salin pendant 7 jours.....	68

Figure III.8.	Effet du LVC sur le poids frais (A et B) et le poids sec (C et D) des racines (A et C) et la partie aérienne (B et D) des plants de <i>S.lycopersicum</i> cv. Ailsa Craig exposés à 125 mM de NaCl pendant 7 jours	70
Figure III.9.	Effet du LVC sur la teneur en proline des racines (A), les feuilles (F 2-3) (B) et les feuilles (F 5-6) (C) des plants de <i>S.lycopersicum</i> cv. Ailsa Craig exposés à 125 mM de NaCl pendant 7 jours.	72
Figure III.10.	Effet du LVC sur l'accumulation des phytohormones endogènes dans les racines de <i>S.lycopersicum</i> cv. Ailsa Craig exposées à 125 mM de NaCl pendant 7 jours.....	76
Figure III.11.	Les teneurs en cytokinines endogènes dans les racines de <i>S.lycopersicum</i> cv. Ailsa Craig traitées au LVC et exposées à 125 mM de NaCl pendant 7 jours.....	77
Figure III.12.	Effet du LVC sur l'accumulation des phytohormones endogènes dans les feuilles (F 2-3) et les feuilles (F 5-6) de <i>S.lycopersicum</i> cv. Ailsa Craig exposées à 125 mM de NaCl pendant 7 jours.....	78
Figure III.13.	Les teneurs en cytokinines endogènes dans les feuilles (F 2-3) et les feuilles (F 5-6) de <i>S.lycopersicum</i> cv. Ailsa Craig traitées au LVC et exposées à 125 mM de NaCl pendant 7 jours.....	80
Figure III.14.	Le pourcentage de germination des graines de Libomir (A) et Harry (B) après 96 heures de germination sur papier filtre imbibé d'eau (Contrôle), de solution NaCl (NaCl), de lixiviat de vermicompost (LVC) et lixiviat de vermicompost +NaCl (LVC+NaCl).....	82
Figure III.15.	Les teneurs en Na ⁺ (A) et K ⁺ (B) des plantules obtenues après 7 jours de germination des graines d'Harry et Libomir sur papier filtre imbibé d'eau (Contrôle), de solution NaCl (S), de lixiviat de vermicompost (LVC) et lixiviat de vermicompost + NaCl (LVC+S).....	85
Figure III.16.	Les teneurs en proline (A) et MDA (B) des plantules obtenues après 7 jours de germination des graines d'Harry et Libomir sur papier filtre imbibé d'eau (C), de solution NaCl (S), de lixiviat de vermicompost (VC) et lixiviat de vermicompost +NaCl (VC+S).....	86
Figure III.17.	Le pourcentage de germination des graines de Libomir (A) et Harry (B) non amorcées (UP) et amorcées avec le lixiviat de VC (VC-priming VCP) et mise en germination sur papier filtre imbibé d'eau (H ₂ O) ou de solution saline (100mMNaCl).....	88
Figure III.18.	Les teneurs en Na ⁺ (A) et K ⁺ (B) dans les plantules obtenues après 7 jours de germination des graines d'Harry et Libomir non amorcées (UP) et amorcée avec le lixiviat de VC (VC-priming VCP) et mise en germination sur papier filtre imbibé d'eau (H ₂ O) ou de solution saline (100mMNaCl).....	90
Figure III.19.	Les teneurs en proline (A) et MDA (B) dans les graines de <i>B.napus</i> (Harry et Libomir) durant le priming (HPd et VCPd) et dans les plantules obtenues après 7 jours de germination des graines d'Harry et de Libomir non amorcées (UP) et amorcées avec le lixiviat de VC (VC-priming VCP) et mise en germination sur papier filtre imbibé d'eau (H ₂ O) ou de sel (100mMNaCl).....	92
Figure IV.1.	Aperçu comparative des réponses à la salinité (125 mM de NaCl pendant 7 jours) et à l'application du LVC selon deux modes différents chez <i>Solanum lycopersicum</i>	98

Figure IV.2. Schéma comparatif de l'impact des différents traitements au LVC (i.e. LVC additionné au milieu de germination et LVC comme agent de priming) sur la germination et la croissance de *B.napus* en conditions de salinité..... **109**

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I.1.	Les enzymes detoxifiantes.....	18
Tableau III.1.	La composition chimique du LVC obtenu par le processus du vermicompostage des déchets ménagers.....	56
Tableau III.2.	Les Cytokinines (pmol/ml) quantifiés dans le LVC obtenu par le processus du vermicompostage de déchets ménagers.....	57
Tableau III.3.	Les auxines (pmol/ml) quantifiés dans le LVC obtenu par le processus du vermicompostage de déchets ménagers.....	58
Tableau III.4.	Les phytohormones (ABA, JA, PAA, SA, BzA et ACC) quantifiées dans le LVC obtenu par le processus du vermicompostage de déchets ménagers.....	58
Tableau III.5.	La teneur en eau (TE) et le potentiel osmotique (Ψ_s) des racines et des feuilles de plants de <i>Solanum lycopersicum</i> cv Ailsa Craig ayant subi un stress (150mM NaCl) de 7jours suivi d'un arrêt de stress avec ou sans l'application de LVC pendant 7jours	60
Tableau III.6.	Les valeurs de la fluorescence chlorophyllienne chez les plants de <i>Solanum lycopersicum</i> cv Ailsa Craig ayant subi un stress (150mM NaCl) de 7jours suivi d'un arrêt de stress avec ou sans l'application de LVC pendant 7jours.....	62
Tableau III.7.	La teneur en eau (TE) et le potentiel osmotique (Ψ_s) des racines et des feuilles de plants de <i>Solanum lycopersicum</i> cv Ailsa Craig exposés au stress salin (150mM NaCl) durant 7jours en présence ou en absence de LVC appliqué en prétraitement et en simultanément avec le stress.....	64
Tableau III.8.	Les valeurs de la fluorescence chlorophyllienne chez <i>Solanum lycopersicum</i> cv Ailsa Craig exposés au stress salin (150mM NaCl) durant 7jours en présence ou en absence de LVC appliqué en prétraitement et en simultanément avec le stress.....	66
Tableau III.9.	Effet du LVC sur la teneur en eau (TE) et le potentiel osmotique (Ψ_s) des racines, les feuilles âgées (F 2-3) et les jeunes feuilles (F 5-6) des plants de <i>S.lycopersicum</i> cv. Ailsa Craig exposés à 125 mM de NaCl pendant 7 jours.	70
Tableau III.10.	Effet du LVC sur la teneur en Na^+ , K^+ , Ca^{+2} et Mg^{+2} des racines , les feuilles (F 2-3) et les feuilles (F 5-6) de <i>S.lycopersicum</i> cv. Ailsa Craig exposés à 125 mM de NaCl pendant 7 jours.	73
Tableau III.11.	Les paramètres de germination (germination totale (GT %), indice de germination (IG) et T50 des graines de Harry et Libomir après 4 jours de germination sur papier filtre imbibé d'eau (Contrôle), 100 mM de NaCl (NaCl), de lixiviat de vermicompost (1 :10 , v :v) (VC) et lixiviat de vermicompost +NaCl (LVC+NaCl).....	83
Tableau III.12.	Le poids frais et sec (mg/plante) et la longueur (cm/plante) des plantules obtenues après 7jours de germination des graines de Libomir et de Harry sur papier filtre imbibé d'eau (Contrôle), 100 mM de NaCl (NaCl), de lixiviat de vermicompost (1:10, v:v) (VC) et lixiviat de vermicompost +NaCl VC+NaCl).....	84

Tableau III.13.	Les paramètres de germination (germination totale (GT %), indice de germination (IG) et T50) des graines d'Harry et Libomir non amorcées (UP) et amorcée avec le lixiviat de VC (VC-priming VCP) et mise en germination sur papier filtre imbibé d'eau (H ₂ O) ou de solution saline (100mMNaCl).....	89
Tableau III.14.	Le poids frais et sec (g/plante) et la longueur (cm/plante) des plantules obtenues après 7jours de germination des graines d'Harry et Libomir non amorcées (UP) et amorcée avec le lixiviat de VC (VC-priming VCP) et mise en germination sur papier filtre imbibé d'eau (H ₂ O) ou de solution saline (100mMNaCl).....	89

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Introduction générale et objectifs

La population mondiale devrait augmenter de 34% en 2050 atteignant ainsi environ 9,1 milliards, ce qui nécessite 70% de production alimentaire supplémentaire [1]. Satisfaire les besoins alimentaires d'une population en plein essor reste une tâche difficile, car les changements climatiques ont mis en péril la durabilité et la productivité des systèmes de production agricole [2]. Dans la nature, la plante est exposée à une variété de stress abiotiques (e.g. sécheresse, salinité, déficit nutritionnel, ...) et biotiques (e.g. attaques de pathogènes). Parmi les contraintes environnementales, la salinité ou le stress salin est le facteur environnemental le plus brutal qui limite la productivité des cultures, étant donné que la majorité des plantes cultivées sont sensibles à la salinité causée par de fortes concentrations en sels dans les sols et les eaux d'irrigation, et particulièrement le NaCl [3]. La salinité affecte actuellement la production et le rendement mondial des cultures. Environ 10% des terres irriguées mondiales sont affectées par la présence de sels en excès menaçant ainsi la sécurité alimentaire [4]. Selon la résistance des plantes à la salinité, on distingue des plantes glycophytes, qui sont plutôt sensibles au stress salin [5], c'est le cas de la tomate (*Solanum lycopersicum*), qui est un des fruits les plus consommés au monde [6], une plante importante pour l'économie des pays du bassin méditerranéen et dont la production est très affectée par la salinité. Bien que l'impact de l'irrigation avec l'eau saline sur la croissance dépend de (i) la nature de la plante glycophyte ou halophyte, (ii) l'espèce, le genre ainsi que le cultivar, (iii) l'ampleur de la salinité et (iv) le temps d'exposition au stress (court ou long terme), le résultat ultime de l'exposition au stress salin est la réduction de la germination, de la croissance et du rendement final des cultures [7-10]. La salinité limite le développement des plantes en affectant négativement diverses réactions biochimiques et processus physiologiques tels que la photosynthèse, le métabolisme antioxydant, l'homéostasie des nutriments minéraux, l'accumulation d'osmolytes et la signalisation hormonale [3].

L'adaptation au stress salin est accompagnée de (i) métabolisme d'ajustement qui conduit à l'accumulation de plusieurs solutés compatibles comme les sucres, les polyols, les bêtaïnes et la proline, (ii) la protection de la machinerie cellulaire, (iii) le maintien de l'homéostasie ionique, (iv) le piégeage des radicaux libres, (v) l'expression de certaines protéines ainsi que la régulation positive de leurs gènes et (vi) l'induction de phytohormones [3, 11]. Les phytohormones, souvent considérées comme des régulateurs de croissance dans la littérature, se réfèrent aux composés dérivés des voies de biosynthèse végétale, qui peuvent agir localement (sur le site de leur synthèse) ou être transportés vers un autre site au niveau de la plante pour favoriser la croissance et le développement en conditions favorables et en condition de stress [12]. La croissance et le développement des plantes sont régulés de manière coordonnée par l'activité de plusieurs phytohormones comme l'acide abscissique (ABA), les gibbérellines (GA), les auxines (IAA), les cytokinines (CK) et les brassinostéroïdes (BR), qui contrôlent de nombreux processus physiologiques et

biochimiques [13]. Cependant, de nouveaux composés comme les polyamines ont été ajoutées à cette liste [14]. Toutes ces phytohormones sont directement ou indirectement impliquées dans la modulation des réponses des plantes au stress salin et leur équilibre change en réponse à la salinité à cause de la diaphonie entre ces phytohormones[15].

Certaines espèces végétales étroitement apparentées au genre *Solanum* sont des espèces halophytes, résistantes au stress salin, tel que (*Solanum cheesmanniae*, *S. peruvianum*, *S. chilense*,...), les croisements interspécifiques de ces espèces peuvent être une option pour la sélection d'hybrides résistantes au sel [16]. C'est une méthode coûteuse qui nécessite beaucoup de temps et de nombreux efforts pour la sélection de matériel végétal promoteur ayant les propriétés agronomiques recherchées [17]. L'amélioration génétique consistant en le transfert de gènes spécifiques est envisageable, mais ceci peut engendrer des problèmes sociétaux et ce n'est pas toujours réalisable étant donné que la résistance à la salinité est un trait polygénique qui repose sur l'interaction de nombreux gènes [18]. Outre l'amélioration génétique du matériel cultivé, les techniques culturales d'amélioration du rendement sans compromettre l'intégrité de l'environnement et la santé publique sont adoptées (e.g. le traitement ou prétraitement et le priming) et constituent une solution alternative. Globalement, les chercheurs continuent à évaluer la compétence ou la capacité des engrais organiques respectueux de l'environnement à améliorer la croissance, le rendement et la qualité de plusieurs cultures en conditions favorables et défavorables, en plus le coût élevé et la non accessibilité des engrais inorganiques ainsi que les problèmes de sécurité environnementale favorisent l'utilisation des engrais organiques comme solution alternative [19]. Le vermicompostage est un moyen utile pour convertir les déchets organiques solides en un produit final appelé vermicompost, ce dernier peut être utilisé comme source de matière organique pour l'amendement des sols, comme source de nutriments pour la fertilisation des sols ou comme substrat pour les cultures hors sol [20]. Cette technologie à faible coût utilise les vers de terre comme agent biologique pour traiter les déchets [21]. L'adoption généralisée du vermicompostage pourrait réduire les impacts environnementaux des méthodes traditionnelles d'élimination des déchets telle que l'enterrement des déchets et l'incinération. Le vermicompost (VC) résulte de la digestion des déchets organiques par interaction entre les vers de terre et les microorganismes [22]. Le vermicompost pourrait être le matériau le moins coûteux et le plus attrayant pour les industries horticoles et agricoles [23]. Le vermicompost existe sous forme solide, appliqué directement au sol comme amendement et sous forme liquide (lixiviat), qui résulte de l'égouttage de la forme solide, appliqué par irrigation ou par application foliaire [24]. L'effet stimulateur du VC est souvent attribué à la présence d'éléments minéraux, les acides humiques et les régulateurs de croissance [25-27]. Le VC est naturellement riche en substances humiques ayant un effet positif sur la physiologie de la plante en favorisant l'absorption des nutriments et l'architecture des racines [28], renferme aussi différents nutriments à savoir N, K, P, Ca, Mg, S, Fe, Zn, Cu et B [29], les substances phénoliques capables de balayer les radicaux libres [30]. Selon

Ravindran et al, [31], le vermicompost contient des phytohormones tel que l'acide indole-3- acétique et les gibbérellines, tandis qu'Aremu et al., Zhang et al., [30, 32] rapportent la présence de différents types de Cytokines.

Chez la tomate, le vermicompost a été utilisé pour améliorer la croissance de la plante [33, 34] et la qualité du fruit [35, 36]. Le vermicompost augmente aussi la défense des plantes contre les nématodes racinaires [37] et atténue l'effet de la température et du stress hydrique [38]. Néanmoins, les données concernant l'impact du vermicompost sur la résistance de la tomate à la salinité restent rares, l'information principale concernant cet aspect a été fournie par Chinsamy, [39], qui a démontré que le lixiviat de vermicompost atténue l'impact du stress salin chez la tomate grâce à l'accumulation de solutés compatibles tel que la proline et les sucres solubles et l'augmentation des pigments photosynthétiques comparés aux plantes non traitées au vermicompost et exposées au stress salin.

La germination des graines est l'une des phases les plus fondamentale et vitale dans le cycle de croissance des plantes qui détermine la performance des plantes et le rendement. C'est le stade le plus sensible aux stress abiotiques [40]. Plusieurs auteurs révèlent les effets de la salinité sur la germination de plusieurs espèces à savoir *Solanum* [41], *Oryza sativa* [42], *Triticum aestivum* [43], *Zea mays* [44], *Brassica* sp.[45, 46]. L'augmentation de la salinité induit la réduction et/ou l'inhibition de la germination. Le colza *Brassica napus* est l'une des cultures oléagineuses les plus importantes dans le monde et en Europe, utilisé à des fins alimentaires et non alimentaires (e.g. carburant, lubrifiant) [47]. L'espèce est importante dans les pays méditerranéens avec des régions caractérisées par des climats semi-arides. Afin de permettre à la culture de se développer suffisamment pour supporter le gel hivernal, un semis précoce est nécessaire (fin été-début automne) et cela implique que la germination et la croissance initiale peuvent se produire en condition de déficit hydrique [48]. Dans les régions côtières, les sols peuvent également avoir une forte salinité, ce qui peut nuire à la germination des graines et à la croissance précoce des semis [49]. Plusieurs auteurs rapportent que la germination des graines et l'émergence des plantules de *B. napus* sont négativement affectées par la salinité [50-52]. L'amélioration de la germination des graines en présence de sel est une condition préalablement importante pour la culture du colza ainsi que pour d'autres espèces.

La vigueur des graines peut être améliorée par le priming, qui consiste à imbiber les graines avec une solution spécifique (agent de priming) pour une période donnée, suivi d'un lavage et d'un séchage des graines. L'effet du priming dépend de l'agent de priming, de la durée d'imbibition et de l'espèce [53]. Autre technique pouvant améliorer la germination des graines et l'établissement des cultures consiste en l'amélioration du milieu de germination par la substitution du substrat de germination par un biofertilisant ou biostimulant tel que le vermicompost, ceci est fonction de l'espèce, des doses de VC appliquées ainsi que le mode d'application [53-55].

Selon nos connaissances, aucune étude ne s'est intéressée à l'effet du vermicompost utilisé comme milieu de germination ou comme agent de priming sur la germination et l'établissement de *B. napus* en condition de salinité.

L'objectif général de la thèse est (i) de caractériser un Vermicompost (VC) issu de la digestion des déchets ménagers par les vers de terre et dont l'identification positive de ses constituants actifs est essentielle afin de justifier et de déterminer sa faisabilité dans la production des cultures, (ii) Investiguer la capacité et l'impact de différents traitements au LVC (i.e. prétraitement ou traitement, milieu de germination et agent de priming) dans l'amélioration de la tolérance des plantes à la salinité, et (iii) tenter de comprendre les différents mécanismes déclenchés au niveau de la plante suite à l'application du LVC et intervenant dans la résistance ou l'adaptation de la plante au stress salin à différents stades de développement.

Cette thèse se compose de deux parties. Nous présentons en premier lieu une synthèse bibliographique portant sur la salinité et ses conséquences sur les plantes cultivées. Nous développons ensuite les mécanismes de tolérance au stress salin ainsi que les stratégies d'atténuation des effets néfastes du stress salin chez les plantes cultivées à savoir l'application de protecteurs exogènes et la technique du priming. Nous introduirons enfin l'utilisation d'un biostimulant comme solution alternative dans l'atténuation des effets délétères du NaCl en insistant sur l'utilisation du vermicompost comme produit agrochimique d'origine naturelle pour des systèmes agricoles durables.

La deuxième partie comprend 4 sous parties: La première sous partie aborde la caractérisation du lixiviat de vermicompost (LVC). Le LVC est analysé et sa composition chimique et son profil hormonal sont déterminés. La deuxième sous partie présente les résultats de l'effet de différents modes d'application du LVC sur la résistance de la tomate au stress salin. La troisième sous partie cible de façon plus spécifique le profil hormonal de la tomate traitée au LVC et exposée au NaCl. Dans la quatrième et dernière sous partie, l'étude sera étendue à l'effet de l'utilisation du LVC comme milieu de germination et comme agent de priming sur la germination des graines et l'établissement des plantules de *Brassica napus* en condition de salinité.

CHAPITRE I
APERÇUS BIBLIOGRAPHIQUES

Chapitre I: Aperçus bibliographiques

1. La salinité

Les cultures agricoles dans le monde sont confrontées à des contraintes biotiques (attaques de pathogènes) et abiotiques (sécheresse, froid, l'acidité du sol, la salinité, déficit nutritionnel,...). Parmi les contraintes abiotiques, la salinité dans les eaux d'irrigation et dans les sols est l'une des contraintes abiotiques majeure pour l'agriculture mondiale et la situation a empiré au cours de ces dernières 20 années en raison de l'augmentation des besoins en irrigation dans les écosystèmes arides et semi-arides à savoir ceux trouvés dans le bassin méditerranéen [56, 57]. De vastes zones de terres agricoles, autrefois arables sont chaque année retirées de la production agricole en raison de l'augmentation de la salinité du sol. Dans certaines régions, la production agricole est limitée par l'accumulation de sels dans les sols, le plus souvent il s'agit de chlorure de sodium (NaCl) [3].

La salinisation des terres agricoles peut avoir comme origine l'altération des roches sous l'action des agents météorologiques. Ces sels minéraux libérés sont entraînés jusque dans les fleuves et les nappes phréatiques s'infiltrant ainsi dans les eaux d'irrigation et comme dans ces zones arides et semi-arides, les précipitations sont insuffisantes pour le lessivage des sels solubles et que le drainage est restreint, des sols salins vont se former avec une forte accumulation de sels, il s'agit d'une salinisation primaire ou naturelle. La salinisation secondaire ou anthropique résulte de l'utilisation des eaux usées non traitées, les eaux d'irrigation présentant des taux élevés de sel et l'application anarchique de certains engrais [7, 58]

Les plantes ne sont pas égales face à cette contrainte environnementale et sont donc classées en 2 groupes (i) les plantes halophytes capables de survivre et de se produire sur un sol salin dont la solution du sol peut contenir jusqu'à 600mM NaCl. Ces plantes présentent des adaptations poussées et leur production est stimulée par ces conditions comme par exemple *Suaeda salsa*, *Atriplex* et *Kosteletzkya virginica* [59-61] et (ii) les plantes glycophytes qui ne tolèrent pas ces conditions et qui sont sensibles à la présence de sel [5], c'est le cas de la tomate (*Solanum lycopersicum*), [6].

Comme la grande majorité des stressés salins est provoqué par des sels de Na⁺, particulièrement le NaCl, les termes halophytes et glycophytes font essentiellement référence aux stressés provoqués par un excès de NaCl. La majorité des espèces cultivées sont des espèces glycophytes et ne peuvent pas tolérer la présence de sel ce qui induit à une baisse importante de croissance et une diminution des rendements, constituant ainsi un facteur limitant pour la production mondiale [62, 63]

2. Le stress salin : l'ennemi des plantes cultivées

La salinité est le facteur environnemental le plus brutal qui limite la productivité des cultures étant donné que la majorité des plantes cultivées sont sensibles à la salinité causée par de fortes concentrations en sels dans les sols. Souvent l'effet négatif de la salinité est attribué à l'augmentation des ions Na^+ et Cl^- dans la plante et par conséquent ces ions perturbent les différents mécanismes physiologiques de la plante la conduisant ainsi à des conditions critiques de survie. Le Cl^- est le plus dangereux [64]. Exposée au stress salin, la plante est affectée de 3 façons : réduction du potentiel hydrique dans la zone racinaire suite à la réduction de la disponibilité de l'eau dans la solution du sol (stress osmotique) , la phytotoxicité ionique associée à une absorption excessive des ions Na^+ et Cl^- entraînant une carence en Ca^{+2} et K^+ ainsi que d'autres déséquilibres nutritionnels à cause de la diminution de l'absorption et du transport d'autres nutriments [65, 66]. En outre, le stress salin se manifeste également par un stress oxydatif exprimé par la formation des ROS [61].

Le stress salin cause des dommages membranaires, un déséquilibre nutritionnel, inhibition des enzymes, un dysfonctionnement du métabolisme, perturbation de l'homéostasie cellulaire ainsi que les principaux processus biochimiques et physiologiques [67, 68] (Fig. 1.1).

Le stress salin entraîne une diminution importante de la croissance des plantes sensibles au sel, en particulier au niveau de la partie aérienne. L'accumulation d'ions toxiques dans les feuilles entraîne un déséquilibre des nutriments particulièrement reflété par la diminution de K^+ et Ca^{2+} . La salinité perturbe les relations hydriques de la plante, ce qui entraîne une diminution de la teneur relative en eau (RWC) et le potentiel hydrique des feuilles (Ψ_l). Le stress salin affecte le taux de la photosynthèse (PN) avec la diminution de la teneur en chlorophylle et des paramètres de fluorescence de la chlorophylle. En outre, le stress oxydatif au niveau subcellulaire se produit par l'effet du stress salin. Chez les plantes stressées, la synthèse de l'éthylène et de l'acide abscisique (ABA) augmente, avec la diminution de l'acide indol-3-acétique (IAA) et la cytokinine (CK) qui favorisent la progression de la sénescence dans les feuilles salinisées. La salinité cause des dommages au niveau des chloroplastes accompagné d'une accumulation d'amidon. L'accumulation de sels dans la zone racinaire entraîne une diminution du potentiel osmotique, du potentiel hydrique des racines (r) et la conductivité racinaire (L_p), diminuant l'eau disponible dans la zone racinaire et provoquant un déséquilibre des nutriments dans les racines.

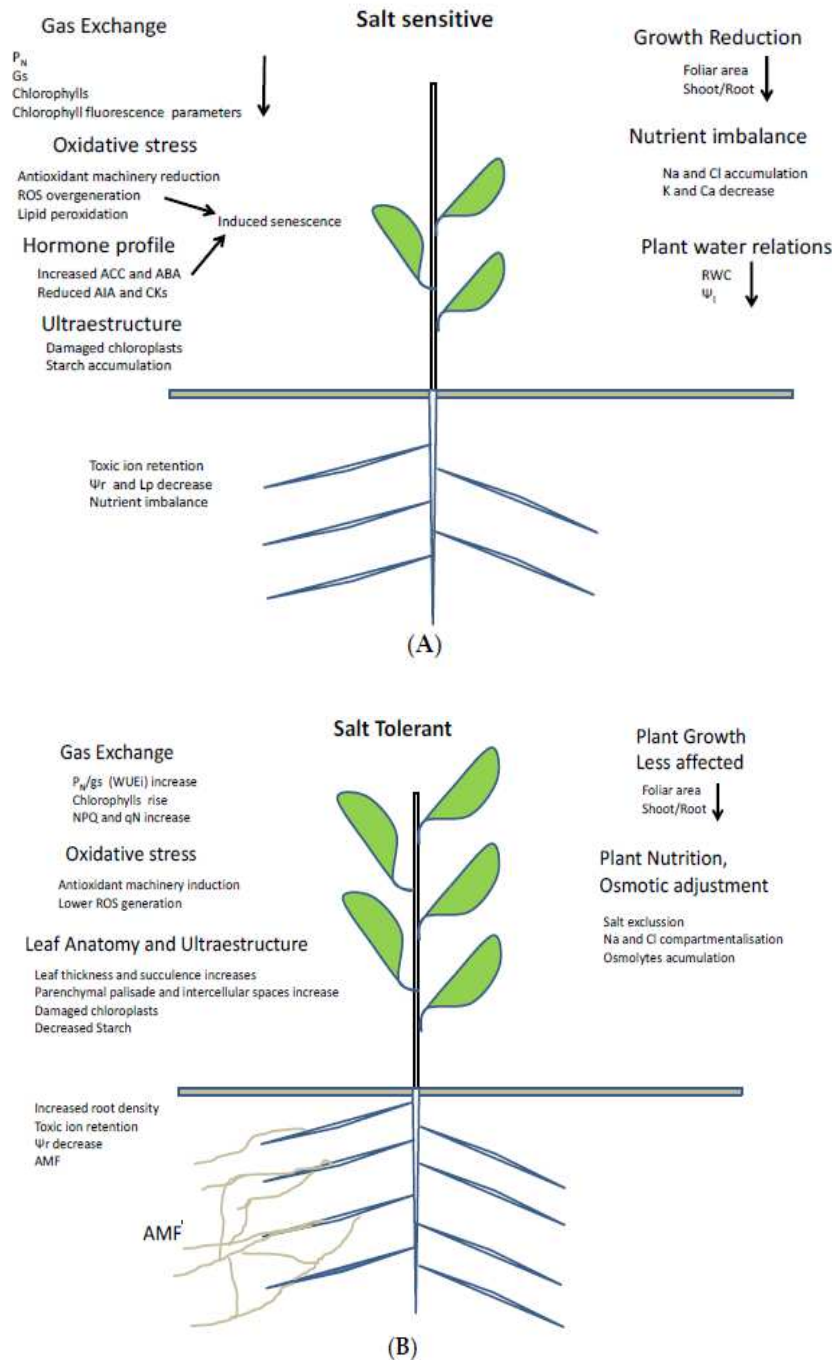


Figure I.1. Schéma montrant l'effet de la salinité sur les plantes sensibles au sel (A) et tolérantes au sel (B) [5, 7].

2.1. Effet du stress salin sur la germination

La germination des graines est l'une des phases les plus fondamentale et vitale dans le cycle de croissance des plantes, qui détermine la performance des plantes et le rendement. Plusieurs auteurs révèlent les effets de la salinité sur la germination de plusieurs espèces à savoir *Solanum* [41], *Oryza sativa* [42], *Triticum aestivum* [43], *Zea mays* [44], *Brassica* sp.[45, 46]. Un niveau élevé de salinité inhibe la germination des graines tandisqu' un faible niveau de salinité induit la dormance des graines [69].

La salinité n'affecte pas seulement la cinétique de germination mais aussi le taux final de germination des graines [41]. La salinité affecte les différents processus de germination, elle limite l'imbibition des graines avec l'eau en raison de la diminution du potentiel osmotique du milieu de germination [70], et la toxicité des ions Na^+ et Cl^- altère l'activité des enzymes impliquées dans le métabolisme des acides nucléiques [71], du métabolisme protéique [72], diminue le taux de division cellulaire et réduit l'utilisation des réserves [73, 74]. La germination des graines en condition de salinité est fonction de (i) facteur interne (plante) à savoir la nature des téguments, la dormance, l'âge, le polymorphisme de la graine et la vigueur de la plantule et de (ii) facteur externe (environnemental) à savoir la température, la lumière et l'eau [75]. Chez la tomate cultivée *Solanum lycopersicum* Neamati, Farsi, & Vatandoost [76] rapporte une significative corrélation négative entre la salinité et le pourcentage de germination, ce qui a engendré un retard dans la germination et une réduction du pourcentage de germination. Selon Bybordi [77] le pourcentage de germination chez *Brassica napus* est significativement réduit à une concentration de 150-200mM de NaCl. Le taux de germination diminue avec l'augmentation de la concentration en NaCl comparé au contrôle. Le pourcentage et la vitesse de germination diminuent de 38% et 33% respectivement à une concentration de 200mM. Khodarahmpour et al, [44] ont observé une réduction drastique dans le taux de germination (31%), la longueur de la radicule (80%), la longueur de la plantule (78%) et la vigueur des graines (95%) chez des graines de maïs *Zea mays* exposées à une salinité de 240 mM de NaCl.

2.2. Effet du stress salin sur la croissance et le développement

Selon Munns [78], les sels absorbés par la plante ne contrôlent pas directement la croissance, mais influencent la turgescence, la photosynthèse et /ou l'activité de certaines enzymes. Plus tard Munns [79] a développé un model montrant l'effet de la salinité en 2 phases sur la croissance des plantes. La croissance est en premier lieu réduite à cause de la diminution du potentiel hydrique de la solution du sol (phase osmotique), et plus tard l'effet néfaste du sel apparait au niveau des feuilles qui meurent en raison d'une forte accumulation du sel dans les parois cellulaires ou le cytoplasme lorsque la vacuole ne peut plus séquestrer les sels entrants (phase ionique). Durant la première phase, la croissance est réduite en raison de l'effet osmotique de la solution du sol adjacente aux racines, pendant la deuxième phase, les feuilles sont mortes et la capacité photosynthétique de la plante sera fortement réduite, ce qui impose un effet supplémentaire sur la croissance [80]. L'impact de la salinité sur la croissance des plantes dépend de la durée d'exposition de la plante au sel [81]. Chez les plantes annuelles, l'échelle de temps c'est des jours ou des semaines, selon l'espèce et le niveau de salinité, alors que chez les espèces pérennes, l'échelle de temps c'est des mois et des années [82]. La salinité entraîne un net retard de croissance chez la plante [83]. La réponse immédiate de la plante au stress salin est la réduction de l'expansion foliaire conduisant à la cessation de l'expansion avec l'augmentation des concentrations en NaCl [84]. Les différents

organes (racines, tiges et feuilles) ne manifestent pas la même sensibilité vis-à-vis de la contrainte saline. Bien que les racines sont directement au contact avec le sel, la croissance des parties aériennes est plus affectée par la salinité comparée aux racines [85-87]. La salinité réduit le poids des pousses chez la tomate [41, 88]. Hassanuzzman et al, [89], ont observé une remarquable réduction dans la hauteur des plantes, le nombre de calle et l'indice de surface foliaire chez *O. sativa* cultivée sur un sol salin. Guan et al, [90] ont relevé un effet significatif du stress salin sur la hauteur des plantes, le nombre et la longueur des branches, le diamètre des tiges chez *Suala salsa*, ceci est dus à l'augmentation des teneurs en Na^+ et Cl^- . Chez le soja *Glycine max*, Dolatabadian, Sanavy, & Ghanati [91] ont observés une nette diminution du poids des racines et de la partie aérienne, la biomasse totale et le nombre de feuilles, par ailleurs, la surface foliaire n'est pas affectée par la salinité. L'augmentation des concentration NaCl est accompagnée d'une inhibition de la croissance, réduction de la chlorophylle et augmentation des teneurs en MDA qui indique le stress oxydatif chez la tomate [92] et d'une baisse de la densité stomatique [6]. En conditions de stress salin, la sensibilité des cultures varie selon le stade de croissance, certaines cultures sont plus sensibles lors des stades végétatifs, moins sensibles à la floraison et encore moins sensibles lors du remplissage des graines [82]. Le stress salin réduit le taux de floraison chez la tomate [93]. Chez *Solanum lycopersicum* cv. Ailsa Craig l'application de 150 mM de NaCl pendant 10 jours augmente le temps d'initiation des organes reproducteurs mais n'affecte pas le nombre total de fleurs [94].

2.3. Effet du stress salin sur le statut hydrique

La relation eau-plante explique le comportement des plantes en terme de contrôle de l'hydratation de leurs cellules, qui est un facteur important dans les processus physiologiques et métaboliques qui déterminent la qualité et la quantité de la croissance des plantes [95]. Il est connu que l'accumulation de sels dans la zone racinaire entraine une diminution du potentiel osmotique et par conséquent une diminution du potentiel hydrique réduisant ainsi la quantité d'eau disponible dans le sol (piégeage des molécules d'eau par les ions) [96, 97]. la salinité entraine une réduction de la capacité des plantes à absorber l'eau, une chute des potentiels hydrique foliaire et osmotique (déshydratation cellulaires) [98, 99]. Ce changement du statut hydrique de la plante entraine un déséquilibre du bilan entre la perte d'eau par transpiration et l'absorption d'eau par les racines [100]. La salinité cause une diminution de la teneur relative en eau (WRC) chez les variétés de betterave sucrière [101]. La diminution de la RWC associée à la perte de turgescence provoque une diminution de l'expansion cellulaire et donc une réduction de la croissance de la plante [102].

2.4. Effet de la salinité sur la photosynthèse

Le stress salin affecte la photosynthèse à court et à long terme, (i) à court terme par la limitation de la conductance stomatique, ce qui entraîne une diminution de l'assimilation du carbone [3], ceci peut entraîner un arrêt rapide de la croissance même après quelques heures d'exposition à la salinité [103], (ii) à long terme, par l'accumulation de sel au niveau des jeunes feuilles [11] et la diminution des concentrations de chlorophylle et de caroténoïdes, même chez les plantes halophytes [104-106]. Des quantités excessives de Na^+ et Cl^- vont entraîner une réduction de la surface foliaire et par la suite une limitation des flux de carbone vers les méristèmes et les zones de croissance [107], cela est à l'origine de jaunissement, des nécroses et finalement de la chute foliaire. Fisarakis, Chartzoulakis, & Stavarakas [108] ont signalé une inhibition de la croissance par la salinité associée à une inhibition marquée de la photosynthèse. Plusieurs études montrent que le stress salin diminue les teneurs totales en chlorophylle et en caroténoïdes chez différentes espèces à savoir la tomate [109-111]. Il est connu que dans des conditions de salinité, les espèces tolérantes au sel présentent une teneur en chlorophylle accrue ou inchangée, tandis que les espèces sensibles présentent des concentrations inférieures, ce qui suggère que ce paramètre peut être considéré comme un marqueur biochimique de la tolérance au sel chez les plantes [106, 112]. En conditions de salinité, le taux de photosynthèse peut chuter en raison de la fermeture des stomates et/ou de la perturbation de la chaîne photosynthétique et/ou l'inhibition des enzymes du cycle Calvin à savoir Rubisco [3, 113], qui est l'enzyme clé intervenant dans la fixation du CO_2 et conditionnant ainsi le rapport CO_2/O_2 dans le stroma chloroplastique et dont la réduction est liée au stress salin [114] qui entraîne une acidification du stroma des chloroplastes et altère leurs structures [115]. Il est connu que la réponse des plantes à la salinité se fait selon deux phases : une phase osmotique (rapide) qui inhibe la croissance des jeunes feuilles et la phase ionique (lente) qui accélère la sénescence des feuilles matures, si le pourcentage de sénescence des feuilles matures est supérieur au taux de production de nouvelles feuilles, l'activité photosynthétique sera dans l'incapacité de subvenir au besoin en carbohydrates des jeunes feuilles qui voient leur croissance réduire [11].

2.5. Effet de la salinité sur l'équilibre nutritionnel

Il est bien établi que la performance des cultures peut être affectée par des troubles nutritionnels induits par l'accumulation excessive d'ions potentiellement toxiques au niveau des plantes [11, 111]. La présence de NaCl en quantité excessive va engendrer une compétition pour les sites d'absorption et de transport avec d'autres ions indispensables à savoir le K^+ , ce qui conduit à un déficit en K^+ . L'augmentation des teneurs en Na^+ et en Cl^- induit une diminution en K^+ , Ca^{+2} et Mg^{+2} chez plusieurs espèces [116, 117].

Chez la tomate le stress salin engendre un déséquilibre ionique au niveau des feuilles en augmentant les teneurs en Na^+ et Cl^- et en diminuant celles de K^+ , Ca^{+2} et Mg^{+2} [80, 88, 111]. Le rapport Na^+ / K^+ augmente chez la tomate [118], ce rapport peut servir d'indicateur de la sensibilité au sel [119]. Dasgan et al, [65], ont montré que l'intensité des dommages foliaires est proportionnelle aux teneurs en Na^+ et Cl^- chez la tomate exposée à la salinité.

2.6. Le stress oxydatif

En plus du stress osmotique et de l'accumulation des ions toxiques, le stress salin induit un stress oxydatif chez les plantes au niveau subcellulaire et qui se traduit par la production des espèces réactives d'oxygène (ROS) [120, 121]. L'augmentation des ROS dans les tissus végétaux sert de biomarqueurs de l'état de stress oxydatif [122]. Les ROS sont des sous-produits de diverses voies métaboliques localisées dans différents compartiments cellulaires tel que les chloroplastes, les mitochondries et les peroxysomes et sont produits en continu [123, 124]. Le stress salin conduit à la fermeture des stomates, ce qui réduit la disponibilité de CO_2 dans les feuilles et inhibe ainsi la fixation du carbone exposant les chloroplastes à une énergie d'excitation excessive qui à son tour augmente la génération des ROS tel que les ions superoxydes (O_2^-), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et les radicaux hydroxyles (OH^-) [3, 125]. Les fortes concentrations en Na^+ entraînent la réduction de la photosynthèse et la production des ROS [126, 127]. À faibles concentrations, les ROS agissent comme des promoteurs de croissance et de développement de la plante, à fortes doses elles causent la sénescence et la mort cellulaire [99, 128]. Dans des conditions favorables, les ROS sont neutralisées par le système de défense antioxydant de la plante [129]. L'équilibre entre la production et la détoxification des ROS peut être perturbé par divers facteurs tel que la salinité, cette perturbation entraîne une augmentation soudaine des ROS cellulaires (Fig. 1.2) ce qui peut causer des dommages importants aux structures cellulaires [130], elle causent des dommages aux acides nucléiques, l'oxydation des protéines et la peroxydation des lipides [129].

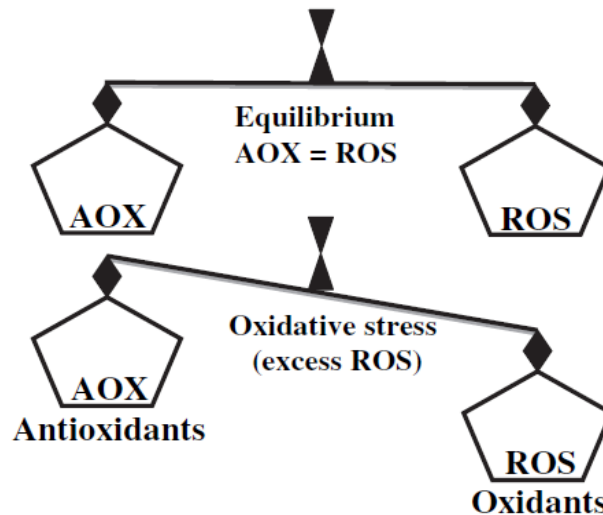


Figure I.2. Equilibre entre les ROS et le système antioxydant [131]

Pour se protéger des ROS, la plante déploie sa machine de défense antioxydante, impliquant des antioxydants enzymatiques dont la superoxyde dismutase (EC 1.15.1.1) (SOD), la catalase (EC 1.11.1.6) (CAT), l'ascorbate peroxydase (EC 1.11.1.11) (APX), la glutathion peroxydase (EC 1.11.1.9) (GPX) et la glutathion réductase (EC1.8.1.7) (GR) et non enzymatique, qui sont des composés intrinsèques à propriétés hydrophiles tel que l'ascorbate (vitamine C), le glutathion, les composés phénoliques et des métabolites lipophiles comme les caroténoïdes et l' α -tocophérol (vitamine E) [131] (Fig. I.3).

L'intensité du stress est déterminée par le taux des ROS accumulées au niveau cellulaire qui dépend de l'efficacité du système antioxydant. La balance entre la production et la détoxification des radicaux libres oxygénés est fonction du degré de tolérance des génotypes au stress abiotique. La réponse du système antioxydant chez les espèces tolérantes au sel est nettement différente de celle des espèces sensibles, chez *Lycopersicum penneli* qui est une espèce sauvage et tolérante, le stress oxydatif induit par le stress salin est atténué par une sur-régulation d'une série d'enzymes antioxydantes, tandis que chez *Lycopersicum esculentum*, qui est une espèce cultivée et sensible au sel, on enregistre une chute des niveaux des enzymes antioxydantes [132, 133].

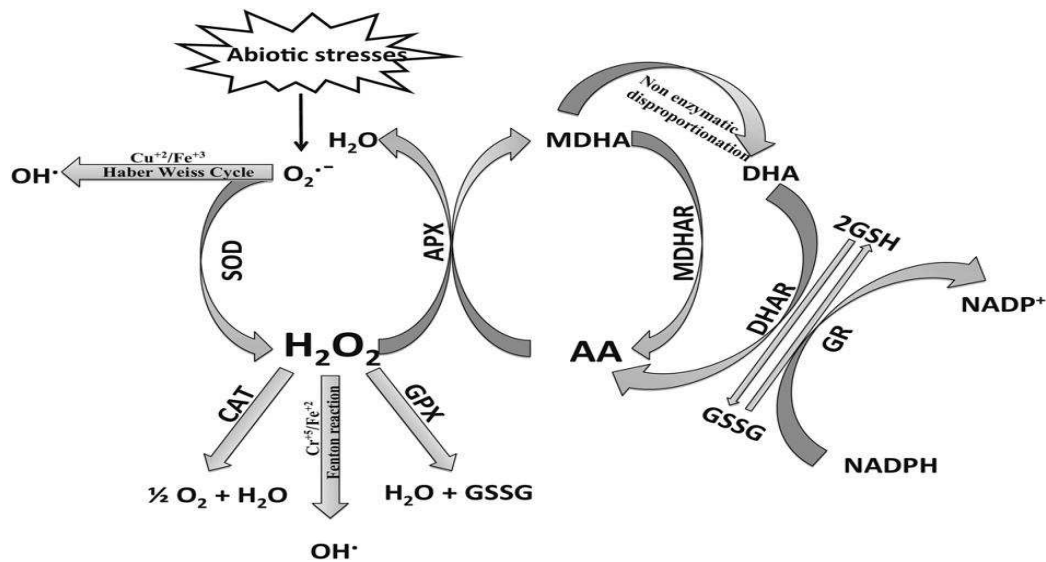


Figure I.3. Les ROS et les mécanismes de défense des antioxydants [131]

3. Mécanismes de tolérance au stress salin chez les plantes

Une fois que la plante détecte un stress, des mécanismes de perception puis de signalisation via une transduction de signaux et de messagers sont enclenchés afin d'activer les diverses réponses physiologiques et métaboliques, y compris l'expression de gènes de réponse au stress. Les principales voies de signalisation sont celle du calcium, de l'ABA, des «mitogen-activated protein kinases» (MAPKinases), des protéines «salt overly sensitive» (SOS) et de l'éthylène [134-136] (Fig. I.4).

Or le problème de la salinité est dû (i) à la toxicité des ions Na^+ et Cl^- , (ii) au stress osmotique et (iii) au stress oxydatif. Pour pouvoir survivre et croître, la plante doit faire face à ces trois contraintes induites par la salinité en adoptant une panoplie de mécanismes biochimiques et moléculaires dont la synchronisation et la coordination au niveau cellulaire sont censés faire acquérir à la cellule (et par conséquent à la plante) un niveau d'adaptation et de tolérance lui permettant de poursuivre sa croissance et faire face à la contrainte environnementale, c'est le cas des plantes halophytes. L'insuffisance et l'inefficacité de ces mécanismes est synonyme de la sensibilité des plantes et par conséquent de ses incapacités de croître ni de survivre en condition de salinité, c'est le cas des glycophyte [134].

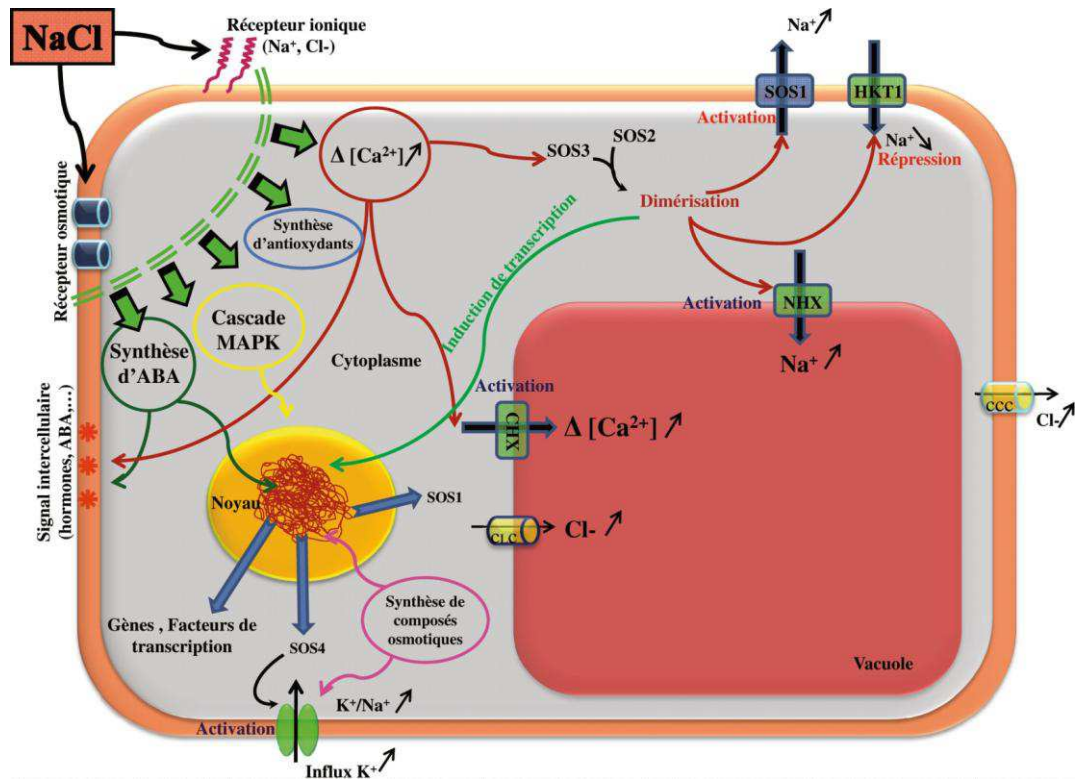


Figure I.4. Synthèse des principaux mécanismes cellulaires de perception, signalisation et réponse au stress salin (NaCl) chez la plante. [134]

3.1. Homéostasie ionique

Le maintien de l'homéostasie ionique par la compartimentation des ions toxiques au sein de la vacuole, leur exclusion hors de la cellule et l'ajustement ionique est crucial pour la croissance des plantes en conditions de salinité. L'évacuation du Na^+ en excès du cytoplasme vers la vacuole afin d'éviter leurs effets toxique et inhibiteur à l'encontre des processus enzymatiques est assuré par l'action d'un antiport vacuolaire sodium/proton (Na^+/H^+) dont l'énergie est fournie par les pompes à protons ATPases (H^+ -adénosine triphosphatases) et PPases (H^+ -pyrophosphatases) vacuolaires [134]. Grâce à ce processus, la cellule parvient à maintenir une faible concentration de Na^+ dans le cytoplasme d'une part, et d'autre part l'augmentation du Na^+ dans la vacuole va engendrer une forte pression osmotique qui va favoriser l'absorption de l'eau et ainsi la turgescence des cellules. Selon Gaxiola et al, [137], une surexpression d'une pyrophosphatase d'*Arabidopsis* *AVP1* augmente la séquestration de sodium dans la vacuole, maintient le potentiel hydrique des feuilles et ainsi améliore la tolérance au NaCl. Plusieurs études basées sur l'expression du gène *NHX1* ont confirmées l'importance de la compartimentation vacuolaire du Na^+ dans la tolérance à la salinité [138-140].

L'exclusion du Na^+ du cytoplasme vers l'extérieur de la cellule est réalisé par l'action combinée d'une série de protéines de type SOS «salt overly sensitive» notamment, *SOS1* qui est un antiport Na^+/H^+ localisé au niveau de la membrane plasmique [141,

142]. D'autre part, et afin de réduire l'accumulation de Na^+ au niveau de la partie aérienne de la plante, ce complexe protéique SOS interagit avec le transporteur HKT1, situé lui aussi sur la membrane plasmique et responsable de la recirculation du Na^+ des feuilles vers les racines via le phloème [143]. Il existe une corrélation positive entre l'exclusion et/ou la recirculation du Na^+ et la tolérance à la salinité chez plusieurs espèces [144, 145], notamment chez l'espèce sauvage de tomate (*Solanum pennellii*) [146]. La surexpression de *AtHKT1* chez la tomate induit une meilleure capacité de rétention des ions K^+ au niveau intercellulaire, ces plantes transgéniques montrent une meilleure résistance au stress salin [147].

Face aux fortes concentrations vacuolaires en Na^+ , la plante doit élever la pression osmotique des autres compartiments afin de maintenir leur volume [142]. Bien que la synthèse et l'accumulation de composés compatibles (osmolytes organiques) contribuent au maintien de la croissance cellulaire en conditions de stress ionique, la plante adopte l'ajustement ionique afin de réduire et d'équilibrer la concentration d'ions dans le but d'ajuster la pression osmotique au niveau du cytoplasme, et ce par l'augmentation des concentrations en potassium. Un rapport K/Na viable est un indice crucial de tolérance à la salinité, ce rapport va dépendre de l'action conjuguée des différents systèmes de transport situés au niveau des membranes plasmiques et vacuolaires et impliquant les voies plus ou moins sélectives des ions K^+ et Na^+ [65, 148].

3.2. Stratégie osmotique

Afin d'accommoder l'équilibre ionique dans la vacuole, le cytoplasme va accumuler des composés de faible masse moléculaire appelés les solutés compatibles (osmolytes) qui n'interfèrent pas avec les processus du métabolisme [149]. Ces osmolytes vont assurer l'ajustement osmotique et réduire le potentiel osmotique [150]. Parmi ces osmolytes, on trouve (*i*) la proline, qui chez plusieurs plantes, son accumulation est une réponse physiologique commune aux différents stress biotiques et abiotique [151]. La proline est synthétisée selon 2 voies, celle de l'ornithine et celle de glutamate qui semble être prédominante sous conditions de stress salin. C'est le composé compatible le plus impliqué dans l'ajustement osmotique [152]. Le rôle de la proline dans l'osmorégulation et la tolérance au sel est généralement remis en question. Chez certaines variétés de riz [153] et de sorgho [154] exposés au stress salin, la proline ne participe pas à l'ajustement osmotique et son accumulation semble plutôt être un symptôme de stress qu'un comportement d'adaptation ou de tolérance au stress. Par ailleurs, le rôle de la proline dans la tolérance à la salinité a été démontré et sa concentration est plus élevée chez les espèces tolérantes au sel que les espèces sensibles. Des plantes de *Atriplex halimus* [59], *Triticum aestivum* [155, 156] sur-exprimant la proline présentent une meilleure tolérance au stress osmotique. Chez la tomate, plusieurs études ont mis en évidence l'accumulation de la proline en conditions de stress salin [92, 109]. L'apport exogène de proline améliore la tolérance de la tomate à la salinité [157]. En plus du

rôle osmotique attribué à la proline, celle-ci a un rôle de protection (osmoprotecteur) contre la mort cellulaire induite par le NaCl et ce par la détoxification des ROS, la diminution de la peroxydation des lipides et la protection de l'intégrité membranaire [158]. Elle intervient aussi dans la stabilisation des protéines [150] et constitue une source de Carbone et d'Azote [159], et (ii) les sucres solubles (les carbohydrates) qui s'accumulent dans le cytosol en condition de stress et peuvent ainsi contribuer à la survie des plantes [160]. L'accumulation des carbohydrates tel que les sucres (e.g glucose, fructose et saccharose) et l'amidon dans la plante en réponse au stress salin a été largement rapporté et plusieurs études ont essayé de relier les changements des concentrations en carbohydrates à la tolérance à la salinité [105, 117]. Leur rôle dans l'atténuation du stress salin implique l'osmoprotection, l'osmoregulation, le stockage du carbone et la détoxification des ROS [161]. L'accumulation des sucres est stimulée par le stress salin chez différentes espèces [162-164], par contre la teneur en sucres diminue chez la tomate en conditions de salinité [92, 109]. Plusieurs études rapportent le rôle de l'accumulation des sucres dans la tolérance au sel. Cette accumulation est plus importante chez les espèces tolérantes que les espèces sensibles [117, 155, 165]. Comparée à l'espèce sensible *Solanum lycopersicum*, Gharbi et al, [163] rapportent l'accumulation de fortes concentrations de sucres (glucose, saccharose et fructose) dans les feuilles de l'espèce tolérante *Solanum chilense*.

3.3. La gestion des antioxydants

La neutralisation des formes actives d'oxygène (ROS) en surproduction et la réduction des dégâts causés par le stress oxydatif induit par la salinité, passe par un déploiement constant du système de défense antioxydant de la plante qui est constitué d'antioxydants enzymatiques (tableau I.1) et non enzymatiques [131].

Enzyme antioxydante	Code	réaction
Superoxyde dismutase (SOD)	EC 1.15.1.1	$O_2^{\cdot-} + O_2^{\cdot-} + 2H^+ \longrightarrow 2H_2O_2 + O_2$
Catalase (CAT)	EC 1.11.1.6	$H_2O_2 \longrightarrow H_2O + 1/2O_2$
Ascorbate peroxydase (APX)	EC 1.11.1.11	$H_2O_2 + AA \longrightarrow 2H_2O + DHA$
Guaicol peroxydase (GPX)	EC.1.11.1.7	$H_2O_2 + GSH \longrightarrow H_2O + GSSG$
Monodehydroascorbate-réductase (MDHAR)	EC.1.6.5.4	$MDHA + NAD(P)H \longrightarrow AA + NAD(P)^+$
Dehydroascorbate-réductase (DHAR)	EC.1.8.5.1	$DHA + 2GSH \longrightarrow AA + GSSG$
Glutathione réductase (GR)	EC.1.6.4.2	$GSSG + NAD(P)H \longrightarrow 2GSH + NAD(P)^+$

Tableau I.1. Les enzymes detoxifiantes [131]

L'augmentation de l'activité enzymatique et des molécules antioxydantes sous des conditions de stress salin peut être un indicateur de la surproduction des ROS, cette surproduction peut être estimée soit par le dosage des ROS, soit par l'évaluation des dégâts causés par ces ROS, notamment la peroxydation des lipides qui est exprimée

en teneur en MDA, ce qui amène à la mise en place de la machinerie antioxydante pour réduire les dommages engendrés par le stress oxydatif. L'augmentation des MDA indique la défaillance ou la non suffisance du système de défense antioxydant, ce qui va endommager la plante [166-168].

Il a été démontré que la tolérance à la salinité est corrélée à l'efficacité des machineries des défenses antioxydantes. En réponse au stress oxydatif, les espèces tolérantes présentent un système de défense antioxydant plus performant que celui des espèces sensibles chez les variétés de riz [169], de betterave [170] et de maïs [171]. Selon Martinez [9], *Solanum chilense* présente des stratégies efficaces pour faire face à des doses élevées de NaCl et que la gestion du statut oxydatif est un mécanisme clé permettant à cette espèce de tolérer la salinité comparée à *Solanum lycopersicum*. Shalata et al, [172, 173] rapportent la présence d'un système antioxydant enzymatique amélioré et une faible teneur en MDA chez *Solanum penneli* (tolérante) comparé à *Solanum lycopersicum* (sensible).

3.4. Les polyamines (PAs)

Les polyamines (PAs) sont des amines aliphatiques, de faible poids moléculaire, largement distribués à travers le règne végétal. Les PAs jouent un rôle important dans les processus de croissance et de développement tel que la division cellulaire, l'embryogenèse, la métaphogenèse, la rupture de la dormance, la germination des graines, le développement des fleurs et des fruits et la sénescence. Les PAs ont aussi un rôle crucial dans la réponse au stress abiotique notamment la salinité [174-177].

Dans la plante, les PAs les plus abondantes sont les putrescine (Put), spermidine (Spd) et spermine (Spm). La Put est la plus petite polyamine synthétisée selon deux voies, celle de l'ornitine et celle de l'arginine par l'action des enzymes ornitine décarboxylase (ODC, EC4.1.1.17) et arginine décarboxylase (ADC, EC 4.1.1.19) respectivement. Spd et Spm sont synthétisées par l'addition successive de groupes aminopropyles à la Put et Spd respectivement par l'action des enzymes Spd synthétase (SPDS, EC 2.5.1.16) et Spm synthétase (SPDS, EC 2.5.1.22) [178] (Fig. I.5).

Les PAs sont impliquées dans la régulation de nombreux processus cellulaires à savoir : la réplication de l'ADN, la transcription, la modulation des activités enzymatiques, l'équilibre ionique et la stabilité des membranes [179, 180].

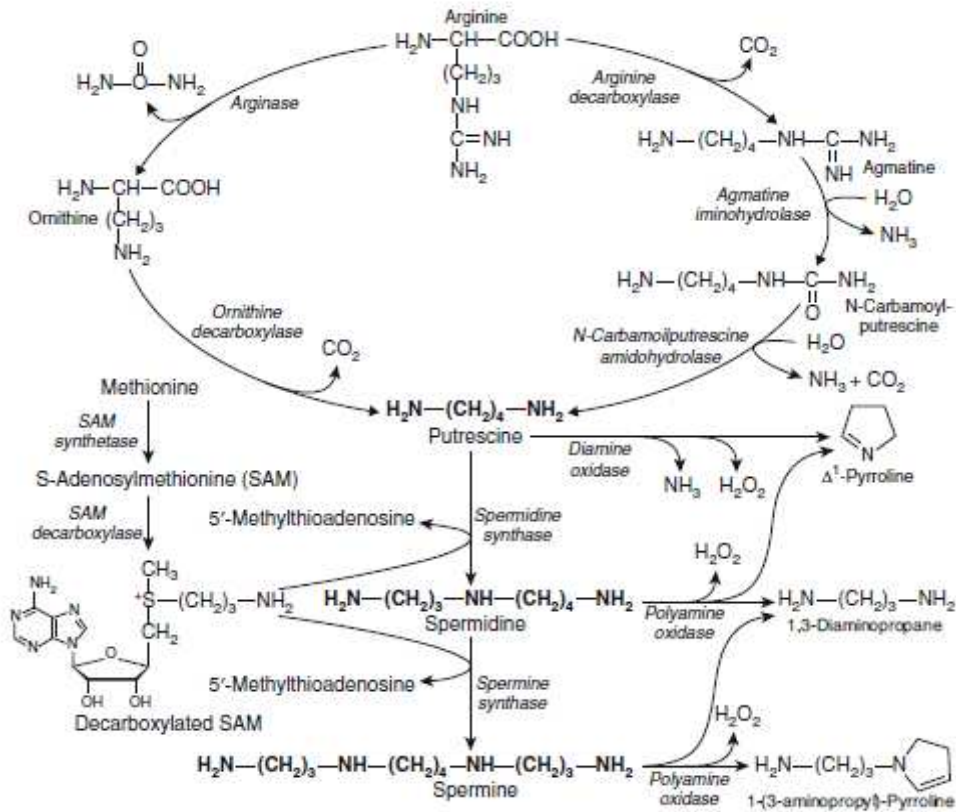


Figure I.5. Voies de biosynthèse des polyamines [181].

L'effet des conditions salines sur les PAs endogènes a montré que les concentrations des PAs varient en fonction de l'espèce, du cultivar, de l'organe, du stade de développement, de la tolérance et de la résistance et de l'intensité du stress [182].

Certains auteurs rapportent la diminution des PAs en conditions de salinité [183, 184] tandis que d'autres auteurs, rapportent leur accumulation. Les PAs peuvent également agir comme des molécules protectrices, atténuant les effets délétères du stress Salin. Zapata et al, [185] ont étudiés l'effet de la salinité sur la croissance, la production d'éthylène et les PAs chez *Spinacia oleracea* L., *Lactuca sativa* L., *Cucumis melo* L., *Capsicum annum* L., *Brassica oleraceae* L. var. *Italica* Plenck., *Beta vulgaris* L. et *Lycopersicon esculentum* Mill., selon ces auteurs, la teneur en PAs changent avec la salinité pour la plus part des espèces, la Put diminue tandis que la Spd et/ou la Spm augmentent. Le ratio Spd+Spm/ Put augmente avec la salinité. Kim, Shim, & Kim [186] ont examiné les réponses à différentes concentration de NaCl du chou chinois en culture hydroponique. Selon ces mêmes auteurs, la Spd diminue avec l'augmentation de la salinité, cependant la Spm enregistre une augmentation. Selon Jouve, Hoffmann, & Hausman [187], *Populus tremula* L est capable de faire face à une forte concentration de 150mM de NaCl grâce à l'accumulation de Spm ainsi que les solutés compatibles (sucres, proline).

Tassoni, Franceschetti, & Bagni [188], ont rapportés que le rôle spécifique de la Spd et Spm dans la réponse et la tolérance au stress salin de *Arabidopsis thaliana*, converge vers le rôle protecteur des PAs en conditions de salinité. L'augmentation des niveaux de polyamines sont corrélés avec la tolérance des plantes à la salinité. Selon Gharbi et al, [189], la tolérance au sel de *Solanum chilense* comparé à *Solanum lycopersicum* peut être due entre autre à l'augmentation des teneurs en Spm et la diminution de la Put. Lefevre, Gratia, & Lutts [190], rapportent qu'une courte durée de stress salin augmente nettement la quantité de Put racinaire et légèrement la quantité de Put foliaire chez l'espèce tolérante de riz Pokkali comparée à l'espèce sensible IKP.

3.5. Induction hormonale

Les phytohormones souvent considérées comme des régulateurs de croissance. Elles sont synthétisées au niveau de la plante. Elles peuvent agir soit localement (sur le site de biosynthèse), soit être transportées vers un autre site au niveau de la plante, afin de favoriser la croissance et le développement en conditions favorables et défavorables [12] et ce par le contrôle des différents processus physiologiques et biochimiques. Parmi ces phytohormones, on peut citer les auxines, l'acide abscissique (ABA), l'acide jasmonique (JA), les cytokinines (CKs), l'acide salicylique (SA) [13]. Les phytohormones ont un rôle essentiel dans la réponse des plantes aux stress abiotiques, par laquelle la plante peut tenter de s'échapper ou survivre aux conditions stressantes et peut réduire la croissance, de telle sorte que la plante focalise ses ressources sur la résistance au stress [191]. La faible croissance de la plante en conditions de salinité pourrait être le résultat d'un déséquilibre de la balance hormonale [192]. Il existe des interactions entre ces phytohormones, la synergie ou l'antagonisme entre ces hormones induit des réponses d'adaptation des plantes au stress. La viabilité de la réponse de la plante au stress dépend des interactions entre les différentes voies hormonales [193-195]. Outre leurs fonctions de régulation au cours du développement, elles coordonnent les différentes voies de transduction du signal lors des réponses aux stress environnementaux [196].

3.5.1. Les auxines

Principalement l'acide indole-3-acétique (IAA), joue un rôle dans la régulation des processus liés à la croissance tel que l'élongation cellulaire, le développement des tissus vasculaires et la dominance apicale [197]. En plus de son implication dans la croissance et le développement, l'IAA peut également régir ou coordonner la réponse de la croissance dans des conditions de stress [198] notamment le stress salin. L'IAA améliore la structure racinaire, d'où l'augmentation de l'absorption d'eau [199]. Chez *Iris hexagona*, le stress salin réduit les concentrations en IAA et en SA [197]. Selon Gharbi et al, [163], le sel réduit la concentration d'auxines, cette réduction est plus marquée chez *Solanum lycopersicum* (sensible) comparée à *Solanum chilense* (tolérante), par contre Ghanem et al. [200], montrent que chez la

tomate, le sel stimule l'augmentation de la concentration d'auxines au niveau des feuilles, ce qui va provoquer la sénescence.

3.5.2. Acide abscissique (ABA)

C'est l'hormone du stress, accumulée en conditions de stress et ayant un rôle important dans les réponses et /ou l'adaptation au stress [201]. Il agit comme un signal interne permettant aux plantes de survivre en conditions défavorables telle que la salinité [202]. Une accumulation rapide et significative de l'ABA en condition de salinité est essentielle dans les mécanismes de protection de la plante [203]. L'ABA peut limiter la transpiration et la perte d'eau par la régulation de la fermeture des stomates [204]. Cette hormone joue un rôle crucial dans la synthèse et l'accumulation de la proline [13] et les dehydrines en réponse à l'accumulation des ROS en condition de stress salin [205].

Amjad et al, [206], rapportent une augmentation de l'ABA dans le xylème du génotype tolérant de la tomate comparé au génotype sensible, cette augmentation affecte positivement la physiologie de la plante, la conductance stomatique ainsi que l'homéostasie ionique avec un ratio K^+/Na^+ élevé dans le xylème. Gharbi et al. [163], enregistrent également une forte accumulation d'ABA chez *Solanum chilense* (tolérante) comparé à *Solanum lycopersicum* (sensible), ceci peut être un des facteurs de tolérance de *Solanum chilense*.

3.5.3. Les cytokinines (CKs)

Les CKs peuvent influencer positivement les processus de croissance des plantes à savoir : la division cellulaire, la biogenèse des chloroplastes, la dominance apicale, la mobilisation des nutriments et la sénescence. Elles sont aussi connues pour leur rôle dans l'atténuation des effets néfastes du stress salin [13, 207]. D'après Ghanem et al. [200], le niveau élevé de CKs chez la tomate est une stratégie pour améliorer la croissance en conditions de salinité, ceci est confirmé par Gharbi et al. [163], qui signalent de fortes accumulations de CKs chez la variété tolérante *Solanum chilense* comparé à la variété sensible *Solanum lycopersicum*.

3.5.4. L'acide salicylique (AS)

C'est un composé phénolique, ayant un rôle important dans la régulation de la croissance, du développement, de l'interaction des plantes avec d'autres organismes et des réponses de défense aux stress environnementaux à savoir : le stress salin [13, 189]. La résistance de *Solanum chilense* au sel, comparé à *Solanum lycopersicum*, peut être due en partie à l'accumulation endogène de l'acide salicylique [163].

3.5.5. L'acide jasmonique (AJ)

C'est un régulateur cellulaire vital impliqué dans divers processus de développement de la plante notamment, la germination, la croissance racinaire primaire, la floraison, la sénescence et l'abscission des feuilles, ainsi que dans les réponses de défense aux stress biotiques et abiotiques [208]. Les teneurs endogènes en AJ augmentent chez la tomate [209] et chez *Iris hexagona* [197] en conditions de salinité. Il existe une corrélation entre la teneur en AJ et la tolérance des plantes au stress salin. La teneur en AJ est considérablement élevée chez le cultivar tolérant de riz comparé au cultivar sensible [210]. Chez la tomate, les cultivars résistants au sel montrent des teneurs élevées en AJ par rapport aux cultivars sensibles [163, 209].

Yongyin Wang et al, [197], ont démontré dans leur étude qu'il existe des changements significativement différents à court et à long terme dans les phytohormones d'*Iris hexagona*. ABA et AJ généralement augmentent et IAA et SA diminuent en réponse au stress salin. Ce qui conclut que ces phytohormones peuvent avoir des effets séparés et/ou interactifs sur la façon dont la plante réagit et s'adapte au stress.

3.5.6. L'acide gibbéréllique (AG)

C'est un régulateur de croissance connu pour stimuler les réponses des plantes en conditions défavorables notamment le stress salin. Il est activement impliqué dans l'atténuation des effets néfastes du stress salin [211]. Une rapide accumulation des AG est une caractéristique des plantes exposées au stress salin, cette accumulation est corrélée avec la tolérance des plantes au stress salin [163], ces auteurs rapportent une forte accumulation de l'AG et l'acide benzoïque chez *Solanum chilense* qui est un cultivar tolérant par rapport au cultivar sensible *Solanum lycopersicum*.

4. Stratégies d'atténuation des effets néfastes du stress salin chez les plantes cultivées

Face à la grande menace du stress salin, le recours à un usage efficace de l'eau et l'utilisation des équipements de drainage et /ou de réhabilitation des sols salins est envisageable, mais ces méthodes sont très coûteuses. Certaines espèces végétales étroitement apparentées au genre *Solanum* sont des espèces halophytes, résistantes au stress salin, tel que (*Solanum cheesmanniae*, *S. peruvianum*, *S. chilense*,...) et les croisements interspécifiques de ces espèces peuvent être une option pour la sélection d'hybrides résistantes au sel [16]. C'est une méthode coûteuse qui nécessite beaucoup de temps et de nombreux efforts pour la sélection de matériel végétal promoteur ayant les propriétés agronomiques recherchées [17]. L'amélioration génétique consistant en le transfert de gènes spécifiques est

envisageable, mais ceci peut engendrer des problèmes sociétaux et ce n'est pas toujours réalisable étant donné que la résistance à la salinité est un trait polygénique qui repose sur l'interaction de nombreux gènes [18].

Étant donné que toutes ces méthodes sont coûteuses et ne sont pas à la portée des petits agriculteurs, explorer des améliorants appropriés ou des atténuants de stress salin est l'une des tâches des biologistes. Dans cette dernière décennie l'application de protecteurs exogènes à savoir les osmoprotectants (proline, glycinebétaine), les phytohormones (Gibbérelline, acide jasmonique, acide salicylique, les auxines, les cytokinines et l'acide abscisique), les antioxydants (acide ascorbique, glutathion, tocophérol, etc.), molécules de signalisation (oxyde nitrique, peroxyde d'hydrogène, etc.), polyamines (spermidine, spermine, putrescine), et les éléments (sélénium, silicium, etc.) s'est avérée efficace pour atténuer les dommages induits par le sel chez les plantes cultivées. Ces agents de protection ont montré la capacité d'améliorer la croissance de la plante, son rendement et sa tolérance au stress. Une autre procédure simple, peu coûteuse et respectueuse de l'environnement optimisant les conditions de croissance de la tomate ainsi que d'autres cultures a été considérée comme une bonne alternative pour améliorer la résistance au sel à court terme, les biostimulants consistent sans doute des produits prometteurs à cet égard [212]. Autre technique culturale, très puisée par les industries semencières «le priming », cette technique permet d'améliorer la germination et la croissance en conditions favorables et défavorables.

4.1. Application de protecteurs exogènes

4.1.1. Osmoprotectants

L'accumulation d'osmolytes tel que la proline (Pro) est connue pour être un mécanisme d'adaptation des plantes aux conditions de stress. L'accumulation de Pro est un critère de tolérance de différentes espèces [3].

Kahlaoui et al, [157], rapportent que l'application foliaire de Pro permet d'augmenter la croissance et la fluorescence de la chlorophylle chez deux cultivars de *Solanum lycopersicum* (tolérant et sensible), la Pro augmente l'accumulation de K^+ , Mg^{+2} et diminue celle de Na^+ . Selon Ben Ahmed et al. [213], l'application exogène de Pro améliore la tolérance au sel de *Olea europaea* par l'amélioration du système de défense antioxydant enzymatique (SOD, CAT et APX), l'activité photosynthétique, la croissance et la préservation d'un statut hydrique approprié de la plante en condition de stress salin. Par ailleurs, la diminution de la teneur en sucres solubles révèle l'effet osmoprotecteur de la Pro additionnée au point de limiter le besoin des plantes stressées à synthétiser les sucres solubles.

4.1.2. Les phytohormones

L'application exogène de phytohormones a été proposée comme une approche pragmatique pour faire face au stress salin. Elle est impliquée dans un certain nombre d'études avec un certain degré de succès dans l'atténuation des effets néfastes de la salinité.

(i) Selon Gurmani et al, [214], l'application exogène d'ABA réduit l'accumulation des ions Na^+ et Cl^- et le rapport Na^+/Cl^- . Ces mêmes auteurs, rapportent aussi que l'augmentation de l'ABA améliore le rendement en graines d'*Oryza sativa* indica, l'accumulation de la proline, les sucres solubles et les ions K^+ et Ca^{+2} . Ceci pourrait soutenir l'idée de la stabilité membranaire accrue en raison d'une forte absorption de Ca^{+2} en présence de l'ABA sous stress salin [3].

(ii) Le priming avec les auxines améliore la germination des graines de blé en condition de salinité ainsi que la croissance via la régulation de l'homéostasie ionique et la biosynthèse de l'acide salicylique dans les feuilles [215]. Chez le maïs, la salinité réduit significativement la quantité d'auxines, par ailleurs l'application d'acide salicylique augmente cette quantité comparée aux plantes non traitées [216]. Ces résultats suggèrent que l'équilibre hormonal et leur diaphonie sont importants en ce qui concerne la réception du signal, la transduction et la médiation de la réponse au stress[15].

(iii) L'application foliaire d'un inhibiteur de la dégradation des CKS (INCYDE) améliore la résistance de la tomate à la salinité et ce par l'amélioration de son système de défense antioxydant enzymatique (POX,CAT et SOD), ce qui induit la diminution des MDA associés à l'oxydation des lipides [217].

(vi) L'application exogène de l'AS chez le soja permet d'atténuer les signes du stress salin via l'induction des enzymes antioxydants et l'ascorbate et ainsi réduire le stress oxydatif, l'amélioration de la photosynthèse et la diminution du ratio Na/K [218]. L'interaction AS et Ca permet d'améliorer la résistance de la tomate au NaCl en protégeant les pigments photosynthétiques, en augmentant l'accumulation des osmolytes (proline et sucres), du K^+ et du Ca^{+2} et en réduisant les MDA [109].

(v) Hamayun et al. [219], rapportent que les effets néfastes du NaCl chez le soja sont atténués par la régulation de la balance hormonale suite à l'application exogène de AG_3 . L'analyse du profil hormonal du soja a montré que les acides gibbérelliques actifs (AG_1 et AG_4) ainsi que l'AJ augmentent avec l'application du GA_3 , tandis que les teneurs en ABA et AS diminuent. Selon Shomeili et al. [220], l'application foliaire de GA_3 chez la canne à sucre exposée au stress salin permet d'améliorer l'absorption des nutriments (N et K), ainsi que les paramètres morphologiques et physiologiques de la plante. AG_3 permet aussi d'augmenter les teneurs en sucres et protéines. L'effet inhibiteur du NaCl est levé par l'application de l' AG_3 .

(vi) L'application foliaire de l'acide jasmonique (AJ), chez le blé exposée au stress salin permet de réduire les dommages causés par le NaCl en améliorant l'activité des enzymes antioxydantes (CAT, SOD, POD et APX), et la concentration des composés antioxydants (GSH, Chl et Car), ce qui améliore la croissance et ainsi la tolérance du blé à la salinité [221]. Selon Kang et al. [210], l'application exogène de l'AJ peut améliorer la tolérance du riz exposé au NaCl, en particulier le cultivar sensible plus que le cultivar tolérant. L'AJ diminue fortement les teneurs en Na⁺ et augmente les teneurs en Mg⁺², Ca⁺², K⁺, le potentiel hydrique des feuilles et les paramètres de la photosynthèse.

4.1.3. Les antioxydants

Le système antioxydant non enzymatique joue un rôle important dans la défense antioxydante. Les enzymes antioxydantes deviennent inactives dès le démarrage de la sénescence, c'est pourquoi un système antioxydant non enzymatique performant permet d'améliorer la tolérance de la plante vis-à-vis du stress. L'accumulation de ces molécules permettra de protéger les enzymes des dégâts causés par les radicaux libres (ROS) [128].

(i) L'Ascorbate (AsA) ou l'acide ascorbique est un antioxydant important synthétisé au niveau du cytosol par la conversion du D-glucose en AsA. Il a un rôle important dans les processus physiologiques de la plante à savoir la croissance et le métabolisme. Il fonctionne comme un réducteur de nombreux radicaux libres minimisant ainsi les dommages causés par le stress oxydatif [222]. Fercha et al. [223], rapportent que l'application exogène d'AsA améliore la surface foliaire, les pigments photosynthétiques, l'accumulation de la proline et la réduction du H₂O₂ chez le blé dur en condition de salinité. Selon Dehghan et al. [224], le prétraitement du soja avec de l'AsA améliore la croissance de la plante exposée au stress salin avec l'augmentation des enzymes CAT, POD et SOD. Ces résultats montrent le potentiel de l'AsA à atténuer les effets délétères du stress salin. L'application foliaire de l'AsA améliore la qualité des fruits ainsi que le rendement chez l'olivier en condition de salinité [58].

(ii) Le glutathion (GSH) est un antioxydant puissant, il protège les différentes composantes cellulaires des dommages causés par l'accumulation des ROS. Il peut fonctionner comme un capteur de radicaux libres en réagissant avec les ROS et en les neutralisant [225] (Fig. 1.6).

Khatab, [226], rapporte que le priming des graines de *Brassica napus* avec le GSH améliore la résistance des plantules au stress salin, probablement par l'augmentation des substances antioxydantes (Ascorbate, glutathion) et l'amélioration de l'activité des enzymes antioxydantes (SOD, GPX, POX, APX).



Tolérance au stress abiotique
Equilibre redox de la cellule
Protection des groupes thiol
Régulation de l'expression des gènes de défense contre le stress
Signalisation du métabolisme du soufre

Figure I.6. Rôle du glutathion dans le métabolisme de la plante [131]

4.1.4. Les polyamines

Chaque jour, de nouveaux rôles des polyamines (PAs) dans la tolérance des plantes au stress sont découverts. Selon plusieurs études, l'application exogène des PAs pourrait être utilisée comme un moyen prometteur dans l'amélioration de la tolérance des plantes au stress salin. Verma & Mishra [227], rapportent que la putrescine (Put) arrive à contrecarrer l'effet inhibiteur de la croissance et l'accumulation de la biomasse induit par le NaCl chez *Brassica juncea*. La Put permet aussi d'améliorer l'activité des enzymes antioxydantes (CAT, SOD, GR, APX) et d'augmenter les substances antioxydantes (GSH, Crt) et ainsi de réduire les teneurs en ROS (H_2O_2 , O_2^-) et en MDA dans les feuilles de *B.juncea*. Des résultats similaires sont rapportés par Tang & Newton [228], qui montrent que les PAs (particulièrement la Put) réduisent les dommages oxydatifs induits par le stress salin en augmentant l'activité enzymatique de APOX, GR et SOD et en réduisant ainsi la peroxydation des lipides chez *Pinus virginiana*. La Put (0,5 mM) est capable d'atténuer l'effet toxique du sel sur la perméabilité des électrolytes, la peroxydation des lipides et la teneur relative en eau du pois chiche. La Put est efficace pour la détoxification de peroxyde indiqué par l'augmentation de la POD [229]. Dans une autre étude sur deux cultivars de riz (tolérant et sensible), l'application exogène de spermidine (Spd) aide la plante à résister aux effets négatifs du NaCl [230]. Selon ces auteurs, l'application de la Spd améliore la tolérance du riz à la salinité par la stabilisation de la membrane, la détoxification des ROS et le maintien d'un ratio K^+/Na^+ . L'application de la spermine Spm atténue les effets délétères du stress salin sur la croissance et le rendement de *Vigna sinensis*. L'effet protecteur de la Spm est principalement due à l'augmentation de la chlorophylle, les protéines et les polyamines endogènes [231].

4.2. Le priming

La germination des graines et la croissance des jeunes plantules sont les deux étapes les plus critiques pour l'établissement d'une culture, et se sont aussi les deux stades les plus sensibles aux stressés abiotiques. La germination des graines peut être retardée ou inhibée par divers stressés abiotiques notamment le stress salin [232, 233]. Une germination rapide des graines et un bon établissement des cultures en condition de stress sont des facteurs très recherchés en production agricole et en particulier en industrie semencière et pour se faire, la méthode la plus puisée par les semenciers s'appelle «PRIMING» ou «amorçage» [234].

4.2.1. Le processus du priming des graines

La germination des graines (non traitées) implique généralement trois phases distinctes : (1) hydratation des graines liée à l'imbibition des tissus secs associée au mouvement de l'eau dans les apoplastes, (2) activation des différents métabolismes cellulaires et (3) début de la croissance par l'élongation cellulaire et la protrusion de la radicule (Fig.1.7). Les phases 1 et 3, impliquent une augmentation de la teneur en eau, alors que pendant la phase 2, la teneur en eau est stable. Généralement on considère qu'avant la fin de la phase 2, le processus de germination est réversible, les graines peuvent être séchées à nouveau pour être stockées et mises en germination ultérieurement sans pour autant perdre leur vitalité [235].

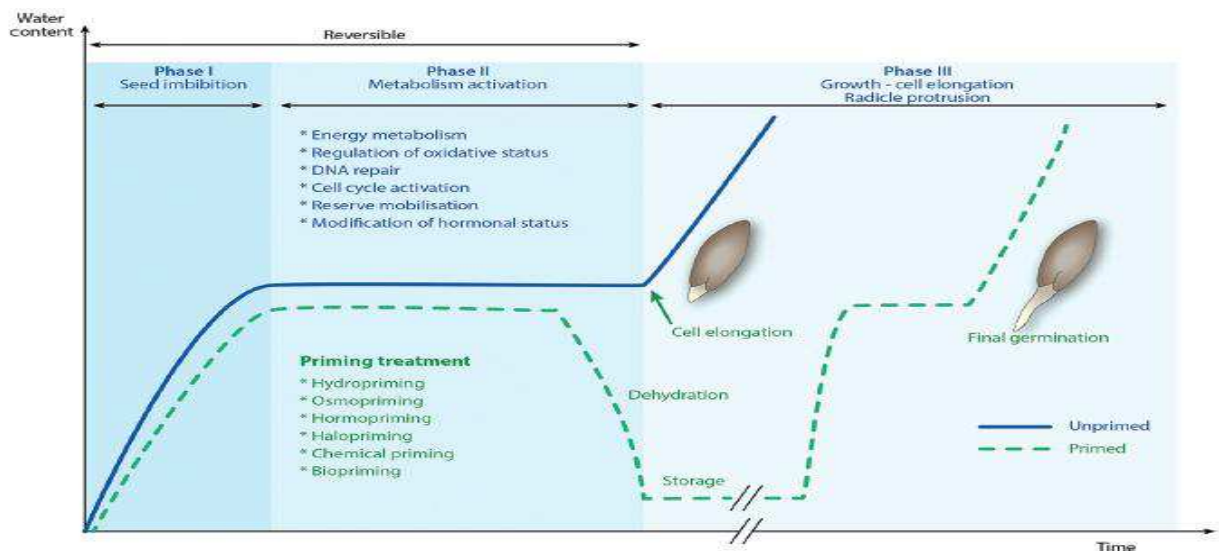


Figure 1.7. Les courbes d'hydratation et les phases de germination des graines non traitées et des graines amorcées [235].

Le priming est une ancienne technique empirique qui a évolué avec la technologie. Le priming consiste en l'hydratation des graines dans un environnement spécifique (agent de priming), suivi par le séchage de la graine de telle sorte que les processus de germination commencent sans pour autant que la radicule émerge, ce qui permet à la graine de retrouver son humidité initiale [236].

La technique du priming est utilisée pour améliorer la germination des graines en conditions favorables et défavorables [237], c'est une des approches physiologiques qui pourrait adapter les glycophytes aux conditions de salinité [238].

Plusieurs techniques sont utilisées et classées selon l'agent de priming, ceux-ci incluent : (i) hydropriming, où on utilise l'eau comme solution d'imbibition des graines, (ii) osmopriming, les graines sont imbibées avec une solution osmotique à faible potentiel hydrique, (iii) hormopriming, avec les régulateurs de croissance à savoir les phytohormones comme agent de priming et (iv) biopriming, l'imbibition des graines se fait avec un inoculum de bactéries [235].

Un traitement efficace est celui qui active les processus métaboliques durant la phase 2 de germination pour être ensuite inhibés temporairement avec la dessiccation [234].

4.2.2. Les changements physiologiques, biochimiques et moléculaires induits par le priming

Les phases d'imbibition et d'absorption d'eau sont écourtées chez les graines amorcées comparées aux graines non traitées (Fig. 1.7). Le priming stimule les processus métaboliques de prégermination et prépare la graine pour la protrusion de la radicule [239]. L'amorçage améliore la performance des graines et permet une germination plus rapide et synchronisée avec certains changements physiologiques, biochimiques et moléculaires comme indiqué dans la figure 1.8.

Le priming modifie l'ultra structure de la graine, la mobilisation des réserves, la régulation du statut oxydatif, du cycle cellulaire et la teneur en eau des graines. La croissance, la nutrition minérale et la résistance au stress des plantules obtenues peuvent être améliorées. Les composantes de l'effet de l'amorçage peuvent être révélées par une approche protéomique, transcriptomique et métabolique.

En outre le priming peut générer un stress abiotique modéré pendant l'imbibition et la déshydratation, cela permet aux semences de faire face aux stress environnementaux pendant l'établissement des plantules [51]. La plante surmonte le stress osmotique induit par la salinité par l'accumulation de solutés inorganiques (K^+ et Ca^{+2}) ou la synthèse de solutés organiques (proline, sucres) nécessaires à l'ajustement osmotique [240, 241]. Le priming des graines reprogramme l'expression des gènes responsables de la synthèse des antioxydants qui protègent la cellule des dommages oxydatifs [51], il permet aussi d'augmenter l'activité des enzymes anti oxydantes tel que la catalase, la peroxydase et la superoxyde dismutase [238] et les substances anti oxydantes à savoir l'ascorbate et le glutathion [10, 242].

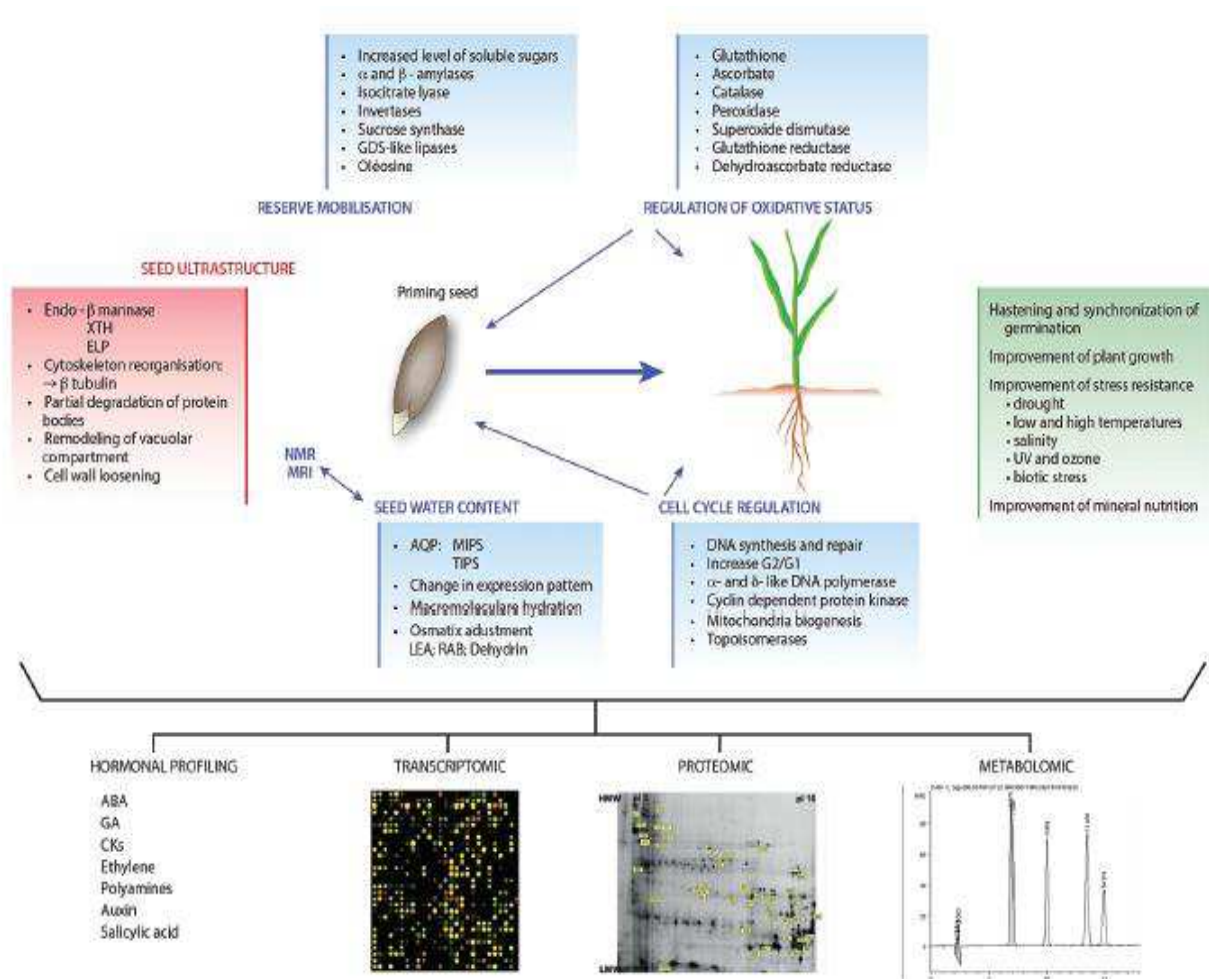


Figure I.8. Aperçu général de l'effet du priming sur les paramètres biochimiques et physiologiques [235].

4.2.3. Impact du priming sur la tolérance à la salinité des graines et plantules

Le priming des graines de *Phaseolus vulgaris* avec de l'acide salicylique (AS) permet d'améliorer la germination et la croissance des plantules. Il améliore également le système antioxydant enzymatique (SOD, POD et CAT) et non enzymatique (AsA et GSH) et diminue les MDA et la perméabilité des électrolytes. Ceci est une opportunité permettant d'augmenter la résistance de *Phaseolus vulgaris* et la croissance en conditions de salinité [10]. Selon Dawood & El-Awadi, [241], le priming des graines de *Vicia faba* avec la mélatonine augmente les teneurs en pigments photosynthétiques, les carbohydrates, les composés phénoliques, l'AIA, les ions K^+ et Ca^{+2} ainsi que les ratios K^+/Na^+ et Ca^{+2}/Na^+ et réduit les concentrations de Na^+ et Cl^- en conditions de stress salin. Des résultats similaires sont obtenus avec les graines de *Vigna radiata* amorcées avec l'acide β -amino butyrique [243], où le priming a permis de réduire les teneurs en MDA et améliorer l'accumulation de proline, de carbohydrates, de protéines et l'activité nitrate réductase. Cette technique permet d'augmenter l'activité des enzymes SOD et guaiacol peroxydase, ce qui

améliore la tolérance au sel de *Vigna radiata*. Younesi & Moradi, [244], soulignent que le priming de *Medicago sativa* avec l'acide gibbérellique AG₃ permet d'augmenter le taux de germination des graines, l'activité des enzymes anti oxydantes et la réduction de la peroxydation des lipides et la perméabilité des électrolytes en condition de salinité. Selon les mêmes auteurs, cette technique est efficace dans l'amélioration de la tolérance au stress salin de *M.sativa*. L'osmopriming de *Brassica napus* avec le polyéthylène glycol (PEG-6000) améliore la germination et la tolérance à la salinité durant le stade de germination et celui de l'établissement des plantules [51]. Cette performance de la plante est liée à l'accumulation de la proline suite à la sur expression du gène P5CSA responsable de la synthèse de la proline ainsi que l'augmentation de l'activité de l'enzyme P5CS induite par une forte accumulation de H₂O₂. Ces auteurs suggèrent que suite à l'exposition initiale des graines au stress (lors du priming), ces graines auront acquis une grande tolérance au stress salin au cours de la germination, une caractéristique probablement liée au «memory priming» (mémoire d'amorçage). Par ailleurs, Pace et al. [52], stipulent que les différentes techniques de priming utilisées dans leur étude améliorent la germination des graines de *Brassica napus* en condition non stressante, par contre elles n'ont aucun effet négatif sur la germination en condition de stress salin.

4.3. Les biostimulants

Une gamme très large de produits visant à améliorer le fonctionnement du sol, de la plante ou les interactions sol et plante s'est récemment développée sur le marché des intrants agricoles. Ces produits apportent des solutions souvent innovantes dans le domaine de la fertilisation et de la protection des cultures en stimulant les différents processus biologiques au niveau du sol et de la plante, il s'agit des «BIOSTIMULANTS» [245]. Par définition, «les biostimulants renferment des substances et/ou des microorganismes dont la fonction une fois appliqués aux plantes ou à la rhizosphère est de stimuler les processus naturels afin d'améliorer l'absorption des nutriments, de renforcer la tolérance aux stress abiotiques et de performer la qualité des cultures» [246].

Selon EBIC [247], les biostimulants stimulent la croissance et le développement des plantes tout au long du cycle de croissance (de la germination à la maturité) de plusieurs façons, (i) améliorer le métabolisme, le rendement et la qualité des cultures, (ii) améliorer la tolérance aux contraintes abiotiques, (iii) faciliter l'assimilation, la translocation et l'utilisation des nutriments, (iv) améliorer certaines propriétés physico-chimiques du sol et stimuler le développement des microorganismes complémentaires du sol. Les biostimulants fonctionnent comme des régulateurs de croissance à faibles doses en améliorant la nutrition et le métabolisme des plantes [248-250]. Il existe plusieurs formulations de biostimulants et sont classées en groupe selon leur origine. Ces groupes sont capables d'améliorer la croissance des plantes et /ou leur tolérance aux stress abiotiques notamment le

stress salin. Ils sont appliqués en prétraitement, traitement ou comme agent de priming.

4.3.1. Inoculum de bactéries

Plusieurs études rapportent le rôle des PGPR (plant growth- promoting rhizobacteria) dans l'amélioration de la croissance et /ou la tolérance des plantes aux stress environnementaux. L'inoculation avec les PGPR à savoir les souches *Bacillus subtilis*, *Bacillus atrophaeus*, *Bacillus sphaericus*, *Staphylococcus kloosii* et *Kocuria erythromyxa* augmentent la teneur en chlorophylle, en nutriments (K, N, Ca, Mg, P) ainsi que le rendement du fraisier exposé au stress salin [251]. L'application des PGPR augmente significativement les teneurs en N,P et l'absorption de K ainsi que le poids sec des racines et feuilles de *Triticum aestivum* [252].

4.3.2. Les extraits d'algues

L'effet bénéfique des extraits d'algue sur la croissance et l'absorption des nutriments chez *Brassica napus* a été rapporté par Jannin et al. [253]. Selon [254], l'application d'extrait d'algue chez *Arabidopsis* induit des réponses de tolérance au stress salin.

4.3.3. Les hydrolysats ou extraits de plantes

Selon Ertani et al. [255], l'hydrolysats de luzerne peut être proposé comme produit bioactif en agriculture pouvant aider la plante à surmonter les situations de stress salin. Ces auteurs, rapportent que l'hydrolysats de luzerne améliore la biomasse de *Zea mays* en condition de salinité en améliorant le métabolisme de N et le système antioxydant. Le potentiel de l'extrait de *Moringa oleifera* appliqué comme agent de priming ou par application foliaire dans l'amélioration de la tolérance au sel a été démontré. Ce dernier améliore la croissance et le système de défense antioxydant, augmente les osmoprotecteurs et K^+ , réduit les MDA et les accumulations de Na^+ et de Cl^- [164, 256, 257].

4.3.4. Les substances humiques

L'utilisation de substances humiques comme promoteur de croissance est progressivement adaptée par les agriculteurs qui s'intéressent de plus en plus à la production humique et leur application sur le terrain. La tourbière et le charbon à bois sont les principales sources des substances humiques à usage industriel. Cependant, ceci peut engendrer la destruction des écosystèmes de tourbière en voie de disparition dans le monde entier. C'est pourquoi il fallait trouver une autre source alternative. Le vermicompost a été utilisé comme substrat à la tourbe [258]. Les substances humiques sont des substances bioactives [259]. Selon Amorim et al et Arancon et al, [260, 261] , l'application d'acide humique extrait de vermicompost

améliore la croissance et le rendement en fruits de plusieurs plantes. Rady et al. [262], avancent que l'utilisation de l'acide humique comme amendement sur un sol salin permet d'améliorer la croissance, le rendement et la qualité de la fibre de coton. Dans des conditions de salinité modérée, Cimrin et al, [263] ont constaté que l'application d'acide humique améliorerait la croissance du poivron. Ouni et al. [264], ont estimé l'effet des substances humiques (SH) en condition de stress salin par effets directs et effets indirects. Les effets indirects des SH sont liés à l'amélioration des propriétés physiques, chimiques et microbiologiques des sols. Les actions directes sur les plantes sont dues à leurs effets sur la germination, la croissance des plantes (racines et pousses) et l'activité hormonale. Les SH peuvent améliorer les effets délétères du stress salin en augmentant la croissance des racines, en modifiant l'absorption de minéraux et en diminuant les dommages de la membrane, induisant ainsi une tolérance au sel. L'application d'acide humique a influencé positivement les paramètres de rendement de la plante cultivée en condition de salinité [265].

4.3.5. Le vermicompost ou lombricompost

Le vermicompost (VC) est utile pour améliorer la qualité de l'environnement et l'agriculture durable. Il est enrichi de substances humiques (SH) hautement bioactives et peut être considéré comme source de SH à utiliser comme stimulateur de croissance en agriculture [259]. En plus du coût élevé, la non accessibilité des engrais inorganiques, ainsi que les problèmes de sécurité environnementale favorisent l'utilisation de VC comme solution alternative. Par conséquent, on signale une forte demande pour de tels produits agrochimiques d'origine naturelle pour des systèmes agricoles durables.

5. Le vermicompostage et le vermicompost

5.1. Le vermicompostage: technique de traitement des déchets

Au cours de ces dernières années, l'utilisation de vers de terre dans la décomposition d'une large gamme de résidus organiques y compris les déchets ménagers, les boues d'épuration et les résidus de récolte pour produire du vermicompost (VC) a énormément augmenté, il s'agit du processus de vermicompostage.

5.1.1. Définition du vermicompostage

Selon Atiyeh et al. [266], «le vermicompostage est un procédé d'oxydation biologique non thermophile de la matière organique par l'interaction des vers de terre et des microorganismes, cette matière organique est transformée en VC, qui est un matériau avec une porosité, aération et drainage élevés, une forte capacité de rétention d'eau et une riche activité microbienne».

Selon Veeresh & Narayana [267], «le vermicompostage est un processus de décomposition impliquant des interactions entre les vers de terre et les microorganismes. Dans ce processus, les microorganismes sont responsables de la dégradation biochimique de la matière organique, tandis que les vers de terre agissent comme des moteurs essentiels du processus en fragmentant et en conditionnant le substrat, et en augmentant ainsi la surface pour l'activité microbiologique».

5.1.2. Principe du vermicompostage

Le vermicompostage peut se faire à l'extérieur dans des conditions climatiques appropriées ou à l'intérieur dans des bâtiments ou des tunnels en plastique. Pour une productivité maximale, des conditions environnementales optimales doivent être maintenues à savoir : (i) Des espèces de vers de terre consommatrices de déchets organiques tels que *Eisenia fetida* et *Eisenia andrei* sont utilisées, (ii) Les matériaux organiques sont ajoutés aux systèmes en couches minces (2,5-5,0 cm), (iii) Les vers de terre nécessitent des conditions aérobies et restent dans les 10 à 15 cm supérieurs d'un système, en remontant à mesure que de nouvelles matières organiques sont ajoutées à la surface, (iv) La température doit être idéalement maintenue entre 20 et 25°C, (v) La teneur en humidité devrait être de 75% à 90%, (vi) Ne jamais couvrir les lits de matériaux imperméables, tels que le plastique, qui empêchent l'oxygénation [268]

Le vermicompostage accélère 2-5 fois le processus de décomposition, accélérant ainsi la conversion des déchets en biofertilisant et produisant des matériaux beaucoup plus homogènes que le compost [266]. Les vers de terre fragmentent les déchets organiques, stimulent fortement l'activité microbienne et augmentent le taux de minéralisation, convertissant ainsi les déchets en substances semblables à l'humus avec une structure plus fine que le compost mais avec une activité microbienne plus grande et plus diversifiée [23], c'est le vermicompost (VC).

Pendant ce processus, les nutriments végétaux importants que contiennent les déchets en particulier N, P, K et Ca sont libérés et transformés en forme plus solubles et accessibles aux plantes. Pendant le processus de vermicompostage, les vers de terre produisent des substances bioactives, qu'on retrouve dans le produit fini (VC) et qui sont importantes pour l'activité biochimique et régulatrice du sol tel que les enzymes, les antibiotiques, les vitamines, les hormones et les substances humiques très utiles dans le processus de nutrition des plantes [269].

5.2. Le vermicompost (VC)

C'est le produit dérivé de la dégradation biologique accélérée des matières organiques par interaction entre les vers de terre et les microorganismes. Il peut être utilisé comme source de matière organique pour l'amendement du sol, comme source de nutriments pour la fertilisation du sol ou comme substrat pour les cultures hors sol [20].

5.2.1. Les propriétés du vermicompost (VC)

Le VC est un produit sombre, homogène et inodore, avec un pH plutôt neutre [270], qui varie selon la matière organique initiale. Dans un VC de qualité, la contamination par des matériaux inertes devrait être faible < 0,5 – 1% en poids. La densité est une propriété physique importante qui influence la porosité, l'aération et la capacité de rétention d'eau qui sont des facteurs critiques pour la croissance des plantes. La teneur en humidité devrait être de 75 – 90% pendant le traitement, mais cette teneur peut varier considérablement dans le VC fini [271].

La composition chimique du VC dépend en partie du degré d'activité des vers de terre et des conditions du vermicompostage, mais principalement de la composition des déchets parentaux utilisés (i.e. le type ou la nature du substrat utilisé) d'où l'existence de divers types de vermicompost. Le VC est en particulier un produit de déchets animaux contenant généralement des quantités plus importantes d'éléments minéraux facilement assimilés par la plante par comparaison aux milieux de croissance commerciaux, à savoir les nitrates, P, K, Ca et Mg [272, 273].

La concentration en sels (anions et cations) estimée par la conductivité électrique (CE) peut atteindre des niveaux qui inhibent la croissance de la plante ou qui soient toxiques pour la plante. Habituellement, les concentrations en sels dans le VC sont faibles du fait que l'activité des vers de terre est inhibée à des concentrations de 0,5% [268]. La teneur en carbone C dépend de la teneur en matière organique. Au cours du vermicompostage, les vers de terre améliorent l'activité des enzymes telle que l'invertase, uréase et la phosphatase qui sont d'origine microbienne [271]. Plusieurs études rapportent l'existence d'une population microbienne diverse dans le VC [274, 275]. Les actinobacteria qui ont un potentiel de supprimer les pathogènes fongiques chez les plantes, représentent la communauté dominante dans le VC des boues de papeterie [276]. Gopal et al. [277], rapportent que le VC de feuilles de cocotier et de fumier de vache renfermait une communauté microbienne plus importantes comparée au substrat initial. Ils ont signalé que le VC favorise la multiplication des bactéries hétérotrophes aérobies, les actinomycètes, *Trichoderma sp* et *Azotobacter*.

Plusieurs études ont signalé la présence de substances bioactives dans le VC à savoir : les substances humiques [53, 278, 279] et les phytohormones telle que les

auxines, Cytokinines, gibbérellines [30, 32, 53]. On retrouve aussi des substances phénoliques [30].

5.2.2. Les diverses applications du vermicompost

Le vermicompost existe sous forme solide ou liquide (dérivés de VC), ces derniers sont apportés soit par application racinaire (i.e. irrigation) ou par application foliaire. Des études ont montré de façon constante que le VC a un effet bénéfique sur la croissance des plantes en condition favorables et défavorables (stress biotiques et abiotiques).

5.2.2.1. Le rôle du vermicompost (VC) dans la fertilité du sol

L'application du vermicompost comme amendement ou comme substitution au milieu de culture favorise la fertilité du sol qui sera exprimée par l'amélioration de la croissance des plantes. Arancon et al. [273], rapportent l'effet de la substitution du milieu de culture Metro-Mix 360 par différentes concentrations de VC sur la croissance et le rendement du poivron en culture sous serre. Selon ces auteurs, l'amélioration du rendement pourrait provenir de l'amélioration de la structure du milieu de culture, l'augmentation de la population microbienne bénéfique et la disponibilité de substances bénéfiques pour la croissance de la plante produites par les microorganismes suite à l'apport de VC. Le mélange du VC au sol à différents ratios améliore le poids commercial du chou chinois comparé au contrôle (i.e. milieu sans VC). Le VC augmente également la teneur en nutriments, en sucres solubles, en protéines, en vitamine C, en polyphénols, en flavonoïdes enfin l'activité antioxydante est aussi améliorée [280]. L'effet de 3 types de VC sur la germination, la croissance et la floraison de Pétunia a été étudié [54]. La substitution du VC au sol à différentes doses améliore la germination, la croissance ainsi que la floraison de la plante. Ces auteurs pensent que ces améliorations sont probablement induites par l'amélioration de la structure physique du milieu de culture, l'augmentation de la population microbienne ainsi que la présence de substances bioactives telle que les hormones et les substances humiques produites lors du vermicompostage pour se retrouver dans le vermicompost.

5.2.2.2. Le rôle du vermicompost (VC) dans l'amélioration de la croissance des plantes

Le thé de vermicompost, un extrait aqueux de vermicompost peut contenir une série de substances bioactives ainsi qu'une population microbienne dérivée du matériau parental et qui peuvent être améliorés pendant le vermicompostage. Les nutriments (e.g. N, K, Ca, Mg) et les métabolites bioactives tel que les substances humiques et les régulateurs de croissance (i.e. les phytohormones) présents dans le VC pourraient être extraits durant le brassage [53, 274, 275, 279]. Ces composés peuvent améliorer le développement des racines, l'absorption des nutriments, la

germination et la croissance. Selon Arancon et al. [274, 281], l'application de l'extrait de VC améliore la germination et la croissance des tomates et des concombres. Des résultats similaires sont rapportés par Lazcano et al, [282], le VC et l'extrait de VC ont un effet positif sur la germination et le développement de *Pinus pinastier*. Comme les meilleurs effets sur la germination ont été observés après application de l'extrait, d'autres mécanismes, plutôt que l'amélioration du substrat, tel que les nutriments hydrosolubles et les composés organiques (e.g. acide humique, phytohormones) pourraient être impliqués dans la promotion de la germination.

Arancon et al. [53], rapportent aussi que le traitement des semences avec des thés de VC a eu un effet stimulant sur la germination des graines et la croissance des plantules de tomate et de laitue, ce qui suggère l'utilisation de ces thés pour accélérer la germination et le développement des plantules. Selon ces auteurs, une combinaison de faibles concentrations de nutriments, des traces de phytohormones telles que l'IAA, les Cytokinines et les gibbérellines et des quantités raisonnables d'acide humique dans le VC à base de résidus alimentaires peuvent favoriser la germination. L'application foliaire des substances humiques extraites de VC favorise le rendement biologique de la laitue [278]. Ces auteurs, signalent des modifications du métabolisme de la laitue traitée telle que la diminution des glucides, l'augmentation de la teneur en protéines des feuilles et l'induction de l'activité nitrate réductase et phénylalanine ammonia-lyase dans les feuilles, ce qui accélère le cycle de production. Aremu et al. [19], rapportent que l'application du thé de VC comme solution d'irrigation permet d'améliorer la longueur des pousses et des racines des plantules du bananiers, la surface foliaire ainsi que le poids sec. Il augmente le nombre de rejets du bananier. Le bon développement des racines est bénéfique pour l'acclimatation et l'établissement des plantules du bananier dans les pépinières et le transfert ultérieur pour la culture de pleins champs.

5.2.2.3. Rôle du vermicompost (VC) dans la gestion des stressés biotiques (e.g. maladies des plantes agents pathogènes, nématodes et insectes)

En plus des effets directs du VC sur la croissance des plantes, le VC peut avoir un large éventail d'effets indirects sur la croissance des plantes tel que l'atténuation ou la suppression des maladies et des espèces pathogènes qui attaquent les plantes.

Le VC peut supprimer une série de maladies de plantes telle que le *Pythium* du radis et *Rhizoctonia* du concombre. L'application de faibles doses de VC réduit la flétrissure verticillienne des fraises, les Phomopsis et l'oïdium du raisin et la pourriture bactérienne du concombre. La suppression est clairement bactérienne puisque les propriétés de suppression sont perdues après stérilisation du VC [274]. L'application du thé de VC produit à partir de résidus alimentaires sur des plantes de concombre et de tomate infestées par les coléoptères *Acalymna vittatum* et la pyrale du tabac *Manduca sexta* respectivement permet la suppression des dommages causés par ces ravageurs. Apriori, plus la concentration en thé de VC est grande,

plus la suppression est importante [283]. Selon ces auteurs, la diminution du nombre d'insectes ainsi que la suppression de leurs dommages chez les plantes traitées pourraient être attribuées aux composés phénoliques présents dans le VC et qui rendent les plantes moins attrayantes aux ravageurs et affectent leur reproduction et leur survie. Le VC peut aussi avoir un effet significatif sur l'incidence et l'abondance des nématodes dans le sol. L'effet du thé de VC sur un sol infesté avec le nématode *Meloidogyne incognita* a été étudié par Edaward et al. [284]. La différence de croissance entre la tomate cultivée sur un sol infesté et un sol infesté et traité au thé de VC est spectaculaire et la réduction du nombre de galles racinaires est considérable.

L'application de 3 types de VC permet de réduire les populations de nématodes chez plusieurs cultures : tomate, poivron et fraise comparé aux sols traités avec un engrais inorganique [285]. Par ailleurs, les populations de nématodes fongivores et bacteriovores ont tendance à augmenter de façon constante dans les parcelles traitées au VC par rapport à celles traitées aux engrais inorganiques.

5.2.2.4. Rôle du vermicompost (VC) dans la gestion des stressés abiotiques (e.g. salinité, sécheresse et déficit nutritionnel)

D'après plusieurs études, le VC sous ses différentes formes peut avoir des effets bénéfiques sur la croissance des plantes en conditions de stress abiotiques, et ce en améliorant la résistance des plantes à ces conditions à travers différents mécanismes.

Le lixiviat de VC pourrait servir de substitut potentiel aux carences en P et K durant la croissance de la tomate [286]. L'effet du lixiviat de VC sur la croissance de la tomate exposée au stress hydrique et au stress induit par différents régimes de température a été étudié [38]. Ces auteurs, rapportent que l'application du lixiviat de VC réduit les effets néfastes induits par ces stressés. L'augmentation et la diminution des solutés compatibles (i.e. Proline, sucres solubles) et les pigments photosynthétiques ont contribué à l'ajustement osmotique en condition de stress. L'application du lixiviat de VC peut également atténuer l'impact du stress salin sur la croissance de *Solanum lycopersicum* grâce à l'accumulation de solutés solubles et les pigments photosynthétiques comparés aux plantes non traitées et exposées à la salinité [39].

CHAPITRE II

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Chapitre II : Matériel et méthodes

Il existe peu de données sur l'impact de l'application du VC sur la résistance de la tomate à la salinité. Dans la plupart des études, le VC est appliqué au moment de la contrainte environnementale alors que dans les conditions naturelles, la salinité n'est pas nécessairement permanente, elle peut se produire à tout moment du stade de croissance de la plante suite à l'irrigation excessive ou avec une eau saline [7], c'est pourquoi il est nécessaire de déterminer le moment propice de l'application du VC afin que la plante puisse en profiter. Selon nos connaissances, les informations sur l'utilisation du lixiviat de VC comme milieu de germination en condition de salinité ou comme agent de priming sont rares, d'où l'intérêt de la présente étude dont les principaux objectifs sont : (i) La caractérisation d'un lixiviat de vermicompost (LVC) issu de la dégradation de déchets ménagers, (ii) La compréhension des mécanismes déclenchés par l'application de LVC et qui permettent à la plante de mieux résister à une salinité de courte durée au stade jeunes plantules, (iii) L'investigation de l'utilisation du lixiviat de VC comme agent de priming ou comme milieu de germination afin de stimuler la croissance des semences à faible pouvoir germinatif. Le schéma directeur ci-joint récapitule l'ensemble des expérimentations permettant d'atteindre les objectifs sus cités (Fig II.1).

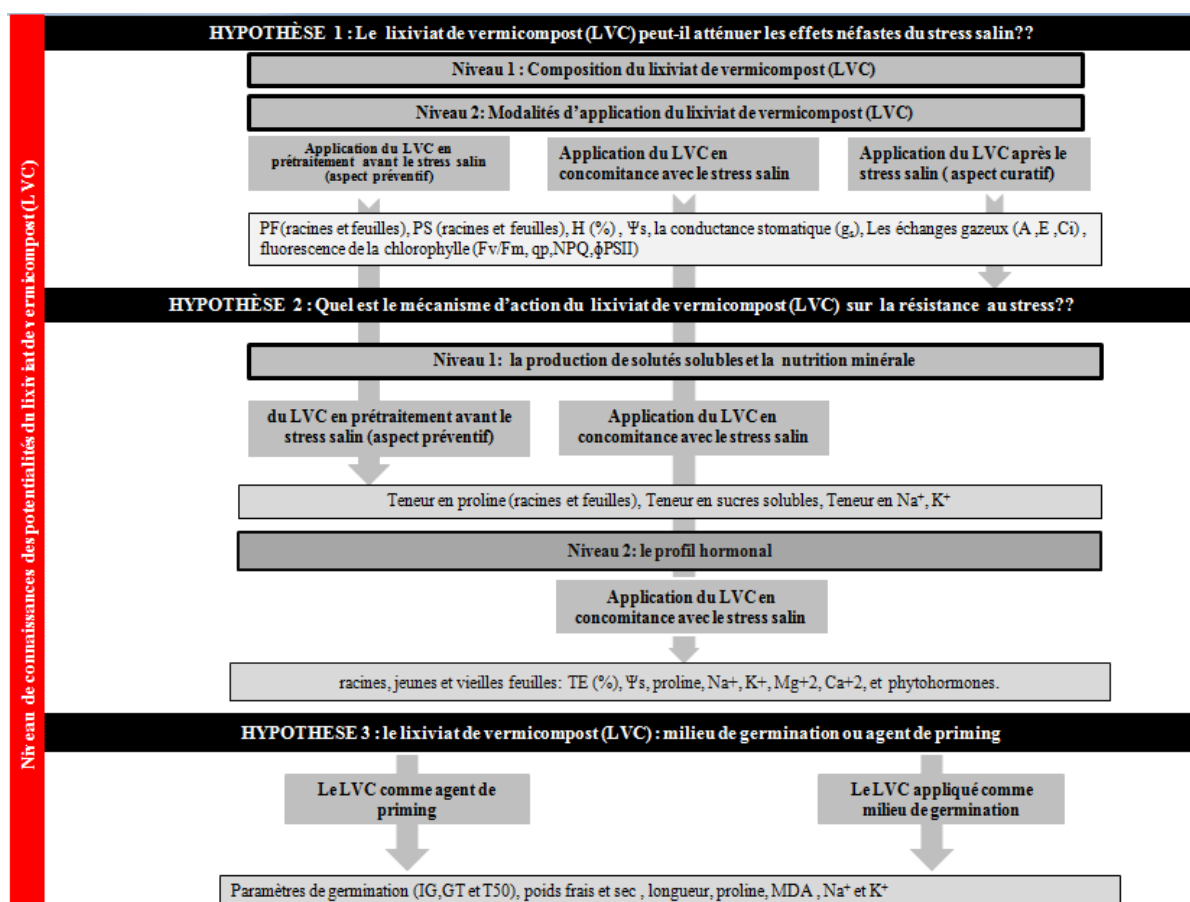


Figure II.1. Schéma hypothétique de l'impact des différents traitements au LVC dans l'atténuation du stress salin chez la tomate et le colza

1. Caractérisation du vermicompost

Le vermicompost sous ses différentes formes sont des produits sombres, inodores et riches en nutriments, obtenus à partir de la dégradation d'un large éventail de déchets organiques en utilisant des vers de terre [26]. Le vermicompost existe sous forme solide, appliqué directement au sol comme amendement et sous forme liquide (lixiviat), qui résulte de l'égouttage de la forme solide [24], qui sera appliqué soit par application racinaire ou foliaire.

1.1. Origine et préparation du lixiviat de vermicompost (LVC)

Le vermicompost (pH=8,78, d=1,006) utilisé dans notre étude est produit au niveau du laboratoire de biotechnologie des productions végétales, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université de Blida 1. Un mélange de déchets ménagers (épluchures de fruits et légumes) est utilisé pour la préparation du vermicompost, ces résidus sont mélangés aux vers de terre épigés *Eisinia feotida* dans le composteur à raison de 200 g de lombric /Kg de déchets ménagers. Le composteur, est un système de trois casiers superposés, le casier supérieur contient le mélange déchets organiques ménagers et vers de terre. Le vermicompostage se fait à l'obscurité, à une température de 25°C et le processus dure 2 mois. À la fin de la transformation, on récupère dans le casier du milieu, les moulages de vers de terre (vermicompost), issus de la dégradation de la matière organique par interaction entre les vers de terre et des microorganismes et dans le casier basal, on recueille le jus ou le lixiviat de vermicompost (LVC) qui est issu de l'égouttage du vermicompost.



Fig II.2. Vermicomposteur à compartiments verticales
(a) Vermicomposteur a quatre compartiments (b) Bac de déchets frais (c) Bac de vermicompost (substrat solide) (d) Conteneur de stockage du lixiviat de vermicompost brut.

1.2. Analyse du lixiviat de vermicompost (LVC)

Le vermicompost (LVC) est analysé et les constituants chimiques suivants sont quantifiés : (i) Les polyamines, (ii) Activité antioxydante (FRAP), (iii) Les éléments minéraux (Na^+ , K^+ , Ca^{+2} et Mg^{+2}), (iv) Polyphénols, (v) Les anthocyanes, (vi) Les sucres solubles et (vii) Les hormones.

1.2.1. Extraction, dansylation et quantification des polyamines (PAs)

Extraction : à 500 μl de LVC sont ajoutés 500 μl de HClO_4 4% (v : v) contenant 5mg/l de 1.7 diaminoheptane (standard interne). Bien vortexer le mélange et laisser reposer pendant 1h à 4°C. L'homogénat est ensuite centrifugé à 12000t/mn pendant 20mn à 4°C. Le culot est re-extrait avec 200 μl de HClO_4 4% (v : v) et à nouveau centrifugé. Les deux surnageants sont mélangés.

Dansylation : pour la détection de la fluorescence, les PAs sont dérivées par dansylation selon la méthode de [190] avec quelques légères modifications. A 200 μl de surnageant sont ajoutés 200 μl de carbonate de sodium saturé (Na_2CO_3) et 500 μl de chlorure de dansyle (20mg/ml d'acétone). Après homogénéisation, les échantillons sont incubés à 60°C pendant 1h. Pour éliminer l'excès de chlorure de dansyle, 250 μl de proline (150mg/ml) sont ajoutés. Après 1h d'incubation à l'obscurité, l'acétone est évaporée sous azote. Les polyamines dansylées sont ensuite extraites avec 1ml d'acétate d'éthyle et vortexer vigoureusement pendant 60s. Le mélange est stocké à 4°C pendant 20mn afin d'obtenir une bonne séparation entre les phases organique et aqueuse. L'épiphase organique est recueillie et séchée sous azote.

Quantification : les PAs libres (putrescine, spermidine et spermine) sont dosées par chromatographie liquide à haute performance couplée à un détecteur de fluorescence (HPLC-FLD). Les analyses sont effectuées sur un système HPLC Shimadzu couplé à un détecteur de fluorescence RF-20A (Shimadzu, s'-Hertogenbosch, Pays-Bas). Les teneurs en PAs libres sont déterminées à l'aide de courbes d'étalonnage tracées avec des solutions standards externes et le standard interne 1.7 diaminoheptane.

1.2.2. Détermination de l'activité antioxydante

Basée sur la méthode de la réduction du fer, décrite dans «Journal of Food Composition and Analysis 19 (2006) 669-675» [287]. Il existe 2 fractions d'antioxydants : la fraction hydrophile (AOAM) et la fraction hydrophobe (AOAD). Après extraction, le pouvoir réducteur des extraits est déterminé en utilisant la méthode de réduction du Fer (FRAP) décrite par Benzie & Strain [288].

1.2.3. Teneurs en Na⁺, K⁺, Ca⁺² et Mg⁺²

Après digestion de 1ml de VCL dans l'acide nitrique, les teneurs en Na⁺, K⁺, Mg⁺² et Ca⁺² sont estimées par mesure au spectrophotomètre à absorption atomique (ICE 3300; Thermo Scientific; Waltham, MA).

1.2.4. Dosage des polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux est mesurée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu, selon la méthode de Singleton & Rossi [289] avec de légères modifications sur un volume de 1ml de LVC. Les teneurs en polyphénols sont exprimées en mg d'équivalents d'acide gallique / l par référence à une courbe étalon établie dans les mêmes conditions avec de l'acide gallique.

1.2.5. Dosage des anthocyanes

Les anthocyanes sont quantifiées selon la méthode décrite par Mancinelli [290] sur un volume de 1ml de LVC. Les teneurs en anthocyanes sont exprimées en mg/l.

1.2.6. Dosage des sucres solubles

Les sucres solubles sont extraits avec 4ml d'éthanol à 70%. Après centrifugation à 8000g à 4°C, le surnageant est récupéré pour dosage. La quantification des sucres se fait à l'antrone selon la méthode décrite par Yemm et Willis [291].

1.2.7. Dosage des hormones

Les phytohormones sont extraites et purifiées selon la méthode décrite par Petre Ivanov Dobrev & Kamine [292] et Petre I Dobrev & Vankova [293]. Les phytohormones sont quantifiées par HPLC (Ultimate 3000, DIONEX), couplée à la spectrométrie de masse hybride triple quadropole/linear ion trap (3200 QTRAP), en utilisant un groupe de calibration à plusieurs niveaux avec des standards internes, comme décrit par Djilianov et al. [294].

2. Evaluation de l'impact des différents modes d'application du vermicompost (LVC) sur la résistance de la tomate (*Solanum lycopersicum* cv. Ailsa Craig) exposée à la salinité

Comme c'est souvent le cas avec d'autres biostimulants [295], les lixiviats de vermicompost (VCL) sont appliqués à faible concentration soit par irrigation, soit par application foliaire afin d'obtenir diverses réponses physiologiques. Dans la plupart des études consacrées à l'impact du vermicompost sur la résistance au stress, le vermicompost est appliqué au moment de la contrainte environnementale, mais

comme dans les conditions naturelles, la salinité n'est pas nécessairement permanente et peut se produire suite à une irrigation successive [7]. Il est donc intéressant de déterminer si l'application de vermicompost avant l'installation du stress salin a un impact similaire sur le comportement de la plante que son application en concomitance avec le stress salin d'une part, et de voir si le vermicompost permet à la plante de mieux récupérer après avoir subi un stress salin d'autre part. Afin d'analyser l'effet du mode d'application du vermicompost, la présente étude a été réalisée avec de jeunes plantes de *Solanum lycopersicum* cultivées sur solution nutritive contenant du vermicompost avant, pendant et après l'ajout du NaCl. La croissance des plantes est analysée en relation avec la régulation du statut hydrique, la teneur en ions et les propriétés photosynthétiques.

2.1. Matériel végétal et conditions de culture

2.1.1. Matériel végétal

Les graines de tomate *Solanum lycopersicum* L.cv. Ailsa Craig sont fournies par le laboratoire GRPV, Belgique.

2.1.2. Conditions de culture

L'expérience a été réalisée pendant l'année 2016, au sein des locaux du laboratoire GRPV, à l'université catholique de Louvain la Neuve (UCL), en Belgique.

Les graines de tomate sont mises en germination en serre dans du terreau pendant 15 jours. Au stade 2 feuilles, les plantules ainsi obtenues sont distribuées sur 20 bacs (à raison de 6 plantes / bac), contenant 1,5 l de solution Hoagland KNO_3 3mM, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 1mM, KH_2PO_4 2mM, MgSO_4 0,5mM ; Fe-EDTA 32,9 μM , H_3BO_4 30 μM , MnSO_4 5 μM , CuSO_4 1 μM , ZnSO_4 1 μM et $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}$ 1mM. Le pH de la solution nutritive est quotidiennement ajusté à 5,8 et les solutions sont renouvelées une fois par semaine. Les plantules sont entreposées dans une chambre de croissance sous une humidité relative de 70% pendant le jour et 90% la nuit, une température de l'ordre de 25°C le jour et 20°C la nuit et un éclairage quotidien de 16 h avec une intensité lumineuse de 150 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$. Après 7 jours d'acclimatation des plantes en solution nutritive, 3 modalités d'application du lixiviat de vermicompost (LVC) sont définis :

2.1.2.1. Application du LVC en prétraitement suivie d'un stress salin (aspect préventif)

Les plantes de 4 bacs (à raison de 6 plantes par bac) des 20 bacs sont prétraitées pendant une semaine au LVC (au même temps que la période d'acclimatation), en ajoutant 6ml/l de LVC à la solution Hoagland. Après une semaine

de prétraitement, 2 bacs des 4 bacs sont exposés à un stress salin en ajoutant 150mM de NaCl à la solution nutritive.

2.1.2.2. Application du LVC en concomitance avec le stress salin

Après 7 jours d'acclimatation, on ajoute 6ml/l de LVC seul ou en combinaison avec 150mM de NaCl aux plantes des 4 autres bacs (à raison de 2 bacs par traitement et 6 plantes par bac).

De ces deux modes d'application, on définit 6 traitements:

- (1) Contrôle, plantes cultivées dans la solution Hoagland (C)
- (2) Stress salin, plantes cultivées dans la solution Hoagland contenant 150mM de NaCl (S).
- (3) Plantes prétraitées au LVC et cultivées dans la solution Hoagland (LVC PRT)
- (4) Plantes prétraitées au LVC et cultivées dans la solution Hoagland contenant 150mM de NaCl (LVC PRT + S)
- (5) Plantes cultivées dans la solution Hoagland contenant 6ml/L de LVC (LVC)
- (6) Plantes cultivées dans la solution Hoagland contenant 6ml/L de LVC et 150 mM de NaCl (LVC+S)

Toutes les plantes sont récoltées après une semaine de stress.

2.1.2.3. Application du LVC en post-stress (aspect curatif)

Après 7 jours d'acclimatation, les plantes des 8 bacs restants sont divisées en 2 groupes

- (1) contrôle (C), plantes cultivées dans la solution Hoagland
- (2) stress salin (NaCl), plantes cultivées dans la solution Hoagland et 125 mM de NaCl, à raison de 4 bacs par traitement.

Après une semaine de stress, 18ml/l de VCL sont ajoutés de façon à définir 4 traitements :

- (1) Contrôle (C), plantes cultivées dans la solution Hoagland
- (2) Contrôle +LVC (C+LVC), plantes cultivées dans la solution Hoagland contenant 18ml/l de LVC
- (3) NaCl/LVC, plantes stressées cultivées dans la solution Hoagland contenant 18ml/l de LVC
- (4) NaCl/REC, plantes stressées cultivées dans la solution Hoagland

Toutes les plantes sont récoltées après une semaine de traitement.

2.2. Paramètres étudiés

2.2.1. Paramètres morphologiques

2.2.1.1. Production de biomasse

Après récolte, les racines sont brièvement rincées dans de l'eau déminéralisée et séchées en surface avec du papier buvard. Pour chaque traitement, la production pondérale des parties aériennes et racinaires fraîches de 4 plantes est déterminée, pour être mise ensuite à l'étuve à une température de 70°C pendant 48H en vue de la détermination du poids sec. Les différentes mesures sont effectuées avec une balance de précision.

2.2.2. Paramètres physiologiques

2.2.2.1. Teneur en eau (TE)

La teneur en eau des racines et des feuilles de chaque plante est déterminée selon l'équation suivante : $TE (\%) = (PF-PS)/PF \times 100$. Le poids frais de chaque partie est estimé au moment de la récolte, et le poids sec après la mise des échantillons à l'étuve.

2.2.2.2. Le potentiel osmotique Ψ_s

Une feuille et les racines de chaque plante sont coupées en petits segments et placées dans un tube eppendorf (1,5ml) perforé à 4 endroits et encastré dans un 2^{ème} tube eppendorf intact. Les échantillons sont ensuite exposés à 3 cycles de congélation/décongélation afin d'assurer la rupture des membranes cellulaires, pour être ensuite centrifugé à 15000g à 4°C pendant 15mn. Le suc tissulaire est récupéré dans le tube intact et stocké à -20°C.

La mesure du potentiel osmotique (Ψ_s) se fait à l'aide d'un osmomètre «Vapor Pressure Osmomètre Wescor 5520». L'appareil est calibré au moyen de standards de 290 mosmol.kg⁻¹ à 1000 mosmol.kg⁻¹. Un volume de 10 µL de chaque échantillon ou de standards est placé sur un petit disque en papier fourni par «Wescor». Au cours des mesures, les échantillons sont conservés dans de la glace. Pour chaque échantillon, trois répétitions sont effectuées. La mesure obtenue s'exprime en mosmol.kg⁻¹. La conversion en MPa est réalisée par la formule de Vant'Hoff [153].

$$\psi_s(MPa) = - c(\text{mosmoles.kg}^{-1}) * 2,58 * 10^{-3}$$

2.2.3. L'activité photosynthétique

2.2.3.1. La conductance stomatique

La conductance stomatique (g_s) est mesurée entre 10h et 12h sur la plus jeune feuille la plus déployée des 6 plantes de chaque traitement en utilisant un poromètre à diffusion AP4 (Delta-T Devices, Cambridge, Angleterre).

2.2.3.2. Les échanges gazeux

Le taux de transpiration instantanée (E en $\text{mmol H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$), la concentration interne en CO_2 (C_i en $\mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$) et l'assimilation photosynthétique nette (A en $\mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$), sous une densité de flux de photons photosynthétiques (PPFD de $500 \mu\text{mol m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) ont été effectuées grâce à un analyseur à gaz infrarouge à système ouvert (IRGA ; LCA 2 8.7, ADC, Great Amwell, England), qui regroupe en une unité portable tous les éléments nécessaires pour la mesure des flux de vapeur d'eau et de CO_2 . Les mesures (six par traitement) ont été effectuées entre 10h00 et 12h00 sur la plus jeune feuille la plus déployée.

2.2.3.3. Fluorescence de la chlorophylle

La fluorescence chlorophyllienne a été mesurée à l'aide d'un fluorimètre portable à lumière pulsée (FMS2; Lynn Hansatech, Roi, Royaume-Uni) sur la plus jeune feuille la plus déployée (six mesures par traitement). Les feuilles ont été adaptées à l'obscurité pendant 30 min. Le niveau minimal de fluorescence (F_0) a été déterminé en mesurant la lumière modulée ($0,1 \text{ mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$). Le niveau maximal de fluorescence (F_m) avec tous les centres réactionnels ouverts du PSII a été déterminé par un pulse de saturation de 0,8 s à $8500 \text{ mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. Les feuilles ont été ensuite continuellement éclairées par une lumière actinique blanche ($320 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) pendant 3 min, la valeur stationnaire de la fluorescence (F_s) a été enregistrée.

Un second pulse de saturation à $8500 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ a été imposé pour déterminer le niveau maximal de fluorescence à l'état de lumière adaptée (F_m'). La lumière actinique a été enlevée et le niveau minimal de fluorescence à l'état de lumière adaptée (F_0') a été déterminé par illumination de la feuille pendant 3 s avec un pulse de lumière rouge lointaine. En utilisant les deux propriétés lumineuse et sombre de la fluorescence, les paramètres suivant ont été calculés [296] :

Efficienc e quantique maximale des PSII s (F_v/F_m) à l'état adapté à l'obscurité:

$$F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$$

Le quenching photochimique : $qP = (F_m' - F_s)/(F_m' - F_0')$

Le quenching non photochimique : $NPQ = (F_m - F_m')/F_m'$

Efficience quantique du transport d'électrons par les PSII : $\phi_{PSII} = (F_m' - F_s)/F_m'$

2.4.1. La production de solutés solubles

2.2.4.1. Extraction et dosage de la proline libre

La proline est extraite et quantifiée selon la méthode de Bates [297]. Les feuilles et les racines (200mg) de 6 plantes pour chaque traitement sont broyées dans de l'azote liquide et homogénéisées dans 10ml d'acide sulfosalicylique 3%. L'extrait est incubé à 70°C pendant 30mn dans un bain marie, refroidit et centrifugé à 10000 g pendant 10mn. A 2ml de filtrat, sont ajoutés 2ml de réactif à la ninhydrine et 2ml d'acide acétique glacial, le mélange est ensuite incubé au bain marie à 90°C pendant 1heure. La proline libre est extraite avec 2ml de toluène, la solution est agité fortement au vortex. Après formation de deux phases, la phase organique (colorée) contenant la proline est prélevée. L'absorbance est mesurée au spectrophotomètre (Beckman DU 640) à 520 nm. La concentration en proline libre est déterminée en utilisant une gamme étalon préparée avec de la L-proline et les résultats sont exprimés en $\mu\text{mol proline/g PF}$.

2.2.4.2. Extraction et dosage des sucres solubles

250 mg de matière fraîche (racines et feuilles de 4 plantes pour chaque traitement) sont broyés dans de l'azote liquide et mélangé à 4 ml d'éthanol à 70% (v : v). L'extrait est centrifugé à 8000 g à 4°C pendant 10mn. Le surnageant contenant les sucres solubles est récupéré et deux autres extractions avec 2ml d'éthanol à 70% sont réalisées. Les trois surnageant sont combinés, le volume de l'extrait porté à 7ml avec de l'éthanol 70% et conservé à -20°C. Une aliquote de (200 μl) de l'extrait est ajoutée à 1ml de réactif à l'antrone et le mélange est ensuite placé au bain marie à 100°C pendant 10mn puis refroidit. la teneur en sucres solubles est estimée à une absorbance de 625nm (spectrophotomètre Beckman DU 640) [291]. La concentration en sucres solubles est déterminée en utilisant une gamme étalon préparée avec du glucose comme standard et les résultats sont exprimés en $\mu\text{mol de glucose /g PF}$.

2.2.5. Minéralisation et dosage des éléments minéraux (Na^+ , K^+)

La minéralisation se fait en deux étapes :

Etape 1 : dissolution de la matière organique

A 50-100 mg de matière sèche (racine et feuille) sont ajoutés 4mL d'acide Nitrique concentré (HNO_3) dans des fioles de 10ml. Les fioles jaugées sont placées sur une

plaque chauffante à 80°C jusqu'à dissolution complète de la matière organique et ensuite placées sur le bain de sable jusqu'à évaporation complète de l'HNO₃.

Etape 2 : reprise des résidus

Le résidu est re-solubilisé dans l'eau régale (1,5ml d'HCl 37% et 0,5ml d'HNO₃ 65%). Compléter avec l'eau déminéralisée jusqu'au trait jauge et ensuite filtrer avec du papier filtre Whatman. Les teneurs en Na⁺ et K⁺ sont estimés par mesure au spectrophotomètre à absorption atomique (ICE 3300 ; thermo Scientific ; Waltman, MA).

3. Le rôle des phytohormones présentes dans le LVC dans la régulation de la tolérance à la salinité et l'accumulation des phytohormones chez *S.lycopersicum* exposée au stress salin

Dans la précédente étude, on a démontré que le LVC représente un agent efficace pour améliorer la résistance au stress salin chez la tomate. Cette hypothèse pourrait être confirmée par un profil hormonal des plantes traitées par le LVC dans des conditions de contrôle et de stress salin. Dans la présente section, nous avons tenté d'identifier les mécanismes par lesquels l'application des différentes phytohormones présentes dans le LVC améliorerait la tolérance au sel de la tomate et modifierait les niveaux de phytohormones chez les plantes traitées. Nous avons appréhendé la compréhension de la diaphonie entre les phytohormones. L'hypothèse avancée cherche d'un côté, comment les phytohormones présentes dans le LVC pourraient moduler les voies de biosynthèse de nouvelles phytohormones chez les plantes, et d'un autre côté, comment elles interagissent dans la régulation de la tolérance au NaCl en rapport avec la synthèse de solutés compatibles tel que la proline ainsi que la réduction des ions Na⁺ et l'accumulation de K⁺ et Ca⁺².

3.1. Matériel végétal et conditions de culture

3.1.1. Matériel végétal

Les graines de tomate *Solanum lycopersicum* L.cv. Ailsa Craig sont fournies par le laboratoire GRPV, Belgique.

3.1.2. Conditions de culture

L'expérience a été réalisée pendant l'année 2017, au sein des locaux du laboratoire GRPV, à l'université catholique de Louvain la Neuve (UCL), en Belgique.

Les graines de tomate sont mises en germination en serre dans du terreau pendant 15 jours. Au stade 2 feuilles, les plantules ainsi obtenues sont distribuées sur 20 bacs (à raison de 6 plantes par bac), contenant 1,5 l de solution Hoagland KNO₃

3mM, Ca (NO₃)₂ 1mM, KH₂PO₄ 2mM, MgSO₄ 0.5mM ; Fe-EDTA 32.9μM, H₃BO₄ 30μM, MnSO₄ 5μM, CuSO₄ 1μM, ZnSO₄ 1μM et (NH₄)₆Mo₇O 1mM. Le pH de la solution nutritive est quotidiennement ajusté à 5,8 et les solutions sont renouvelées une fois par semaine. Les plantules sont entreposées dans une chambre de croissance sous une humidité relative de 70% pendant le jour et 90% la nuit, une température de l'ordre de 25°C le jour et 20°C la nuit et un éclairage quotidien de 16 h avec une intensité lumineuse de 150 μmolm⁻²s⁻¹. Après 7jours d'acclimatation des plantes en solution nutritive, quatre traitements sont définis :

- (1) Contrôle, plantes cultivées dans la solution Hoagland (C)
- (2) Stress salin, plantes cultivées dans la solution Hoagland contenant 150mM de NaCl (NaCl).
- (3) Plantes cultivées dans la solution Hoagland contenant 18ml/L de LVC (LVC)
- (4) Plantes cultivées dans la solution Hoagland contenant 18ml/L de LVC et 150 mM de NaCl (LVC+NaCl)

Toutes les plantes sont récoltées 7 jours après traitement et divisées en racines, les feuilles F 2-3 (feuilles âgées) et les feuilles F 5-6 (jeunes feuilles) en comptant à partir du bas de la plante.

3.2. Paramètres étudiés

3.2.1. La croissance de la plante, la teneur en eau et le potentiel osmotique

Les racines, les feuilles F 2-3 et les feuilles F 5-6 de six plantes de chaque traitement sont séparées et pesées avant d'être incubés à 72°C pendant 48H dans le but de déterminer le poids frais (PF) et le poids sec (PS) respectivement. La teneur en eau (TE) est calculée selon la formule : $TE = 100 \times (PF - PS) / PF$. Le potentiel osmotique (Ψ_s) est mesuré sur la sève extraite en utilisant l'osmomètre Wescor 5500.

3.2.2. Extraction et quantification de la proline libre

La proline est extraite et quantifiée selon la méthode de [297]. La concentration en proline libre est déterminée en utilisant une gamme étalon préparée avec de la L-proline et les résultats sont exprimés en μmol proline/g PS.

3.2.3. Détermination des teneurs en Na⁺, K⁺, Mg⁺² et Ca⁺²

Après digestion de 50-100mg de matière sèche (racine et feuille) dans l'acide nitrique, Les teneurs en Na⁺, K⁺, Mg⁺² et Ca⁺² sont estimées par mesure au spectrophotomètre à absorption atomique (ICE 3300; Thermo Scientific; Waltham, MA).

3.2.4. Analyse des phytohormones

Le profil hormonal est établi pour les racines, les feuilles F 2-3 et les feuilles F 5-6 après une semaine d'exposition au stress salin. L'extraction et la quantification des phytohormones comprenant l'ABA, les auxines, GAs, SA, JA, BRs, l'acide benzoïque (BzA), les CKs et leurs métabolites au niveau des racines et des feuilles de tomate se fait selon la méthode décrite par [292, 293]. 100 mg de matière fraîche sont mélangées avec 0,5 ml de tampon d'extraction méthanol/acide formique/eau et les standards internes 13C6-indole-3-acetic acid (IAA), 2H4-SA, 2H6-ABA (NRC-PBI), 2H3-phaseic acid (PA), 2H5-JA, 2H5-transZ, 2H5-transZR, 2H5-transZ7G, 2H5-transZ9G, 2H5-transZOG, 2H5-transZROG, 2H5-transZRMP, 2H3-DHZ, 2H3-DHZR, 2H3-DHZ9G, 2H6-iP, 2H6-iPR, 2H6-iP7G, 2H6-iP9G, 2H6-iPRMP, 2H3-castasterone, 2H3-epibrassinolide, 2H2-GA1, 2H2-GA4, 2H2-GA7, 2H2-GA8, 2H2-GA19 et 2H2-GA20. Après 1 heure d'extraction à -20°C, la partie solide est séparée par centrifugation et re-extraite pendant 30 mn avec le même solvant. Les deux surnageants sont récupérés et purifiés. Deux fractions de phytohormones sont obtenues, la fraction A renfermant les composés acides et neutres (e.g. auxines, ABA, GAs, AS, AJ), et la fraction B renfermant les composés basiques (CKs). Les phytohormones sont quantifiées par HPLC (Ultimate 3000, DIONEX), couplée à la spectrométrie de masse hybride triple quadrupole/linear ion trap (3200 QTRAP), en utilisant un groupe de calibration à plusieurs niveaux avec des standards internes, comme décrit par [294].

4. Le lixiviat de vermicompost (LVC): milieu de germination ou agent de priming pour améliorer la germination de *Brassica napus* en conditions de contrôle et de salinité

La germination est une étape importante et déterminante dans le développement et l'établissement des cultures. La salinité peut entraver et inhiber la germination des graines ainsi que la croissance des jeunes plantules [49]. Outre les contraintes externes, le vieillissement des semences représente un facteur interne entravant la germination des semences et il est particulièrement important de le prendre en compte dans les pays où les semences commerciales sont coûteuses et les conditions de stockage ne sont pas optimales. Le vieillissement et la viabilité des semences sont en effet affectés par les dommages survenant pendant le stockage [298].

Toute stratégie permettant d'augmenter le pourcentage de germination des anciens lots de semences est importante à considérer. L'efficacité du priming peut également varier en fonction de l'âge des graines, mais l'interaction entre le vieillissement et le priming dans la tolérance à la salinité est mal documentée. Selon notre connaissance, il n'y a aucune étude sur l'impact de l'utilisation de vermicompost comme milieu de germination ou comme agent de priming en condition de salinité sur la germination des graines et l'établissement des jeunes plantules. Le but de cette étude est: i) analyser l'impact du lixiviat de vermicompost ajouté directement au

milieu de germination contenant du NaCl ii) investiguer son intérêt potentiel en tant qu'agent de priming pour améliorer la germination ultérieure dans des conditions de stress salin et iii) comparer les effets du LVC sur deux cultivars de *Brassica napus* ayant différents niveaux de viabilité .

4.1. Le matériel végétal et le vermicompost

L'expérience a été réalisée pendant l'année 2018, au sein des locaux du laboratoire GRPV, à l'université catholique de Louvain la Neuve (UCL), en Belgique.

Les graines de *Brassica napus* L, (cv. Libomir et cv. Harry) utilisées dans cette étude ont été aimablement fournies par le Dr. L. Wojtyla (Université Adam Mickiewicz de Poznan, Pologne). Les graines de cv. Libomir ont été produites en 2007 et ceux de cv. Harry ont été produites en 2016. En conséquence, lorsque la germination a été effectuée dans des conditions standards conformément aux règles de l'ISTA (International Rules for Seed Testing 2018), le pourcentage de germination pour le cv. Harry a varié entre 93,4 et 97,2% tandis que le pourcentage de germination de cv. Libomir n'a jamais dépassé 30% (Lutts, résultats non publiés).

Le lixiviat de vermicompost (LVC) utilisé dans cette étude a été produit par le laboratoire de Biotechnologie des Productions Végétales de l'Université de Blida 1, Algérie, par la digestion des déchets ménagers par des vers de terre. Les principales propriétés chimiques, les nutriments et la concentration en phytohormones quantifiées dans le vermicompost ont été présentés précédemment (Tableau III.1, 2 et 3).

4.2. Le dispositif expérimental

Le dispositif expérimental est composé de deux expériences indépendantes

4.2.1.1^{ère} expérience : Le LVC appliqué comme milieu de germination

Les graines de chaque variété de *B. napus* sont placées dans des boîtes de pétri sur un papier filtre (Whatman) humide. Quatre solutions sont utilisées pour l'imbibition du papier filtre de façon à déterminer 4 milieux de germination : (1) papier filtre imbibé d'eau (C), (2) papier filtre imbibé d'une solution saline 100mM NaCl (S), (3) papier filtre imbibé de LVC dilué (1 :10, v : v) (VC) et (4) papier filtre imbibé de LVC +NaCl (1 :10, 100mM) (VC+S).

6 boîtes de pétri par traitement à raison de 50 graines par boîte sont utilisées pour chaque variété. Les boîtes de pétri sont incubées dans l'obscurité à 23°C.

4.2.2. 2^{ème} expérience : Le LVC comme agent de priming

Le priming a été effectué dans le LVC dilué (1 :10) (VCpriming) pendant 2 jours à 23°C à l'obscurité dans des boîtes de pétri bordées de 2 papiers filtre (Whatman) imbibés de LVC dilué (1 :10 , v :v) selon la méthode décrite par Kubala et al,[299] avec de légères modifications. Après incubation, les graines sont rincées 3 fois avec l'eau distillée pour éliminer l'agent de priming et séchées sous flux laminaire pendant 7 jours pour revenir à l'humidité initiale (graines amorcées sèches Pd). Pour chaque variété, les tests de germination sont effectués dans des boîtes de pétri sur papier filtre imbibé de 6 ml d'eau ou de solution saline (100mM NaCl).

Quatre traitements sont déterminés : (1) graines non traitées et germées dans l'eau (UP_{H_2O}), (2) graines non traitées et germées dans le NaCl (UP_{NaCl}), (3) graines amorcées avec le LVC et germées dans l'eau (VCP_{H_2O}) et (4) graines amorcées avec le LVC et germées dans le NaCl (VCP_{NaCl}).

6 boîtes de pétri par traitement à raison de 50 graines par boîte sont utilisées pour chaque variété. Les boîtes de pétri sont incubées dans l'obscurité à 23°C.

Pour les deux expériences, le nombre de graines germées est déterminé quotidiennement pendant quatre jours. La graine est considérée comme germée lorsque la radicule perfore le tégument de la graine. Les paramètres de germination suivants sont déterminés :

-Germination totale (GT) mesurée le quatrième jour selon la formule

$$GT(\%) = (\text{nombre de graines germées} / \text{nombre total de graines}) \times 100$$

-Indice de germination (IG) est calculé selon A.O.A.S [300] suivant l'équation :

$$GI = \sum (N_i / T_i).$$

Avec T_i : nombre de jour après mise en germination, N_i : nombre de graines germées dans ce jour.

-La vitesse de germination exprimée par (T50) qui est le temps nécessaire pour la germination de 50% des graines est déterminée suivant Farooq et al. [301] selon la formule suivante :

$$T50 = t_i + ((N/2 - n_i) / (n_j - n_i)) \times (t_i - t_j)$$

Avec N est le nombre final de graines germées, n_i et n_j sont le nombre de graines germées au temps t_i et t_j , avec : $n_i < N/2 < t_i$

Pour chaque variété, le poids et la longueur des plantules (radicule +hypocotyle) sont

déterminés sur des plantules âgées de sept jours. Le poids sec est déterminé après incubation des plantules à 70°C pendant 48H.

Les analyses biochimiques sont réalisées sur des plantules âgées de sept jours.

4.3. Quantification de proline, MDA et éléments minéraux

4.3.1. La teneur en proline

La teneur en proline est quantifiée selon la méthode de Bates [297], 0,250 g de graines non traitées (UP), de graines traitées et séchées (VCPd) et les plantules de chaque traitement sont homogénéisés dans 10ml d'acide sulfosalicylique (3%) et centrifugés à 10000g pendant 10 mn. L'absorbance est mesurée au spectrophotomètre (Beckman DU 640) à 520 nm en utilisant la méthode au ninhydrine et une gamme étalon.

4.3.2. La teneur en MDA

Les MDA sont quantifiés dans les graines non traitées (UP), les graines traitées et séchées (VCPd) et les plantules des deux expériences selon la méthode de Heath & Packer [302]. 0,250 g d'échantillon sont homogénéisés dans 5ml d'acide trichloracétiques (TCA 5% w: v) et centrifugés à 12000g pendant 15 mn à 4°C. 2ml d'acide thiobarbiturique (TBA 0.67% w: v) sont ajoutés à 2 ml de surnagent, chauffés à 100°C et rapidement refroidis. L'absorbance est mesurée au spectrophotomètre (Beckman DU 640) à 532 nm et 600nm. Les MDA sont calculés à l'aide du coefficient d'extinction $155\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$.

4.3.3. La teneur en Na⁺ et K⁺

50-100 mg de matières sèches sont digérés dans 4ml d'HNO₃ (35%) à 80°C. Les résidus sont ensuite dissous dans de l'eau régale (HCL 37% : HNO₃ 0,67% 3 :1) et filtrés. Na⁺ et K⁺ sont quantifiés par mesure au spectrophotomètre à absorption atomique (ICE 3300 ; thermo Scientific ; Waltman, MA).

5. Traitement statistique

La distribution des échantillons selon la loi Normale ainsi que leur homogénéité sont vérifiés selon les tests Shpiro-Wilk et Levene's respectivement. Les résultats ont fait l'objet d'une analyse de la variance à un facteur (ANOVA) afin de déterminer l'effet des différents traitements au LVC sur les paramètres physiologiques et biochimiques de la tomate *Solanum lycopersicum* et du colza *Brassica napus* en condition de salinité. Lorsque l'analyse ANOVA est significative à un seuil de $p \leq 0,05$, les différences entre les moyennes des groupes sont scorées selon le test Student Newman Keuls (SNK). Les données sont présentées sous forme de

moyennes \pm les erreurs standards et sont analysées avec les logiciels SYSTAT vers 12 et XLSTAT vers 2016.

CHAPITRE III

RÉSULTATS

Chapitre III : Résultats

1. La caractérisation du lixiviat de vermicompost

Bien que les différentes réponses physiologiques induites par le LVC soient documentées, les données concernant les composés actifs présents dans ce produit sont limitées. On attribue l'effet stimulateur du vermicompost à la présence de macros et micro nutriments, de régulateurs de croissance telle que les phytohormones et d'autres composés actifs.

1.1. Les constituants du VCL

Le tableau III.1 regroupe les différents composants chimiques du LVC.

Constituants	LVC
pH	8,78
Densité	1,006
Activité antioxydante (FRAP) ($\mu\text{molTE/ml}$)	0,722
Polyphenols (mg/l)	46,04
Anthocyanes (mg/l)	8,474
Sucres solubles ($\mu\text{g/ml}$)	290
Polyamines (nmole/ml)	
Putrescines	8.84
Spermidines	12.91
Spermines	12.39
Éléments minéraux (mg/ml)	
Na ⁺	0,907
K ⁺	3,54
Mg ⁺²	0,158
Ca ⁺²	0,157

Tableau III.1. La composition chimique du LVC obtenu par le processus du vermicompostage des déchets ménagers. Les résultats représentent les moyennes de 3 répétitions.

En plus de ces composants, d'autres composés sont analysés pour le même produit par [303] à savoir, les acides humiques (678mg/l), C-glycosides (89mg/l), N (21 mg/l) et P (4,7mg/l).

1.2. Quantification des phytohormones

Sous les conditions optimales de HPLC-MS/MS, différentes classes de phytohormones ont été identifiées à des proportions différentes (Fig. III.1)

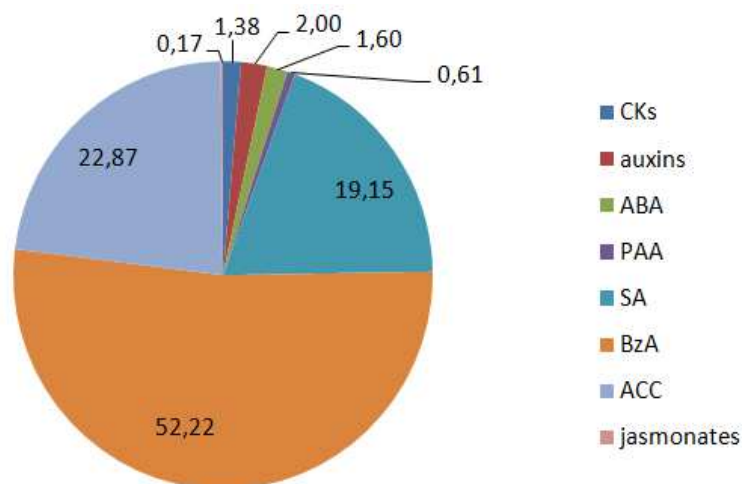


Figure III.1. Les phytohormones (%) quantifiées dans le LVC obtenu par le processus du vermicompostage de déchets ménagers. Cytokinines (CKs), acide abscissique (ABA), acide phenylacetique (PAA), acide salicylique (SA), acide benzoïque (BzA), Acide 1-aminopropane-1-carboxylique (ACC) et Jasmonates (JA).

1.2.1. Concentration en Cytokinines (CKs)

Quatre types de Cytokinines sont mis en évidence dans le LVC : trans-Zeatin types (tZ-types), cis-Zeatin types (cZ-types), Dihydrozeatin types (DHZ-types) et les iP-types. En termes d'abondance des CKs, on trouve tZ > cZ > iP > DHZ (Tableau III.2). Parmi les CKs quantifiées, les trans-Zeatin types (tZ-types) représentent la majeure (49,20%) proportion, tandis que les DHZ-types représentent la plus faible (5,63%) concentration (Tableau III.2). En se basant sur la fonction physiologique des CKs, on trouve O-Glucosides > N7et N9 Glucosides > les bases libres > Nucléotides > Ribosides à des taux de 66,11%, 12,5%, 11,58%, 5,29%, 4,53% respectivement.

Cytokinines	tz- types	cis z-types	DHZ-types	iP-types				
	transZ7G	0,28	cisZ	0,65	DHZ	0,40	iP	0,33
	transZ9G	0,94	cisZR	0,23	DHZ7G	0,27	iPR	0,31
	transZROG	2,94	cisZOG	0,53			iPRMP	0,21
	trans ZROG	1,47	cisZROG	2,94				
	transZRMP	0,23	cisZRMP	0,19				
Total		5,86		4,54		0,67		0,85

Tableau III.2. Les Cytokinines (pmol/ml) quantifiées dans le LVC obtenu par le processus du vermicompostage de déchets ménagers.

1.2.2. Concentration en auxines

L'analyse du LVC a permis de quantifier 4 formes d'auxines, avec l'acide indole-3-acétique (IAA) comme composé majoritaire (10,39 pmol/ml) (Tableau III.3).

AUXINES	(pmol/ml)
IAA	10,39
IAA-Asp	0,54
IA-GLU	0,32
OxIAA	5,96
Total Auxines	17,20

Tableau III. 3. Les auxines (pmol/ml) quantifiées dans le LVC obtenu par le processus du vermicompostage de déchets ménagers

1.2.3. Concentration en ABA, JA, BzA, ACC, SA et PAA

D'autres phytohormones sont positivement identifiées dans le LVC, à savoir l'acide abscissique (ABA), l'acide jasmonique (JA), l'acide salicylique (SA), l'acide benzoïque (BzA), l'acide phénylacétique (PAA) et l'acide 1-aminocyclopropane-1-carboxylique (ACC) à des concentrations très variées, avec comme composé majoritaire, l'acide benzoïque et comme composé minoritaire, l'acide jasmonique (Tableau III.4).

Phytohormone quantifiée	pmol/ml
Acide abscissique et métabolites (ABA)	13,74
Jasmonates (JA)	1,46
Acide phénylacétique (PAA)	5,24
Acide salicylique (SA)	164,89
Acide benzoïque (BzA)	449,73
Acide 1-aminopropyl-1-carboxylique (ACC)	196,99

Tableau III.4. Les phytohormones (ABA, JA, PAA, SA, BzA et ACC) quantifiées dans le LVC obtenu par le processus du vermicompostage de déchets ménagers

2. Impact des différents modes d'application du vermicompost (LVC) sur la résistance de la tomate (*Solanum lycopersicum* cv. Ailsa Craig) à la salinité

2.1. Impact de l'application du vermicompost après exposition des plantes à la salinité (phase de récupération)

2.1.1. La croissance des plantes

L'application du LVC n'a aucun effet sur tous les paramètres de croissance chez les plantes traitées par rapport aux plantes contrôles. En revanche, l'arrêt du stress salin en présence ou en absence de vermicompost permet à la plante de récupérer de façon similaire (Fig. III.2).

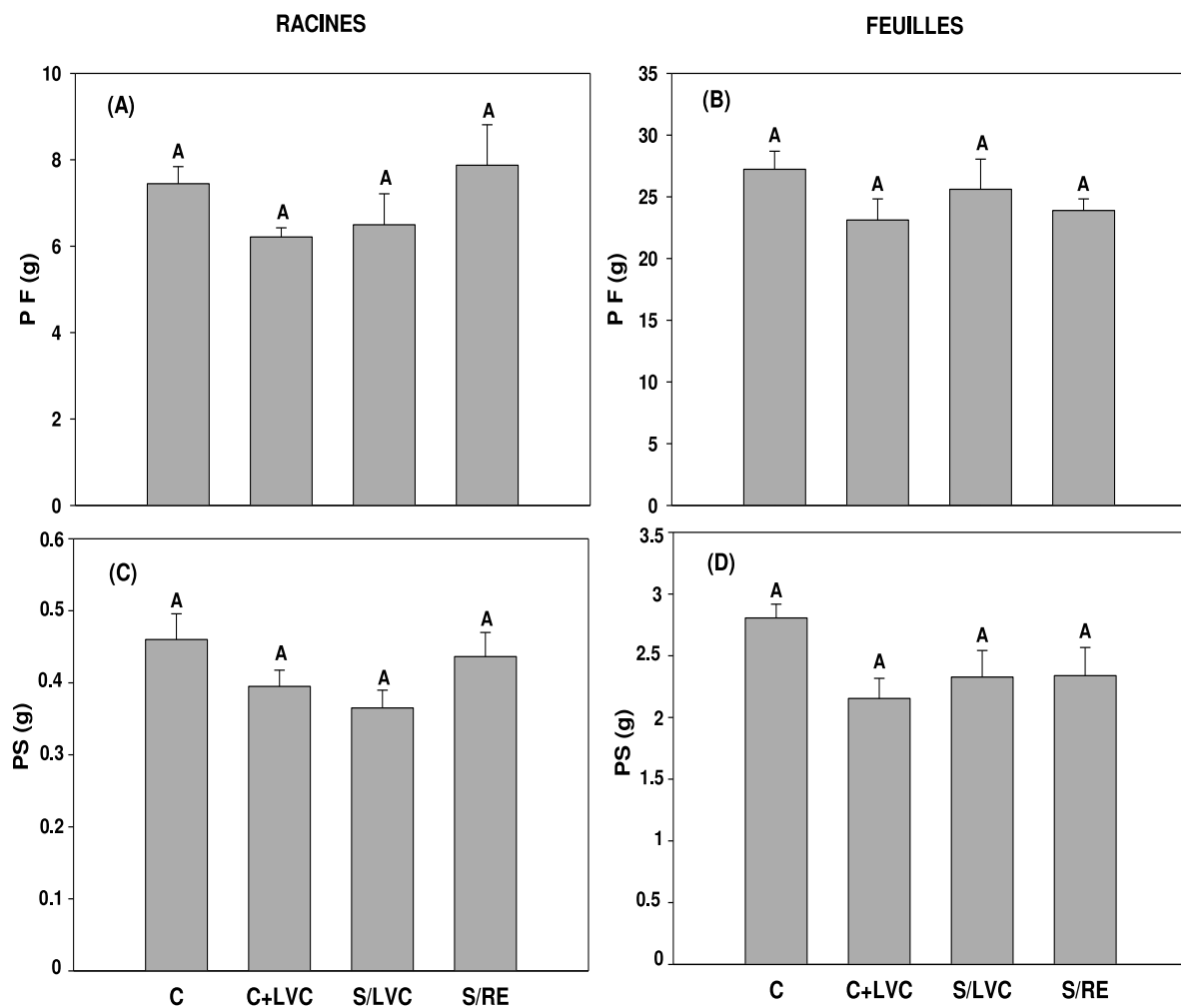


Figure III.2. Effet de l'arrêt du stress avec ou sans l'application de LVC pendant 7 jours sur les poids frais et sec des racines (a et c) et des feuilles (b et d) de plants de *Solanum lycopersicum* cv Ailsa Craig ayant subi un stress de 7 jours. Les résultats représentent les moyennes de 6 répétitions \pm erreurs standards. Les lettres indiquent les différences significatives à $P < 0,05$ selon le test Student-Newman-Keuls.

2.1.2. La teneur en eau

Le vermicompost n'a aucun effet significatif sur la teneur en eau des racines et des feuilles. La teneur en eau des plantes stressées et ensuite traitées au LVC est similaire à celle des plantes stressées et pour lesquelles on a levé le stress.

Le potentiel osmotique racinaire demeure faible, comparé aux conditions contrôle, même après l'arrêt du stress, tandis que l'apport du LVC n'a aucun effet significatif sur le Ψ_s . Au niveau des feuilles, l'application du LVC sur des plantes stressées réduit le Ψ_s , qui est encore réduit d'avantage lors de l'arrêt du stress (Tableau III. 5).

	Racines	Feuilles
TE (%)		
Contrôle	93,8 ± 0,004 a	89,6 ± 0,005 a
Contrôle+LVC	93,7 ± 0,002 a	90,7 ± 0,002 a
NaCl/LVC	94,3 ± 0,003 a	90,9 ± 0,005 a
NaCl/RE	94,4 ± 0,004 a	90,2 ± 0,007 a
Ψ_s(Mpa)		
Contrôle	- 0,674 ± 0,044 a	- 0,775 ± 0,025 a
Contrôle+LVC	- 0,705 ± 0,047 a	- 0,736 ± 0,025 a
NaCl/LVC	- 0,792 ± 0,069 a	- 0,820 ± 0,010 ab
NaCl/RE	-0,921 ± 0,030 b	- 0,945 ± 0,065 b

Tableau III.5. La teneur en eau (TE) et le potentiel osmotique (Ψ_s) des racines et des feuilles de plants de *Solanum lycopersicum* cv Ailsa Craig ayant subi un stress (150mM NaCl) de 7jours suivi d'un arrêt de stress avec ou sans l'application de LVC pendant 7jours. Les résultats représentent les moyennes de 6 répétitions ± erreurs standards. Les lettres indiquent les différences significatives à $P < 0,05$ selon le test Student-Newman-Keuls

2.1.3. Les échanges gazeux et La conductance stomatique

L'arrêt du stress avec ou sans l'application de LVC ont le même effet sur les valeurs de la photosynthèse nette (A), la transpiration instantanée (E) et la concentration interne du CO₂ (ci), qui sont similaires à celles des plantes contrôles. (Figure III.3 b, c et d). La salinité réduit les valeurs de la conductance stomatique, ces valeurs restent faibles malgré l'arrêt du stress. En revanche, l'application du LVC après l'arrêt du stress salin permet d'augmenter la conductance stomatique chez les plantes exposées à la salinité (Fig. III.3a).

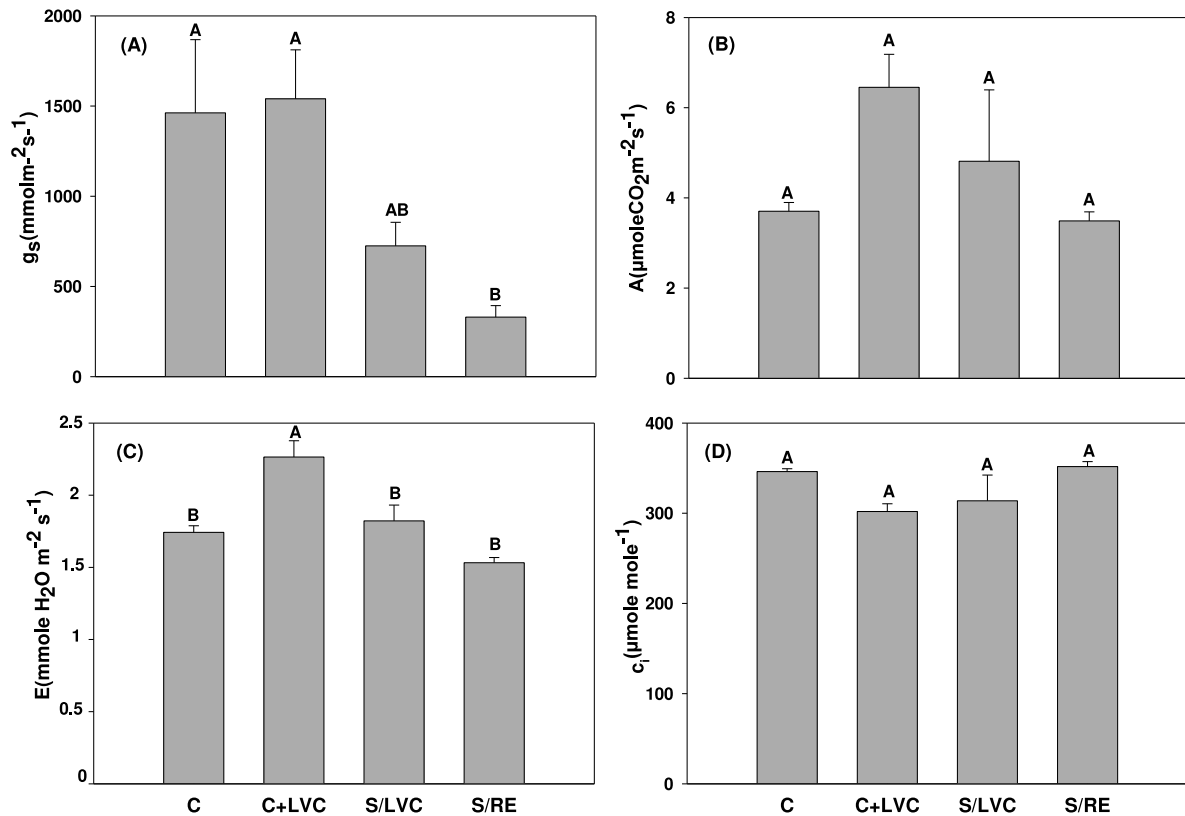


Figure III.3. Effet de l'arrêt du stress avec ou sans l'application de LVC pendant 7 jours sur la conductance stomatique (g_s) (a), la photosynthèse nette (A), la transpiration instantanée (E), la concentration en CO_2 interne (c_i) (b, c et d) chez des plants de *Solanum lycopersicum* cv Ailsa Craig stressés durant 7 jours. Les résultats représentent les moyennes de 6 répétitions \pm erreurs standards. Les lettres indiquent les différences significatives à $P < 0,05$ selon le test Student-Newman-Keuls.

2.1.4. Les paramètres liés à la photosynthèse

La mesure de la fluorescence chlorophyllienne est une technique qui permet d'évaluer l'activité photosynthétique et ainsi de révéler la présence d'un stress.

Les paramètres mesurés sont :

- ϕPSII : ce paramètre dépend de la fraction PSII et traduit l'efficacité de PSII à utiliser l'énergie lumineuse.

- Le ratio F_v/F_m : traduit l'efficacité du PSII à utiliser la lumière pour la conversion photochimique. C'est un indicateur sensible des performances photosynthétiques.

- qp : ce paramètre permet d'estimer la concentration relative des centres ouverts et ainsi de déterminer la capacité des PSII à atténuer la fluorescence par leurs capacités à initier le processus photochimique.

- NPQ : évalue la mise en place des mécanismes de photoprotection se traduisant par la dissipation de l'énergie en excès sous forme de chaleur.

Les paramètres de la fluorescence chlorophyllienne chez les plantes stressées et traitées au LVC et les plantes stressées et pour lesquelles on a levé le stress sont similaires et proches des valeurs enregistrées chez les plantes contrôle (Tableau III.6)

Fv/Fm		φPSII	
Contrôle	0,874 ± 0,003 a	Contrôle	0,828 ± 0,010 a
Contrôle+LVC	0,867 ± 0,003 a	Contrôle+LVC	0,833 ± 0,001 a
NaCl/LVC	0,868 ± 0,003 a	NaCl/LVC	0,828 ± 0,002 a
NaCl/REC	0,871 ± 0,004 a	NaCl/REC	0,829 ± 0,005 a
qP		NPQ	
Contrôle	0,972 ± 0,01 a	Contrôle	0,175 ± 0,017 a
Contrôle+LVC	0,981 ± 0,005 a	Contrôle+LVC	0,134 ± 0,028 a
NaCl/LVC	0,975 ± 0,005 a	NaCl/LVC	0,145 ± 0,033 a
NaCl/REC	0,990 ± 0,018 a	NaCl/REC	0,258 ± 0,068 a

Tableau III.6. Les valeurs de la fluorescence chlorophyllienne chez les plants de *Solanum lycopersicum* cv Ailsa Craig ayant subi un stress (150mM NaCl) de 7jours suivi d'un arrêt de stress avec ou sans l'application de LVC pendant 7jours. Les résultats représentent les moyennes de 6 répétitions ± erreurs standards. Les lettres indiquent les différences significatives à $P < 0,05$ selon le test Student-Newman-Keuls Fv/Fm : efficacité maximale du PSII, NPQ : quenching non photochimique qp : quenching photochimique, φPSII : efficacité du photosystème II.

2.2. Impact de l'application du vermicompost en prétraitement (préventif) et en concomitance avec le stress salin

2.2.1. La croissance de la plante

La salinité induit une réduction significative du poids frais des racines et des feuilles. L'application du LVC en absence du sel n'a pas d'impact sur ces paramètres, par contre l'application du LVC avant et durant exposition des plantes au NaCl abolit l'effet délétère du stress salin sur le poids frais. La salinité n'affecte pas le poids sec des racines, mais réduit clairement celui des feuilles. Encore une fois, l'application du LVC permet de stopper l'inhibition de la croissance des feuilles et

aucune différence n'est enregistrée entre les deux modalités d'application du LVC (avant et pendant le stress) (Fig. III.4).

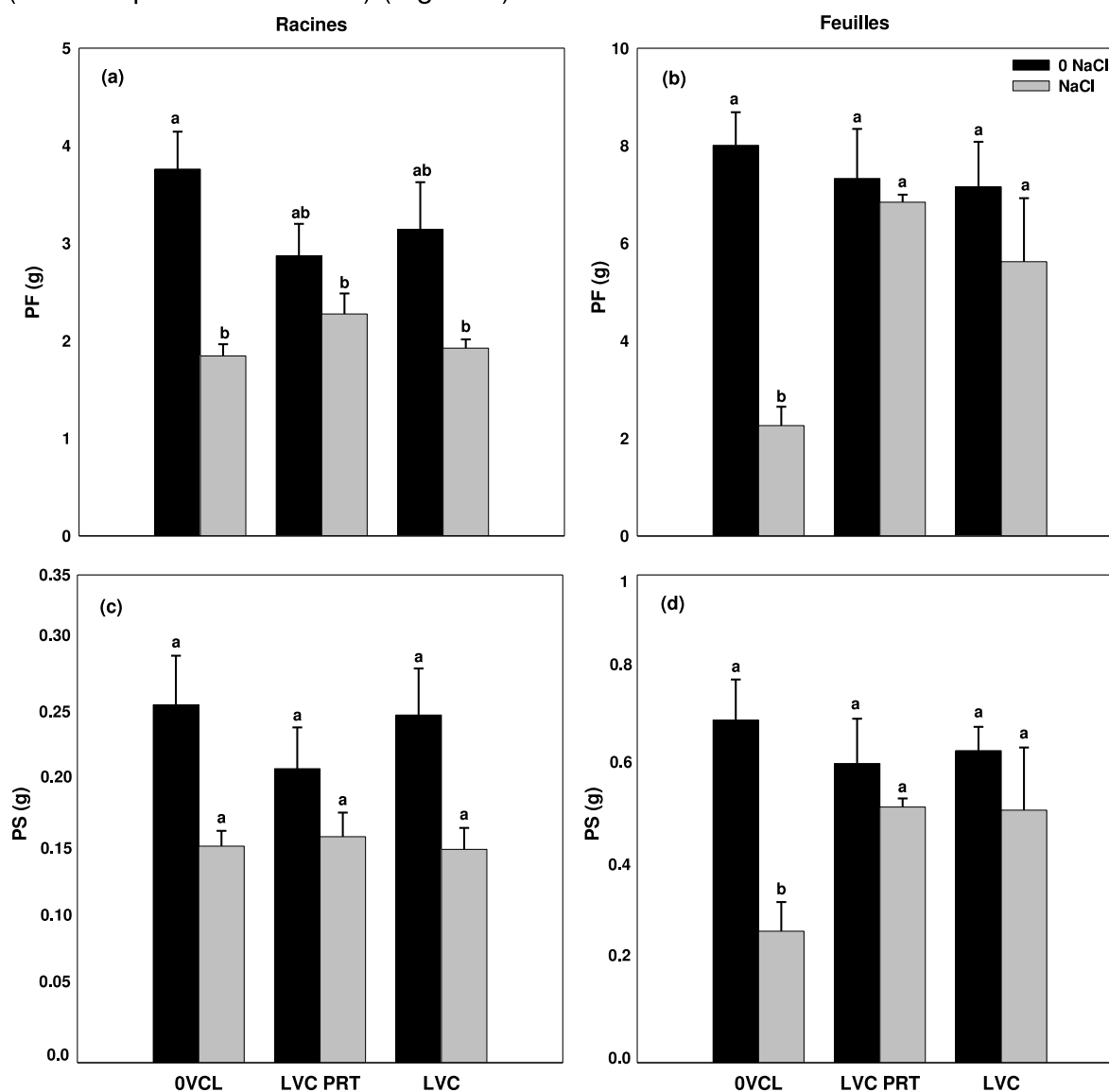


Figure III.4. Effet de l'application du vermicompost en prétraitement ou en concomitance avec le stress salin sur le poids frais et le poids sec des racines (a et c) et des feuilles (b et d) de plants de *Solanum lycopersicum* cv Ailsa Craig exposés au stress salin pendant 7 jours. Les résultats représentent les moyennes de 6 répétitions \pm erreurs standards. Les lettres indiquent les différences significatives à $P < 0,05$ selon le test Student-Newman-Keuls.

2.2.2. Le statut hydrique

Ni le NaCl, ni le LVC n'ont un effet significatif sur la teneur en eau des racines. La salinité réduit significativement la teneur en eau des feuilles, tandis que la teneur en eau (TE) des plantes traitées au LVC avant et pendant l'exposition au stress salin est similaire à celle des plantes non stressées. Le stress salin réduit le potentiel osmotique (Ψ_s) des racines et des feuilles comparées aux plantes contrôles.

L'application du LVC réduit le Ψ_s racinaire chez les plantes exposées au NaCl. Cette réduction est plus marquée pour les plantes prétraitées au LVC ensuite exposées au NaCl, que les plantes traitées et exposées au stress au même temps.

Pour les feuilles, le prétraitement des plantes exposées au NaCl diminue le Ψ_s , alors que l'application en concomitance du LVC et le NaCl n'a pas d'impact sur le Ψ_s . (Tableau III.7).

	Racines		Feuilles	
	0NaCl	NaCl	0NaCl	NaCl
TE (%)				
0 LVC	93,25 ± 0,456 a	91,56 ± 0,406 a	91,27 ± 0,598 a	88,30 ± 0,745 b
LVC PRT	92,66 ± 0,38 a	92,90 ± 0,158 a	91,63 ± 0,498 a	92,32 ± 0,352 a
LVC	91,97 ± 0,256 a	92,05 ± 0,703 a	90,87 ± 0,598 a	90,85 ± 0,512 a
Ψ_s (MPa)				
0 LVC	-0,447 ± 0,013 a	-0,745 ± 0,020 b	-0,695 ± 0,019 a	-0,993 ± 0,029 c
LVC PRT	-0,417 ± 0,018 a	-0,898 ± 0,021 d	-0,783 ± 0,022 b	-1,215 ± 0,021 d
LVC	-0,46 ± 0,029 a	-0,822 ± 0,024 c	-0,668 ± 0,014 a	-1,040 ± 0,025 c

Tableau III.7. La teneur en eau (TE) et le potentiel osmotique (Ψ_s) des racines et des feuilles de plants de *Solanum lycopersicum* cv Ailsa Craig exposés au stress salin (150mM NaCl) durant 7 jours en présence ou en absence de LVC appliqué en prétraitement et en simultané avec le stress. Les résultats représentent les moyennes de 6 répétitions ± erreurs standards. Les lettres indiquent les différences significatives à $P < 0,05$ selon le test Student-Newman-Keuls.

2.2.3. Échanges gazeux et la conductance stomatique

La salinité réduit aussi bien la photosynthèse nette (A) que la transpiration instantanée (E), et seulement l'application du LVC comme prétraitement permet de réduire l'effet négatif du NaCl. Le stress salin n'a pas d'effet significatif sur les valeurs de la concentration en CO₂ interne (c_i) chez les plantes non traitées au LVC, alors qu'il réduit significativement ce paramètre en présence de LVC (Fig. III.5.b.c.d).

La salinité réduit les valeurs de la conductance stomatique (g_s). En présence de NaCl, l'application du LVC augmente g_s . Cette augmentation est plus marquée lorsque le LVC est appliqué comme prétraitement, que lorsqu'il est appliqué en concomitance avec le NaCl (Fig. III.5a).

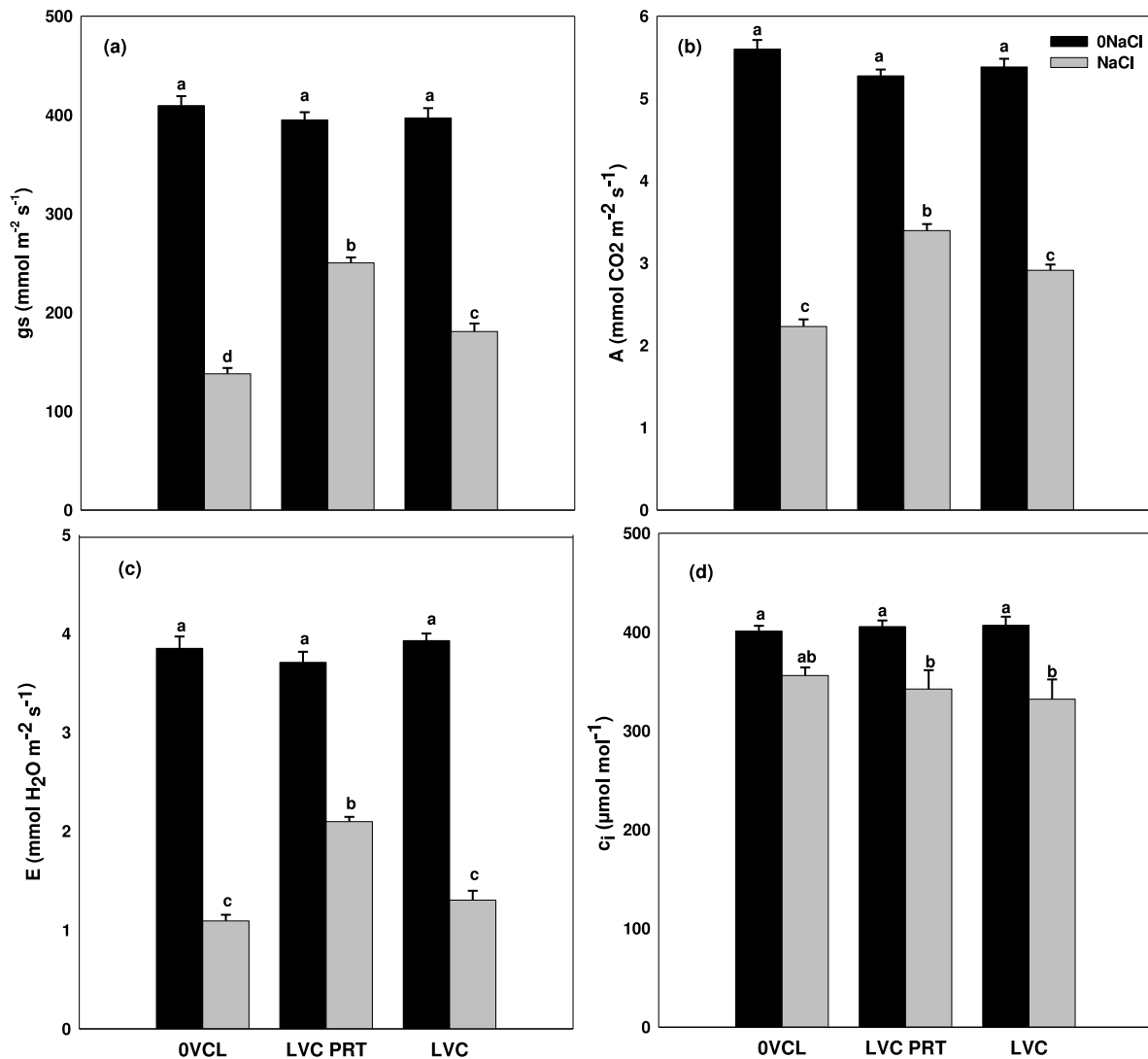


Figure III.5. effet de l'application du vermicompost en prétraitement et en concomitance avec le stress salin sur la photosynthèse nette (A), la transpiration instantanée (E), la concentration en CO₂ interne (ci) (b, c et d) et la conductance stomatique (gs) (a) chez *Solanum lycopersicum* cv Ailsa Craig exposés au stress salin pendant 7 jours. Les résultats représentent les moyennes de 6 répétitions ± erreurs standards. Les lettres indiquent les différences significatives à $P < 0,05$ selon le test Student-Newman-Keuls.

2.2.4. Les paramètres liés à la photosynthèse

La mesure de la fluorescence chlorophyllienne est une technique qui permet d'évaluer l'activité photosynthétique et ainsi de révéler la présence d'un stress. Les valeurs de Fv/Fm et qp sont réduites en réponse au stress salin. Le prétraitement au LVC abolit l'effet délétère du stress salin sur ces paramètres, tandis que l'application concomitante du LVC et du NaCl montre un comportement intermédiaire. La salinité augmente le NPQ en absence de LVC. Cependant, le prétraitement de la plante au

LVC réduit fortement l'augmentation du NPQ induite par le NaCl, alors que l'application conjuguée du LVC et du NaCl a un impact positif plus limité.

Les plantes exposées au stress salin montrent des valeurs réduites de ϕ PSII, tandis que ces valeurs restent plus élevées chez les plantes prétraitées au LVC et exposées au NaCl (Tableau III.8).

	0NaCl	+NaCl		0NaCl	+NaCl
Fv/Fm			NPQ		
0LVC	0,854 ± 0,002 a	0,804 ± 0,003 c	0VCL	0,229 ± 0,028 c	0,557 ± 0,030 a
LVC RT	0,857 ± 0,003 a	0,859 ± 0,002 a	LVC RT	0,191 ± 0,017 c	0,241 ± 0,011c
LVC	0,856 ± 0,005 a	0,823 ± 0,002 b	LVC	0,243 ± 0,009 c	0,452 ± 0,029 b
qp			ϕPSII		
0 LVC	0,981 ± 0,009 ab	0,938 ± 0,001 c	0VCL	0,858 ± 0,013 b	0,793 ± 0,008 d
LVC RT	0,996 ± 0,003 a	0,985 ± 0,004 ab	LVC RT	0,898 ± 0,007a	0,857 ± 0,008 b
LVC	0,995 ± 0,003 ab	0,971 ± 0,001 b	LVC	0,880 ± 0,004 ab	0,822 ± 0,002 c

Tableau III.8. Les valeurs de la fluorescence chlorophyllienne chez *Solanum lycopersicum* cv Ailsa Craig exposés au stress salin (150mM NaCl) durant 7 jours en présence ou en absence de LVC appliqué en prétraitement et en simultanément avec le stress. Les résultats représentent les moyennes de 6 répétitions ± erreurs standards. Les lettres indiquent les différences significatives à $P < 0,05$ selon le test Student-Newman-Keuls. Fv/Fm : efficacité maximale du PSII, NPQ : quenching non photochimique qp : quenching photochimique, ϕ PSII : efficacité du photosystème II

2.2.5. La production de solutés solubles

L'ajustement osmotique est une technique de résistance au stress salin qui consiste en la diminution du potentiel osmotique par l'accumulation de solutés compatibles [304], ceci permet à la plante de maintenir un gradient de potentiel hydrique favorable et d'absorber l'eau pour le maintien de la turgescence [305].

2.2.5.1. La teneur en proline

En absence de NaCl, le traitement au LVC n'a pas d'effet sur la concentration en proline au niveau des deux compartiments (racines et feuilles). La salinité induit une augmentation visible de la teneur en proline au niveau des racines et des feuilles, cette augmentation est plus marquée chez les plantes stressées et traitées au LVC. L'application du LVC comme prétraitement (avant stress), a un impact plus important sur la teneur en proline des feuilles comparé à son application au moment du stress. (Fig. III.6 a et b).

2.2.5.2. La teneur en sucres totaux

Chez les plantes non stressées, l'application exogène du LVC augmente la concentration en sucres solubles au niveau des racines, mais n'a pas d'impact sur ce paramètre au niveau des feuilles. La salinité augmente la concentration en sucres racinaires, particulièrement chez les plantes prétraitées au LVC. En revanche, l'application du LVC n'a pas d'effet sur la teneur des feuilles en sucres chez les plantes exposées au stress salin (Fig. III.6 c et d).

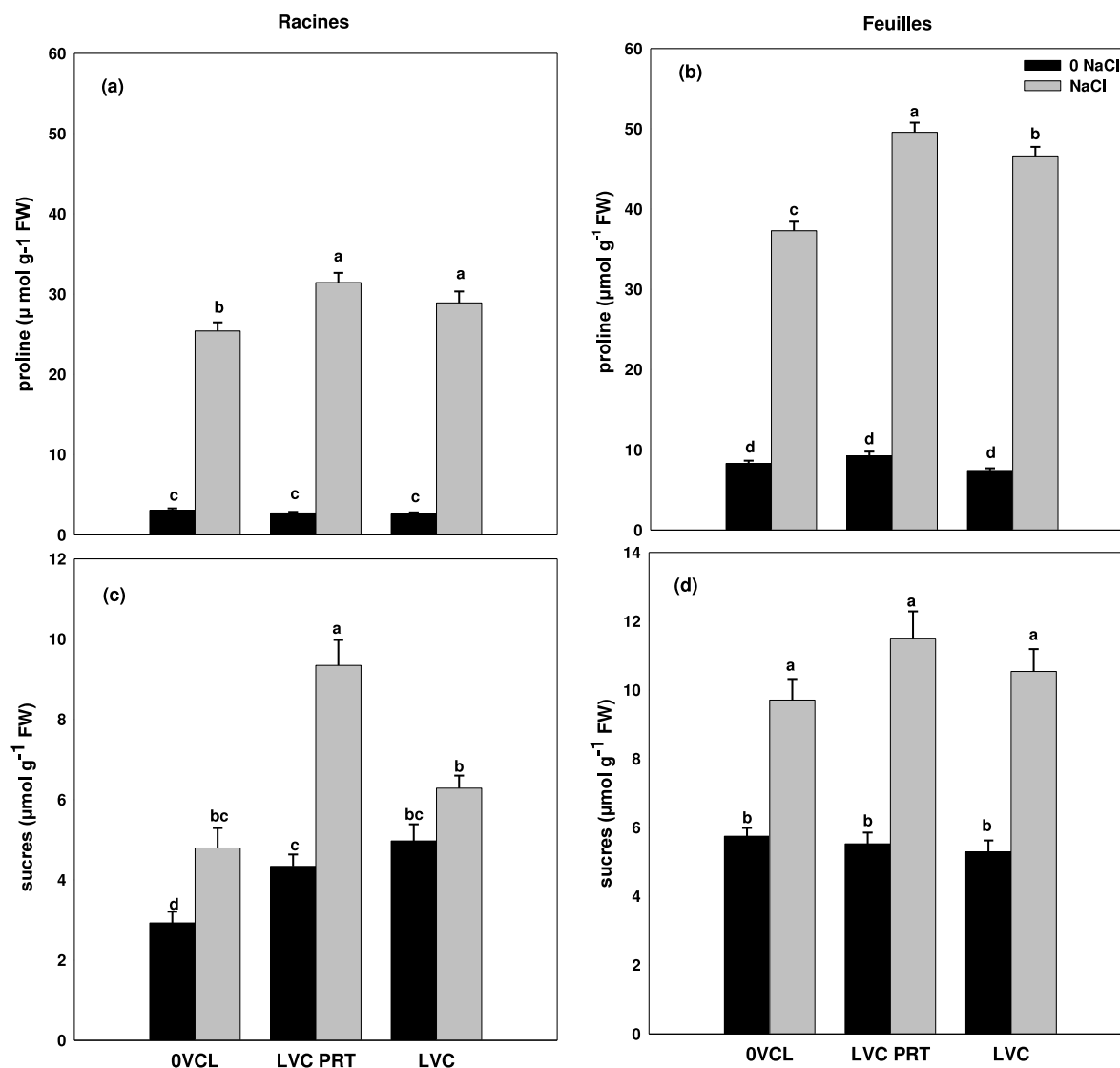


Figure III.6. Effet de l'application du vermicompost en prétraitement ou en concomitance avec le stress salin sur la teneur en proline et en sucres totaux des racines (a et c) et des feuilles (b et d) de plants de *Solanum lycopersicum* cv Ailsa Craig exposés au stress salin pendant 7 jours. Les résultats sont présentés sous forme de moyennes \pm erreurs standards. Les lettres indiquent les différences significatives à $P < 0,05$ selon le test Student-Newman-Keuls.

2.2.6. Teneurs en Na⁺, K⁺

En absence de NaCl, les teneurs en Na⁺, K⁺ restent faibles et l'application du LVC n'a pas d'effet sur ces paramètres. La salinité induit une augmentation de la concentration en Na⁺ au niveau des racines. En présence de NaCl, l'application du LVC comme prétraitement diminue la concentration en Na⁺, alors que son application en concomitance avec le NaCl l'augmente. Tandis qu'au niveau des feuilles, les deux modalités d'application du LVC réduisent significativement l'accumulation du Na⁺ (Fig. III.7 a et b).

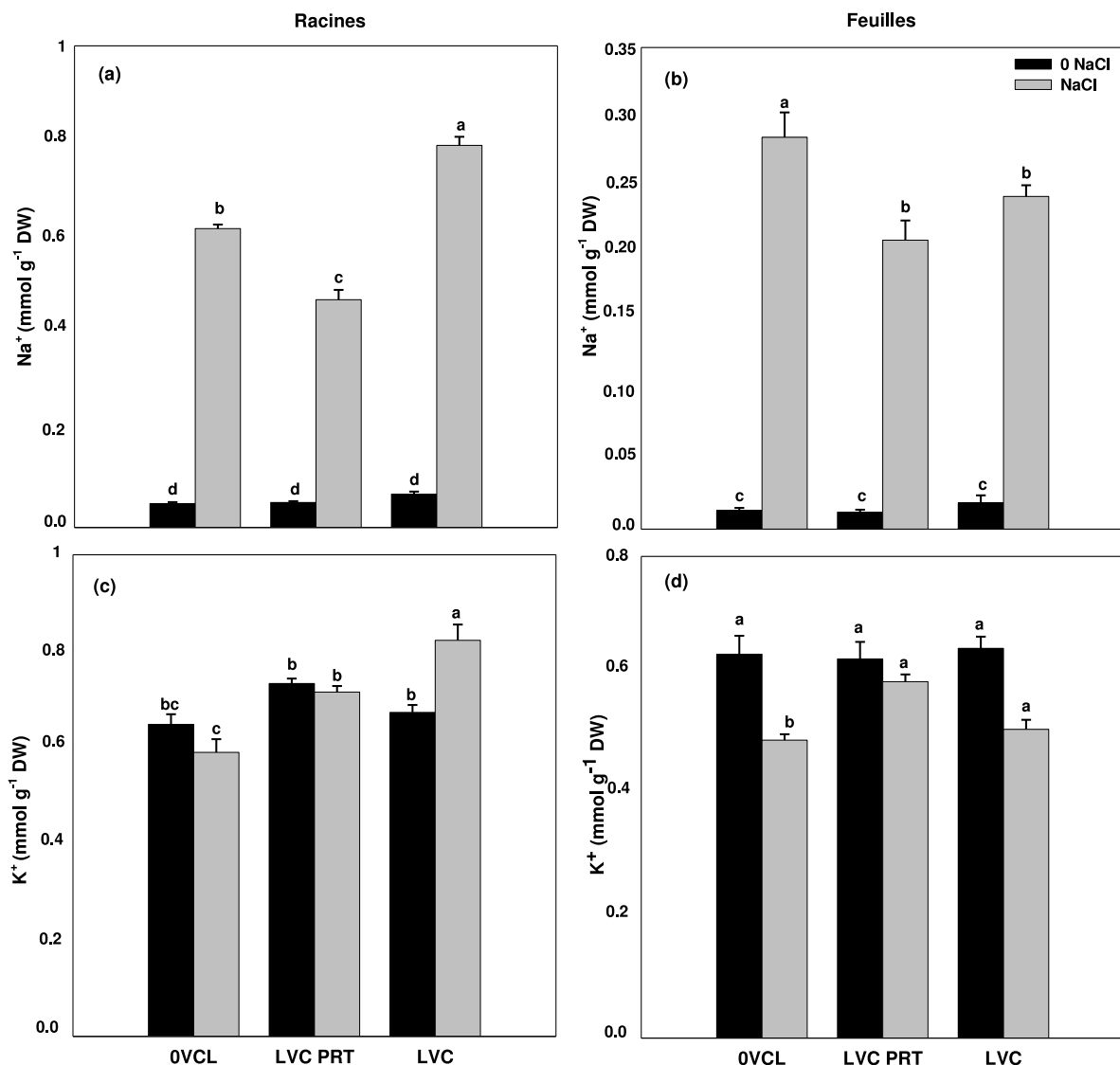


Figure III.7. Effet de l'application du vermicompost en prétraitement et en concomitance avec le stress salin sur les teneurs en Na⁺ et K⁺ des racines (a et c) et des feuilles (b et d) de plants de *Solanum lycopersicum* cv Ailsa Craig exposés au stress salin pendant 7 jours. Les résultats sont présentés sous forme de moyennes ± erreurs standards. Les lettres indiquent les différences significatives à $P < 0,05$ selon le test Student-Newman-Keuls.

La salinité réduit significativement la concentration en K^+ au niveau des feuilles et légèrement au niveau des racines. Chez les plantes stressées, le prétraitement au LVC augmente la teneur en K^+ au niveau des feuilles, alors que l'application du LVC au même temps que le stress salin augmente la teneur en K^+ au niveau racinaire (Fig. III.7 c et d).

3. Le profil hormonal de *Solanum lycopersicum* cv. Ailsa Craig traitée au LVC et exposée au stress salin en relation avec la synthèse de proline, la réduction de Na^+ et l'accumulation de K^+ , Mg^{+2} et Ca^{+2} .

En dépit des gibbérellines (GAs) qui n'ont pas été détectées dans notre LVC, différentes classes de phytohormones à différentes concentrations ont été positivement identifiées et quantifiées dans la présente approche. L'acide benzoïque (BzA) représentait la concentration la plus élevée (449 pmol /ml) tandis que les jasmonates la plus faible (1,46 pmol / ml).

En réponse à une hypothèse stipulant la capacité des phytohormones présentes dans le LVC à modifier le phénotype de la plante en réponse à une contrainte saline, en modulant la balance ou le statut hormonal de la plante, nous avons quantifié l'accumulation endogène d'un spectre hormonal chez les plantes de tomate traitées au LVC et exposées au NaCl.

3.1. Les paramètres de croissance et le statut hydrique

La salinité réduit significativement les poids frais et sec des parties aérienne et racinaire de la tomate, comparées aux plantes en condition de contrôle (i.e. en absence de NaCl), tandis que l'application du LVC permet de lever cette contrainte pondérale (Fig III.8.). La teneur en eau des racines et des feuilles, jeunes et vieilles, n'est affectée par aucun traitement (Tableau III.9.). La salinité réduit le potentiel osmotique (Ψ_s) des racines et des feuilles, tandis que l'application du LVC réduit d'avantage le Ψ_s des racines, sans affecter celui des feuilles F 2-3 et les feuilles F 5-6 (Tableau III.9.).

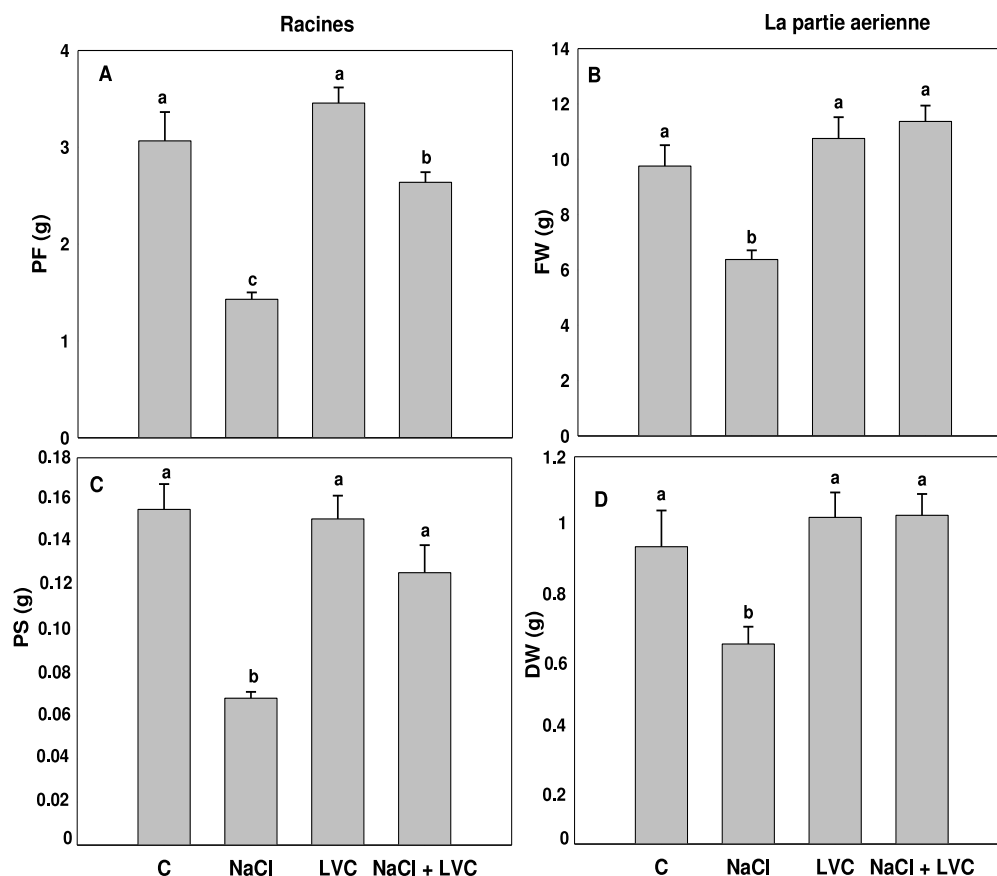


Figure III.8. Effet du LVC sur le poids frais (A et B) et le poids sec (C et D) des racines (A et C) et la partie aérienne (B et D) des plants de *S.lycopersicum* cv. Ailsa Craig exposés à 125 mM de NaCl pendant 7 jours. Les résultats sont présentés sous forme de moyennes \pm erreurs standards. Les lettres indiquent les différences significatives à $P < 0,05$ selon le test Student-Newman-Keuls.

	Racines	F 2 - 3	F 5 - 6
TE (%)			
Control	93,8 \pm 0,001 a	88,9 \pm 0,005 a	87,6 \pm 0,006 a
NaCl	94,8 \pm 0,003 a	89,5 \pm 0,005 a	89,3 \pm 0,003 a
LVC	94,2 \pm 0,0004 a	90,6 \pm 0,006 a	89,5 \pm 0,006 a
NaCl + LVC	94,8 \pm 0,002 a	90,4 \pm 0,005 a	88,5 \pm 0,003 a
Ψ_s (Mpa)			
Control	-0,434 \pm 0,014 a	-0,767 \pm 0,004 a	-0,747 \pm 0,021 a
NaCl	-0,804 \pm 0,047 b	-1,030 \pm 0,041 b	-1,077 \pm 0,009 b
LVC	-0,445 \pm 0,047 a	-0,736 \pm 0,027 a	-0,748 \pm 0,021 a
NaCl + LVC	-1,005 \pm 0,007 c	-1,041 \pm 0,041 b	-1,022 \pm 0,015 b

Tableau III.9. Effet du LVC sur la teneur en eau (TE) et le potentiel osmotique (Ψ_s) des racines, les feuilles F 2-3 et les feuilles F 5-6 des plants de *S.lycopersicum* cv. Ailsa Craig exposés à 125 mM de NaCl pendant 7 jours. Les résultats sont présentés sous forme de moyennes \pm erreurs standards. Les lettres indiquent les différences significatives à $P < 0,05$ selon le test Student-Newman-Keuls.

3.2. La teneur en proline

Le traitement au NaCl a augmenté l'accumulation de la proline dans les racines et les feuilles. La concentration en proline est d'environ 2 et 4 fois plus élevée dans les racines et les feuilles F 5-6 respectivement (Fig III.9.A et C) que dans les feuilles F 2-3 (Fig III.9.B). Cependant, le LVC appliqué en présence de sel a augmenté la concentration en proline d'environ 1,5 à 2 fois dans les feuilles F 5-6 et F 2-3 respectivement (Fig III.9.C et B) comparées aux plantes traitées au sel, tandis que le taux de proline racinaire est resté constant (Fig III.9.A).

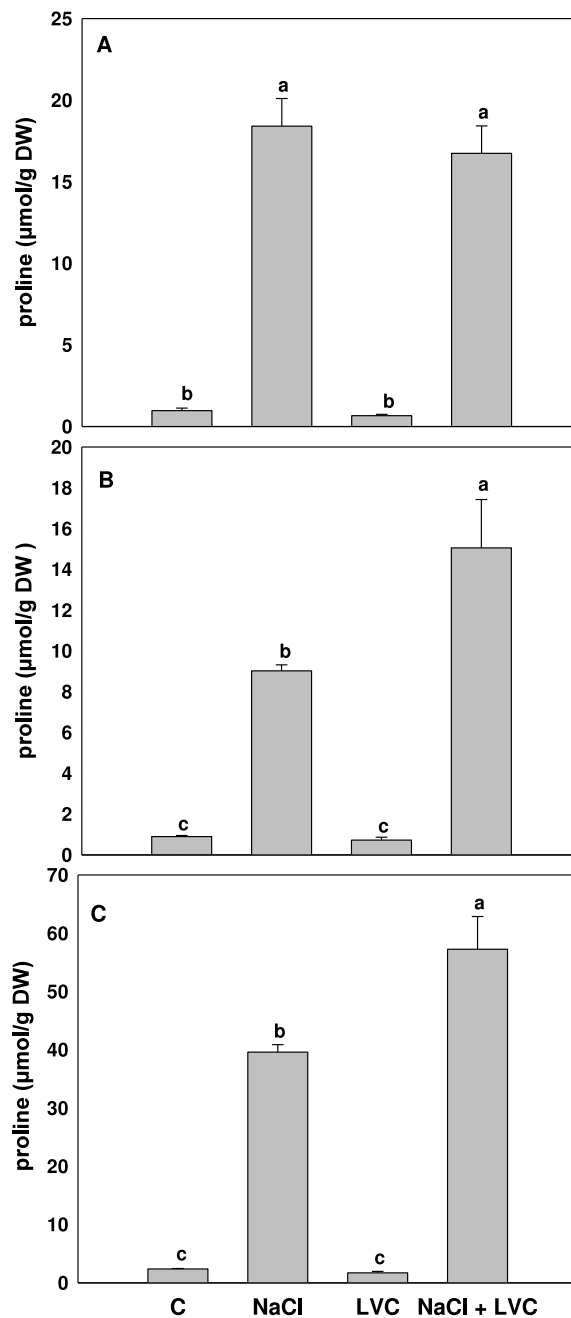


Figure III.9. Effet du LVC sur la teneur en proline des racines (A), les feuilles F 2-3 (B) et les feuilles F 5-6 (C) des plants de *S.lycopersicum* cv. Ailsa Craig exposés à 125 mM de NaCl pendant 7 jours. Les résultats sont présentés sous forme de moyennes \pm erreurs standards. Les lettres indiquent les différences significatives à $P < 0,05$ selon le test Student-Newman-Keuls.

3.3. Les teneurs en Na^+ , K^+ , Ca^{+2} et Mg^{+2}

La présence de NaCl dans le milieu de culture a induit une augmentation significative de Na^+ dans chaque organe (i.e. racine, F 2-3 et F 5-6). La concentration la plus élevée de Na^+ a été enregistrée dans les racines. Le LVC appliquée en

condition de salinité a augmenté la concentration en Na⁺ au niveau des racines et l'a diminuée dans les feuilles, en particulier dans les feuilles F 5-6. La salinité a diminué l'accumulation de potassium quel que soit l'organe. Cette diminution a été supprimée lorsque nous avons apporté le LVC. Ce dernier a amélioré l'accumulation du K⁺ en présence de NaCl. La plus forte accumulation de K⁺ a été observée chez les plantes traitées au LVC en conditions de contrôle, en particulier dans les racines (Tableau III.10.). Le stress salin a réduit l'accumulation de magnésium Mg⁺² dans les feuilles F 2-3 et n'a pas affecté celle des racines et des feuilles F 5-6. Le LVC appliquée en présence de NaCl a augmenté la concentration de Mg⁺² dans tous les organes. La concentration en calcium Ca⁺² a diminué au niveau des feuilles F 2-3 en réponse aux traitements NaCl, LVC et NaCl + LVC. Cependant, le LVC appliqué en présence ou en l'absence de NaCl n'a eu aucun impact sur la concentration en Ca⁺² des racines et des feuilles F 5-6 (Tableau III.10.).

	Racines	F 2-3	F 5-6
Na⁺ (mg/g DW)			
C	0,895 ± 0,254 b	0,302 ± 0,053 b	0,314 ± 0,053 b
NaCl	23,506 ± 2,836 a	17,003 ± 2,630 a	16,868 ± 3,643 a
LVC	3,466 ± 0,135 b	1,413 ± 0,038 b	3,930 ± 0,906 b
LVC+NaCl	30,689 ± 4,612 a	13,224 ± 0,804 a	4,389 ± 0,210 b
K⁺ (mg/g DW)			
C	56,357 ± 4,131 ab	25,794 ± 3,397 ab	22,039 ± 1,706 ab
NaCl	34,922 ± 3,523 c	19,255 ± 2,368 b	17,839 ± 0,789 b
LVC	70,101 ± 7,490 a	32,049 ± 2,374 a	34,327 ± 4,831 a
LVC+NaCl	48,986 ± 4,739 bc	26,612 ± 2,483 ab	22,456 ± 1,589 ab
Mg⁺² (mg/g DW)			
C	3,528 ± 0,087 b	1,787 ± 0,187 b	1,392 ± 0,018 b
NaCl	3,417 ± 0,287 b	1,194 ± 0,164 c	1,225 ± 0,069 b
LVC	3,924 ± 0,085 ab	2,838 ± 0,148 a	2,158 ± 0,129 b
LVC+NaCl	4,375 ± 0,167 a	1,358 ± 0,025 bc	1,656 ± 0,287 ab
Ca⁺² (mg/g DW)			
C	4,583 ± 1,020 a	27,848 ± 0,0557 a	4,865 ± 1,004 a
NaCl	3,318 ± 0,323 a	21,045 ± 1,091 ab	5,812 ± 0,503 a
LVC	5,764 ± 0,129 a	25,913 ± 2,846 ab	9,628 ± 2,438 a
LVC+NaCl	3,997 ± 0,284 a	19,196 ± 1,324 b	8,767 ± 2,124 a

Tableau III.10. Effet du LVC sur la teneur en Na⁺, K⁺, Ca⁺² et Mg⁺² des racines, les feuilles F 2-3 et les feuilles F 5-6 de *S.lycopersicum* cv. Ailsa Craig exposés à 125 mM de NaCl pendant 7 jours. Les résultats sont présentés sous forme de moyennes ± erreurs standards. Les lettres indiquent les différences significatives à $P < 0,05$ selon le test Student-Newman-Keuls.

3.4. Effet du LVC sur l'accumulation des phytohormones endogènes

L'accumulation des phytohormones en réponse au NaCl seul ou en concomitance avec le LVC varie selon le compartiment (i.e. racine et feuilles). Les niveaux de phytohormones a été clairement plus importants dans les feuilles que dans les racines.

3.4.1. Le statut hormonal des racines

La salinité réduit légèrement la concentration en ABA et ses métabolites (total ABA), tandis que l'application du LVC en présence de NaCl l'augmente (Fig III.10A.). ABA est le composé le plus répondu, sa concentration n'est affectée par aucun traitement. Parmi les métabolites de l'ABA, l'acide phaseique (PA), l'acide dihydrophaseique (DPA) et ABA-glucose ester (ABA-GE) sont les seuls métabolites dont la concentration augmente en réponse au traitement simultané de NaCl et LVC, comparé au traitement au NaCl seul. Le DPA est le composé le plus répondu dans le LVC (10,31 pmol/ml).

La concentration en auxines est réduite de 54% chez les plantes traitées au LVC+NaCl et de 89% chez les plantes contrôles comparées aux plantes traitées au NaCl (Fig III.10.C.). La même tendance est observée pour le composé métabolite indole-3-acetic acid Aspartate (IAA-Asp). Parmi les auxines, l'IAA est détecté en forte concentration dans le LVC (10,39pmol/ml) mais en faible concentration dans les racines tandis que l'IAA-Asp est détecté en faible concentration dans le LVC (0,54 pmol/ml) mais en grande concentration dans les racines.

L'acide phenylacetique (APA), le composé phénolique à faible activité auxine augmente avec la salinité. L'application du LVC en présence ou en absence de NaCl réduit la concentration en APA (Fig III.10.E).

La salinité augmente la concentration en acide salicylique (AS). L'apport du LVC maintient la même concentration en absence de NaCl, mais en présence de NaCl, la concentration en AS diminue légèrement (Fig III.10.B).

La concentration en acide benzoïque (ABz) diminue suite aux traitements au NaCl, LVC et LVC+NaCl comparée aux plantes contrôles (Fig III.10.D).

Le précurseur de l'éthylène ACC est fortement réduit par l'application du LVC+NaCl comparée aux plantes traitées au NaCl (Fig III.10.F).

La salinité augmente la concentration en jasmonates (JA), tandis que l'application du LVC en présence de NaCl réduit la concentration en JA, qui devient égale à celle des plantes contrôles (non traitées).

La forte concentration en jasmonates est enregistrée chez les plantes traitées au LVC (Fig III.10.G). La même tendance est observée pour l'acide jasmonique et le précurseur de l'acide jasmonique (Cis-OPDA).

Aucune différence significative pour la concentration en cytokinines (CKs) n'est enregistrée entre les traitements (Fig III.10.H).

En se basant sur la structure chimique des CKs, les trans-Z types et les cis-Zeatin types augmentent en condition de salinité, tandis que l'application du LVC en présence de NaCl inhibe cette augmentation (Fig III.11. A et C). De toutes les CKs, iP-types représentent la concentration la plus élevée et les DHZ-type la concentration la plus faible (Fig III.11.B et D), bien que les iP-types sont détectées en faible concentration dans le LVC (0,85pmol/ml).

Certaines CKs sont identifiées dans les racines des plantes mais non détectées dans le LVC à savoir trans-zeatin (trans-Z), trans-zeatin riboside (transZR), *cis*-zeatin-7-glucoside (*cis*Z7G), isopentenyl adénine-7-glucoside (iP7G) et isopentenyl adénine-9-glucoside (iP9G) (données non publiées).

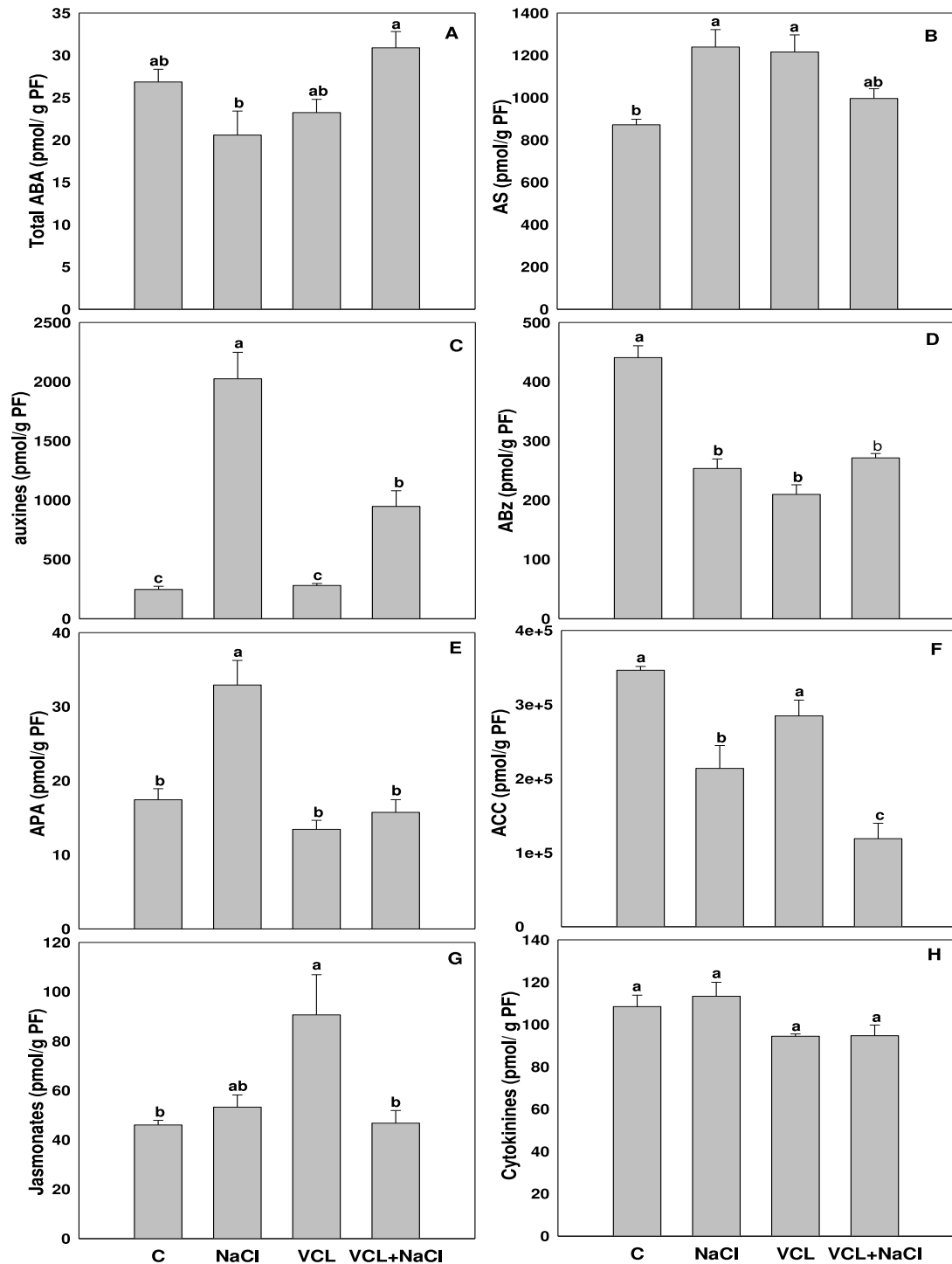


Figure III.10. Effet du LVC sur l'accumulation des phytohormones endogènes dans les racines de *S.lycopersicum* cv. Ailsa Craig exposées à 125 mM de NaCl pendant 7 jours : acide abscissique et ABA métabolites (A), acide salicylique (B), les auxines (C), acide benzoïque, (D), acide phenylacetique (E) Acide 1-aminopropane-1-carboxylique (F), jasmonates (G) et cytokinines (H). Les résultats sont présentés sous forme de moyennes \pm erreurs standards. Les lettres indiquent les différences significatives à $P < 0,05$ selon le test Student-Newman-Keuls.

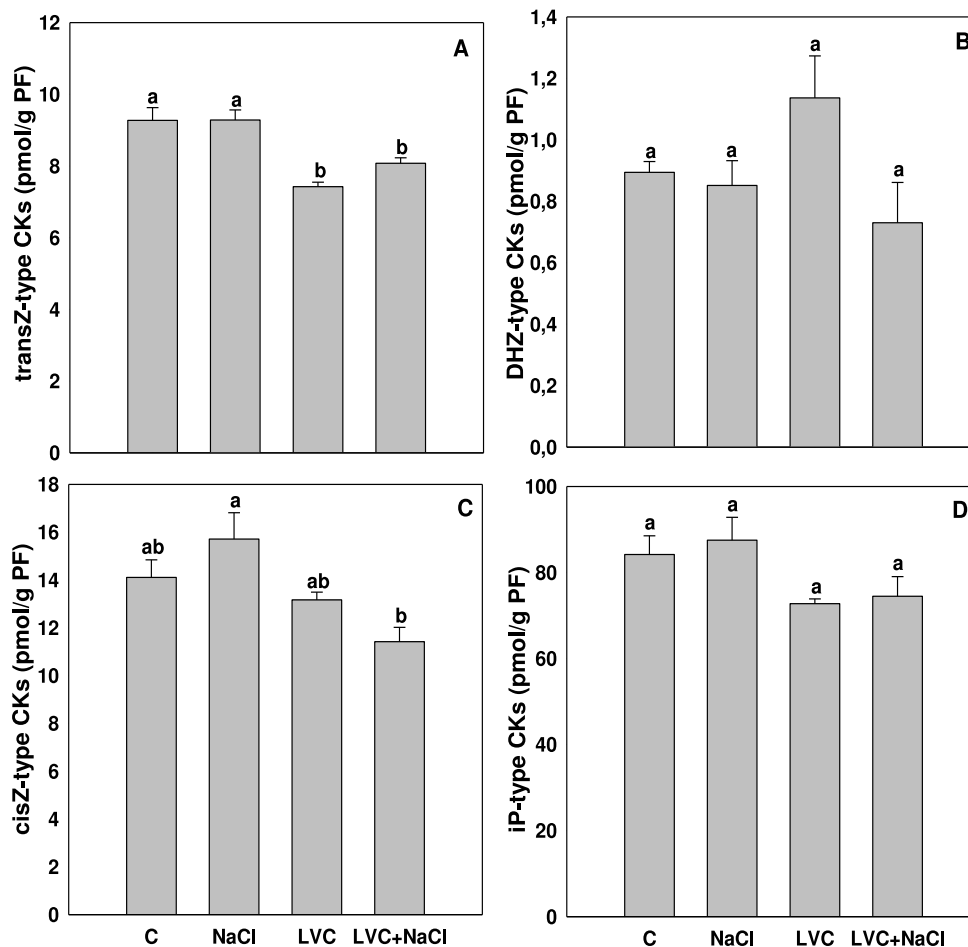


Figure.III.11. Les teneurs en cytokinines endogènes dans les racines de *S.lycopersicum* cv. Ailsa Craig traitées au LVC et exposées à 125 mM de NaCl pendant 7 jours. Les CKs sont divisées en 4 groupes : trans-zeatin types (A), dihydrozeatin types (B), cis-zeatin types (C) et isopentenyl adénine types (D). Les résultats sont présentés sous forme de moyennes \pm erreurs standards. Les lettres indiquent les différences significatives à $P < 0,05$ selon le test Student-Newman-Keuls.

3.4.2. Le statut hormonal des feuilles

La concentration en phytohormones endogènes varie aussi selon l'âge des feuilles étudiées.

Pour les feuilles (F 2-3) et concernant la concentration en total ABA (i.e. ABA et ses métabolites), aucune différence significative n'est enregistrée entre les traitements au NaCl et NaCl + LVC, par contre, l'application du LVC seul réduit fortement la concentration en total ABA. Par ailleurs, dans les feuilles (F 5-6), l'application du LVC en présence de NaCl réduit significativement la concentration en total ABA comparée au traitement au NaCl et l'a réduit d'avantage en absence de NaCl (Fig III.12.A).

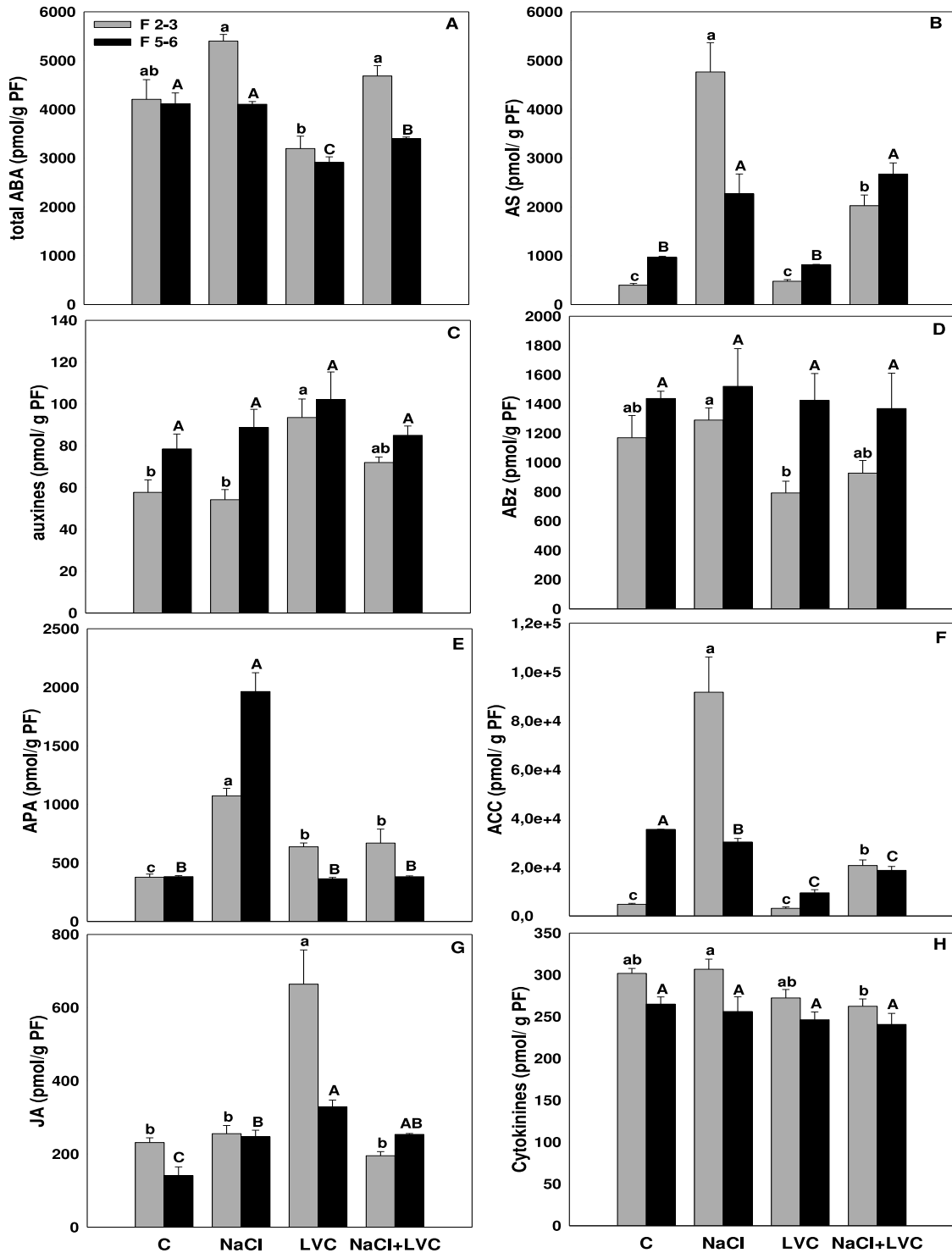


Figure III.12. Effet du LVC sur l'accumulation des phytohormones endogènes dans les (F 2-3) et feuilles (F 5-6) de *S. lycopersicum* cv. Ailsa Craig exposées à 125 mM de NaCl pendant 7 jours : acide abscissique et ABA métabolites (A), acide salicylique (B), les auxines (C), acide benzoïque, (D), acide phénylacétique (E) Acide 1-aminopropane-1-carboxylique (F), jasmonates (G) et cytokinines (H). Les résultats sont présentés sous forme de moyennes \pm erreurs standards. Les lettres indiquent les différences significatives à $P < 0,05$ selon le test Student-Newman-Keuls.

Le LVC appliqué seul augmente fortement la teneur en auxines au niveau des feuilles F 2-3, cette concentration est diminuée de 23% en présence de NaCl + LVC et de 42% en présence de NaCl, tandis que dans les feuilles F 5-6, aucune différence significative n'est enregistrée entre les traitements (Fig III.12.C). Par ailleurs, la concentration en IAA est deux fois plus élevée dans les feuilles traitées au NaCl + LVC que dans celles traitées au NaCl seul. Parmi les auxines, l'IAA-Asp est détecté en faible concentration. On enregistre l'absence dans les feuilles d'un composé qui est présent dans le LVC, il s'agit de l'IAA-Glutamate (IAA-GLU).

La salinité augmente fortement la concentration en APA dans les feuilles, cette concentration est 2 fois plus élevée dans les F 5-6 que dans les F 2-3. Cette augmentation est inhibée par l'application du LVC en présence de NaCl qui réduit la concentration en APA de 37% dans les F 2-3 et de 80% dans les F 5-6 (Fig III.12.E).

La salinité augmente fortement la teneur en AS dans les feuilles, cette augmentation est 2 fois plus importante dans les F 2-3 que dans les F 5-6. L'application du LVC réduit de moitié la teneur en AS dans les F 2-3, tandis que dans les F 5-6, la concentration reste constante. De faibles concentrations en AS sont enregistrées dans les feuilles des plantes contrôles et des plantes traitées au LVC. Ces concentrations sont 2 fois plus élevées dans les feuilles F 5-6 que dans les feuilles F 2-3 (Fig III.12.B).

La salinité augmente légèrement la concentration en ABz dans les F 2-3, tandis que l'application du LVC la réduit. Cette réduction est plus importante en absence de NaCl qu'en sa présence. Dans les F 5-6, aucune différence significative n'est enregistrée entre les traitements (Fig III.12.D).

L'application du LVC augmente fortement la concentration en jasmonates, en particulier dans les F 2-3 comparées aux F 5-6.

Le NaCl en présence ou en absence de LVC réduit la concentration en jasmonates (Fig III.12.G). La même tendance est observée pour l'acide jasmonique dont la concentration augmente avec l'application du LVC + NaCl comparée au traitement au NaCl.

La concentration en ACC augmente fortement avec la salinité, cette augmentation est inhibée par l'application du LVC. La concentration en ACC est importante dans les F 2-3 comparées aux F 5-6 (Fig III.12.F).

La salinité augmente légèrement la concentration en CKs dans les F 2-3, tandis que l'application du LVC en présence de NaCl la réduit. Aucune différence significative n'est enregistrée entre les traitements dans les F 5-6 (Fig III.12.H).

En se basant sur leur structure, aucune différence significative entre les traitements n'est observée concernant les *cisZ*-types et les *iP*-types quel que soit l'âge de la feuille (Fig III. 13. C et D).

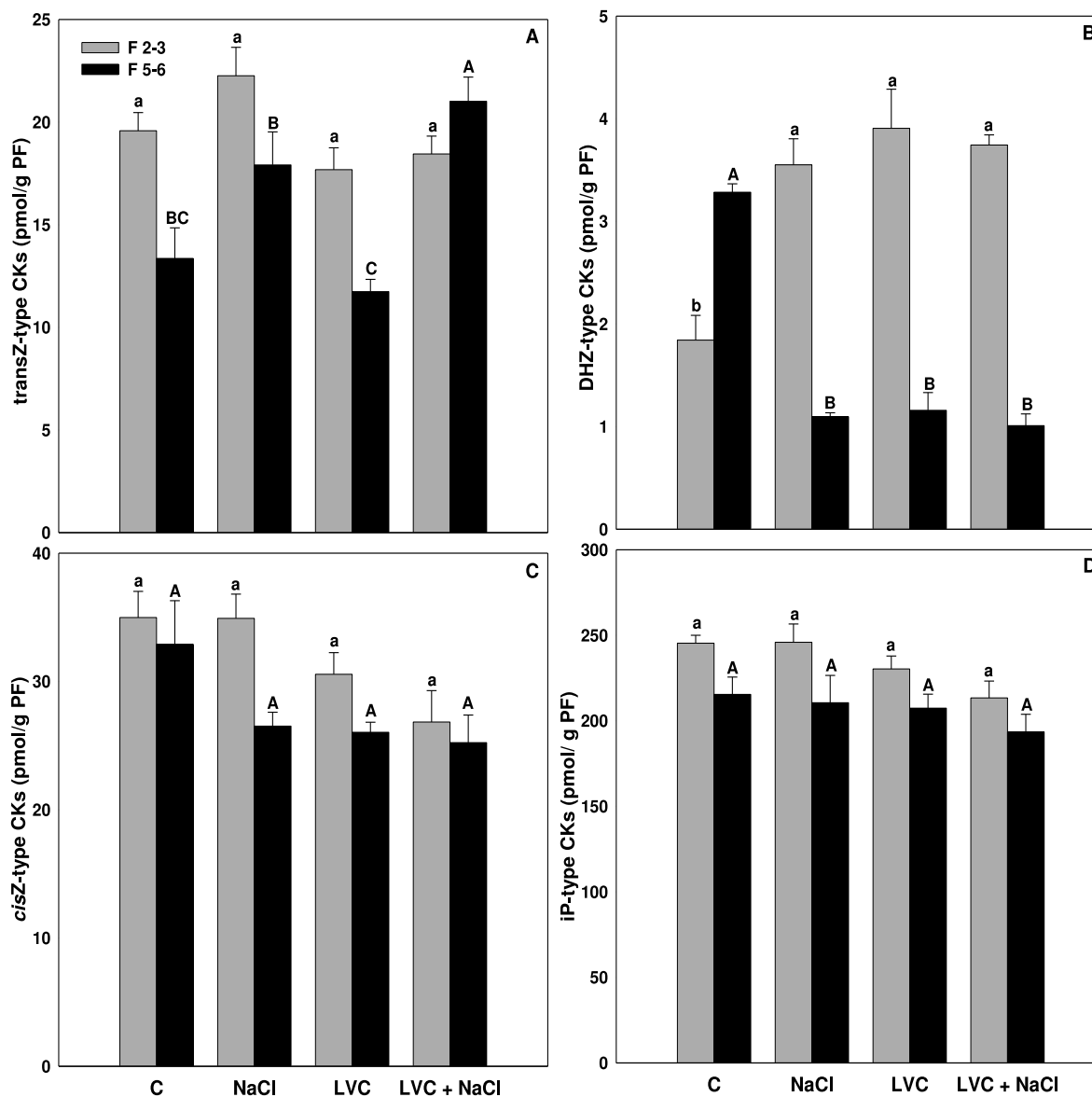


Figure III.13. Les teneurs en cytokinines endogènes dans les feuilles (F 2-3) et les feuilles (F 5-6) de *S.lycopersicum* cv. Ailsa Craig traitées au LVC et exposées à 125 mM de NaCl pendant 7 jours. Les CKs sont divisées en 4 groupes: trans-zeatin types (A), dihydrozeatin types (B), cis-zeatin types (C) et isopentenyl adénine types (D). Les résultats sont présentés sous forme de moyennes \pm erreurs standards. Les lettres indiquent les différences significatives à $P < 0,05$ selon le test Student-Newman-Keuls.

Dans les F 5-6, la salinité augmente la concentration en transZ-types, tandis que l'application du LVC l'augmente d'avantage (Fig III.13.A.).

La concentration en DHZ-types augmente avec la salinité et demeure constante avec l'application du LVC dans les F 2-3, tandis que dans les F 5-6, la concentration en DHZ-types diminue avec la salinité pour demeurer constante avec l'application du LVC (Fig III.13.B).

Comme pour les racines, certaines CKs ne sont pas détectées dans le LVC mais détectées dans les feuilles tel que transZ, *cisZ7G* et *iP7G*, tandis que d'autres CKs sont détectées dans le LVC mais non détectées de les feuilles tel que isopentenyl adenosine monophosphate (*iPRMP*), isopentenyl adénine (*iP*), *cis*-zeatin Riboside-O-glucoside (*cis ZROG*) et *trans*-zeatin Riboside-O- glucoside (*trans ZROG*) (données non publiées).

4. Les traitements au lixiviat de vermicompost affectent différemment la germination et l'émergence de jeunes plantules de *B.napus* en condition de contrôle et de salinité

4.1. Le LVC additionné au milieu de germination

4.1.1. Les paramètres de germination et la croissance des plantules

Les graines des deux cultivars considérées présentent des pourcentages de germination contrastés en conditions de contrôle. Le pourcentage de germination totale pour Libomir ne dépasse pas 30% (Fig III.14.A), alors que chez Harry, ce pourcentage dépasse les 90% (Fig III.14.B). La présence de LVC dans le milieu de germination améliore la performance de germination des graines des deux cultivars de *B.napus*, l'effet est plus marquant chez Libomir (Fig III.14.A). Pour les deux cultivars, la présence de sel seul ou en concomitance avec le LVC ralentit la germination des graines comparées au contrôle en présence ou en absence de LVC. Indépendamment du traitement, le pouvoir de germination de cv. Libomir est très faible.

La germination démarre lentement après 36h d'imbibition avec un faible pourcentage qui augmente au fur et à mesure dans le temps, mais il reste toujours faible. En présence de NaCl, la germination des graines est inhibée après 60h et le pourcentage est plus au moins identique même après 96h, tandis que en présence de LVC, le pourcentage de germination est amélioré.

Le pourcentage de germination le plus important est enregistré après 96h d'imbibition en présence de LVC, suivi du contrôle (i.e, eau), (Fig III.14.A). Pour le cv.Harry, la germination commence après 24h avec un faible pourcentage en présence de NaCl seul ou avec le LVC et un fort pourcentage en condition de contrôle avec ou sans le LVC. Après 60h de germination, le pourcentage de

germination des graines en présence de NaCl seul ou avec le LVC est amélioré et se rapproche de celui du contrôle seul ou en présence de LVC (Fig III.14.B).

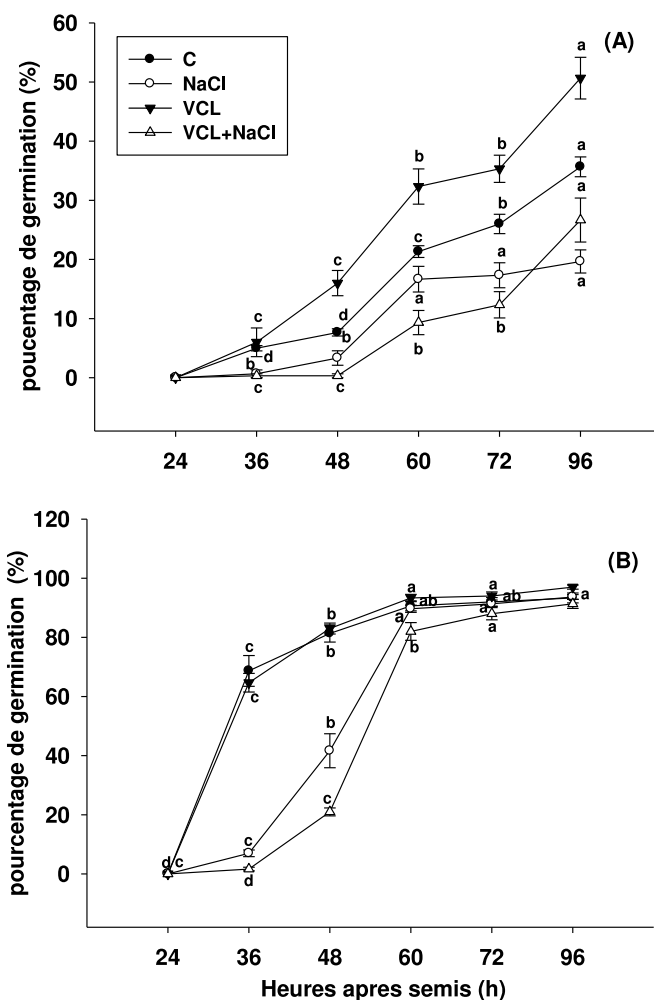


Figure III.14. Le pourcentage de germination des graines de Libomir (A) et Harry (B) après 96 heures de germination sur papier filtre imbibé d'eau (C), 100 mM de NaCl (NaCl), de lixiviat de vermicompost (1 :10 , v :v) (VC) et lixiviat de vermicompost +NaCl (LVC+NaCl). Les valeurs représentent la moyenne de 6 répétitions \pm SE. Les différentes lettres désignent les différences significatives entre les différents traitements selon le test de Student-Newman-Keuls à $P < 0,05$.

Les paramètres de germination dépendent du cultivar et du milieu de germination (Tableau III.11). Pour le cultivar Harry, la présence de NaCl dans le milieu de germination réduit l'indice de germination des graines, mais sans affecter le pourcentage de germination, tandis que chez le cultivar Libomir, le NaCl réduit l'indice de germination ainsi que le pourcentage de germination (Tableau III.11). La présence de LVC dans le milieu de germination augmente l'indice de germination et le taux de germination totale pour les deux cultivars comparés au contrôle. Cette

amélioration est beaucoup plus importante pour Libomir comparé aux stressés. L'application de LVC en condition de salinité n'a aucun effet sur l'indice de germination et la germination totale pour les deux cultivars (Tableau III.11). Pour les deux cultivars, la présence de NaCl dans le milieu de germination réduit la vitesse de germination et ainsi augmente le T50. Le temps nécessaire pour la germination de 50% des graines est de 1,3 et 1,6 fois plus court en condition de contrôle comparé aux conditions de stress chez Harry et Libomir respectivement (Tableau III.11). Chez *cv.* Harry, la présence du LVC dans le milieu de germination n'a pas ou a peu d'effet sur la vitesse de germination et ainsi sur le T50. Par ailleurs, chez *cv.* Libomir, le LVC augmente la vitesse de germination et réduit ainsi le T50 comparé aux conditions de contrôle en absence de LVC (Tableau III.11).

Cultivar	Libomir			Harry		
	GT (%)	IG	T50 (d)	GT (%)	IG	T50 (d)
Contrôle	29,58 ± 0,77 b	7,35 ± 0,57 b	5,95 ± 0,18 b	92,92 ± 0,42 b	38,88 ± 0,19 b	1,53 ± 0,00 c
NaCl	19,17 ± 0,53 c	4,47 ± 0,16 c	8,12 ± 0,15 a	91,25 ± 1,07 b	29,63 ± 0,71 c	2,05 ± 0,08 b
LVC	50,67 ± 3,53 a	16,22 ± 1,19 a	4,01 ± 0,21 c	97,00 ± 0,68 a	48,54 ± 0,68 a	1,59 ± 0,01 c
LVC+NaCl	26,67 ± 0,80 bc	5,47 ± 0,80 c	7,42 ± 0,80 ab	91,33 ± 1,52 b	31,33 ± 0,62 c	2,38 ± 0,01 a
P	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	0,034	< 0,0001	< 0,0001
F	21,867	37,636	15,157	3,522	65,774	22,697

Tableau III.11. Les paramètres de germination (germination totale (GT%), indice de germination (IG) et T50 des graines de Harry et Libomir après 4 jours de germination sur papier filtre imbibé d'eau (Contrôle), 100 mM de NaCl (NaCl), de lixiviat de vermicompost (1:10, v: v) (VC) et lixiviat de vermicompost +NaCl (LVC+NaCl). Les valeurs représentent la moyenne de 6 répétitions ± SE. Les différentes lettres désignent les différences significatives entre les différents traitements selon le test de Student-Newman-Keuls à $P < 0,05$.

Les poids frais et sec des jeunes plantules du cultivar Harry ne sont affectés par aucun traitement, tandis que la longueur des plantules est clairement supérieure en présence de LVC dans le milieu de germination. La salinité réduit la longueur des plantules chez le cultivar Harry, cette réduction est légèrement atténuée par l'addition de LVC (Tableau III.12). La même tendance est observée chez le cultivar Libomir (Tableau III.12).

Cultivar	Libomir			Harry		
	PF (mg)	PS (mg)	L (cm)	PF (mg)	PS (mg)	L (cm)
Contrôle	52,35 ± 0,54 a	3,57 ± 0,20 a	7,33 ± 0,60 b	50,79 ± 1,30 a	2,60 ± 0,05 a	10,33 ± 0,60 b
NaCl	58,69 ± 2,24 a	2,85 ± 0,18 a	5,66 ± 0,37 c	39,48 ± 0,51 a	2,23 ± 0,11 a	7,34 ± 0,39 c
LVC	49,09 ± 6,61 a	3,57 ± 0,60 a	10,07 ± 0,45 a	61,90 ± 1,88 a	3,51 ± 0,29 a	11,54 ± 0,42 a
LVC+NaCl	61,67 ± 7,36 a	4,33 ± 0,33 a	5,46 ± 0,31 c	65,71 ± 3,38 a	3,22 ± 0,11 a	8,29 ± 0,39 c
<i>P</i>	< 0,001	0,005	0,001	0,049	0,543	0,000
<i>F</i>	62,439	9,625	18,647	4,088	0,768	19,459

Tableau III.12. Le poids frais et sec (mg/plante) et la longueur (cm/plante) des plantules obtenues après 7 jours de germination des graines de Libomir et de Harry sur papier filtre imbibé d'eau (Contrôle), 100 mM de NaCl (NaCl), de lixiviat de vermicompost (1 :10 , v : v) (VC) et lixiviat de vermicompost +NaCl (VC+NaCl). Les valeurs représentent la moyenne de 6 répétitions ± SE. Les différentes lettres désignent les différences significatives entre les différents traitements selon le test de Student-Newman-Keuls à $P < 0,05$.

4.1.2. Les teneurs en Na^+ et K^+

Le NaCl engendre une forte accumulation de Na^+ chez les deux cultivars. Cette accumulation est plus importante chez le cultivar Harry que chez Libomir. Une légère accumulation de Na^+ est enregistrée chez Harry en présence de LVC seul, tandis que cet effet n'est pas significatif chez Libomir. L'apport du LVC en présence de NaCl réduit la teneur en Na^+ chez Harry et n'a aucun effet significatif sur la teneur en Na^+ chez Libomir comparé aux plantes stressées non traitées (Fig III.15. A). Le stress salin réduit significativement la teneur en K^+ chez Libomir et n'a aucun effet significatif chez Harry comparé au contrôle. Par ailleurs, l'apport du LVC seul ou en concomitance avec le NaCl augmente significativement les teneurs en K^+ chez les deux cultivars (Fig III.15.B).

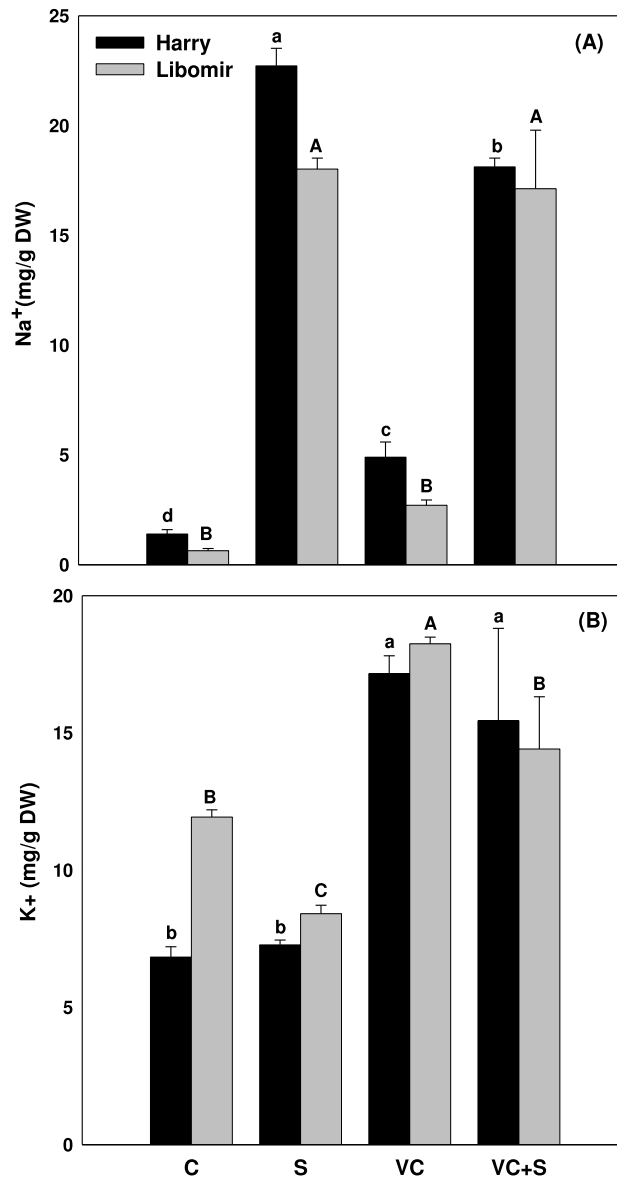


Figure III.15. Les teneurs en Na⁺ (A) et K⁺ (B) des plantules obtenues après 7 jours de germination des graines d'Harry et Libomir sur papier filtre imbibé d'eau (C), de 100 mM de NaCl (S), de lixiviat de vermicompost (1:10, v/v) (VC) et lixiviat de vermicompost +NaCl (VC+S). Les valeurs représentent la moyenne de 3 répétitions ± SE. Les différentes lettres désignent les différences significatives entre les différents traitements selon le test de Student-Newman-Keuls à P < 0,05.

4.1.3. Les teneurs en proline et MDA

La concentration en proline semble être similaire chez le cultivar Harry quel que soit le traitement. Chez le cultivar Libomir, la concentration en proline augmente fortement en présence de NaCl dans le milieu de germination. Cette concentration augmente d'avantage en apportant le LVC au milieu de germination (Fig III.16.A). La même tendance est observée pour les teneurs en MDA, Chez Harry, le traitement n'a aucun effet significatif sur la teneur en MDA, tandisque, chez Libomir, le stress salin

augmente fortement la teneur en MDA, ce taux est légèrement baissé avec l'application de LVC et significativement réduit en appliquant le LVC seul (Fig III.16.B).

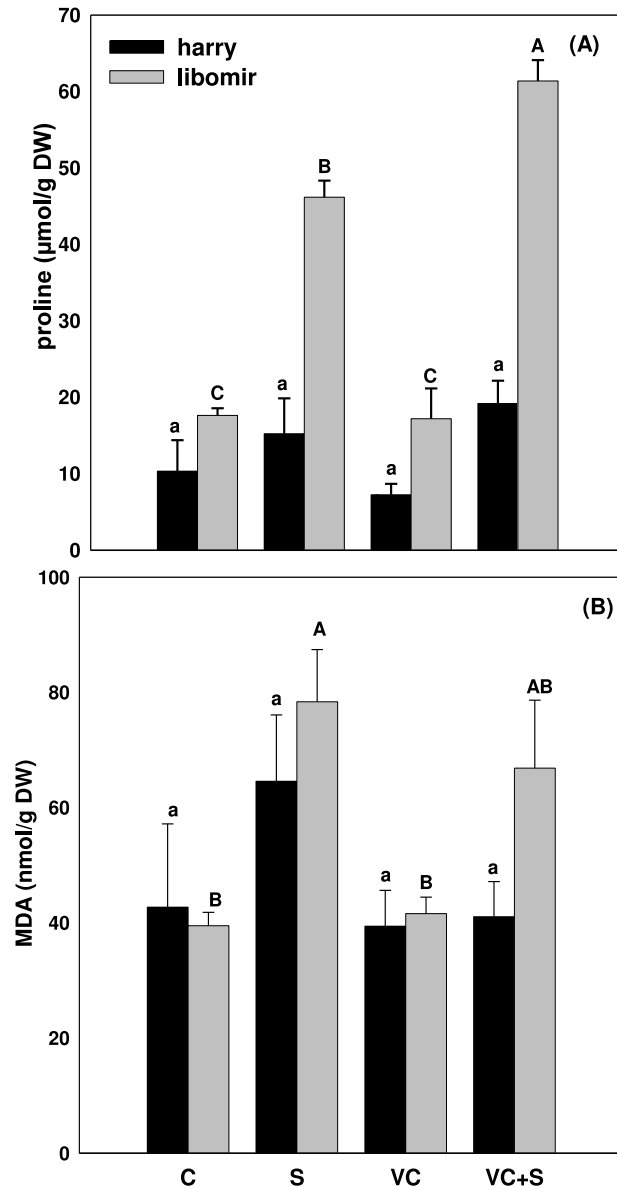


Figure III.16. Les teneurs en proline (A) et MDA (B) des plantules obtenues après 7 jours de germination des graines d'Harry et Libomir sur papier filtre imbibé d'eau (C), de 100 mM de NaCl (S), de lixiviat de vermicompost (1 :10 , v/v) (VC) et lixiviat de vermicompost +NaCl (VC+S). Les valeurs représentent la moyenne de 3 répétitions \pm SE. Les différentes lettres désignent les différences significatives entre les différents traitements selon le test de Student-Newman-Keuls à $P < 0,05$.

4.2. Le lixiviat de vermicompost (LVC) comme agent de priming

4.2.1. Les paramètres de germination et la croissance des plantules

Les graines des deux cultivars ont subi un traitement de priming avant exposition au stress salin. Le VC-priming améliore la performance de germination des graines des deux cultivars de *B.napus* et la tolérance à la salinité à ce stade de développement (Fig III.17.)

Chez Libomir, la rupture des téguments des graines primées en condition de contrôle et de salinité commence à partir de 24H d'imbibition, tandis que chez les non primées, la rupture commence faiblement à partir de 36h d'imbibition. Le pourcentage de germination chez les graines primées en condition de contrôle et de salinité est plus important que celui des graines non primées dans les mêmes conditions (Fig III.17.A).

Le maximum de germination est atteint après 36h et 72h d'imbibition chez les graines primées en condition de contrôle et de salinité respectivement, tandis que pour les graines non primées, la germination est arrêtée après 60h d'imbibition en condition de salinité (Fig III.17.A).

Chez Harry, la rupture des téguments des graines primées en condition de contrôle et de salinité commence très tôt, avant 24H d'imbibition pour atteindre des pourcentages importants au bout de 24H d'imbibition, tandis que pour les graines non primées, la protrusion de la radicule commence après 24h d'imbibition avec un faible pourcentage pour les graines non primées en présence de NaCl comparé au contrôle (Fig III.17.B).

Le maximum de germination est atteint après 48h et 60h d'imbibition chez les graines primées en condition de contrôle et de salinité respectivement. Après 60h d'imbibition, le pourcentage des graines non primées en présence de NaCl se rapproche de celui des graines non primées en condition de contrôle, mais les pourcentages demeurent toujours inférieurs à ceux des graines primées (Fig III.17.B).

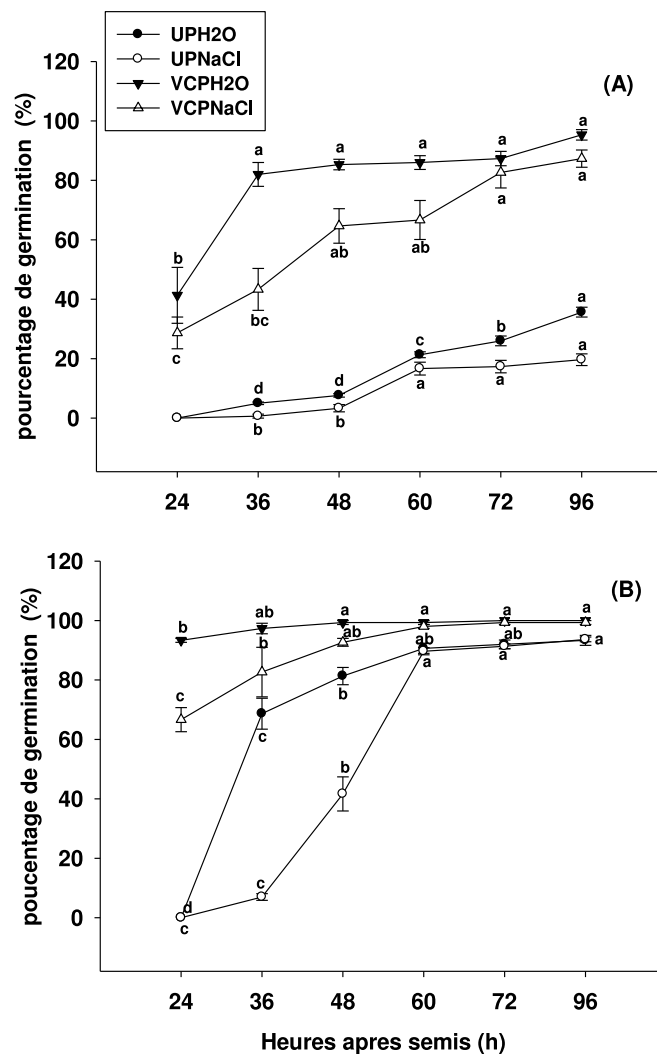


Figure III.17. Le pourcentage de germination des graines de Libomir (A) et Harry (B) non amorcées (UP) et amorcées avec le lixiviat de VC (VC-priming VCP) et mise en germination sur papier filtre imbibé d'eau (H₂O) ou de solution saline (100mMNaCl). Les valeurs représentent la moyenne de 6 répétitions \pm SE. Les différentes lettres désignent les différences significatives entre les différents traitements selon le test de Student-Newman-Keuls à $P < 0,05$.

Chez les deux cultivars, l'indice de germination (IG) et la germination totale (GT) augmentent avec le priming en condition de contrôle et de salinité comparée aux graines non traitées dans les mêmes conditions, et particulièrement chez cv. Libomir (Tableau III.13). Chez les deux cultivars, le priming au LVC améliore la vitesse de germination et réduit ainsi le T50 en condition de contrôle et de salinité. Chez le cv. Harry, le priming réduit le T50 de plus que la moitié en condition de salinité et d'un peu moins que la moitié en condition de contrôle, alors que chez le cv. Libomir, le priming réduit le T50 de 4,5 fois en condition de salinité et de 5,6 fois en condition de contrôle (Tableau III.13).

Cultivar	Libomir			Harry		
	GT (%)	IG	T50 (d)	GT (%)	IG	T50 (d)
UP _{H2O}	35,67 ± 1,67 c	10,71 ± 0,42 c	4,70 ± 0,28 b	93,33 ± 2,39 b	47,33 ± 1,44 c	1,58 ± 0,02 a
UP _{NaCl}	19,67 ± 1,96 d	6,22 ± 0,65 c	8,08 ± 0,54 a	93,67 ± 1,14 b	37,35 ± 2,12 d	2,24 ± 0,17b
VCP _{H2O}	95,33 ± 1,76 a	68,47 ± 4,43 a	1,03 ± 0,28 c	100,00 ± 0,00 a	88,17 ± 0,50 a	<1
VCP _{NaCl}	87,33 ± 2,91 b	55,19 ± 5,20 b	1,42 ± 0,11 c	99,33 ± 0,67 a	73,06 ± 2,41 b	<1
<i>P</i>	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	0,005	< 0,0001	0,004
<i>F</i>	318,309	184,534	57,392	6,657	372,901	14,358

Tableau III.13. Les paramètres de germination (germination totale (GT%), indice de germination (IG) et T50)) des graines d'Harry et Libomir non amorcées (UP) et amorcée avec le lixiviat de VC (VC-priming VCP) et mise en germination sur papier filtre imbibé d'eau (H₂O) ou de solution saline (100mMNaCl). Les valeurs représentent la moyenne de 6 répétitions ± SE. Les différentes lettres désignent les différences significatives entre les différents traitements selon le test de Student-Newman-Keuls à P < 0,05.

Chez Libomir, le VC-priming n'améliore pas le poids frais des plantules en présence et en absence de NaCl, mais permet l'amélioration de la longueur des plantules en présence et en absence de NaCl, comparé aux graines non primées dans les mêmes conditions. En outre, aucune différence significative n'est observée pour les poids sec entre les traitements quel que soit le milieu de germination (Tableau III.14). Chez Harry, le VC-priming réduit les poids frais et sec des plantules en condition de salinité comparé aux graines non primées et exposées au stress salin. En condition de contrôle, aucune différence significative n'est observée pour les poids frais et sec entre les graines primées et non primées. Le VC-priming augmente l'élongation des plantules en présence et en absence de NaCl comparé aux graines non-primées dans les mêmes conditions (Tableau III.14).

Cultivar	Libomir			Harry		
	PF (mg)	PS (mg)	L (cm)	PF (mg)	PS (mg)	L (cm)
UP _{H2O}	58,49 ± 6,69 a	5,63 ± 1,09 a	7,73 ± 0,69 ab	61,53 ± 5,67 a	3,09 ± 0,36 ab	9,75 ± 0,49 b
UP _{NaCl}	64,03 ± 0,27 a	3,29 ± 0,16 a	5,01 ± 0,40 b	40,86 ± 7,33 ab	3,03 ± 0,10 ab	6,95 ± 0,47 c
VCP _{H2O}	29,27 ± 0,38 b	2,32 ± 0,39 a	9,03 ± 0,79 a	58,18 ± 2,72 a	3,74 ± 0,26 a	11,20 ± 0,21 a
VCP _{NaCl}	35,56 ± 0,24 b	3,01 ± 0,24 a	9,13 ± 0,60 a	30,77 ± 4,90 b	2,01 ± 0,15 b	9,57 ± 0,12 b
<i>P</i>	0,063	0,064	0,006	0,035	0,033	0,000
<i>F</i>	4,230	4,192	9,170	5,665	5,804	23,909

Tableau III.14. Le poids frais et sec (g/plante) et la longueur (cm/plante) des plantules obtenues après 7 jours de germination des graines d'Harry et Libomir non amorcées (UP) et amorcée avec le lixiviat de VC (VC-priming VCP) et mise en germination sur papier filtre imbibé d'eau (H₂O) ou de solution saline (100mMNaCl). Les valeurs représentent la moyenne de 6 répétitions ± SE. Les différentes lettres désignent les différences significatives entre les différents traitements selon le test de Student-Newman-Keuls à P < 0,05.

4.2.2. Les teneurs en Na⁺ et K⁺

Pour les deux cultivars, la salinité augmente la teneur en Na⁺ dans les plantules âgées de 7 jours. Cette augmentation est plus accentuée chez les plantules issues de graines traitées comparé aux graines non traitées. Le priming favorise l'accumulation de Na⁺ en condition de salinité, tandis qu'en condition de contrôle, aucune accumulation de Na⁺ n'est enregistrée chez les plantules issues de graines traitées et des graines non traitées (Fig III.18.A). Pour Harry, aucune différence significative dans la teneur en potassium n'est enregistrée entre les traitements, le priming n'a aucun effet sur la concentration en potassium (Fig III.18.B). La salinité réduit la concentration en K⁺ chez Libomir, cette réduction est similaire à celle observée chez les graines primées en condition de contrôle et de salinité (Fig III.18.B).

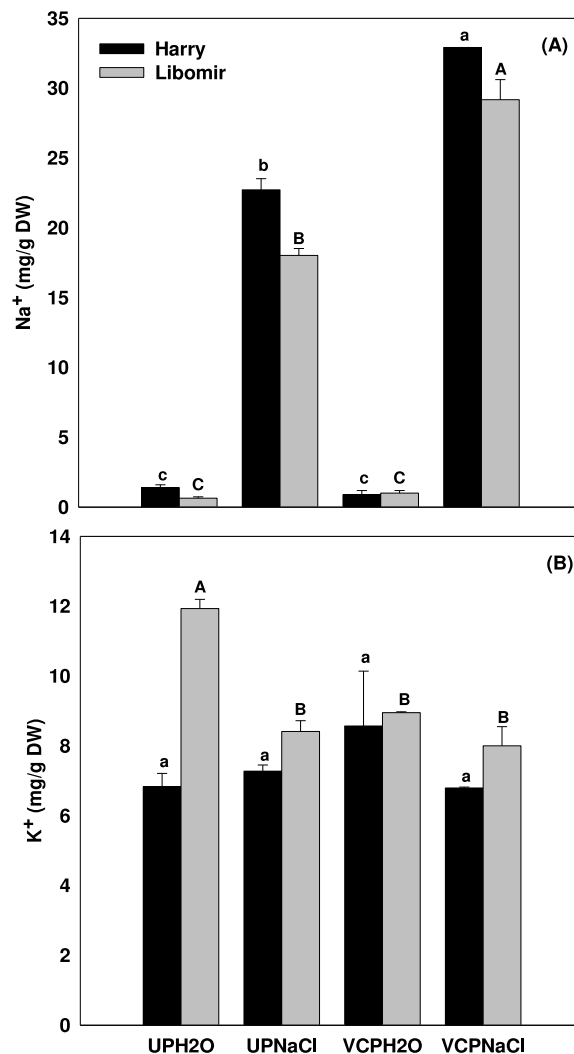


Figure III.18. Les teneurs en Na⁺ (A) et K⁺ (B) dans les plantules obtenues après 7 jours de germination des graines d'Harry et Libomir non amorcées (UP) et amorcée avec le lixiviat de VC (VC-priming VCP) et mise en germination sur papier filtre imbibé d'eau (H₂O) ou de solution saline (100mMNaCl). Les valeurs représentent la moyenne de 3 répétitions et les différentes lettres désignent les différences significatives entre les différents traitements selon le test de Student-Newman-Keuls à P < 0,05.

4.2.2. Les teneurs en proline et MDA

Les graines primées au LVC et déshydratées et les graines non primées sèches des deux cultivars ont été analysées et les teneurs en proline et en MDA ont été estimées. Pour les deux cultivars, le priming avec le LVC engendre une forte accumulation de proline comparé aux graines non traitées. La concentration en proline dans les graines non traitées ne représente que 13,27% et 21% de celle des graines traitées chez Harry et Libomir respectivement (Fig III.19.A). La teneur en MDA dans les graines traitées représente 16,4% et 66,15% de celle des graines non traitées (Fig III.19.B).

Pour la germination post-priming, l'accumulation de proline atteint sa valeur maximale dans les plantules issues de graines non traitées et en condition de salinité chez Libomir. Le priming au LVC réduit significativement l'accumulation de proline en condition de salinité, tandis que pour Harry, aucune différence significative n'est signalée entre les traitements (Fig III.19. A).

La salinité augmente la teneur en MDA dans les plantules issues de graines non traitées chez les deux cultivars. Le priming réduit significativement la teneur en MDA des plantules en condition de salinité (Fig III.19. B).

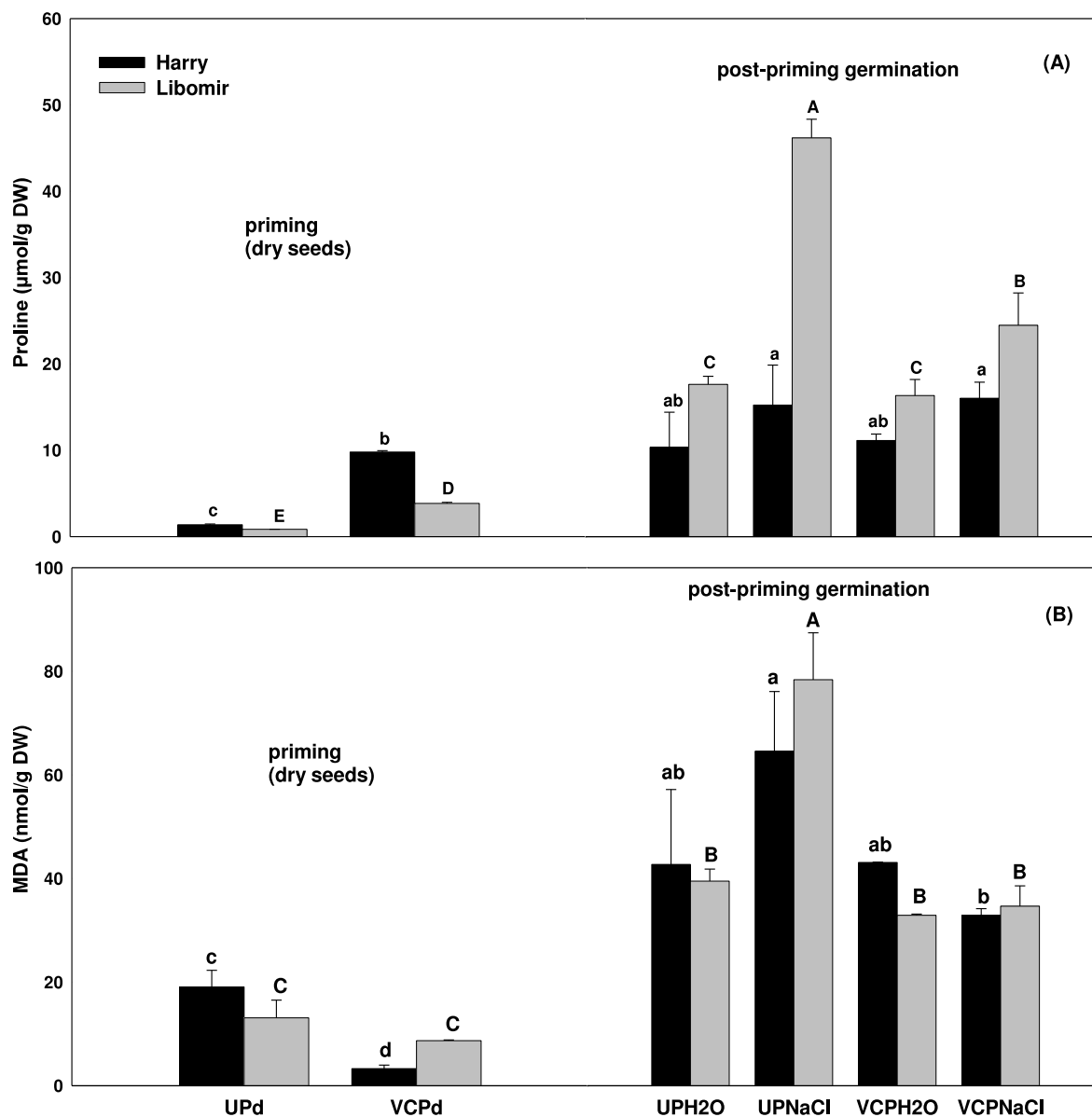


Figure III.19. Les teneurs en proline (A) et MDA (B) dans les graines de *B.napus* (Harry et Libomir) durant le priming (HPd et VCPd) et dans les plantules obtenues après 7 jours de germination des graines d'Harry et de Libomir non amorcées (UP) et amorcées avec le lixiviat de VC (VC-priming VCP) et mise en germination sur papier filtre imbibé d'eau (H₂O) ou de sel (100mMNaCl). Les valeurs représentent la moyenne de 3 répétitions et les différentes lettres désignent les différences significatives entre les différents traitements selon le test de Student-Newman-Keuls à P < 0,05.

CHAPITRE VI

DISCUSSION

Chapitre VI : Discussion

L'augmentation ou l'amélioration de la production des terres marginales est l'objectif majeur dans les prochaines décennies. C'est particulièrement le cas pour les zones agricoles touchées par la salinité ou la sécheresse où le rendement moyen des cultures reste plutôt faible. Une fertilisation optimale peut aider les plantes à surmonter quelques effets néfastes des contraintes abiotiques. Cependant, dans plusieurs régions du monde affectées par ces contraintes environnementales, l'utilisation de fertilisants chimiques est limitée, particulièrement chez les petits agriculteurs à cause de leur non disponibilité et leur cout élevé. En outre, l'utilisation intensive de ces produits constitue également un risque pour la stabilité de l'écosystème.

Le processus de vermicompostage est considéré comme une alternative attrayante [306, 307]. En effet, la biodégradation de la matière organique par interaction entre les vers de terre et les microorganismes fournit un produit respectueux de l'environnement et hautement adapté à l'amendement du sol [28, 308, 309]. Le vermicompost sous sa forme solide, présente fréquemment une CE élevée qui se traduit par une salinité accrue du sol et constitue un inconvénient majeur pour les sols touchés par la salinité [35, 36, 306]. Le lixiviat de vermicompost (LVC) est la fraction liquide collectée par l'égouttage du vermicompost solide: il présente une faible CE et il est homogène comparé à la forme solide [308] .

1. La caractérisation du lixiviat de vermicompost

Grace à leurs activités de décomposition, les vers de terre produisent des engrais organiques riches appelés vermicompost, contenant des nutriments minéraux et d'autres composés biologiquement actifs à savoir : les acides humiques, les phytohormones et les acides phénoliques auxquels on attribue l'effet stimulateur du VC. Ce vermicompost peut se trouver sous forme solide ou liquide, ce dernier est appelé le jus ou le lixiviat de vermicompost. Pour la première fois, l'étude actuelle fournit la preuve qualitative et quantitative du riche cocktail de régulateurs de croissance, d'acides humiques, de polyphenols et de polyamines présents dans le LVC.

Le LVC utilisé pour notre étude renferme des éléments minéraux tel que Na^+ , K^+ , Mg^{+2} , Ca^{+2} , N et P, ceci concorde avec les résultats rapportés par plusieurs auteurs [54, 310, 311]. En plus de ces nutriments, le LVC contribue au développement de la plante grâce à la présence des acides humiques [23, 312]. Le LVC utilisé dans la présente étude renferme des acides humiques, ceci est en concordance avec les données rapportées par Arancon et al, [53], qui signalent la présence des acides humiques dans le thé de VC à base de fumier de poulet et de déchets alimentaires avec des valeurs de 464,8mg/l et 500mg/l respectivement. Les substances humiques extraites du VC pourrait produire des effets semblables à ceux des phytohormones et

entraîner ainsi une stimulation de la croissance et du rendement de diverses cultures [23, 312]. Le VC est riche en acides humiques, ces composés humiques lorsqu'ils sont pris par la cellule peuvent activer certains systèmes de signalisation en se liant à des récepteurs particuliers [313] et peuvent affecter l'activité enzymatique de certaines voies métaboliques [314].

Les composés phénoliques ont différents rôles dans la plante, notamment dans la formation des organes (racines et pousses) et la protection contre le stress oxydatif par la détoxification des ROS [315]. Aremu et al.[30], a quantifié et identifié 4 types d'acide phénolique (i.e. acide paracoumarique, acide parahydroxybenzoïque, ac. ferulique et ac.protocatechique) dans 3 lots de LVC. Bien que l'effet du vermicompost sur la composition des plantes en composés phénoliques (i.e. anthocyane et flavonoïde) a déjà été étudié[29], la présente étude est la première à quantifier les polyphénols totaux, les flavonoïdes et les anthocyanes dans le LVC . Ceci est en accord avec la conception de Balasundram et al. [315] concernant la présence et l'utilisation des composés phénoliques comme sous-produits agro-industriels. Ces composés phytochimiques font souvent partie du système de défense naturelle de la plante contre les infections et les invasions microbiennes. Un certain nombre de substances phénoliques trouvées dans le VC pourrait avoir un effet positif sur la résistance aux pathogènes et herbivores [316]. Le LVC augmente la teneur en composés phénoliques dans différentes plantes [317, 318]. L'augmentation des polyphénols totaux observée par l'application du VC pourrait expliquer la meilleure résistance aux maladies des plantes traitées au VC ainsi que la baisse des attaques par les arthropodes nuisibles comparé aux plantes traitées avec des engrais inorganiques [29].

En plus de ces composés biologiquement actif, les régulateurs de croissance sont les principaux composés actifs présents dans le LVC [25, 27, 30, 32, 318]. L'identification positive des régulateurs de croissance dans le LVC est essentielle afin de justifier sa faisabilité dans la production des cultures [27]. On suppose que ces phytohormones sont produites par des micro-organismes de par leur abondance dans le VC. La présence des promoteurs de croissance des plantes dans le VC est souvent associée au fait que les moulages de vers ne consistent pas seulement dans les produits directement produits par les vers, mais contiennent aussi un large nombre de métabolites de la microflore interne. Plusieurs microorganismes sont connus pour sécréter des phytohormones [319]. Une étude récente rapporte la production de phytohormones par la dégradation biochimique de la matière organique par les micro-organismes. La population microbienne est capable de synthétiser des cytokinines (CKs) [320]. Selon H Zhang et al. [321], les micro-organismes sont responsables des réactions biochimiques lors du processus de vermicompostage tandis que les vers de terre (En tant qu'hôte de ces micro-organismes) pourraient fournir les substrats et les conditions nécessaires à ce processus. Ils rapportent la présence de CKs dans le thé de vermicompost produit à base de mélange de jacinthe et de fumier de poulet, ils identifient 3 dérivées de CKs

à savoir les trans-Zeatin (t-Z) (0,06pmol/ml), les N6-Isopentenyladenine (iP) (3,33 pmol/ml) et les N6-Isopentenyladenosine (iPR) (0,02pmol/ml). Aremu et al. [30], ont identifié 4 types de CKs à savoir les iP, cis-Zeatin (cZ), tZ et Dihydrozeatin (DHZ) qui constituent les 15 dérivées, en plus des auxines et plus principalement l'acide indole-3-acétique (IAA), les Gibbérellines (GAs), les brassinosteroides et des acides phénoliques dans trois lots de LVC produits à base de déchets végétaux. L'analyse de notre LVC a révélé la présence de différentes phytohormones à savoir les CKs et les auxines. 15 dérivées de CKs sont identifiées, ce sont des CKs isoprenoides. Ceci est en concordance avec d'autres recherches ou on rapporte la présence de CKs isoprenoides dans le VC [30, 279, 321]. Comme le LVC dérive de déchets végétaux, l'absence de CKs aromatiques est justifiée. Les CKs sont souvent identifiées dans plusieurs biostimulants utilisés en agriculture [295]. L'acide indole-3-acétique (IAA) est la seule auxine identifiée dans le LVC analysé par Aremu et al [30], avec un taux moyen de 0,63 pmol/ml, ce taux reste toujours supérieur comparée aux bases libres de CKs dont les teneurs sont de 3-4 fmol/ml pour les trans-Zeatin et 13-20 fmol/ml pour les iP. Dans notre investigation, on a identifié et quantifié 4 auxines, avec IAA comme composé majoritaire (10,39 pmol/ml). Les quatre types des CKs sont présentes dans notre LVC à savoir les, trans-Z, cis-Z, iP et DHZ. Les trans-Zeatin forment la majeure proportion des CKs avec 49,20% et les dihydrozeatin (DHZ) la faible proportion avec 5,63%. Dans le LVC analysé par Aremu et al [30], les N6-isopentenyladenine (iP) représentent la majeure proportion des CKs avec 60% et les dihydrozeatin (DHZ), la mineure proportion avec 0,02%. Dans notre étude et en se basant sur la fonction physiologique des CKs, on retrouve O-Glucosides > N7 et N9 Glucosides > les bases libres > Nucléotides > Ribosides à des taux de 66,11%, 12,5%, 11,58%, 5,29%, 4,53% respectivement. Tandis que Aremu et al. [30], rapporte la classification suivante dans son LVC nucléotides > Ribosides > bases libres > O-glucosides à des taux de 61%, 27%, 11% et 1% respectivement. Même si les N-glucosides sont considérés comme des produits inactifs, une récente étude a démontré une certaine activité biologique de ces formes [322, 323]. Hong Zhang et al. [32], ont quantifié les iP, iPR, et les IAA dans un vermicompost à base de déchets végétaux, épluchures de fruits et la jacinthe. La présence de IAA dans le compost de vers de terre a déjà été signalée par Canellas et al. [313]. Des concentrations de polyamines sont aussi positivement identifiées dans la présente étude, elles sont aussi considérées comme des phytohormones et sont biologiquement actives. On retrouve aussi dans le LVC, une riche population microbienne à savoir les bactéries, les moisissures et les actinomycètes [324]. Selon Pramanik [325], différentes enzymes hydrolytiques et protéolytiques sont présentes dans le vermicompost.

La détection et la quantification réussies de phytohormones, polyamines, acides humiques et polyphénols dans le LVC prouvent la riche diversité en produits biologiquement actifs du LVC qui peuvent sans aucun doute contribuer aux nombreuses réponses physiologiques favorables des plantes traitées au LVC dans des conditions favorables et stressantes.

En raison des interactions complexes entre les vers de terre et les microorganismes durant le vermicompostage [326], une composition chimique réelle d'un lot de VC particulier pourrait être imprévisible. La teneur en régulateurs de croissance dans le VC varie significativement selon l'espèce de vers de terre utilisée pour sa production [327]. La nature du substrat parental utilisé lors du vermicompostage peut affecter les propriétés biologiques du produit final, ainsi différents VC issus de différents déchets organiques (e.g. fumier de bovin, déchets alimentaires et déchets de papeterie) révèlent différents effets sur les divers aspects de la croissance, la germination et le rendement du poivron [328] et de Pétunia [54].

2. Impact des différents modes d'application du vermicompost (LVC) sur la résistance de la tomate (*Solanum lycopersicum* cv. Ailsa Craig) à la salinité

2.1. Impact de l'application du vermicompost en post stress (phase de récupération)

Dans la présente étude, le LVC est appliqué sur des plantes ayant subi un court stress. Selon nos résultats, l'apport du LVC en post stress (curatif) n'a aucun effet significatif sur la plante. Les plantes exposées à la salinité arrivent à récupérer une fois que le stress est levé de la même manière que lorsqu'elles sont traitées au vermicompost. Ces résultats suggèrent qu'une courte durée de stress au NaCl produit un effet réversible sur la croissance, le statut hydrique, les échanges gazeux ainsi que la fluorescence chlorophyllienne. Chez *Pisum sativa* L., l'effet d'une courte période de stress salin (70 mM pendant 48h) et la récupération (post stress 24h à 48h) sur la croissance, le statut hydrique et l'activité des enzymes antioxydants a été étudié. Avec l'arrêt du stress, la croissance, le statut hydrique ainsi que l'activité des enzymes SOD et APX sont améliorés, leurs valeurs sont similaires à celles du contrôle [103]. Khan & Panda [70], ont comparés les altérations causées par une courte période de stress (24 h avec 0,50 mM, 100 mM et 150 mM de NaCl) et une période de récupération (24h de post stress) sur la croissance, le statut hydrique, la nutrition minérale, la peroxydation des lipides et les antioxydants dans les racines de deux cultivars de riz. Les racines ne pouvaient pas récupérer les dommages causés par le NaCl, ceci est indiqué par le poids frais et sec qui reste toujours inférieurs même après l'arrêt du stress. Tandis que la teneur relative en eau augmente pendant le post stress et avoisine celle du contrôle. Les valeurs de MDA et H₂O₂ diminuent alors que le système antioxydant enzymatique (CAT et POX) et non enzymatique (Ascorbate et glutathion) augmente pendant le post stress. Une post-application de l'acide jasmonique (AJ) sur des plantes de riz ayant subi un stress salin est plus efficace comparé à son application avant ou pendant le stress. La post-application de l'AJ améliore les activités photosynthétiques, le potentiel hydrique ainsi que l'accumulation de K⁺, Ca⁺², Mg⁺² et la réduction de l'absorption de Na⁺ [210].

2.2. Impact de l'application du vermicompost en prétraitement (préventif) et en concomitance avec le stress salin

Dans la plupart des études, le LVC est appliqué au moment de l'installation du stress tandis que dans la présente étude, le LVC est apporté soit en prétraitement avant l'installation du stress, soit au moment de l'installation du stress. Le schéma ci-dessous (Fig. IV.1), indique les différentes réponses physiologiques et biochimiques de jeunes plantes de tomate exposées à une courte période de stress et traitées au LVC selon les deux modes : en prétraitement et en concomitance avec le sel.

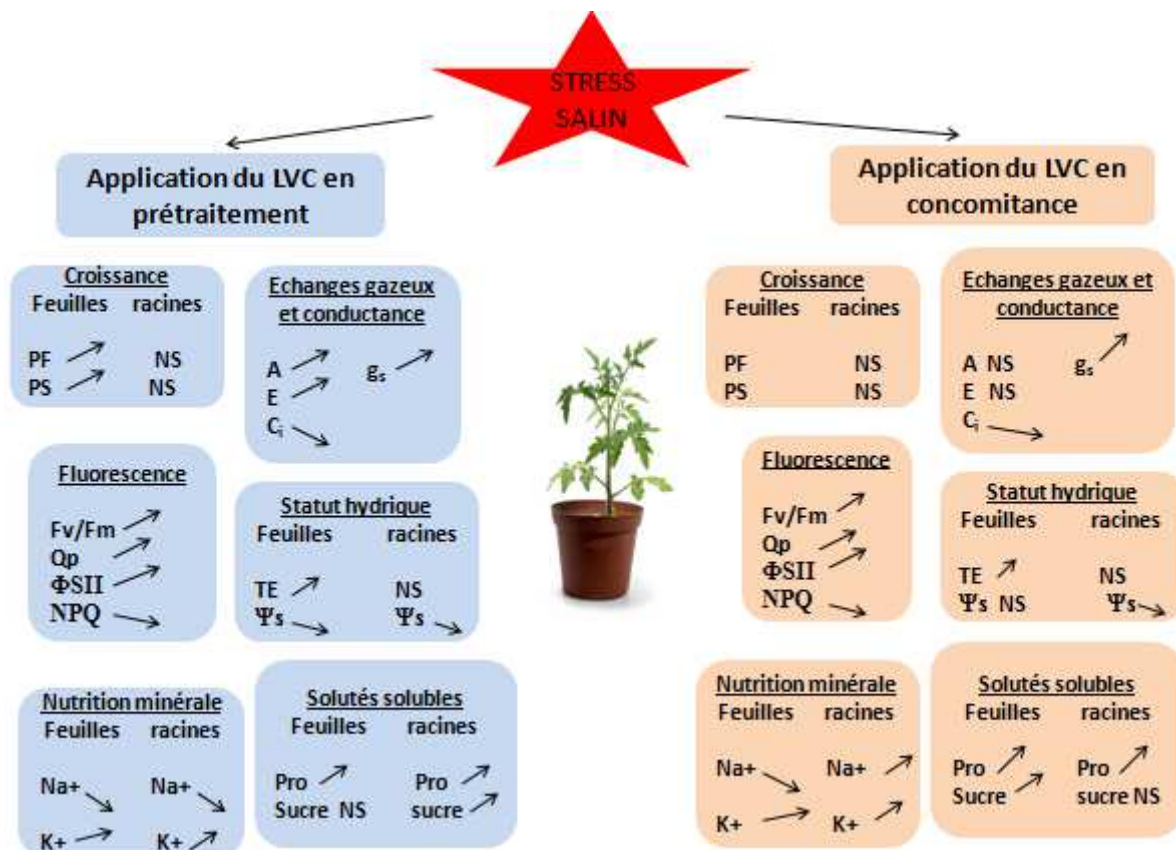


Figure IV.1. Aperçu comparatif des réponses à la salinité (125 mM de NaCl pendant 7 jours) et à l'application du LVC selon deux modes différents chez *Solanum lycopersicum*.

Le VC et le LVC sont utilisés pour améliorer le rendement, la qualité de la tomate dans différents systèmes, des champs aux serres et en culture hydroponique [35-37, 53, 258, 329] et des résultats similaires sont rapportés sur d'autres espèces de plante [306, 330-332].

Dans la présente étude, l'application de LVC en absence de NaCl n'a pas d'avantage évident. Les paramètres de croissance, la teneur en ions et les paramètres liés à la photosynthèse n'ont pas été affectés par l'application du LVC, seule la concentration

en sucres racinaires a légèrement augmenté en réponse du LVC dans les plantes non stressées. En revanche, d'autres études montrent que le VC ou le LVC en absence de NaCl, stimule de manière significative la croissance des plantes de tomate en terme de longueur des racines et des tiges, le poids frais des racines, des pousses et le diamètre des tiges [39, 307, 329].

Souvent les plantes sont cultivées sur sol et l'amélioration de leur performance peut être attribuée à la structure améliorée et à la population microbienne du sol [333]. Selon Zucco et al. [34], l'impact de l'application du LVC sur les performances de la tomate est fonction du type de sol utilisé pour la culture.

Dans la présente étude, les plantes sont maintenues sur une solution nutritive comme substrat, et l'impact du LVC sur la structure du sol, la taille des agrégats et la capacité de rétention d'eau du substrat ne sont pas des facteurs à considérer.

Arthur et al. [286], ont démontré que le LVC peut atténuer l'impact du déficit en K et P chez la tomate. Durant notre expérience, les plantes non stressées poussent dans un milieu nutritionnel optimal, avec la présence de tous les éléments nécessaires à la croissance et au développement des plantes. Plusieurs auteurs ont utilisé le VC pendant de longues périodes, du stade plantule au stade de la reproduction afin de considérer l'impact du VC sur la taille et la qualité du fruit, tandis que pour notre étude, nous nous sommes concentrés sur le stade plantules et une courte durée de traitement au LVC (7jours). En plus, Zaller [258], a démontré que l'impact du LVC peut dépendre de la variété de tomate, alors que Arancon et al. [53], rapporte une large variabilité dans la composition du LVC en fonction de la nature des déchets organiques utilisés pour le vermicompostage. Selon ces auteurs, différents LVC peuvent avoir différents impacts sur la croissance de la tomate. Par conséquent, les différences des systèmes de culture, du génotype sélectionné et de la composition du LVC peuvent expliquer l'absence d'impact sur les plantules non stressées. La situation est différente pour les plantes exposées au NaCl puisque l'application exogène de LVC avant et durant le stress atténue les effets délétères de la salinité (Fig. IV.1).

Le stress salin diminue significativement le poids frais et sec des feuilles, réduit la TE des feuilles, augmente fortement la concentration en Na⁺ des feuilles et des racines et diminue la concentration en K⁺. La salinité diminue aussi g_s, A, E, ainsi que Fv/Fm, qp et φPSII, tandis qu'elle augmente NPQ (Fig. IV.1).

L'apport du LVC en concomitance avec le NaCl abolit la diminution du PF des feuilles induit par le stress salin, ce qui confirme son rôle dans la résistance de *Solanum lycopersicum* au stress salin [39]. Le même effet protecteur (positif) est rapporté chez le tournesol [334] et la menthe poivrée [332].

Le présent travail démontre que l'application du LVC durant le stress salin améliore la TE des feuilles confirmant ainsi que le LVC réduit également le stress hydrique

induit par le stress salin. Un tel effet ne peut pas être dû à la fermeture des stomates puisque g_s augmente avec l'application du LVC. Chinsamy et al. [38], suggèrent que le LVC peut améliorer l'ajustement osmotique en condition de stress hydrique par l'accumulation de proline et de sucres solubles.

Bien que l'application du LVC pendant le stress salin induit une augmentation de la proline par rapport aux plantes non traitées et exposées au NaCl, cette augmentation n'était pas suffisante pour réduire considérablement le Ψ_s des feuilles. Par contre, le Ψ_s des racines de plantes traitées au LVC et au NaCl au même temps est plus faible que celui des plantes exposées seulement au NaCl, cela peut être dû, du moins en partie à l'accumulation des sucres. L'augmentation de la proline suite à l'application du LVC reste à élucider. Il a également été enregistré en absence de stress salin chez la tomate [309]. Bien que l'augmentation de la glutamate déshydrogénase (EC 1.4.1.2) et la glutamine synthase (EC 6.3.1.2) ont un rôle dans la synthèse du précurseur de la proline, Jabeen & Ahmad [334], ont démontré que le VC n'a pas d'impact sur l'activité de ces enzymes chez *Helianthus annuus* exposé au stress salin. En outre, la proline n'augmente pas toujours en réponse à l'application du LVC. Xu et al. [332], rapportent que le VC protège *Silybum marianum* et *Mentha haplocalyx* du stress salin et que la proline par conséquent diminue suite à la réduction de l'intensité du stress.

L'absorption monovalente et la translocation des racines vers les pousses peuvent être une autre cible pour l'effet bénéfique du LVC chez les plantes exposées au stress. L'application du LVC réduit la concentration en Na^+ dans les feuilles des plantes exposées à la salinité mais augmente celle des racines, ce qui suggère que le LVC peut réduire la translocation du Na^+ des racines vers les parties aériennes, ce qui est une stratégie efficace de résistance à la salinité chez la tomate *Ailsa Craig* [163]. En revanche, la teneur en K^+ des racines des plantes traitées au LVC et au NaCl augmente, alors qu'elle baisse légèrement chez les plantes exposées au NaCl en absence de LVC (Fig. IV.1).

Le K^+ est présent dans le LVC, qui est couramment utilisé comme engrais (NPK) [331]. Cependant, la concentration en K^+ augmente dans les racines des plantes traitées au LVC en présence de NaCl, mais pas en son absence, ce qui suggère que dans nos conditions expérimentales, la salinité a interagit avec le LVC pour améliorer la nutrition en K^+ .

Les substances humiques présentes dans le LVC peuvent interagir avec les transporteurs membranaires comme l'ont déjà démontré Canellas et al. [313] pour l' H^+ -ATPases et Quaggiotti et al. [335] pour les nitrates. Dans cette dernière étude, les substances humiques ont même stimulé l'expression de gènes codant pour deux transporteurs de nitrate chez le maïs. Par conséquent, les interactions du LVC avec les transporteurs de K^+ ne sont pas à exclure, mais l'impact spécifique du NaCl sur cette interaction nécessite encore d'autres études.

Il est à noter, qu'en termes d'amélioration de la résistance à la salinité, le LVC appliqué en prétraitement, avant le stress est plus efficace que le LVC appliqué au même temps avec le NaCl. En effet, une application préventive de LVC entraîne un meilleur ajustement osmotique à la fin de la période de stress (Tableau III.7). Il a également réduit la teneur en Na⁺ dans les racines et les feuilles, suggérant que c'est l'absorption de Na⁺ qui a été modifiée dans ces circonstances plutôt que sa translocation. Cette application préventive du LVC a également augmenté la concentration en K⁺ et en proline dans les feuilles, ainsi que la teneur en sucres dans les racines.

L'impact de l'application préventive du LVC sur les paramètres liés à la fluorescence confirme que les plantes prétraitées et stressées présentaient une plus grande stabilité et efficacité du ϕ PSII comparées aux plantes traitées au LVC et au NaCl simultanément. De plus, l'application du LVC en prétraitement a contribué à l'ouverture des stomates pendant l'exposition au stress salin, ce qui permet d'entretenir les échanges gazeux et la photosynthèse nette, sans avoir d'impact néfaste sur l'état hydrique de la plante, qui semblait être régulée efficacement par l'ajustement osmotique, alors que l'application de LVC en absence de NaCl n'a induit aucune modification morphologiques dans nos conditions expérimentales, il semble qu'elle modifie l'état physiologique de la plante afin d'être plus efficace avec le stress salin lorsque le NaCl a été appliqué.

Le LVC pourrait donc être appliqué en prétraitement afin de renforcer la résistance des plantes à la salinité. Les mécanismes sous-jacents soutenant de telles adaptations pourraient être liés aux propriétés hormonales du LVC. Il est bien établi que les acides humiques isolés du compost de vers de terre présentent des propriétés d'auxines et que des molécules bioactives telle que l'acide indole acétique s'accumulent avec l'agencement supramoléculaire d'acide. Le statut hormonal a un rôle clé dans la réponse au stress salin chez le genre *Solanum* [163]. C'est particulièrement le cas des cytokinines agissant comme des hormones anti sénescences. L'accumulation des cytokinines améliorent significativement la résistance de la tomate à la salinité [336]. Le LVC utilisé dans la présente étude renferme un large éventail de Phytohormones. La riche diversité du présent LVC en phytohormones ainsi que leur diaphonie pourraient inévitablement contribuer aux différentes favorables réponses physiologiques au stress salin élicitées par le traitement des plantes au LVC.

Bien que certaines études ont également rapporté la présence d'acide absissique (ABA) dans le VC, García et al. [337] ont rapporté que les acides humiques peuvent réduire le niveau interne d'ABA ou empêcher l'augmentation du taux de ABA endogène induit par le stress. Une augmentation des CKs associées à la réduction d'ABA pourrait expliquer le maintien des valeurs élevées de g_s chez les plantes stressées.

L'actuelle hypothèse pourrait être que l'exposition au LVC avant le NaCl conduit à une forte conductance stomatique permettant le maintien du flux transpiratoire. En conséquence, la plante accumule des phytohormones protectrices ou des antioxydants à partir du LVC et qui seront déjà présents dans les tissus au moment de l'apport du NaCl.

3. Le profil hormonal de *Solanum lycopersicum* cv. Ailsa Craig traitée au LVC et exposée au stress salin en relation avec la synthèse de proline, la réduction de Na⁺ et l'accumulation de K⁺, Mg⁺² et Ca⁺².

Contrairement aux animaux, la plante peut continuellement cesser et reprendre la croissance. Cette flexibilité dans leur architecture et leurs modèles de croissance est due en partie aux phytohormones. Les hormones végétales sont des composés structurellement divers agissant à de faibles concentrations, de l'ordre du nanomolaire [194]. Les phytohormones sont considérées comme étant les substances endogènes les plus importantes dans la modulation des réponses physiologiques conduisant à l'adaptation aux conditions environnementales défavorables à savoir la salinité [15]. Le niveau endogène de ces composés pourrait aider à prédire les mécanismes de tolérance ou de susceptibilité des plantes car de nombreuses protéines exprimées par les plantes soumises au stress sont induites par les phytohormones [219]. Les teneurs en phytohormones endogènes pourraient être utilisées comme paramètre de sélection des espèces sensibles et des espèces tolérantes au sel. Une forte concentration en ABA et éthylène en condition de salinité a été enregistrée chez les génotypes de tomates tolérantes comparées aux génotypes sensibles au NaCl [206].

Le stress salin affecte défavorablement la croissance des plantes [189, 221] et les résultats de la présente étude confirment l'effet négatif du NaCl. Dans notre étude, nos résultats montrent que le stress salin inhibe significativement les poids frais et sec des plants de *S. lycopersicum*, toutefois l'application du LVC atténue les effets délétères du NaCl sur la croissance. Une augmentation significative des poids frais et secs a été observée, ceci étant en association avec la diminution du potentiel osmotique racinaire, l'augmentation de la proline au niveau des feuilles, l'augmentation de la concentration en K⁺ au niveau des racines et des feuilles, et la diminution de Na⁺ au niveau des feuilles. Ces résultats sont en accord avec ceux de Benazzouk et al. [338]. Selon les mêmes auteurs, le LVC réduit le potentiel osmotique des racines, en partie par l'accumulation des sucres, et que le LVC peut réduire la translocation du Na⁺ des racines vers les feuilles, ce qui explique la forte accumulation de Na⁺ au niveau racinaire.

L'analyse des hormones des plantes exposées au NaCl en présence ou en absence du LVC indique un profil hormonal très contrasté selon le traitement et le compartiment (i.e. racine et feuilles) et même selon l'âge des feuilles. Les résultats

montrent qu'au niveau des racines, la salinité diminue la concentration en ABA et ses métabolites (total ABA), ABz, ACC et augmente celle des JA, APA, AS et les auxines tandis que l'application du LVC augmente l'ABA et ses métabolites et diminue les auxines, AS, ACC, APA et JA et n'a aucun effet significatif sur la concentration en CKs et ABz comparées au traitement au NaCl. L'application du LVC+NaCl augmente la concentration de l'acide jasmonique isoleucine JA-Ileu, qui est considérée comme étant la forme active de l'acide jasmonique, bien que ce composé soit absent dans le LVC, ce qui suggère que la plante en présence du LVC pourrait modifier la synthèse de ses hormones endogènes comparées à celles synthétisées en condition de salinité. Trans ZROG est une cytokinine présente dans le LVC mais qu'on ne retrouve pas dans la plante traitée au LVC, ce qui suggère que la plante n'utilise pas toujours tous les composés présents dans le LVC et quelle absorbe sélectivement ce qui est fourni par le LVC. Au niveau des feuilles F 2-3, la salinité augmente les CKs, ABA et ses métabolites, SA, ABz, APA et ACC et n'a aucun effet sur la concentration en jasmonates et en auxines. Le traitement NaCl+LVC diminue les CKs, AS, ABz, APA et ACC et augmente les auxines. L'application du NaCl+LVC augmente la concentration en acide jasmonique comparée au traitement au NaCl, bien que ce composé existe en faible concentration dans le LVC et augmente aussi la teneur en JA-Ileu qui n'est pas détecté dans le LVC, ce qui confirme encore une fois que la plante en présence du LVC pourrait modifier la synthèse endogène de ses phytohormones, probablement par l'action d'autres hormones. Au niveau des feuilles F 5-6, la salinité augmente la concentration en transZ-types, DHZ-types, l'acide jasmonique, JA-Ileu, AS, APA, et ACC et diminue celle des IAA. L'application du LVC en présence du NaCl augmente la concentration en acide jasmonique, AJ-Ileu, IAA, et transZ-types et diminue celle d'APA, ACC et ABA et ses métabolites. Les cytokinines tZORG, cisZORG, iP, iPRMP et l'auxine IAA-Glutamate (IAA-Glu) sont détectées dans le LVC mais pas dans les feuilles des plantes traitées au LVC, ce qui confirme l'hypothèse de sélectivité des composés absorbés par la plante. Ces résultats correspondent au statut hormonal ayant permis l'amélioration de la résistance à la salinité de *S.lycopersicum* traité au LVC. Selon Gharbi et al. [163], le statut hormonal a un rôle clé dans la réponse au stress salin chez le genre *Solanum*.

La faible croissance des plantes en condition de salinité pourrait être le résultat d'un déséquilibre hormonal [192]. Le changement des concentrations en hormones dans les tissus végétaux sont considérés comme un processus initial contrôlant les effets délétères de la salinité sur la réduction de la croissance, cette dernière peut être levée par l'application de régulateurs de croissance [339]. Ceci est en accord avec nos résultats, qui montrent des changements de concentrations en hormones végétales selon que la plante soit exposée au NaCl ou au LVC en présence ou en absence de NaCl.

L'ajustement osmotique via l'accumulation d'osmolytes telle que la proline et les sucres est l'une des stratégies adoptées par la plante pour faire face au stress osmotique et hydrique induit par le stress salin. En plus de son rôle comme

osmoregulateur, la proline peut agir comme osmoprotectant dans la détoxification des ROS résultant du stress oxydatif. Plusieurs auteurs rapportent le rôle des phytohormones dans la régulation du métabolisme de la proline et ainsi dans la tolérance à la salinité [13, 340]. Selon Gharbi et al. [163], la capacité à utiliser les ions inorganiques comme osmoticum pour l'ajustement osmotique aurait amélioré la tolérance au sel de *S. chilense* et que des phytohormones pourraient être impliquées dans ce processus. Les processus physiologiques sont régulés par le croisement ou l'interaction de plusieurs hormones [194].

Dans la présente étude, l'application exogène d'un cocktail de composés biologiquement actifs présents dans le LVC à savoir les phytohormones a permis l'amélioration de la résistance à la salinité de *S. lycopersicum*. À ce stade, il est difficile de déterminer le rôle ainsi que la contribution de chaque hormone présente dans le LVC. Nos résultats suggèrent que le changement du phénotype de la plante après l'application du LVC résulte soit de la modulation de la biosynthèse, la quantité et les ratios des CKs, auxines, ABA, APA, ABz, AS, JA et ACC produites de manière endogène, soit de l'utilisation des hormones présentes dans le LVC et absorbées par la plante, soit par les deux processus. Le mécanisme de stimulation de la biosynthèse des hormones dans les plantes traitées au LVC est probable.

Dans leur étude, Wally et al. [341], ont tenté d'identifier les mécanismes par lesquels l'application d'extrait d'algue *Ascophyllum nodosum* modifie les teneurs en phytohormones dans la plante en quantifiant les changements des concentrations ainsi que l'abondance de la transcription des gènes responsables des métabolismes de ces phytohormones. Selon ces auteurs, les phytohormones présentes dans l'extrait d'algue sont insuffisantes pour causer tout effet significatif dans la plante lorsque l'extrait est appliqué à la dose recommandée. Toutefois, les composés présents dans l'extrait d'algue ont modulés les voies de biosynthèse des phytohormones dans la plante. Ces auteurs rapportent une augmentation des CKs à savoir les *tranZ*-types et *cisZ*-types, ainsi que l'ABA et ses métabolites, tandis qu'une diminution des auxines est observée. La même tendance est observée concernant l'expression des gènes impliqués dans la biosynthèse de ces phytohormones.

Les CKs sont impliquées dans plusieurs processus de développement de la plante. Elles jouent un rôle important dans les réponses au stress, mais n'agissent pas seules. Le control hormonal du développement de la plante et l'adaptation au stress sont le résultat d'un réseau complexe avec de multiples interactions synergiques et antagonistes entre les hormones [342]. Comprendre le rôle de chaque phytohormone ou sa diaphonie avec d'autres phytohormones fournirait des informations cruciales sur les mécanismes moléculaires conférant une adaptation aux sols salins [15].

Plusieurs études rapportent l'application exogène de phytohormones comme une approche pragmatique pour faire face au stress salin avec un certain degré de succès dans l'atténuation des effets néfastes de la salinité. L'application foliaire

d'acide jasmonique réduit les dommages causés par le NaCl en améliorant l'activité des enzymes antioxydants ainsi que la concentration en composés antioxydants [221]. La post-application de l'acide jasmonique améliore les paramètres de l'activité photosynthétique et le potentiel hydrique des plantes de riz stressés au NaCl [210]. Selon ces auteurs, l'application de l'acide jasmonique pourrait changer l'équilibre des hormones endogènes, ce qui fournit un indice important pour comprendre le mécanisme de protection contre le stress salin. selon Gurmani et al.[214], l'ABA joue un rôle dans l'amélioration de la tolérance à la salinité du riz en influençant ou régulant l'absorption et le transport de Na⁺. L'application de GA₃ atténue les effets néfastes du NaCl par la régulation de la balance hormonale. Ces auteurs rapportent une augmentation des gibbérellines actives GA1 et GA4 et de l'acide jasmonique ainsi que la réduction de l'ABA et l'AS chez le tournesol [219] aidant ainsi la plante à reprendre sa croissance et son développement. Amjad et al. [206], ont investigué l'implication des phytohormones dans la tolérance au sel ainsi que l'interaction entre le K⁺ et les phytohormones chez 2 génotypes de tomate (tolérante et sensible). Ces auteurs rapportent une forte accumulation de l'éthylène et de l'ABA chez le génotype tolérant. Selon ces auteurs, ceci est un des facteurs responsables de la tolérance à la salinité. L'application du K⁺ réduit significativement la concentration en hormones, ce qui indique que le K⁺ réduit l'impact négatif du NaCl et ainsi réduit la concentration en hormones. Le K⁺ agit comme un agent améliorant et réduit ainsi l'effet négatif du stress salin. En plus des phytohormones, le LVC utilisé dans la présente étude renferme du K⁺ qui pourrait contribuer à l'allègement des effets défavorables du stress salin.

4. le lixiviat de vermicompost (LVC) en tant qu'agent prometteur pour le priming et le rajeunissement des graines de *Brassica napus* en germination en conditions de contrôle et de salinité

L'amélioration de la germination des graines en condition de salinité est un vrai challenge pour les sélectionneurs et les agriculteurs. En tant que sous-produit respectueux de l'environnement et issu de la digestion de la matière organique par des vers de terre, le vermicompost ou le lixiviat de vermicompost (LVC) possède des propriétés intéressantes pour cet effet. L'étude montre que le LVC est particulièrement efficace lorsqu'il est utilisé comme agent de priming ou d'amorçage. Il améliore la germination et la croissance des jeunes plantules en présence de NaCl. Par ailleurs, ses effets varient selon le cultivar et / ou l'âge des graines. En plus, le lixiviat de vermicompost semble être un composé de rajeunissement intéressant capable de limiter les effets délétères du vieillissement dans les anciens lots de semences. Plusieurs études rapportent le rôle du vermicompost dans l'amélioration de la germination des graines de différentes espèces [54, 55, 343, 344].

Cette étude suggère que c'est particulièrement le cas pour les lots de semences âgées : le pourcentage de germination finale des graines de cv. Libomir a augmenté de plus de 70% après traitement au LVC.

Le vieillissement des semences résultent souvent des dommages causés par les radicaux libres, à savoir le H_2O_2 , souvent considéré comme le plus critique en raison de sa stabilité au pH biologique et de sa capacité à traverser les membranes [345]. Cela peut être particulièrement le cas dans les graines riches en huile stockées dans des conditions non optimales [346]. Malondialdéhyde (MDA) est un indicateur du stress oxydatif rencontré au niveau des tissus végétaux. Dans la présente étude, la concentration en MDA des graines non primées était similaire pour les deux cultivars (Fig III.19) et le pourcentage de germination inférieur de cv. Libomir pourrait donc difficilement être expliquée par la théorie des radicaux libres. D'autres changements biochimiques et structurels peuvent également survenir à la suite du vieillissement des semences, mais nos travaux suggèrent que le LVC pourrait contribuer à la réparation des processus si les dommages accumulés ne sont pas irréversibles. En revanche, Le LVC n'a eu qu'un impact mineur sur cv. Harry, probablement parce que ce lot de semences était intact et présentait déjà un pouvoir germinatif optimal dans des conditions de contrôle. Le LVC a modifié l'élongation des jeunes plantules dans des conditions de contrôle. Bien qu'il n'ait pas modifié les poids des plantules, le LVC a clairement augmenté la longueur de l'hypocotyle. Ceci est en accord avec l'effet rapporté par Arancon et al. [53], qui l'attribue à la présence de phytohormones dans son vermicompost. Selon Kanto et al. [347], le vieillissement artificiel des graines de riz modifie l'élongation des plantules. Les plantules du cv.Libomir sont inférieures à celles du cv.Harry. Le LVC utilisé dans la présente étude renferme différents groupes de phytohormones, à savoir les cytokinines et les auxines (Tableau II.2 et 3). Les gibbérellines accélèrent la germination des graines et l'élongation des cellules et ont un effet positif sur la germination du colza [50]. Cependant, les gibbérellines demeurent en dessous du niveau de détection dans notre LVC. Ceci est en contraste avec les données rapportées par Arancon et al. et Singh et al. [53, 318], qui indiquent la présence de gibbérellines dans le LVC, ce qui confirme la variabilité du LVC selon la matière organique utilisée et les conditions du vermicompostage [30, 271, 311, 344].

L'avantage du LVC en présence du NaCl n'était pas évident. En effet, le LVC n'a eu que peu d'effet sur les valeurs de GT et a même augmenté le T50 comparativement au traitement NaCl seul. Chez cv. Harry, Na^+ s'accumule légèrement dans les plantules traitées au LVC. Le LVC utilisé dans la présente étude renferme 40mM de Na^+ . Cependant dans la présente étude, le LVC est utilisé après dilution 10 fois, c'est pourquoi la présence supplémentaire de Na^+ n'a pas entraîné une teneur plus élevée en Na^+ dans les graines exposées au NaCl. La salinité induit également une diminution de K^+ chez cv. Libomir tandis que l'apport du LVC, qui contient du potassium, a augmenté la teneur en K^+ des deux génotypes, mais cela n'a pas été suffisant pour augmenter le pourcentage de germination, ce qui suggère que la carence en K^+ n'est pas responsable de la diminution de la capacité de germination induite par la salinité.

La proline a un rôle clé dans la tolérance au NaCl [11, 80], toutefois ce composé n'a pas été détecté dans notre LVC (Benazzouk & Lutts, données non publiées). Cependant, la salinité a augmenté la teneur en proline chez cv. Libomir uniquement et cette synthèse a même été augmentée en présence de LVC sans impact clair sur la germination finale, ce qui suggère que l'augmentation de la proline est restée insuffisante pour fournir une résistance supplémentaire à la salinité. Il est à noter que l'impact positif du LVC sur la tolérance au sel en phase de germination était plus important lorsque le LVC était utilisé comme agent de priming que comme milieu de germination. Les graines de Libomir primées au LVC et mises en germination en présence de NaCl présentent des valeurs de GT et IG de l'ordre de 87,33% et 55,19 % respectivement (Table III.13). Tandis que les graines non primées et mises en germination dans un milieu additionné de LVC présentent des valeurs de GT et IG de l'ordre de 26,67% et 5,47 % respectivement (Table III.11). Selon Benazzouk et al. [338], le LVC appliqué en prétraitement, avant le stress salin était plus efficace dans l'atténuation des effets néfastes de la salinité comparé à son application concomitamment avec le NaCl. La présente étude suggère une situation similaire en phase de germination et renforce l'hypothèse que l'impact métabolique du LVC nécessite suffisamment de temps pour fonctionner complètement.

Kubala et al.[299], ont indiqué que le priming des graines de colza est un processus moléculaire complexe et que toutes les phases de priming à savoir le trempage, la déshydratation et la germination post-priming déclenchent l'expression de gènes spécifiques et la synthèse de protéines. Selon ces mêmes auteurs, des changements dans l'expression des gènes pourraient même être influencés par des changements épigénétiques tels que la méthylation de l'ADN, tandis que Marconi et al. [348], ont démontré que la salinité se produisant après le priming peut également induire une méthylation de l'ADN chez le colza. Selon Kubala et al. [51], le priming déclenche l'expression des gènes impliqués dans la synthèse de la proline (P5CSA codant pour la pyrroline-5-carboxylate synthétase) et inhibe le gène codant pour la proline déshydrogénase impliquée dans la dégradation de la proline. Lors du priming, la déshydratation des graines après la phase d'imbibition peut être considérée comme une phase de stress qui renforce la graine pour une germination ultérieure dans une solution saline. Par conséquent, la concentration en proline est plus élevée dans les graines primées comparées aux graines non traitées (Fig III.19). Cependant, durant la germination, une forte accumulation de la proline n'a été enregistrée que dans les graines âgées de cv.Libomir et aucune différence n'a été observée chez cv.Harry. Ceci est en accord avec les données de Kanto et al. [347], qui ont rapporté qu'un traitement de priming peut avoir des effets distincts sur un même paramètre et ce en fonction de l'âge du lot des semences concernées. Singh et al. [318], ont rapporté que le traitement au LVC diminue la concentration en proline chez *Phaseolus vulgaris*. Il est à noter que les graines amorcées ou primées de cv. Libomir germant en présence de NaCl présentaient une teneur en proline inférieure mais un pourcentage de germination plus élevé comparées aux graines non primées, ce qui

suggère une fois de plus qu'une teneur élevée en proline n'est pas une condition préalable de germination en présence de NaCl.

Certains composés présents dans le LVC ont été considérés comme des agents de priming efficaces. C'est le cas des acides humiques qui influencent fortement l'expression des gènes impliqués dans le métabolisme des gibbérellines et de l'acide abscissique [349]. Les composés phénoliques agissant en tant qu'antioxydant peuvent également être d'une importance primordiale pour la germination en présence de NaCl et la teneur en MDA a en effet diminué dans les graines primées comparées à celles non traitées (Fig III.19). Kibinza et al. [345], ont démontré que chez le tournesol, la catalase impliquée dans la détoxification de H₂O₂ est une enzyme clé permettant le rajeunissement des graines après priming. Plusieurs études ont rapporté l'utilisation des phytohormones comme agent de priming et ont démontré leurs efficacités [235, 243, 350]. Les polyamines sont des molécules auxquels on attribue des fonctions protectrices des plantes à différents stades de développement et les trois principales polyamines (putrescine, spermidine, spermine) sont présentes dans le LVC utilisé pour cette étude (Tableau III.1). Le priming avec les polyamines augmente la capacité de germination ainsi que la vigueur des semences de tomate [351]. La présence de cytokinines agissant comme des hormones antisenescentes peut également être avantageuse pour les graines et les jeunes plants exposés au NaCl [321]. On ne peut pas donc exclure que l'efficacité du LVC en tant qu'agent de priming dans l'amélioration de la tolérance à la salinité des graines ainsi que des jeunes plantules soit la conséquence ultime de la présence de plusieurs composés molécule.

La figure IV.2. représente un schéma comparatif de l'effet des différents traitements au LVC (i.e. LVC additionné au milieu de germination et LVC appliqué comme agent de priming) sur la germination des graines de *B. napus* et la tolérance des plantules au stress salin.

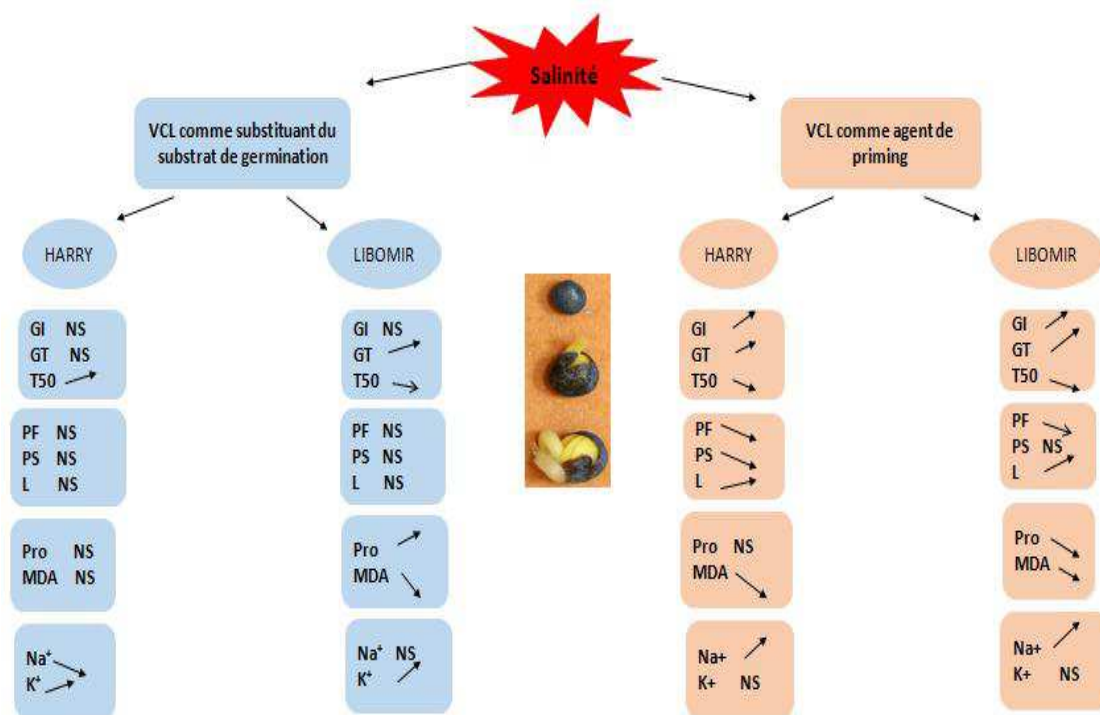


Figure IV.2. Schéma comparatif de l'impact des différents traitements au LVC (i.e. LVC additionné au milieu de germination et LVC comme agent de priming) sur la germination et la croissance de *B.napus* en conditions de salinité.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Conclusion générale et perspectives

Le but de cette recherche a été de caractériser un lixiviat de vermicompost (LVC) produit à partir de déchets ménagers par le processus du vermicompostage et de déterminer son impact dans les réponses au stress salin. Les paramètres physiologiques, biochimique et hormonaux étudiés dans ce travail nous ont permis de faire apparaître certaines contributions intéressantes du LVC dans l'amélioration de la croissance ainsi que les réponses au stress salin. Un cocktail de composés a été identifié et quantifié dans le LVC tel que les nutriments (K^+ , Ca^{+2} et Mg^{+2}), les polyphénols, les anthocyanes, les sucres, les polyamines et différents groupes de phytohormones à savoir les CKs, les auxines, ABA et ses métabolites, ABz, APA, AS, AJ et ACC.

Différents traitements au LVC ont été investigués avec deux plantes modèles à savoir *Solanum lycopersicum* et *Brassica napus*.

Dans les conditions de stress appliquées durant notre expérience, nous avons montré que l'application du LVC en prétraitement est plus efficace que son application en concomitance avec le NaCl, bien que les deux modes d'application atténuent les effets néfastes du sel. En réponse à une courte période d'exposition à 150mM de NaCl, les plantules prétraitées au LVC (6ml/l) présentent un meilleur ajustement osmotique par la synthèse de solutés solubles, une meilleure stabilité et efficacité du PSII et un meilleur ratio K^+/Na^+ comparées aux plantes traitées concomitamment au LVC et NaCl. Toutefois, l'application du LVC en post stress n'a pas amélioré ou accéléré la récupération des plantes.

L'application du LVC en concomitance avec le NaCl a entraîné une modification de l'accumulation des phytohormones endogènes chez *S.lycopersicum*. Le statut hormonal résultant de ce traitement a aidé la plante à retrouver une croissance normale. Ceci étant en association avec l'augmentation de l'accumulation de la proline et du K^+ , la réduction du Na^+ et du potentiel osmotique racinaire.

Selon notre connaissance, c'est la 1^{ère} étude investiguant l'utilisation du LVC comme agent de priming. Le priming au LVC des graines de *B.napus* cv.Libomir et cv.Harry a amélioré leur germination en présence de NaCl, ceci est due en partie à une meilleure gestion du stress oxydatif induit par le stress salin. En plus de son rôle comme agent de priming efficace, le LVC agit comme un agent de rajeunissement, il a restauré des anciens lots de cv.Libomir en améliorant son pouvoir germinatif.

Les résultats confirment aussi, le rôle protecteur du LVC dans l'amélioration de la tolérance des plantes au NaCl à différents stades de croissance, d'où l'intérêt de l'appliquer en prétraitement ou comme agent de priming. Il n'est pas à exclure que ce

rôle puisse être la conséquence ultime de la présence simultanée de plusieurs composés en interaction plutôt que le résultat d'une seule molécule.

Il est à noter que nos conclusions concernant les réponses à la salinité en présence du LVC doivent être nuancées.

-Notre étude ayant porté sur le stade jeune plantules de *S. lycopersicum*, nous n'avons aucune indication si le comportement de *S. lycopersicum* reste le même à un stade avancé de développement et si la dose de LVC utilisées est suffisante pour pouvoir protéger la plante plus longtemps.

- Notre étude a été réalisée sur une seule espèce, c'est pourquoi une étude à une large gamme d'espèces permettra de généraliser et valider nos conclusions.

- Notre étude ayant porté sur une seule espèce et une courte période de post germination, nous n'avons aucune indication sur le comportement des plantes issues des graines primées à un stade plus avancé de croissance et le comportement d'autres espèces suite au priming.

-Nous ne sommes pas intéressés aux paramètres du stress oxydatif ainsi que la synthèse des antioxydants enzymatiques et non enzymatiques, c'est pourquoi il est intéressant d'investiguer le rôle du LVC dans la gestion du stress oxydatif induit par le stress salin.

- Tester le LVC dans la gestion d'autres types de stress abiotiques à savoir celui lié aux métaux lourds n'est pas à exclure.

- Pour mieux comprendre l'implication et l'impact des hormones présentes dans le LVC dans les voies de biosynthèse des hormones endogènes chez la plante traitée au LVC, l'étude de l'expression des gènes codants pour les différentes enzymes impliquées dans la synthèse de ces hormones est recommandée.

- Une approche de terrain est indispensable pour valider les résultats expérimentaux en situation réelle en tenant compte de l'influence des conditions climatiques et culturales.

Références bibliographiques

1. FAO, *Land and plant nutrition management service*. www.fao.org/wsfs/forum2050/. . 2009.
2. Hussain, S., et al., *Rice management interventions to mitigate greenhouse gas emissions: a review*. Environmental Science and Pollution Research, 2015. **22**(5): p. 3342-3360.
3. Parida, A.K. and A.B. Das, *Salt tolerance and salinity effects on plants: a review*. Ecotoxicology and environmental safety, 2005. **60**(3): p. 324-349.
4. FAO, <http://www.fao.org/news/story/fr/item/357221/icode/>. . 2015.
5. Ashraf, M. and P. Harris, *Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants*. Plant science, 2004. **166**(1): p. 3-16.
6. Romero-Aranda, R., T. Soria, and J. Cuartero, *Tomato plant-water uptake and plant-water relationships under saline growth conditions*. Plant science, 2001. **160**(2): p. 265-272.
7. Acosta-Motos, J.R., et al., *Plant Responses to Salt Stress: Adaptive Mechanisms*. Agronomy, 2017. **7**(1): p. 18.
8. Aloui, H., et al., *Germination and growth in control and primed seeds of pepper as affected by salt stress*. Cercetari agronomice în Moldova, 2014. **47**(3): p. 83-95.
9. Martínez, J.P., et al., *Salt stress differently affects growth, water status and antioxidant enzyme activities in Solanum lycopersicum and its wild relative Solanum chilense*. Australian Journal of botany, 2014. **62**(5): p. 359-368.
10. Semida, W.M. and M.M. Rady, *Pre-soaking in 24-epibrassinolide or salicylic acid improves seed germination, seedling growth, and anti-oxidant capacity in Phaseolus vulgaris L. grown under NaCl stress*. The Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 2014. **89**(3): p. 338-344.
11. Munns, R. and M. Tester, *Mechanisms of salinity tolerance*. Annu. Rev. Plant Biol., 2008. **59**: p. 651-681.
12. Peleg, Z. and E. Blumwald, *Hormone balance and abiotic stress tolerance in crop plants*. Current opinion in plant biology, 2011. **14**(3): p. 290-295.
13. Iqbal, N., et al., *A new perspective of phytohormones in salinity tolerance: regulation of proline metabolism*. Environmental and experimental botany, 2014. **100**: p. 34-42.
14. Gray, W.M., *Hormonal regulation of plant growth and development*. PLoS biology, 2004. **2**(9): p. e311.
15. Fahad, S., et al., *Phytohormones and plant responses to salinity stress: a review*. Plant growth regulation, 2015. **75**(2): p. 391-404.
16. Cuartero, J., et al., *Increasing salt tolerance in the tomato*. J Exp Bot, 2006. **57**(5): p. 1045-1058.
17. Flowers, T. and A. Yeo, *Breeding for salinity resistance in crop plants: where next?* Functional Plant Biology, 1995. **22**(6): p. 875-884.
18. Flowers, T., *Improving crop salt tolerance*. J Exp Bot, 2004. **55**(396): p. 307-319.
19. Aremu, A.O., et al., *Growth stimulation effects of smoke-water and vermicompost leachate on greenhouse grown-tissue-cultured 'Williams' bananas*. Plant growth regulation, 2012. **66**(2): p. 111-118.
20. González, M., et al., *Influence of organic amendments on soil quality potential indicators in an urban horticultural system*. Bioresource Technology, 2010. **101**(22): p. 8897-8901.
21. Alidadi, H., et al., *Combined compost and vermicomposting process in the treatment and bioconversion of sludge*. Iranian Journal of Environmental Health, Science and Engineering, 2005. **2**(4): p. 251-254.
22. Ibrahim, M.H., S. Quaik, and S.A. Ismail, *Vermicomposting: An Earthworm Mediated Waste Treatment Technique*, in *Prospects of Organic Waste Management and the Significance of Earthworms* 2016, Springer. p. 167-199.
23. Atiyeh, R., et al., *The influence of humic acids derived from earthworm-processed organic wastes on plant growth*. Bioresource Technology, 2002. **84**(1): p. 7-14.

24. Singh, R., et al., *Sequential foliar application of vermicompost leachates improves marketable fruit yield and quality of strawberry (Fragaria × ananassa Duch.)*. Scientia Horticulturae, 2010. **124**(1): p. 34-39.
25. Arthur, G.D., A.K. Jäger, and J. Van Staden, *The release of cytokinin-like compounds from Ginkgo biloba leaf material during composting*. Environmental and experimental botany, 2001. **45**(1): p. 55-61.
26. Campitelli, P. and S. Ceppi, *Chemical, physical and biological compost and vermicompost characterization: A chemometric study*. Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems, 2008. **90**(1): p. 64-71.
27. Suthar, S., *Evidence of plant hormone like substances in vermiwash: An ecologically safe option of synthetic chemicals for sustainable farming*. Ecological Engineering, 2010. **36**(8): p. 1089-1092.
28. Martinez-Balmori, D., et al., *Molecular characteristics of humic acids isolated from vermicomposts and their relationship to bioactivity*. Journal of agricultural and food chemistry, 2014. **62**(47): p. 11412-11419.
29. Theunissen, J., P. Ndakidemi, and C. Laubscher, *Potential of vermicompost produced from plant waste on the growth and nutrient status in vegetable production*. International Journal of Physical Sciences, 2010. **5**(13): p. 1964-1973.
30. Aremu, A.O., et al., *Evidence of phytohormones and phenolic acids variability in garden-waste-derived vermicompost leachate, a well-known plant growth stimulant*. Plant growth regulation, 2015. **75**(2): p. 483-492.
31. Ravindran, B., et al., *Influence of microbial diversity and plant growth hormones in compost and vermicompost from fermented tannery waste*. Bioresource Technology, 2016. **217**: p. 200-204.
32. Zhang, H., et al., *Analysis of phytohormones in vermicompost using a novel combinative sample preparation strategy of ultrasound-assisted extraction and solid-phase extraction coupled with liquid chromatography–tandem mass spectrometry*. Talanta, 2015. **139**: p. 189-197.
33. Hashemimajd, K., et al., *Comparison of vermicompost and composts as potting media for growth of tomatoes*. Journal of Plant Nutrition, 2004. **27**(6): p. 1107-1123.
34. Zucco, M.A., et al., *Effect of soil type and vermicompost applications on tomato growth*. International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture, 2015. **4**(2): p. 135-141.
35. Ávila-Juárez, L., et al., *Vermicompost leachate as a supplement to increase tomato fruit quality*. Journal of soil science and plant nutrition, 2015. **15**(1): p. 46-59.
36. Gutiérrez-Miceli, F.A., et al., *Vermicompost as a soil supplement to improve growth, yield and fruit quality of tomato (Lycopersicon esculentum)*. Bioresource Technology, 2007. **98**(15): p. 2781-2786.
37. Xiao, Z., et al., *Vermicompost increases defense against root-knot nematode (Meloidogyne incognita) in tomato plants*. Applied soil ecology, 2016. **105**: p. 177-186.
38. Chinsamy, M., M.G. Kulkarni, and J. Van Staden, *Vermicompost Leachate Reduces Temperature and Water Stress Effects in Tomato Seedlings*. HortScience, 2014. **49**(9): p. 1183-1187.
39. Chinsamy, M., M.G. Kulkarni, and J. Van Staden, *Garden-waste-vermicompost leachate alleviates salinity stress in tomato seedlings by mobilizing salt tolerance mechanisms*. Plant growth regulation, 2013. **71**(1): p. 41-47.
40. Yadav, P.V., M. Kumari, and Z. Ahmed, *Seed priming mediated germination improvement and tolerance to subsequent exposure to cold and salt stress in capsicum*. Research Journal of Seed Science, 2011. **4**(3): p. 125-136.
41. Singh, J., E.D. Sastry, and V. Singh, *Effect of salinity on tomato (Lycopersicon esculentum Mill.) during seed germination stage*. Physiology and Molecular Biology of Plants, 2012. **18**(1): p. 45-50.

42. Xu, S., et al., *Enhancement of salinity tolerance during rice seed germination by presoaking with hemoglobin*. International journal of molecular sciences, 2011. **12**(4): p. 2488-2501.
43. Akbarimoghaddam, H., et al., *Salinity effects on seed germination and seedling growth of bread wheat cultivars*. Trakia journal of Sciences, 2011. **9**(1): p. 43-50.
44. Khodarahmpour, Z., M. Ifar, and M. Motamedi, *Effects of NaCl salinity on maize (Zea mays L.) at germination and early seedling stage*. African Journal of Biotechnology, 2012. **11**(2): p. 298-304.
45. Ibrar, M., et al., *Salt tolerance potential of Brassica juncea Linn*. Journal of Science and Technology (Peshawar), 2003. **27**(1-2): p. 79-84.
46. AKRAM, N.A. and A. JAMIL, *Appraisal of physiological and biochemical selection criteria for evaluation of salt tolerance in canola (Brassica napus L.)*. Pak. J. Bot, 2007. **39**(5): p. 1593-1608.
47. FAO, *Agricultural Bulletin Board on Data Collection, Dissemination and Quality of Statistics*. Geneva: World Health

Organization. 2002.

48. Anastasi, U., C. Santonoceto, and M. Monti, *Growth and yield, water status and use of spring and winter rapeseed in relation to time of sowing*. Ceres, 2003. **3**(3.5): p. 4.0.
49. Ruan, C.-J., et al., *Halophyte improvement for a salinized world*. Critical Reviews in Plant Sciences, 2010. **29**(6): p. 329-359.
50. Benincasa, P., et al., *Effect of salinity and priming on seedling growth in rapeseed (Brassica napus var oleifera Del.)*. Acta Scientiarum. Agronomy, 2013. **35**(4): p. 479-486.
51. Kubala, S., et al., *Enhanced expression of the proline synthesis gene P5CSA in relation to seed osmopriming improvement of Brassica napus germination under salinity stress*. Journal of plant physiology, 2015. **183**: p. 1-12.
52. Pace, R., et al., *Germination of untreated and primed seeds in rapeseed (Brassica napus var Oleifera Del.) under salinity and low matric potential*. Experimental agriculture, 2012. **48**(2): p. 238-251.
53. Arancon, N.Q., et al., *Seed germination and seedling growth of tomato and lettuce as affected by vermicompost water extracts (Teas)*. HortScience, 2012. **47**(12): p. 1722-1728.
54. Arancon, N.Q., et al., *Influences of vermicomposts, produced by earthworms and microorganisms from cattle manure, food waste and paper waste, on the germination, growth and flowering of petunias in the greenhouse*. Applied soil ecology, 2008. **39**(1): p. 91-99.
55. Ilevinskaya, G., *Vermicompost treatment differentially affects seed germination, seedling growth and physiological status of vegetable crop species*. Plant growth regulation, 2011. **65**(1): p. 169-181.
56. Cirillo, C., et al., *Effects of high salinity and the exogenous application of an osmolyte on growth, photosynthesis, and mineral composition in two ornamental shrubs*. The Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 2016. **91**(1): p. 14-22.
57. Colla, G., et al., *Role of grafting in vegetable crops grown under saline conditions*. Scientia Horticulturae, 2010. **127**(2): p. 147-155.
58. El-Sayed, O.M., O. El-Gammal, and A. Salama, *Effect of ascorbic acid, proline and jasmonic acid foliar spraying on fruit set and yield of Manzanillo olive trees under salt stress*. Scientia Horticulturae, 2014. **176**: p. 32-37.
59. Bouchenak, F., et al., *Differential responses to salinity of two Atriplex halimus populations in relation to organic solutes and antioxidant systems involving thiol reductases*. Journal of plant physiology, 2012. **169**(15): p. 1445-1453.
60. Han, R.M., et al., *Antioxidant enzyme activities and hormonal status in response to Cd stress in the wetland halophyte Kosteletzkya virginica under saline conditions*. Physiologia Plantarum, 2013. **147**(3): p. 352-368.

61. Wu, H., et al., *Effects of salinity on metabolic profiles, gene expressions, and antioxidant enzymes in halophyte Suaeda salsa*. Journal of plant growth regulation, 2012. **31**(3): p. 332-341.
62. Shabala, S., *Learning from halophytes: physiological basis and strategies to improve abiotic stress tolerance in crops*. Annals of Botany, 2013. **112**(7): p. 1209-1221.
63. Tester, M. and P. Langridge, *Breeding technologies to increase crop production in a changing world*. Science, 2010. **327**(5967): p. 818-822.
64. Tavakkoli, E., P. Rengasamy, and G.K. McDonald, *High concentrations of Na⁺ and Cl⁻ ions in soil solution have simultaneous detrimental effects on growth of faba bean under salinity stress*. J Exp Bot, 2010. **61**(15): p. 4449-4459.
65. Dasgan, H.Y., et al., *Determination of screening techniques to salinity tolerance in tomatoes and investigation of genotype responses*. Plant science, 2002. **163**(4): p. 695-703.
66. Tuna, A.L., et al., *Silicon improves salinity tolerance in wheat plants*. Environmental and experimental botany, 2008. **62**(1): p. 10-16.
67. Hasanuzzaman, M., et al., *Plant response and tolerance to abiotic oxidative stress: antioxidant defense is a key factor*, in *Crop stress and its management: Perspectives and strategies 2012*, Springer. p. 261-315.
68. Mahajan, S. and N. Tuteja, *Cold, salinity and drought stresses: an overview*. Archives of biochemistry and biophysics, 2005. **444**(2): p. 139-158.
69. Khan, M.A. and D.J. Weber, *Ecophysiology of high salinity tolerant plants*. Vol. 40. 2006: Springer Science & Business Media.
70. Khan, M. and S. Panda, *Alterations in root lipid peroxidation and antioxidative responses in two rice cultivars under NaCl-salinity stress*. Acta Physiologiae Plantarum, 2008. **30**(1): p. 81.
71. Gomes-Filho, E., et al., *Cowpea ribonuclease: properties and effect of NaCl-salinity on its activation during seed germination and seedling establishment*. Plant cell reports, 2008. **27**(1): p. 147-157.
72. Dantas, B.F., L.d.S. Ribeiro, and C.A. Aragão, *Germination, initial growth and cotyledon protein content of bean cultivars under salinity stress*. Revista Brasileira de Sementes, 2007. **29**(2): p. 106-110.
73. Almansouri, M., J.-M. Kinet, and S. Lutts, *Effect of salt and osmotic stresses on germination in durum wheat (Triticum durum Desf.)*. Plant and Soil, 2001. **231**(2): p. 243-254.
74. Othman, Y., et al., *Variation in germination and ion uptake in barley genotypes under salinity conditions*. World Journal of Agricultural Sciences, 2006. **2**(1): p. 11-15.
75. Wahid, A., E. Rasul, and A.-u.-R. Rao, *Germination of seeds and propagules under salt stress*. Handbook of plant and crop stress, 1999. **2**: p. 153-167.
76. Neamati, S.H., M. Farsi, and S. Vatandoost, *How Salinity Affect Germination and Emergence of Tomato Lines*. Journal of Biological and Environmental Sciences, 2011. **5**.
77. Bybordi, A., *The influence of salt stress on seed germination, growth and yield of canola cultivars*. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 2010. **38**(1): p. 128.
78. Munns, R., *A leaf elongation assay detects an unknown growth inhibitor in xylem sap from wheat and barley*. Functional Plant Biology, 1992. **19**(2): p. 127-135.
79. Munns, R., *Genes and salt tolerance: bringing them together*. New phytologist, 2005. **167**(3): p. 645-663.
80. Munns, R., *Comparative physiology of salt and water stress*. Plant, cell & environment, 2002. **25**(2): p. 239-250.
81. Munns, R., *Salinity, growth and phytohormones*, in *Salinity: environment-plants-molecules 2002*, Springer. p. 271-290.
82. Hasanuzzaman, M., K. Nahar, and M. Fujita, *Plant response to salt stress and role of exogenous protectants to mitigate salt-induced damages*, in *Ecophysiology and responses of plants under salt stress 2013*, Springer. p. 25-87.
83. Takemura, T., et al., *Physiological and biochemical responses to salt stress in the mangrove, Bruguiera gymnorrhiza*. Aquatic Botany, 2000. **68**(1): p. 15-28.

84. Wang, Y. and N. Nii, *Changes in chlorophyll, ribulose biphosphate carboxylase-oxygenase, glycine betaine content, photosynthesis and transpiration in Amaranthus tricolor leaves during salt stress*. The Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 2000. **75**(6): p. 623-627.
85. Albacete, A., et al., *Hormonal changes in relation to biomass partitioning and shoot growth impairment in salinized tomato (Solanum lycopersicum L.) plants*. J Exp Bot, 2008. **59**(15): p. 4119-4131.
86. He, Y., et al., *Grafting increases the salt tolerance of tomato by improvement of photosynthesis and enhancement of antioxidant enzymes activity*. Environmental and experimental botany, 2009. **66**(2): p. 270-278.
87. Rivero, R.M., et al., *The combined effect of salinity and heat reveals a specific physiological, biochemical and molecular response in tomato plants*. Plant, cell & environment, 2014. **37**(5): p. 1059-1073.
88. Manaa, A., et al., *Salt-stress induced physiological and proteomic changes in tomato (Solanum lycopersicum) seedlings*. Omics: a journal of integrative biology, 2011. **15**(11): p. 801-809.
89. Hasanuzzaman, M., et al., *Performance of four irrigated rice varieties under different levels of salinity stress*. International Journal of Integrative Biology, 2009. **6**(2): p. 85-90.
90. Guan, B., et al. *Effects of salt stress and nitrogen application on growth and ion accumulation of Suaeda salsa plants*. in *Remote Sensing, Environment and Transportation Engineering (RSETE), 2011 International Conference on*. 2011. IEEE.
91. DOLATABADIAN, A., S.A.M.M. Sanavy, and F. Ghanati, *Effect of salinity on growth, xylem structure and anatomical characteristics of soybean*. Notulae Scientia Biologicae, 2011. **3**(1): p. 41.
92. Al Hassan, M., et al., *Effects of salt and water stress on plant growth and on accumulation of osmolytes and antioxidant compounds in cherry tomato*. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 2015. **43**(1): p. 1.
93. Rozema, J. and T. Flowers, *Crops for a salinized world*. Science, 2008: p. 1478-1480.
94. Ghanem, M.E., et al., *Impact of salinity on early reproductive physiology of tomato (Solanum lycopersicum) in relation to a heterogeneous distribution of toxic ions in flower organs*. Functional Plant Biology, 2009. **36**(2): p. 125-136.
95. Passioura, J., *Scaling up: the essence of effective agricultural research*. Functional Plant Biology, 2010. **37**(7): p. 585-591.
96. Franco, J., et al., *Root development in horticultural plants grown under abiotic stress conditions—a review*. The Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 2011. **86**(6): p. 543-556.
97. Sánchez-Blanco, M., et al., *Differences in the effects of simulated sea aerosol on water relations, salt content, and leaf ultrastructure of rock-rose plants*. Journal of environmental quality, 2004. **33**(4): p. 1369-1375.
98. Hamdia, M. and M. Shaddad, *Salt tolerance of crop plants*. Journal of Stress Physiology & Biochemistry, 2010. **6**(3): p. 64-90.
99. Joseph, B., D. Jini, and S. Sujatha, *Development of salt stress-tolerant plants by gene manipulation of antioxidant enzymes*. Asian Journal of Agricultural Research, 2011. **5**(1): p. 17-27.
100. Lobell, D.B., et al., *The critical role of extreme heat for maize production in the United States*. Nature Climate Change, 2013. **3**(5): p. 497.
101. Ghoulam, C., A. Foursy, and K. Fares, *Effects of salt stress on growth, inorganic ions and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in five sugar beet cultivars*. Environmental and experimental botany, 2002. **47**(1): p. 39-50.
102. Albouchi, A., et al., *Influence de la durée d'une alimentation hydrique déficiente sur la production de biomasse, la surface transpirante et la densité stomatique d'Acacia cyanophylla Lindl*. Annales de l'INGRE, 2000. **4**: p. 139-161.

103. Hernández, J.A. and M.S. Almansa, *Short-term effects of salt stress on antioxidant systems and leaf water relations of pea leaves*. *Physiologia Plantarum*, 2002. **115**(2): p. 251-257.
104. Duarte, B., et al., *Ecophysiological adaptations of two halophytes to salt stress: photosynthesis, PS II photochemistry and anti-oxidant feedback—implications for resilience in climate change*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2013. **67**: p. 178-188.
105. Parida, A., A.B. Das, and P. Das, *NaCl stress causes changes in photosynthetic pigments, proteins, and other metabolic components in the leaves of a true mangrove, Bruguiera parviflora, in hydroponic cultures*. *Journal of Plant Biology*, 2002. **45**(1): p. 28-36.
106. Stepien, P. and G.N. Johnson, *Contrasting responses of photosynthesis to salt stress in the glycophyte Arabidopsis and the halophyte Thellungiella: role of the plastid terminal oxidase as an alternative electron sink*. *Plant physiology*, 2009. **149**(2): p. 1154-1165.
107. Munns, R., *Approaches to identifying genes for salinity tolerance and the importance of timescale*, in *Plant stress tolerance* 2010, Springer. p. 25-38.
108. Fisarakis, I., K. Chartzoulakis, and D. Stavarakas, *Response of Sultana vines (V. vinifera L.) on six rootstocks to NaCl salinity exposure and recovery*. *Agricultural Water Management*, 2001. **51**(1): p. 13-27.
109. Manaa, A., et al., *Simultaneous application of salicylic acid and calcium improves salt tolerance in two contrasting tomato (Solanum lycopersicum) cultivars*. *South African Journal of Botany*, 2014. **95**: p. 32-39.
110. Parvin, K., et al., *Response of tomato plant under salt stress: role of exogenous calcium*. *J Plant Sci*, 2015. **10**(6): p. 222-33.
111. Wasti, S., et al., *Enhanced salt tolerance of tomatoes by exogenous salicylic acid applied through rooting medium*. *Omic: a journal of integrative biology*, 2012. **16**(4): p. 200-207.
112. Ashraf, M. and P. Harris, *Photosynthesis under stressful environments: an overview*. *Photosynthetica*, 2013. **51**(2): p. 163-190.
113. Chaves, M.M., J. Flexas, and C. Pinheiro, *Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell*. *Annals of Botany*, 2009. **103**(4): p. 551-560.
114. Lu, K., et al., *Photosynthetic response of salt-tolerant and sensitive soybean varieties*. *Photosynthetica*, 2009. **47**(3): p. 381-387.
115. Krupinska, K., *Fate and activities of plastids during leaf senescence*, in *The structure and function of plastids* 2007, Springer. p. 433-449.
116. Al-Karaki, G.N., *Growth, water use efficiency, and sodium and potassium acquisition by tomato cultivars grown under salt stress*. *Journal of Plant Nutrition*, 2000. **23**(1): p. 1-8.
117. Nemati, I., et al., *The effect of salinity stress on ions and soluble sugars distribution in leaves, leaf sheaths and roots of rice (Oryza sativa L.) seedlings*. *Plant Soil Environ*, 2011. **57**(1): p. 26-33.
118. El-Iklil, Y., et al., *Effet du stress salin sur la variation de certains metabolites chez Lycopersicon esculentum et Lycopersicon sheesmanii*. *Canadian journal of plant science*, 2002. **82**(1): p. 177-183.
119. Blumwald, E., *Sodium transport and salt tolerance in plants*. *Current opinion in cell biology*, 2000. **12**(4): p. 431-434.
120. Hernandez, J., et al., *Salt-induced oxidative stress in chloroplasts of pea plants*. *Plant science*, 1995. **105**(2): p. 151-167.
121. Hernández, J.A., et al., *Salt-induced oxidative stress mediated by activated oxygen species in pea leaf mitochondria*. *Physiologia Plantarum*, 1993. **89**(1): p. 103-110.
122. Alscher, R.G., N. Erturk, and L.S. Heath, *Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants*. *J Exp Bot*, 2002. **53**(372): p. 1331-1341.
123. Luis, A., et al., *Reactive oxygen species and reactive nitrogen species in peroxisomes. Production, scavenging, and role in cell signaling*. *Plant physiology*, 2006. **141**(2): p. 330-335.
124. Navrot, N., et al., *Reactive oxygen species generation and antioxidant systems in plant mitochondria*. *Physiologia Plantarum*, 2007. **129**(1): p. 185-195.

125. Ahmad, P., et al., *Roles of enzymatic and nonenzymatic antioxidants in plants during abiotic stress*. Critical reviews in biotechnology, 2010. **30**(3): p. 161-175.
126. Rasmusson, A.G., K.L. Soole, and T.E. Elthon, *Alternative NAD (P) H dehydrogenases of plant mitochondria*. Annu. Rev. Plant Biol., 2004. **55**: p. 23-39.
127. Rhoads, D.M., et al., *Mitochondrial reactive oxygen species. Contribution to oxidative stress and interorganellar signaling*. Plant physiology, 2006. **141**(2): p. 357-366.
128. Deng, B., et al., *Antioxidant response to drought, cold and nutrient stress in two ploidy levels of tobacco plants: low resource requirement confers polytolerance in polyploids?* Plant growth regulation, 2012. **66**(1): p. 37-47.
129. Foyer, C.H. and G. Noctor, *Redox homeostasis and antioxidant signaling: a metabolic interface between stress perception and physiological responses*. The Plant Cell, 2005. **17**(7): p. 1866-1875.
130. Bhattacharjee, S., *Reactive oxygen species and oxidative burst: Roles in stress, senescence and signal transduction in plants*. Current Science, 2005: p. 1113-1121.
131. Gill, S.S. and N. Tuteja, *Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants*. Plant Physiology and Biochemistry, 2010. **48**(12): p. 909-930.
132. Mittova, V., et al., *Salinity up-regulates the antioxidative system in root mitochondria and peroxisomes of the wild salt-tolerant tomato species Lycopersicon pennellii*. J Exp Bot, 2004. **55**(399): p. 1105-1113.
133. Mittova, V., et al., *Up-regulation of the leaf mitochondrial and peroxisomal antioxidative systems in response to salt-induced oxidative stress in the wild salt-tolerant tomato species Lycopersicon pennellii*. Plant, cell & environment, 2003. **26**(6): p. 845-856.
134. Hanana, M., et al., *Mécanismes et stratégies cellulaires de tolérance à la salinité (NaCl) chez les plantes*. Environmental Reviews, 2011. **19**(NA): p. 121-140.
135. Ibrahim, E.A., *Seed priming to alleviate salinity stress in germinating seeds*. Journal of plant physiology, 2016. **192**: p. 38-46.
136. Mahajan, S., G.K. Pandey, and N. Tuteja, *Calcium-and salt-stress signaling in plants: shedding light on SOS pathway*. Archives of biochemistry and biophysics, 2008. **471**(2): p. 146-158.
137. Gaxiola, R.A., et al., *Drought-and salt-tolerant plants result from overexpression of the AVP1 H⁺-pump*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2001. **98**(20): p. 11444-11449.
138. Brini, F., et al., *Overexpression of wheat Na⁺/H⁺ antiporter TNH1 and H⁺-pyrophosphatase TVP1 improve salt-and drought-stress tolerance in Arabidopsis thaliana plants*. J Exp Bot, 2007. **58**(2): p. 301-308.
139. Silva, P., et al., *Role of tonoplast proton pumps and Na⁺/H⁺ antiport system in salt tolerance of Populus euphratica Oliv*. Journal of plant growth regulation, 2010. **29**(1): p. 23-34.
140. Wu, C.-A., et al., *The cotton GhNHX1 gene encoding a novel putative tonoplast Na⁺/H⁺ antiporter plays an important role in salt stress*. Plant and cell physiology, 2004. **45**(5): p. 600-607.
141. Shi, H., et al., *The Arabidopsis thaliana salt tolerance gene SOS1 encodes a putative Na⁺/H⁺ antiporter*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2000. **97**(12): p. 6896-6901.
142. Zhu, J.-K., *Regulation of ion homeostasis under salt stress*. Current opinion in plant biology, 2003. **6**(5): p. 441-445.
143. Hauser, F. and T. Horie, *A conserved primary salt tolerance mechanism mediated by HKT transporters: a mechanism for sodium exclusion and maintenance of high K⁺/Na⁺ ratio in leaves during salinity stress*. Plant, cell & environment, 2010. **33**(4): p. 552-565.
144. Horie, T., et al., *Enhanced salt tolerance mediated by AtHKT1 transporter-induced Na⁺ unloading from xylem vessels to xylem parenchyma cells*. The Plant Journal, 2005. **44**(6): p. 928-938.
145. Lee, K.-S., et al., *Salinity tolerance of japonica and indica rice (Oryza sativa L.) at the seedling stage*. Planta, 2003. **216**(6): p. 1043-1046.

146. Alfocea, F.P., et al., *Composition of xylem and phloem exudates in relation to the salt-tolerance of domestic and wild tomato species*. Journal of plant physiology, 2000. **156**(3): p. 367-374.
147. Leidi, E.O., et al., *The AtNHX1 exchanger mediates potassium compartmentation in vacuoles of transgenic tomato*. The Plant Journal, 2010. **61**(3): p. 495-506.
148. Shabala, S. and T.A. Cuin, *Potassium transport and plant salt tolerance*. Physiologia Plantarum, 2008. **133**(4): p. 651-669.
149. Hasegawa, P.M., et al., *Plant cellular and molecular responses to high salinity*. Annual review of plant biology, 2000. **51**(1): p. 463-499.
150. Pareek, A., S.K. Sopory, and H. Bohnert, *Abiotic stress adaptation in plants* 2009: Springer.
151. Verbruggen, N. and C. Hermans, *Proline accumulation in plants: a review*. Amino acids, 2008. **35**(4): p. 753-759.
152. Silva-Ortega, C.O., et al., *Salt stress increases the expression of p5cs gene and induces proline accumulation in cactus pear*. Plant Physiology and Biochemistry, 2008. **46**(1): p. 82-92.
153. Lutts, S., J. Bouharmont, and J.-M. Kinet, *Physiological characterisation of salt-resistant rice (Oryza sativa) somaclones*. Australian Journal of botany, 1999. **47**(6): p. 835-849.
154. de Lacerda, C.F., et al., *Solute accumulation and distribution during shoot and leaf development in two sorghum genotypes under salt stress*. Environmental and experimental botany, 2003. **49**(2): p. 107-120.
155. Datta, J., et al., *Impact of salt stress on five varieties of Wheat (Triticum aestivum L.) cultivars under laboratory condition*. Journal of Applied Sciences and Environmental Management, 2009. **13**(3).
156. Ashfaq, F., M.I.R. Khan, and N.A. Khan, *Exogenously applied H₂O₂ promotes proline accumulation, water relations, photosynthetic efficiency and growth of wheat (Triticum aestivum L.) under salt stress*. Methodology, 2012.
157. Kahlaoui, B., et al., *Response of two tomato cultivars to field-applied proline under irrigation with saline water: Growth, chlorophyll fluorescence and nutritional aspects*. Photosynthetica, 2014. **52**(3): p. 421-429.
158. Banu, M.N.A., et al., *Proline and glycinebetaine induce antioxidant defense gene expression and suppress cell death in cultured tobacco cells under salt stress*. Journal of plant physiology, 2009. **166**(2): p. 146-156.
159. Peng, Z., Q. Lu, and D. Verma, *Reciprocal regulation of Δ 1-pyrroline-5-carboxylate synthetase and proline dehydrogenase genes controls proline levels during and after osmotic stress in plants*. Molecular and General Genetics MGG, 1996. **253**(3): p. 334-341.
160. Rejšková, A., et al., *The effect of abiotic stresses on carbohydrate status of olive shoots (Olea europaea L.) under in vitro conditions*. Journal of plant physiology, 2007. **164**(2): p. 174-184.
161. Gupta, B. and B. Huang, *Mechanism of salinity tolerance in plants: physiological, biochemical, and molecular characterization*. International journal of genomics, 2014. **2014**.
162. El-Tayeb, M., *Response of barley grains to the interactive effect of salinity and salicylic acid*. Plant growth regulation, 2005. **45**(3): p. 215-224.
163. Gharbi, E., et al., *Phytohormone profiling in relation to osmotic adjustment in NaCl-treated plants of the halophyte tomato wild relative species Solanum chilense comparatively to the cultivated glycophyte Solanum lycopersicum*. Plant science, 2017. **258**: p. 77-89.
164. Rady, M.M., B. Varma, and S.M. Howladar, *Common bean (Phaseolus vulgaris L.) seedlings overcome NaCl stress as a result of presoaking in Moringa oleifera leaf extract*. Scientia Horticulturae, 2013. **162**: p. 63-70.
165. Juan, M., et al., *Evaluation of some nutritional and biochemical indicators in selecting salt-resistant tomato cultivars*. Environmental and experimental botany, 2005. **54**(3): p. 193-201.
166. Bayram, D., B.S. DINLER, and E. Tasci, *Differential Response of Bean*. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 2014. **42**(1): p. 219.

167. Rasool, S., et al., *Changes in growth, lipid peroxidation and some key antioxidant enzymes in chickpea genotypes under salt stress*. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2013. **35**(4): p. 1039-1050.
168. Spano, C. and S. Bottega, *Durum wheat seedlings in saline conditions: Salt spray versus root-zone salinity*. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 2016. **169**: p. 173-181.
169. Kibria, M.G., et al., *Antioxidant defense mechanisms of salinity tolerance in rice genotypes*. *Rice Science*, 2017. **24**(3): p. 155-162.
170. Bor, M., F. Özdemir, and I. Türkan, *The effect of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in leaves of sugar beet *Beta vulgaris* L. and wild beet *Beta maritima* L.* *Plant science*, 2003. **164**(1): p. 77-84.
171. de Azevedo Neto, A.D., et al., *Effect of salt stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of salt-tolerant and salt-sensitive maize genotypes*. *Environmental and experimental botany*, 2006. **56**(1): p. 87-94.
172. Shalata, A., et al., *Response of the cultivated tomato and its wild salt-tolerant relative *Lycopersicon pennellii* to salt-dependent oxidative stress: The root antioxidative system*. *Physiologia Plantarum*, 2001. **112**(4): p. 487-494.
173. Shalata, A. and M. Tal, *The effect of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in the leaf of the cultivated tomato and its wild salt-tolerant relative *Lycopersicon pennellii**. *Physiologia Plantarum*, 1998. **104**(2): p. 169-174.
174. Gupta, K., A. Dey, and B. Gupta, *Plant polyamines in abiotic stress responses*. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2013. **35**(7): p. 2015-2036.
175. Gupta, K., A. Dey, and B. Gupta, *Polyamines and their role in plant osmotic stress tolerance*. *Climate Change and Plant Abiotic Stress Tolerance*, 2013: p. 1053-1072.
176. Knott, J.M., P. Römer, and M. Sumper, *Putative spermine synthases from *Thalassiosira pseudonana* and *Arabidopsis thaliana* synthesize thermospermine rather than spermine*. *FEBS letters*, 2007. **581**(16): p. 3081-3086.
177. Kovács, Z., et al., *Differential effects of cold, osmotic stress and abscisic acid on polyamine accumulation in wheat*. *Amino acids*, 2010. **38**(2): p. 623-631.
178. Lutts, S., et al., *Polyamines and their roles in the alleviation of ion toxicities in plants*, in *Ecophysiology and responses of plants under salt stress* 2013, Springer. p. 315-353.
179. Bouchereau, A., et al., *Polyamines and environmental challenges: recent development*. *Plant science*, 1999. **140**(2): p. 103-125.
180. Groppa, M. and M. Benavides, *Polyamines and abiotic stress: recent advances*. *Amino acids*, 2008. **34**(1): p. 35.
181. Todorova, D., et al., *Role of polyamines in alleviating salt stress*, in *Ecophysiology and Responses of Plants under Salt Stress* 2013, Springer. p. 355-379.
182. Liu, J.-H., et al., *Polyamines and their ability to provide environmental stress tolerance to plants*. *Plant Biotechnology*, 2007. **24**(1): p. 117-126.
183. Legocka, J. and E. Sobieszczuk-Nowicka, *Sorbitol and NaCl stresses affect free, microsome-associated and thylakoid-associated polyamine content in *Zea mays* and *Phaseolus vulgaris**. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2012. **34**(3): p. 1145-1151.
184. Liu, J.-H., H. Inoue, and T. Moriguchi, *Salt stress-mediated changes in free polyamine titers and expression of genes responsible for polyamine biosynthesis of apple in vitro shoots*. *Environmental and experimental botany*, 2008. **62**(1): p. 28-35.
185. Zapata, P.J., et al., *Polyamines and ethylene changes during germination of different plant species under salinity*. *Plant science*, 2004. **167**(4): p. 781-788.
186. Kim, J.-S., I.-S. Shim, and M.-J. Kim, *Physiological response of Chinese cabbage to salt stress*. *Korean Journal of Horticultural Science and Technology*, 2010. **28**(3): p. 343-352.
187. Jouve, L., L. Hoffmann, and J.F. Hausman, *Polyamine, carbohydrate, and proline content changes during salt stress exposure of aspen (*Populus tremula* L.): involvement of oxidation and osmoregulation metabolism*. *Plant Biology*, 2004. **6**(1): p. 74-80.

188. Tassoni, A., M. Franceschetti, and N. Bagni, *Polyamines and salt stress response and tolerance in Arabidopsis thaliana flowers*. Plant Physiology and Biochemistry, 2008. **46**(5-6): p. 607-613.
189. Gharbi, E., et al., *Salicylic acid differently impacts ethylene and polyamine synthesis in the glycophyte Solanum lycopersicum and the wild-related halophyte Solanum chilense exposed to mild salt stress*. Physiologia Plantarum, 2016. **158**(2): p. 152-167.
190. Lefevre, I., E. Gratia, and S. Lutts, *Discrimination between the ionic and osmotic components of salt stress in relation to free polyamine level in rice (Oryza sativa)*. Plant science, 2001. **161**(5): p. 943-952.
191. Skirycz, A. and D. Inzé, *More from less: plant growth under limited water*. Current opinion in biotechnology, 2010. **21**(2): p. 197-203.
192. Iqbal, N., A. Masood, and N.A. Khan, *Phytohormones in salinity tolerance: ethylene and gibberellins cross talk*, in *Phytohormones and Abiotic Stress Tolerance in Plants 2012*, Springer. p. 77-98.
193. Atkinson, N.J. and P.E. Urwin, *The interaction of plant biotic and abiotic stresses: from genes to the field*. J Exp Bot, 2012. **63**(10): p. 3523-3543.
194. Munné-Bosch, S. and M. Müller, *Hormonal cross-talk in plant development and stress responses*. Frontiers in plant science, 2013. **4**: p. 529.
195. Wani, S.H., et al., *Phytohormones and their metabolic engineering for abiotic stress tolerance in crop plants*. The Crop Journal, 2016. **4**(3): p. 162-176.
196. Wolters, H. and G. Jürgens, *Survival of the flexible: hormonal growth control and adaptation in plant development*. Nature Reviews Genetics, 2009. **10**(5): p. 305.
197. Wang, Y., S. Mopper, and K.H. Hasenstein, *Effects of salinity on endogenous ABA, IAA, JA, and SA in Iris hexagona*. Journal of chemical ecology, 2001. **27**(2): p. 327-342.
198. Eyidogan, F., et al., *Signal transduction of phytohormones under abiotic stresses*, in *Phytohormones and Abiotic Stress Tolerance in Plants 2012*, Springer. p. 1-48.
199. Naser, V. and E. Shani, *Auxin response under osmotic stress*. Plant molecular biology, 2016. **91**(6): p. 661-672.
200. Ghanem, M.E., et al., *Hormonal changes during salinity-induced leaf senescence in tomato (Solanum lycopersicum L.)*. J Exp Bot, 2008. **59**(11): p. 3039-3050.
201. Sharma, N., S. Abrams, and D. Waterer, *Uptake, movement, activity, and persistence of an abscisic acid analog (8' acetylene ABA methyl ester) in marigold and tomato*. Journal of plant growth regulation, 2005. **24**(1): p. 28-35.
202. Keskin, B.C., et al., *Abscisic Acid Regulated Gene Expression in Bread Wheat ('Triticum aestivum' L.)*. Australian journal of crop science, 2010. **4**(8): p. 617.
203. Shakirova, F.M., et al., *Role of endogenous hormonal system in the realization of the antistress action of plant growth regulators on plants*. Plant Stress, 2010. **4**: p. 32-38.
204. Wilkinson, S. and W.J. Davies, *Drought, ozone, ABA and ethylene: new insights from cell to plant to community*. Plant, cell & environment, 2010. **33**(4): p. 510-525.
205. Hara, M., *The multifunctionality of dehydrins: an overview*. Plant signaling & behavior, 2010. **5**(5): p. 503-508.
206. Amjad, M., et al., *Integrating role of ethylene and ABA in tomato plants adaptation to salt stress*. Scientia Horticulturae, 2014. **172**: p. 109-116.
207. Fahad, S., et al., *Potential role of phytohormones and plant growth-promoting rhizobacteria in abiotic stresses: consequences for changing environment*. Environmental Science and Pollution Research, 2015. **22**(7): p. 4907-4921.
208. Cheong, J.-J. and Y. Do Choi, *Methyl jasmonate as a vital substance in plants*. TRENDS in Genetics, 2003. **19**(7): p. 409-413.
209. Pedranzani, H., et al., *Salt tolerant tomato plants show increased levels of jasmonic acid*. Plant growth regulation, 2003. **41**(2): p. 149-158.

210. Kang, D.J., et al., *Jasmonic acid differentially affects growth, ion uptake and abscisic acid concentration in salt-tolerant and salt-sensitive rice cultivars*. Journal of Agronomy and Crop Science, 2005. **191**(4): p. 273-282.
211. Iqbal, N., et al., *Role of gibberellins in regulation of source-sink relations under optimal and limiting environmental conditions*. Current Science, 2011: p. 998-1007.
212. Calvo, P., L. Nelson, and J.W. Kloepper, *Agricultural uses of plant biostimulants*. Plant and Soil, 2014. **383**(1-2): p. 3-41.
213. Ben Ahmed, C., et al., *Exogenous proline effects on photosynthetic performance and antioxidant defense system of young olive tree*. Journal of agricultural and food chemistry, 2010. **58**(7): p. 4216-4222.
214. Gurmani, A.R., et al., *Exogenous abscisic acid (ABA) and silicon (Si) promote salinity tolerance by reducing sodium (Na⁺) transport and bypass flow in rice ('Oryza sativa'indica)*. Australian journal of crop science, 2013. **7**(9): p. 1219.
215. Iqbal, M. and M. Ashraf, *Seed Treatment with Auxins Modulates Growth and Ion Partitioning in Salt-stressed Wheat Plants*. Journal of integrative plant Biology, 2007. **49**(7): p. 1003-1015.
216. Fahad, S. and A. Bano, *Effect of salicylic acid on physiological and biochemical characterization of maize grown in saline area*. Pak J Bot, 2012. **44**(4): p. 1433-1438.
217. Aremu, A.O., et al., *A novel inhibitor of cytokinin degradation (INCYDE) influences the biochemical parameters and photosynthetic apparatus in NaCl-stressed tomato plants*. Planta, 2014. **240**(4): p. 877-889.
218. Ardebili, N.O., et al., *The alleviating effects of selenium and salicylic acid in salinity exposed soybean*. Acta Physiologiae Plantarum, 2014. **36**(12): p. 3199-3205.
219. Hamayun, M., et al., *Exogenous gibberellic acid reprograms soybean to higher growth and salt stress tolerance*. Journal of agricultural and food chemistry, 2010. **58**(12): p. 7226-7232.
220. Shomeili, M., et al., *Effects of gibberellic acid on sugarcane plants exposed to salinity under a hydroponic system*. African Journal of Plant Science, 2011. **5**(10): p. 609-616.
221. Qiu, Z., et al., *Exogenous jasmonic acid can enhance tolerance of wheat seedlings to salt stress*. Ecotoxicology and environmental safety, 2014. **104**: p. 202-208.
222. Foyer, C.H., et al., *The role of ascorbic acid in defense networks and signalling in plants*. Vitamin C: its function and biochemistry in animals and plants, 2003: p. 65-82.
223. Fercha, A., G. Hocine, and B. Mebarek, *Improvement of salt tolerance in durum wheat by ascorbic acid application*. Journal of Stress Physiology & Biochemistry, 2011. **7**(1).
224. Dehghan, G., L. Rezazadeh, and G. Habibi, *Exogenous ascorbate improves antioxidant defense system and induces salinity tolerance in soybean seedlings*. Acta Biologica Szegediensis, 2011. **55**(2): p. 261-264.
225. Pompella, A., et al., *The changing faces of glutathione, a cellular protagonist*. Biochemical pharmacology, 2003. **66**(8): p. 1499-1503.
226. Khattab, H., *Role of glutathione and polyadenylic acid on the oxidative defense systems of two different cultivars of canola seedlings grown under saline conditions*. Australian Journal of Basic and Applied Sciences, 2007. **1**(3): p. 323-334.
227. Verma, S. and S.N. Mishra, *Putrescine alleviation of growth in salt stressed Brassica juncea by inducing antioxidative defense system*. Journal of plant physiology, 2005. **162**(6): p. 669-677.
228. Tang, W. and R.J. Newton, *Polyamines reduce salt-induced oxidative damage by increasing the activities of antioxidant enzymes and decreasing lipid peroxidation in Virginia pine*. Plant growth regulation, 2005. **46**(1): p. 31-43.
229. Sheokand, S., A. Kumari, and V. Sawhney, *Effect of nitric oxide and putrescine on antioxidative responses under NaCl stress in chickpea plants*. Physiology and Molecular Biology of Plants, 2008. **14**(4): p. 355-362.
230. Saleethong, P., et al., *Pretreatment with spermidine reverses inhibitory effects of salt stress in two rice (Oryza sativa L.) cultivars differing in salinity tolerance*. Asian Journal of Plant Sciences, 2011.

231. Alsokari, S., *Synergistic effect of kinetin and spermine on some physiological aspects of seawater stressed Vigna sinensis plants*. Saudi journal of biological sciences, 2011. **18**(1): p. 37-44.
232. Anaya, F., et al., *Influence of salicylic acid on seed germination of Vicia faba L. under salt stress*. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences, 2015.
233. El-Shaieny, A., *Seed Germination Percentage and Early Seedling Establishment of Five (Vigna unguiculata L.(Walp) Genotypes Under Salt Stress*. European Journal of Experimental Biology, 2015. **5**(2): p. 22-32.
234. Paparella, S., et al., *Seed priming: state of the art and new perspectives*. Plant cell reports, 2015. **34**(8): p. 1281-1293.
235. Lutts, S., et al., *Seed priming: New comprehensive approaches for an old empirical technique, in New Challenges in Seed Biology-Basic and Translational Research Driving Seed Technology*2016, InTech.
236. Giri, G.S. and W.F. Schillinger, *Seed priming winter wheat for germination, emergence, and yield*. Crop science, 2003. **43**(6): p. 2135-2141.
237. Jisha, K., K. Vijayakumari, and J.T. Puthur, *Seed priming for abiotic stress tolerance: an overview*. Acta Physiologiae Plantarum, 2013. **35**(5): p. 1381-1396.
238. Nawaz, A., et al., *Induction of salt tolerance in tomato ('Lycopersicon esculentum' Mill.) seeds through sand priming*. Australian journal of crop science, 2012. **6**(7): p. 1199.
239. Farooq, M., et al., *Osmopriming improves the germination and early seedling growth of melons (Cucumis melo L.)*. Pak. J. Agri. Sci, 2007. **44**(3): p. 529-536.
240. Bakht, J., et al., *Response of maize (Zea mays L.) to seed priming with NaCl and salinity stress*. Spanish Journal of Agricultural Research, 2011. **9**(1): p. 252-261.
241. Dawood, M.G. and M.E. El-Awadi, *Alleviation of salinity stress on Vicia faba L. plants via seed priming with melatonin*. Acta Biológica Colombiana, 2015. **20**(2): p. 223-235.
242. Hela, M., et al., *Salt stress induced changes in germination, lipid peroxidation and antioxidant activities in lettuce (Lactuca sativa L.) seedlings*. African Journal of Biotechnology, 2011. **10**(65): p. 14498-14506.
243. Jisha, K.C. and J.T. Puthur, *Seed priming with beta-amino butyric acid improves abiotic stress tolerance in rice seedlings*. Rice Science, 2016. **23**(5): p. 242-254.
244. Younesi, O. and A. Moradi, *Effect of priming of seeds of Medicago sativa 'bami' with gibberellic acid on germination, seedlings growth and antioxidant enzymes activity under salinity stress*. Journal of Horticultural Research, 2014. **22**(2): p. 167-174.
245. Faessel, L. and C. Tostivint, *Les produits de stimulation en agriculture. Un état des connaissances sur les nouveaux intrants visant à améliorer les fonctionnalités biologiques des sols et des plantes*. Notes et études socio-économiques CENTRE D'ÉTUDES ET: p. 7.
246. EBIC, *EBIC and biostimulants in brief*. <http://www.biostimulants.eu/>. 2012a.
247. EBIC, *What are biostimulants?* <http://www.biostimulants.eu/about/what-arebiostimulants/>. 2012b.
248. Ertani, A., et al., *Phenol-containing organic substances stimulate phenylpropanoid metabolism in Zea mays*. Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 2011. **174**(3): p. 496-503.
249. Khan, W., et al., *Seaweed extracts as biostimulants of plant growth and development*. Journal of plant growth regulation, 2009. **28**(4): p. 386-399.
250. Schiavon, M., et al., *High molecular size humic substances enhance phenylpropanoid metabolism in maize (Zea mays L.)*. Journal of chemical ecology, 2010. **36**(6): p. 662-669.
251. Karlidag, H., et al., *Plant growth-promoting rhizobacteria mitigate deleterious effects of salt stress on strawberry plants (Fragaria x ananassa)*. HortScience, 2013. **48**(5): p. 563-567.
252. Shaharoon, B., et al., *Fertilizer-dependent efficiency of Pseudomonads for improving growth, yield, and nutrient use efficiency of wheat (Triticum aestivum L.)*. Applied microbiology and biotechnology, 2008. **79**(1): p. 147-155.

253. Jannin, L., et al., *Brassica napus* growth is promoted by *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jol. seaweed extract: microarray analysis and physiological characterization of N, C, and S metabolisms. *Journal of plant growth regulation*, 2013. **32**(1): p. 31-52.
254. Jithesh, M.N., et al., *Analysis of seaweed extract-induced transcriptome leads to identification of a negative regulator of salt tolerance in Arabidopsis*. *HortScience*, 2012. **47**(6): p. 704-709.
255. Ertani, A., et al., *Alfalfa plant-derived biostimulant stimulate short-term growth of salt stressed Zea mays L. plants*. *Plant and Soil*, 2013. **364**(1-2): p. 145-158.
256. Howladar, S.M., *A novel Moringa oleifera leaf extract can mitigate the stress effects of salinity and cadmium in bean (Phaseolus vulgaris L.) plants*. *Ecotoxicology and environmental safety*, 2014. **100**: p. 69-75.
257. Rady, M.M. and G.F. Mohamed, *Modulation of salt stress effects on the growth, physio-chemical attributes and yields of Phaseolus vulgaris L. plants by the combined application of salicylic acid and Moringa oleifera leaf extract*. *Scientia Horticulturae*, 2015. **193**: p. 105-113.
258. Zaller, J.G., *Vermicompost in seedling potting media can affect germination, biomass allocation, yields and fruit quality of three tomato varieties*. *European Journal of Soil Biology*, 2007. **43**: p. S332-S336.
259. Aguiar, N.O., et al., *Bioactivity of humic acids isolated from vermicomposts at different maturation stages*. *Plant and Soil*, 2013. **362**(1-2): p. 161-174.
260. Amorim, M.M., et al., *Effects of the humic acid extracted from vermicompost on the germination and initial growth of Brachiaria brizantha cv. MG5*. *African Journal of Biotechnology*, 2015. **14**(18): p. 1576-1583.
261. Arancon, N.Q., et al., *Effects of humic acids derived from cattle, food and paper-waste vermicomposts on growth of greenhouse plants: the 7th international symposium on earthworm ecology· Cardiff· Wales· 2002*. *Pedobiologia*, 2003. **47**(5-6): p. 741-744.
262. Rady, M., et al., *Humic acid application improves field performance of cotton (Gossypium barbadense L.) under saline conditions*. *J Animal Plant Sci*, 2016. **26**: p. 485-493.
263. Çimrin, K.M., et al., *Phosphorus and humic acid application alleviate salinity stress of pepper seedling*. *African Journal of Biotechnology*, 2010. **9**(36).
264. Ouni, Y., et al., *The role of humic substances in mitigating the harmful effects of soil salinity and improve plant productivity*. *International Journal of Plant Production*, 2014. **8**(3): p. 353-374.
265. Paksoy, M., Ö. Türkmen, and A. Dursun, *Effects of potassium and humic acid on emergence, growth and nutrient contents of okra (Abelmoschus esculentus L.) seedling under saline soil conditions*. *African Journal of Biotechnology*, 2010. **9**(33).
266. Atiyeh, R.M., et al., *Changes in biochemical properties of cow manure during processing by earthworms (Eisenia andrei, Bouché) and the effects on seedling growth*. *Pedobiologia*, 2000. **44**(6): p. 709-724.
267. Veeresh, S.J. and J. Narayana, *Earthworm density, biomass and vermicompost recovery during agro industrial waste treatment*. *Int J Pharma Bio Sci*, 2013. **4**(2): p. 1274-1280.
268. Edwards, C.A. and N.Q. Arancon. *The science of vermiculture: the use of earthworms in organic waste management*. in *Vermi technologies for developing countries. Proceedings of the international symposium–workshop on vermi technologies for developing countries, Philippine Fisheries Association Inc, Los Baños, Laguna, Philippines*. 2005.
269. Ibrahim, M.H., S. Quaik, and S.A. Ismail, *General Introduction to Earthworms, Their Classifications, and Biology*, in *Prospects of Organic Waste Management and the Significance of Earthworms* 2016, Springer. p. 69-103.
270. Albanell, E., J. Plaixats, and T. Cabrero, *Chemical changes during vermicomposting (Eisenia fetida) of sheep manure mixed with cotton industrial wastes*. *Biology and fertility of soils*, 1988. **6**(3): p. 266-269.
271. Ibrahim, M.H., S. Quaik, and S.A. Ismail, *Vermicompost, Its Applications and Derivatives*, in *Prospects of Organic Waste Management and the Significance of Earthworms* 2016, Springer. p. 201-230.

272. Arancon, N., et al., *Influences of vermicomposts on field strawberries: 1. Effects on growth and yields*. Bioresource Technology, 2004. **93**(2): p. 145-153.
273. Arancon, N.Q., et al., *Effects of vermicomposts produced from food waste on the growth and yields of greenhouse peppers*. Bioresource Technology, 2004. **93**(2): p. 139-144.
274. Edwards, C.A., N.Q. Arancon, and S. Greytak, *Effects of vermicompost teas on plant growth and disease*. Biocycle, 2006. **47**(5): p. 28.
275. Pant, A.P., et al., *Vermicompost extracts influence growth, mineral nutrients, phytonutrients and antioxidant activity in pak choi (Brassica rapa cv. Bonsai, Chinensis group) grown under vermicompost and chemical fertiliser*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2009. **89**(14): p. 2383-2392.
276. Yasir, M., et al., *Bacterial community composition and chitinase gene diversity of vermicompost with antifungal activity*. Bioresource Technology, 2009. **100**(19): p. 4396-4403.
277. Gopal, M., et al., *Amplification of plant beneficial microbial communities during conversion of coconut leaf substrate to vermicompost by Eudrilus sp.* Current microbiology, 2009. **59**(1): p. 15-20.
278. Hernandez, O.L., et al., *Humic substances from vermicompost enhance urban lettuce production*. Agronomy for sustainable development, 2015. **35**(1): p. 225-232.
279. Pant, A.P., et al., *Biochemical properties of compost tea associated with compost quality and effects on pak choi growth*. Scientia Horticulturae, 2012. **148**: p. 138-146.
280. Wang, D., et al., *Influence of cow manure vermicompost on the growth, metabolite contents, and antioxidant activities of Chinese cabbage (Brassica campestris ssp. chinensis)*. Biology and fertility of soils, 2010. **46**(7): p. 689-696.
281. Arancon, N.Q., et al., *Vermicompost tea production and plant growth impacts*. Biocycle, 2007. **48**(11): p. 51.
282. Lazcano, C., et al., *Vermicompost enhances germination of the maritime pine (Pinus pinaster Ait.)*. New Forests, 2010. **39**(3): p. 387-400.
283. Edwards, C.A., et al., *Effect of aqueous extracts from vermicomposts on attacks by cucumber beetles (Acalymna vittatum)(Fabr.) on cucumbers and tobacco hornworm (Manduca sexta)(L.) on tomatoes*. Pedobiologia, 2010. **53**(2): p. 141-148.
284. Edwards, C.A., et al., *Suppressing plant parasitic nematodes and arthropod pests with vermicompost teas*. Biocycle, 2007. **48**(12): p. 38-39.
285. Arancon, N., et al. *Management of plant parasitic nematode populations by use of vermicomposts*. in Brighton crop protection conference pests and diseases. 2002.
286. Arthur, G.D., et al., *Vermicompost leachate alleviates deficiency of phosphorus and potassium in tomato seedlings*. HortScience, 2012. **47**(9): p. 1304-1307.
287. Thaipong, K., et al., *Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts*. Journal of food composition and analysis, 2006. **19**(6-7): p. 669-675.
288. Benzie, I.F. and J.J. Strain, *The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay*. Analytical biochemistry, 1996. **239**(1): p. 70-76.
289. Singleton, V.L. and J.A. Rossi, *Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents*. American journal of Enology and Viticulture, 1965. **16**(3): p. 144-158.
290. Mancinelli, A.L., *Photoregulation of anthocyanin synthesis: VIII. Effect of light pretreatments*. Plant physiology, 1984. **75**(2): p. 447-453.
291. Yemm, E. and A. Willis, *The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone*. Biochemical journal, 1954. **57**(3): p. 508.
292. Dobrev, P.I. and M. Kamínek, *Fast and efficient separation of cytokinins from auxin and abscisic acid and their purification using mixed-mode solid-phase extraction*. Journal of Chromatography A, 2002. **950**(1-2): p. 21-29.
293. Dobrev, P.I. and R. Vankova, *Quantification of abscisic acid, cytokinin, and auxin content in salt-stressed plant tissues*, in Plant Salt Tolerance 2012, Springer. p. 251-261.

294. Djilianov, D.L., et al., *Dynamics of endogenous phytohormones during desiccation and recovery of the resurrection plant species Haberlea rhodopensis*. Journal of plant growth regulation, 2013. **32**(3): p. 564-574.
295. Sharma, H.S., et al., *Plant biostimulants: a review on the processing of macroalgae and use of extracts for crop management to reduce abiotic and biotic stresses*. Journal of applied phycology, 2014. **26**(1): p. 465-490.
296. Maxwell, K. and G.N. Johnson, *Chlorophyll fluorescence—a practical guide*. J Exp Bot, 2000. **51**(345): p. 659-668.
297. Bates, L., R. Waldren, and I. Teare, *Rapid determination of free proline for water-stress studies*. Plant and Soil, 1973. **39**(1): p. 205-207.
298. Bewley, J.D., K. Bradford, and H. Hilhorst, *Seeds: physiology of development, germination and dormancy* 2012: Springer Science & Business Media.
299. Kubala, S., et al., *Deciphering priming-induced improvement of rapeseed (Brassica napus L.) germination through an integrated transcriptomic and proteomic approach*. Plant science, 2015. **231**: p. 94-113.
300. A.O.S.A, *Seed Vigor Testing Handbook. Contribution No. 32 to the Handbook on Seed Testing. Association of Official Seed Analysis, Springfield, IL. 1983*.
301. FAROOQ, M., et al., *Thermal hardening: a new seed vigor enhancement tool in rice*. Journal of integrative plant Biology, 2005. **47**(2): p. 187-193.
302. Heath, R.L. and L. Packer, *Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation*. Archives of biochemistry and biophysics, 1968. **125**(1): p. 189-198.
303. Benhebil, M., *approche à la caractérisation de la lombriculture*. These . université de Blida, 2015.
304. Martínez, J.-P., et al., *Is osmotic adjustment required for water stress resistance in the Mediterranean shrub Atriplex halimus L?* Journal of plant physiology, 2004. **161**(9): p. 1041-1051.
305. Fricke, W. and W.S. Peters, *The biophysics of leaf growth in salt-stressed barley. A study at the cell level*. Plant physiology, 2002. **129**(1): p. 374-388.
306. Bidabadi, S.S., M. Afazel, and S.D. Poodeh, *The effect of vermicompost leachate on morphological, physiological and biochemical indices of Stevia rebaudiana Bertoni in a soilless culture system*. International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture, 2016. **5**(3): p. 251-262.
307. Mengistu, T., et al., *The integrated use of excreta-based vermicompost and inorganic NP fertilizer on tomato (Solanum lycopersicum L.) fruit yield, quality and soil fertility*. International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture, 2017. **6**(1): p. 63-77.
308. Joshi, R., J. Singh, and A.P. Vig, *Vermicompost as an effective organic fertilizer and biocontrol agent: effect on growth, yield and quality of plants*. Reviews in Environmental Science and Bio/Technology, 2015. **14**(1): p. 137-159.
309. Motallebi, A., *The Impacts of Vermicompost on Tomato Morphological and Physiological Characteristics*. BIOSCIENCES BIOTECHNOLOGY RESEARCH ASIA, 2015. **12**(Spl. Edn. 2): p. 247-252.
310. Gutiérrez-Miceli, F.A., et al., *Formulation of a liquid fertilizer for sorghum (Sorghum bicolor (L.) Moench) using vermicompost leachate*. Bioresource Technology, 2008. **99**(14): p. 6174-6180.
311. Tejada, M., et al., *Agricultural use of leachates obtained from two different vermicomposting processes*. Bioresource Technology, 2008. **99**(14): p. 6228-6232.
312. Arancon, N.Q., et al., *Effects of humic acids from vermicomposts on plant growth*. European Journal of Soil Biology, 2006. **42**: p. S65-S69.

313. Canellas, L.P., et al., *Humic acids isolated from earthworm compost enhance root elongation, lateral root emergence, and plasma membrane H⁺-ATPase activity in maize roots*. *Plant physiology*, 2002. **130**(4): p. 1951-1957.
314. Vaughan, D., R. Malcolm, and B. Ord, *Influence of humic substances on biochemical processes in plants*, in *Soil organic matter and biological activity* 1985, Springer. p. 77-108.
315. Balasundram, N., K. Sundram, and S. Samman, *Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses*. *Food chemistry*, 2006. **99**(1): p. 191-203.
316. Singh, U., S. Maurya, and D. Singh, *Antifungal activity and induced resistance in pea by aqueous extract of vermicompost and for control of powdery mildew of pea and balsam/Antifungale Aktivität und induzierte Resistenz in Erbsen durch wässrigen Extrakt aus Wurmkompost und Bekämpfung des Echten Mehltaus an Erbsen und Gartenbalsamine*. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz/Journal of Plant Diseases and Protection*, 2003: p. 544-553.
317. Aremu, A.O., N.A. Masondo, and J. Van Staden, *Physiological and phytochemical responses of three nutrient-stressed bulbous plants subjected to vermicompost leachate treatment*. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2014. **36**(3): p. 721-731.
318. Singh, S., M.G. Kulkarni, and J. Van Staden, *Biochemical changes associated with gibberellic acid-like activity of smoke-water, karrikinolide and vermicompost leachate during seedling development of Phaseolus vulgaris L*. *Seed Science Research*, 2014. **24**(1): p. 63-70.
319. Arshad, M. and W.T. Frankenberger Jr, *Plant growth-regulating substances in the rhizosphere: microbial production and functions*, in *Advances in Agronomy* 1997, Elsevier. p. 45-151.
320. Stirk, W. and J. Van Staden, *Flow of cytokinins through the environment*. *Plant growth regulation*, 2010. **62**(2): p. 101-116.
321. Zhang, H., et al., *Mass spectrometric evidence for the occurrence of plant growth promoting cytokinins in vermicompost tea*. *Biology and fertility of soils*, 2014. **50**(2): p. 401-403.
322. Gajdošová, S., *Biological effects and metabolism of cis-zeatin-type cytokinins in plants*. 2012.
323. Mik, V., et al., *N9-substituted derivatives of kinetin: effective anti-senescence agents*. *Phytochemistry*, 2011. **72**(8): p. 821-831.
324. Tomati, U., A. Grappelli, and E. Galli, *The hormone-like effect of earthworm casts on plant growth*. *Biology and fertility of soils*, 1988. **5**(4): p. 288-294.
325. Pramanik, P., *Quantification of hydrolytic and proteolytic enzymes in the excreta of three epigeic earthworms and detection of thiocarbamic acid by GC-MS-MS*. *The Environmentalist*, 2010. **30**(3): p. 212-215.
326. Edwards, C.A. and K. Fletcher, *Interactions between earthworms and microorganisms in organic-matter breakdown*. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 1988. **24**(1-3): p. 235-247.
327. Krishnamoorthy, R. and S. Vajranabhaiah, *Biological activity of earthworm casts: an assessment of plant growth promotor levels in the casts*. *Proceedings: Animal Sciences*, 1986. **95**(3): p. 341-351.
328. Arancon, N.Q., et al., *Effects of vermicomposts produced from cattle manure, food waste and paper waste on the growth and yield of peppers in the field*. *Pedobiologia*, 2005. **49**(4): p. 297-306.
329. Haghghi, M., M.R. Barzegar, and J.A.T. da Silva, *The effect of municipal solid waste compost, peat, perlite and vermicompost on tomato (Lycopersicon esculentum L.) growth and yield in a hydroponic system*. *International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture*, 2016. **5**(3): p. 231-242.
330. Ayyobi, H., et al., *Vermicompost leachate and vermiwash enhance French dwarf bean yield*. *International Journal of Vegetable Science*, 2014. **20**(1): p. 21-27.

331. Singh, B., et al., *Vermicompost and NPK fertilizer effects on morpho-physiological traits of plants, yield and quality of tomato fruits:(Solanum lycopersicum l.)*. Vegetable crops research bulletin, 2010. **73**: p. 77-86.
332. Xu, L., et al., *Vermicompost improves the physiological and biochemical responses of blessed thistle (Silybum marianum Gaertn.) and peppermint (Mentha haplocalyx Briq) to salinity stress*. Industrial Crops and Products, 2016. **94**: p. 574-585.
333. Azarmi, R., M.T. Giglou, and R.D. Taleshmikail, *Influence of vermicompost on soil chemical and physical properties in tomato (Lycopersicum esculentum) field*. African Journal of Biotechnology, 2008. **7**(14).
334. Jabeen, N. and R. Ahmad, *Growth response and nitrogen metabolism of sunflower (Helianthus annuus L.) to vermicompost and biogas slurry under salinity stress*. Journal of Plant Nutrition, 2017. **40**(1): p. 104-114.
335. Quaggiotti, S., et al., *Effect of low molecular size humic substances on nitrate uptake and expression of genes involved in nitrate transport in maize (Zea mays L.)*. J Exp Bot 2004. **55**: p. 803-813.
336. Žižková, E., et al., *Tomato (Solanum lycopersicum L.) SIPT3 and SIPT4 isopentenyltransferases mediate salt stress response in tomato*. BMC plant biology, 2015. **15**(1): p. 85.
337. García, A.C., et al., *Potentialities of vermicompost humic acids to alleviate water stress in rice plants (Oryza sativa L.)*. Journal of Geochemical Exploration, 2014. **136**: p. 48-54.
338. Benazzouk, S., Z.-E. Djazouli, and S. Lutts, *Assessment of the preventive effect of vermicompost on salinity resistance in tomato (Solanum lycopersicum cv. Ailsa Craig)*. Acta Physiologiae Plantarum, 2018. **40**(6): p. 121.
339. Javid, M.G., et al., *The role of phytohormones in alleviating salt stress in crop plants*. Australian journal of crop science, 2011. **5**(6): p. 726.
340. Mimouni, H., et al., *Does salicylic acid (SA) improve tolerance to salt stress in plants? A study of SA effects on tomato plant growth, water dynamics, photosynthesis, and biochemical parameters*. Omics: a journal of integrative biology, 2016. **20**(3): p. 180-190.
341. Wally, O.S., et al., *Regulation of phytohormone biosynthesis and accumulation in Arabidopsis following treatment with commercial extract from the marine macroalga Ascophyllum nodosum*. Journal of plant growth regulation, 2013. **32**(2): p. 324-339.
342. O'Brien, J.A. and E. Benková, *Cytokinin cross-talking during biotic and abiotic stress responses*. Frontiers in plant science, 2013. **4**: p. 451.
343. Kandari, L., M. Kulkarni, and J. Van Staden, *Vermicompost leachate improves seedling emergence and vigour of aged seeds of commercially grown Eucalyptus species*. Southern Forests: a Journal of Forest Science, 2011. **73**(2): p. 117-122.
344. Rupani, P.F., et al., *Effects of different vermicompost extracts of palm oil mill effluent and palm-pressed fiber mixture on seed germination of mung bean and its relative toxicity*. Environmental Science and Pollution Research, 2018: p. 1-6.
345. Kibinza, S., et al., *Catalase is a key enzyme in seed recovery from ageing during priming*. Plant science, 2011. **181**(3): p. 309-315.
346. Hsu, C., et al., *Accelerated aging-enhanced lipid peroxidation in bitter melon seeds and effects of priming and hot water soaking treatments*. Scientia Horticulturae, 2003. **98**(3): p. 201-212.
347. Kanto, U., et al., *Promotive effect of priming with 5-aminolevulinic acid on seed germination capacity, seedling growth and antioxidant enzyme activity in rice subjected to accelerated ageing treatment*. Plant Production Science, 2015. **18**(4): p. 443-454.
348. Marconi, G., et al., *Use of MSAP markers to analyse the effects of salt stress on DNA methylation in rapeseed (Brassica napus var. oleifera)*. PloS one, 2013. **8**(9): p. e75597.
349. Sheteiwiy, M.S., et al., *Regulation of ZnO nanoparticles-induced physiological and molecular changes by seed priming with humic acid in Oryza sativa seedlings*. Plant growth regulation, 2017. **83**(1): p. 27-41.

350. Zhang, S., et al., *Seed priming with brassinolide improves lucerne (Medicago sativa L.) seed germination and seedling growth in relation to physiological changes under salinity stress.* Australian Journal of Agricultural Research, 2007. **58**(8): p. 811-815.
351. Afzal, I., et al., *Changes in antioxidant enzymes, germination capacity and vigour of tomato seeds in response of priming with polyamines.* Seed Science and Technology, 2009. **37**(3): p. 765-770.



Assessment of the preventive effect of vermicompost on salinity resistance in tomato (*Solanum lycopersicum* cv. Ailsa Craig)

Salima Benazzouk^{1,2} · Zahr-Eddine Djazouli² · Stanley Lutts¹

Received: 7 June 2017 / Revised: 5 March 2018 / Accepted: 21 May 2018
© Franciszek Górski Institute of Plant Physiology, Polish Academy of Sciences, Kraków 2018

Abstract

To determine the effects of vermicompost leachate (VCL) on resistance to salt stress in plants, young tomato seedlings (*Solanum lycopersicum*, cv. Ailsa Craig) were exposed to salinity (150 mM NaCl addition to nutrient solution) for 7 days after or during 6 mL L⁻¹ VCL application. Salt stress significantly decreased leaf fresh and dry weights, reduced leaf water content, significantly increased root and leaf Na⁺ concentrations, and decreased K⁺ concentrations. Salt stress decreased stomatal conductance (g_s), net photosynthesis (A), instantaneous transpiration (E), maximal efficiency of PSII photochemistry in the dark-adapted state (F_v/F_m), photochemical quenching (qP), and actual PSII photochemical efficiency (Φ_{PSII}). VCL applied during salt stress increased leaf fresh weight and g_s , but did not reduce leaf osmotic potential, despite increased proline content in salt-treated plants. VCL reduced Na⁺ concentrations in leaves (by 21.4%), but increased them in roots (by 16.9%). VCL pre-treatment followed by salt stress was more efficient than VCL concomitant to salt stress, since VCL pre-treatment provided the greatest osmotic adjustment recorded, with maintenance of net photosynthesis and K⁺/Na⁺ ratios following salt stress. VCL pre-treatment also led to the highest proline content in leaves (50 $\mu\text{mol g}^{-1}$ FW) and the highest sugar content in roots (9.2 $\mu\text{mol g}^{-1}$ FW). Fluorescence-related parameters confirmed that VCL pre-treatment of salt-stressed plants showed higher PSII stability and efficiency compared to plants under concomitant VCL and salt stress. Therefore, VCL represents an efficient protective agent for improvement of salt-stress resistance in tomato.

Keywords NaCl · Osmotic adjustment · Priming · Salt · Sodium concentration

Introduction

Salinity is a major environmental constraint on agricultural production worldwide. Salt stress includes two major types of physiological stress in plants. First, increased NaCl can reduce water availability in plants, in terms of decreased external osmotic potential (Ashraf and Harris 2004; Acosta-Motos et al. 2017). Second, increased NaCl can induce ionic stress due to increased absorption of toxic ions, such as Na⁺,

and decreased absorption of essential elements, such as K⁺ (Hamamoto et al. 2015) and P (Acosta-Motos et al. 2017). Salt-stress resistance in plants is consequently a direct function of the need to maintain water status through osmotic adjustment, thus allowing turgor maintenance, while also preserving K⁺/Na⁺ selectivity and ensuring vacuolar Na⁺ sequestration, to avoid the interference of toxic ions in biochemical processes in the cell cytosol (Munns and Tester 2008).

In the plant kingdom, the resistance to salt stress varies greatly across species. Most cultivated plants are glycophyte species, and are thus relatively sensitive to salt stress (Ashraf and Harris 2004). This is especially true for tomato (*Solanum lycopersicum* L.), which is also one of the most consumed fruits worldwide (Romero-Aranda et al. 2001). Salt stress can have a large deleterious impact on tomato production. Some closely related plant species in the *Solanum* genus are halophyte plant species (e.g., *Solanum cheesmaniae*, *Solanum peruvianum*, *Solanum chilense*), and interspecific crosses might be an option to select for

Communicated by M Horbowicz.

✉ Stanley Lutts
stanley.lutts@uclouvain.be

¹ Groupe de Recherche en Physiologie Végétale, Earth and Life Institute-Agronomy (ELI-A), Université catholique de Louvain, 5 (Bte 7.07.73), Croix du Sud, 1348 Louvain-la-Neuve, Belgium

² Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université de Blida 1, Ouled yaich, Blida, Algeria

salt-stress-resistant hybrids (Cuartero et al. 2006). However, this is an expensive task that requires time and effort to select for promising material with the necessary agronomical properties (Flowers and Yeo 1995). Genetic engineering for the transfer of specific genes can also be considered, but this poses a wide range of societal problems and is not necessary realistic, considering that salt-stress resistance is a polygenic trait that relies on interactions between a large number of genes (Flowers 2004).

Genetic improvement of cultivated material, simple and cheap procedures to optimize growing conditions for tomato have also been considered a good option to improve salt-stress resistance, at least on a short-term basis (Hou et al. 2016). Biostimulants are promising products for this purpose (Calvo et al. 2014). According to the European Biostimulants Industry Council, plant biostimulants contain substances and/or micro-organisms that when applied to plants or the rhizosphere, can stimulate natural processes to enhance or improve nutrient uptake and efficiency, plant stress tolerance, and hence crop quality. Numerous types of such products are available, and most of them are a complex mix of a multitude of active substances (Yakhin et al. 2017). Vermicompost is an environmentally friendly organic fertilizer that is produced by digestion of a variety of organic wastes by earthworms. It is naturally enriched with active humic substances, valuable nutrients, phenolic compounds, and hormones, which are known to have positive effects on plant physiology (Martinez-Balmori et al. 2014; Aremu et al. 2015; Zhang et al. 2015). The digestion of organic matter by earthworms produces the solid vermicompost along with a liquid phase that results from leaching processes. In tomato, vermicompost has been used to improve plant growth (Zucco et al. 2015) and fruit yield (Zaller 2007) and quality (Gutiérrez-Miceli et al. 2007). Vermicompost has also been shown to increase defense against the root-knot nematode (Xiao et al. 2016), and to reduce temperature and water stress in seedlings (Chinsamy et al. 2014). However, data regarding the impact of vermicompost on tomato resistance to salt stress remain scarce. Chinsamy et al. (2013) demonstrated that vermicompost leachate (VCL) can alleviate salt stress in tomato through more efficient accumulation of compatible solutes, such as proline and soluble sugar, and higher contents of photosynthetic pigments. In most of these studies, the product was applied at the same time as the environmental constraint. However, under natural field conditions, salt stress is not necessarily a permanent condition, but can instead occur as a consequence of inadequate irrigation practices (Acosta-Motos et al. 2017). It is, therefore, important to determine whether application of VCL before exposure to salt stress has a similar impact to that of vermicompost application concomitant with salt stress.

The research hypothesis is that VCL may afford protection against salt stress in tomato and that its effect varies

depending on the timing of stress application. To analyze for potential 'protective' effects of vermicompost application on salt-stress resistance in *S. lycopersicum*, the present study investigated young plants cultivated in nutrient solution with VCL added before or during salt stress. Plant growth was analyzed in terms of regulation of plant water status, ion concentration, and the photosynthetic properties.

Materials and methods

Plant materials, vermicompost leachate, and growth conditions

Seeds of tomato *S. lycopersicum* L. (cv. Ailsa Craig) were germinated in a greenhouse in plastic jars containing loam as substrate. Fifteen-day-old seedlings were transferred to a hydroponic culture system in a growth chamber under a 16-h photoperiod, with light intensity of $150 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. The temperature was set to 25°C during the day and 20°C during the night, with corresponding relative humidities of 70 and 90%. The seedlings were distributed among 12 tanks (at six seedlings per tank) that contained 1.5 L aerated nutrient solution, in a completely randomized block design. The seedlings were fixed on polystyrene plates that floated in the aerated hydroponic nutrient solution, which containing: 3 mM KNO_3 , 1 mM $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 2 mM KH_2PO_4 , 0.5 mM MgSO_4 , $32.9 \mu\text{M}$ Fe-EDTA, $30 \mu\text{M}$ H_3BO_4 , $5 \mu\text{M}$ MnSO_4 , $1 \mu\text{M}$ CuSO_4 , $1 \mu\text{M}$ ZnSO_4 , and 1 mM $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}$. The pH was adjusted to 5.8 daily, and the solutions were renewed every 7 days.

The vermicompost used in this study was produced in the Biotechnology Laboratory in the University of Blida (Algeria) by vermicomposting food wastes using the earthworm *Eisina fetida* and following the recommendations of Ndegwa and Thompson (2001). The collected VCL has previously been shown to contain 678 mg L^{-1} humic acids, 41 mg L^{-1} polyphenols, 1.4 mg L^{-1} anthocyanins, 89 mg L^{-1} C-glycosides, 4.7 mg L^{-1} P, and 45 mg L^{-1} K (Benhebil 2015).

After 7 days of acclimation, the plants in all of the 12 tanks were maintained for 7 days in nutrient solution, with four of these tanks also receiving addition of 6 mL L^{-1} VCL, as the VCL pre-treatment. The plants without VCL pre-treatment then underwent one of the following treatments for the following 7 days: (1) nutrient solution alone (control); (2) nutrient solution plus 150 mM NaCl (salt-stress control); (3) nutrient solution plus 6 mL L^{-1} VCL (VCL control); or (4) nutrient solution plus both 150 mM NaCl and 6 mL L^{-1} VCL. At the same time, the plants under VCL pre-treatment underwent one of the following treatments for the following 7 days: (5) nutrient solution alone (VCL pre-treated control);

or (6) nutrient solution plus 150 mM NaCl. Each treatment was applied to 12 plants distributed across 2 tanks.

Plant growth, water status, and osmotic potential

Following each of these six treatments, the shoots and roots of four randomly chosen plants per treatment were separated. After determination of the fresh weight (FW), the dry weight (DW) of the roots and leaves were determined following incubation at 72 °C for 48 h. For the osmotic potential (Ψ_s), the samples were cut into small segments and placed into microcentrifuge tubes (Eppendorf, Germany) that were perforated with four small holes and put inside a second, intact, microcentrifuge tube. These samples were then exposed to three freeze/thaw cycles and then centrifuged at 15,000×g for 15 min at 4 °C. The sap from the plant tissue was analyzed for Ψ_s , whereby the osmolarity was assessed using a vapor pressure osmometer (Wescor 5520) and converted from mOsmol kg⁻¹ to MPa according to the Van't Hoff equation (Lutts et al. 1999).

Stomatal conductance, net photosynthesis, and chlorophyll fluorescence

Leaf stomatal conductance (g_s) was measured on the fourth fully expanded leaf of six plants per treatment, using a diffusion porometer (AP4; Delta-TDevices Ltd., Cambridge, UK). These measurements were performed between 14:00 and 16:00 h. The instantaneous transpiration rate (E) was measured using an infrared gas analyzer (LCA-2 8.7; ADC, Great Amwell, UK) and an air supply unit (ASU 10.87; ADC) mounted in series in an open system. The net carbon assimilation rate (A) under constant photosynthetic photon flux (500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) and intercellular CO₂ concentration (c_i) were measured using the same infrared gas analyzer system, according to Vandoorne et al. (2012). Measurements were made between 10:00 and 12:00 h on six leaves for each treatment.

Chlorophyll fluorescence measurements were carried out using a portable pulse-modulated chlorophyll fluorimeter (FMS2; Hansatech, King's Lynn, UK). The recordings were made on the fourth leaf. All of the measurements were performed on the middle of the leaflets. Leaflet portions were acclimated to darkness for 20 min. The minimal fluorescence level (F_0) was measured by measuring the modulated light (0.1 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). The maximal fluorescence level (F_m) with all photosystem II (PSII) reaction centers open was determined with the dark-adapted leaves using a 0.8-s saturating pulse at 8500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. The leaves were then continuously illuminated for 3 min with white actinic light (320 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), and the steady-state fluorescence (F_s) was recorded. A second saturating pulse at 8500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ was imposed to determine the maximal

fluorescence for the light-adapted state (F'_m). The actinic light was removed, and the minimal fluorescence level in the light-adapted state (F'_0) was determined by illuminating the leaf with a 3-s pulse of far-red light. The maximal efficiency of PSII photochemistry in the dark-adapted state (F_v/F_m), the photochemical quenching coefficient (qP), the non-photochemical quenching (NPQ) and the actual PSII photochemical efficiency (ΦPSII) were calculated according to Maxwell and Johnson (2000).

Determination of Na⁺ and K⁺ contents

The leaf and root tissues of four plants per treatment were oven dried at 72 °C for 2 days. They were then ground into powder in liquid nitrogen. These samples were digested in 4 mL 35% HNO₃ at 80 °C. The residues were redissolved in aqua regia (37% HCl: 65% HNO₃; 3:1) and filtered (Whatman, 11 mm). The ion contents were then quantified by flame atomic absorption spectrophotometry (ICE 3300; Thermo Scientific, Waltham, MA, USA).

Osmocompatible solute determination

The fresh leaves and roots of four plants per treatment were powdered in liquid N₂ and stored at -80 °C until analysis. Free proline was quantified according to the method of Bates et al. (1973).

Soluble sugars were extracted according to Vandoorne et al. (2012) and quantified by the anthrone method according to (Yemm and Willis 1954).

Statistical treatment

The data were analyzed using one-way analysis of variance (ANOVA). This was used to determine the main effects of the different treatments on the physiological and biochemical parameters of the plants. When ANOVA was significant at $P < 0.05$, the differences between the means were tested for significance according to Student–Newman–Keuls. The data were subjected to ANOVA tests using SYSTAT version 12, and are presented as means \pm standard errors.

Results

Compared to the untreated control (nutrient medium alone), salt stress (i.e., 150 mM NaCl) induced significant decreases in root (Fig. 1a) and leaf (Fig. 1b) FWs. The application of 6 mL L⁻¹ VCL in the absence of salt stress had no impact on these parameters. In contrast, application of VCL before (pre-treatment) and during salt stress prevented the decrease in leaf FW caused by salt stress (Fig. 1b). Salt stress did not significantly affect root DW (Fig. 1c), although it

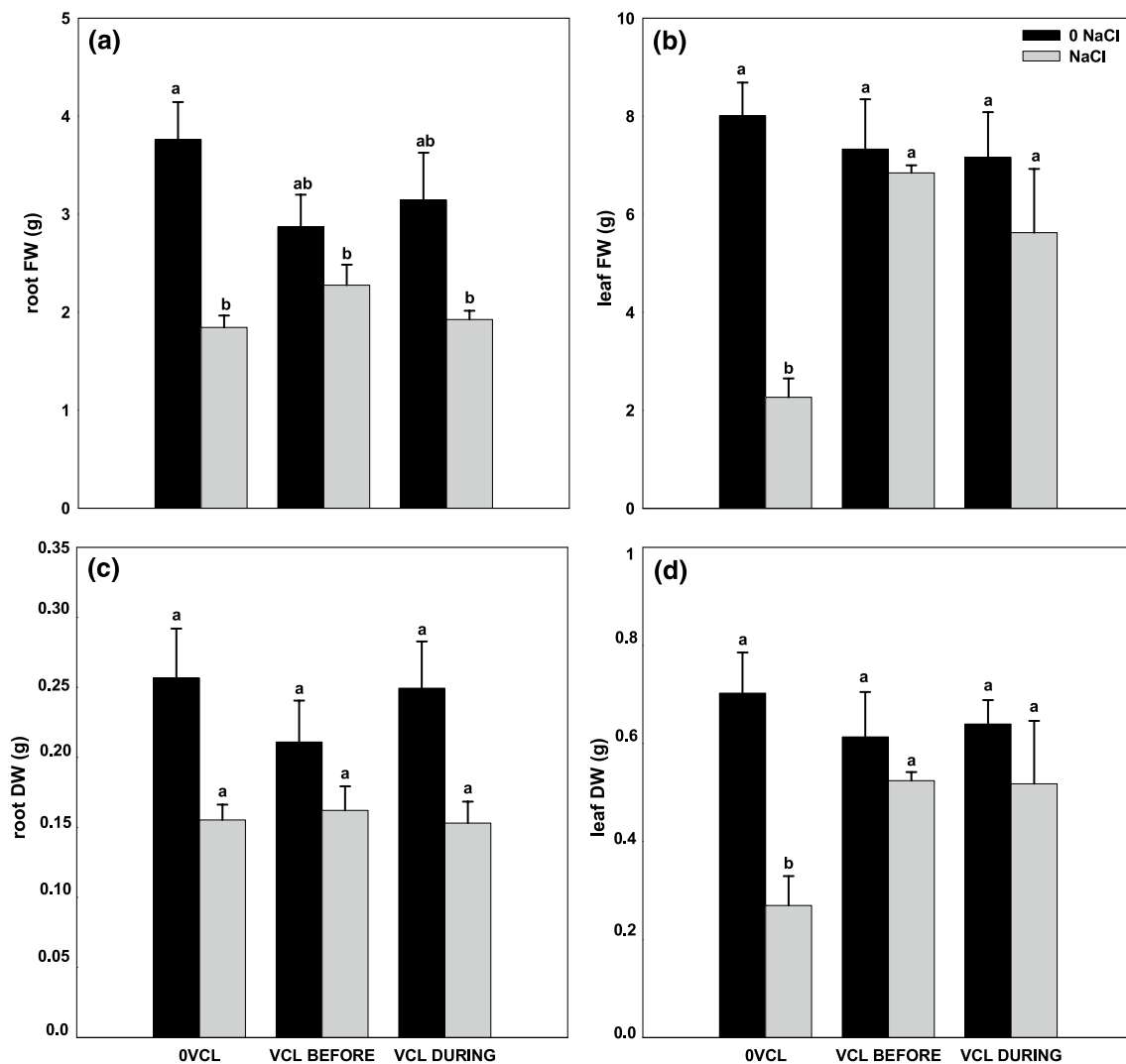


Fig. 1 Root (a) and leaf (b) fresh weights and root (c) and leaf (d) dry weights of *Solanum lycopersicum* (cv. Ailsa Craig) plants cultivated over 7 days under control (0 NaCl) and salt-stress (150 mM NaCl) conditions with vermicompost leachate (6 mL L⁻¹ VCL) applied

for either 7 days before (VCL BEFORE) or 7 days during salt stress (VCL DURING). Data are means \pm SE ($n=4$). Data with different letters are significantly different ($P < 0.05$; Student–Newman–Keuls)

significantly decreased leaf DW (Fig. 1d). Again, when VCL was applied before or during salt stress, it suppressed salt-stress-induced inhibition of leaf growth.

Neither salt stress alone nor VCL alone had any significant effects on root WC (Table 1). Salt stress significantly reduced leaf WC, while plants exposed to VCL before or during salt stress showed similar leaf WC to unstressed plants. Salt stress reduced root and leaf osmotic potential (Ψ_s) (Table 1). VCL reduced root Ψ_s in salt-stressed plants, and to a greater extent in plants treated with VCL before salt stress, compared to those treated with VCL only during salt stress. Leaf Ψ_s was also lower in plants treated with VCL before salt stress, while no significant effect was seen on leaf Ψ_s for plants treated with VCL during salt stress.

As expected, root and leaf Na⁺ contents remained low in the absence of salt stress, and VCL treatment had no effect on these parameters (Fig. 2). Salt stress increased root Na⁺ concentration (Fig. 2a), while VCL treatment before or during salt stress had contrasting effects: VCL pre-treatment significantly reduced root Na⁺ concentration, while concomitant VCL treatment significantly increased root Na⁺ concentration. In contrast, both of these VCL treatments significantly reduced Na⁺ accumulation in leaves of salt-stressed plants (Fig. 2b). Salt stress slightly reduced K⁺ concentration in leaves but not in roots (Fig. 2c, d). In salt-stressed plants, VCL pre-treatment increased K⁺ concentration in leaves of salt-stressed plants, while concomitant VCL treatment increased K⁺ concentration in roots.

Table 1 Water content and osmotic potential (Ψ_s) in roots and leaves of tomato (*Solanum lycopersicum*, cv. Ailsa Craig) plants cultivated over 7 days under control (0 NaCl) and salt-stress (150 mM NaCl) conditions with vermicompost leachate (6 mL L⁻¹ VCL) applied for either 7 days before or 7 days during salt stress

Tissue	Condition	VCL addition	Water content (%)	Osmotic potential (Ψ_s ; MPa)	
Roots	Control	None	93.25 ± 0.456 a	-0.447 ± 0.013 a	
		Before	92.66 ± 0.38 a	-0.417 ± 0.018 a	
		During	91.97 ± 0.256 a	-0.460 ± 0.029 a	
	Salt stress	None	91.56 ± 0.406 a	-0.745 ± 0.020 b	
		Before	92.90 ± 0.158 a	-0.898 ± 0.021 d	
		During	92.05 ± 0.703 a	-0.822 ± 0.024 c	
	Leaves	Control	None	91.27 ± 0.598 a	-0.695 ± 0.019 a
			Before	91.63 ± 0.498 a	-0.783 ± 0.022 b
			During	90.87 ± 0.598 a	-0.668 ± 0.014 a
Salt stress		None	88.30 ± 0.745 b	-0.993 ± 0.029 c	
		Before	92.32 ± 0.352 a	-1.215 ± 0.021 d	
		During	90.85 ± 0.512 a	-1.04 ± 0.025 c	

Data are means ± SE ($n=4$). For a given organ, data with different letters within each measure are significantly different ($P < 0.05$; Student–Newman–Keuls)

With no salt stress, VCL treatments had no effects on root and leaf proline contents (Fig. 3a, b). Salt stress increased root and leaf proline contents and the recorded increase was greater for salt-stressed plants exposed to VCL treatment. VCL pre-treatment had greater impact on leaf proline content under salt stress than when applied concomitant to salt stress (Fig. 3b). For sugar content, with no salt stress, VCL treatment had no impact on the leaf sugar content, but increased root sugar content. Salt stress increased root sugar content, and especially with VCL pre-treatment (Fig. 3c). In contrast, VCL treatment had no effects on leaf sugar content in salt-stressed plants (Fig. 3d).

Salt stress reduced stomatal conductance (g_s) (Fig. 4a). Here, VCL treatment significantly increased g_s in salt-stressed plants and the impact of VCL was greater for pre-treatment than when applied concomitant to salt stress. Salt stress also reduced net photosynthesis (A) and instantaneous transpiration (E) (Fig. 4b, c) and only VCL pre-treatment significantly reduced these negative effects of salt stress. Salt stress had no significant impact on the intercellular CO₂ mole fraction (c_i) in plants cultivated in the absence of VCL, while it decreased C_i in VCL-treated plants (Fig. 4d).

The maximum quantum yield of dark acclimated leaves (F_v/F_m) and photochemical quenching (qP) were significantly reduced in response to salt stress (Table 2). VCL pre-treatment protected against the deleterious impact of salt stress on these parameters, while salt-stressed plants under concomitant VCL treatment showed intermediate behavior. Salt stress alone increased non-photochemical quenching (NPQ), and VCL pre-treatment reduced this increase; VCL treatment concomitant with salt stress had a more limited protective effect. A similar situation was seen for photochemical efficiency of photosystem II (Φ_{PSII}), which was decreased by salt stress, and which remained higher in

VCL-pretreated plants compared to plants treated with VCL concomitant with salt stress.

Discussion

Increasing productivity of marginal lands is a major goal over the coming decades. This is especially the case for agricultural areas that are affected by salinity or drought, where the crop yields remain relatively low. Optimal fertilization might help plants to overcome some of the deleterious impacts of abiotic stresses. However, in several parts of the world that are affected by such adverse environmental conditions, chemical fertilizers are not available or they are too expensive for small farms. Moreover, intensive use of these products constitutes a risk for ecosystem stability. Vermicomposting processes are now frequently presented as attractive alternatives to chemical fertilizers (Bidabadi et al. 2016; Mengistu et al. 2017). Indeed, the post-thermophilic biodegradation of organic material through interactions between earthworms and micro-organisms provides an environmentally friendly product that is highly suitable for addition to soil (Martinez-Balmori et al. 2014; Joshi et al. 2014; Motallebi 2015). However, solid vermicompost often has high electrical conductivity that can result in increased soil salinity, which thus constitutes a major drawback for its use in salt-affected areas (Gutiérrez-Miceli et al. 2007; Bidabadi et al. 2016). In contrast, VCL has low electrical conductivity and provides the advantage of homogeneity, compared to application of the solid vermicompost fraction (Joshi et al. 2014). Indeed, vermicompost and VCL have been successfully used to improve yield and quality of tomato fruit under different systems, from fields to greenhouses and hydroponic systems (Gutiérrez-Miceli et al. 2007; Zaller 2007; Arancon et al. 2012; Haghghi et al. 2016; Xiao et al. 2016). Similar

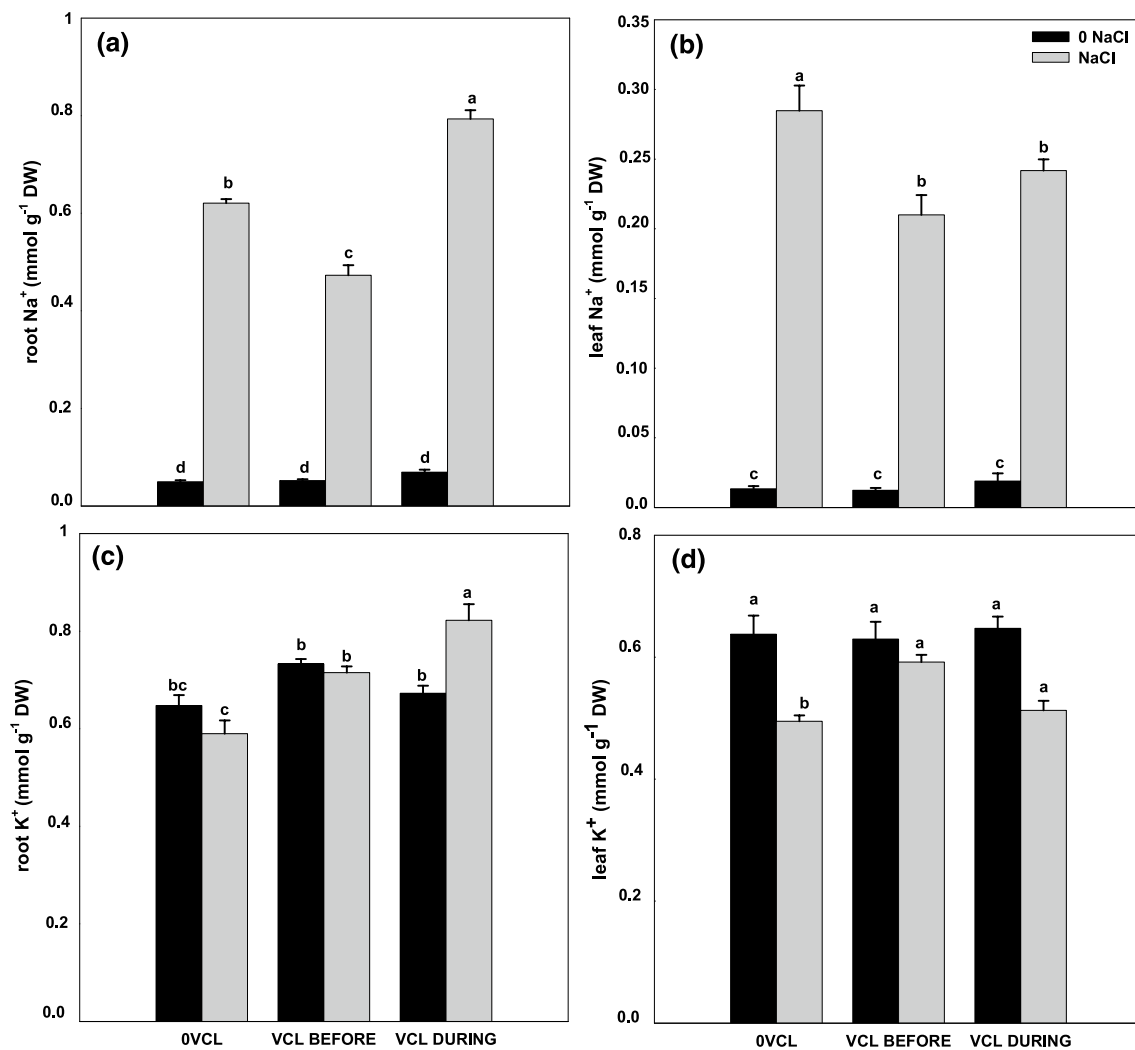


Fig. 2 Root (a) and leaf (b) Na⁺ contents and root (c) and leaf (d) K⁺ contents of *Solanum lycopersicum* (cv. Ailsa Craig) plants cultivated over 7 days under control (0 NaCl) and salt-stress (150 mM NaCl) conditions with vermicompost leachate (6 mL L⁻¹ VCL) applied

for either 7 days before (VCL BEFORE) or 7 days during salt stress (VCL DURING). Data are means \pm SE ($n=4$). Data with different letters are significantly different ($P < 0.05$; Student–Newman–Keuls)

data have been reported for a number of other plant species (Xu et al. 2016; Bidabadi et al. 2016).

In the present study, VCL did not show any obvious advantages when the tomato plants were cultivated in the absence of salt stress. Here, the growth parameters, ion contents, and photosynthesis-related parameters were not affected by the VCL application, with only the root sugar content increased slightly in response to VCL in the unstressed plants. In contrast, other studies have reported that vermicompost or VCL can significantly stimulate tomato plant growth in the absence of salt stress, in terms of root and stem lengths, root and shoot FWs, and stem diameters (Chinsamy et al. 2013; Haghighi et al. 2016; Megistu et al. 2017). In several of these cases, the plants were cultivated in soil, and an improvement in the plant

performance might be attributable to improved soil structure and soil microbial population (Azarmi et al. 2008). Zucco et al. (2015) demonstrated recently that the impact of VCL on tomato performance can differ greatly depending on the soil type considered. In the present study, the plants were maintained in nutrient solution, and thus any impacts of VCL on soil structure, size of aggregates, and substrate water retention capacity are not factors that need to be considered here. Arthur et al. (2012) demonstrated that VCL can alleviate P and K deficiencies for tomato seedlings. In the present study, the unstressed seedlings were maintained in an optimal nutrient situation that provided all of the elements required for plant growth and development. Consequently, these plants did not experience any nutrient deficiency. To consider the impact of VCL on fruit size and

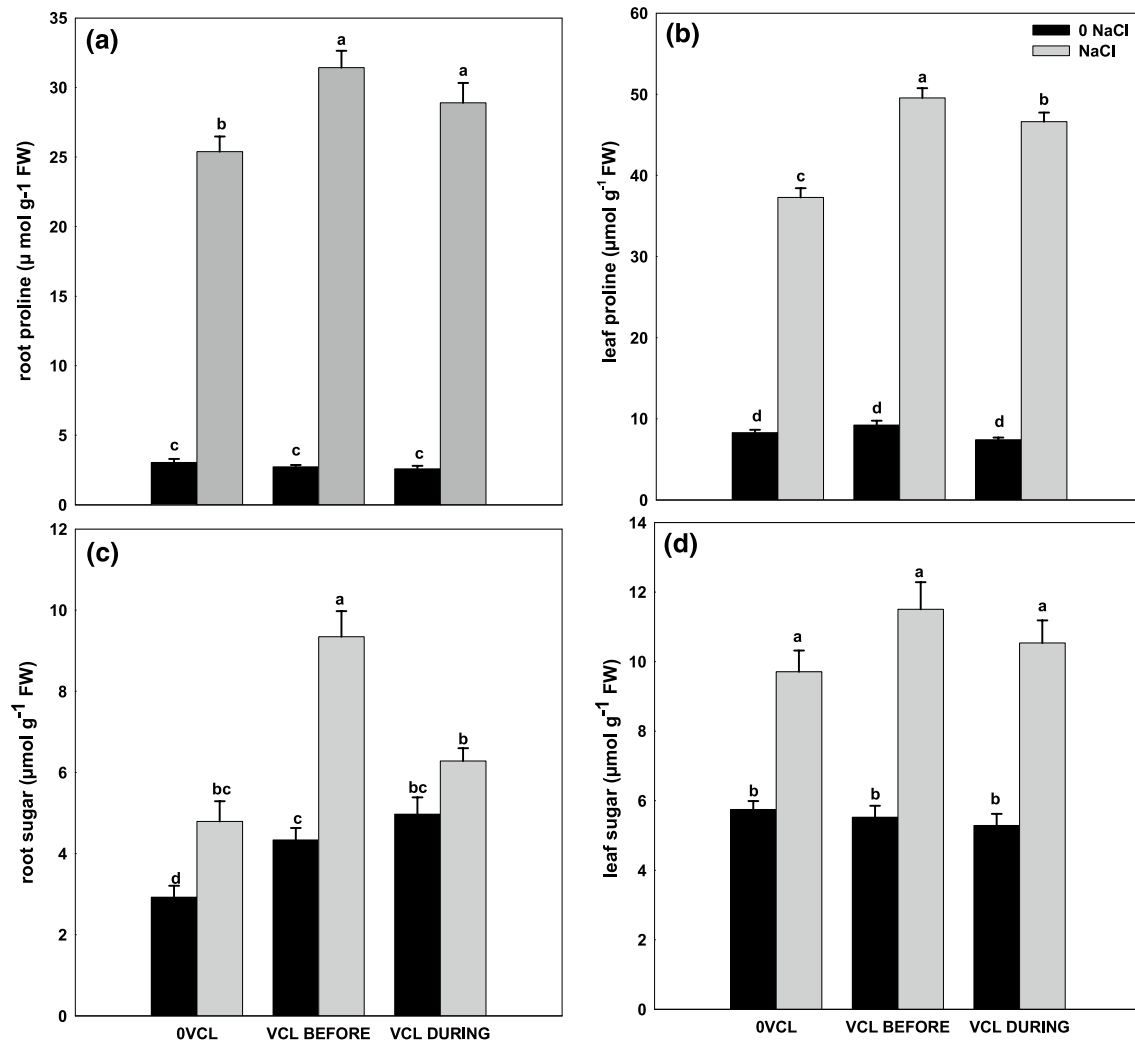


Fig. 3 Root (a) and leaf (b) proline contents and root (c) and leaf (d) total soluble sugar contents of *Solanum lycopersicum* (cv. Ailsa Craig) plants cultivated over 7 days under control (0 NaCl) and salt-stress (150 mM NaCl) conditions with vermicompost leachate

(6 mL L⁻¹ VCL) applied for either 7 days before (VCL BEFORE) or 7 days during salt stress (VCL DURING). Data are means \pm SE ($n=4$). Data with different letters are significantly different ($P<0.05$; Student–Newman–Keuls)

quality, numerous studies have used vermicompost for long periods, from the seedling stage to the reproductive stage. In contrast, the present study focused only on the seedling stage, and consequently used short duration of exposure to VCL (i.e., 7 days). Moreover, Zaller (2007) demonstrated that the impact of VCL can vary depending on the tomato cultivar considered, while Arancon et al. (2012) reported large variability in VCL composition that depended on the nature of the organic waste used for the composting processes. According to these previous studies, different VCL preparations might have different impacts on tomato plant growth. Hence, these differences in culture system, cultivar studied, and VCL composition might explain why in the present study there was no obvious impact of VCL alone on the seedlings maintained in the absence of salt stress.

The situation appeared different here for plants exposed to salt stress, as the VCL applied either before or during the salt stress clearly mitigated some of the deleterious symptoms of salt stress. Salt stress significantly decreased leaf FW and DW, reduced the leaf WC, strongly increased root and leaf Na⁺ concentration and decreased K⁺ concentration. Salt stress also decreased g_s , A , E , F_v/F_m , qP , and $\Phi PSII$, while it increased NPQ. Application of VCL during salt stress abolished the salt-stress-induced decrease in leaf FW, which confirms its positive impact on salt-stress resistance in *S. lycopersicum* (Chinsamy et al. 2013). A similar protective effect was also reported for sunflower (Jabeen and Ahmad 2017) and peppermint (Xu et al. 2016). The present study demonstrates that VCL applied during salt stress improves leaf WC, thus confirming that VCL can reduce the water

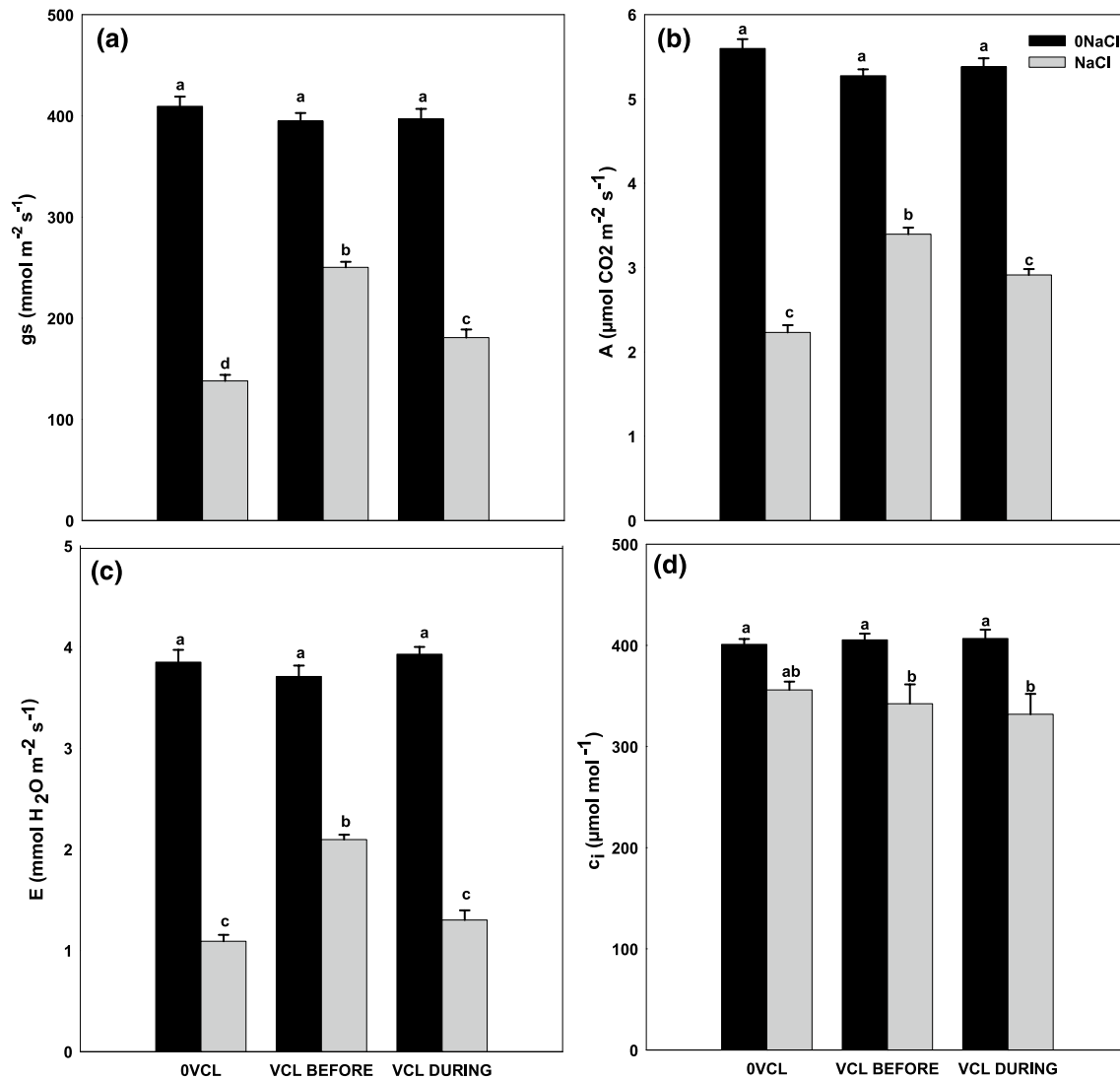


Fig. 4 Stomatal conductance (a), net photosynthesis (b), instantaneous transpiration (c), and intercellular c_i (d) in leaves of *Solanum lycopersicum* (cv. Ailsa Craig) plants cultivated over 7 days under control (0 NaCl) and salt-stress (150 mM NaCl) conditions with ver-

micompost leachate (6 mL L^{-1} VCL) applied for either 7 days before (VCL BEFORE) or 7 days during salt stress (VCL DURING). Data are means \pm SE ($n=4$). Data with different letters are significantly different ($P < 0.05$; Student–Newman–Keuls)

Table 2 Chlorophyll fluorescence parameters measured for tomato (*Solanum lycopersicum*, cv Ailsa Craig) plant leaves cultivated over 7 days under control (0 NaCl) and salt-stress (150 mM NaCl) conditions with vermicompost leachate (6 mL L^{-1} VCL) applied for either 7 days before or 7 days during salt stress

Condition	VCL addition	Chlorophyll fluorescence parameter			
		F_v/F_m	qP	NPQ	ϕ PSII
Control	None	0.854 ± 0.002 a	0.981 ± 0.009 ab	0.229 ± 0.028 c	0.858 ± 0.013 b
	Before	0.857 ± 0.003 a	0.996 ± 0.003 a	0.191 ± 0.017 c	0.898 ± 0.007 a
	During	0.856 ± 0.005 a	0.995 ± 0.003 ab	0.243 ± 0.009 c	0.880 ± 0.004 ab
Salt stress	None	0.804 ± 0.003 c	0.938 ± 0.001 c	0.557 ± 0.030 a	0.793 ± 0.008 d
	Before	0.859 ± 0.002 a	0.985 ± 0.004 ab	0.241 ± 0.011 c	0.857 ± 0.008 b
	During	0.823 ± 0.002 b	0.971 ± 0.001 b	0.452 ± 0.029 b	0.822 ± 0.002 c

The parameters given include: maximum quantum yield of dark acclimated leaves (F_v/F_m); photochemical quenching (qP); non-photochemical quenching (NPQ); and photochemical efficiency of photosystem II (ϕ PSII). Data are means \pm SE ($n=4$). Data with different letters within each measure are significantly different at ($P < 0.05$; Student–Newman–Keuls)

stress component of salt stress. This effect, however, was not due to stomatal closure, as in response to VCL application, g_s increased, rather than decreased. Chinsamy et al. (2014) suggested that VCL can improve osmotic adjustment under water-stressed conditions, in terms of proline and soluble sugar accumulation. Although VCL applied here during salt stress induced an increase in proline compared to plants under salt stress in the absence of VCL, this increase was not sufficient to significantly reduce leaf Ψ_s . In contrast, VCL-treated roots that were concomitantly exposed to salt stress showed lower Ψ_s than plants exposed to salt stress in the absence of VCL, which might be due, at least in part, to soluble sugar accumulation. The biochemical basis of VCL-induced increases in proline content remains to be determined but has also been recorded in the absence of stress in tomato (Motallebi 2015). Although increases in glutamate dehydrogenase (EC 1.4.1.2) and glutamine synthase (EC 6.3.1.2) activities have key roles in the synthesis of proline precursors in salt-stressed plants, Jabeen and Ahmad (2017) recently demonstrated that vermicompost has no impact on these enzyme activities in salt-stressed *Helianthus annuus*. Moreover, proline concentration does not always increase in response to VCL application; indeed, Xu et al. (2016) reported that vermicompost protected *Silybum marianum* and *Mentha haplocalyx* against salt stress, where the proline content decreased due to the global reduction of the intensity of the salt stress.

Monovalent cation absorption and translocation from roots to shoots might be another target for the beneficial effects of VCL in salt-stressed plants. VCL applied here to salt-stressed plants reduced leaf Na^+ content but increased root Na^+ content. This suggests that VCL reduces Na^+ translocation to the aerial plant parts, which is an efficient strategy for salt-stress resistance in the tomato cv. Ailsa Craig (Gharbi et al. 2017). In contrast, root K^+ increased in VCL-treated plants exposed to salt stress, while it slightly decreased in salt-stressed plants in the absence of VCL. VCL also contains K, and hence it is commonly used as a 'NPK' fertilizer (Singh et al. 2010). However, root K^+ content in VCL-treated plants increased here with salt stress, but not in the absence of VCL, which thus suggests that the salt stress interacts with VCL to improve K^+ nutrition. The humic substances in VCL might indeed interact with membrane transporters, as previously shown by Canellas et al. (2002) for H^+ -ATPases and by Quaggiotti et al. (2004) for nitrate. With Quaggiotti et al. (2004), humic substances even stimulated the expression of genes encoding two putative maize nitrate transporters. Hence, interactions of VCL with K^+ transporters cannot be ruled out, although the specific impact of the NaCl-induced salt stress on this interaction still requires further study.

Of note, in terms of improvement of salt-stress resistance, VCL applied here before salt stress was more efficient than

VCL applied concomitant to salt stress. Indeed, this preventive VCL application led to the best osmotic adjustment recorded at the end of the stress period (Table 1). It also reduced Na^+ concentration in both roots and shoots, which suggests that Na^+ absorption rather than Na^+ translocation was modified under these circumstances. This protective application of VCL also increased K^+ concentration and led to the highest proline concentration in the leaves, as well as the highest sugar concentration in the roots. The impact of this protective VCL application on the fluorescence-related parameters confirmed that salt-stressed plants previously treated with VCL had greater PSII stability and efficiency when exposed to salt stress than plants that received VCL and were exposed to salt stress concomitantly. Moreover, VCL application before salt stress contributed to stomatal opening during the salt stress; this will allow maintenance of gas exchange and net photosynthesis without any deleterious impact on plant water status, which appeared to be efficiently regulated by osmotic adjustment. While VCL application in the absence of salt stress did not induce any morphological modifications, it appears that it modified the physiological status of the plants in such a way that the plants coped with the salt stress more efficiently. VCL might thus be regarded as an efficient protective agent that can reinforce plant resistance to salt stress.

The underlying mechanisms that sustain such adaptations might be related to the hormonal properties of VCL. It is well-established that humic acids isolated from earthworm compost have auxin properties, and that bioactive molecules such as indole acetic acid cluster with the humic acid supra-molecular arrangement (Canellas et al. 2002; Pizzeghello et al. 2013). Recent studies have also demonstrated that VCL contains a wide range of phytohormones (Zhang et al. 2015; Aremu et al. 2015). Hormonal status has a key role in plant responses to salt stress, and especially for the *Solanum* genus (Gharbi et al. 2017). In particular, this relates to the cytokinins that act as anti-senescent hormones. Cytokinins accumulation significantly improves salt-stress resistance in tomato (Žižková et al. 2015). Using an enzyme-linked immunosorbent assay, Pizzeghello et al. (2013) detected the cytokinin isopentenyladenosine in humic fractions extracted from earthworm feces. More recently, Aremu et al. (2015) used ultra-high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry to quantify a wide range of cytokinins and gibberellins in various sources of VCL. Similarly, Zhang et al. (2015) detected high levels of the most active cytokinin, *trans*-zeatin, in vermicompost produced from organic waste. Although some studies have reported that vermicompost can also contain abscisic acid (ABA), Calderín García et al. (2014) reported that humic acids might reduce these ABA levels, or prevent stress-induced increases in endogenous ABA levels. Increased cytokinins in association with decreased ABA might also explain the maintenance of

high g_s in salt-stressed tissues. Indeed, a tempting hypothesis here is that exposure to VCL before salt stress leads to high stomatal conductance, which allows maintenance of the transpiration stream. As a consequence, the plants can accumulate protective phytohormones or antioxidants from VCL, and these protective compounds are thus already present within the tissues when the salt stress is applied. In contrast, exposure to concomitant salt stress and VCL does not allow maintenance of stomatal conductance, and the stomata close as a consequence of low external osmotic potential. This will thus reduce the transpiration stream and the translocation of putative protective compounds.

Conclusion

Application of VCL to these tomato plants partly abolished the detrimental impact of salt stress on growth and photosynthesis, and this was related to decreased Na^+ accumulation. VCL applied before salt stress was more efficient than VCL applied concomitant to salt stress. VCL might thus be used as an efficient protective agent to improve salt-stress resistance in tomato. Further studies are in progress to test this hypothesis through complete hormonal profiling of VCL and of VCL-treated plants under control and salt-stress conditions.

Author contribution statement SB performed the analysis and all aspects related to the experimental work. ZED provided the vermicompost leachate and help in the interpretation of collected data. SL supervised the experimental work and wrote the protocol. All authors wrote the manuscript.

Acknowledgements The authors are very grateful to University of Blida for a travel grant for S.B., and to Brigitte Vanpee for valuable technical assistance.

References

Acosta-Motos JR, Ortuño MF, Bernal-Vicente A, Diaz-Vivancos P, Sanchez-Blanco MJ, Hernandez JA (2017) Plant responses to salt stress: adaptative mechanisms. *Agronomy* 7:18

Arancon NQ, Pant A, Radovich T, Hue NV, Potter JK, Converse CE (2012) Seed germination and seedling growth of tomato and lettuce as affected by vermicompost water extracts (teas). *HortScience* 47:1722–1728

Aremu AO, Stirk WA, Kulkarni MG, Tarkowská D, Turečková V, Gruz J, Šubrtová M, Pěnčík A, Novák O, Doležal K, Strnad M, Van Staden J (2015) Evidence of phytohormones and phenolic acids variability in garden-waste-derived vermicompost leachate, a well-known plant growth stimulant. *Plant Growth Regul* 75:483–492

Arthur GD, Aremu AO, Kulmarni MG, Van Staden J (2012) Vermicompost leachate alleviates deficiency of phosphorus and potassium in tomato seedlings. *HortScience* 47:1304–1307

Ashraf M, Harris PJC (2004) Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. *Plant Sci* 166:3–16

Azarmi R, Torabi Giglou T, Taleshmikaili RD (2008) Influence of vermicompost on soil chemical and physical properties in tomato (*Lycopersicon esculentum*) field. *Afr J Biotechnol* 7:2397–2401

Bates LS, Waldren RP, Teare ID (1973) Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant Soil* 39:205–207

Benhebil M (2015) Approche à la Caractérisation de la Lombriculture. MSc Thesis, University of Blida, Algeria

Bidabadi SS, Afazel M, Poodeh SD (2016) The effect of vermicompost leachate on morphological, physiological and biochemical indices of *Stevia rebaudiana* Bertoni in a soilless culture system. *Int J Recycl Org Waste Agric* 5:251–262

Calderín García A, Azevedo Santos L, Guridi Izquierdo F, Marcos Rumjanek V, Noa Castro R, Soares dos Santos F, Ambrosio de Souza LG, Louro Berbara RL (2014) Potentialities of vermicompost humic acids to alleviate water stress in rice plants (*Oryza sativa* L.). *J Geochem Explor* 136:48–54

Calvo P, Nelson L, Kloepper JW (2014) Agricultural uses of plant biostimulants. *Plant Soil* 383:3–41

Canellas LP, Olivares FL, Okorokova-Façanha AL, Façanha AR (2002) Humic acids isolated from earthworm compost enhance root elongation, lateral root emergence and plasma membrane H^+ -ATPase activity in maize roots. *Plant Physiol* 130:1951–1957

Chinsamy M, Kulkarni MG, Van Staden J (2013) Garden-waste-vermicompost leachate alleviates salinity stress in tomato seedlings by mobilizing salt tolerance mechanisms. *Plant Growth Regul* 71:41–47

Chinsamy M, Kulkarni MG, Van Staden J (2014) Vermicompost leachate reduces temperature and water stress effects in tomato seedlings. *HortScience* 49:1183–1187

Cuartero J, Bolarín MC, Asíns MJ, Moreno V (2006) Increasing salt tolerance in the tomato. *J Exp Bot* 57:1045–1058

Flowers TJ (2004) Improving salt tolerance. *J Exp Bot* 55:307–319

Flowers TJ, Yeo AR (1995) Breeding for salinity resistance in crop plants: where next? *Aust J Plant Physiol* 22:875–884

Gharbi E, Martínez JP, Benahmed H, Hichri I, Dobrev PI, Motyka V, Quinet M, Lutts S (2017) Phytohormone profiling in relation to osmotic adjustment in NaCl-treated plants of the halophyte tomato wild relative species *Solanum chilense* comparatively to the cultivated glycophyte *Solanum lycopersicum*. *Plant Sci* 258:77–89

Gutiérrez-Miceli FA, Santiago-Borraz J, Montes Molina JA, Nafate CC, Abud-Archila M, Oliva Llaven MA, Rincón-Rosales R, Dendooven L (2007) Vermicompost as a soil supplement to improve growth, yield and fruit quality of tomato (*Lycopersicon esculentum*). *Bioresour Technol* 98:2781–2786

Haghighi M, Barzegar MR, Teixeira da Silva JA (2016) The effect of municipal solid waste compost, peat, perlite and vermicompost on tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) growth and yield in a hydroponic system. *Int J Recycl Waste Agric* 5:231–242

Hamamoto S, Horie T, Hauser F, Deinlein U, Schroeder JI, Uozumi N (2015) HKT transporters mediate salt stress resistance in plants: from structure and function to the field. *Curr Opin Biotechnol* 32:113–120

Hou M, Zhu L, Jin Q (2016) Surface drainage and mulching drip-irrigated tomatoes reduces soil salinity and improves fruit yield. *PLoS One* 11:e0154799

Jabeen N, Ahmad R (2017) Growth response and nitrogen metabolism of sunflower (*Helianthus annuus* L.) to vermicompost and biogas slurry under salinity stress. *J Plant Nutr* 40:104–114

Joshi R, Singh J, Vig AP (2014) Vermicompost as an effective organic fertilizer and biocontrol agent: effect on growth, yield and quality of plants. *Rev Environ Sci Biotechnol* 14:137–159

- Lutts S, Bouharmon J, Kinet JM (1999) Physiological characterization of salt-resistant rice somaclones. *Aust J Bot* 47:835–849
- Martinez-Balmori D, Spaccii R, Aguiar NO, Novotny EH, Olivares FL, Canellas LP (2014) Molecular characteristics of humic acids isolated from vermicomposts and their relationship to bioactivity. *Agric Food Chem* 62:11412–11419
- Maxwell K, Johnson GN (2000) Chlorophyll fluorescence—a practical guide. *J Exp Bot* 51:659–668
- Mengistu T, Gebrekidan H, Kibret K, Woldetsadik K, Shimelis B, Yadav H (2017) The integrated use of excreta-based vermicompost and inorganic NP fertilizer on tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit yield, quality and soil fertility. *Int J Recycl Org Waste Agric* 6:63–77
- Motallebi A (2015) The impact of vermicompost on tomato morphological and physiological characteristics. *Biosci Biotechnol Res Asia* 12:247–252
- Munns R, Tester M (2008) Mechanisms of salinity tolerance. *Ann Rev Plant Biol* 59:651–681
- Ndegwa PM, Thompson SA (2001) Integrating composting and vermicomposting in the treatment and bioconversion of biosolids. *Bioresour Technol* 76:107–112
- Pizzeghello D, Francioso O, Ertani A, Muscolo A, Nardi S (2013) Isopentenyladenosine and cytokinin-like activity of different humic substances. *J Geochem Explor* 129:70–75
- Quaggiotti S, Ruperti B, Pizzeghello D, Francioso O, Tugnoli V, Nardi S (2004) Effect of low molecular size humic substances on nitrate uptake and expression of genes involved in nitrate transport in maize (*Zea mays* L.). *J Exp Bot* 55:803–813
- Romero-Aranda R, Soria T, Cuartero J (2001) Tomato plant–water uptake and plant–water relationships under saline growth conditions. *Plant Sci* 160:265–272
- Singh BK, Pathak KA, Boopathi T, Deka BC (2010) Vermicompost and NPK fertilizer effects on morpho-physiological traits of plants, yield and quality of tomato fruits (*Solanum lycopersicum* L.). *Veg Crop Res Bull* 73:77–86
- Vandoorne B, Mathieu AS, Van den Ende W, Vergauwen R, Périlleux C, Javaux M, Lutts S (2012) Water stress drastically reduces root growth and inulin yield in *Cichorium intybus* (var. *sativum*) independently of photosynthesis. *J Exp Bot* 63:4359–4372
- Xiao Z, Liu M, Jiang L, Chen X, Griffiths BS, Li H, Hu F (2016) Vermicompost increases defense against root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) in tomato plants. *Appl Soil Ecol* 105:177–186
- Xu L, Yan D, Ren X, Wei Y, Zhou J, Zhao H, Liang M (2016) Vermicompost improves the physiological and biochemical responses of blessed thistle (*Silybum marianum* Gaertn.) and peppermint (*Mentha haplocalyx* Briq) to salinity. *Ind Crop Prod* 94:574–585
- Yakhin OI, Lubyantsev AA, Yakhin IA, Brown PH (2017) Biostimulants in plant science: a global perspective. *Front Plant Sci* 7:2049
- Yemm EW, Willis J (1954) The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. *Biochem J* 57:508–514
- Zaller JG (2007) Vermicompost as a substitute for peat in potting media: effects on germination, biomass allocation, yields and fruit quality of three tomato varieties. *Sci Hort* 112:191–199
- Zhang H, Tan SN, Teo CH, Yew YR, Ge L, Chen X, Yong JWH (2015) Analysis of phytohormones in vermicompost using a novel combinative sample preparation strategy of ultrasound-assisted extraction and solid-phase extraction coupled with liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Talanta* 139:189–197
- Žižková E, Dobrev PI, Muhovski Y, Hošek P, Hoyerová K, Haisel D, Procházková D, Lutts S, Motyka V, Hichri I (2015) Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) SIIPT3 and SIIPT4 isopentenyltransferases mediate salt stress response in tomato. *BMC Plant Biol* 15:85
- Zucco MA, Walters SA, Chong SK, Klubek BP, Masabni JG (2015) Effect of soil type and vermicompost applications on tomato growth. *Int J Recycl Org Waste Agric* 4:135–141