

UNIVERSITE BLIDA 1
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
Département des Biotechnologies

MEMOIRE DE MAGISTER

Spécialité : Amélioration des productions végétales

ETUDE CYTOGENETIQUE ET EFFET DU STRESS SALIN SUR LE
COMPORTEMENT DES PLANTS DU PISTACHIER VRAI (*Pistacia vera* L.) ET
PISTACHIER DE L'ATLAS (*Pistacia atlantica* Desf.)

Par

Khaoula BENSADK

Devant le jury composé de :

Mr M. BENMOUSSA	Professeur,	U.de Blida	Président
Mr. A. BOUTEKRABT	Professeur,	U de Blida	Promoteur
Mr A. KAMLI	Professeur,	ENS Kouba	Examineur
Mme F.Z. BENREBIHA	Professeur,	U.de Blida	Examinatrice

Blida, Mai 2015

RESUME

Au terme de notre travail qui a visé l'étude de la tolérance à la salinité de deux espèces de pistachier : pistachier vrai (*Pistacia vera* L.) et pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf.) en appliquant différentes concentrations de NaCl (0, 11.7, 17.55, 23.4, 29.25 et 35.1 g/l), dans le but de déterminer l'effet du stress salin sur la structure des chromosomes, le taux de germination des graines et sur les caractères morfo-physiologiques afin de sélectionner des plants tolérants à la salinité.

Pour la partie cytogénétique, nous n'avons pas pu déterminer l'effet du stress salin sur la structure des chromosomes car il été difficile de dénombrer les plaques métaphasiques sur les pointes racinaires observées. Quant à la germination des graines des deux espèces de pistachier, sous l'effet de la salinité, nous avons obtenu des taux de germination élevés chez les graines non contraintes (témoin), ces taux diminuent pour les traitements : T2 (11.7 g/l) et T3 (17.55 g/l), et ils sont beaucoup plus faibles chez les traitements les plus sévères T4 (23.4 g/l), T5 (29.25 g/l) et T6 (35.1 g/l).

D'après les résultats obtenus concernant la vitesse de croissance, on peut dire que les plantules de *Pistacia vera* L. présentent une croissance plus rapide que celle des plantules de *Pistacia atlantica* Desf. Nous constatons que la longueur de la tige et celle de la racine sont affectées en fonction de l'espèce et de la concentration en NaCl. Les plantules qui résistent mieux aux sels sont celles du *Pistacia vera* L. suivies de celles du *Pistacia atlantica* Desf. Nous assistons aussi à une diminution considérable du nombre de feuilles chez les deux espèces.

Les niveaux de stress salin appliqués ont induit une baisse de la teneur en chlorophylle des feuilles et une augmentation notable des teneurs en proline dans les feuilles et dans les racines des plantes traitées pour les deux espèces. Nos résultats montrent que les concentrations élevées en NaCl dans la solution nutritive entraînent une diminution du taux des sucres solubles au niveau des

feuilles et en parallèle nous avons enregistré une accumulation de ces substances au niveau de la partie racinaire.

Mots clés : *Pistacia vera* L., *Pistacia atlantica* Desf., stress salin, cytogénétique, physiologie.

ABSTRACT

At the end of our work involved the study of salinity tolerance of two species of pistachio : *Pistacia vera* L. and *Pistacia atlantica* Desf. applying different NaCl concentrations (0, 11.7, 17.55, 23.4, 29.25 and 35.1 g/l) in order to determine the effect of salt stress on the structure of chromosomes, the seed germination rate and the morpho-physiological characteristics for selecting plants tolerant to salinity.

For cytogenetic part, we have not been able to determine the effect of salt stress on the structure of chromosomes as it was difficult to count metaphase plates observed on root tips. As for the seed germination of two species of pistachio, under the effect of salinity, we obtained high germination in seeds unstressed (control), these rates decline for treatments: T2 (11.7 g/l) and T3 (17.55 g/l), and they are much lower in the most severe treatment T4 (23.4 g/l), T5 (29.25 g/l) and T6 (35.1 g/l).

From the results obtained concerning the growth rate, we can say that seedling *Pistacia vera* L. exhibit faster growth than seedlings *Pistacia atlantica* Desf. We note that the length of the stem and the root are assigned depending on the species and the concentration of NaCl. The seedlings that are more resistant to salts are those of *Pistacia vera* L. followed by those of *Pistacia atlantica* Desf. We also see a considerable decrease in the number of leaves in both species.

Salt stress levels applied induced a decrease in chlorophyll content of leaves and a significant increase in proline content in the leaves and roots of treated plants for both species. Our results show that high concentrations of NaCl in the nutrient solution lead to lower rates of soluble sugars in leaves and in parallel we recorded an accumulation of these substances at the root portion.

Keywords: *Pistacia vera* L., *Pistacia atlantica* Desf, salt stress, cytogenetic, physiology.

ملخص

بعد نهاية عملنا الذي يهدف إلى دراسة تحمل نوعين من الفستق : الفستق الحلبي و البطم للملوحة باستخدام تراكيز مختلفة من كلوريد الصوديوم (0، 11.7، 17.55، 23.4، 29.25 و 35.1 غ / لتر)، من أجل تحديد تأثير الإجهاد الملحي على هيكل الصبغيات، معدل إنتاش البذور والصفات المورفولوجية وهذا لاختبار نباتات تتحمل الملوحة.

بالنسبة لجزء علم الوراثة الخلوية، لم نستطع تحديد تأثير الإجهاد الملحي على هيكل الصبغيات لأنه كان من الصعب عد اللوحات الطورية على الرووس الجذرية التي تم ملاحظتها. أما بالنسبة لإنتاش بذور نوعي الفستق، بسبب الملوحة، كان لدينا معدل إنتاش عالي في البذور الغير مجهدة (الشاهد)، وتتناقص هذه المعدلات في بذور المستوى الثاني (11.7 غ / لتر) والمستوى الثالث (17.55 غ / لتر)، وأقل بكثير في المستوى الرابع (23.4 غ / لتر)، الخامس (29.25 غ / لتر) و السادس (35.1 غ / لتر).

حسب النتائج المتحصل عليها فيما يخص سرعة النمو نستطيع القول أن نباتات الفستق الحلبي لها سرعة نمو أكبر مقارنة بنباتات البطم. لقد سجلنا أن تأثير طول الساق و الجذور يكون حسب النوع و تركيز الملح. النباتات التي تتحمل الملوحة هي نباتات الفستق الحلبي متنوع بنباتات البطم بالإضافة إلى وجود انخفاض في عدد الأوراق عند كلا نوعي الفستق.

مستويات الإجهاد الملحي المطبقة أدت إلى انخفاض في نسبة اليخضور بالأوراق و زيادة في نسبة البرولين على مستوى أوراق و جذور الأشجار المعالجة لكلا النوعين. تظهر نتائجنا أن تراكيز الملح العالية في المحلول المغذي أدت إلى انخفاض في نسبة السكريات القابلة للإنحلال على مستوى الأوراق كما سجلنا تجمع كبير لهذه المواد على مستوى الجذور.

الكلمات المفتاحية : الفستق الحلبي، البطم، الإجهاد الملحي، علم الوراثة الخلوية، علم وظائف الأعضاء.

REMERCIEMENTS

Au terme de ce travail, je tiens à remercier tout d'abord le grand Dieu d'avoir renforcé mon courage pour achever ma formation et atteindre mes objectifs dans les meilleures conditions.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude au professeur BOUTEKRABT A. qui a bien voulu guider l'étude de ce mémoire et qui n'a pas hésité à m'orienter durant les différentes phases de ce présent travail.

Il m'est particulièrement agréable d'adresser mes sincères remerciements à Mme LALLOUCHE B. d'avoir accepté d'être ma co-promotrice pour me guider, m'encourager et me conseiller.

Mes sentiments de gratitude s'adressent au professeur BENMOUSSA M. pour l'honneur qu'il me fait en acceptant la présidence de jury.

Je voudrais unir dans un même sentiment de gratitude Mme BENREBIHA F.Z. qui a accepté d'examiner ce mémoire.

Mes vifs remerciements s'adressent au professeur KAMLI A. qui me fait l'honneur d'examiner ce travail.

Mes très cordiaux remerciements s'adressent à Mr HADJKOUIDER B. pour son aide et ses orientations.

Je remercie également tous les enseignants du département d'agronomie de l'université de M'sila de me faciliter les conditions de travail.

Je remercie tous les membres de ma famille ainsi que mes collègues et mes amis pour l'encouragement et pour l'espoir qu'ils ont semé en moi, qu'ils trouvent ici l'expression de ma reconnaissance.

Enfin, je tiens à remercier toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

TABLE DES MATIERES

RESUME	
REMERCIEMENTS	
TABLE DES MATIERES	
LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX	
INTRODUCTION	12
CHAPITRE 1: PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE	14
1.1. Présentation des espèces	14
1.1.1. Pistachier de l'Atlas (<i>Pistacia atlantica</i> Desf.)	14
1.1.2. Pistachier vrai (<i>Pistacia vera</i> L.)	25
1.2. Salinité et réponse des plantes au stress salin	32
1.2.1. La salinité des sols	32
1.2.2. Le stress salin	35
1.3. Généralités sur la cytogénétique	42
1.3.1. Données générales sur la cytogénétique	42
1.3.2. Etude des chromosomes lors de la division cellulaire	43
CHAPITRE 2 : MATERIEL ET METHODES	47
2.1. Objectif	47
2.2. Lieu de l'expérimentation	47
2.3. Matériel végétal	47
2.4. Méthodes d'étude	48
2.4.1. L'effet de la salinité sur la structure des chromosomes	48
2.4.2. L'effet de la salinité sur la germination et la croissance des plantules de deux espèces du pistachier	51
2.4.3. Dispositif expérimental	52
2.4.4. Paramètres étudiés	53
2.4.5. Analyse statistique	60

CHAPITRE 3 : RESULTATS ET DISCUSSION	61
3.1. Résultats de l'effet de stress salin sur la structure des chromosomes	61
3.2. Résultats de l'effet du stress salin sur les plants de pistachier	64
3.2.1. L'effet du stress salin sur les paramètres morphologiques	64
3.2.2. L'effet du stress salin sur les paramètres physiologiques	80
CONCLUSION	90
APPENDICE	92
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	97

LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX

Figure 1.1 : Port botanique du pistachier de l'Atlas.	16
Figure 1.2 : Feuille du pistachier de l'Atlas.	17
Figure 1.3 : Fleurs mâles du pistachier de l'Atlas.	18
Figure 1.4 : Fleurs femelles du pistachier de l'Atlas.	19
Figure 1.5 : Fruits du pistachier de l'Atlas.	19
Figure 1.6 : Port botanique du pistachier vrai.	27
Figure 1.7 : Feuille du pistachier vrai.	28
Figure 1.8 : Fleur du pistachier vrai et anthère remplie de grains de pollen.	28
Figure 1.9 : Fruits du pistachier vrai.	29
Figure 1.10 : Les graines du pistachier vrai.	29
Figure 2.1 : Les graines de pistachier vrai et celles du pistachier de l'Atlas	47
Figure 2.2 : La mise en culture et l'émergence de la radicule	49
Figure 2.3 : La transplantation des plants	52
Figure 2.4 : Mesure de la teneur en chlorophylle	54
Figure 2.5 : La courbe d'étalonnage du dosage de la proline	57
Figure 2.6 : Dosage de proline	57
Figure 2.7 : La courbe d'étalonnage du dosage des sucres solubles	59
Figure 2.8 : Dosage des sucres solubles	60
Figure 3.1 : Etalement insuffisant des tissus et un mauvais écrasement	62

Figure 3.2 : Observation des pointes racinaires sous microscope optique	62
Figure 3.3 : Germination des graines en fonction des différentes concentrations en NaCl	64
Figure 3.4 : Plantules de <i>Pistacia vera</i> L. après 15 jours de transplantation	65
Figure 3.5 : Plantules de <i>Pistacia vera</i> L. après 30 jours de transplantation	65
Figure 3.6 : Plantules de <i>Pistacia atlantica</i> Desf. après 15 jours de transplantation	66
Figure 3.7 : Plantules de <i>Pistacia atlantica</i> Desf. après 30 jours de transplantation	66
Figure 3.8 : Variation du taux de germination final en fonction de l'interaction des deux facteurs (Espèce, Concentrations en NaCl)	68
Figure 3.9 : Courbe de la vitesse de croissance pour <i>Pistacia vera</i> L. en fonction des différentes concentrations en NaCl	69
Figure 3.10 : Variation de la croissance des plantules de <i>Pistacia vera</i> L. sous l'effet de différentes concentrations salines	70
Figure 3.11 : Courbe de la vitesse de croissance pour <i>Pistacia atlantica</i> Desf. en fonction des différentes concentrations en NaCl	71
Figure 3.12 : Variation de la croissance des plantules de <i>Pistacia atlantica</i> Desf. sous l'effet de différentes concentrations salines.	71
Figure 3.13 : Variation des moyennes de la longueur de tige en fonction de l'interaction des deux facteurs	73
Figure 3.14 : Variation des moyennes de la longueur de racine en fonction de l'interaction des deux facteurs	75
Figure 3.15 : Variation des moyennes du nombre de feuilles en fonction de l'interaction des deux facteurs	77

Figure 3.16 : Variation des moyennes de la teneur en chlorophylle en fonction de l'interaction des deux facteurs	81
Figure 3.17 : Variation des moyennes de la teneur en sucres solubles dans les feuilles en fonction de l'interaction des deux facteurs	83
Figure 3.18 : Variation des moyennes de la teneur en sucres solubles dans les racines en fonction de l'interaction des deux facteurs	84
Figure 3.19 : Variation des moyennes de la teneur en proline dans les feuilles en fonction de l'interaction des deux facteurs	86
Figure 3.20 : Variation des moyennes de la teneur en proline dans les racines en fonction de l'interaction des deux facteurs	87
Tableau 2.1 : Le dispositif expérimental	53
Tableau 3.1 : Valeurs moyennes des paramètres morphologiques	79
Tableau 3.2 : Valeurs moyennes des paramètres physiologiques	89

INTRODUCTION

La salinisation est le processus majeur de la dégradation des terres. En moyenne, le monde perd 10 hectares de terres cultivables par minute, dont 3 hectares à cause de la salinisation [1]. 10 à 15% des surfaces irriguées (20 à 30 millions d'hectares) souffrent, à des degrés divers, de problèmes de salinisation [2]. En Afrique, près de 40 M d'hectares sont affectés par la salinisation, soit près de 2% de la surface totale [1]. Les sols salins sont très répandus à la surface du globe, leur salinité constitue l'un des principaux problèmes du développement agricole [3].

Les zones arides et semi-arides couvrent une grande partie des pays de la frange méridionale du pourtour méditerranéen. Dans ces régions, la disponibilité des eaux, leur salinité et celle des sols sont parmi les principaux facteurs limitant la productivité végétale [4]. L'introduction des espèces tolérantes au stress salin est l'une des techniques utilisées pour faire face à ce problème.

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

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

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

Parmi ces espèces : *Pistacia vera* L. et *Pistacia atlantica* Desf. qui appartiennent à la famille des Anacardiaceae. Les pistachiers sont dioïques, pour fructifier il est nécessaire de lui fournir une pollinisation croisée, il faut donc planter un pied mâle et un pied femelle.

L'objectif de cette étude est de déterminer l'effet du stress salin sur la structure des chromosomes, le taux de germination des graines, et sur les caractères morpho-physiologiques de deux espèces du pistachier *Pistacia vera* L. et *Pistacia atlantica* Desf.

CHAPITRE 1

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

1.1. Présentation des espèces

1.1.1. Le pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf.)

1.1.1.1. Historique

Le fameux bétoum des Dayas remonte aux années 1700. Dans sa publication « flora atlantica » parue en 1798, le botaniste français René Louiche Desfontaines décrira et présenta, pour la première fois au monde scientifique, le pistachier de l'Atlas. Ce dernier fut souvent confondu avec *P. térébinthus*; en 1909, LAPIE l'appelait «Térébinthe » [5].

Le pistachier est une Angiosperme dicotylédone dioïque appartenant à la famille des Anacardiacees. L'étude monographique du genre comprend 4 sections et 11 espèces; *Pistacia vera* L. est la seule espèce produisant des fruits comestibles [6]. Il est probablement originaire d'Asie centrale [7].

1.1.1.2. Répartition du Pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf.)

1.1.1.2.1. Dans le monde

Pistacia atlantica Desf. ainsi que ses sous-espèces: Cabulica, Mutica, kurdica et Atlantica, occupent une aire très vaste englobant le Maroc, l'Algérie, la Tunisie, la Lybie, la Turquie, la Syrie, la Jordanie, le Palestine occupé, l'Iran et l'Afghanistan [8].

KHALIF [9], indique que la région méditerranéenne est la plus riche en espèces du pistachier et compte plusieurs espèces telles que :

* Le lentisque: *Pistacia lentiscus*.

* Le bétoum: *Pistacia atlantica*.

* Le térébinthe: *Pistacia terebinthus*.

* Le pistachier palestinien: *Pistacia palestinae*.

Le Pistachier de l'Atlas est associé dans le Proche-Orient aux *Quercus ithaburensis* (chêne vélani), en Afrique du Nord à *Ziziphus lotus* (jujubier sauvage) [10].

1.1.1.2.2. En Algérie

Les populations des pistachiers : *P. lentiscus*, *P. terebinthus*, *P. atlantica* se trouvent à l'état de groupements isolés concentrés particulièrement dans les régions des Dayas entre Djelfa et Tiaret en passant par Laghouat [11]. MONJAUSE [11], rapporte que le pistachier de l'Atlas se trouve entre Mascara, Sidi Bel Abbès, Saida, M'sila, Biskra, au sud de Laghouat, au Mzab, à Ouargla, dans le secteur de Sahara et dans le Hoggar.

BABA AISSA [12] et BELHADJ [13], ajoutent que le pistachier de l'Atlas est une espèce nord-africaine, endémique, relativement commune dans toute l'Algérie (avec une prédilection pour les lieux arides), mais moins répandue dans le Sahara: Hassi R'mel, Hoggar et Tassili.

1.1.1.3. Systématique

Selon EMBERGER [14], *Pistacia atlantica* Desf est classé taxonomiquement de la façon suivante :

Règne : Végétal

Embranchement : Spermaphytes

Sous-embranchement : Angiosperme

Classe : Dicotylédones

Ordre : Térébinthales

Famille : Anacardiaceae

Sous-famille : Rhoiadeae

Genre : *Pistacia*

Espèce : *Pistacia atlantica* Desf.

1.1.1.4. Caractéristiques morphologiques et physiologiques

1.1.1.4.1. Le port

Le pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf.) ; *elbetoum*, *botma*, *betouma* ou *btouma* en Arabe local et *Iggh* en berbère, est un bel arbre [5], [10], son allure évoque celle du frêne. Dans les bonnes conditions, le bétoum peut atteindre 25 mètres de hauteur et 1 mètre de diamètre au niveau du tronc [5]. Le port est arrondi, à ramification étalée [12], [13] (Figure 1.1).



Figure 1.1 : Port botanique du pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf.) [13]

1.1.1.4.2. Les feuilles

Les feuilles du pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf.) sont caduques. Elles sont composées, alternes et mesurant jusqu'à 12 cm de longueur totale (Figure 1.2) [15].



Figure 1.2 : Feuille du pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf.)

1.1.1.4.3. Les fleurs

D'après MONJAUZE [5], le pistachier de l'Atlas est un arbre dioïque, dont on distingue les fleurs mâles et les fleurs femelles portées par des pieds différents. Sa pollinisation est anémophile, rarement entomophile.

La floraison a lieu en été [12], [13], les fleurs sont apétales de couleur rougeâtre; les fleurs femelles sont en grappes axillaires à calice très réduit et à ovaire de 3 stylets. Les fleurs mâles sont des grappes terminales à calice de 3 à 4 sépales et 5 à 7 étamines [5] et [15]. MORSLI [16], a identifié quatre stades phénologiques pour la floraison mâle (Figure 1.3) et cinq pour la floraison femelle (Figure 1.4) :

- Floraison mâle

- Inflorescence groupée
- Pré-déhiscence des inflorescences
- Déhiscence des inflorescences
- Fanage des inflorescences.

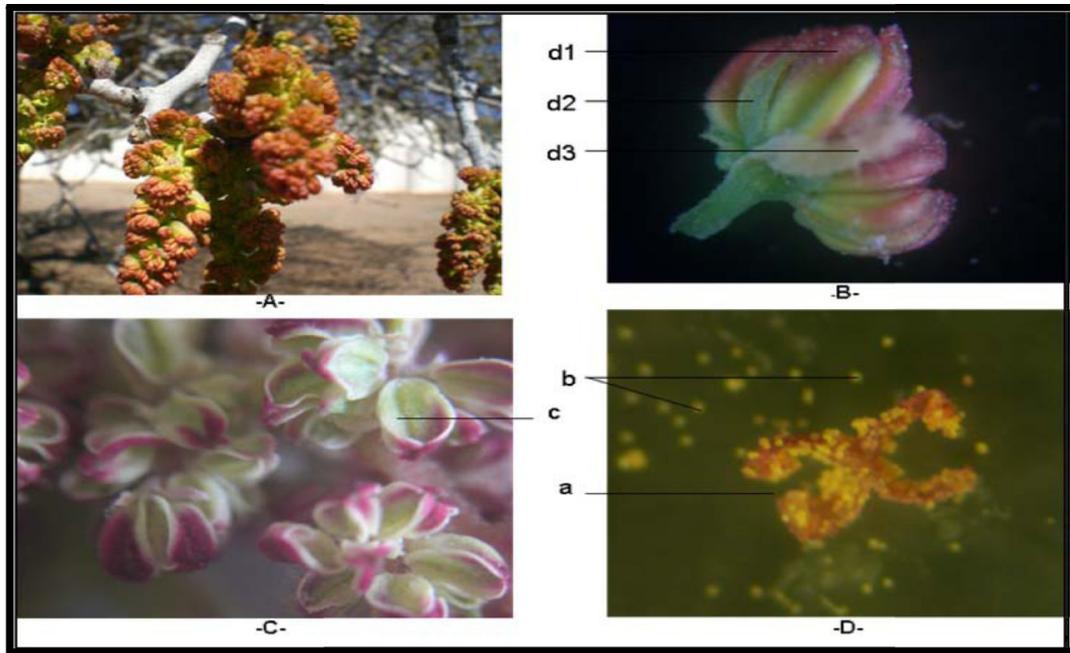


Figure 1.3 : Fleurs mâles du pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf.). (A) Grappes rameuses des fleurs mâles, (B) Fleur isolée (x40), (C) Éclatement des anthères au niveau des fentes de déhiscence (x40), (D) Coupe transversale d'une anthère (x40), (a) Fente de déhiscence, (b) Grains de pollen, (c) Anthère éclatée, (d1) Anthère, (d2) Sépale, (d3) Bractée [17].

- Floraison femelle

- Fleurs femelles non apparentées
- Début d'apparition des fleurs
- Fleurs apparentées
- Fleurs femelles en cours de pollinisation
- Fleurs femelles fécondées.

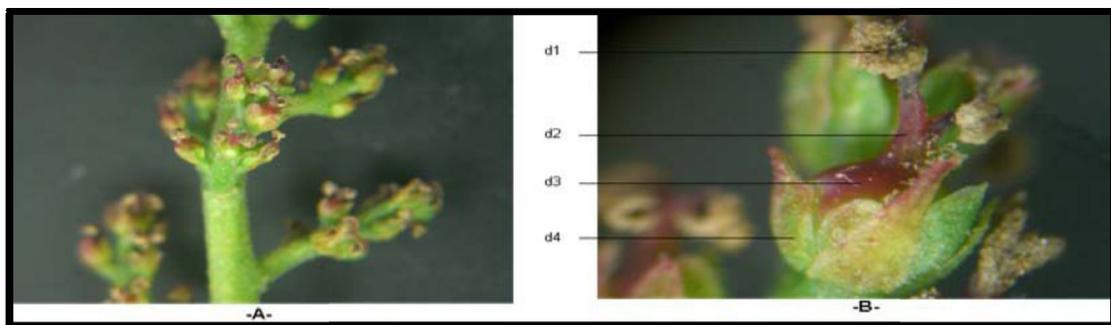


Figure 1.4 : Fleurs femelles du pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf.). (A) Grappes de fleurs femelles (x10), (B) Fleur femelle isolée (x50), (d1) Stigmates, (d2) Style, (d3) Ovaire, (d4) Sépale [17].

1.1.1.4.4. Le fruit

Les fruits sont appelés ElKhodiri par les populations locales, appellation due à la prédominance de la couleur vert foncé à maturité [13]. Le fruit est une drupe mesurant entre 6 à 8 mm de long sur 5 à 6 mm de large [18]. Il est ovale et quelque fois trapu (Figure 1.5). Il atteint sa maturation en Septembre [5].

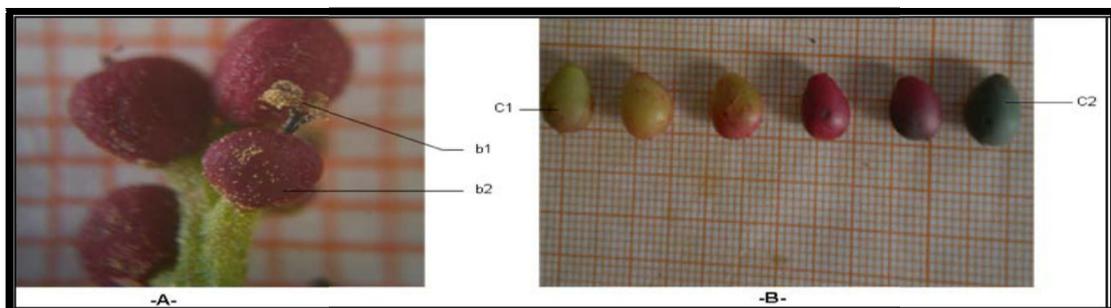


Figure 1.5 : Fruits du pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf.). (A) Début de la fructification (x20), (B) Maturation, (b1) Stigmate, (b2, C1) Fruit jeune, (C2) Fruit mûr [17].

1.1.1.4.5. Le système racinaire

KHICHANE [19], montre que le système racinaire du pistachier de l'Atlas est très vigoureux, pouvant atteindre 6 mètres de profondeur ce qui lui assure une bonne fixation au sol. Il présente un type d'architecture bien hiérarchisée, comportant un épais pivot vertical, orthogéotrope à croissance rapide et de fines

racines latérales plagiotropes à croissance lente et peu durable. La croissance est lente et ne produit qu'à partir de 5 à 7 ans [12], [13].

1.1.1.5. La multiplication

Comme la plupart des plantes, le pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf.) peut se multiplier par deux modalités de propagation qui s'opposent par de nombreuses caractéristiques: la reproduction sexuée et la reproduction asexuée. Selon BOXUS [20], la reproduction par voie sexuée donne souvent naissance à la création des types génétiques nouveaux par recombinaison des gènes, lors de la fusion des gamètes. Au contraire, la multiplication végétative faisant intervenir seulement le processus de mitose reproduira des individus conformes aux parents.

a- Reproduction sexuée ou générative

Selon BONNE et *al.* [21], la reproduction sexuée est souvent utilisée dans les stratégies d'amélioration. Elle permet la création d'un matériel nouveau, présentant par rapport au matériel disponible une supériorité qualitative et quantitative, par le biais de la recombinaison des gènes portés par les deux parents. La germination des semences de *Pistacia atlantica* Desf. passe pour être difficile et capricieuse [22]. Cette difficulté est due à plusieurs facteurs qui sont liés, soit à la semence elle-même, soit aux conditions de récolte et de conservation des graines. La maturité de la semence joue un rôle important, car une immaturité à la récolte se traduit généralement par une faculté germinative faible et surtout par une inaptitude à la conservation [23]. D'après MONJAUZE [5], la semence du pistachier de l'Atlas est très huileuse pour être conservée plus d'un printemps, mais conservée en chambre froide, elle peut rester quelques années. Cependant, KHELIL et KHELLAL [22], affirment que les graines du bétoum perdent leur faculté germinative très rapidement après quelques mois de conservation au frais. D'après MORSLI [16], la reproduction sexuée de cette espèce aboutit le plus souvent à la production de fruits parthénocarpiques. Ce phénomène se traduit sur le terrain par une diminution de semences fertiles.

Les graines de feuillus présentent souvent des phénomènes de dormance, qui s'opposent à leur germination, c'est le cas de la graine du pistachier, qui est affectée d'une dormance embryonnaire associée à une légère inhibition tégumentaire [24]. Les mécanismes de la dormance et de son élimination ont donné lieu à un certain nombre de recherches, faisant intervenir soit des facteurs physiques soit des facteurs chimiques [25].

Le froid est un facteur important pour la levée de la dormance [26]. Cela a été déjà signalé par MONJAUZE [27] disant que, les graines du bétoum exigent une stratification, et elles ne doivent être semées qu'à une température moyenne ayant atteint au moins 12° C. Il ajoute aussi que le pourcentage de la germination est globalement au maximum après 30 jours de la stratification, mais la vitesse de germination augmente graduellement avec la durée du traitement au froid appliqué.

D'après CHAUSSAT et BIGOT [28], le traitement à l'acide gibbérellique permet généralement une meilleure germination des embryons dormants. GASPARD [29], affirme qu'une bonne germination a été observée chez les graines du pistachier traitées avec 50 ppm de l'AG3 et stratifiées pendant 36 jours.

Selon BROUSSE [30], les coques des graines de *Pistacia atlantica* Desf. gênent la germination et doivent être enlevées avant la plantation. Le pourcentage ne dépasse pas 50 % lorsque les graines en coque sont trempées pendant une journée dans de l'eau du robinet à 10°-15° C. Le même auteur ajoute que le mésocarpe doit être éliminé, car il est considéré comme un inhibiteur de germination. AIT RADI [31], obtient en laboratoire, après 45 jours d'essai 60 % de germination pour les graines scarifiées mécaniquement, et 20 à 28 % de germination avec des graines traitées à l'aide d'une solution normale d'acide sulfurique (49 g/l). ALETA et al [32], soulignent qu'une scarification chimique en utilisant l'acide sulfurique concentré augmente le pourcentage; en facilitant la levée de l'inhibition des semis, mais elle n'influe pas sur la rapidité de germination. D'autre part, la présence de cet agent acidifiant dans le milieu humide, de germination, favorise l'apparition à 20° C de champignons qui endommagent les semis.

b- Reproduction asexuée ou végétative

La reproduction asexuée est basée sur deux principes : la totipotence cellulaire et le pouvoir de régénération (la dédifférenciation puis la différenciation) [33] et [34]. MARGARA [35], ajoute que la propagation végétative, quelles que soient les modalités, implique toujours la formation de méristèmes nouveaux par le phénomène de régénération. Les horticulteurs ont depuis des siècles, développé des techniques artificielles de multiplication végétative comme le bouturage, le marcottage et le greffage. En reproduisant des individus génétiquement identiques à la plante-mère, ils créent ainsi des clones homogènes [20]. BOXUS [20], note que l'introduction des techniques de multiplication "*in vitro*" ou "micropropagation" a bouleversé complètement la reproduction végétale. En effet, partant d'un fragment de plante placé en conditions plus ou moins aseptiques, la plante-mère peut être multipliée en un an en plusieurs millions d'exemplaires, et cela à l'infini.

1.1.1.6. Exigences pédo-climatiques du *Pistacia atlantica* Desf.

a- Exigences pédologiques

De point de vue édaphique, *Pistacia atlantica* Desf. se trouve planté sur une large gamme de sols, tels que les sols gypso-calciques, préférant ceux profonds et bien drainés [36]. KHALIF [9], a noté que le bétoum préfère cependant des sols argileux et argilo-limoneux (Daya à *Ziziphus lotus*), mais aussi les alluvions des plaines [10].

BELHADJ [13], souligne que le pistachier de l'Atlas se régénère et pousse toujours à l'intérieur du *Ziziphus lotus* qui constituerait une bonne protection aux jeunes pousses, contre les vents et le pâturage. En plus de cela, le sol où les feuilles du *Z. lotus* tombent deviendrait acide et faciliterait ainsi la germination des graines. Enfin, il faut retenir que les zones de culture de l'olivier et de l'amandier paraissent être favorables au développement du pistachier [36].

b- Exigences climatiques

Selon MONJAUZE [27], le pistachier de l'Atlas ne serait à sa place que dans la moitié de l'étage aride tempéré et de l'étage semi-aride, se trouvant généralement dans les dayas. MAGGS [37], a recommandé de retenir l'isotherme 5° C comme limite pour la culture du pistachier.

Par ailleurs, KHELIL et KELLAL [22] ont retenu l'isotherme 2° C pour la délimitation des zones à vocation pistachier en Algérie. Il faut noter que cette espèce supporterait des températures de -17° C [36] à -30° C [38]. Cependant, cette espèce reste très sensible aux gelées printanières qui détruisent les fleurs [38]. D'après BROUSSE [30], le bétoum supporte bien les températures les plus basses (-12° C à Djelfa) que les températures élevées (49° C à Ghardaïa).

D'après EVREINOFF [39], l'altitude d'implantation du pistachier de l'Atlas varie de 100 à 1200 m d'altitude. Il semble que l'altitude comprise entre 600 à 1200 m permet un meilleur développement de l'espèce. Elle se contente d'une faible pluviométrie de l'ordre de 150 mm et parfois moins [40].

BOUDY [41], ajoute que le bétoum se développe sous une tranche pluviométrique très faible; jusqu'à 150 mm. Alors que, MONJAUZE [5], note que le bétoum ne peut se développer que sous une tranche pluviométrique allant de 250 à 600 mm.

1.1.1.7. Intérêts de l'espèce

Le pistachier de l'Atlas est l'une des espèces autochtones qui jouent un rôle considérable, dans les régions arides et semi-arides. L'ensemble de l'arbre; feuilles, fruits, bois et racines, a des usages multiples, constituant des intérêts socio-économiques et écologiques importants [42].

a- Intérêts écologiques

Le pistachier de l'Atlas est l'espèce la plus représentée de la steppe pastorale et des zones arides en raison de sa rusticité et de sa résistance à la sécheresse. Le bétoum occupe généralement les sols peu profonds grâce à son système racinaire puissant. Il contribue favorablement à la lutte contre l'érosion et

la désertification qui menace constamment les régions arides et semi-arides [42].

BELHADJ [13] ajoute que *Pistacia atlantica* Desf. est utilisée pour la fixation des dunes et ce comme brise-vents.

Le pistachier de l'Atlas tolère parfaitement les conditions de salinité les plus extrêmes, donc cette espèce peut valoriser de larges régions arides et semi-arides où le problème de salinité s'accroît de plus en plus [7].

b- Intérêts socio-économiques

C'est une espèce utilisée comme porte-greffe de *Pistacia vera* L., elle est considérée comme la plus résistante à l'asphyxie racinaire par rapport aux autres espèces du genre *Pistacia* [43].

Le bétoum peut être utilisé comme espèce pastorale surtout en période de disette car ses feuilles constituent un apport en unités fourragères important dont la valeur nutritive est estimée à 0.35 UF et 41g de matière azotée digestible par kg de matière sèche [42].

Selon OZENDA [18], le bois du bétoum est largement utilisé comme combustible seulement sa dureté le met quelque peu à l'abri des coupes.

Les populations locales utilisent les semences du bétoum à des fins culinaires et médicinales [13]. Le même auteur ajoute que le fruit est riche en huile très énergétique, comestible, a un goût très proche de celui du beurre. L'écorce produit une résine mastic qui exsude naturellement de façon abondante par temps chaud. Très utile comme antiseptique, antifongique et dans des maladies abdominales [12].

BELHADJ [13], trouve que le fruit séché préparé en tisane aurait également une action contre le diabète. On utilise uniquement les fruits verts, les fruits rouges sont écartés. Les graines sont séchées, moulues et mélangées avec de l'eau sucrée pour en fabriquer de petites galettes. Les graines sont aussi consommées séchées comme des «amendons » puisqu'elles sont aromatisées.

1.1.2. Le pistachier vrai (*Pistacia vera* L.)

1.1.2.1. Historique

Les pistachiers sont vraisemblablement originaires des régions forestières subtropicales et l'ancienne zone méditerranéenne, les espèces ayant subi par la suite une forte xérophytisation.

En ce qui concerne *Pistacia vera* L., le plus important du genre puisqu'il donne seul des fruits comestibles, la détermination de l'aire géographique d'origine est assez difficile en raison de l'ancienneté de la culture qui a conduit à une vaste dispersion dans les pays chauds de l'Asie occidentale.

Si l'espèce se rencontre actuellement dans les pays méditerranéens, en Crimée et en Transcaucasie, elle n'a été observée, à l'état sauvage que dans la partie orientale de son aire actuelle : Syrie, Perse, Afghanistan et surtout Turkestan [44].

1.1.2.2. Répartition du Pistachier vrai *Pistacia vera* L.

1.1.2.2.1. Dans le monde

Le pistachier vrai est une espèce fruitière appartenant à la famille des Anacardiaceae. Il est cultivé dans les régions arides et semi arides d'Asie (Moyen-Orient) et d'Afrique (Maghreb) mais aussi en Australie, dans quelques pays d'Amérique (Etats-Unis et Mexique), et dans les régions d'Europe méditerranéenne [45].

Le pistachier est très peu répandu dans les pays du Sud de pédoclimatiques favorables et les intéressants aspects agronomiques et commerciaux que présente cette culture qui pourrait constituer une alternative pour de vastes zones européennes méridionales. Il existe seulement une petite production commerciale en Grèce, en Italie (Sicile) et, depuis très peu de temps, en Espagne.

En Italie, la récolte est de l'ordre de 2 000 t par an sur une superficie de 4 000 ha. La zone productrice la plus importante est celle de Bronte (Sicile), où le pistachier pousse dans des conditions très marginales de culture. La variété la plus répandue est Bianca ou Napoletana, d'excellente qualité pour l'industrie [46].

Comme dans la plupart des pays méditerranéens, les romains introduisirent le pistachier dans la Péninsule Ibérique. Sa culture se développa pendant le Moyen Age mais à l'Europe Moderne, pour des raisons inconnues, cette culture disparut de la Péninsule. Durant la dernière décennie, une relance de cette culture a été encouragée. Actuellement, il existe en Espagne environ 800 ha de jeunes vergers, localisés principalement en Catalogne, en Andalousie, en Estrémadure et en Castille-La Manche. Le pistachier présente un intérêt potentiel considérable pour de vastes zones d'Espagne et du Portugal [47] et [48].

1.1.2.2.2. En Algérie

En Algérie, l'introduction du pistachier est relativement récente ; entre 1970 et 1980, 400 ha ont été introduits et des vergers furent créés dans différentes zones du pays, répartis dans les wilayas de Saida, Bouira, Batna, Djelfa, Mascara [49] et le travail de KEBOUR [50].

Le *Pistacia vera* L. est très peu cultivé en Algérie malgré les énormes possibilités de développement de la culture [51].

Les variétés autorisées actuellement pour la production et la commercialisation sont :

- Variétés d'origine Syrienne : Achouri, Bayadhi, Batouri, Nebdjmel, Adjmi, Boundouki et Mirouahi.
- Variétés d'origine Turque : Abioudh, Achoury, Intabi, Halabi, yazourdi.
- Variétés d'origine Américaine : Allep, Kay, Bronty, Kermane.

En Algérie, les variétés introduites ou utilisées sont d'origine Syrienne [49].

1.1.2.3. Systematique

D'après DAVANTCHI *in* [52], le genre *Pistacia* serait dérivé du mot persique que les iraniens emploient pour désigner les fruits.

Règne : Végétal

Embranchement : Spermaphytes

Sous-embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Ordre : Térébinthales

Famille : Anacardiaceae

Genre : *Pistacia*

Espèce : *Pistacia vera* L.

1.1.2.4. Caractéristiques morphologiques et éco-physiologiques

1.1.2.4.1. Le port

Arbre ou arbuste de 8 à 10 m de haut à écorce grise cendrée, gercée, à frondaison ample de branches pendantes peu ramifiées. Le bois, très dur, lourd et résistant est d'abord jaune puis brun rougeâtre sur les arbres adultes. Son développement est lent mais sa vie est longue (de 150 à 500 ans) [44].



Figure 1.6 : Port botanique du pistachier vrai *Pistacia vera* L.

1.1.2.4.2. Les feuilles

Les feuilles sont caduques, imparipennées, tomenteuses jeunes, glabres, luisantes au-dessus et coriaces à l'état adulte. Elles ont de 3 à 5 folioles presque sessiles (rarement une seule). La foliole terminale est plus grande et les latérales plus rondes. Les sujets mâles plus vigoureux ont des feuilles plus grandes que les pieds femelles. Le pétiole, très court, est pubescent, à peine marginé ou anguleux [44].



Figure 1.7 : Feuille du pistachier vrai (*Pistacia vera* L.)

1.1.2.4.3. Les fleurs

La floraison : d'avril à juin du pistachier est de couleur verdâtre, jaune ou rouge. Les fleurs sont en panicules axillaires (figure 1.8-a), dressées, la fleur femelle à ovaire supère possède un seul ovule anatrope. La fleur mâle, périgone, à 5 étamines très courtes à anthères grosses, jaunes et riches en pollen (figure 1.8-b) [44].

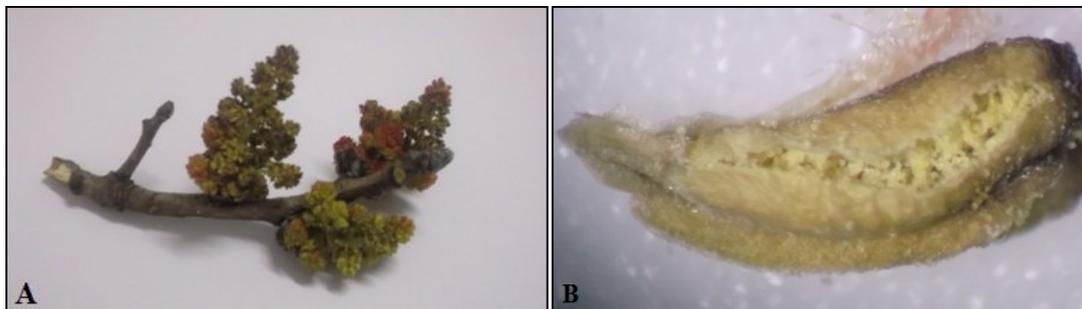


Figure 1.8 : a- Fleur du pistachier vrai (*Pistacia vera* L.), b- anthère remplie de grains de pollen.

1.1.2.4.4. Le fruit

Le fruit est une drupe sèche, monosperme, ovale, pédonculée et divisée en deux valves. C'est une amande riche en potassium, en cuivre et en magnésium. Le brou est mince, sec, rougeâtre et vert-jaune ; l'endocarpe est plus ou moins déhiscent à l'apex [44].



Figure 1.9 : Fruits du pistachier vrai (*Pistacia vera* L.)

1.1.2.4.5. La graine

La graine mono-embryonnée, allongée, vert clair, est riche en huile (60%), protéines et substances extractives non azotées, elle contient une quantité notable de phosphore organique et a une valeur antineurique et antistérile [44].

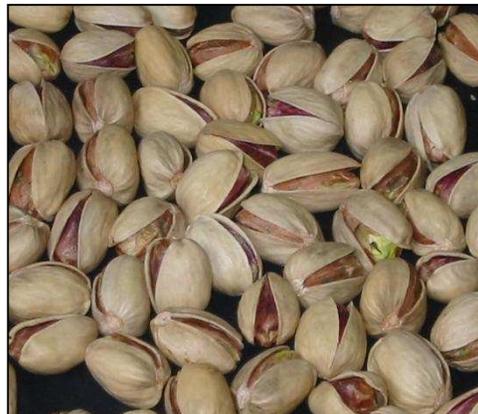


Figure 1.10 : Les graines du pistachier vrai (*Pistacia vera* L.)

1.1.2.5. La multiplication

Les pistachiers sont dioïques, il faut donc au moins un pied mâle et un pied femelle pour assurer la pollinisation croisée, puis la fructification. La différenciation des organes floraux se produit en automne et la floraison qui commence à la fin du mois de mars sur les arbres mâles avec une avance de 10 à 15 jours sur les arbres femelles, est graduelle et débute toujours par le bas des panicules. La fécondation est anémophile, les insectes ne jouant qu'un rôle secondaire [44].

Le semis de graines ne donne pas de bons résultats. On a souvent recours au greffage sur des espèces du même genre : le pistachier de l'Atlas ou bétoum et le térébinthe. La transplantation des jeunes pieds, qui réussit bien, se fait en motte.

Diverses techniques de multiplication sont mises en œuvre, tels que le semis suivi du greffage, le bouturage, le micro-greffage et la culture *in vitro* [32] et [53].

1.1.2.6. Exigences pédo-climatiques du *Pistacia vera* L.

1.1.2.6.1. Exigences pédologiques

Le pistachier est réputé aimer les sols calcaires et être peu exigeant en matière de nature des terres.

EVREINOFF [39], estime que les terres légères argilo-calcaires, pierreuses et sèches contenant au moins 25 % de chaux sont celles qui lui conviennent particulièrement, tandis qu'il redoute les terrains humides et décalcifiés.

Par contre, SPINA et PENNISI [38] font remarquer, les premier, qu'en Sicile, les beaux vergers de la région de Catarre et de la zone de l'Etna sont sur des sols acides très pauvres en calcaire et que l'adaptation aux terrains peu profonds et rocheux peuvent être utilisés.

1.1.2.6.2. Exigences climatiques

D'après SPINA et PENNISI [38], la caractéristique la plus frappante du pistachier est sa très grande résistance à la sécheresse, supérieure même à celle du caroubier. Il est également résistant au sel (jusqu'à 4 voire 6 g/l de NaCl).

EVREINOFF [39], estime que le pistachier supporte des froids de -15°C mais qu'il est encore mieux adapté à la chaleur qu'au froid. On en conclut que les expositions chaudes ensoleillées et aérées lui sont indispensables et que c'est avant tout un arbre de coteaux, de pentes fortes et d'altitude élevée (jusqu'à 1200 m au Turkestan).

WHITEHOUSE [7], écrit que le pistachier se développe mieux dans des régions ayant des hivers assez frais, propres au repos végétatif de l'arbre, et des étés longs, chauds et secs. Ils font remarquer qu'en Iran, les meilleurs vergers de pistachiers, sont plantés à une altitude de 1300 à 1400 m sur un plateau réputé comme un des endroits les plus désertiques du monde, où les chutes de pluie varient de 150 à 450 mm par an et les températures de -18°C à $+40^{\circ}\text{C}$. L'absence des froids suffisants serait la cause, d'après eux, de l'irrégularité de fructification autour de Los Angeles, à Indio et à Sacraton (Arizona).

En résumé, il est possible de dire; avec WHITEHOUSE [7] que "les régions de culture de l'amandier et de l'olivier paraissent favorables au pistachier".

1.1.2.7. Intérêts de l'espèce

Le pistachier vrai ou pistachier comestible (*Pistacia vera* L.), est un arbre d'avenir dans notre pays. Il est d'un intérêt économique et écologique certain pouvant croître dans des conditions très sèches, ne dépassant pas 200 mm de pluviométrie. Sa culture s'est beaucoup développée au cours de ces dernières décennies en raison d'une demande croissante dont l'objet particulièrement en pâtisserie et pharmacologie.

Le pistachier est une espèce recommandée pour la mise en valeur des zones marginales ou menacées par l'érosion où la culture des autres espèces fruitières est rendue impossible en raison de l'aridité climatique. Elle peut procurer une rentabilité assez correcte si elle est inféodée aux terrains à vocation fruitière.

Le pistachier a aussi l'avantage d'être résistant à la sécheresse, au calcaire et à la salinité [44].

1.2. Salinité et réponse des plantes au stress salin

1.2.1. La salinité des sols

1.2.1.1. Généralités sur la salinisation des sols

Les sols salés sont caractérisés généralement par des propriétés physiques, chimiques et biologiques défavorables à la croissance des végétaux. Les sols salés se caractérisent par des teneurs élevées de sels solubles dans la solution du sol [54].

Selon CALVET [55], les sols salés et les sols sodiques, possèdent en effet une phase liquide très riche en sel dissous qui leur confère des propriétés souvent défavorables, en particulier à l'égard des plantes. Ces sols salés représenteraient sur la planète une superficie de l'ordre de 260 M à 340 M d'hectares, en fonction de l'intensité du phénomène pris en compte, très répartis dans les régions arides à semi-aride.

La salinité est par définition l'accumulation des sels solubles dans le sol ou sur sa surface [56]. Selon MARLET et JOB [57], la salinisation est un terme générique caractérisant une augmentation progressive de la concentration des sels dans les sols sous l'influence d'apport d'eau d'irrigation salée, de l'aridité du climat ou de conditions hydrologiques particulières (lessivage insuffisant, proximité de la nappe...).

La salinité varie au cours du temps en fonction des apports d'eau douce et des conditions hydrodynamiques de transport et mélange. Les apports d'eau douce par les fleuves ou les précipitations ont tendance à diminuer la salinité, alors qu'à l'inverse, l'évaporation qui dépend de la vitesse du vent, de l'humidité de l'air (un air sec accroît l'évaporation), la nature du sol et sa surface aura tendance à l'augmenter [58].

1.2.1.2. Causes de la salinisation des sols

-La salinisation primaire : 80% des terres salinisées ont une origine naturelle. On parle alors de salinisation “primaire”, due aux sels se formant lors de l’altération des roches ou à des apports naturels externes [59]. Selon CITEAU et al [59] la salinisation primaire est liée à la proximité de l’océan ou à l’altération de roches salines.

-La salinisation secondaire : 20% des terres salinisées, soit près de 15 M ha sur le continent africain, ont une origine « anthropique ». On parle alors de salinisation “secondaire”, induite par l’activité humaine, liée aux pratiques agricoles et en particulier à l’irrigation [59]. Selon CITEAU et al [60], la salinisation secondaire d’origine anthropique, liée principalement à la pratique de l’irrigation avec des eaux légèrement salées.

1.2.1.3. La genèse des sols salins

DUCHAUFOR [61] signale que la formation d’un sol salin résulte généralement de l’accumulation de sels dans les horizons de surface. Ce processus dépend essentiellement de deux conditions :

a. Une condition climatique où la demande évaporative est grande conduisant ainsi à des concentrations d’ions souvent très élevées. Ces concentrations interviennent dans la pédogenèse par la formation de minéraux résultant de l’évaporation et de cristallisation des sels dissous.

b. Une condition de station : concernant la présence obligatoire d’une source de sel. Les sels les plus fréquemment présents dans la solution du sol des sols salés correspondent aux cations : sodium (Na^+), potassium (K^+), calcium (Ca^{2+}), Magnésium (Mg^{2+}), et aux anions : carbonates (CO_3^{2-}), sulfates (SO_4^{2-}), chlorure (Cl^-), nitrates (NO_3^-).

Les sels présents dans la solution du sol ont trois origines principales [55] :

- a. L'altération des minéraux est la source naturelle dominante.
- b. Le transport dans le sol d'eaux chargées en sels minéraux est une source (nappe salée) ainsi que l'intrusion d'eaux marines dans les zones côtières.
- c. Des apports parfois importants sont aussi le résultat de mauvaises pratiques d'irrigation avec des eaux saumâtres et d'épandages de divers déchets liquides d'origine agro-industrielle.

Selon l'origine de ces sels, on peut distinguer une salinisation naturelle, que l'on peut dénommer primaire, et une salinisation anthropique, généralement liée à l'irrigation que l'on appellera secondaire [62].

1.2.1.4. Les conséquences de la salinisation des sols

L'excès de sel modifie principalement les propriétés physico-chimiques et biologiques dans le sol. Les effets chimiques sont liés à la concentration des solutions et à la valeur du pH.

Selon STENGEL et GELIN [63], il existe deux cas spectaculaires du changement du pH du sol qui peuvent survenir au phénomène de la salinisation :

- a. Le premier est celui de forte augmentation du pH lorsque les sels qui s'accumulent sont des bicarbonates ou carbonates de sodium (processus d'alcalinisation), dans ce cas la matière organique du sol est solubilisée, la fertilité est alors très réduite car de nombreux éléments indispensables à la plante sont totalement insolubilisés.
- b. Le cas inverse est celui des sols acides ex : sols sulfatés acides, dont le pH peut descendre de 2 à 4 à cause de l'accumulation des sulfures à faible profondeur.

La dégradation physique des sols peut intervenir pour de très faibles teneurs en sels alors que la dégradation chimique et les effets biologiques sont encore quasi nuls [62]. Dans le cas des sols riches en sodium, les effets sur les

propriétés physiques deviennent prépondérants et s'expliquent par le rôle spécifique de cet élément sur les argiles.

D'après DONAHUE [64], le sodium présent en solution va s'échanger sur les sites externes des feuillets, par son effet sur la couche diffuse des argiles ; l'argile aussi bien que la matière organique est dispersée, ce qui provoque un tassage serré des particules de sol. Ce tassage des particules réduit le volume et le nombre des espaces poreux, et de ce fait, l'eau et l'air ne peuvent se mouvoir rapidement dans le sol.

Les densités des populations microbiennes dans les sols salés relativement plus faibles que dans les sols sains [65]. DOMMERGUE [66] ; mentionne que la baisse de la microflore totale ne s'observe qu'à des niveaux de salinité relativement élevés.

Les minéralisations, primaire et secondaire sont peu actives en sols salés, le primaire peut être relativement actif lorsque la matière organique apportée est facilement biodégradable. L'humification en milieu salé aboutit à des composés peu poly-condensés hydrosolubles ou pseudo solubles, ce qui défavorise la stabilité structurale et l'alimentation des cultures [67].

1.2.2. Le stress salin

1.2.2.1. Définition du stress salin

Le stress est fondamentalement un concept de mécanique, défini par les ingénieurs et les physiciens comme étant une force exercée par unité de surface d'un objet. En réponse au stress, l'objet oppose une déformation, ou un changement de dimensions. Il est difficile de définir aussi précisément le stress en biologie. LEVITT a considéré que la terminologie employée en physique peut et devrait être appliquée aux organismes vivants, mais en pratique, le concept de stress en biologie contient des connotations plus générales. La définition, peut-être la plus pertinente d'un stress biologique, serait «une force ou une influence hostile qui tend à empêcher un système normal de fonctionner » [68].

Chez les végétaux, le stress peut être représenté comme étant une agression ou contrainte provoquée sur une plante par des variations des facteurs climatiques ou liés au sol. On parle par exemple : de stress hydrique (manque d'eau), de stress thermique (chaud ou froid), de stress lumineux (intensité lumineuse excessive) et de stress salin : brusque élévation de la teneur en sel dans le milieu racinaire [69].

1.2.2.2. Effet de stress salin sur les végétaux

La salinité du sol est l'un des principaux facteurs environnementaux qui affectent la production agricole dans les régions arides et semi-arides [70], est un problème majeur affectant l'agriculture dans le monde [71]. Processus d'accumulation de sels à la surface du sol et dans la zone racinaire qui occasionne des effets nocifs sur les végétaux et le sol ; il s'en suit une diminution des rendements et, à terme, une stérilisation du sol. Les sels provenant de l'eau d'irrigation s'accumulent dans le sol en provoquant l'augmentation de la pression osmotique et peuvent conduire à la stérilisation du sol. D'une façon générale, la relation entre le rendement relatif des cultures et la salinité est à peu près linéaire sur la base de comparaison entre le rendement de la même culture en sols salé et non salé [72].

1.2.2.2.1. Effet sur l'absorption

Le stress salin influence la croissance à travers de nombreuses facettes du métabolisme, tel que l'absorption des éléments nutritifs et leur distribution au sein de la plante [73], l'altération de la photosynthèse et de la respiration, la synthèse des protéines et des acides nucléiques.

En présence de sel, l'absorption des cations Na^+ , Ca^{2+} et Mg^{2+} dépasse souvent celle des anions Cl^- , PO_4^- et NO_3^- , ce qui engendre un déficit anionique pour le végétal. Dans les feuilles, les chlorures (Cl^-) sont toujours accumulés proportionnellement à la teneur globale en sel et en 29 plus grandes quantités que le Na^+ [74].

Le chlore, en entrant en compétition avec le NO_3 , inhibe dans les plantes sensibles aux sels l'absorption et le transport à longue distance de cet anion vers les parties aériennes et engendre ainsi une carence nutritionnelle qui est estimée par la différence entre la teneur globale en cations majeurs Ca^{2+} , K^+ , Mg^{2+} et Na^+ et la teneur en Cl^- [75].

D'après RASANEN [76], le stress salin réduit dramatiquement la fixation de l'azote N_2 et l'activité nitrogénase de nodosités chez les légumineuses herbacées.

1.2.2.2.2. Effet sur le métabolisme cellulaire

Sous les conditions salines, il y a un changement dans le modèle d'expression des gènes et des changements qualitatifs et quantitatifs dans la synthèse des protéines [77].

Le stress salin induit une perturbation de la composition lipidique et protéique au niveau de la membrane cellulaire, affectant ainsi sa stabilité [78]. La présence du sel en forte concentration inhibe principalement le métabolisme cellulaire et la photosynthèse par l'imposition d'un stress osmotique sur la cellule et par la toxicité du sodium et du chlorure dans le cytoplasme [79].

1.2.2.2.3. Effet sur la photosynthèse

Le développement des plantes est le résultat de l'intégration et la régulation des processus physiologiques dont le plus dominant est la photosynthèse. La croissance du végétal autant que la production de biomasse est une mesure de la photosynthèse nette et comme les stress environnementaux affectent la croissance donc affectent la photosynthèse. Le stress salin cause des effets à long et à court terme sur la photosynthèse [80].

La teneur en sel élevée dans les tissus influence directement les enzymes photosynthétiques et par voie de conséquence les réactions d'échange de lumière et de gaz [81]. Or, la réduction de la photosynthèse à long terme entraîne l'inhibition de la formation et de l'expansion de la feuille ainsi que l'abscission précoce de cette dernière [82].

1.2.2.2.4. Effet sur la respiration

D'après RAINS [83], la plante augmente sa respiration en condition de stress salin. L'accroissement de la respiration résulte de l'énergie nécessaire à l'absorption ionique, produisant ainsi un effet néfaste sur la balance d'énergie disponible pour la plante.

1.2.2.2.5. Effet sur la croissance et le développement

Dans les zones arides et semi-arides, la salinité des sols et des eaux d'irrigation est l'un des principaux facteurs abiotiques qui limitent la productivité végétale et le rendement agricole [4].

La réponse immédiate du stress salin est la réduction de la vitesse de l'expansion de la surface foliaire ce qui conduit à l'arrêt de l'expansion si la concentration du sel augmente [84]. Le stress salin résulte aussi dans la diminution de la biomasse sèche et fraîche des feuilles, tiges et racines [85].

La salinité accrue est accompagnée par une réduction significative dans la biomasse racinaire, la hauteur de la plante, le nombre de feuilles par plante, la longueur des racines et la surface racinaire chez la tomate [86]. La salinité est une contrainte majeure qui affecte la croissance et le développement des plantes [87]. La salinité des sols et des eaux demeure, pour les régions arides et semi arides, un obstacle majeur à la croissance des végétaux. En effet, les sels accumulés dans le sol peuvent limiter ou complètement arrêter la croissance du végétal suite à une élévation de la pression osmotique du milieu et/ou à l'effet toxique spécifique des éléments [88].

Un stress salin extrême conduit au nanisme et à l'inhibition de la croissance racinaire. Les feuilles deviennent sclérosées avant même d'avoir fini leur croissance et l'organisme tout entier risque de dépérir assez vite [89].

1.2.2.2.6. Effets toxiques

Certains sels peuvent être toxiques pour les plantes et peuvent en affecter la balance nutritionnelle s'ils sont présents en concentration excessive ou en proportion anormale [90]. Selon MAILLARD [91], des concentrations excessives

d'ions chlorures et sodium dans la solution du sol peuvent causer une toxicité dans la plante. Ces ions peuvent être absorbés soit par les racines soit par contact direct avec les feuilles. Si l'eau d'irrigation a une salinité proche de concentrations critiques, il sera nécessaire d'en doser précisément les concentrations en ions chlorures et sodium.

Les effets nutritionnels de la salinité incluent les deux actions primaires du sel sur les plantes : la toxicité directe due à l'accumulation excessive des ions dans les tissus et un déséquilibre nutritionnel provoqué par l'excès de certains ions. Des concentrations salines trop fortes dans le milieu provoquent une altération de la nutrition minérale des plantes [92]. L'accumulation des ions Na^+ dans la plante limite l'absorption des cations indispensables tels que K^+ et Ca^{2+} . Il y aurait une compétition entre Na^+ et Ca^{2+} pour les mêmes sites de fixation apoplasmique [93].

1.2.2.3. La réponse des plantes au stress salin

La résistance d'une plante à la salinité s'exprime par sa capacité à survivre et à produire dans des conditions de stress salin. Les plantes développent plusieurs stratégies pour limiter le stress salin, qui diffèrent selon la catégorie de la plante [94].

Chez les plantes sensibles au NaCl, le Na^+ s'accumule dans les racines, puis exclu des feuilles, ces plantes sont dites « excluser ». A l'inverse, les plantes tolérant le NaCl, sont dites « incluser » car elles ont en général des feuilles plus chargées en Na^+ que les racines lorsqu'elles sont cultivées en présence de sel [93].

1.2.2.3.1. Les mécanismes morphologiques

La succulence, qui se traduit par une accumulation d'eau dans les cellules constitutives des tissus des organes aériens, est l'un des caractères les plus communs aux halophytes. La succulence des cellules foliaires augmente, se traduisant par une augmentation de l'épaisseur des feuilles sont l'une des modifications qui apparaît de façon plus importante chez les espèces les plus tolérantes. On note de plus la réduction de la surface foliaire, [95]; la présence

d'une cuticule épaisse et l'apparition plus précoce de la lignification de quelques organes chez les plantes de types incluser, les flux de sodium sont essentiellement ascendants (en rose) et le sel est accumulé dans les parties aériennes. Chez celles de type excluser, la plus grande partie du sodium véhiculé vers les feuilles est réexporté vers les racines via le phloème (en bleu). Les intensités relatives des flux sont symbolisées par la largeur des traits à la fin de leur cycle de vie [96].

Pour s'adapter au stress salin, la plante peut éviter les dommages par la réduction de la croissance ou encore par la détoxication des espèces oxygénées radicalaires (EOR). La plante peut ensuite rétablir l'équilibre homéostatique dans le nouvel environnement stressant ; l'homéostasie se définit comme la capacité d'autorégulation d'un organisme pour maintenir un état d'équilibre dynamique constant entre les conditions extérieures et les différentes composantes de son milieu interne [97].

1.2.2.3.2. Les mécanismes physiologiques

En conditions stressantes, les plantes peuvent réagir en mettant en œuvre des mécanismes, entre autres, physiologiques et biochimiques impliquant une activité enzymatique [98].

- L'ajustement osmotique

L'ajustement osmotique est un processus par lequel le potentiel hydrique de la plante peut être diminué sans être accompagné d'une baisse de la turgescence [76]. BELL [99] et RASANEN [76]; définissent l'ajustement osmotique comme une accumulation active de solutés par la plante en réponse au déficit hydrique croissant dans le sol et/ou la plante en maintenant la turgescence ou en réduisant le taux de perte de celle-ci, comme réponse à la baisse du potentiel hydrique. L'ajustement osmotique se produit alors à travers une compartimentation d'ions toxiques loin du cytoplasme dans la vacuole et/ou à travers l'accumulation de solutés organiques, tel que les solutés compatibles dans le cytosol [100].

L'un des principaux caractères physiologiques de tolérance aux contraintes du milieu est l'ajustement osmotique. Celui-ci est réalisé grâce à une accumulation de composés osmorégulateurs conduisant à une réduction du potentiel osmotique permettant ainsi le maintien du potentiel de turgescence [101].

Selon HASSANI *et al.* [102], l'ajustement osmotique apparaît aujourd'hui comme un mécanisme majeur d'adaptation aux stress ionique et osmotique qui s'exprime par la capacité d'un végétal à accumuler, au niveau symplasmique et de manière active des ions tels que les K^+ , Na^+ et Cl^- ou des composés organiques tels les sucres solubles (fructose, glucose, tréhalose, raffinose), aminoacides (proline, glycine bétaine, β -alaninebétaine, prolinebétaine). Ce phénomène permet le maintien de nombreuses fonctions physiologiques (photosynthèse, transpiration, croissance...) et peut intervenir à tous les stades du développement du végétal. Il permet une protection des membranes et des systèmes enzymatiques surtout dans les organes jeunes, la proline semblant jouer un rôle dans le maintien des pressions cytosol vacuole et de régulation du pH.

L'ajustement osmotique est l'un des mécanismes adaptatifs principal, qui comporte l'accumulation des molécules en réponse à un stress hydrique [103] grâce à l'induction des gènes impliqués dans la synthèse des acides aminés comme la proline, la glycine bétaine des hormones tels que l'acide abscissique [104].

➤ L'accumulation de proline

L'accumulation de la proline est une des stratégies adaptatives déclenchées par la plante face aux contraintes de l'environnement [105]. Chez les halophytes, la proline est un marqueur intéressant pour évaluer leur résistance au stress salin [106]. L'accumulation des solutés compatibles induit une diminution du potentiel hydrique et permet l'absorption de l'eau de l'environnement.

La proline est désigné généralement sous le nom de soluté compatible chez les eubactéries, les algues, et les plantes supérieures. Deux voies possibles de la synthèse de proline ont été démontrées chez les plantes.

La première utilisant le glutamate et la deuxième emploie l'ornithine comme précurseur. La dégradation de proline chez les plantes a lieu dans des mitochondries et est catalysée par la proline déshydrogénase (ProDH), également appelée proline oxydase. Il est démontré que la dégradation de la proline est inhibée sous le stress hydrique et salin. Une diminution dans le niveau de ProDH ARNm et de l'activité de ProDH a pour conséquence l'accumulation de la proline [107].

L'accumulation de la proline, induite par les stress, peut être le résultat de trois processus complémentaires : stimulation de sa synthèse, inhibition de son oxydation et/ou altération de la biosynthèse des protéines [108]. L'accumulation de ces composés organiques au niveau des organes est un phénomène lié aux régimes salins et à l'espèce [109].

➤ L'accumulation de sucre

Chez diverses espèces, plus ou moins résistantes, il a été observé une augmentation des sucres totaux résultant d'un blocage de la glycolyse ou du saccharose provenant d'une forte hydrolyse de l'amidon [110].

Selon HADJADJ [109], l'accumulation des sucres solubles est importante dans les feuilles des plantes d'*Atriplex halimus* L. et d'*Atriplex canescens* Pursh. soumises à un stress salin [79].

1.3. Généralités sur la cytogénétique

1.3.1. Données générales sur la cytogénétique

La cytogénétique est la science qui fait le lien entre la cytologie et la génétique. Elle a pris une part active à la compréhension des mécanismes héréditaires et du monde végétal dans sa diversité. C'est aussi une des nombreuses disciplines sur lesquelles s'appuie l'amélioration des plantes. Elle se situe avant tout en amont de la sélection. JAHIER [111], note que la cytogénétique participe à :

- la connaissance du matériel végétal utilisé: nombre de chromosomes, polyploïdie, alloplodie....

- l'établissement de carte génétique,
- l'exploitation de la variabilité intra-spécifique et interspécifique ou induite.

Par ailleurs, la cytogénétique a trouvé un nouveau domaine d'application dans l'étude et l'utilisation des produits issus de culture "*in vitro*" (hybrides somatiques, variants somaclonaux). La cytogénétique peut être impliquée au niveau même de la création variétale en participant à l'explication et la résolution de problèmes ponctuels rencontrés par les sélectionneurs : instabilité, stérilité.

1.3.2. Etude des chromosomes lors de la division cellulaire

JAHIER [111], rapporte que les méthodologies employées, en cytogénétique, sont nombreuses. Elles concernent avant tout l'étude des chromosomes lors de la mitose et la méiose, par les techniques classiques mais aussi par des techniques plus récentes: hybridation in situ.

1.3.2.1. La mitose

La mitose est le processus par lequel une cellule-mère donne deux cellules filles absolument identiques à elle-même. Elle conduit à la répartition du matériel génétique en parts égales lors de la division cellulaire. La mitose comprend quatre étapes principales :

- La prophase : au cours de laquelle les chromosomes deviennent apparents se fissent longitudinalement en deux filaments identiques: deux chromatides sœurs. A la fin de cette étape, la membrane nucléaire se fragmente et semble disparaître.

- La métaphase : pendant laquelle les chromosomes se répartissent dans un plan appelé plaque métaphasique ou plaque équatoriale, située au plant équatoriale d'un fuseau de division constitué de microfibrilles.

- L'anaphase : correspond à la séparation des deux chromatides de chaque chromosome et à leur migration de part et d'autre de la plaque équatoriale vers les deux pôles du fuseau de division.

- La télophase : durant laquelle les chromosomes sont scindés en deux lots identiques, le fuseau de division disparaît, la membrane nucléaire réapparaît, deux noyaux sont formés, contenant la même garniture chromosomique que le noyau parental. Après cette phase, la cellule entière se divise et chaque cellule fille formée contient un des noyaux fils.

1.3.2.2. Observation des chromosomes, techniques de base

Les techniques d'observation des chromosomes n'ont pas cessé d'évoluer depuis les premiers examens du noyau par Flemming, en 1882. Ceci signifie que l'intérêt, que le monde scientifique a porté aux chromosomes ne s'est jamais démenti. Les chromosomes ont à la fois une certaine constance et un certain polymorphisme, aussi bien pour ce qui concerne leur nombre que leur forme, leur phénotype. JAHIER [111], note que les techniques présentées ont pour objectif la réalisation de préparations chromosomiques qui permettent de :

- Dénombrer les chromosomes ;
- Etudier leur morphologie pour l'établissement de caryotype ou pour la mise en évidence de modification chromosomique.

Le matériel d'étude est constitué de semences germées, de plantes ou de tissus en culture "*in vitro*", placés dans des conditions permettant une croissance active. Le prélèvement des tissus se fait au moment, où le pourcentage de cellules en division (index mitotique) est élevé. JAHIER [111], signale sept phases principales pour la réalisation des préparations:

1.3.2.2.1. Le prétraitement

Il se fait par trempage des tissus en division dans un agent mitoclassique qui a pour effets principaux de :

- bloquer les divisions mitotiques au stade métaphasique,
- contracter les chromosomes.

Les agents utilisés sont la colchicine, l' α -bromonaphtalène et l'eau froide (0 à 2°C). L' α -bromonaphtalène est le plus utilisé en raison de sa facilité d'emploi et de son coût. [112].

1.3.2.2.2. La fixation

La fixation a pour but d'assurer une immobilisation des constituants cellulaires dans un état aussi voisin que possible de l'état vivant. Elle doit être adaptée, à la préservation des constituants chimiques (ADN) et de la structure nucléaire ou chromosomique [112]. Selon JAHIER [111], les fixateurs utilisables sont très nombreux. Ceux qui sont utilisés dans les techniques décrites sont: l'acide acétique et les fluides I et II proposés par Carnoy (1986). Carnoy I: éthanol-acide acétique (3:1), Carnoy II: éthanol- chloroforme- acide acétique (6:3:1). La durée de la fixation doit être supérieure à 30 minutes; elle peut être prolongée pendant quelques jours [112].

1.3.2.2.3. Le stockage

Il est possible de différer les autres phases. Le matériel peut être conservé pendant plusieurs mois dans l'éthanol, le plus souvent éthanol 70%. Certains fixateurs comme le Carnoy I peuvent également servir de solution de stockage.

1.3.2.2.4. L'hydrolyse

Cette étape est généralement nécessaire pour obtenir ultérieurement un bon étalement des cellules et des chromosomes entre lame et lamelle. L'agent le plus fréquemment employé pour le ramollissement des tissus est l'acide chlorhydrique. L'hydrolyse dissout les sels pectiques de la lamelle moyenne et permet l'éclaircissement du cytoplasme. En outre, l'acide chlorhydrique libère les groupements aldéhydiques sur les molécules de sucre de l'ADN par destruction des liaisons entre les bases puriques et le désoxyribose.

1.3.2.2.5. La coloration

Le colorant le plus utilisé est le réactif de Schiff, préparé à partir de la fushine basique. Il se fixe sur les groupements aldéhydiques libérés lors de l'hydrolyse, pour donner une coloration rouge aux chromosomes. Cette technique de coloration est appelée technique "Feulgen" décrite pour la première fois par FEULGEN en 1926.

1.3.2.2.6. Le montage

Ces techniques présentées concernent les mitoses dans les méristèmes racinaires. Dans ce cas, la zone méristématique hydrolysée est colorée et isolée, déposée sur une lame dans une goutte d'eau acétique ou de carmin acétique, et écrasée entre lame et lamelle pour assurer la dissociation des cellules. Il faut éviter un écrasement trop violent car il y a risque d'éclatement des cellules. Puis, afin d'assurer un bon étalement des chromosomes, un léger chauffage de la lame est conseillé avant d'exercer une pression homogène sur la lamelle.

1.3.2.2.7. L'observation

Les chromosomes végétaux ont une longueur moyenne d'environ 6 μm . Les cellules en division sont repérées rapidement au microscope photonique à l'aide d'un objectif de faible grossissement $G=10$ généralement. L'observation des chromosomes est faite à un grossissement supérieur entre 1000 et 1500 (oculaire x objectif). La conservation des préparations pendant plusieurs années peut être souhaitée pour de nombreuses raisons (lames de démonstration, possibilité d'étudier ultérieurement le matériel pour un autre objectif....).

1.3.2.3. Etablissement de caryogrammes

JAHIER [111], note qu'il est possible d'obtenir par cellule un caryotype, représentation sous forme de dessin ou de photographie de chaque paire chromosomique. L'ensemble de ces caryotypes permet d'établir une carte d'identité chromosomique ou caryogramme. L'auteur ajoute que le caryogramme peut être recherché :

- pour des raisons d'ordre taxonomique, correspondant alors à l'acquisition d'un nouveau critère de classification,
- pour l'étude des remaniements chromosomiques.

L'établissement d'un caryogramme repose sur l'analyse d'un minimum de 15 à 20 plaques métaphasiques complètes présentant des chromosomes bien étalés et très nets.

CHAPITRE 2

MATERIEL ET METHODES

2.1. Objectif

Le présent travail a pour objectif de déterminer l'effet du stress salin sur la structure des chromosomes, le taux de germination des graines et sur les caractères morpho-physiologiques de deux espèces du pistachier : pistachier vrai (*Pistacia vera* L.) et pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf.) afin de sélectionner des plants tolérants à la salinité.

2.2. Lieu de l'expérimentation

L'étude a été menée dans le laboratoire d'amélioration des plantes. Département des sciences agronomiques. Faculté des Sciences de l'Université de M'sila.

2.3. Matériel végétal

Le matériel d'étude est constitué de graines de deux espèces de pistachier : *Pistacia atlantica* Desf et *Pistacia vera* L (figure 2.1). Les graines de pistachier de l'Atlas ont été récoltées en Septembre 2012 dans un peuplement naturel de la région d'El Gueddid dans la wilaya de Djelfa. Celles du pistachier vrai ont été récoltées en Octobre 2013 à partir d'une pépinière d'arbres fruitiers et forestiers dans la wilaya de Bordj Bouaridj.



Figure 2.1 : Les graines de pistachier vrai (A) et celles du pistachier de l'Atlas (B)

2.4. Méthodes d'étude

2.4.1. L'effet de la salinité sur la structure des chromosomes

2.4.1.1. Conditions de germination des graines

a. Stratification

Ces graines matures ont subi un traitement au froid humide à une température de 4° C durant 40 jours, dans le but de lever la dormance (la stratification). Une fois cette durée écoulée, ces dernières sont trempées dans l'eau distillée qui est renouvelée régulièrement pendant 24 heures afin de ramollir l'épicarpe (inhibiteur tégumentaire). Par un test densimétrique nous avons éliminé les graines qui flottent car elles sont vides.

b. Scarification

Elle est importante pour lever la dormance tégumentaire des graines de pistachier. Le mésocarpe vide a été éliminé à l'aide d'un coupe-ongle.

2.4.1.2. Germination

Les tests de germination ont été effectués sous différentes concentrations de chlorures de sodium. Pour chaque espèce, les graines au nombre de 90, sont désinfectées à l'hypochlorite de calcium 6 % pendant 15 minutes, puis rincées trois fois à l'eau distillée stérile [113].

Elles sont ensuite mises à germer dans des boîtes à Pétri couvertes de papier filters. Dans un cas, nous avons ajouté 10 ml de l'eau distillée (témoin), dans les autres cas, nous avons ajouté 10 ml de solution contenant 11.7g/l, 17.55g/l, 23.4g/l, 29.25g/l ou 35.1 g/l de NaCl (figure 2.2: A₁ et A₂).

Les boîtes sont mises à l'obscurité dans un incubateur réglé à une température de 25°C. Lorsque les radicules atteignent une longueur de 0.5 à 1 cm, les prélèvements sont effectués (figure 2.2: B₁ et B₂).

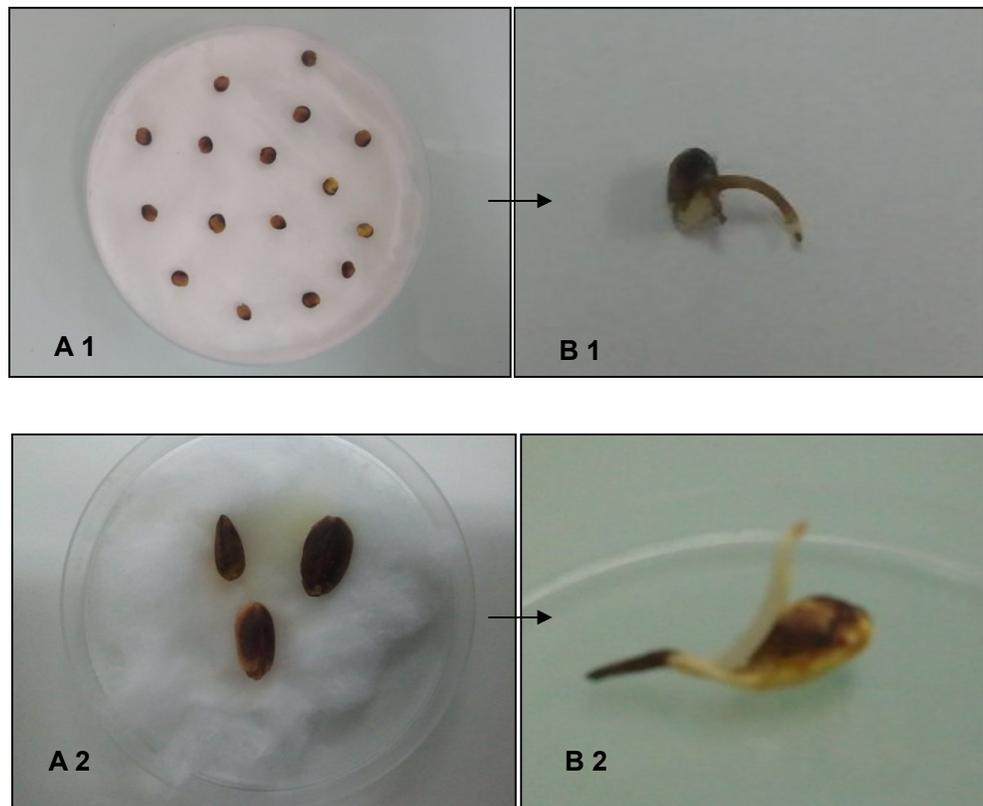


Figure 2.2 : La mise en culture et l'émergence de la racine (A1 : graines non germées de pistachier de l'Atlas, B1 : graines germées de pistachier de l'Atlas, A2 : graines non germées de pistachier vrai et B2: graines germées de pistachier vrai)

2.4.1.3. Techniques d'observation des méristèmes racinaires

Différentes méthodes sont décrites pour l'étude des chromosomes, elles mettent en jeu l'application d'agents chimiques pour le prétraitement, la fixation et la coloration des cellules en division. Ces méthodes sont largement décrites dans le cahier des « Techniques de cytogénétique végétale » [111]. L'emploi d'une technique adéquate doit permettre une bonne séparation des chromosomes avec des détails morphologiques permettant l'établissement correct du caryotype.

- Prélèvement

Après la germination, nous avons prélevé les pointes racinaires ayant une longueur de 0.5 à 1 cm sous loupe binoculaire. Les prélèvements sont effectués selon trois périodes durant la journée :

- les prélèvements matinaux : à 5h et 8h.
- les prélèvements de l'après midi à 13 et 15h.
- les prélèvements de fin de journée à 18h.

- Prétraitement

Trois agents mitoclassiques ont été utilisés :

- α -bromonaphtalène pendant 2 h à 5° C,
- 8 Hydroxy-quinoléine pendant 3 h à température ambiante,
- l'eau glaciale (0 °C) pendant 18 h,
- La colchicine (1 mg/2 ml) pendant 24 h à 5° C.

- Fixation

La fixation est réalisée dans une solution composée de :

- Carnoy I: éthanol- acide acétique (3:1), pendant 30 minutes à température ambiante,
- Carnoy II: éthanol-chloroforme-acide acétique (6:3:1), pendant 24 h à 5° C,
- Acide acétique pendant 30 minutes à température ambiante.

- Stockage

Le matériel végétal peut être conservé pendant plusieurs mois dans une solution d'éthanol 70 % à 4 °C.

- Hydrolyse

Pour obtenir un meilleur étalement des cellules, l'hydrolyse est une étape nécessaire qui se fait dans une solution d'HCl (1N) à 60 °C pendant 14 minutes.

- Coloration

Afin de mettre en évidence les zones méristématiques, les racines hydrolysées sont colorées par :

- Le réactif de Schiff pendant 2 h à température ambiante.
- Coloration avec : 3% de Giemsa + 97% de Po₄ buffer pendant une heure.

- Montage entre lame et lamelle

Après coloration, les racines sont récupérées et disposées sur une lame. La zone méristématique (la plus colorées) est découpée, dans une goutte de carmin acétique et écrasée entre lame et lamelle, pour assurer la dispersion des cellules.

- Observation microscopique

Les cellules en division sont repérées au microscope photonique à l'aide d'un objectif de faible grossissement (X 10) puis grossissement (X 40) pour une bonne visualisation de l'image. Le dernier grossissement est celui de l'objectif (X 100) à immersion.

2.4.2. L'effet de la salinité sur la germination et la croissance des plantules de deux espèces du pistachier

2.4.2.1. Mise en culture

Les graines au nombre de 90 de chaque espèce, sont décortiquées manuellement et stérilisées dans une solution d'hypochlorite de calcium à 6 % pendant 15 minutes, puis sont rincées trois fois à l'eau distillée stérile afin d'éliminer toute trace d'hypochlorite de calcium [113]. Enfin, elles sont mises à germer dans des boîtes de Pétri tapissées du coton et du papier filtre. Dans chaque boîte de Pétri sont versées 10 ml d'eau distillée (témoin) et 10 ml de solution saline à 11.7, 17.55, 23.4, 29.25 et 35.1 g de NaCl /L. Chaque essai porte sur 30 graines, soit 3 répétitions de 5 graines par boîte de Pétri et par traitement. La germination est faite dans un incubateur avec une température constante de 25°C.

Le taux de germination est suivi durant 15 jours en calculant le pourcentage cumulé de germination chaque deux jours, l'émergence de la racicule étant l'indicateur de la germination [114].

2.4.2.2. La croissance

La croissance des plantes est suivie dans des pots (12 cm de diamètre) qui contiennent 1/3 de sable et 2/3 de tourbe et laissés croître dans une chambre de culture dont les conditions sont : la température est de 22 °C et le photopériodisme fixé à 8 h d'obscurité et 16 h de lumière.

Après un temps de transplantation de 15 jours, les plants sont soumis au stress salin par application de différents traitements par une solution saline à base de NaCl. Les plants des deux espèces sont exposés à différents traitements (0, 11.7, 17.55, 23.4, 29.25 et 35.1 g de NaCl /L). (figure 2.3)



Figure 2.3 : La transplantation des plants

2.4.3. Dispositif expérimental

Le dispositif expérimental est de type factoriel à deux facteurs en randomisation totale. Le premier facteur représenté par l'espèce du pistachier avec deux modalités (pistachier vrai : *Pistacia vera* L. et pistachier de l'Atlas : *Pistacia atlantica* Desf.) codée E1, E2 et le deuxième facteur est représenté par le NaCl (agent de stress) avec 6 modalités codées de C₁ à C₆. Les données figurent au tableau 2.1.

Tableau 2.1 : Le dispositif expérimental

Facteurs	
Facteur 1: Espèce	Facteur 2: Concentration en NaCl (g/l)
E1: pistachier vrai (<i>Pistacia vera</i> L.)	C ₁ (0)
	C ₂ (11.7)
	C ₃ (17.55)
E2: pistachier de l'Atlas (<i>Pistacia atlantica</i> Desf.)	C ₄ (23.4)
	C ₅ (29.25)
	C ₆ (35.1)
Traitements	
T ₁ : E ₁ C ₁ ; T ₂ : E ₁ C ₂ ; T ₃ : E ₁ C ₃ ; T ₄ : E ₁ C ₄ ; T ₅ : E ₁ C ₅ ; T ₆ : E ₁ C ₆ ; T ₁ ' : E ₂ C ₁ ; T ₂ ' : E ₂ C ₂ ; T ₃ ' : E ₂ C ₃ ; T ₄ ' : E ₂ C ₄ ; T ₅ ' : E ₂ C ₅ ; T ₆ ' : E ₂ C ₆ .	

2.4.4. Paramètres étudiés

a. Paramètres morphologiques

Les paramètres étudiés au cours de ce travail sont :

- Taux de germination final : Ce paramètre constitue le meilleur moyen d'identification de la concentration saline qui présente la limite physiologique de germination des graines. Il est exprimé par le rapport nombre de graines germées sur nombre total de graines [115].
- Vitesse de croissance : Elle est calculée selon l'évolution de la longueur de la tige en fonction du temps.
- Longueur des racines et des tiges : La longueur de la racine primaire et celle de la tige sont mesurées à l'aide d'une règle graduée et ce pour évaluer la croissance de la plante vis-à-vis du stress.
- Nombre de feuilles.

b. Paramètres physiologiques

La connaissance des seuils de tolérance des espèces nécessite la connaissance de leurs aptitudes physiologiques vis-à-vis du stress salin. Les analyses physiologiques qui ont été effectuées sont : mesure de la chlorophylle, dosage de proline et dosage des sucres solubles.

- Mesure de la chlorophylle : La teneur en chlorophylle, mesurée à l'aide d'un chlorophylle-mètre (figure 2.4). L'appareil utilise deux longueurs pour mesurer les chlorophylles en éliminant les variations des propriétés optiques des feuilles. Le Chlorophylle-Mètre fournit un indice de teneur en chlorophylle sans unité : Chlorophyll content index (CCI). Cette valeur est obtenue par le rapport entre l'absorption à 655 et 940 nm.



Figure 2.4 : Mesure de la teneur en chlorophylle

- Dosage de la proline

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

- Extraction

100 mg de matériel végétal, est prélevé puis mis dans de tube à essai auquel on ajoute 2 ml de méthanol à 40 %, le tout est ensuite porté au bain marie à 850 C pendant une heure. Les extraits peuvent être conservés dans les piluliers en plastique au congélateur.

- Préparation de la solution mère de proline S1

20 mg de proline sont mis dans une fiole jaugée de 100 ml sur lequel on verse du méthanol à 40 % jusqu'à atteindre 100 ml.

- Préparation de la solution mère de proline S2

-10 ml de la solution mère S1 est porté dans une nouvelle fiole jaugée de 100 ml, on ajuste à 100 ml avec du méthanol 40%, on obtient une solution S2 de 20 µg/ml de proline.

-10 fioles jaugées de capacité 10 ml sont prises et numérotées de 1 à10.

-On porte dans chacune d'elle 1à10 ml de la solution S2, puis chacune est ajustée à10 ml avec du méthanol 40 %.

- ensuite 11 tubes à essai sont numérotés de T0à T10 dont chacun contiendra :

T0= 1 ml du méthanol qui servira à faire le zéro à la lecture de la DO

T1= 1 ml prélevé de la fiole n°1, soit 2 µg de proline

T2= 1 ml prélevé de la fiole n°2, soit 4 µg de proline

T3= 1 ml prélevé de la fiole n°3, soit 6 µg de proline

T4= 1 ml prélevé de la fiole n°4, soit 8 µg de proline

T5= 1 ml prélevé de la fiole n°5, soit 10 µg de proline

T6= 1 ml prélevé de la fiole n°6, soit 12 µg de proline

T7= 1 ml prélevé de la fiole n°7, soit 14 µg de proline

T8= 1 ml prélevé de la fiole n°8, soit 16 µg de proline

T9= 1 ml prélevé de la fiole n°9, soit 18 µg de proline

T10= 1 ml prélevé de la fiole n°10, soit 20 µg de proline

- Préparation du Réactif

On mélange dans une bouteille en verre :

300 ml d'acide acétique	}	Solution A
80 ml d'acide ortho phosphorique D = 1.7		
120 ml de H ₂ O stérile		

Soit n le nombre de tube à dosé (extraits et étalons)

On met dans un bécher

(n+4) 25 mg de ninhydrine	}	Solution B	→ Agiter
(n+4) ml de la solution A			
(n+4) ml d'acide acétique			

- Dosage

- Porté le bain marie à 100°C
- Prendre 1 ml de l'extrait
- Mettre 2 ml de la solution
- Ces tubes sont mis au bain marie pour une demi-heure. On obtient une coloration rose
- Laisser refroidir. Puis additionner 5 ml de benzène à chaque tube
- Deux phases se distinguent : une supérieure et une inférieure, on agite les tubes
- Finalement on pipete la phase organique qu'on dépose dans des tubes propres contenant chacun une spatule de Na₂SO₄ (une pincée).
- La lecture de la densité optique se fait à 528 nm.

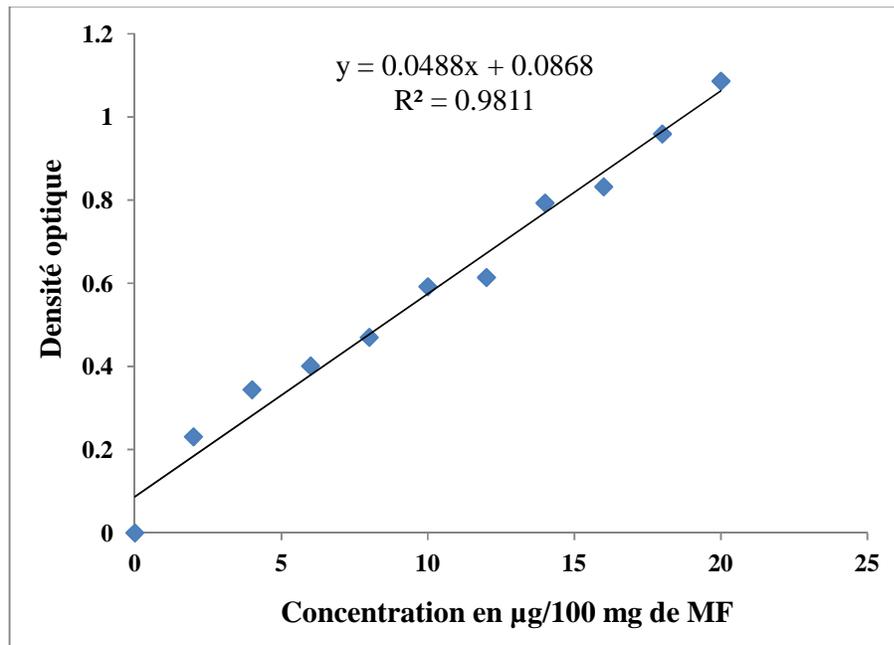


Figure 2.5 : La courbe d'étalonnage du dosage de la proline
($Y = aX + b$: Y : Densité optique, X : teneur en proline)

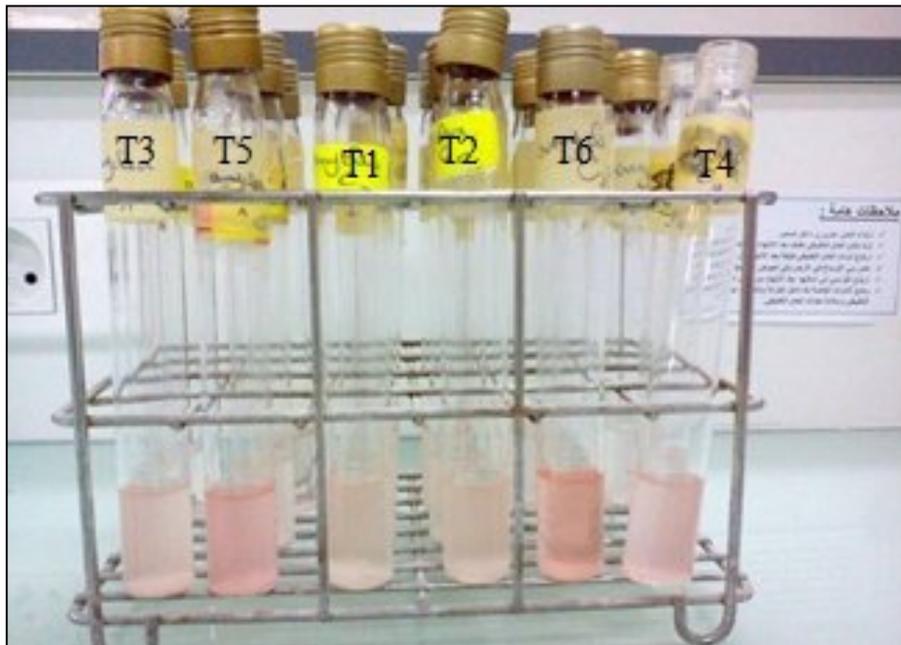


Figure 2.6 : Dosage de proline

- Dosage des sucres solubles

Nous avons procédé au dosage des sucres totaux dans les feuilles des plantes selon la méthode de Dubois, (1956).

- Principe

La méthode de Dubois et al. (1952) permet de doser les oses et les hexoses en utilisant le phénol et l'acide sulfurique concentré, en présence de ces deux réactifs, les oses donnent une couleur jaune-orange dont l'intensité est proportionnelle à la concentration des glucides.

1- Préparation de l'échantillon au dosage

a- Extraction des glucides :

- Peser 5 g de l'échantillon dans un bécher de 250 ml et additionner 200 ml d'eau distillée et 1.5 g de carbonate de sodium pour neutraliser l'acidité.
- Porter à ébullition, tout en agitant, pendant 30 minutes.
- Transvaser, après ébullition, dans une fiole de 500 ml.

b- Dosage :

Prendre 5 ml de filtrat, les faire diluer dans 50 ml d'eau distillée, à partir de cette solution prendre 1 ml et faire introduire dans un tube à essai, ajouter 1 ml de la solution de phénol à 5 % et agiter soigneusement, puis 5 ml de l'acide sulfurique sont ajoutés en 5 secondes. La température atteint environ 110 °C. Après agitation rapide (agitateur vortex) laisser refroidir à l'obscurité durant 30 minutes, lire l'absorbance à 490 nm et déterminer la teneur en sucres en se référant à la courbe d'étalonnage de glucose.

2- Préparation de la courbe d'étalonnage

- a- Dissoudre 100 mg de glucose dans 100 ml d'eau distillée ;
- b- Prendre de la solution précédente 4 ml et compléter à 50 ml ;
- c- Préparer une série de tubes à essai dans lesquels on verse 0.1 ml0.9 ml à partir de la solution fille (4/50) ;
- d- Compléter les volumes à 1 ml avec de l'eau distillée ;
- e- Ajouter 1 ml de phénol à 5 % à tous les tubes à essai et agiter soigneusement ;

- f- Verser en 5 secondes 5 ml de l'acide dans chaque tube et agiter rapidement ;
- g- Laisser refroidir à la température de la salle pendant 30 minutes et à l'obscurité ;
- h- Lire la densité optique à 490 nm.

Tubes	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Solution de glucose (ml)	0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
Eau distillée (ml)	1	0.9	0.8	0.7	0.6	0.5	0.4	0.3	0.2	0.1
Phénol (ml)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Acide sulfurique (ml)	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Concentration (µg/l)	0	8	16	24	32	40	48	56	64	72

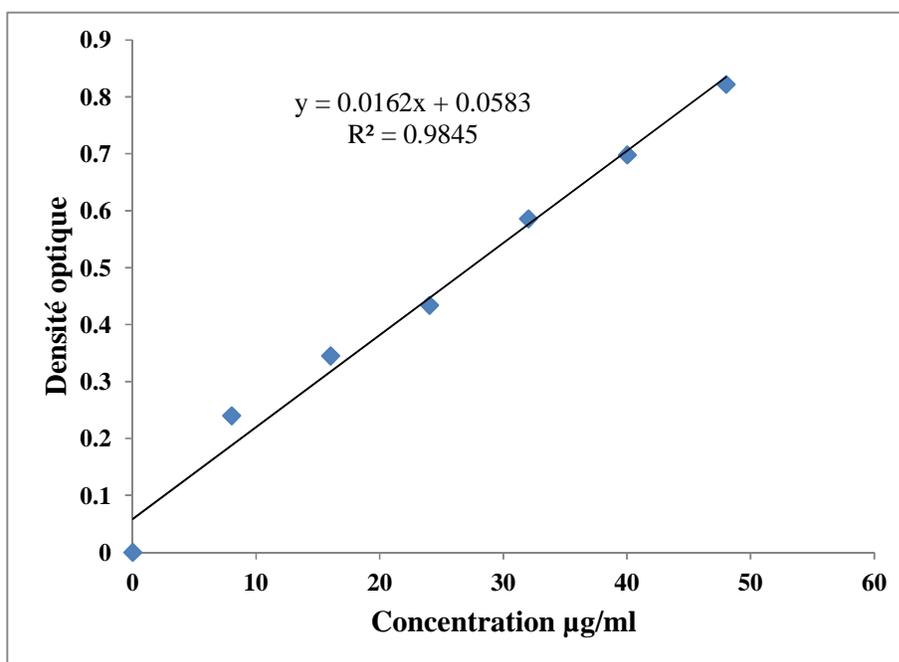


Figure 2.7 : La courbe d'étalonnage du dosage des sucres solubles
($Y = aX + b$: Y : Densité optique, X : teneur en sucres)

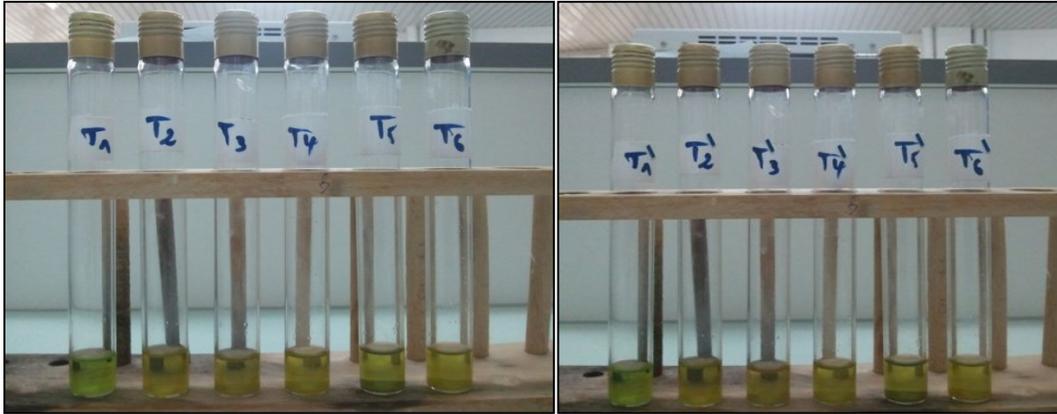


Figure 2.8 : Dosage des sucres solubles

2.4.5. Analyse statistique

Pour toutes les concentrations utilisées, chaque résultat correspond à la moyenne de 3 répétitions. Les résultats sont soumis à l'analyse de la variance à deux facteurs et les moyennes sont comparées selon la méthode de Newman et Keuls, basée sur la plus petite amplitude significative. Chaque moyenne est affectée d'une lettre, les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes.

CHAPITRE 3

RESULTATS ET DISCUSSIONS

3.1. Résultats de l'effet de stress salin sur la structure des chromosomes

3.1.1. Prélèvement

Les observations que nous avons effectuées, ont permis de déduire que les prélèvements réalisés selon les trois périodes durant la journée montrent qu'il existe une période qui semble être la plus favorable pour l'obtention d'un maximum de mitose.

3.1.2. Prétraitement

Les prétraitements à la colchicine n'ont pas permis de montrer les mitoses pour les deux espèces : *Pistacia vera* L. et *Pistacia atlantica* Desf. Les mêmes résultats sont obtenus avec l'eau glaciale et le 8-hydroxy-quinoléine.

Pour l' α -bromonaphtalène, les courtes durées d'une heure et de deux heures ne sont pas suffisantes. CHAIB [116], rapporte que lorsqu'on utilise une durée qui dépasse les 4 h avec de forte concentration de l' α -bromonaphtalène, il se produit un arrêt complet de la division.

3.1.3. La fixation

Au cours de nos essais, nous n'avons pas pu distinguer une différence entre les trois fixateurs utilisés : carnoy I, carnoy II et l'acide acétique, à différentes durées.

3.1.4. Le stockage

Le stockage du matériel végétal traité dans de l'alcool paraît être favorable car il permet de garder intact le matériel végétal.

3.1.5. L'hydrolyse

L'hydrolyse à l'HCL (1N) à 60°C pendant 14 minutes, semble être moins efficace car elle ne permet pas un bon ramollissement des tissus qui deviennent de ce fait moins faciles à étaler (figure 3.1).

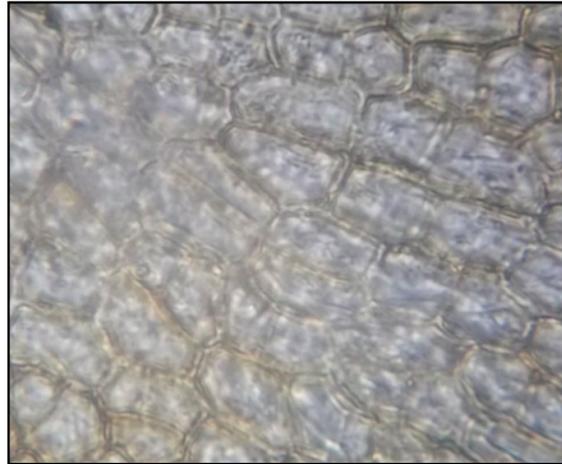


Figure 3.1 : Etalement insuffisant des tissus et un mauvais écrasement

3.1.6. La coloration

La coloration basée sur les deux colorants (réactif de Schiff et Giemsa + Po_4 buffer), n'a pas donné de meilleurs résultats (figure 3.2).

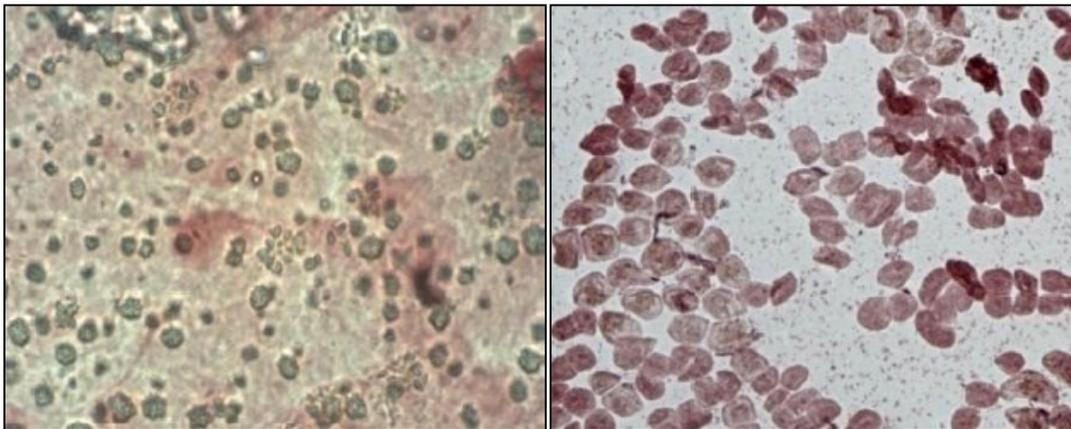


Figure 3.2 : Observation des pointes racinaires sous microscope optique

3.1.7. Observation des chromosomes

L'examen des pointes racinaires après écrasement entre lame et lamelle, se fait à l'aide d'un microscope optique. Les plaques métaphasiques sont rares, malgré le très grand nombre d'observations effectuées. L'observation des chromosomes a été faite à un grossissement supérieur. Les chromosomes sont généralement rares et très petits, leur observation est très difficile.

Selon FASIHI et GHAFARI [117], l'étude de chromosomes chez le pistachier est très difficile car ses chromosomes sont extrêmement petits. L'observation de la conduite chromosomique dans cette espèce suggère que l'enroulement chromosomique est tellement rapide que les chromosomes du zygotène deviennent courts et épais, assemblés autour du nucléole comme un bouton synizétique.

Selon FASIHI et GHAFARI [117], on dénombre chez *Pistacia atlantica* Desf. 28 chromosomes : c'est une espèce diploïde avec un génome $2n=28$ et $n=14$.

Fréquemment, la méiose de *Pistacia vera* L. était régulière et présentait 15 bivalents au cours de la première métaphase. Les conclusions obtenues par les études mitotiques sont en accord avec les études méiotiques et le complément chromosomique ($2n = 30$) [117].

Au cours de notre travail nous n'avons pas pu dénombrer les plaques métaphasiques sur les pointes racinaires observées.

3.2. Résultats de l'effet du stress salin sur les plants de pistachier

Après un mois sous l'effet du stress salin, la présence de NaCl dans l'eau d'irrigation a entraîné des modifications d'ordre morphologiques et physiologiques chez les plantules de *Pistacia vera* L. et de *Pistacia atlantica* Desf.

3.2.1. L'effet du stress salin sur les paramètres morphologiques

Dans notre étude, nous nous sommes intéressée en premier lieu à l'effet des différentes concentrations en NaCl (0 g/l, 11.7 g/l, 17.55 g/l, 23.4 g/l 29.25 g/l et 35.1 g/l) sur la germination des graines et la croissance des plantules de *Pistacia vera* L. et *Pistacia atlantica* Desf. Pour y parvenir, nous avons commencé par les paramètres morphologiques où on a calculé le taux de germination et la vitesse de croissance et mesuré : la longueur de tige, la longueur de racine et compté le nombre de feuilles. Les photos ci-dessous (figure 3.3, 3.4, 3.5, 3.6 et 3.7) montrent l'état des plantes au début et à la fin de l'expérimentation.

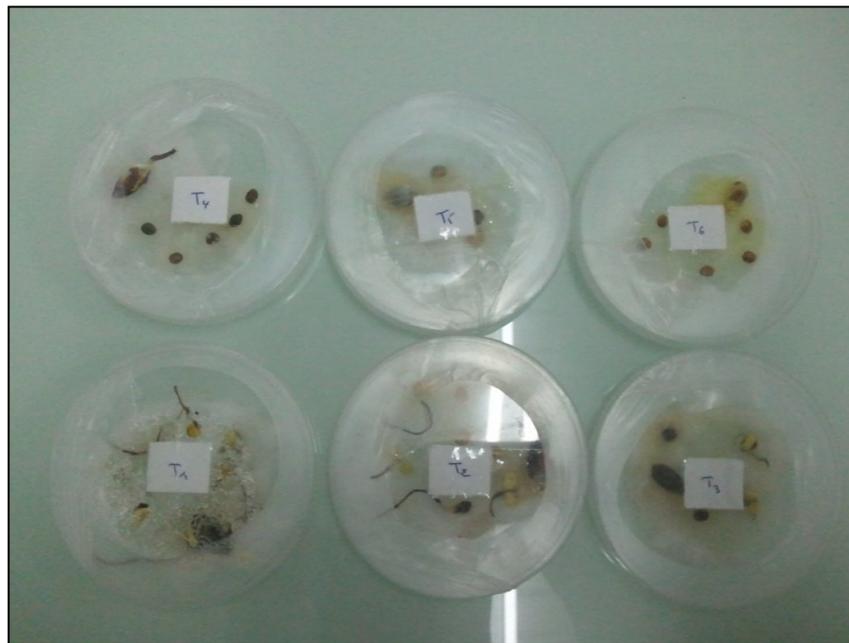


Figure 3.3 : Germination des graines en fonction des différentes concentrations en NaCl : T1(0 g/l), T2 (11.7 g/l), T3 (17.55 g/l), T4 (23.4 g/l), T5 (29.25 g/l) et T6 (35.1 g/l)



Figure 3.4 : Plantules de *Pistacia vera* L. après 15 jours de transplantation



Figure 3.5 : Plantules de *Pistacia vera* L. après 30 jours de transplantation



Figure 3.6 : Plantules de *Pistacia atlantica* Desf. après 15 jours de transplantation



Figure 3.7 : Plantules de *Pistacia atlantica* Desf. après 30 jours de transplantation

3.2.1.1. L'effet du stress salin sur le taux de germination final

Statistiquement, l'interaction entre les deux facteurs a un effet hautement significatif sur le taux de germination des graines (Tableau 1, appendice A, figure 3.8).

Les résultats montrent que, quelle que soit l'espèce (*Pistacia vera* L. ou *Pistacia atlantica* Desf.), le taux de germination des graines stressées est réduit comparativement au témoin et ceci pour les cinq concentrations utilisées (11.7, 17.55, 23.4, 29.25 et 35.1 g/l).

Les espèces sont classées selon le test de Newman et Keuls en six groupes homogènes :

Groupe A : représenté par le traitement T`1 ;

Groupe AB : représenté par le traitement T1 ;

Groupe BC : représenté par le traitement T2 ;

Groupe CD : représenté par les traitements T`2 ;

Groupe D : représenté par le traitement T3 ;

Groupe E : représenté par les traitements T4, T5, T6, T`3, T`4, T`5 et T`6.
(Tableau 3.1)

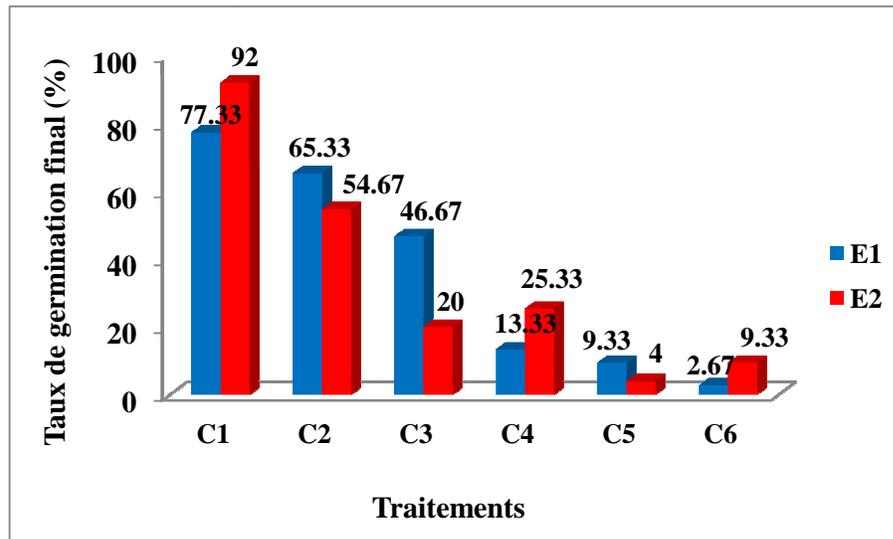


Figure 3.8 : Variation du taux de germination final en fonction de l'interaction des deux facteurs (Espèce, Concentrations en NaCl)

Discussion

La salinité agit sur la germination des graines en ralentissant sa vitesse, ce qui expose les semences aux risques de NaCl, en diminuant plus au moins fortement son taux, ainsi il réduit l'utilisation des réserves nutritives des graines [118].

Selon YAPSANIS et *al.* [119]; la salinité intervient sur la germination des graines par deux effets :

a- L'effet osmotique se traduit par la difficulté que trouve l'embryon à absorber une quantité d'eau suffisante pour déclencher les processus métaboliques de la germination.

b- L'effet toxique résulte de l'envahissement de l'embryon par Na^+ et Cl^- .

La salinité affecte la germination par une faible hydratation des réserves nutritives [120] et une diminution de l'activité des enzymes impliqués dans la germination des graines [121].

La diminution de l'indice de germination correspond soit à une augmentation de la pression osmotique externe, ce qui affecte l'absorption de l'eau par les graines et/ou bien à une accumulation des ions Na^+ et Cl^- dans l'embryon. Cet effet toxique peut conduire à l'altération des processus métaboliques de la germination et dans le cas extrême à la mort de l'embryon par excès d'ions. Le retard de la germination des graines ainsi que la diminution de la moyenne de germination journalière de deux génotypes avec l'augmentation de la concentration saline est expliqué par le temps nécessaire à la graine de mettre en place des mécanismes lui permettant d'ajuster sa pression osmotique interne [122].

3.2.1.2. L'effet du stress salin sur la vitesse de croissance

3.2.1.2.1. *Pistacia vera* L.

En observant la courbe, nous constatons que les trois traitements : T1, T2, T4, présentent une vitesse de croissance rapide par rapport aux : T3, T5, T6 qui ont une vitesse de croissance stable (figure 3.9 et 3.10).

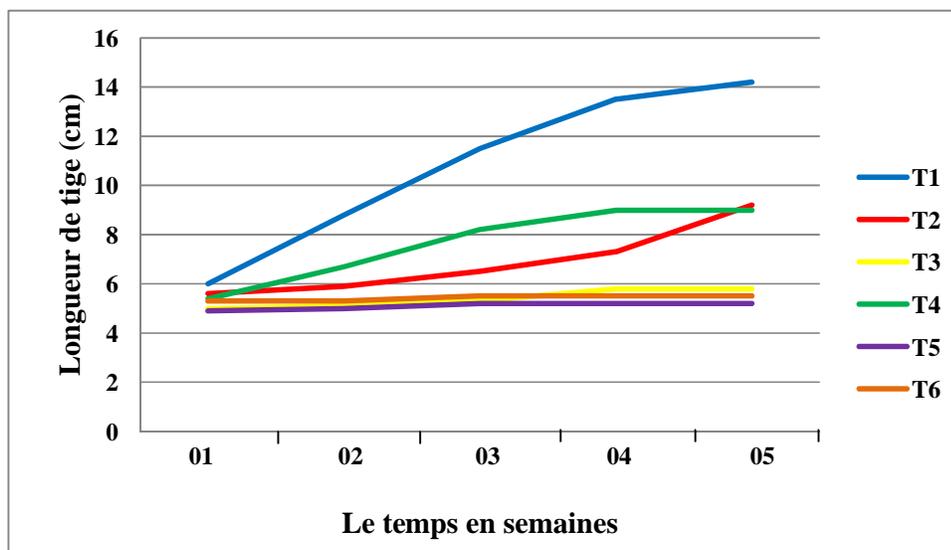


Figure 3.9 : Courbe de la vitesse de croissance pour *Pistacia vera* L.

en fonction des différentes concentrations en NaCl

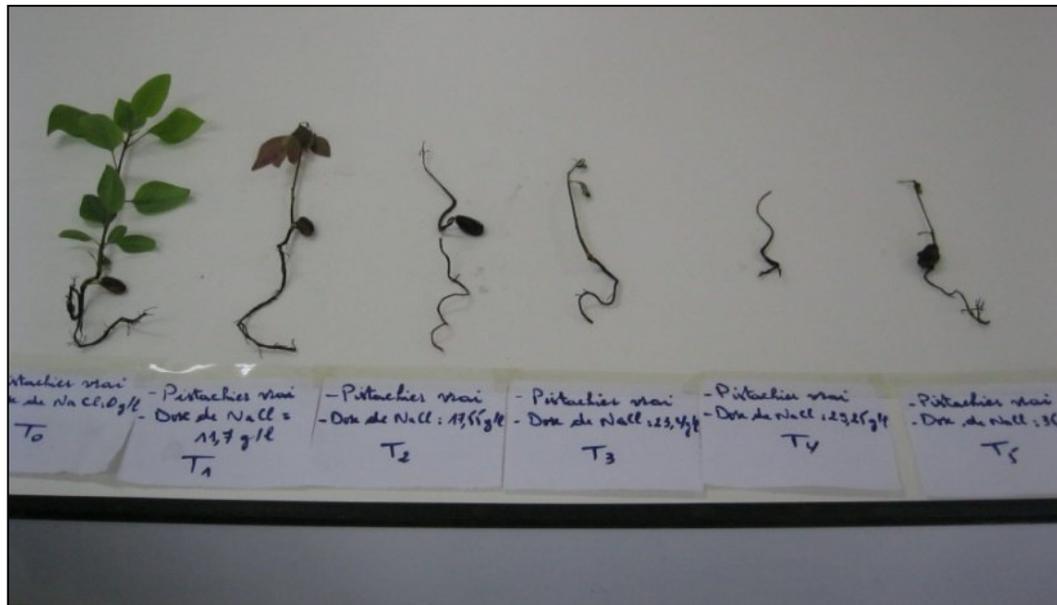


Figure 3.10 : Variation de la croissance des plantules de *Pistacia vera* L. sous l'effet de différentes concentrations salines après un mois

3.2.1.2.2. *Pistacia atlantica* Desf.

La courbe de la vitesse de croissance permis de dire que durant la première semaine du stress salin, les plantules du *Pistacia atlantica* Desf. présentent une croissance de la partie aérienne, mais à partir de la deuxième semaine elle se stabilise pour les cinq derniers traitements (T`2, T`3, T`4, T`5, T`6) contrairement aux plantules du premier traitement (T`1) qui continuent leur croissance (figure 3.11 et 3.12).

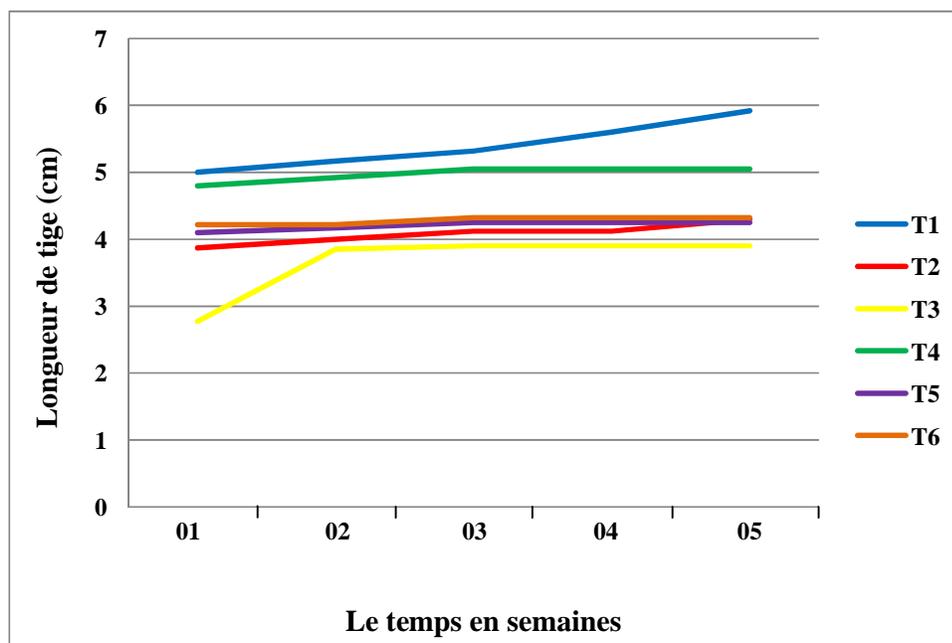


Figure 3.11 : Courbe de la vitesse de croissance pour *Pistacia atlantica* Desf. en fonction des différentes concentrations en NaCl

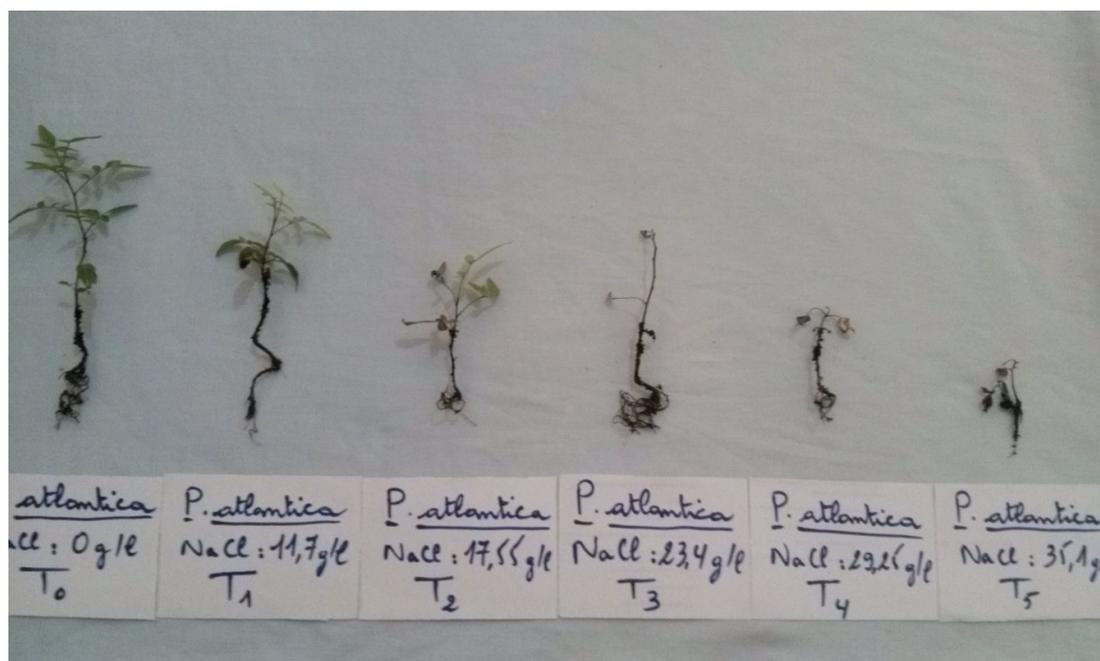


Figure 3.12 : Variation de la croissance des plantules de *Pistacia atlantica* Desf. sous l'effet de différentes concentrations salines après un mois

Discussion

D'après les résultats obtenus concernant la vitesse de croissance, on peut dire que les plantules de *Pistacia vera* L. présentent une croissance plus rapide que celle des plantules de *Pistacia atlantica* Desf.

Ainsi, on peut déduire que le stress salin agit d'une façon négative sur la vitesse de croissance des plantules de *Pistacia vera* L. et *Pistacia atlantica* Desf. en bloquant l'allongement de la partie aérienne.

Pour s'adapter au stress salin, la plante peut éviter les dommages par la réduction de la croissance [123], [124]. C'est l'effet le plus commun des stress abiotiques sur la physiologie des plantes ; la réduction de la croissance est une capacité adaptative nécessaire à la survie d'une plante exposée à un stress abiotique. En effet, ce retard de développement permet à la plante d'accumuler de l'énergie et des ressources pour combattre le stress avant que le déséquilibre entre l'intérieur et l'extérieur de l'organisme n'augmente jusqu'à un seuil où les dommages seront irréversibles. La croissance est inversement corrélée à la résistance au stress salin d'une espèce / variété [125].

3.2.1.3. L'effet du stress salin sur la longueur de tige

L'analyse de la variance inter-facteurs révèle une action très hautement significative sur la moyenne de la longueur de la tige (figure 3.13).

L'étude de l'interaction entre les deux facteurs : concentration du NaCl et espèce, nous montre que la moyenne de la longueur de la tige la plus élevée est obtenue avec les plantules du pistachier vrai non contraintes (témoin) avec 14.2 cm. Elles sont suivies par celles soumises à la concentration 11.7 g/l de NaCl avec 9.3 cm, et avec 9 cm pour le traitement T4 (23.4 g/l de NaCl).

En second, nous avons les plantules du pistachier de l'Atlas non contraintes (témoin T`1) avec une moyenne de 5.7 cm, suivies des traitements : T3, T5, T6 et T`4 avec une moyenne de 5 cm.

Les plantules qui présentent les moyennes de la longueur de tige les plus basses, sont celles issues des traitements : T`2, T`3, T`5, T`6 avec une moyenne de 4 cm.

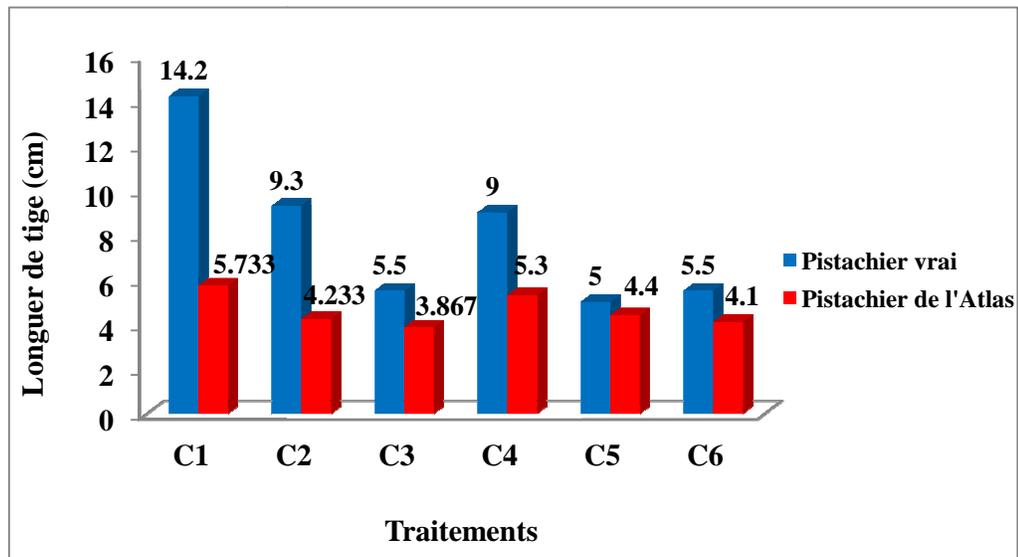


Figure 3.13 : Variation des moyennes de la longueur de tige en fonction de l'interaction des deux facteurs

Discussion

Nous constatons que la longueur de la tige est affectée en fonction de l'espèce et de la concentration en NaCl. Les plantules qui résistent mieux aux sels sont celles du *Pistacia vera* L. suivies de celles du *Pistacia atlantica* Desf.

A partir de 11.7 g/l de NaCl, la croissance et l'allongement des plantules sont ralenties. Cette réduction semble être due à la présence de sodium dans le milieu qui bloque l'assimilation de certains éléments nutritifs nécessaires au développement des tiges par le phénomène d'antagonisme [127].

L'effet de la salinité sur les végétaux se situe principalement au niveau de la croissance cellulaire et se traduit par une réduction des dimensions de la plante [128].

L'effet dépressif de la salinité sur la croissance des plantes peut avoir deux causes principales : les difficultés d'alimentation en eau et en nutriments et la toxicité des ions accumulés en excès dans la plante [129].

Les sels induisent une augmentation de la taille des vaisseaux conducteurs et du diamètre des tiges ce qui entraîne la diminution de la longueur des tiges [130], [131].

3.2.1.4. L'effet du stress salin sur la longueur de racine

L'analyse de la variance inter- facteurs révèle une action très hautement significative sur la longueur de la racine principale.

L'étude de l'interaction des deux facteurs espèce et concentration du NaCl, montre que la moyenne de la racine principale la plus élevée est obtenue avec les plantules du *Pistacia vera* L. soumises à la concentration de 17.55 g/l de NaCl avec 16 cm par rapport au témoin qui présente une moyenne de 15.5 cm (figure 3.14). Elle est suivie par les plantules soumises à la concentration 11.7 g/l de NaCl avec 14.7 cm; ces trois traitements représentent le groupe A.

Le groupe B est représenté par les plantules soumises à 23.4 et 35.1 g/l de NaCl qui sont moins résistantes au sel avec des moyennes de 8 et 9 cm, suivies par le groupe C qui renferment les plantules du *Pistacia atlantica* Desf. soumises à 0, 11.7 et 29.25 g/l avec une moyenne de 5 cm.

Les moyennes les plus faibles sont enregistrées chez les plantules du pistachier vrai soumises à une concentration de 29.25 g/l et celles du pistachier de l'Atlas soumises à 17.55 et 23.4 g/l de NaCl avec les moyennes : 3, 3.5 et 2.5 respectivement, c'est le dernier groupe (Groupe D). (Tableau 3.1)

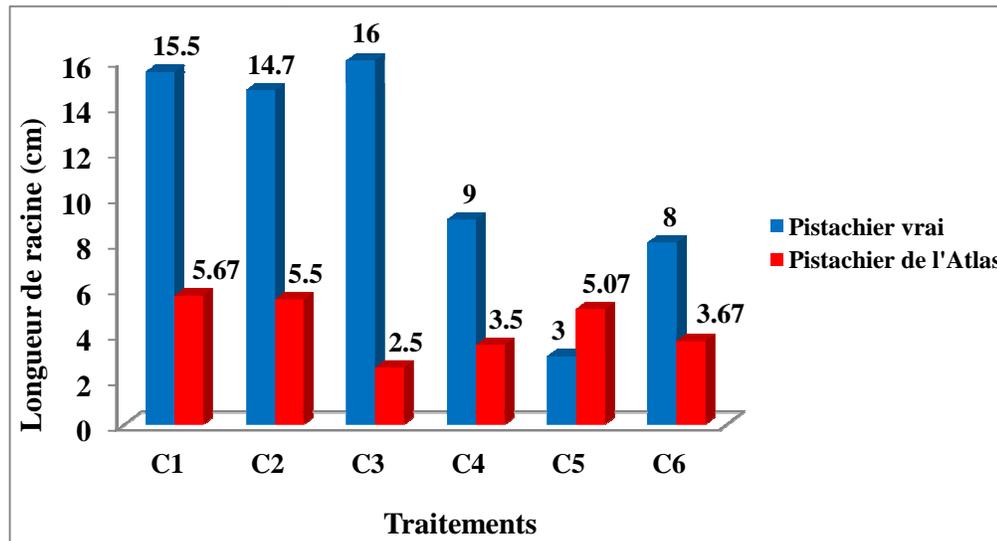


Figure 3.14 : Variation des moyennes de la longueur de racine en fonction de l'interaction des deux facteurs

Discussion

Nous constatons que les deux facteurs ont un effet sur la longueur de la racine principale.

La longueur de la racine principale la plus marquée est obtenue avec les plantules de *Pistacia vera* L., cette résistance est acquise par l'espèce comme réponse à l'environnement de l'espèce [132].

La concentration 17.55 g/l de NaCl, stimule la croissance des plantules de *Pistacia vera* L. avec une moyenne de 16 cm par rapport au témoin qui présente une moyenne de 15.5 cm.

Au-delà de 17.55 g/l du sel, nous constatons une diminution progressive au fur et à mesure que les concentrations augmentent.

La concentration 35.1 g/l de NaCl, entraîne une inhibition de l'allongement des racines qui peut être due au phénomène de toxicité [133].

Les racines sont directement en contact avec la salinité du sol et elles constituent la première ligne de défense contre le stress salin, des plantes ayant un système racinaire long sont capables d'absorbées plus d'eau et s'échapper aux zones salines. Un système racinaire profond et dense joue un rôle clé dans l'ajustement osmotique sous les conditions salines [134].

La diminution du potentiel hydrique provoqué par la salinité stimule le développement des racines en profondeur et cela à recherche de l'eau, ce qui implique le développement de la partie racinaire en dépit de la partie aérienne [135].

3.2.1.5. L'effet du stress salin sur le nombre de feuilles

L'analyse de la variance inter-facteurs espèces et concentrations en NaCl, révèle une différence très hautement significative (figure 3.15).

Nous constatons qu'il y a un effet remarquable de la salinité sur le nombre de feuilles par plant pour les différents traitements. Il est observé que le traitement T1 (témoin) présente le nombre de feuilles le plus élevé par rapport aux autres traitements.

Ces résultats sont vérifiés par le biais du test de Newman et Keuls au seuil de 5% faisant ressortir 4 groupes distincts, où l'on note que le nombre de feuilles le plus élevé est relevé au niveau du traitement témoin T1 (0 g/l) qui se classe en groupe A, ensuite viennent les jeunes plantes du traitement T4 (23.4 g/l) ayant un nombre de feuilles moins important dans le groupe B. Les plantes des traitements T1, T2 et T3, qui possèdent un nombre de feuilles faible se classent dans le groupe C, les autres traitements se trouvent dans le dernier groupe avec des valeurs plus faibles avec une moyenne de 4, groupe D.

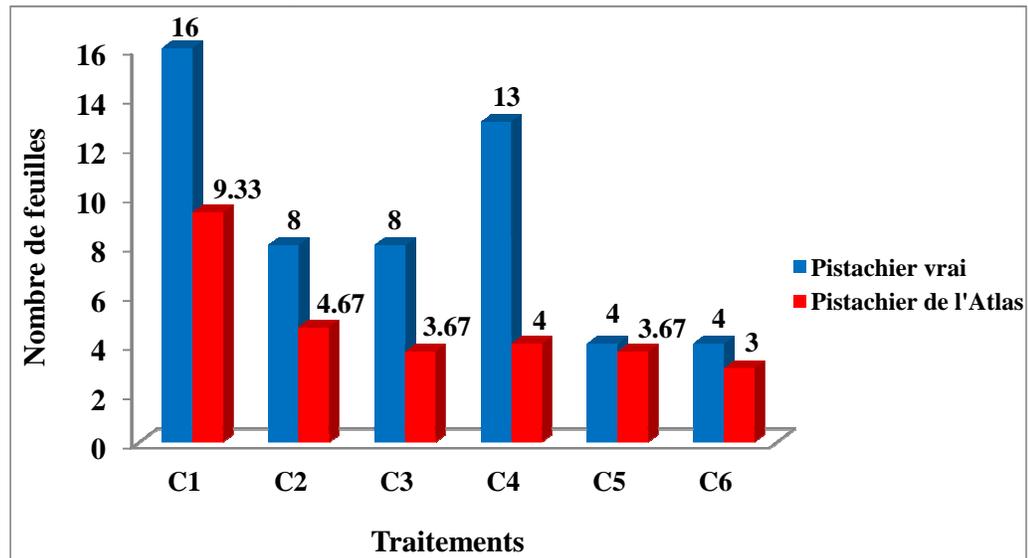


Figure 3.15 : Variation des moyennes du nombre de feuilles en fonction de l'interaction des deux facteurs

Discussion

A partir de cette étude, nous constatons que les plantules issues des graines du pistachier vrai résistent mieux au sel avec une moyenne de 8.83, contre 4.72 pour les plantules issues des graines du pistachier de l'Atlas.

Le témoin présente le nombre de feuilles le plus important. Les concentrations allant de 11.7 à 23.4 g/l de NaCl présentent une diminution du nombre de feuilles mais au-delà de 29.25 g/l de sel, nous assistons à une diminution considérable du nombre de feuilles concernant les plantules de pistachier vrai. Celles du pistachier de l'Atlas présentent un nombre de feuilles presque stable à partir de la première concentration en NaCl (11.7 g/l).

Le sel inhibe tous les paramètres de croissance des plantes, ceci s'explique par le fait que l'augmentation de la teneur en NaCl entraîne une diminution de l'hydratation des tissus et une réduction de l'expansion cellulaire, par conséquent une diminution de nombre de feuilles et de la biomasse des plantes [136].

Une forte salinité dans le sol, est perçue pour la plante comme une diminution de la disponibilité en eau [137].

Le stress salin provoque une réduction de nombre de feuilles émises et une diminution de la durée de la phase productive des plantes chez le cocotier [138].

MUNNS [139], considère que l'assimilation du carbone par les plantes serait affectée par la salinité à cause de la réduction de l'indice foliaire plutôt que du taux de photosynthèse.

Le nombre réduit des feuilles en présence de la contrainte saline confirme les résultats de SATTI et *al.* [140], où l'émission d'un nombre réduit de feuilles est l'une des réponses des plantes sensibles en milieu salin.

Tableau 3.1 : Valeurs moyennes et écarts types des paramètres morphologiques

Les facteurs		Les paramètres			
F1 Espèce	F2 (NaCl g/l)	Taux de germination	Longueur de tige	Longueur de racine	Nombre de feuilles
E1	C1	77.33 ± 4.62 ^a	14.2 ± 0.2 ^a	15.5 ± 0.5 ^a	16 ± 1 ^a
	C2	65.33 ± 6.11 ^{bc}	9.3 ± 0.1 ^b	14.7 ± 0.1 ^a	8 ± 1 ^c
	C3	46.67 ± 6.11 ^d	5.5 ± 0.2 ^{cd}	16 ± 0.5 ^a	8 ± 1 ^c
	C4	13.33 ± 10.07 ^e	9 ± 0.3 ^b	9 ± 0.2 ^b	13 ± 1 ^b
	C5	9.33 ± 6.11 ^e	5 ± 0.1 ^{cde}	3 ± 0.5 ^d	4 ± 1 ^d
	C6	2.67 ± 2.31 ^e	5.5 ± 0.1 ^{cd}	8 ± 0.1 ^b	4 ± 1 ^d
E2	C1	92 ± 4 ^{ab}	5.73 ± 0.87 ^c	5.67 ± 1.15 ^c	9.33 ± 1.15 ^c
	C2	54.67 ± 6.11 ^{cd}	4.23 ± 0.68 ^{de}	5.5 ± 1.32 ^c	4.67 ± 1.15 ^d
	C3	20 ± 17.44 ^e	3.87 ± 1.09 ^e	2.5 ± 0.5 ^d	3.67 ± 0.58 ^d
	C4	25.33 ± 14.05 ^e	5.3 ± 0.85 ^{cd}	3.5 ± 0.5 ^d	4 ± 0 ^d
	C5	4 ± 4 ^e	4.4 ± 0.17 ^{cde}	5.07 ± 1.01 ^c	3.67 ± 0.58 ^d
	C6	9.33 ± 10.07 ^e	4.1 ± 0.458 ^{de}	3.667 ± 1.15 ^d	3 ± 1 ^d

E1: Pistachier vrai; E2: Pistachier de l'Atlas; C1: Concentration 0 g/l de NaCl; C2: Concentration 11.7 g/l de NaCl ; C3: Concentration 17.55 g/l de NaCl; C4: Concentration 23.4 g/l de NaCl; C5: Concentration 29.25 g/l de NaCl; C6: Concentration 35.1 g/l de NaCl.

3.2.2. L'effet du stress salin sur les paramètres physiologiques

Les changements morphologiques analysés précédemment comme une réponse au stress salin des espèces étudiées, sont en réalité le résultat morphologique de l'effet de la salinité sur le métabolisme de ces plantes. Nous analysons dans ce chapitre les paramètres physiologiques en fonction de l'intensité du stress salin chez deux espèces de pistachier. Ces paramètres (teneur en chlorophylles, en sucres solubles et en proline) sont souvent mesurés pour l'étude de la réponse des différents végétaux au stress salin.

3.2.2.1. L'effet du stress salin sur la teneur en chlorophylle

L'analyse de la variance à deux critères de classification montre une différence très hautement significative entre les moyennes (Tableau 5, Appendice A).

D'après le tableau 3.2, on remarque que la teneur de chlorophylle varie d'une manière très hautement significative d'un traitement à un autre. Cependant le taux le plus élevé a été obtenu avec le traitement T6 qui représente le groupe A, suivi par le traitement T4 (groupe B) avec une teneur moyenne de chlorophylle de 21 CCl, traitement T2 (groupe CD) et le traitement. Chez les plantules non stressées (témoin) nous avons enregistré une teneur en chlorophylle de 14 CCl, ce traitement appartient au groupe C. Celles du traitement T2 appartiennent au groupe CD. Dans le groupe DE, nous avons enregistré une teneur de chlorophylle de 8 CCl pour le traitement T1 (figure 3.16).

Le dernier groupe E comprend les traitements : T3, T5, T2, T3, T4, T5 et T6, qui présentent des teneurs en chlorophylle allant de 3.7 jusqu'à 0.83 CCl.

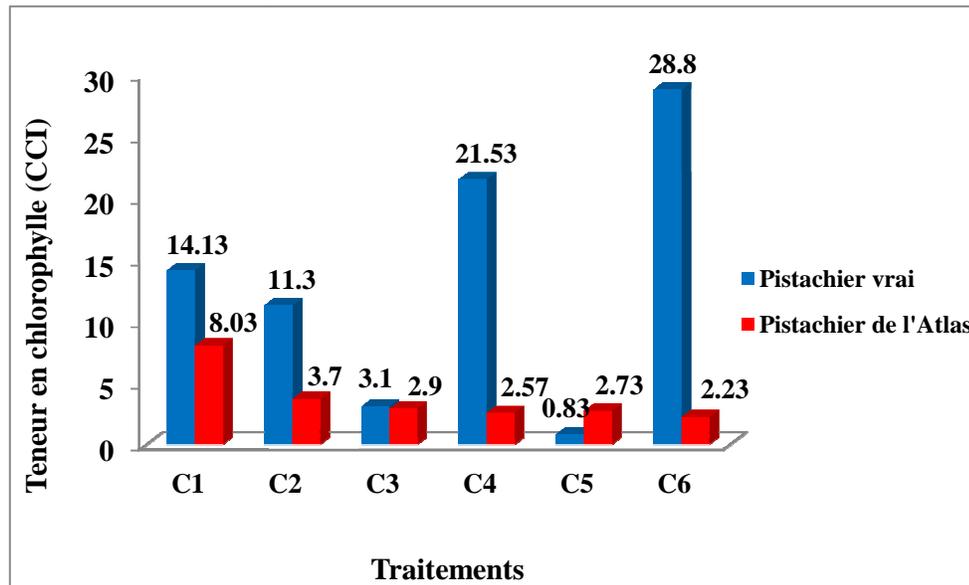


Figure 3.16 : Variation des moyennes de la teneur en chlorophylle en fonction de l'interaction des deux facteurs

Discussion

Les niveaux de stress salin appliqués ont induit une baisse de la teneur en chlorophylle des feuilles pour les deux espèces. Un comportement semblable a été observé chez un nombre de plantes : la framboise [141], le tournesol [142], et chez une halophyte *Plantago coronopus* L. (Plantain corne de cerf) [143].

La diminution de l'activité photosynthétique chez des plantes sous stress salin est citée par plusieurs auteurs comme étant l'une des causes majeures de la réduction de la croissance et de la productivité végétale [144], [145]. BETHKE et DREW [146] notent que la baisse de la teneur en chlorophylle des plantes en condition de salinité serait la conséquence de la réduction de l'ouverture des stomates, visant à limiter les pertes en eau par évaporation et par la même l'augmentation de la résistance à l'entrée du CO₂ atmosphérique nécessaire à la photosynthèse. La baisse de la teneur en chlorophylle durant la période de stress serait la conséquence de l'effet dépressif des sels sur l'absorption de certains

éléments indispensables tel que : Fe et Mg qui sont impliqués dans la synthèse de la chlorophylle [147].

Selon SUTINEN et *al.* [148], la diminution de contenu de chlorophylle est une réponse généralement rapportée chez les plantes face au stress salin, elle est liée à la fermeture des stomates et à la diminution consécutive de la photosynthèse.

La salinité provoque une dégradation de la chlorophylle et une accumulation de la fraction soluble des composés azotés [149].

Une étude faite sur *Spinacia oleracea* a montré que l'accumulation de Na⁺ au niveau des feuilles inhibe la conductance somatique et la photosynthèse et cause la diminution de la teneur des pigments chlorophylliens [150].

3.2.2.2. L'effet du stress salin sur la teneur en sucres solubles

3.2.2.2.1. Dans les feuilles

Après l'analyse de la variance de l'interaction entre les deux facteurs, nous avons enregistré qu'il y'a une différence significative entre les traitements (Tableau 6, appendice A).

Le test de Newman et Keuls (Tableau 3.2 et figure 3.17) classe les différents traitements en 4 groupes homogènes :

Groupe A : représenté par les traitements T1 et T`1.

Groupe AB : représenté par les traitements T`2, T`3, T`4 et T`5.

Groupe BC : représenté par les traitements T2, T4 et T`6.

Groupe C : représenté par les traitements T3, T5 et T6. (Tableau 3.2)

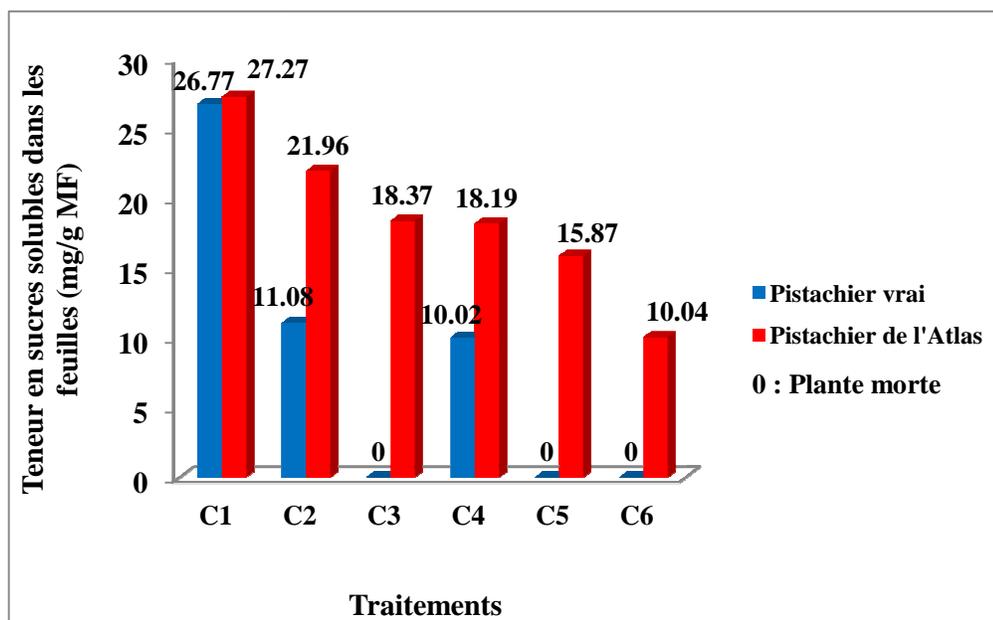


Figure 3.17 : Variation des moyennes de la teneur en sucres solubles dans les feuilles en fonction de l'interaction des deux facteurs

3.2.2.2.2. Dans les racines

Une différence très hautement significative a été révélée par l'analyse de la variance pour l'interaction entre la salinité et l'espèce (Tableau 7, appendice A).

Le test de Newman et Keuls (Tableau 3.2 et figure 3.18) a permis de faire ressortir neuf groupes homogènes :

Groupe A : représenté par le traitement T`6 ;

Groupe B : représenté par le traitement T6 ;

Groupe C : représenté par le traitement T`5 ;

Groupe D : représenté par le traitement T4 ;

Groupe E : représenté par le traitement T`3 et T`4 ;

Groupe F : représenté par le traitement T3 ;

Groupe G : représenté par le traitement T2 ;

Groupe H : représenté par le traitement T1 et T2 ;

Groupe I : représenté par le traitement T6.

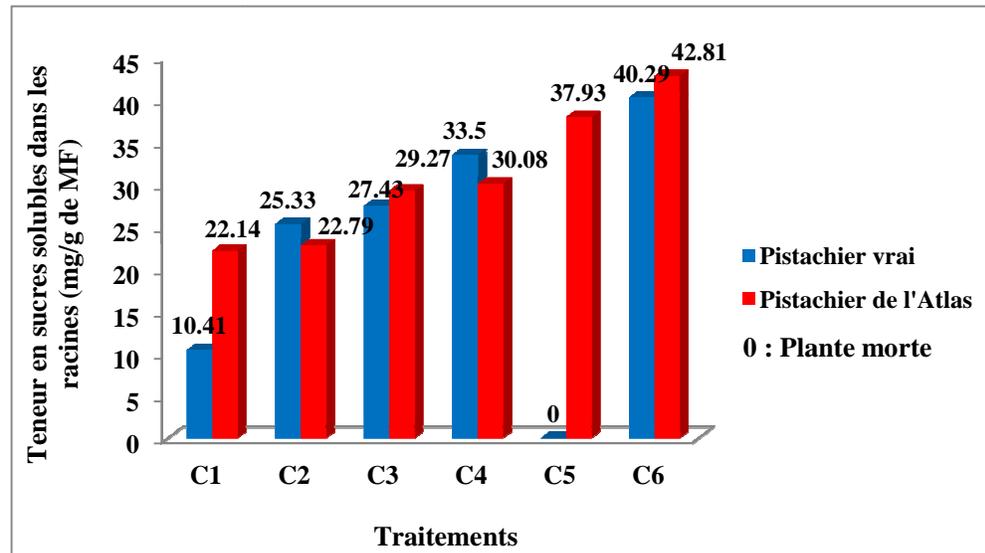


Figure 3.18 : Variation des moyennes de la teneur en sucres solubles dans les racines en fonction de l'interaction des deux facteurs

Discussion

Depuis longtemps, il est connu que le taux des sucres augmente considérablement chez les plantes soumises aux différents types de stress [151]. En effet, cela a été vérifié pour le stress salin chez le céleri [152], l'orge [153], chez *Zygophyllum album* [154]. Les variétés présumées plus tolérantes sembleraient accumuler des quantités plus élevées que les variétés sensibles. ASHRAF et TUFAL [155], ont déterminé la quantité totale des sucres solubles chez cinq variétés de tournesol ; leur résultats montrent que les lignés résistantes accumulent plus de sucres que les lignés sensibles. Des résultats analogues ont été obtenus chez le tabac [156].

Les sucres solubles contribuent jusqu'à 50% de l'ajustement osmotique chez les glycophytes en conditions salines [157]. Les sucres solubles accumulés sous stress sont considérés comme des osmorégulateurs et des osmoprotecteurs

[158]. Plusieurs fonctions de protection ont été identifiées, parmi lesquelles la stabilisation des membranes et des protéines en cas de déshydratation et limiter l'agrégation des protéines dénaturées.

L'accumulation des sucres solubles en réponse à la salinité se fait en dépit de la diminution de la fixation de CO₂ des feuilles [151]. Lors d'un stress, les réserves amylopectines sont progressivement utilisées suite à leur conversion rapide en saccharose, qui pourrait être associé à une inhibition de la synthèse de l'amidon [159].

Nos résultats montrent que les concentrations élevées en NaCl dans la solution nutritive entraînent en parallèle une diminution du taux des sucres solubles au niveau des feuilles. Les différentes concentrations de NaCl ne causent pas des variations au niveau de l'accumulation des sucres solubles, c'est-à-dire qu'il n'y a pas une accumulation progressive des sucres solubles en fonction du stress salin.

3.2.2.3. L'effet du stress salin sur la teneur en proline

Les fonctions métaboliques des plantes se trouvent souvent perturbées en conditions de stress salin et notamment le métabolisme des acides aminés libres dont la proline constitue, pour de nombreuses espèces l'élément principal de modification.

3.2.2.3.1. Dans les feuilles

Une différence très hautement significative a été révélée par l'analyse de la variance pour l'interaction entre la salinité et l'espèce (Tableau 8, appendice A), chez le pistachier de l'Atlas, l'accumulation de la proline, dans les feuilles augmente progressivement avec l'intensité du stress salin. Les niveaux de stress salin appliqués ont induit une augmentation notable des teneurs en proline dans les feuilles des plantes traitées.

Le test de Newman et Keuls (Tableau 3.2 et figure 3.19) a permis de faire ressortir sept groupes homogènes :

On constate que les teneurs les plus élevées sont enregistrées chez les traitements 17,55 g/l pour le pistachier de l'Atlas avec une moyenne de 594 $\mu\text{g}/100\text{mg}$ MF (Groupe A).

Groupe B : représenté par le traitement T`5 ;

Groupe C : représenté par le T`6 ;

Groupe D : représenté par le T2 ;

Groupe E : représenté par le T`4 ;

Groupe F : représenté par les traitements : T1, T4 et T`2 ;

Groupe G : représenté par les traitements : T3, T5, T6 et T`2.

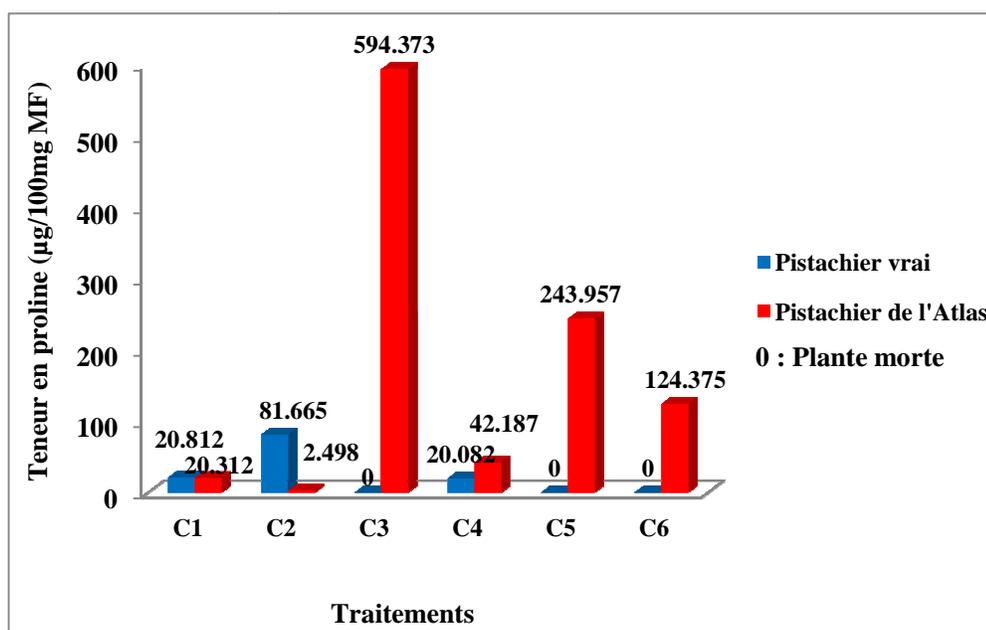


Figure 3.19 : Variation des moyennes de la teneur en proline dans les feuilles en fonction de l'interaction des deux facteurs

3.2.2.3.2. Dans les racines

A l'issue de nos essais, les résultats obtenus (tableau 9, appendice A) montrent que la modification des concentrations en NaCl d'un traitement à un autre entraîne une action très hautement significative sur le taux de proline.

Le taux le plus élevé a été obtenu avec les traitements T`6 (542 $\mu\text{g}/100\text{mg}$ de MF) qui représente le groupe A, suivi par le traitement T`5 qui appartient au groupe B avec la moyenne 108 $\mu\text{g}/100\text{mg}$ de MF. Le groupe C est représenté par le traitement T`4 avec une moyenne de 50 $\mu\text{g}/100\text{mg}$ de MF. Une valeur moyenne est relevée chez le groupe D (T`1), suivie par le groupe E qui est représenté par les traitements T4 et T6 avec les moyennes : 19 et 17 $\mu\text{g}/100\text{mg}$ de MF respectivement.

Les plus faibles valeurs sont enregistrées au niveau des trois derniers groupes ; le groupe EF qui est représenté par les traitements : T1 et T2 avec une moyenne de 13 $\mu\text{g}/100\text{mg}$ de MF suivi par le groupe FG qui comprend : T3, T5 et T`2 pour une teneur moyenne allant de 6 jusqu'à 5 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de MF et le groupe G qui vient en dernière place, on trouve le T`3 avec une teneur en proline de 1.25 $\mu\text{g}/100\text{mg}$ de MF. (Tableau 3.2, figure 3.20)

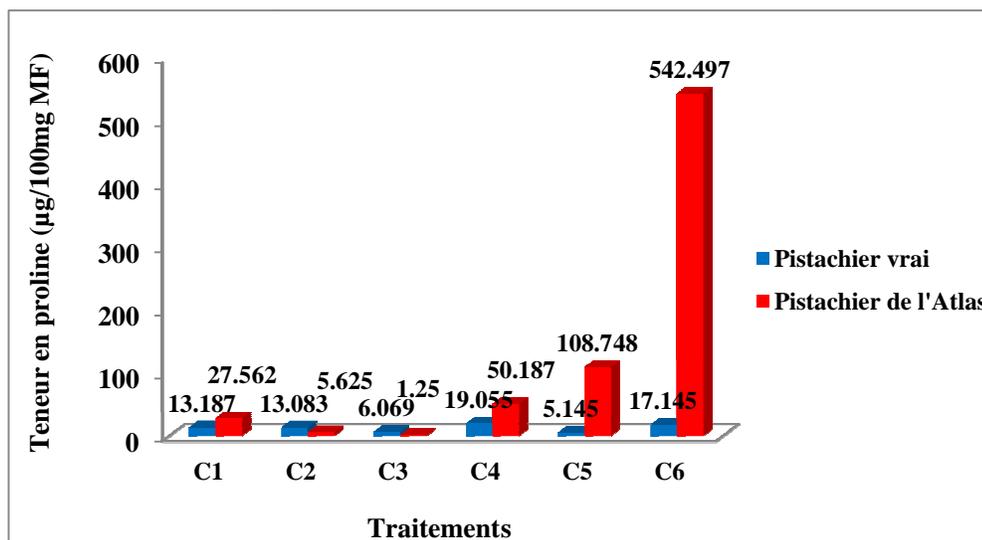


Figure 3.20 : Variation des moyennes de la teneur en proline dans les racines en fonction de l'interaction des deux facteurs

Discussion

L'augmentation de la concentration des acides aminés, en particulier la proline a été observée chez plusieurs espèces de plantes soumises à un stress salin [160]. ASHRAF et FOOLAD [161] notent qu'il y a une forte corrélation entre la tolérance à la salinité et l'accumulation de proline des plantes soumises à un stress salin. Cependant, cette règle n'est pas applicable pour toutes les espèces.

LONE et *al.* [162], notent que l'application exogène de la proline en condition saline induit une diminution de l'accumulation de Na^+ et Cl^- au niveau de la tige, et une amélioration dans la croissance des plantes chez l'orge.

AHMED et *al.* [163] mentionnent que chez *Agrostis stolonifera* l'écotype tolérant accumule plus de proline en réponse à la salinité que l'écotype sensible. Alors que le comportement du riz à l'accumulation de proline est contradictoire par une forte concentration en proline des feuilles des cultivars sensibles à celui des cultivars résistants [164]. Cette augmentation induit le maintien d'une pression osmotique interne élevée [165].

En effet, la proline semble jouer un rôle important dans la réponse des plantes à la salinité. La proline peut intervenir en régulant par l'augmentation de sa concentration la pression osmotique interne, mais aussi en inhibant les mécanismes d'auxésis ; elle constitue un stock d'azote utilisable par la plante à la période de stress [166]. Le rôle de l'accumulation de la proline reste encore mal connu : s'agit-il d'un simple symptôme de souffrance [167] ou d'un véritable mécanisme de tolérance ? [168].

Tableau 3.2 : Valeurs moyennes et écarts types des paramètres physiologiques

Les facteurs		Les paramètres				
F1 E	F2 NaCl (g/l)	Teneur en				
		chlorophylle	sucres solubles		Proline	
			feuilles	racines	feuilles	racines
E1	C1	14.13±7.7 ^c	14.0±13.0 ^a	10.4±0.6 ⁱ	20.8±0.0 ^f	13.1± 7.6 ^{ef}
	C2	11.3±3.3 ^{cd}	12.3±1.6 ^{bc}	25.3±0.8 ^g	81.6±2.7 ^d	13.0± 7.54 ^{ef}
	C3	3.1±0.1 ^e	0±0 ^c	27.4±0.9 ^f	0±0 ^g	6.0± 5.7 ^{fg}
	C4	21.5±3.2 ^b	11.7±6.0 ^{bc}	33.5±0.7 ^d	20.0±0.4 ^f	19.0± 1.5 ^e
	C5	0.8±0.2 ^e	0±0 ^c	0±0 ^j	0±0 ^g	5.1± 3.7 ^{fg}
	C6	28.±0.7 ^a	0±0 ^c	40.2±0.7 ^b	0±0 ^g	17.1± 3.0 ^e
E2	C1	8.0±1.8 ^{de}	27.2±4.3 ^a	22.1±0.1 ^h	20.3±0.6 ^f	27.5± 0.1 ^d
	C2	3.7±2.9 ^e	17.7±8.8 ^{ab}	22.7±0.4 ^h	2.4±1.8 ^g	5.6± 0.6 ^{fg}
	C3	2.9±1.2 ^e	24.6±15.6 ^{ab}	29.2±0.6 ^e	594.3±1.8 ^a	1.2± 0.6 ^g
	C4	2.5±1.0 ^e	18.1±6.9 ^{ab}	30.0±1.0 ^e	42.1±2.8 ^e	50.1± 0.0 ^c
	C5	2.7±0.6 ^e	15.8±1.0 ^{ab}	37.9±0.5 ^c	243.9±2.0 ^b	108.7±0.9 ^b
	C6	2.2±1.0 ^e	16.2±9.0 ^{bc}	42.8±1.3 ^a	124.37±1.2 ^c	542.4±0.6 ^a

E1: Pistachier vrai; E2: Pistachier de l'Atlas; C1: Concentration 0 g/l de NaCl; C2: Concentration 11.7 g/l de NaCl ; C3: Concentration 17.55 g/l de NaCl; C4: Concentration 23.4 g/l de NaCl; C5: Concentration 29.25 g/l de NaCl; C6: Concentration 35.1 g/l de NaCl.

CONCLUSION

Au terme de notre travail qui a visé l'étude de la tolérance de deux espèces de pistachier : pistachier vrai (*Pistacia vera* L.) et pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf.) à la salinité en appliquant différentes concentrations de NaCl, dans le but de déterminer l'effet du stress salin sur la structure des chromosomes, le taux de germination des graines et sur les caractères morpho-physiologiques afin de sélectionner des plants tolérants à la salinité; il ressort que ces deux espèces répondent différemment aux différentes concentrations appliquées. Nous avons relevé à cet effet :

- Pour la partie cytogénétique, nous n'avons pas pu déterminer l'effet du stress salin sur la structure des chromosomes car il est difficile de dénombrer les plaques métaphasiques sur les pointes racinaires observées.

- Pour la germination des graines des deux espèces de pistachier : pistachier vrai (*Pistacia vera* L.) et pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf.) sous l'effet de la salinité, nous avons obtenu des taux de germination élevés chez les graines non contraintes (témoin), ces taux diminuent pour les traitements : T2 (11.7g/l) et T3 (17.55g/l), et il sont beaucoup plus faibles chez les traitements les plus sévères T4 (23.4g/l), T5 (29.25g/l) et T6 (35.1g/l).

- Pour l'ensemble des résultats concernant les paramètres morphologiques et physiologiques, l'effet de niveau du stress salin a été significatif pour toutes les variables analysées.

- Nos essais ont révélé une accumulation plus importante en proline chez les plantules traitées par le NaCl que le témoin. De même, pour les sucres solubles les taux les plus élevés ont été enregistrés chez les plantules stressées. Cette accumulation de ces substances organiques n'est qu'une réaction d'adaptation à la salinité.

A la fin, il serait intéressant pour l'avenir :

- d'étudier l'effet du stress salin sur les différents stades de développement de la plante.

- De compléter ces résultats obtenus par des études au niveau moléculaire afin de préciser le ou les gènes responsables de cette tolérance et pourquoi pas de les transférer chez les cultures sensibles à la salinité par le biais de génie génétique.

APPENDICE A

TABLEAUX D'ANALYSE DE LA VARIANCE

Tableau 1: Analyse de variance du taux de germination final

Source de variation	S.C.E	DDL	C.M.	Test F	Prob.	E.T.	C.V.
Variance totale	33612	35	960.343				
Variance facteur 1	21.773	1	21.773	0.286	0.603		
Variance facteur 2	29902.66	5	5980.533	78.691	0		
Variance inter F1*2	1863.559	5	372.712	4.904	0.003		
Variance résiduelle 1	1824	24	76			8.718	24.91%

Tableau 2: Analyse de variance de la longueur de tige

Source de variation	S.C.E	DDL	C.M.	Test F	Prob.	E.T.	C.V.
Variance totale	312.029	35	8.915				
Variance facteur 1	108.854	1	108.854	362.848	0		
Variance facteur 2	130.779	5	26.156	87.186	0		
Variance inter F1*2	65.196	5	13.039	43.464	0		
Variance résiduelle 1	7.2	24	0.3			0.548	8.63%

Tableau 3: Analyse de variance de la longueur de racine

Source de variation	S.C.E	DDL	C.M.	Test F	Prob.	E.T.	C.V.
Variance totale	851.828	35	24.338				
Variance facteur 1	406.023	1	406.023	722.89	0		
Variance facteur 2	213.023	5	42.604	75.854	0		
Variance inter F1*2	219.303	5	43.861	78.09	0		
Variance résiduelle 1	13.48	24	0.562			0.749	9.76%

Tableau 4: Analyse de variance du nombre de feuilles

Source de variation	S.C.E	DDL	C.M.	Test F	Prob.	E.T.	C.V.
Variance totale	604.222	35	17.263				
Variance facteur 1	152.111	1	152.111	176.645	0		
Variance facteur 2	348.889	5	69.778	81.032	0		
Variance inter F1*2	82.556	5	16.511	19.174	0		
Variance résiduelle 1	20.667	24	0.861			0.928	13.69%

Tableau 5: Analyse de variance de la teneur en chlorophylle

Source de variation	S.C.E	DDL	C.M.	Test F	Prob.	E.T.	C.V.
Variance totale	2810.696	35	80.306				
Variance facteur 1	827.521	1	827.521	101.72	0		
Variance facteur 2	869.235	5	173.847	21.37	0		
Variance inter F1*2	918.693	5	183.739	22.585	0		
Variance résiduelle 1	195.247	24	8.135			2.852	33.60%

Tableau 6: Analyse de variance de la teneur en sucres solubles dans les feuilles

Source de variation	S.C.E	DDL	C.M.	Test F	Prob.	E.T.	C.V.
Variance totale	3698.389	35	105.668				
Variance facteur 1	1018.663	1	1018.663	48.515	0		
Variance facteur 2	1880.945	5	376.189	17.916	0		
Variance inter F1*2	294.856	5	58.971	2.809	0.0388		
Variance résiduelle 1	503.925	24	20.997			4.582	34.46%

Tableau 7: Analyse de variance de la teneur en sucres solubles dans les racines

Source de variation	S.C.E	DDL	C.M.	Test F	Prob.	E.T.	C.V.
Variance totale	4967.065	35	141.916				
Variance facteur 1	577.503	1	577.503	1020.581	0		
Variance facteur 2	2546.47	5	509.294	900.04	0		
Variance inter F1*2	1829.511	5	365.902	646.634	0		
Variance résiduelle 1	13.581	24	0.566			0.752	2.80%

Tableau 8: Analyse de variance de la teneur en proline dans les feuilles

Source de variation	S.C.E	DDL	C.M.	Test F	Prob.	E.T.	C.V.
Variance totale	983185.4	35	28091.01				
Variance facteur 1	204821.2	1	204821.2	85863.9	0		
Variance facteur 2	330598.3	5	66119.66	27718.29	0		
Variance inter F1*2	447708.7	5	89541.73	37537.14	0		
Variance résiduelle 1	57.25	24	2.385			1.544	1.61%

Tableau 9: Analyse de variance de la teneur en proline dans les racines

Source de variation	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	Prob.	E.T.	C.V.
Variance totale	768024.6	35	21943.56				
Variance facteur 1	109622.1	1	109622.1	7487.526	0		
Variance facteur 2	335699.8	5	67139.95	4585.867	0		
Variance inter F1*2	322351.4	5	64470.29	4403.521	0		
Variance résiduelle 1	351.375	24	14.641			3.826	5.67%

APPENDICE B**LISTES DES SYMBOLES ET DES ABREVIATIONS**

AG3 : Acide Gibbérellique

ADN : Acide Désoxyribonucléique

ARNm : Acide ribonucléique messenger

CCI : Chlorophyll Concentration Index (Index de teneur en chlorophylle)

EOR : Espèces oxygénées radicalaires

E1 : *Pistacia vera* L.

E2 : *Pistacia atlantica* Desf.

F1 : Facteur 1 (espèce)

F2 : Facteur 2 (concentration saline)

g/l : Gramme par litre

MF : Matière fraîche

M : Million

N : Normalité

pH : Potentiel Hydrogène

ProDH : Proline déshydrogénase

T₁ : *Pistacia vera* L. Concentration 0 g/l de NaCl

T₂ : *Pistacia vera* L. Concentration 11.7 g/l de NaCl

T₃ : *Pistacia vera* L. Concentration 17.55 g/l de NaCl

T₄ : *Pistacia vera* L. Concentration 23.4 g/l de NaCl

T₅: *Pistacia vera* L. Concentration 29.25 g/l de NaCl

T₆: *Pistacia vera* L. Concentration 35.1 g/l de NaCl

T₁`: *Pistacia atlantica* Desf. Concentration 0 g/l de NaCl

T₂`: *Pistacia atlantica* Desf. Concentration 11.7 g/l de NaCl

T₃`: *Pistacia atlantica* Desf. Concentration 17.55 g/l de NaCl

T₄`: *Pistacia atlantica* Desf. Concentration 23.4 g/l de NaCl

T₅`: *Pistacia atlantica* Desf. Concentration 29.25 g/l de NaCl

T₆`: *Pistacia atlantica* Desf. Concentration 35.1 g/l de NaCl

µg : Microgramme

UF : Unité fourragère

° C : Degré Celsius

% : Pour cent

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. IPTRID (Programme International pour la Technologie et la Recherche en Irrigation et Drainage) : Conférence électronique sur la salinisation: Extension de la salinisation et stratégies de prévention et réhabilitation, (Du 6 Février au 6 Mars 2006).
2. Mermoud, A., "Cours de physique du sol: Maîtrise de la salinité des sols", Ecole polytechnique fédérale de Lausanne, (2006), 23 p.
3. Beldjoudi, Z. et Daoud, Y., "Conséquence de la salinité sur l'antagonisme Na^+/K^+ chez six cultivars de blé dur", 11-12-1 Février G.B.B.V. -D.S.N.V. -I.T.G.C., Univ. Mentouri, Constantine, (2002), 98-99.
4. Zid, E. et Grignon, C., "Les tests de sélection précoce pour la résistance des plantes aux stress. Cas des stress salin et hydrique. L'amélioration des plantes pour l'adaptation aux milieux arides", Ed. Aupelf-Uref. John Libbey. Eurotext, Paris, (1991), 91-108.
5. Monjauze, A., "Connaissance du bétoum (*Pistacia atlantica* Desf.) ", Biologie et Forêt. *Rev. For. Fr.*, XXXII, 4 (1980), 357-363.
6. Joley, L.E., "Pistachios". Dans : *Nut Tree Culture in North America*, Jaynes R. A. (éd), The North American Nut Growers Association, Hamden, CT, (1979), 163-174.
7. Whitehouse, W.E., "The pistachio nut, a new crop for the Western United States", *Econ. Bot.*, (1957), 281-321.
8. Kaska, N; Caglar, S et Kafkas, S., "Genetic diversity and germplasm conservation of *Pistacia* species in Turkey". in Padulosi S.; Caruso T. et Barone S. «Taxonomy, Distribution, Conservation and Uses of *Pistacia* Genetic Resources». Ed. IPGRI Workshop, Palermo, Italy, 2 (1996), 46-50.

9. Khalif, T., "Recherche sur la culture du pistachier", Thèse de doctorat, Université de Gembloux, (1959), 150p.
10. Seigne, A., "La forêt circumméditerranéenne et ses problèmes: Techniques Agricoles et Productions Méditerranéennes", Ed. G.P. Maisonneuve et Larousse, Paris, (1985), 137-141.
11. Monjauze, A., "Le pays des dayas et *Pistacia atlantica* Desf. dans le Sahara algérien", *Biologie et Forêt. Rev. For. Fr.*, XXXIV, 4 (1982), 277-291.
12. Baba Aissa, F., "Encyclopédie des plantes utiles: Flore d'Algérie et du Maghreb", Ed. EDAS, (2000), 217p.
13. Belhadj, S., "Les pistacheraies algériennes : Etat actuel et dégradation", *Cahier Option Méditerranéenne*, 56 (2001), 107-109.
14. Emberger, L., "Les végétaux vasculaires", T. II, Fasc. I *in* Chadefaud et Emberger L. *Traite de botanique et systématique*. Ed. Masson et C^{ie}, (1960) 262p.
15. Sahli, F., "Note sur deux espèces sahariennes le cyprès du Tassili et le pistachier de l'Atlas", journées d'étude sur les zones arides et sahariennes. Wilaya de Ghardaïa. Publication de l'Institut National de Recherche Forestière (INRF), (du 08 au 10 Avril 1997), 34-39.
16. Morsli, A., "Analyse de la floraison et de la structure sexuelle d'un peuplement de *Pistacia atlantica* Desf. dans une daya de la région de Messaad", Mémoire d'ing., Inst. nati. agro., El-Harrach, (1992), 57p.
17. Yaaqobi, A; El Hafid, L. et Haloui, B., "Etude Biologique de *Pistacia atlantica* Desf. de la région orientale du Maroc", Université Mohamed I, Oujda (Maroc). V. 3, n° 6, (2005), 39-49.
18. Ozenda, P., "Flore du Sahara", Ed. CNRS, Paris, (1977), 622p.
19. Khichane, M., "Etude de la morphogenèse et des rythmes de croissance de système racinaire du jojoba (*Simmondsia chinensis* Link.) et de pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf.): Essai de production de plants en pépinière", Mémoire d'ing., Inst. nati. agro., El-Harrach, (1988), 68p.

20. Boxus, PH., "Multiplication végétative, micropropagation et embryogenèse somatique (Biotechnologie végétale)", Ed. Belgique, (1995), 191p.
21. Bonne, T.; Masimbert, M. et Villar, M., "La maîtrise de la reproduction sexuée", *Rev. For. Fr.*, XXXVIII, (1986), 49-58.
22. Khelil, A. et Khellal, A., "Possibilité de culture et délimitation des zones à vocation Pistachier en Algérie", pp: 177-185. Institut de recherche sur les Fruits et Agrumes. Ed. FRUIAS, V. 35, n° 3, (1980), 137-202.
23. Muller, C., "Le point sur la conservation des semences forestières et la levée de dormance", *Rev. For. Fr.*, V. 38, n° 3, (1986), 202-204.
24. Muller, C., "Conservation des graines et les problèmes de levée de dormance chez les feuilles précieux", N°= spécial "les feuilles précieux: Frêne-Merisier et Grand Erable". *Rev. For. Fr.*, 44 sp, (1992), 39-46.
25. Suska, B., "Physiological aspect of seed conservation", *Ann. Sci. For.*, (1989), 72-84.
26. Mazliak, P., "Physiologie végétale, croissance et développement", T. 2, (1982).
27. Monjauze, A., "Répartition et écologie de *Pistacia atlantica* Desf. en Algérie", *Bull. Soc. His. Nat. de l'Afrique du Nord*, T. 56-2, (1968), 128p.
28. Chaussat, R. et Bigot, C., "La multiplication végétative des plantes", Ed. Gauthier et Villars, Paris, (1980), 277p.
29. Gaspar, T., New growth regulators in tissue culture. Proceedings of the BPTCG autumn symposium: "New hormones in the control of plant cell, tissue and organ culture". Ulg. (November 18th 1994).
30. Brousse, G., "Etude bibliographique sur la nature du pistachier", Polygraphie, Inst. nati. agro., El-Harrach, (1974), 40p.
31. Ait Radi, A., "Multiplication par voie végétative et par semis de *Pistacia atlantica* Desf. et *Ailanthus altissima*", Mémoire d'ing., Inst. nati. agro., El-Harrach, (1979), 40p.

- 32.** Aleta, N., Ninot, A., Rouskas, D., Zakinthinos, G., Avanzato, D. et Mendes Gaspar, A., "La multiplication du Pistachier". *Revue Option méditerranéenne*, (1997), 121-132.
- 33.** Martin, C., "La multiplication végétative *in vitro*: une technique de pointe au service de l'agriculture", C.R. Acad. Agr. Fr., 66 (1981), 629- 637.
- 34.** Liard, O., "Un atout pour l'amélioration forestière; La reproduction asexuée ou végétative", Bull. Soc. Roy. For., 91, Belgique, 5 (1984), 191- 203.
- 35.** Margara, J., "Bases de la multiplication végétative (Les méristèmes et l'organogenèse) ", Ed. INRA, Paris, (1989), 230p.
- 36.** Woodroof, J.G., "The nuts, Production processing products", The AVI. Publishing Comp . Inc. Westport Connecticut., 2nd Ed., V. 3, (1979), 261-287.
- 37.** Maggs, D.H., "Genetic resources in pistachio". Plant Genetics Resources Newsletter, 29 (1973), 7-15.
- 38.** Spina, P. et Pennisi F., "La culture du pistachier en Sicile", *Rev. Ortofloro-fructticult.*, Italie, (1957), 533-557.
- 39.** Evreinoff, A.V., "Note sur le pistachier", Pomologie Française, V. 1, (1964), 115-123.
- 40.** Benhssaini, H et Belkhodja M., "Le pistachier de l'Atlas en Algérie entre la survie et disparition: La feuille et l'aiguille", 54 (2004), 1-2.
- 41.** Boudy, P., "Economie forestière Nord-Africaine: monographies et traitements des essences forestières", Ed. Larose, Paris-27, T. 2, (1950), 417-419.
- 42.** Aoudjit, H et Mouissa, H., "Contribution à l'étude de la propagation végétative du pistachier de l'Atlas", Mémoire d'ing., Inst. nati. agro., El-Harrach, (1997), 61p.

- 43.** Monastra, F., Rovira, M., Vargas, F.J., Romero, M.A., Batlle, I., Roukas, D. et Mendes Gaspar, A., "Caractérisation isoenzymatique de diverses espèces du genre *Pistacia* et leurs hybrides: Etude de leur comportement comme porte-greffe du pistachier *Pistacia vera* L. ", Ed. CIHEAM-Options Méditerranéennes, Série B: Etudes et recherches, n° 16, (1997), 133-142.
- 44.** Lemaistre, J., "Le pistachier, étude bibliographique". Institut Français de Recherche Fruitières Outre-Mer (I.F.A.C.). 30p.
- 45.** Benmahioul, B., Khelil, B., Kaïd-Harche, M. et Daguin, F., "Etude de la germination et de l'effet du substrat sur la croissance de jeunes semis de *Pistacia vera* L. ", Acta Botanica Malacitana, Málaga, 35 (2010), 107-114.
- 46.** Barone, E., Caruso, T. et Di Marco, L., "Pistachio in Sicilia: superfici coltivate aspetti agronomici. *L'Informatore Agrario*, 41 (40), (1985), 35-42.
- 47.** Mendes Gaspar, M., Fernandes, M., Pena Monteiro, A. et Guedes Da Silva, A., "Introdução da cultura da pistaceira em Portugal. Dans : Amélioration génétique de deux espèces de fruits secs méditerranéens : l'amandier et le pistachier", Huitième Colloque, Nimes, France, 1990, Grasselly C. (éd.), *Rapport EUR 14081*, (1992), 299-304.
- 48.** Vargas, F.J. et Romero, M.A., "El pistachero: Una alternativa interesante". *Fruticultura Profesional*, 54 (1993), 101-108.
- 49.** ITAF: Institut technique de l'arboriculture fruitière et de la vigne, ferme de démonstration Tighennif.
- 50.** Kebour D., "Variabilité génétique du pistachier vrai *Pistacia vera* L. en Algérie", Thèse de doctorat, Université saad dahlab de blida, (juin 2012), 113p.
- 51.** INRAA : Institut national de la recherche agronomique d'Algérie, Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture Deuxième rapport national sur l'état des ressources phytogénétiques, (juin 2006).
- 52.** Chebouti, Y., "Note technique sur la culture du pistachier fruitier". *Rev. La forêt Algérienne*, n° 4, (2002), 32-36.

- 53.** Chatibi, A., Kchouk, M.L., Mliki, A. et Ghorbel, A., "Microgreffage du pistachier (*Pistacia vera* L.) cv. Mateur", (1998), 121-138, cité dans *Cahiers options méditerranéennes. Xème colloque du Grempe sur le pistachier et l'amandier*, Zaragoza, V. 33, (14 – 17 octobre 1996), 237 p.
- 54.** Charreau, C.I. et Fauck, R., "Les sols du Sénégal", ORSTOM fond documentaire, (1965), 105p.
- 55.** Calvet, R., "Le sol, propriétés et fonctions. Phénomènes physiques et chimiques, Applications agronomiques et environnementales". Tome 2. Ed. France agricole, (2003), 287-291.
- 56.** Benchallal, A, Oukil, A. et Belhadi Aissa, A., "Identification et détection, par imagerie satellitaire, de la dégradation des sols par la salinité dans la cuvette d'Ouargla. Sud de l'Algérie". Université des sciences et de la technologie Houari Boumediene, BP. 32, El Alia, Bab Ezzouar, 1611, Alger, Algérie, (2009), 1.
- 57.** Marlet, S. et Job, J.O., "Processus et gestion de la salinité des sols". In : Tiercelin J.R., *Traité d'irrigation*, seconde édition. Tec & Doc Lavoisier, (2006), 2.
- 58.** Paillet, P. et Lazure, P., "Modification du régime de salinité / SRM MMN", Ifremer/DYNECO, Agence des aires marines protégées, Brest, (2011), 6.
- 59.** FAO; Conférence électronique sur la salinisation : Extension de la salinisation et Stratégies de prévention et réhabilitation éd IPTRID, (2006), 4.
- 60.** Citeau, L., Bispo, A., Bardy, et King, D., "Gestion durable des sols". Edit. Quae, (2008), 336p.
- 61.** Duchaufour, Ph., "Pédologie : pédogénèse et classification". Ed. Masson, (1983), 468-481.
- 62.** Robert, M., "Le sol interface dans l'environnement ressource pour le développement", Ed. Msson, Paris, (1996), 96-101.
- 63.** Stengel, P. et Gelin, S., "Sol interface fragile". Ed. INRA, Paris, (1998), 109-127.

- 64.** Donahue, L., "Nature des sols et croissance végétale". Ed. Intercontinental Inc. New York, (1958), 281-286.
- 65.** Chaussod, R., Nicolardo, B. et Gatroux, G., "Mesure en routine de la biomasse microbienne des sols par la méthode de fumigation au chloroforme". *Sci. Soil.* 2 (1986), 201-211.
- 66.** Dommergue, Y., "Contribution à l'étude de la dynamique de simulation application aux sols salés du Tchad", *Sci. Soil*, 46 (1962), 177p.
- 67.** Mallouhi, N. et Jacquin, F., "Influence des ions sodium sur les mécanismes d'humification". *Sci. Soil*, 26 (1986), 215-222.
- 68.** Shakespeare, W., "La physiologie des plantes soumises aux stress", In: *Physiologie végétale*, Ed. De Boeck et Larcier, Bruxelles, (2003), 451- 475.
- 69.** Mazoyer, M., "Larousse Agricole", Ed. Larousse/UUEF, Québec, (2002), 767p.
- 70.** Djekoun, A., Benderradji, L., Bouzerzour, H., Kelloul, N., Ykhlef, K., Brini, F. et Masmoudi, K., "Etude des mécanismes de tolérance a la salinité chez deux variétés de blé tendre (*triticum aestivum* L.) soumises à un stress salin". *Sciences & technologie c – n° 32*, (2010), 23-30.
- 71.** Carillo, P., Annunziata, M.G., Pontecorvo, G., Fuggi, A. et Woodrow, P., "Salinity Stress and Salt Tolerance". University of Naples, Department of Life Science Italy, (2011), 22-38.
- 72.** Masmoudi, "Effet de la salinité des eaux et la fréquence d'irrigation sur le sol et le végétal", Département d'agronomie université de Biskra B.P. 145 Algérie, pp 62. measuring the effect of water stress on proline oxydation. *Planf Physiol*: 61 : 654-7. Mentouri Constantine, (2011), 141p.
- 73.** El-Ikhlil, Y., Karrou, M., Mrabet, R., et Benichou, M., "Effet du stress salin sur la variation de certains metabolites chez *Lycopersicon esculentum* et *Lycopersicon sheesmanii*", Centre Aridoculture, INRA, Université Cadi Ayyad, Marrakech, Maroc *Entomologiste* 84 (4), (Décembre 2001), 474-483. *Environnement*, V. 11, n° 3, (2001), 235- 244.

- 74.** Rahmoune, C., Seridi, R., Paul, R. et Drez, P., "Influence on Zn concentration in solution Applied to leaves and Roots on the absorption and translocation of Cd by leave". *Agricultural Sciences*. V. 27, n° 1, (2000), 72-77.
- 75.** Slama, F. "*Effet du nitrate d'ammonium sur le degré de tolérance à une forte dose de NaCl de dix variétés de blé. Colloque sur les végétaux en milieu aride*", Jerba, Tunisie, (8-10 septembre 1986). Tunis : Agence de coopération culturelle et technique, (1986), 460-473.
- 76.** Rasanen, L.A., "Biotic and abiotic factors influencing the development of N₂-fixing symbioses between rhizobia and the woody legumes Acacia and Prosopis". Academic dissertation in microbiology. Helsinki. Thesis. (2002), 80p.
- 77.** Reynolds, M.P., Ortiz-Monasterio, J.I. et McNab, A., "Application of Physiology in Wheat Breeding". Mexico, D.F.: CIMMYT, (2001), 101-111.
- 78.** Alem, C. et Amri, A., "Importance de la stabilité des membranes cellulaires dans la tolérance à la salinité chez l'orge". *Reviews in Biology and Biotechnology*, V. 4, (2005).
- 79.** Baba Sidi-Kaci, S., "Effet du stress salin sur quelques paramètres phénologiques (biométrie, anatomie) et nutritionnels de l'Atriplex en vue d'une valorisation agronomique", Mémoire magister : agronomie saharienne, Option : Gestion des agrosystèmes sahariens, Algérie, (2010), 133 p.
- 80.** Bouzid, S., "Etude de l'effet de la salinité et de la présence du molybdène sur le comportement écophysologique de deux variétés de plantes de l'espèce *Phaseolus vulgaris* L.", Mémoire magistère, Univ. Mentouri Constantine, (2010), 124p.
- 81.** El Hendawy, S.E.S., "Salinity tolerance in Egyptian Spring Wheat", Thèse de Doctorat du ray-grass anglais du chiendent. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* V.11, n° 3, (2004), 235-244
- 82.** Kozlowski, T.T. and Pallardy, S.G., "Physiology of woody plants". 2nd Edn. Academic Press, San Diego, (1997).

- 83.** Rains, D.W., "Salt transport by plants in relation to salinity". *Annu. Rev. Plant Physiol.*, 23 (1972), 367-388.
- 84.** Wang, Y. and Nil, N., "Changes in chlorophyll, ribulose biphosphate carboxylase-oxygenase, glycine betaine content, photosynthesis and transpiration in *Amaranthus tricolor* leaves during salt stress". *J. Hortic. Sci. Biotechnol.*, 75 (2000), 623-627.
- 85.** Chartzoulakis, K. and Klapaki, G., "Response of two greenhouse pepper hybrids to NaCl salinity during different growth stages". *Scientia Horticulturae*, 86 (2000), 247-260.
- 86.** Mohammad, M., Shibli, R., Ajouni, M. and Nimri, L., "Tomato root and shoot responses to salt stress under different levels of phosphorus nutrition", *J. Plant Nutr.*, 21 (1998), 1667–1680.
- 87.** Bouaouina, S., Zid, E. et Hajji, M., "Tolérance à la salinité, transports ioniques et fluorescence chlorophyllienne chez le blé dur (*Triticum turgidum* L.) ". In: Royo, C., Nachit, M.M., Di Fonzo, N. et Araus, J.L., éd. *L'amélioration du blé dur dans la région méditerranéenne : nouveaux défis*. Zaragoza : CIHEAM-IAMZ, (2000), 239-243.
- 88.** Arbaoui, M., Benkhalif, M. et Belkhodja, M., "Réponses physiologiques de quelques variétés de blé dur à la salinité au stade juvénile". CIHEAM – Options Méditerranéennes, (1999), 167-178.
- 89.** Calu, G., "Effet du stress salin sur les plantes. Comparaison entre deux plantes modèles : *Arabidopsis thaliana* et *Thellungiella halophila*". Master1, Recherche biotechnologie : du gène à la molécule SpectroSciences, article 23. (2006), 10 p.
- 90.** Bouchoukh, I., "Comportement écophysio-logique de deux Chénopodiacées des genres *Atriplex* et *Spinacia* soumises au stress salin". Mémoire magistère. Univ. Mentouri – Constantine, (2010), 112p.
- 91.** Maillard, J., "Le point sur l'Irrigation et la salinité des sols en zone aride : Risques et Recommandations". Handicap International, (Novembre 2001), 35p.

- 92.** Levigneron, A., Lopez, F., Vaswy, G., Berthomieu, P., Foureroy, P. et Cassdelbart, F., "Les plantes face au stress salin". Cahier d'agriculture. 4. (1995), 263-273.
- 93.** Haouala, F., Ferjani, H. et Ben El-Hadj, S., "Effet de la salinité sur la répartition des cations (Na^+ , K^+ et Ca^{++}) et du chlore (Cl^-) dans les parties aériennes et les racines du ray-grass anglais et du chiendent". Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement, V. 11, n° 3, (2007), 235- 244.
- 94.** Berthomieu, P., Conéjéro, G., Nublat, A., Brackenbury, W.J., Lambert, C., Savio, C., Uozumi, N., Oiki, S., Yamada, K., Cellier, F., Gosti, F. Simonneau, T., Essah, P.A., Tester, M., Very, A-A., Sentenac, H. et Casse, F., "Functional analysis of AtHKT1 in Arabidopsis shows that Na^+ recirculation by the phloem is crucial for salt tolerance". Embo Journal, 22 (2003), 2004-2014.
- 95.** Raache, I. et Karboussa-Haloua, R., "Caractérisation morphologique et anatomique de quelques espèces halophiles dans la cuvette de Ouargla". Mémoire Ingénieur, Université de Ouargla, (2004), 67p.
- 96.** Poljakoff-Mayber, A., "Morphological and anatomical changes as a 17. Springer", Berlin. Analysis and Synthesis (POLJAKOFF-MAYBER, A. et GALE, J., Eds). Vol. 15: 97-I polytechnique fédérale de Lausanne, (1975), 23 p.
- 97.** Niu, X., Ressian, R.A., Hasegawa, P.M. et Pardo, J.M., "Ion homeostasis in NaCl stress environments". Plant Physiology. 109 (3): (1995), 735-742.
- 98.** Chaffei, C., Pageau, K., Suzuki, A., Gouia, H., Ghorbel, M.H. et Masclaux-Daubresse, C., "Cadmium toxicity induced changes in nitrogen management in *Lycopersicon esculentum* leading to a metabolic safeguard through an amino acid storage strategy". Plant Cell Physiol, (2004), 1681–1693
- 99.** Bell, D.T., "Australian trees for the rehabilitation of waterlogged and salinity-damaged landscapes". Aust. J. Bot. 47 (1999), 697-716.
- 100.** Hasegawa, P.M., Bressan, R.A., Zhu, J.K. et Bohnert, H.J., "Plant cellular and molecular responses to high salinity", Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 51 (2000), 463-499.

- 101.** El Midaoui, M., Benbella, M., Ait Houssa, A., Ibriz, M. et Talouizte, A., "Contribution à l'étude de quelques mécanismes d'adaptation à la salinité chez le tournesol cultivé (*Helianthus annuus* L.)", *Revue HTE* n° 136, (mars 2007), 29-34.
- 102.** Hassani, A., Dellal, A., Belkhodja, M. et Kaid- Harche, M., "Effet de la salinité sur l'eau et certains osmolytes chez l'orge (*Hordeum Vulgare* L.)", *European Journal of Scientific Research*, V. 23, n° 1, (2008), 61-69.
- 103.** Zhang, J., Nguyen, H.T. et Blumo, A., "Genetic analysis of osmotic adjustment in crop plant". *Journal of exp. Bot.*, 50, (1999), 322 p.
- 104.** Belkhodja, M. et Ouis, M., "Réponse protéique d'une halophyte face aux stress salin", *Laboratoire de physiologie végétale, faculté des Sciences Université d'Oran-Algérie, Algerian journal of arid environment*. Vol.2, n°1, (Juin 2012), 16-24.
- 105.** Belkhodja, M. et Benkabilia, M., "Proline response of faba bean (*Vicia faba* L.) under salt stress", *Egypt. Agric. Res.* 78 (1), (2000), 185-195.
- 106.** Belkhodja, M. et Bidai, Y., "Analyse de la proline pour l'étude de la résistance d'une halophyte *Atriplex halimus* L. à la salinité". *Laboratoire de Physiologie Végétale, Faculté des Sciences, Université d'Oran - Algérie*, (2007), 8p.
- 107.** Messedi, D., Slama, I., Laabidi, N., Ghnaya, T., Savoure, A., Soltani, and Abdelly, C., "Effect of nitrogen deficiency, salinity and drought on proline metabolism in *Sesuvium portulacastrum*" in : *Biosaline Agriculture and Salinity Tolerance in Plants*, Ozlturk M., Waisel Y, Khan M.A. and Gork G., (2006) 65-72.
- 108.** Tahri, E.H., Belabed, A.M. et Sadki, K., "Effet d'un stress osmotique sur l'accumulation de proline, de chlorophylle et des ARNm codant pour la glutamine synthétase chez trois variétés de blé dur (*Triticum durum*)", *Université Mohamed Premier. Maroc. Bulletin de l'Institut Scientifique, Rabat*, 1997-1998, n° 21, (1998), 81-87.
- 109.** Hadjadj, S., "Contribution à l'étude de l'effet de la salinité sur des marqueurs biochimiques (proline et sucres solubles) de plantes juvéniles d'*Atriplex halimus* L. et d'*Atriplex canescens* (Pursh) Nutt". *Mémoire de Magister en Biochimie et analyse des bioproduits, Univer Kasdi Merbah Ouargla*, (2009), 100p.

- 110.** Asloum, H., "Elaboration d'un système de production maraîchère (Tomate : *Lycopersicum esculentum* L.) en culture hors sol pour les régions sahariennes. Utilisation de substrats sableux et d'eaux saumâtres", Thèse de doctorat, développement et amélioration des végétaux, Université de Nice Sophia Antipolis, (1990), 24-32.
- 111.** Jahier, J., "Techniques de cytogénétiques végétales". Ed. I.N.R.A., (1992), 183p.
- 112.** Muleris, M., Richard, F., Apiou, F. et Dutrillaux, B., "Hybridation in situ en cytogénétique moléculaire". Ed. Tech. Doc. Lavoisier, (1996), 180p.
- 113.** Lallouche, B., "Propagation *in vitro* et *ex vitro* de pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf.) en tant que porte-greffe, en vue d'un microgreffage avec le pistachier vrai (*Pistacia vera* L.)", Thèse Ing. agro, Univ. de Blida, (2003), 59p.
- 114.** Sayar, R., Bchini, H., Mosbahi, M. et Khemira, H., Czech, J. Genet. Plant Breed., 46 (2), (2010), 54-63.
- 115.** Côme, D., Les obstacles à la germination. Ed. Masson et Cie, Paris, (1987), 162p.
- 116.** Chaib, A., "Variabilité des populations naturelles de *Lathyrus sylvestris* L. d'université de Paris et des pays de l'Adour", Paris, (1990), 119p.
- 117.** Fasihi, O. et Ghaffari, M., "Chromosome studies on pistachio *Pistacia vera* L.) from Iran. Rev. Option ;Méditerranéenne : Amélioration d'espèces à fruit à coque noyer, amendier, pistachier", Serie B: etudes et recherches, n° 16, Ed. E. Germain, (2001).
- 118.** Ahmad, J. and Bano, M., "The effect of sodium chloride on the physiology of cotyledons and mobilization of reserve food in *Cicer arietinum*". Pak. J. Bot. 24 (1992), 40-48.
- 119.** Yupsanis, T., Moustakas, M., Domiandou, K., "Protein phosphorylation–dephosphorylation in alfalfa seeds germination under salt stress". Journal of Plant Physiology, 143 (1994), 234-240.

- 120.** Mondal, T.K., Bal, A.R. and Pal, S., "Effect of salinity on germination and seedling growth of different rice (*Oryza sativa* L.) cultivars", J. Indian Soc. Coast. Agric. Res., 6 (1988), 91–97.
- 121.** Dubey, R.S. and Rani, M., "Influence of NaCl salinity on the behaviour of protease, aminopeptidase and carboxyl-peptidase in rice seedlings in relation to salt tolerance". Australian Journal of Plant Physiology, 17 (1995), 215-224.
- 122.** Bliss, R.D., Platt-Aloria, K.A. and Thomson, W.W., "Osmotic sensitivity in relation to sensitivity in germination barley seeds". Plant Cell and Env., 9 (1986), 721-725.
- 123.** Yeo, A.R., "Salinity resistance: physiologies and prices". Physiologia Plantarum, 58 (1983), 214-222.
- 124.** Zhu, J-K., "Salt and drought stress signal transduction in plants". An. Rev. Of Plant Biol., 53 (2002), 247-73.
- 125.** Zhu, JK., "Plant salt tolerance". Trends in Plant Sci., 6(2), (February 2001), 66-71.
- 126.** Belferd, A., "Effet de stress salin sur la morphogenèse et la teneur en proline chez *Atriplex halimus*", Mémoire d'ing., I.N.E.S., Blida, (2000), 19-25.
- 127.** Mazliak, P., "Physiologie végétale, nutrition et métabolisme", Ed. Harman, paris, (1981), 349 p.
- 128.** Hamza, M., "Adaptations physiologiques à la salinité des plantes cultivées", Bull. Soc. Ecophysiolo., 7-2, (1982), 169-184.
- 129.** Xiong, L. and Zhu, J.K., "Salt tolerance, in: The Arabidopsis Book", American Society of Plant Biologists, (2002), 1-22.
- 130.** Chretien, D., "La résistance au sel chez *Jujuba simmondsia chinensis*, croissance et modification du contenu lipoprotéique de calcs cultivés en présence d'une teneur élevé en NaCl", Thèse Doctorat, université pierre et Marie Curie, Paris, 6 (1992), 116 p.

- 131.** Binet, P., "Halophilie et alimentation calcique chez Suaedia", Oéculture, V. 8, n° 2, (1987), 127-136.
- 132.** Zid, E. et Boukhris, M., "Quelques aspects de la tolérance d'Atriplex halimus L. au chlorure de sodium, multiplication, croissance, composition minérale", Tome 12, n° 4, (1977), 351-363.
- 133.** Zid, E., et Boukhris, M., "Etude du comportement physiologique de l'Atriplex halimus L. à l'égard du chlorure de sodium en vue de sa culture en milieu salé", F.A.O., (1976), 2-10.
- 134.** Khanzada, B., Ashraf, M.Y., Ala, S.A., Alam, S.M., Shirazi, M.U. and Ansari, S., "Water relations in different guar (*Cyanopsis tetragonoloba* L.Taub.) genotypes under water stress", Pakistan J.Bot., 33 (2001), 279-287.
- 135.** Creelman, R.A., Mason, H.S., Bensen, R.J., Boyer, J.S. and Mullet, J.E., "Water deficit and abscisic acid cause differential inhibition of shoot versus root growth in soybean seedlings". Plant Physiol., 92 (1990), 205-214.
- 136.** Troncoso, A., Matte, C., Cantos, M. and Lavee, S., "Evaluation of salt tolerance of in vitro-grown grapevine rootstock varieties", Vitis, 38 (1999), 55-60.
- 137.** Jan Kotuby, A., Koenig, R. and Kitchen, B., "Salinity and plant tolerance", Ed. American society of civil Engineer, New York, (1977), 1-3.
- 138.** Diep, H., "Influence des contraintes édaphiques sur la nutrition minérale, le développement et la production du cocotier (*Cocos nucifera* L.) dans les sols sulfatés acides salés ou non salés du delta du Mékong: effet améliorant d'un apport de phosphate naturel". Thèse de Doctorat de l'Université Paris XII Val de Marne, (1994), 443p.
- 139.** Munns, R., "Physiological processes limiting plant growth in saline soil : some dogmas and hypotheses". Plant Cell Environ. 16 (1993), 15-24.
- 140.** Satti, S.M.E., Lopez, M. and Fahd, A.A., "Salinity induced changes in vegetative and reproductive growth in tomato commun". Soil.Sci.Plant. Annal., 25 (1994), 501-510.

- 141.** Damianos, N. and Miltidis, V., "Effects of NaCl stress on red raspberry (*Rubus idaeus* L. 'Autumn Bliss') *Scientia Horticulturae*", 112 (2007), 282-289.
- 142.** Santos, V.C., "Regulation of chlorophyll biosynthesis and degradation by salt stress in sunflower leaves *Scientia Horticulturae*", 103 (2004), 93-99.
- 143.** Koyoro, H-W., "Effect of salinity on growth, photosynthesis, water relations and solute composition of the potential cash crop halophyte *Plantago coronopus* L. *Environmental and Experimental Botany*", 56 (2006), 136-146.
- 144.** Ball, M.C., Chow, W.S. and Anderson J.M., "Salinity-induced potassium deficiency causes loss of functional photosystem II in leaves of the grey mangrove, *Avicennia marina*, through depletion of atrazine-binding polypeptide", *Aust. J. Plant Physiol.*, 14 (1987), 351-361.
- 145.** Wang, L.W., Showalter, A.M. and Ungar, I.A., "Effect of salinity on growth, ion content, and cell wall in *Atriplex prostrata* (*Chenopodiaceae*)", *Am. J. Bot.*, 84 (1997), 47-1255.
- 146.** Bethke, P.C. and Drew, M.C., "Somatal and non-stomatal components to inhibition of photosynthesis in leaves of *Capsicum annum* during progressive exposure to NaCl salinity". *Plant Physiol.*, 99 (1992), 219-226.
- 147.** Hanafy, A.H., Gad-Mervat, M.A., Hassam, H.M. and Amin-Mona, A., "Improving growth and chemical composition of *Myrtus communis* grown under soil salinity conditions by polyamine foliar application". *Proc. Minia- Egypt J. Agric. Res. Dev.*, 22 (2002), 1697-1720.
- 148.** Sutinen, M.L., Repo, T., Sutinen, S., Lasarov, H., Alvila, L. and Pakkanen, T.T., "Physiological changes in *Pinus sylvestris* needles during early spring under sub-arctic condition". *For Ecol Manag*, (2000), 217-228.
- 149.** Viégas, R.A. and silveira, J.A., "Ammonia assimilation and proline accumulation in young cashew plant during longterm exposure to salt-salinity. *revista brasileira de fisiologia vegetal*", 11 (3), (1999), 153-159.

- 150.** Delfine, S., Alvino, A., Villani, M.C. and Loreto, F., "Restrictions to carbon dioxide conductance and photosynthesis in spinach leaves recovering from salt stress". Université de Rome, Italy. *Plant physiology*. V. 119, n° 3, (1999), 1101-1106.
- 151.** Murakeozy, E.P., Nagy, Z., Duhaze, C., Bouchereau, A., and Tuba, Z., "Seasonal changes in the levels of compatible osmolytes in three halophytic species of inland saline vegetation in Hungary", *J. Plant Physiol.*, 160 (2003), 395-401
- 152.** Noiraud, N., Delrot, S. and Lemoine, R., "The sucrose transporter of celery identification and expression during salt stress". *J. Plant Physiol.*, 122 (2000), 1447-1456.
- 153.** Gauch, H.G. and Eaton, F.M., "Effect of saline substrate on levels of carbohydrates and inorganic constituents of barley plants", *Plant Physiol.*, 17 (1942), 347-365.
- 154.** El-Shourbagy, M.N. and Koshk, H.T., "Sodium chloride effects on the sugar metabolism of several plants", *Phytochemistry*, 17 (1975), 101-108.
- 155.** Ashraf, M. and Tufail, M., "Variation in salinity tolerance in sunflower(*Helianthus annuus* L.)", *J. Agron. Soil Sci.*, 174 (1995), 351-362.
- 156.** Ruiz, J.M., Rio, J.J., Rosales, M.A., Rivero, R.M. and Romero, L., "Grafting between tobacco plants to enhance salinity tolerance", *J. Plant Physiol.*, 163 (2006), 1229- 1237.
- 157.** Cram, W.J., "Negative feedback regulation of transport in cells". The maintenance of turgor, volume and nutrient supply, in: U. Luttge, M.G. Pitman (Eds.), *Encyclopaedia of Plant Physiology*, New Series, V. 2, Springer-Verlag, Berlin, (1976), 284-316.
- 158.** Hounsa, C.G., Brandt, E.V., Thevelein, J., Hohmann, S., and Prior, B.A., "Role of trehalose in survival of *Saccharomyces cerevisiae* under osmotic stress", *Microbiology*, 144 (1998), 671-680.

- 159.** Geigenberger, P., Reimholz, R., Geiger, M., Merlo, L., Canale, V. and Stitt, M., "Regulation of sucrose and starch metabolism in potato tubers in response to shortterm water deficit. *Planta*", 201 (1997), 502-518.
- 160.** Stewart, C.R. and Larher, F., "Accumulation of amino acids and related compounds in relation to environmental stress", *The Biochemistry of Plants*, 5 (1980), 609-630.
- 161.** Ashraf, M. and Foolad, M.R., "Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance". *Environ. Exp. Bot.*, 59 (2007), 207-216.
- 162.** Lone, M.I., Kueh, J.S.H., Wyn, Jones, R.G. and Bright, S.W.J., "Influence of proline and glycinebetaine on salt tolerance of cultured barley embryos", *J. Exp. Bot.*, 38 (1987), 479-490.
- 163.** Ahmad, I., Wainwright, S.J. and Stewart, G.R., "The solute and water relations of *Agrostis stolonifera* ecotypes differing in their salt tolerance". *New Phytol.*, 87 (1981), 615-629.
- 164.** Lutts, S., Kinet, J.M., Bouharmont, J., "Effects of salt stress on growth, mineral nutrition and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity tolerance", *Plant Growth Regul.*, 19 (1996), 207-218.
- 165.** Voetberg, G.S. and Sharp, R.E., "Growth of the maize primary root at low water potentials". Part III. Role of increased proline deposition in osmotic adjustment, *Plant Physiol.*, 96 (1991), 1125-1130.
- 166.** Ashraf, M., "Breeding for salinity tolerance in plants", *Crit. Rev. Plant Sci.*, 13 (1994), 17-42.
- 167.** Singh, T.N., Paleg, L.G. and Aspinal, D., "Stress metabolism. Variations in response to water deficit in the barley plant". *Aust. J. Biol. Sci.*, 26 (1973), 65-75.
- 168.** Hubac, C. et Guerrier, D., "Etude de la composition d'acides aminés de deux *Carex setifolia* Godion, peu résistants". Effet d'un apport exogène. *Oecol. Plant*, 7 (2), (1972), 147-155.