



Projet de Fin d'Etudes

Licence Sciences & Techniques **«Biotechnologie et Valorisation des PhytoRessources»**

**Effet de l'acide salicylique et du stress salin sur
quelques paramètres de croissance de certaines plantes
aromatiques et médicinales**

Présenté par : ES-SBIHI Fatima Zohra

Encadrée par: Mr AMRANI JOUTEI Khalid

Mr HAZZOUMI Zakaria

Soutenu le : 15 / 06 / 2015

Devant le jury composé de :

- Mr AMRANI JOUTEI Khalid
- Mr BOUKIR Abdellatif
- Mr RACHIQ Saad

Année universitaire
2014/2015

Dédicace

Je dédis ce travail :

A mes très chers parents

*Je tiens à souligner le grand sentiment que je
porte envers eux, en reconnaissance de tous les
sacrifices consentis par tous pour me
permettre d'atteindre cette étape de ma vie
avec toute ma tendresse*

A mes sœurs

A mes meilleures amies

A mes amies et collègues d'auditoire

A tous Les étudiants de la faculté

Des sciences et techniques

Remerciement

Au terme de ce travail, je tiens à remercier Dieu tout puissant de nous avoir donné le courage, la volonté et la patience pour achever ce travail

J'ai l'honneur et le plaisir de présenter mes profondes gratitudee et mes sincères remerciements au Pr. AMRANI JOUTEI Khalid, pour avoir accepté de m'encadrer, pour le choix du thème, pour ses orientations

Je remercie également Monsieur HAZZOUMI ZAKARIA pour l'aide et les conseils concernant les missions évoquées dans ce rapport, qu'il m'a apporté lors des différents suivis

Je voudrais également exprimer toute mes reconnaissances à l'ensemble des membres du jury Pr. BOUKIR Abdellatif et Pr RACHIQ Saad pour le temps qu'ils ont consacré pour l'évaluation de ce travail.

Une tendre pensée pour nos parents, pour leur patience, leur présence à nos côtés et leur contribution à l'élaboration de ce manuscrit.

Nos profondes reconnaissances également à l'ensemble des enseignants du département de biologie, faculté des sciences et techniques.

Une pensée amicale aux collègues étudiants et étudiantes pour leur soutien et leur encouragement.

Nous remercions également tous ceux qui ont contribué de prêt ou de loin à la réalisation de ce rapport

Liste des figures

Figure1 : variation du taux de germination des graines <i>Coriandrum sativum</i> en fonction des concentrations d'acide salicylique au cours du temps	9
Figure 2 : variation du taux de germination chez <i>Coriandrum sativum</i> en fonction des concentrations d'acide salicylique en présence de NaCl au cours du temps	9
Figure 3 : variation du taux de germination en fonction des concentrations d'acide salicylique au cours du temps chez <i>Ocimum gratissimum</i>	10
Figure 4 : longueur de la tige chez <i>Mentha suaveolens</i>	10
Figure 5 : Nombre et longueur des entre nœuds chez <i>Mentha suaveolens</i>	11
Figure6 : La variation des teneurs en chlorophylle (mg/g) chez <i>Mentha suaveolens</i> après l'application des différents traitements	12
Figure 7 : La variation des teneurs en proline ($\mu\text{g/g}$) chez <i>Mentha suaveolens</i> après l'application des différents traitements	12
Figure 8 : Variation des teneurs en sucres solubles chez les plantes de <i>Mentha suaveolens</i> après l'application des différents traitements	12
Figure 9 : La teneur en tanins condensée et en polyphénols (mg/g) après l'application des différents traitements chez <i>Mentha suaveolens</i>	13
Figure10 : Les teneurs en peroxyde d'hydrogène ($\mu\text{mol/g}$) après l'application des différents traitements chez <i>Mentha suaveolens</i>	13

SOMMAIRE

Partie I: Synthèse bibliographique

I. Définitions de la salinité.....	1
II. la salinité et la plante.....	1
1. Effet des sels sur la germination.....	1
2. Effet des sels sur la croissance et développement.....	1
III. Mode d'adaptation des plantes à l'excès de sel.....	2
VII. L'Acide salicylique.....	2
1. Rôle de l'acide salicylique.....	3
2. L'acide salicylique et le stress salin.....	3
V. Les plantes utilisées.....	4

Partie II. Matériel et Méthode

I. Matériel végétal.....	5
1. Les tests de germination.....	5
2. Culture des boutures de <i>Mentha suaveolens</i>	5
3. Mesure de la conductivité.....	6
II. Les paramètres étudiés :.....	6
1. Les paramètres morphologiques.....	6
2. Les paramètres biochimiques.....	6
2.1. Dosage des pigments chlorophylliens.....	6
2.2. Dosage de la proline.....	7
2.3. Dosage de peroxyde d'hydrogène.....	7
2.4. Dosage des composés phénoliques totaux.....	7
2.5. Dosage des tanins condensés.....	8
2.6. Dosages des sucres solubles.....	8

Partie III résultats et discussion

I. Résultats.....	9
1. Les tests de germination.....	9
1.1. <i>Coriandrum sativum</i>	9
1.2. <i>Ocimum gratissimum</i>	10
2. Action de stress salin sur la morphologie et la biochimie de <i>Mentha suaveolens</i>	11
2.1. Action de l'acide salicylique et du stress salin sur les paramètres morphologiques <i>Mentha suaveolens</i>	11
2.2. Action d'acide salicylique et du stress salin sur les paramètres biochimiques <i>Mentha suaveolens</i>	12
II. Discussion.....	15
Conclusion	18
Référence bibliographique	19

Résumé

Le présent travail consiste d'étudier l'action combinée du stress salin et d'acide salicylique sur la germination ainsi sur le comportement physiologique de 2 plantes aromatiques et médicinales largement utilisé au Maroc (*Ocimum gratissimum*, et *Coriandrum sativum*) d'une part, et sur la morphologie et la réponse biochimique d'une plante médicinale et aromatique *Mentha suaveolens* d'autre part.

Les tests de germination consistent à utiliser des concentrations croissantes en (acide salicylique AS) allant de 0 mM à 30 mM en présence et en absence de NaCl à 150mM. L'étude a montré que le sel a un effet dépressif sur le taux de germination et de la croissance biologique des plantules. Par ailleurs, la présence d'acide salicylique dans le milieu stressé semble jouer un rôle important dans la tolérance et ce rôle varie en fonction de la concentration d'AS.

L'autre partie de cette étude a été menée sur des boutures de *Mentha suaveolens*, le traitement a été effectué par deux types de solutions, une solution à base de sels (NaCl) 150mM et 3 concentration d'AS (10mM, 20mM, 30mM), Le stress salin a provoqué une diminution des paramètres morphologiques à savoir, la hauteur, le nombre et les longueurs des entre noeuds de la plante, ainsi il engendre également des variations au niveau des paramètres physiologiques et biochimiques. Une forte diminution des pigments chlorophylliens, une forte accumulation de cinq paramètres métabolique étudiée (phénol totaux, tanins condensée, sucre soluble, proline et peroxyde d'hydrogène) ces teneurs diminuent progressivement avec l'application des concentrations croissante en acide salicylique. Surtout avec l'application d'AS 30mM.

Mot clés : *Ocimum gratissimum*, *Coriandrum sativum*, *Mentha suaveolens*, stress salin, acide salicylique, paramètre biochimique, paramètre morphologique.

Introduction

La salinisation est un problème majeur à l'échelle du globe. Selon la FAO et les estimations les plus récentes, elle affecte déjà plus de 400 milliards d'hectares et en menace gravement une surface équivalente.

Au Maroc, la salinisation des sols prend des dimensions alarmantes en réduisant les terres cultivables et en menaçant la sécurité alimentaire du royaume. Ce problème de salinité s'accroît avec l'augmentation des surfaces irriguées qui sont passées de 54 500 ha en 1954 à plus de 1 million d'hectares actuellement.

La tolérance à la présence des sels est alors une qualité largement recherchée chez les végétaux d'intérêt agronomique afin d'élargir leur culture dans ces régions.

Dans cet objectif, nous avons essayé d'étudier l'action combinée du stress salin et de l'acide salicylique sur la germination ainsi que sur le comportement physiologique de 2 plantes aromatiques et médicinales largement utilisées au Maroc (*Ocimum gratissimum*, et *Coriandrum sativum*) d'une part, et sur la morphologie et la réponse biochimique d'une autre plante, *Mentha suaveolens* d'autre part.

I. Définitions de la salinité

La salinité peut être définie comme une accumulation excessive de sels dans les sols ou dans les eaux à un seuil pouvant avoir un impact sur les activités humaines et naturelles (plantes, animaux, écosystèmes aquatiques, approvisionnement en eau, agriculture, ...). On distingue deux types de salinité, une salinité primaire où l'augmentation de sels est uniquement due à des processus naturels et une salinité secondaire ou induite où les augmentations ont eu lieu en raison des changements des pratiques d'utilisation des terres par les activités humaines.

II. la salinité et la plante

Le stress salin comme beaucoup d'autre stress abiotique inhibe la croissance des plantes, les concentrations élevées de sel cause un déséquilibre des ions (Zhu, 2001).

La tolérance au sel n'est pas constante pour une même espèce ou variété. Elle peut changer en fonction de l'âge physiologique ou du stade végétatif de la plante (Bennabi., 2005).

1. Effet des sels sur la germination

Le stress salin peut avoir un impact sur la mobilisation des éléments minéraux de la graine vers les jeunes plantules mais ces effets n'ont pas de conséquence à court terme sur les processus de croissance .cet effet dépressif des sels peut être aussi de nature osmotique (Debez et al. , 2001).

Les effets de la salinité varient suivant le stade de développement généralement, la tolérance à celle-ci augmente depuis la germination jusqu'à la fructification. Rejilli et *al.*(2006) ont remarqué que la présence de sel dans le milieu de culture réduit différemment la capacité germinative chez deux populations de lotier (*Lotus creticus* L.).

2. Effet des Sur la croissance et développement

La salinité est une contrainte majeure qui affecte la croissance et le développement des plantes (Bouaouina et *al.*, 2000) par plusieurs manières :

-La concentration élevée de NaCl diminue l'absorption de Ca^{2+} qui est relativement tolérante au sel, l'augmentation de la concentration en Na^+ s'accompagne d'une réduction de la concentration en Mg^{2+} , K^+ , N, P et Ca^{2+} dans la plante . Ce déséquilibre nutritionnel est une cause possible des réductions de croissance en présence de sel lorsque des ions essentiels comme K^+ , Ca^{2+} ou NO_3 deviennent limitant (Haouala et *al.*, 2004).

- Les effets osmotiques du stress salin peuvent également limiter la croissance des racines, ce qui limite les possibilités d'absorption des éléments nutritifs du sol (Jabnourne, 2008).

- le métabolisme azoté et la synthèse protéique sont sévèrement affectés par le stress salin, il en résulte un développement anormal des plantes et une diminution du rendement (Benkhaled et al, 2003)

- Le stress salin affecte aussi la photosynthèse de nombreuses espèces végétales (Omami, 2005)

3. Mode d'adaptation des plantes à l'excès de sel

Quand des plantes sont exposées à des concentrations élevées du sel, ils peuvent développer divers mécanismes pour leur survie :

- morphologiquement par épaissement de la cuticule, diminution du nombre de stomates (Heller et al, 1998) ou développement de grandes vacuoles pour favoriser le stockage de NaCl (Luttge al, 2002).

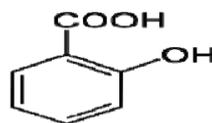
- physiologiquement par Compartimentation vacuolaire, Répartition et accumulation des ions dans la plante, Accumulation de solutés organiques (osmorecepteur)

Par ailleurs Il a été reporté dans plusieurs études que le peroxyde d'hydrogène s'accumule lors de stress salin, dans ce type de stress environnementaux, H₂O₂ jouerait le rôle de molécule signale de la réponse.

En effet l'exposition des plantes au stress salin mène à une accumulation des composants contenant de l'azote, comme les acides aminés, protéines, polyamines et leurs accumulations corrélés avec la tolérance de la plante à la salinité (Omami, 2005)

III. L'Acide salicylique

L'acide salicylique ou l'ortho-hydrox benzoïque (Raskin et al., 1990) a été caractérisé dans 36 plantes appartenant à divers groupes. L'acide salicylique est considérée comme étant une hormone végétale puissante (Raskin., 1992 a) en raison de ses fonctions de réglementation dans divers métabolismes de la plante . C'est un régulateur de croissance végétale endogène de nature phénolique qui possède un cycle aromatique avec un groupe hydroxyle ou son dérivé fonctionnel (Raskin., 1992).



1. Rôle de l'acide salicylique

L'acide salicylique est considérée comme une molécule de signalisation importante impliquée dans la résistance à la maladie locale et endémique dans les plantes en réponse à diverses agressions pathogènes (Alveres ., 2000).

L'acide salicylique a été trouvé jouer un rôle clé dans la régulation de la croissance des plantes, développement, et dans les réponses au divers stress environnementaux (Senaratana et al.,2000).

En effet l'acide salicylique est nécessaire pour activer la plupart des réactions de défense de plante et on observe une augmentation de sa concentration suite à une attaque par des agents pathogène (Smith et al, 1998) ou en réponse à divers stress. Par ailleurs il existe généralement une bonne corrélation entre la capacité de résistance de la plante et sa teneur en acide salicylique (Gozzo,2003).

L'acide salicylique joue un rôle primaire pour induire l'expression de nombreux gène qu'il s'agisse ou non de gène de métabolisme phénolique. La conséquence en est l'activation des systèmes de défense de la plante, se traduisent par l'accumulation des composés phénoliques et la mise en place de la protéine PR.

IV. l'acide salicylique et le stress salin

la corrélation observée entre la concentration d'acide salicylique et la résistance des plantes laisse supposer au auteur que l'acide salicylique est une molécule de signale commune chez les plantes, et responsable d'inciter sa tolérance à certains nombre de stress biotique et abiotique (Nicol et al.,1998)

L'application exogène de l'acide salicylique a un effet sur large gamme de processus physiologique en condition défavorable externe, il a été prouvé dans plusieurs recherche que l'acide salicylique participe a la régulation de plusieurs voie métaboliques et physiologiques, mais son mécanisme d'action n'est pas encore bien claire est toujours un sujet d'étude (Shakirova et al.,2007).

En l'additionnant au milieu d'irrigation ou par pulvérisation foliaire, l'acide salicylique joue chez certaines plantee, et sous différentes conditions climatiques un rôle de molécule signale pour induire la résistance ou la tolérance des plantes aux stress salin (Korkmaz et al.,2007)

V. Les plantes utilisées

1. *Mentha suaveolens*

Mentha suaveolens est une stricte espèce vivace endémique marocaine. Il Constitue un des herbes aromatiques les plus appréciés. Cette espèce aromatique est considérée comme un agent aromatisant important, Le genre *Mentha*, l'un des éléments importants de la famille des *Lamiaceae*, est représenté par environ 19 espèces et 13 hybrides naturels. présent de l'Afrique du nord, Amérique et au Japon, l'Asie et l'Europe tempérée (Abbaszadeh et al., 2009).

M. suaveolens a été utilisé dans le médecine traditionnelle des régions méditerranéennes pour le traitement de la toux et un excellent carminative et antispasmodique (Bellakhdar, 1996)

2. *Coriandrum sativum*

Coriandrum sativum est une plante herbacé, aromatique et annuelle plante cultivée dans les zones tempérer du monde entiee et employer pour de nombreuse préparation caulinaire, particulièrement en Asie, en Amérique latine

Les graines de coriandre renferment une huile essentielle ou essence composée d'un linalol appelé coriandrol (de géraniol 60 à 70%) et des antioxydants (acides phénoliques, coumarines, terpénoïdes et flavonoïdes).

3. *Ocimum gratissimum*

Ocimum gratissimum L est l'une des plantes aromatiques très utilisées dans la médecine traditionnelle au Maroc. De nombreux travaux ont été réalisés sur cette plante (Hazzoumi.Z and Amrani Joutei 2014), (Hazzoumi.Z and Amrani Joutei 2015). Ces travaux ont porté principalement sur l'amélioration du rendement en huiles essentielles et sur la composition chimique de ces huiles. Ainsi que l'influence du stress hydrique et de la mycorhization sur la croissance et la synthèse des composés phénoliques synthétisés par cette plante.

I. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude consiste en 3 plantes aromatiques

❖ <i>Coriandrum sativum</i>	❖ <i>Ocimum gratissimum</i>	❖ <i>Mentha suaveolens</i>
Règne : Plantae	Règne : Plantae	Règne : Plantae
Sous-règne : Tracheobionta	Sous-règne : Tracheobionta	Division : Magnoliophyta
Division : Magnoliophyta	Division : Magnoliophyta	Classe : Magnoliopsida
Classe : Magnoliopsida	Classe : Magnoliopsida	Ordre : Lamiales
Sous-classe : Rosidae	Ordre : lamiale	Famille : Lamiaceae
Famille : <i>Apiaceae</i>	Famille : Lamiaceae	Genre : <i>Mentha</i>
Genre : <i>Coriandrum</i>	Sous famille : Nepetoideae	Espèce : <i>Mentha suaveolens</i>
Espèce : <i>Coriandrum sativum</i>	Genre : <i>Ocimum</i>	
	Espèce : <i>Ocimum gratissimum</i>	

II. Les tests de germination

- les graines de *Coriandrum sativum* et d'*Ocimum gratissimum* ont été mises en germination en présence de stress et d'AS selon dispositif suivant:

Les graines des deux espèces au nombre de 50, ont été désinfectées à l'eau de javel, puis rincées à l'eau distillée. Ensuite elles sont mises à germer dans des boîtes de pétri couvertes de papier filtres puis mises dans un incubateur réglé à une température de 25°C. 3 traitements ont été réalisés

Un traitement par NaCl 150mM, un traitement par AS (5, 10, 15, 20, 25 et 30 mM) et enfin un traitement par AS+NaCl aux mêmes concentrations

III. Culture des boutures de *Mentha suaveolens*

Des boutures de *Mentha suaveolens* de 10 cm de longueur, comprend au moins 2 entre nœuds sont mise en culture dans des pots en plastique sous serre puis Les plants ont été récoltés après 77 jours de traitement. Après 30 jours de croissance on arrose les plantes par différent traitement de NaCl et d'AS selon dispositif suivant :

Traitement par NaCl : L'arrosage par une solution de NaCl 150mM afin de garder une conductivité de 4 mmhos/cm.

Traitement par l'AS

10mM	→	3 répétitions
20mM	→	3 répétitions
30mM	→	3 répétitions

Traitement par NaCl+AS

S+AS 10 Mm	→	3 répétitions
S+AS 20mM	→	3 répétitions
S+AS 30mM	→	3 répétitions

IV. Mesure de la conductivité

L'extraction de l'électrolyte a été réalisée par la technique décrite par Loyer et al (1993) 20 ml d'eau distillé ajoutée à 4g du sol issu de chaque traitement suivie d'une agitation pendant 30 min puis la conductivité est mesurée par un conductimètre.

V. Les paramètres étudiés :

1. Les paramètres morphologiques

-**Taux de germination** : Il est exprimé par le rapport du nombre des graines germées sur le nombre total des graines testées

- **La longueur de la tige des plantes et le nombre des longueurs des entrenœuds** : Avant prélèvement le matériel végétal (*Mentha suaveolens*) nous avons mesuré la hauteur de la tige en centimètres (cm) à l'aide d'une règle graduée pour les 8 traitements.

2. Les paramètres biochimiques

Plusieurs paramètres biochimiques ont été évalués au cours de cette étude :

- les pigments chlorophylliens
- proline
- peroxyde d'hydrogène
- composées phénoliques
- tanins condensés
- sucres solubles

2.1. Dosage des pigments chlorophylliens

L'extraction et le dosage de chlorophylle ont été réalisés selon la méthode décrite par (Inskeep et Bloom, 1985).

Extraction des pigments chlorophylliens est effectuée dans l'acétone à 80%. 1g de matière fraîche, issue de chaque traitement, sont broyées dans 10 ml d'acétone 80%, avec une pincée de carbonate de magnésium et 5g de sulfate de sodium anhydre, Le broyat obtenu est ensuite filtré.

Le dosage est effectué par 0,5 ml de filtrat avec 4,5 d'acétone 80% . Les mesures de DO sont faites au spectrophotomètre à longueurs d'ondes de l'ordre de 663nm pour la chlorophylle a et 645 nm pour la chlorophylle b.

2.2. Dosage de la proline

L'extraction et le dosage de la proline ont été réalisés selon la méthode décrite par Bates et al. (1973).

100 mg d'échantillons foliaires et des racines issus de chaque traitement sont broyés dans 2 ml d'une solution de méthanol 40 % puis porter au bain marie 85 degré pendant une heure. Le

dosage de la proline est réalisé en ajoutant à 1 ml du d'extrait 1 ml d'acide acétique, 25mg nihydride et 1ml de mélange (12ml d'eau distillé, 30ml d'acide acétique et 8 ml acide ortho phosphorique). Les tubes sont incubé pendant 30 min a 100 degré dans un bain-marie.4 ml de toluène sont ajoutés à chaque tube, puis la densité optique des tubes est lue à 525 nm.

2.3. Dosage de peroxyde d'hydrogène

L'extraction et le dosage de la proline ont été réalisé selon la méthode décrite par Sergieva.L et al.,(1997)

1 g d'échantillons foliaires frais et racine issu de chaque traitement sont broyé dans 15 ml d'acide trichloracétique, le broyat est centrifugée pendant 15 min à 12000 rpm. Le dosage est réalisé en ajoutant à 0,5 ml de surnageant 0,5 de tampon phosphate pH 7 et 1 ml d'iodure de potassium 1mM puis la densité optique des tube est lue à 390 nm.

2.4. Dosage des composés phénoliques totaux

0,5g de matériel végétal sont broyés avec 5ml d'éthanol 50%. (les extraits de feuilles sont traités 0,5ml de chloroformes pour éliminer la chlorophylle). Après 7 heures d'agitation, les tubes sont agités et centrifugés et les surnageants sont récupérés pour le dosage.

Ce dosage repose sur la méthode utilisant le réactif de Folin-ciocalteu constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique. L'oxydation des phénols réduit ce réactif en un mélange d'oxydes bleu de tungstène et de molybdène. L'intensité de la couleur est proportionnelle au taux de composés phénoliques oxydés.

Le dosage des compose phénoliques est réalisée en ajoutant à 0,5ml d'extrait 3ml d'eau, 0,5ml de Na₂Co₃ 20 %,les tubes sont agités , et après 3min on ajoute 0,5ml de réactif de Folin-ciocalteu . Les tubes sont mélangés et placer à 40°C pendant 30min. l'absorbance est lue à 760nm

2.5. Dosage des tanins condensés

Il est basé sur la propriété que les tannins se transforme en anthocyanes par chauffage en milieu acide (Ribereau-Gayon et stonnestreet , 1966)

Dans ce dosage une partie de l'extrait éthanolique est utilisée pour le dosage des tanins condensés. Dans deux tubes, on met 3 ml de l'extrait éthanolique auquel on rajoute 3 ml d'HCl concentré. le Tubes 1 est placé dans le bain marie à 100°C pendant 30 minutes, suivi d'un refroidissement rapide, le Tube 2 est maintenu à température ambiante. Après 30 min, on rajoute 0.5ml d'éthanol dans les deux tubes. la lecture est réalisée à 550nm.

2.6. Dosages des sucres solubles

La teneur en sucres totaux est déterminée par la méthode phénol-acide sulfurique décrite par (Dubois et *al.* 1956).

L'extraction des glucides est faite par l'éthanol à 80%. 100mg des d'échantillons sont broyées dans 5ml d'éthanol 80%.les tube sont chauffé pour évaporer l'alcool, dans chaque tube on ajoute 10ml d'eau distillé c'est la solution à analyser .1ml de solution à doser auquel on ajoute 1ml de solution de phénol 5% et 5 ml d'acide sulfurique les tubes sont agités et placés à 5 °C pendant 45 min et 30 min à l'obscurité, la lecture est réalisée à 485nm.

I. Résultats

1. Les tests de germination

1.1. *Coriandrum sativum*

a. Influence de l'acide salicylique sur le taux de germination

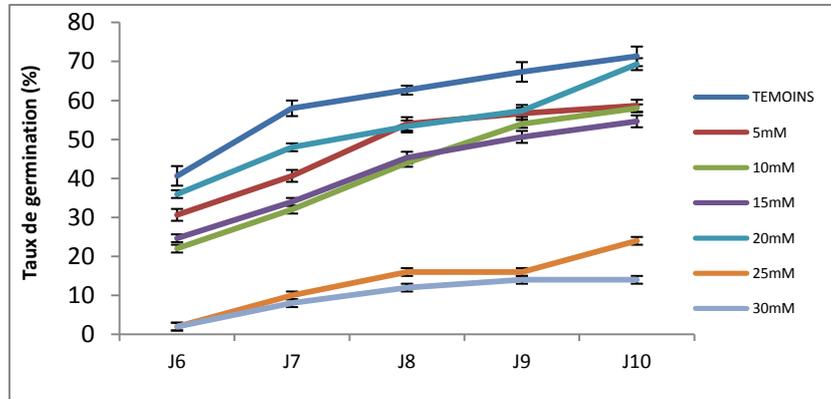


Figure 1 : variation du taux de germination des graines *Coriandrum sativum* en fonction des concentrations d'acide salicylique au cours du temps

Le taux de germination des graines commence à partir du 6ème jour puis augmente régulièrement jusqu'au 10ème jour. Cette germination est inhibée par des concentrations élevées en AS (25, 30mM), alors que les concentrations comprises entre 5 et 20 mM permettent une diminution de la germination avec néanmoins des taux plus faibles par rapport au témoin

b. Influence de l'acide salicylique sur le taux de germination en présence du stress salin

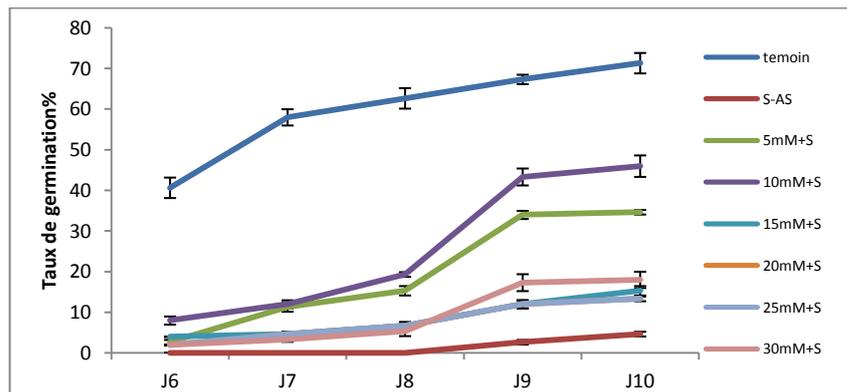


Figure 2 : variation du taux de germination chez *Coriandrum sativum* en fonction des concentrations d'acide salicylique en présence de NaCl au cours du temps

En présence d'un stress salin, la germination ne commence qu'à partir du 9ème jour avec un taux pratiquement nul en absence de l'AS. En présence de l'AS, l'augmentation du taux de

germination est inversement proportionnelle à la concentration de l'AS avec une tolérance importante lorsque la concentration de cette molécule est de 10mM.

1.2. *Ocimum gratissimum*

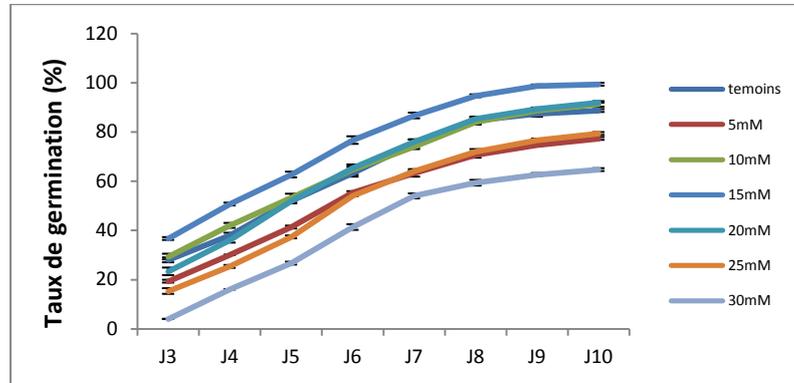


Figure 3: variation du taux de germination en fonction des concentrations d'acide salicylique au cours du temps chez *Ocimum gratissimum*

La germination des graines d'*Ocimum gratissimum* commence à partir du 3ème jour et augmente régulièrement au cours du temps. Elle est stimulée par l'acide salicylique à 15 mM. Des concentrations plus élevées (25 et 30mM) ou plus faibles (5 mM) inhibent cette germination.

2. Action de stress salin et de l'acide salicylique sur la morphologie et la biochimie de *Mentha suaveolens*

2.1. Action de l'acide salicylique et du stress salin sur les paramètres morphologiques chez *Mentha suaveolens*

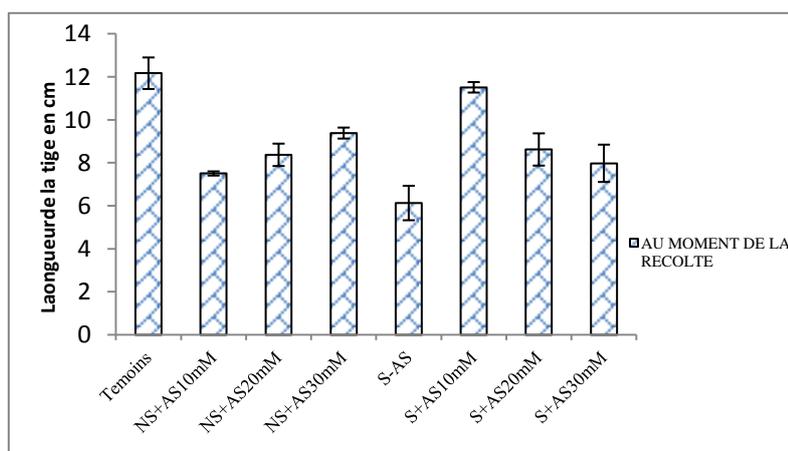


Figure 4: longueur de la tige chez *Mentha suaveolens*

L'AS inhibe la croissance de la plante lorsque celle-ci n'est pas stressée (figure 4). En cas de stress salin, on constate que l'acide salicylique permet de remédier à l'effet inhibiteur du stress

principalement pour des concentrations faibles de 10 mM. La même constatation peut être faite sur le nombre des entre nœuds (figure 5a) et sur leur longueur (figure 5b)

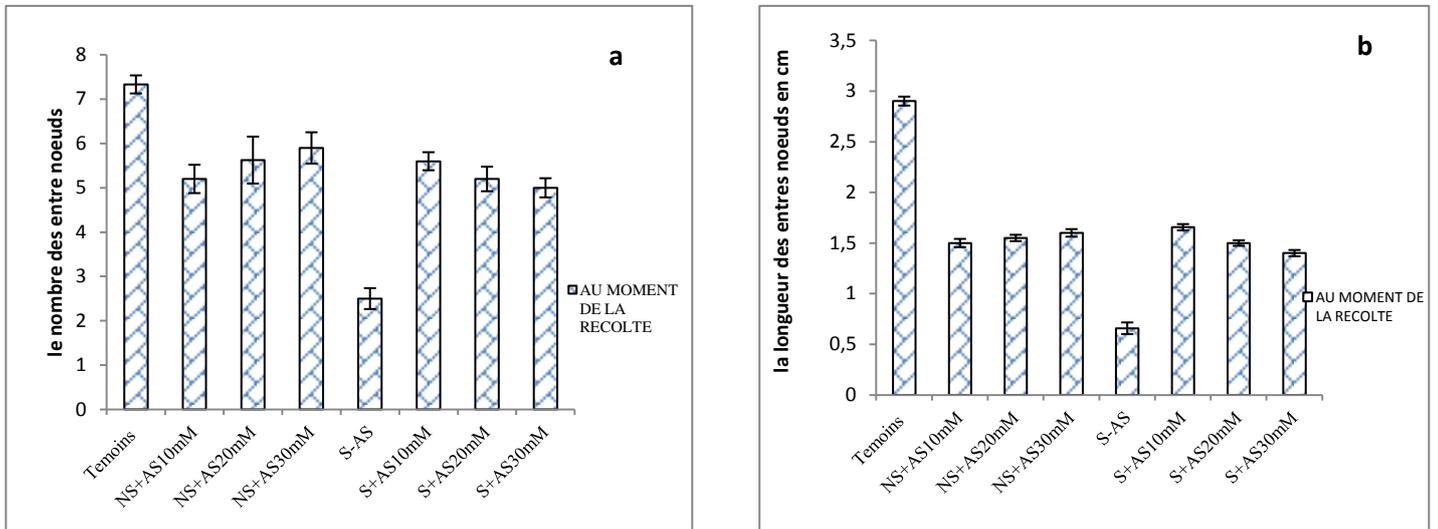


Figure 5 : Nombre et longueur des entre nœuds chez *Mentha suaveolens*

2.2. Action de l'acide salicylique et du stress salin sur les paramètres biochimiques chez *Mentha suaveolens*

2.2.1. Teneurs en chlorophylles

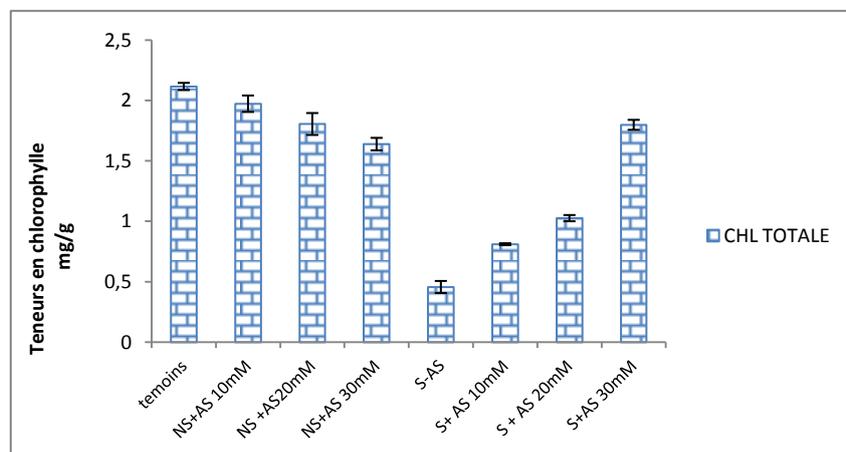


Figure6: La variation des teneurs en chlorophylle (mg/g) chez *Mentha suaveolens* après l'application des différents traitements

En absence de stress, l'acide salicylique entraine une faible diminution des teneurs en chlorophylles. Par ailleurs, l'application d'un stress salin diminue fortement ces teneurs. Cet effet néfaste des ions sodium s'atténue avec l'application de concentrations croissantes

d'acide salicylique, avec cependant la concentration de 30mM qui permet de revenir à la normale.

2.2.2. Teneur en proline

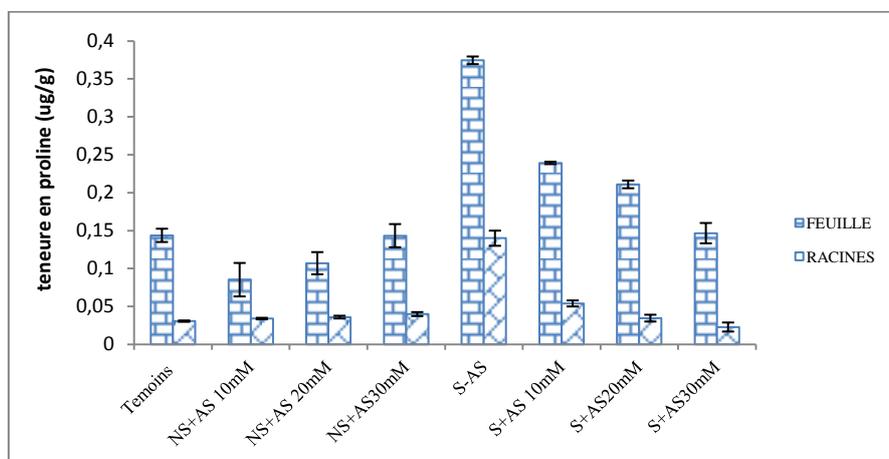


Figure 7 : variation des teneurs en proline (µg /g) chez *Mentha suaveolens* après l'application des différents traitements

Dans les conditions normales et en absence de stress salin, les teneurs en proline au niveau des feuilles diminuent avec l'application des concentrations en acide salicylique, spécifiquement à une faible concentration (10mM). Par ailleurs en présence de stress salin et en absence d'acide salicylique la teneur en proline augmente, puis diminuent progressivement avec l'application des concentrations croissantes en acide salicylique. Surtout avec l'application d'Acide salicylique 30mM.

Au niveau racinaire on remarque une augmentation remarquable juste chez les plantes stressées sans application d'acides salicylique, par contre ces valeurs restent plus au moins stable chez les autres traitements.

2.2.3. Teneurs en sucres solubles

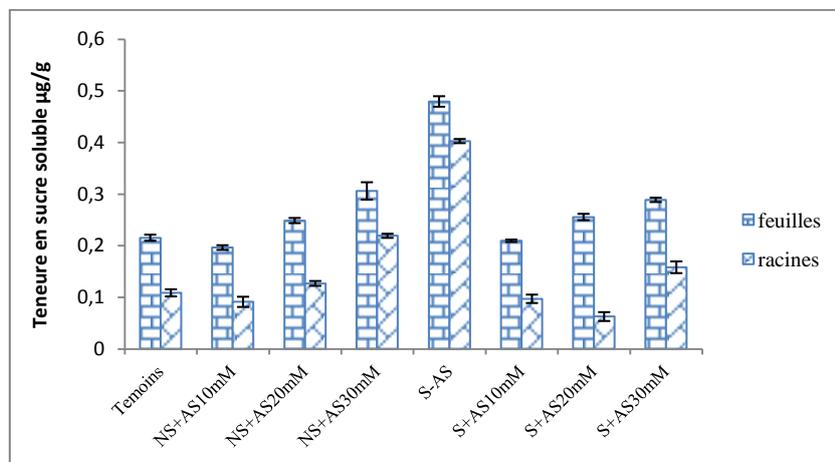


Figure 8 : Variation des teneurs en sucres solubles chez les plantes de *Mentha suaveolens* après l'application des différents traitements

La figure 8 montre que l'accumulation des sucres solubles des feuilles augmente chez les plantes NS cultivées en présence d'acide salicylique et cette augmentation est d'autant plus grande que la concentration en AS est plus importante.

Chez les plantes stressées et en absence d'acide salicylique, la teneur en sucre soluble dans les organes foliaires est très élevée ; l'application d'AS entraîne une diminution des teneurs en sucres solubles.

Au niveau racinaire les teneurs en sucres solubles subissent les mêmes tendances que les parties aériennes, avec maximum d'accumulation chez les plantes stressées et sans application d'acide salicylique.

2.2.4. Teneurs en polyphénols et en Tanins condensés

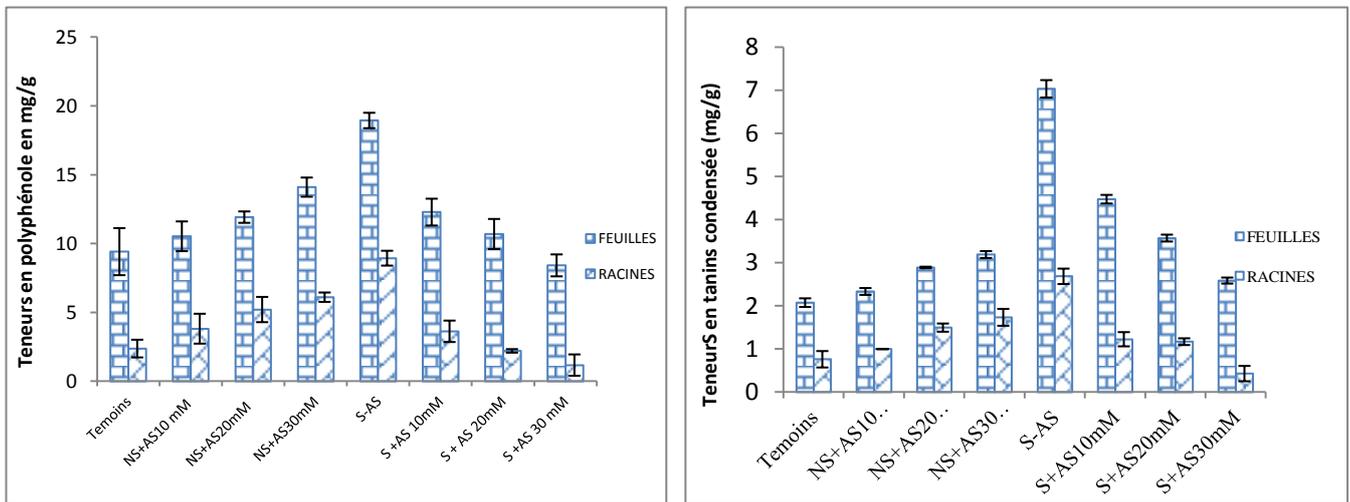


Figure 9 : La teneur en tanins condensée et en polyphénols (mg/g) après l'application des différents traitements chez *Mentha suaveolens*

En absence de stress salin, les teneurs en polyphénols augmentent en fonction de l'augmentation des concentrations d'AS dans les parties aériennes et racinaires. Par ailleurs, chez les plantes traitées uniquement par NaCl, on enregistre une augmentation des teneurs en composés phénoliques au niveau des feuilles par rapport aux plantes témoins. Par contre, lorsqu'on applique un traitement d'acide salicylique, ces teneurs diminuent d'une façon importante proportionnellement à l'augmentation de la concentration d'acide salicylique, pour atteindre une valeur normale chez les plantes S+AS30mM. Les parties racinaires subissent les mêmes variations que les parties aériennes

Les composés phénoliques sont constitués de grande partie par les tanins condensés (fig 9). En présence d'acides salicyliques et absence de stress, ces teneurs augmentent légèrement selon le gradient de concentration.

En conditions de salinité et en absence de traitement par acide salicylique, les teneurs en tanins dans les organes foliaires augmente d'une manière importante, ces teneurs diminuent fortement jusqu'à des valeurs normales lorsqu'on applique l'acide salicylique à 30mM, par ailleurs on assiste à une légère augmentation chez les plantes stressées et traitées par 10 et 20mM.

Au niveau racinaire les teneurs en tanins condensés subissent les mêmes tendances que les parties aériennes, avec un maximum d'accumulation chez les plantes stressées et sans application d'acide salicylique.

2.2.5. Teneur en peroxyde d'hydrogène

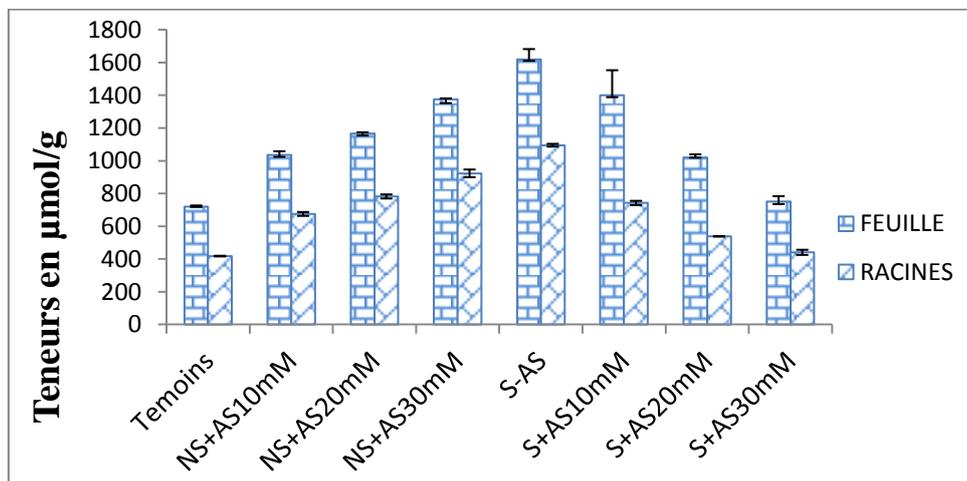


Figure10: Les teneurs en peroxyde d'hydrogène ($\mu\text{mol/g}$) après l'application des différents traitements chez *Mentha suaveolens*

Les résultats de la figure 10 indiquent qu'en absence de stress les teneurs en peroxyde d'hydrogène des feuilles augmentent avec l'augmentation de la concentration en acide salicylique, par ailleurs l'application d'un stress salin augmente fortement ces teneurs, cependant l'effet néfaste de la salinité s'atténue avec l'application des concentrations croissantes d'acide salicylique. La concentration de 30mM permet de ramener ces teneurs à une valeur plus au moins normale trouvée chez le témoin.

Au niveau racinaire les teneurs en peroxyde d'hydrogène subissent les mêmes tendances que les parties aériennes, avec maximum d'accumulation chez les plantes stressées et sans application d'acide salicylique.

II. Discussion

Nos résultats montrent un effet négatif du sel sur la germination, ces résultats sont cohérents avec ceux de (Shakirova et *al.*, 2003) qui ont rapporté des résultats remarquables sur la germination des graines avec l'application AS. Par ailleurs El keblawy et *al.*, (2005), ont montré que la salinité élevée cause une inhibition de la germination.

L'application exogène de l'AS peut influencer sur une gamme de divers processus, y compris la germination des graines, la fermeture des stomates, l'absorption d'ions et le transport, la photosynthèse et la croissance (El tayebe, 2005).

Par ailleurs la salinité exerce un effet négatif sur la croissance, les résultats obtenus montrent que la croissance ralentit après une application du stress salin. Nos résultats concordent avec ceux de Bouaouina et *al.*, (2000), qui ont montré que l'augmentation de la concentration en NaCl, diminue la croissance du blé dur (*Triticum durum* L.). Par ailleurs d'après Bouchoukh (2010) la salinité limite la croissance et le développement des plantes, cette réduction de la croissance semble être associée à une forte accumulation de Na⁺ dans la plante. Cette diminution de la croissance est confirmée par la diminution des teneurs en pigments chlorophylliens en présence de NaCl. Dans ces conditions, l'acide salicylique semble jouer un rôle important dans l'accumulation de la chlorophylle chez les plantes stressées, En absence de stress et avec l'addition de différentes concentrations d'acide salicylique les teneurs en pigments chlorophylliens semblent peu influencés. Ces résultats obtenus sont en accord avec les résultats d'El Housseine et al. (1998) qui ont obtenu une diminution de pigments chlorophylliens suite à un stress salin chez trois variétés de blé. Par ailleurs Shaheena et al. (2005) ont rapporté une diminution des chlorophylles suite à un stress salin chez la moutarde. Ces constatations sont aussi en accord avec ceux Unlu et al (2009) qui montrent que les teneurs en chlorophylle totale augmentent en présence de l'acide salicylique par rapport au témoin non traitées chez l'haricot, ces auteurs concluent aussi que l'acide salicylique diminue l'effet négatif du sel.

Le dosage de proline indique que l'accumulation de ce paramètre se produit au niveau des organes foliaires et racinaires avec une forte accumulation au niveau des feuilles.

En absence de stress et avec l'addition de différentes concentrations en acide salicylique, les teneurs en proline semblent peu influencés. Par ailleurs, Ces résultats montrent aussi que la présence de NaCl dans les solutions d'irrigation induit une augmentation de la proline au niveau des feuilles et des racines. Cette accumulation de la proline montre une aptitude de

résistance à la salinité chez *Mentha suaveolens*. ces constatations sont en accord avec les résultats de Hassani et *al.*, (2002) qui ont trouvé une accumulation de la proline comme une réponse aux stress salin chez l'orge.

Concernant l'accumulation de sucre soluble, nos résultats montrent que la présence de NaCl dans les solutions d'irrigation induit une augmentation des sucres solubles totaux et le traitement par l'acide salicylique a influencée l'accumulation des sucres. Ces observations vont dans le même sens que celles rapportées par Karmous et *al* (2005) qui ont attribué l'accumulation du sucre au niveau foliaire chez le blé à une aptitude à réaliser une osmorégulation.

Cependant l'accumulation de peroxyde d'hydrogène, ont montré qu'en présence de NaCl les teneurs en peroxyde d'hydrogène augmentent d'une manière très remarquable et que l'acide salicylique diminue la teneur de peroxyde d'hydrogène chez les plantes stressées, En absence de stress et avec l'addition de différente concentration en acide salicylique les teneurs en H₂O₂ semblent peu influencés. Ces résultats sont en accord avec plusieurs études qui ont montrer que le peroxyde d'hydrogène s'accumule lors d'un stress salin, par ailleurs Matsuda et *al.*, (1994) a démontré que le traitement du blé à faible concentration de H₂O₂ induit la synthèse de polypeptide similaire a ceux trouve lorsque les plantes exposées à un stress. Moussa.(2006) a été proposée le H₂O₂ comme le médiateur le plus probable servant pour la transduction du signal de stress.

Au terme de notre travail qui a visé d'étudier la tolérance à la salinité en présence de différentes concentrations d'acide salicylique, et dans le but global de déterminer l'effet de ces paramètres sur la germination, la morphologie et sur quelques paramètres biochimiques, nous avons confirmé que le sel a un effet dépressif sur ces paramètres par ailleurs l'application d'acide salicylique dans le milieu stressé réduit le dommage de stress salin .Cependant, cet effet varie en fonction de concentration d'acide salicylique.

A la lumière de ces résultats, il est possible d'élargir les axes de recherches afin d'apporter plus d'informations concernant les mécanismes de résistances des plantes aux divers stress biotiques et abiotiques par l'utilisation des traitements par acide salicylique en vue d'une valorisation agronomique, écologique et économique. Ainsi nous pouvons suggérer que l'application de l'Acide salicylique doit être utilisée dans les études de germination chez d'autres plantes pour confirmer l'effet de cette molécule ainsi que la concentration optimale qui peut améliorer la germination.

Abbaszadeh B, et al., (2009). Studying of essential oil variations in leaves of *Mentha* species. *Afr. J. Plant Sci.* 3:217

Alveres AL., (2000). Salicylic acide in machinery of hypersensitive cell death and disease resistance. *Plant Mol-Biol.* 44,429-442

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

Bellakhdar, L., (1996). Medicinal plants in North Africa and basic care. In: *Hand book of Modern Herbal Medicine.* Le Fennec, Casablanca, pp. 385

Benkhaled ET al.,(2003). effect of salt stress in hydroponic on clover inoculated with rizobium.

Bouaouina et al., M. (2000) Tolérance à la salinité, transports ioniques et fluorescence chlorophyllienne chez le blé dur (*Triticum turgidum* L.) .CIHEAM –Options Méditerranéennes. pp.-2.

Debez et al.,(2001). Effet du NaCl et de régulateurs de croissance sur la germination d'*Atriplex halimus* L. *Cahiers d'Etudes et Recherches Francophones/Agricultures*, Vol. 10, N0.2 :135-138.

Dubois M., et al.,1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances

El Housseine T., et al.,(1998). Effet d'un stress osmotique sur l'accumulation de proline, de chlorophylle de ARNm codant pour la glutamine synthétase chez trois variétés de blé (*tritium durum*). *Bulletin de l'Institut Scientifique, Rabat*, 1997-1998, 21, 81-87.

EL KEBLAWY A. et al., (2005). Effect of salinity, temperature and light on germination of invasive *Prosopis juliflora* (Sw.) D.C. *J. Arid Environ.*, 61, 555-565

EL Tayeb, MA., (2005). Response of barley grains to the interactive effect of salinity and salicylic acid . *plant growth regul* 45:215-224

Gozzo.(2003). systemic acquired resistance__in crop protection :from nature to a chemical approach *J.Agric.Food.Chem.*, 51 PP 4787-4503

Haouala F.al.,(2004). Effet de la salinité sur la répartition des cations (Na^+ , K^+ et Ca^{2+}) et du chlore (Cl^-) dans les parties aériennes et les racines du ray-grass anglais et du chiendent. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 11 (3) ,235 -244.

Jabnour M.,(2008) adaptation des plantes au stress Salin : caractérisation de la transporteur de sodium et potassium de la famille HKT chez le riz .Thèse doctorat, univ Montpellier II.

Hazzoumi Z, Moustakime Y, Khalid A (2014) Effect of gibberellic acid (GA), indole acetic acid (IAA) and benzylaminopurine (BAP) on the synthesis of essential oils and the isomerization of methyl chavicol and trans-anethole in *Ocimum gratissimum* L. *Springer Plus* 3:321

Hazzoumi Z, Moustakime Y, Elharchli El and Amrani Joutei K. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and water stress on growth, phenolic compounds, glandular hairs, and yield of essential oil in basil (*Ocimum gratissimum* L.) *Chemical and Biological Technologies in Agriculture* (2015) 2:10

Loyer J.Y. al., (1987). Nouvelle paragenèse à sulfate d'aluminium .*Science du sol* ,25,3 :173-184

Mckinney (1941) Absorption of light by chlorophyll solutions. *J. Biol. Chem.* 140:315–332

Omami.(2005). Response of Amaranth to salinity stress .these of Ph.D.Horticultur.university .Perotoria.chapiter.1.P5-20.chapiter 6P1

Raskin L.,(1992). Rol of salicylic acide in plants. *Ann. Rev . Plant Physiol.Plant Moh .Biol.* 43,439-463.

Rejili .M(2006). Comportements germinatifs de deux population de (*Lotus creticus L.*) en présence du NaCl. Revue des régions.17, 65-78.

Ribereau-Gayon P, Stonestreet E (1966) Les composés phénoliques des végétaux

Senaratana et al., (2000). Acetyl salicylic acid induces multiple stress tolerance in bean and tomato plants. plant growth Regul 30:157-161

Shaheena et al.,(2005). Exogenous Application of gibberellic Acid counteracts the effect of Sodium Chloride in Mustard. TurK.J. Biol. 29: 233-236.

Shakirova et al.,(2007). Salicylic acid prevents the damaging action of stress factor on wheat plants .BULG.J., plants physiol. Special. Issue.314-317

Smith et al. (1998) accumulation of salicylic acid and 4-hydroxybenzoic acid in phloem fluids of cucumber during systemic acquired resistance is preceded by a transient increase in phenylalanine ammonia lyase activity in petioles and stems. Plant Physiol ,116. PP 231-238

Sergiev.L.,Alexieva E. And karanov.E.,(1997) ,effect of spermine ,atrazine and combination combination between them on some endogenous protective system and markers in plants ,compt .rend.Acad .Bulg Sci 51 ,121-124 .In Velikova V ,Yordanov1 et Edreva A.,(2000).Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain – treated bean plants ,protective role of exogenous polyamine.plant Science 151:59-66

Unlu et al., (2009). Effect of salicylic acid on salinity stress in cowpea.In international Symposium on sustainable Development ,jun 9-10 ,2009 Sarajevo Bosnia and Herzegovina

Zhu, (2001). Plant salt tolerance trends in plant science, 2001,n 2 ,vol.6,p 66-71