

## Introduction générale

Tout au long de leur cycle de développement, les plantes sont exposées aux fluctuations de leur environnement sans pouvoir s'y soustraire. Les céréales, une source importante alimentaire, sont considérablement affectées par des stress biotiques tels que les insectes nuisibles, les virus et les champignons, et par des stress abiotiques, tels que le stress hydrique, le stress salin, le froid, le stress oxydatif et les UV (Tester, 2005). Parmi ces céréales, Le blé occupe la première place pour la production mondiale et la deuxième après le riz, comme source de nourriture pour les populations humaines, il assure 15% de ses besoins énergétiques (Bajji, 1999). La production nationale est faible et ne permet de satisfaire qu'environ 35 % des besoins d'une population de plus en plus croissante (Bedrani, 2001 ; Hervieu et *al.*, 2006).

Les processus impliqués dans l'élaboration du rendement d'une culture sont influencés non seulement par des facteurs génétiques mais aussi sous l'intervention des facteurs environnementaux (Monneveux, 1997). Dans les régions méditerranéennes, la sécheresse et la salinité constituent des stress abiotiques limitant sérieusement la productivité des espèces cultivées (Radhouane, 2008 ; Benmahiou et *al.*, 2009). La salinisation est le processus majeur de la dégradation des terres. En moyenne, le monde perd dix hectares de terres cultivables par minute, dont 3 hectares à cause de la salinisation (IPTRID, 2006). 10 à 15% des surfaces irriguées soit (20 à 30 millions d'hectares) souffrent, à des degrés divers, de problèmes de salinisation (Mermoud, 2006). En Afrique, près de 40 Million hectares sont affectés par la salinisation, soit près de 2% de la surface totale (IPTRID, 2006). Les sols salins sont très répandus à la surface du globe, leur salinité constitue l'un des principaux problèmes du développement agricole (Beldjoudi et *al.*, 2002).

En Algérie, la sécheresse constitue l'un des facteurs contribuant à la salinisation des sols. En effet, dans les zones semi-arides, les faibles précipitations et la montée de la température engendrent l'accroissement de l'évaporation et provoquent ainsi la remontée des sels vers la rhizosphère. Le phénomène s'accroît d'avantage, suite à la pratique de l'irrigation où les eaux contiennent souvent des teneurs en sels jugées élevées. Les effets des sels, notamment le NaCl dépendent de sa concentration au niveau du milieu de culture et de l'époque de sa déclaration. Néanmoins, les réactions vis-à-vis de ce facteur restent intimement liées à la nature des espèces, voir même de la variété (Kadri et *al.*, 2009).

Concilier le développement des activités humaines et le respect de l'environnement est un enjeu majeur. La pollution en métaux lourds est aussi une préoccupation majeure pour l'agriculture, menaçant également la santé humaine. Jusqu'à présent, la plupart des travaux se sont concentrés soit sur l'étude de la salinité, soit sur le stress abiotique des métaux lourds. La prise en

compte tardive des conséquences engendrées par certaines activités humaines a conduit à l'accumulation de substances toxiques, perturbant les équilibres fragiles de nombreux écosystèmes. Depuis le début de la révolution industrielle, la pollution de l'environnement, y compris le sol, est accélérée de façon spectaculaire (Yanai et *al.*, 2006).

Les activités urbaines, industrielles et agricoles sont responsables d'une contamination croissante des sols et de l'eau par les ions métalliques. Les plantes sont directement exposées à ces éléments dont le potentiel toxique est indéniable. Les problèmes liés aux rejets des métaux lourds dans l'environnement et à leur transfert potentiel vers les organismes vivants, sont certainement les plus préoccupants (Kabata-Pendias et *al.*, 2007). A ce jour, aucune fonction métabolique connue ne requiert à certains métaux lourds, qui présentent une importante toxicité, même à faible dose, pour les animaux et les plantes (Remon, 2006). Leur accumulation dans les différents compartiments des écosystèmes, notamment les plantes, génère par conséquent un risque non négligeable pour les équilibres écologiques et la santé publique.

Les études se penchant sur des plantes d'importance économique soumises à des stress salins et à des métaux lourds sont encore rares. Pour cela, au cours de ce travail de thèse, nous avons choisi d'étudier, dans un premier temps, les effets de deux stress abiotiques séparément : Le stress salin (NaCl) et le Zinc sur deux variétés locales de blé dur '*GTA dur*' et '*Semito*' très consommées en Algérie. Dont, notre premier objectif était de mieux comprendre la réponse des plantules des céréales aux stress causés.

Dans un second temps, nous nous sommes intéressés à un cas particulier et peu étudié qui est l'atténuation de stress salin par le Zinc. De ce fait, nous avons tenté d'appliquer aux cultures des plantes des céréales soumises au stress salin, le Zinc, comme un moyen de remédiation et de lutte contre le stress oxydatif engendré par la salinité. Ainsi, notre objectif a été d'évaluer l'effet du Zinc sur quelques marqueurs du stress oxydant, sur l'amélioration des réponses enzymatiques et de la croissance des plantes des deux variétés exposées au stress causé.

# **Synthèse bibliographique**

## 1. Le blé

### 1.1. Description générale de Blé

Le blé dur (*Triticum turgidum ssp. durum*) est une Monocotylédone de la famille des Graminées, de la tribu des *Triticées* et du genre *Triticum*. En termes de production commerciale et d'alimentation humaine, cette espèce est la deuxième plus importante du genre *Triticum* après le blé tendre (*Triticum aestivum L.*) (Feillet, 2000).

Il s'agit d'une graminée annuelle de hauteur moyenne et dont le limbe des feuilles est aplati. L'inflorescence en épi terminal se compose de fleurs (Bozzini, 1988). Le système racinaire comprend des racines séminales produites par la plantule durant la levée, ainsi que des racines adventives qui se forment plus tard à partir des nœuds à la base de la plante et constituent le système racinaire permanent. Le blé dur possède une tige cylindrique, dressée, habituellement creuse et subdivisée en entre nœuds. Certaines variétés possèdent toutefois des tiges pleines (Clark et al., 2002). Le chaume (talles) se forme à partir de bourgeons axillaires aux nœuds à la base de la tige principale. Le nombre de brins dépend de la variété, des conditions de croissance et de la densité de plantation. Dans des conditions normales, une plante peut produire en tout trois brins en plus de la tige principale, mais tous ne grènent pas nécessairement (Bozzini, 1988).

Le blé dur est bien adapté aux régions à climat relativement sec, où il fait chaud le jour et frais la nuit durant la période végétative, ce qui est typique des climats méditerranéens et tempérés (Amokrane, 2001). La plus grande partie du blé dur produit dans le monde est constituée de blé de printemps ; toutefois, il existe des variétés de blé dur d'hiver (qui ont besoin de vernalisation pour amorcer la transition de la phase végétative à la phase reproductrice); ces variétés ont été évaluées en vue de la production dans le Sud des États-Unis (Donmez et al., 2000).

Afin de caractériser le cycle de développement du blé, différentes échelles de notation ont été développées, portant soit sur des changements d'aspect externe, soit sur les modifications d'aspect interne des organes reproducteurs.

- *L'échelle de Jonard et Koller, (1950)* utilisée pour reconnaître les stades par des changements d'aspect externe (Levée – Montaison)
- *L'échelle de Zadoks et al., (1974)* utilisée pour reconnaître les stades par des modifications d'aspect interne (Différentiation de l'épi : Stade épi 1 cm) (Gate, 1995).

Le cycle biologique du blé est une succession de périodes subdivisées en phases et en stades.

## 1.2. Importance et production de la culture du blé

### 1.2.1 Importance et production de la culture des céréales et le blé dans le monde

Les céréales, le blé en particulier occupe une place importante dans la production agricole et constitue la nourriture de base pour 35% de la production mondiale. De toutes les plantes cultivées, le blé est celle qui a pris le plus d'importance dans l'alimentation de l'être humain, c'est ce qui fait que c'est la plante la plus cultivée des céréales.

La production mondiale des céréales en 2015 s'établissent aujourd'hui à 2,527 milliards de tonnes (**Tableau 1**). En ce qui concerne le blé, la production mondiale est aujourd'hui estimée à 735 millions de tonnes (**Tableau 2**), ce qui constitue un faible recul par rapport au chiffre de novembre mais reste légèrement supérieur au niveau de 2014 (FAO, 2015). Au cours de la prochaine décennie, les possibilités d'extension des superficies sont restreintes en ce qui concerne les céréales, et l'augmentation de la production aura pour principal moteur l'accroissement des rendements. Alors que la hausse cumulée des rendements sur la période de projection devrait être de 10 % par rapport à la période de référence, l'augmentation des superficies consacrées au blé devrait être inférieure à 3 %. D'après les projections, l'utilisation totale de blé atteindra près de 774 Mt d'ici à 2023, 295 Mt dans les pays développés et 479 Mt dans les pays en développement.

Le blé devrait rester un produit principalement destiné à l'alimentation humaine, la consommation directe représentant une part stable de 68 % de l'utilisation totale au cours de la période étudiée. À ce niveau, la consommation alimentaire par habitant devrait rester constante, autour de 66 kg par an (OCDE et FAO, 2014).

Dans la plupart des pays méditerranéens, les céréales constituent la base de l'alimentation. Si la région offre une multitude de traditions culturelles et alimentaires, on estime que les céréales contribuent pour 35 à 50% des apports caloriques dans les rations alimentaires des populations du bassin. Cette consommation de produits céréaliers dépend néanmoins des comportements adoptés par les consommateurs, qui s'expriment en fonction de leurs modes et de leurs niveaux de vie. Au sein des États à forte consommation et à faible revenu, la consommation humaine directe de céréales se situe autour de 250 kg par habitant et par an. Les céréales y représentent les calories les moins chères du régime alimentaire. Pour ce type de consommateur, les besoins en produits céréaliers sont loin d'être satisfaits. De même, en cas d'augmentation de revenu, ce consommateur est amené à augmenter sensiblement sa demande céréalière.

En revanche, dans les pays où le revenu est plus élevé, la consommation de céréales est généralement substituée par les viandes, les fruits et les légumes, qui sont des produits plus chers. Simultanément à cette diversification des choix et cette réorientation dans le type de produits consommés, la demande en céréales faiblit.

**Tableau 1. Production, consommation et stocks du marché mondial des céréales**

(FAO, 2015)

<b>Marché mondial des céréales</b>						
	2011/12	2012/13	2013/14	2014/15 estimation	2015/16 prévision	
					Précédente (05 nov 2015)	Dernière (03 déc 2015)
<i>(.....millions de tonnes.....)</i>						
<b>Production</b> <sup>1</sup>	2 348.7	2 298.7	2 522.8	2 560.9	2 529.6	<b>2 527.0</b>
<b>Disponibilités</b> <sup>2</sup>	2 875.4	2 848.5	3 055.2	3 157.1	3 172.4	<b>3 173.3</b>
<b>Utilisation</b>	2 315.0	2 325.6	2 425.3	2 503.0	2 527.8	<b>2 528.9</b>
<b>Commerce</b> <sup>3</sup>	324.0	381.0	362.2	375.3	364.2	<b>364.5</b>
<b>Stocks de clôture</b> <sup>4</sup>	550.3	532.4	596.2	646.3	637.6	<b>643.4</b>
<i>(.....pour cent.....)</i>						
<b>Rapport stocks mondiaux- utilisation</b>	23.7	22.0	23.8	25.6	24.8	<b>25.0</b>
<b>Rapport stocks des principaux exportateurs-utilisation totales</b> <sup>5</sup>	18.1	16.7	17.9	17.6	18.8	<b>16.0</b>

**Tableau 2. Production, consommation et stocks du marché mondial du blé**

(FAO, 2015)

<b>Marché mondial du blé</b>						
	2011/12	2012/13	2013/14	2014/15 estimation	2015/16 prévision	
					Précédente (05 nov 2015)	Dernière (03 déc 2015)
<i>(.....millions de tonnes.....)</i>						
<b>Production</b> <sup>1</sup>	700.9	659.7	715.6	733.3	736.2	<b>734.5</b>
<b>Disponibilités</b> <sup>2</sup>	898.3	858.1	892.7	921.5	938.8	<b>937.5</b>
<b>Utilisation</b>	693.6	685.8	695.0	715.3	727.5	<b>728.0</b>
<b>Commerce</b> <sup>3</sup>	149.2	142.7	156.9	155.8	150.0	<b>149.5</b>
<b>Stocks de clôture</b> <sup>4</sup>	198.4	177.1	188.2	203.0	207.4	<b>206.9</b>
<i>(.....pour cent.....)</i>						
<b>Rapport stocks mondiaux- utilisation</b>	28.9	22.0	23.8	25.6	24.8	<b>28.9</b>
<b>Rapport stocks des principaux exportateurs-utilisation totales</b> <sup>5</sup>	18.2	16.7	17.9	17.6	18.8	<b>17.4</b>

La consommation par habitants se situe alors à des niveaux plus faibles : entre 120 et 150 kg de céréales par habitant et par an. En matière céréalière, on observe donc des niveaux de consommation très contrastés selon les pays méditerranéens. Il est néanmoins possible de distinguer trois catégories d'États :

- La première avec une consommation moyenne par habitant et par an qui se situe entre 200 et 250 kg : c'est le cas du Maroc, de l'Algérie, de la Tunisie, de l'Égypte et de la Turquie ;
- La seconde correspond à des pays où la consommation moyenne oscille entre 130 et 160 kg : il s'agit de la Grèce, du Portugal, de l'Italie, de l'Albanie et de Malte ;
- La troisième catégorie est celle avec une consommation céréalière inférieure à 100 kg en moyenne par an et par habitant : cela vaut pour la France et l'Espagne.

Au regard des évolutions observées ces dernières décennies, il apparaît que la consommation de céréales par habitant diminue progressivement pour les deux dernières catégories alors qu'elle s'amplifie dans les pays à faible revenu, c'est à dire ceux de la première catégorie (CIHEAM, 2006).

### **1.2.2 Importance de la culture des céréales et du blé en Algérie**

Les céréales, socle historique de la diète méditerranéenne, occupent encore aujourd'hui une place prépondérante à la fois dans la production agricole et agroalimentaire de l'Algérie et dans la consommation alimentaire des ménages. La consommation de céréales en Algérie représente 25% des dépenses alimentaires et 230 kg/an d'équivalent-grains. L'importance de la consommation fait du blé un produit stratégique du point de vue de la sécurité alimentaire, ce qui justifie les efforts considérables de l'État pour augmenter la production locale, à travers le PNDA (programme national de développement agricole) lancé au début des années 2000.

Les céréales occupent environ 2,9 millions d'ha (moyenne 2000-2012), soit près de 35% des terres arables (production pluviale et majoritairement localisée en zone humide et sub-humide dans le nord du pays). La production moyenne de céréales des 5 dernières années (2008 à 2012), qui a légèrement dépassé 32 millions de quintaux selon la Fao, se répartit de la façon suivante :

- Blé, 19 millions de q (60%)
- Orge, 13 millions de q (40%)

Ce progrès est principalement imputable aux rendements, avec toutefois de très gros écarts interannuels (pouvant aller de 1 à 5) du fait des conditions climatiques. Pour la production agricole (blés et orge principalement), le défi posé dans plusieurs plans successifs de développement est d'augmenter fortement les surfaces et les rendements en céréales. Ainsi, la stratégie du «

Renouveau agricole et rural » lancée en 2010 vise une augmentation de la production de blé de 85%, avec, à l'horizon 2020, une quasi-autosuffisance en blé dur et une couverture des besoins nationaux en blé tendre à hauteur de 30%.

La croissance démographique et donc de la demande de céréales conduit à des importations massives représentant environ 75% des besoins nationaux (environ 6 millions de t par an dans les années 2000 et une facture de 4,2 milliards de dollars en 2012, soit près de 40% des importations agricoles). En 2012, la France était le premier fournisseur de l'Algérie en blé 33%, suivie de l'Argentine 27% et du Canada 12% (IPEMED, 2014).

L'écart important entre le niveau actuel de la consommation et celui de la production nationale conduit l'Algérie à importer de grosses quantités de céréales : 11 millions de tonnes en 2011, dont 68% de blé, 29% de maïs et 3% d'orge (ces deux derniers à destination d'alimentation animale). Pour le blé, il s'est agi en moyenne de 5,8 millions de tonnes par an entre 2000 et 2012, là encore avec d'importantes fluctuations en fonction de la pluviométrie locale (4,5 millions tonnes en 2001 et 7,8 millions tonnes en 2006).

### **1.3 La sélection et l'amélioration du blé**

La production céréalière des zones pluviales sèches restait faible et très irrégulière dans l'espace et le temps (Ceccarelli, 2010 ; Menad et *al.*, 2011). La recherche d'une meilleure adaptation à la variation environnementale est devenue une nécessité pour stabiliser les rendements de ces régions (Kadi et *al.*, 2010 ; Meziani et *al.*, 2011). La variation des rendements est engendrée par la sensibilité des nouveaux cultivars aux divers stress qui caractérisent le milieu de production (Mekhlouf et *al.*, 2006 ; Chenafi et *al.*, 2006). Richards et *al.*, (2007) suggèrent, dans ce contexte, que les approches physiologiques sont recommandées lorsque la sélection cible de tels environnements.

L'objectif de la sélection est l'identification de nouvelles lignées qui portent un ensemble de caractéristiques désirables leur permettant d'être adoptées comme variétés agricoles, sans de grands risques pour les producteurs.

La sélection pour l'adaptation ou pour la tolérance aux stress abiotiques (de nature ionique, hydrique, thermique et lumineuse) suit plusieurs voies. Dont entre l'utilisation de la phénologie (Acevedo et *al.*, 1991), la morphologique (Hanson et *al.*, 1985; Sharma et Smith, 1986) et la physiologique ( Farquhar et *al.*, 1994, Richards et *al.*, 1997, Araus et *al.*, 1998), ainsi que le comportement global de la plante vis à vis de la variation environnementale, telle que mesurée par les indices (Benmahammed et *al.*, 2010).

L'amélioration du rendement grain est généralement abordée de manière directe ou indirecte. La sélection directe utilise le rendement lui-même qui est mesuré après la mort de la plante.

La sélection indirecte utilise les composantes du rendement (Laala et *al.*, 2010). La sélection du rendement grain n'est efficace que si les conditions de milieu qui ont permis la réalisation d'un rendement grain donné, se répètent de façon régulière (Kadi et *al.*, 2010).

Les stress abiotiques qui caractérisent les régions arides et semi- arides sont représentés essentiellement par la sécheresse, les hautes températures de fin de cycle et la salinité. L'adaptation variétale recherchée l'est vis-à-vis de ces stress. La recherche de variétés résistantes, par des méthodes classiques, est longue et onéreuse (Baenziger et *al.*, 2006).

Au-delà de la sélection classique, les développements faits en matière de biotechnologies augmentent les alternatives de recherche en matière de résistance aux stress abiotiques (Lutts et *al.*, 1996).

La maîtrise de la culture *in vitro* rend aisé le screening sous des conditions plus contrôlées, que vu plusieurs études montrent que l'application d'agents abiotiques à des cellules végétales cultivées *in vitro* apporte des informations intéressantes en ce qui concerne la tolérance à divers stress aussi bien biotiques qu'abiotiques (Bertin et *al.*, 1995 ; Baraket, 1996 ; Jain, 1997 ; Zalc et *al.*, 2004). De plus la maîtrise de la culture *in vitro* offre des possibilités d'utilisation d'autres techniques relevant du domaine des biotechnologies, telle que la transformation génétique (Zalc et *al.*, 2004).

## **2. Le stress oxydant**

### **2.1. Le stress oxydant chez les plantes**

Le stress oxydatif chez les plantes fait l'objet de très nombreuses revues bibliographiques (Bartosz, 1997; Van Breusegem et *al.*, 2001; Potters et *al.*, 2002; Schutzendubel, 2002; Blokhina et *al.*, 2003; Apel, 2004; Foyer, 2005; Pitzschke et *al.*, 2006; Wormuth et *al.*, 2007) et de plusieurs livres (Inze, 2001; Smirnoff et *al.*, 2005). Dans les systèmes biologiques, le stress oxydant est la conséquence d'un déséquilibre entre la production d'espèces réactives oxygénées (ERO) et leur destruction par des systèmes de défense antioxydants (Bonfont-Rousselot et *al.*, 2003). Les espèces réactives oxygénées (ERO) peuvent engendrer des dommages importants dans la structure et le métabolisme cellulaire en dégradant de nombreuses cibles : protéines, lipides et acides nucléiques (Pincemail et *al.*, 1999). Dans les conditions quotidiennes normales, les espèces réactives oxygénées (ERO) sont produites en faible quantité comme des médiateurs tissulaires ou des résidus des réactions énergétiques ou de défense, et cela sous le contrôle de systèmes de défense adaptatifs par rapport au niveau de radicaux présents. Dans ces conditions, on dit que la balance pro-oxydant/anti-oxydants est en équilibre. Cette dernière peut être rompue pour diverses raisons en faveur du système pro-oxydant, et est alors à l'origine d'un stress oxydant (Favier, 2003).

## **2.2. Sources de production des ROS**

Chez les plantes, il existe plusieurs sources cellulaires d'espèces réactives de l'oxygène localisées à divers endroits de la cellule, et qui sont produites de façon permanente durant le métabolisme normale et durant les périodes de stress. Ces sources incluent :

### **2.2.1 Les chloroplastes**

A la lumière, les ROS sont produits majoritairement dans les chloroplastes. Les différents types de processus liés à cette production sont étroitement associés à la photosynthèse. Ils font intervenir le photosystème I qui permet la photoréduction directe de l'oxygène moléculaire, ainsi que les réactions liées au cycle respiratoire et faisant intervenir la Rubisco. Les radicaux superoxydes ainsi générés au niveau du chloroplaste sont rapidement convertis en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> par les CuZn-superoxyde dismutases. Enfin, durant la photosynthèse, l'oxygène singulet est continuellement produit par le photosystème II. Au cours de stress lumineux entraînant la photoinhibition du photosystème II, la production d'oxygène singulet augmente de façon drastique.

### **2.2.2 La mitochondrie**

La réduction de l'oxygène moléculaire par les cytochromes respiratoires s'accompagne d'une formation parallèle d'environ 2% d'anion superoxyde, d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et éventuellement de radicaux HO·. La production mitochondriale de ROS dépend fort logiquement de la disponibilité en oxygène. Chez les mammifères, les mitochondries sont la source majeure de ROS dans la cellule. Leurs contributions chez les plantes sont plus faibles, sans doute du fait de la présence de l'alternative oxydase (AOX). Celle-ci catalyse la réduction de l'oxygène moléculaire par l'ubiquinone, et entre de ce fait en compétition avec les cytochromes pour la consommation d'électrons. L'hypothèse de l'implication de l'AOX dans la réduction de la production de ROS par les mitochondries est notamment supportée par le fait que l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> induit l'expression de ces enzymes (Apel, 2004).

Par ailleurs, la formation du NO suite à la réduction du nitrite via une nitrite réductase a été montrée comme dépendante du transport d'électrons mitochondrial (Planchet et *al.*, 2005). Toutefois, cette voie de biosynthèse du NO semble être localisée dans les racines, où la tension en oxygène est faible (Gupta et *al.*, 2005).

### **2.2.3 Les peroxyosomes**

Les peroxyosomes sont des micro-granules habituellement sphériques délimitées par une bicouche lipidique unique. Les peroxyosomes sont des organites intracellulaires avec un métabolisme de type essentiellement oxydatif et sont probablement un des principaux sites de

production de ROS intracellulaires (Nyathi, 2006), avec les mitochondries et les plastes. Plusieurs études ont clairement montré que les peroxysomes chez les plantes ont des caractéristiques distinctes par rapport à d'autres organismes, bien qu'ils partagent certaines caractéristiques communes comme la détoxification de  $H_2O_2$  par la catalase. L'une des caractéristiques remarquables des peroxysomes chez les plantes est la plasticité de leurs fonctions. Les peroxysomes sont connus pour se différencier en fonction du type cellulaire. Par conséquent, ils sont subdivisés en trois catégories différentes, à savoir les glyoxysomes, les peroxysomes foliaires et les peroxysomes non spécialisés. Les glyoxysomes sont présents dans les cellules des organes de stockage, tels que l'endosperme et les cotylédons, au cours de la croissance post-germinative de plantes oléagineuses, ainsi que dans les cellules des organes sénescents (Beevers, 1982; Nishimura *et al.*, 1996). Ils jouent un rôle important dans le métabolisme lipidique. Comme les mitochondries et les chloroplastes, les peroxysomes produisent les radicaux  $O_2^{\bullet-}$  en raison de leur métabolisme. Deux sites de génération d' $O_2^{\bullet-}$  sont établis dans les peroxysomes. Le premier se situe dans la matrice des organites, où la xanthine oxydase (XOD) catalyse l'oxydation de la xanthine et l'hypoxanthine en acide urique. Le deuxième site est dans la membrane des peroxysomes, où une petite chaîne de transport d'électrons, composée d'une flavoprotéine à NADH et du cytochrome b, produit le radical  $O_2^{\bullet-}$ . La monodéhydroascorbate réductase (MDHAR) participe également à la production  $O_2^{\bullet-}$  au niveau des membranes des peroxysomes. Les principaux processus métaboliques responsables de la production de  $H_2O_2$  dans différents types de peroxysomes sont la réaction photorespiratoire de la glycolate oxydase, la  $\beta$ -oxydation des acides gras (del Rio *et al.*, 2006), la réaction enzymatique des oxydases flavine, et la dismutation du radical  $O_2^{\bullet-}$ . Il a été démontré que les radicaux NO sont également produits dans les peroxysomes (del Rio *et al.*, 2004; Corpas *et al.*, 2009).

#### **2.2.4 Le cytosol**

Diverses réactions enzymatiques peuvent produire des radicaux superoxydes et du peroxyde d'hydrogène dans le cytosol. Chez les organismes aérobies, l'anion superoxyde et le peroxyde d'hydrogène sont formés par la voie des pentoses phosphates, ainsi que dans le catabolisme des acides aminés et des acides gras. Le monoxyde d'azote peut être synthétisé par le nitrate réductase cytosolique. D'une manière générale, toute réaction biochimique faisant intervenir l'oxygène moléculaire est susceptible d'être à l'origine d'une production de ROS.

#### **2.2.5 L'apoplaste et la membrane plasmique**

Les ROS sont également produits au niveau de la membrane plasmique ou au niveau extracellulaire dans l'apoplaste chez les plantes par plusieurs enzymes. Parmi lesquelles sont notamment impliquées les NAD(P)H oxydases, les peroxydases dépendantes du pH de la paroi

cellulaire, les lipoxygénases, et dans une moindre mesure diverses oxydases extracellulaires (oxalate ou germinine-like oxydases, amine-oxydases, xanthine oxydases) (Bolwell and Wojtaszek, 1997).

#### **a. Les peroxydases**

Les peroxydases de la paroi cellulaire sont activées à un pH alcalin et catalysent l'oxydation du NAD(P)H pour permettre la formation d'anion superoxyde puis du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Ainsi, l'alcalinisation de l'apoplaste lors de la reconnaissance d'éliciteur précède la stimulation du métabolisme oxydatif et la production de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> par une peroxydase (Bolwell, 1997). De nombreuses peroxydases sont localisées au niveau apoplastique, et sont liées de façon covalente ou ionique aux polymères de la paroi (Apel, 2004).

#### **b. Les lipoxygénases**

Les lipoxygénases sont quant à elles souvent à l'origine de la synthèse de radicaux libres et libèrent des formes actives d'oxygène par hydroperoxydation d'acides gras tels que l'acide linoléique et l'acide linoléique. Les peroxydes lipidiques libérés lors de ces réactions serviraient de précurseurs à la synthèse de l'acide jasmonique.

#### **c. La NADPH oxydase**

La NADPH oxydase possède un rôle majeur dans la mise en place du burst oxydatif chez les plantes. Elle catalyse l'oxydation du NADPH selon la réaction :

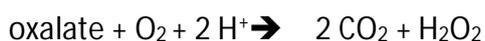


Les électrons sont transférés du NADH cellulaire à l'oxygène extracellulaire. L'anion superoxyde relargué à l'extérieur de la cellule est rapidement dismuté en peroxyde d'hydrogène. L'utilisation d'inhibiteurs de NADPH oxydases de mammifère, le diphenyliodonium (DPI), permet de bloquer le burst oxydatif après élicitation dans différents systèmes végétaux (Levine et al., 1994; Jabs et al., 1997; Jiang, 2003). Les gènes codant pour des homologues à la sous-unité gp91phox de la NADPH oxydase de mammifère ont été clonés. Ces homologues alors dénommés RBOH pour respiratory burst oxidase homologue, sont rencontrés chez le riz (Groom et al., 1996), *Arabidopsis thaliana* (Desikan et al., 1998), la tomate (Amicucci et al., 1999), la pomme de terre (Yoshioka et al., 2001), le tabac (Simon-Plas et al., 2002) et le maïs (Lin et al., 2009). Ces isoformes végétales ont toutes la particularité de posséder une extension N-terminale cytosolique ayant deux motifs EF-hands permettant la fixation du Ca<sup>2+</sup> (Torres, 2005). Ces enzymes seraient impliquées dans l'activation de réponses de défense chez les plantes. Chez *Arabidopsis*, trois

groupes ont été distingués selon l'expression des transcrits dans la plante, ceux présents dans toute la plante (Atrboh D et F), dans les racines (Atrboh A, B, C, E, G et I), et dans le pollen (Atrboh H et J) (Sagi, 2006; Glyan'ko, 2010). De plus, l'utilisation d'anticorps dirigés contre les autres sous-unités de NADPH oxydase de mammifères a permis de mettre en évidence des protéines de tailles similaires dans des extraits de plantes (Dwyer *et al.*, 1996; Xing *et al.*, 1997; Desikan *et al.*, 1998). Pourtant, aucun gène codant pour ces sous-unités n'a depuis été identifié chez les plantes, et leur présence n'a pas été révélée dans le génome d'*Arabidopsis thaliana*.

#### **d. Les autres oxydases**

La germine ou oxalate oxydase est une autre enzyme capable de produire des ROS chez l'orge et le blé (Dumas *et al.*, 1995; Zhang *et al.*, 1995; Requena, 1999). Deux gènes codant pour cette enzyme ont été identifiés chez l'orge (Zhou *et al.*, 1998). Les transcrits et l'activité de cette enzyme sont fortement élicités chez l'orge après infection par un pathogène (Wei *et al.*, 1998). L'expression transitoire de ce gène confère une résistance aux pathogènes chez la tomate (Walz *et al.*, 2008) et au stress oxydatif chez le tabac (Wan *et al.*, 2009). L'acide oxalique est une toxine sécrétée par différents Ascomycètes phytopathogènes, et apparaît comme un élément essentiel dans la pathogénie de ceux-ci (Zhou, 1999; Cessna *et al.*, 2000). En effet, l'oxalate par son acidité (Bateman, 1965) peut d'une part, être toxique pour la plante et d'autre part, peut favoriser l'activité de plusieurs enzymes sécrétées par des champignons lors de l'invasion des tissus de la plante car leur activité est maximale à pH faible. De plus, l'acide oxalique est capable de supprimer le burst oxydatif induit lors de l'infection par *Sclerotinia* et de chélater les ions calcium neutralisant ainsi les réponses de défenses de la plante (Cessna *et al.*, 2000).



### **2.3 Mécanismes de défense contre le stress oxydatif**

La plante réagit au stress en mettant en œuvre diverses stratégies de défense, constitutives ou induites. La plante perçoit un stimulus qui engendre l'émission de signaux. Ceux-ci sont transmis à l'intérieur de la cellule déclenchant l'activation de gènes codant pour des enzymes du métabolisme secondaire pour synthétiser diverses molécules de défense. (Kangasjarvi *et al.*, 1994; Pell *et al.*, 1997; Noctor *et al.*, 1998).

Chez les plantes, les ROS sont donc produits en permanence et résultent des sous-produits métaboliques de diverses voies localisées dans différents compartiments cellulaires (Noctor, 1998). Du fait de leur forte réactivité et toxicité, ces molécules sont prises en charge par différents systèmes antioxydants qui sont souvent présents dans des compartiments particuliers. Les systèmes antioxydants existant chez les plantes sont essentiellement constitués de métabolites de

faibles poids moléculaires tels que l'acide ascorbique (ASH), la glutathion (GSH), des composés phénoliques, des alcaloïdes, des acides aminés non protéiques, l'O<sub>2</sub><sup>•-</sup> tocophérol, les caroténoïdes et les flavonoïdes. Ces métabolites sont associés à différents systèmes enzymatiques participant à la reconstitution des molécules antioxydantes,

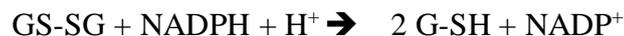
- la réductase monodéhydroascorbate (MDHAR) :



- la réductase déhydroascorbate (DHAR) :



- la glutathion réductase (GR) :



Ou bien des enzymes participant à la prise en charge des ROS comme :

- la superoxide dismutase (SOD) :  $\text{O}_2^{\bullet-} + \text{O}_2^{\bullet-} + 2 \text{ H}^+ \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_2$
- l'ascorbate peroxydase (APX) :  $2 \text{ ASH} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2 \text{ MDHA} + \text{H}_2\text{O}$
- la glutathion peroxydase (GPX) :  $2 \text{ GSH} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{GS-SG} + 2 \text{ H}_2\text{O}$
- peroxydase guaiacol (GPX) :  $4 \text{ guaiacol} + 4 \text{ H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Tetraguaiacol} + 8 \text{ H}_2\text{O}$
- la catalase (CAT) :  $\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{O} + \frac{1}{2} \text{ O}_2$

Ces systèmes antioxydants travaillent de concert pour réguler la production de ROS et protéger ainsi les cellules végétales contre les dommages oxydatifs. Il est important de noter que si les ROS peuvent avoir une action dommageable, ils peuvent aussi avoir un rôle de signalisation. Ceci dépend de l'équilibre délicat entre la production de ROS et la détoxification au niveau spatial et temporel (Gratao *et al.*, 2005). Cet équilibre peut être perturbé par un certain nombre de facteurs, notamment environnementaux. À la suite de ces perturbations, les niveaux intracellulaires de ROS peuvent rapidement augmenter. L'augmentation rapide de la concentration des ROS correspond au « burst oxydatif ».

## **2.4 Principaux stress environnementaux auxquels les plantes sont confrontées**

De nombreuses situations de stress biotique ou abiotique peuvent être à l'origine de l'introduction ou de la production des ERO dans la cellule végétale :

### **2.4.1 Stress biotique**

De nombreux agents pathogènes pénètrent dans la plante, soit par voie mécanique en forçant la résistance physique des barrières histologiques, soit par l'excrétion d'enzymes dégradant la cuticule. Le végétal attaqué peut alors répondre par des réactions qui limitent la pénétration du parasite, par exemple lignification des parois, ou en sécrétant diverses substances chimiques ; soit toxiques pour le parasite (polyphénols, phytoalexines, dérivés de phénylalanine, etc.), soit inhibitrices de protéases, amylases, cellulases, etc., qui privent le parasite de la possibilité de se nourrir en dégradant la plante hôte (Laval-Martin, 1995).

### **2.4.2 Stress abiotique**

Plusieurs stress abiotiques peuvent à l'origine du stress oxydatif, parmi ces stress, le stress aux UV, le stress thermique, le stress par déficit hydrique, le stress aux métaux lourds, etc.

## **3 Le stress salin**

Les sels (des sols et de l'eau) ont été reconnus comme un problème depuis des milliers d'années, ils ont été identifiées comme un processus majeur de la dégradation des terres, particulièrement dans les régions arides et semi-arides où il n'y a pas suffisamment de pluie pour lessiver les sels au-delà de la zone racinaire (Miller, 1995).

La salinisation est définie par la FAO (2001), comme un enrichissement en sels solubles de la surface et de la tranche supérieure du sol lorsque la salinité dans les 20 cm sommitaux dépasse 1 à 2% (20g de sel par Kg de sol).

Il est estimé, à partir de diverses données disponibles que : Le monde perd au moins 3 ha de terres arables chaque minute à cause de la salinité du sol. (IPTRID, 2006). D'après Mermoud (2006), la salinisation occasionne des effets nocifs sur les végétaux et le sol ; il s'ensuit une diminution des rendements et, à terme, une stérilisation du sol. Les sels les plus fréquents sont des chlorures, des sulfates, et des carbonates de sodium.

### **3.2 Les causes de la salinisation des sols**

Les causes de phénomène de salinisation des sols sont multiples. Cependant, le critère d'identification pour chaque mode de salinisation est évidemment son origine. En effet, la connaissance de l'origine de la salure, du dynamisme de cette salure dans le sol et de la nature des composés chimiques qui la constituent, restent nécessaires pour l'amélioration des terrains salés.

### 3.2.1 Salinisation géologique (primaire)

La source principale de sels dans le sol, sont les minéraux naturels de la croûte terrestre (Bryssine, 1961). En effet, durant le processus d'altération chimique, qui implique hydrolyse, hydratation, solution, oxydation et carbonatation, les sels sont libérés progressivement avant de subir une solubilisation. Cependant les causes premières de salure sont fréquemment éloignées dans l'espace, du territoire prospecté (Gaucher, 1974) : dans la plupart des cas, les sels sont apportés au sol par l'eau qui contient des sels solubles dont la nature et la concentration dépendent des matériaux géologiques avec lesquels l'eau a été en contact (Ussl, 1954).

### 3.2.2 Salinisation par les eaux

L'étude pédologique nous a montré que la plupart des sols irrigués sont affectés par la salinité. Cette dernière est liée à la salinité de l'eau d'irrigations (**Tableau 3**). Généralement, ce sont les eaux de surface et les eaux de nappe souterraine qui constituent les principales sources de sels affectant l'agriculture irriguée. Concernant l'eau d'irrigation, le degré avec lequel s'opère la salinisation dépend de deux facteurs :

La composition de cette eau, qui à son tour est fonction de la teneur en sel du sol et des matériaux géologiques avec lesquels elle a été en contact.

Le bilan entre l'apport d'eau d'irrigation à la surface du sol et le déplacement de l'eau de drainage de la limite intérieure du profil.

En outre, les nappes des zones arides et semi-arides véhiculent des eaux souvent chargées en sels solubles, la source la plus importante de ces sels reste l'eau d'irrigation. Ainsi l'augmentation du niveau de la nappe phréatique, due à l'irrigation, favorise l'accumulation des sels en surface et ce, suite à une évapotranspiration intense.

### 3.2.3 Conditions climatiques de la salure

Les climats comportent deux caractéristiques qui s'ajustent parfaitement aux mécanismes de la mobilisation et de l'accumulation du salant (Gaucher, 1974) :

Un régime irrégulier des précipitations avec une dominance des averses brutales qui sont séparées par des périodes de sécheresse : ce mécanisme de mobilisation du salant est assuré par les averses, qui peuvent éventuellement détacher des matériaux solides salés à partir des gisements originels et les transporter par ruissellement. Ces eaux vont par la suite s'accumuler dans des zones de dépression et causer ainsi une remontée du niveau phréatique.

Une saison sèche prolongée, pendant laquelle la chaleur et l'insolation provoquent une évaporation intense : ce mécanisme s'opérant en période sèche, il est le résultat d'une évaporation qui provoque l'ascension du salant par remonter capillaire.

**Tableau 3. Classification de l'eau (maillard, 2001)**

<i>Classe</i>	<i>EC en dS/m</i>	<i>Concentration en sels totale en mg/l</i>	<i>Type d'eau</i>
Non saline	< 0,7	< 500	Eau potable et irrigable
Légèrement saline	0,7 - 2	500 - 1500	Eau d'irrigation
Modérément saline	02 - 10	1500 - 7000	Première eau de drainage et eau souterraine
Très saline	10 - 25	7000 – 15 000	Seconde eau de drainage et eau souterraine
Très fortement saline	25 - 45	15 000 – 35 000	Eau souterraine très salée
saumure	> 45	> 45 000	Eau de mer

**Tableau 4. Indice de salinité de certains engrais (Tisdal et al., 1985)**

<b>Engrais</b>	<b>Indice de salinité globale</b>
Ammonitrates	104,7
Sulfates d'ammonium	69
Urée	75,4
Superphosphate simple	7,8
Superphosphate triple	10,1
Chlorure de potasse	116,3
Sulfate de potasse	46,1
Diammonium phosphate	29,2
Moammonium phosphate	34,2
Potassium nitrate	73,6

### 3.2.4 Salinisation par les fertilisant

À cause de leurs indices de salinité très élevés, des fertilisants comme les nitrates et les engrais potassiques tel que le chlorure de potasse induisent la réduction de la perméabilité du sol et l'accumulation des sels (**Tableau 4**).

Le terme « *indice de salinité* » s'applique à l'impact d'un élément en solution dans un sol par rapport au nitrate de sodium, qui est le point de référence 100. Il indique l'aptitude d'un engrais à « brûler » quand il est en contact avec la graine dans le sol, car certains éléments fertilisants placés près des graines ou au pied des plantes augmentent la pression osmotique de la solution du sol et par voie de conséquence provoquent des pertes sévères de récolte.

Les averses, qui peuvent éventuellement détacher des matériaux solides salés à partir des gisements originels et les transporter par ruissellement. Ces eaux vont par la suite s'accumuler dans des zones de dépression et causer ainsi une remonté du niveau phréatique.

Une saison sèche prolongée, pendant laquelle la chaleur et l'insolation provoquent une évaporation intense : ce mécanisme s'opérant en période sèche, il est le résultat d'une évaporation qui provoque l'ascension du salant par remonter capillaire.

### 3.3 La classification des sols

Basé sur la concentration en sel et le rapport  $Na / (Ca+Mg)$ , les sols ont été classifiés comme salin, sodique ou salin-sodique. La concentration totale en sels est habituellement mesurée par la conductivité électrique (*CE*) dans les unités de  $dS m^{-1}$ , où  $1 dS m^{-1}$  est approximativement égal à une concentration de 10 mM du sel qui dissocie en deux ions monovalents quand ils sont en solution (par exemple NaCl) (**Tableau 5**). Le « US Salinity Laboratory Staff » en 1954 a proposé le seuil de  $4 dS m^{-1}$  pour définir un sol salin (Essington, 2004). Des sols sodiques sont définis comme sols qui ont un rapport d'adsorption de sodium (Sodium Absorption Ration ou *SAR*) supérieur à 15. Le *SAR* est calculé comme suit (Cramer, 2002):

$$SAR = [Na^+] / [Ca^{+2} + M^{+2}]^{1/2}.$$

### 3.4 Les plantes et le stress salin

#### 3.4.1 La classification des plantes selon leur tolérance à la salinité

L'eau est une source indispensable pour les végétaux. Sa présence est une condition incontournable pour que toute la plante puisse se développer et assurer ses fonctions physiologiques vitales (Calu, 2006). Cependant, cette ressource n'est pas toujours facile d'accès dans le sol, suivant le milieu naturel. Ainsi les plantes présentes sur des surfaces sèches ou salées vont se retrouver exposées à un stress hydrique important, contre lequel elles devront lutter pour survivre. Dans le cas d'un

**Tableau 5. Classe de la salinité des sols (Maillard, 2001)**

<b>Classe</b>	<b>Conductivité de l'extrait de sol saturé (dS/m)</b>
Non salins	0-2
Légèrement salins	2-4
Modérément salins	4-8
Fortement salins	8-16
Très fortement salin	>16

stress salin, une double problématique se pose à l'organisme végétal : d'un côté la présence du sel, en abaissant le potentiel hydrique du sol, menace l'approvisionnement en eau de la plante. De l'autre, l'absorption du sel dans les tissus menace le bon fonctionnement physiologique des cellules. Suivant la production de biomasse des végétaux en présence de sel, quatre grandes tendances ont été discernées (**Figure 1**).

Suivant la production de biomasse des végétaux en présence de sel, quatre grandes tendances ont été discernées :

**a. Les halophytes vraies**

Dont la production de biomasse est stimulée par la présence de sels. Ces plantes présentent des adaptations poussées et sont naturellement favorisées par ces conditions : *Salicornia europaea*, *Suaeda maritima*...

**b. Les halophytes facultatives**

Montrant une légère augmentation de la biomasse à des teneurs faibles en sels : *Plantago maritima*, *Aster tripolium* (Calu, 2006).

**c. Les non-halophytes résistantes**

Supportant de faible concentration de sel : *Hordeum sp* (Calu, 2006).

**d. Les glycophytes**

Sensibles à la présence de sel : *Phaseolus vulgaris*, *glycine max*...

La réduction dans le taux de la chlorophylle observé avec l'intensité du stress salin pourrait être attribuée aux conditions dans lesquelles se trouvent les stomates car durant le stress salin, la concentration du CO<sub>2</sub> diminue dans le chloroplaste à cause de la réduction dans la conductance stomatique (Gama et al., 2007).

La grande majorité des stress salins est provoquée par des sels de Na<sup>+</sup>, particulièrement le NaCl. De ce fait, les termes halophytes et glycophytes font essentiellement référence aux stress provoqués par un excès de Na<sup>+</sup> (plus exactement, on devrait parler de plantes natrophyles ou natrophobes). Une plante halophyle obligatoire ne peut pas se développer sans un excès de sel de tolérance (sensibles à tolérantes) et de salinité (CE de 2 à 12 dS m<sup>-1</sup>) sont regroupées les espèces dont la croissance est réduite de moins de 10%.

Ainsi, il a été démontré que les plantes supérieures, incluant glyco- et halophytes, n'ont pas un métabolisme tolérant aux excès de sel même si certains organismes montrent une bonne croissance dans de l'eau de mer (Flowers, 1972 ; Greenway, 1972). L'avantage essentiel des halophytes sur les glycophytes réside dans la gestion des ions en excès dans l'organisme. Alors