**الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية** République Algérienne Démocratique et Populaire

**وزارة التعليم العالي والبحث العلمي** Ministère de l’Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جا**معة** 8 ماي 1945

Université 8 Mai 1945 Guelma Faculté des Sciences de la Nature et de de la Vie, sciences de la terre et de l’Univers

****

### Mémoire En vue de l’obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la vie Filière : Sciences Biologique Département : Biologie Spécialité /Option : Biologie Moléculaire et Cellulaire

### Thème :

### ****Etude des réponses antioxydants chez des plantes de pois chiche (*****Cicer arietinum L*****) soumises au stress salin****

Présenté par**:** OURDJINI Aymen

### ****Devant le jury composé de**** :

### Président : BAALI.S MAA Université 8 mai 1945 de Guelma

### Examinatrice : BENDJEDID.S MAB Université 8 mai 1945 de Guelma

Encadrant :BENBELKACEM.S MAA Université 8 mai 1945 de Guelma

### ****Juin 2025****

### Remerciements

**Ma reconnaissance, et mes sincères remerciements vont à mon encadreur Mme Benbelkacem Sofia, de m’avoir dirigé tout au long de la**

**réalisation de ce travail.**

**Son orientation, encouragements et son aide précieuse tout au long de ce travail.**

**Je tiens à exprimer mes sincères remerciements à Monsieur Baali Salim enseignant à l’Université du 08 mai 1945 de Guelma, et président du jury.**

**Mes vifs remerciements vont également à Madame** *Bendjedid S***amira enseignante à l’Université du 08 mai 1945 de Guelma, pour avoir accepté d’examiner ce travail.**

**Et en fin je remercie tous mes enseignants pour leurs bonnes orientations et pour leur aide précieuse tout au long de mon parcours.**

### Dédicace

**Je dédie ce modeste travail à :**

**A mes Parents**

**A tous les membres de ma famille**

**Et à tous mes amis sans exception**

### Résumé

Cette étude vise à comparer la réponse au stress oxydatif de trois génotypes de pois chiche *(Cicer arietinum L*) (V6, V9 et V12) soumis à un stress salin, afin de déterminer leurs différents niveaux de tolérance à la salinité. Des expériences en laboratoire ont été menées, où les plantes ont été soumises à des traitements salins sous différentes concentrations (25%, 50% et 75%). Leurs réponses ont été évaluée à travers la mesure de certains indicateurs physiologiques (teneur en chlorophylle) et biochimiques **(**concentration en proline, niveau de Malon dialdéhyde (**MDA**) et l’activité de la catalase (**CAT**). Les résultats ont révélé des différences significatives entre les génotypes étudiés, mettant en évidence la variabilité de leur tolérance à la salinité et soulignant l'importance de certains marqueurs dans l'évaluation du stress oxydatif.

### Mot clé : Pois chiche, stress salin, stress oxydatif, chlorophylle, proline, Malon dialdéhyde (MDA) et catalase.

### ****Abstract****

The aim of this study is to compare the oxidative stress responses of three chickpea (*Cicer arietinum L)* genotypes (V6, V9, and V12) under salt stress, in order to determine their different levels of salinity tolerance. Laboratory experiments were conducted where plants were subjected to saline treatments (25%, 50% and 75%). Their responses were evaluated by measuring certain physiological indicators (chlorophyll content) and biochemical markers (proline concentration, malondialdehyde (MDA) level, and catalase activity (CAT). The results revealed significant differences among the studied genotypes, highlighting the variability in their salinity tolerance and emphasizing the importance of specific markers in assessing oxidative stress.

### Keyword: Chickpea, salt stress, oxidative stress, chlorophyll, proline, Malondialdéhyde (MDA) and catalase (CAT).

### ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى مقارنة استجابات الإجهاد التأكسدي لثلاثة أنماط جينية مننبات الحمص (*Cicer arietinum L*) **(V6، V9، وV12)** لتأثير الإجهاد الملحي، وذلك لتحديد مستويات تحملها المختلفة للملوحة. أُجريت تجارب معملية على نباتات تعرضت لمعاملات الملوحة (25%، 50%، و75%). وقُيّمت استجاباتها بقياس بعض المؤشرات الفسيولوجية (**محتوى الكلوروفيل**) والمؤشرات الكيميائية الحيوية (تركيز **البرولين**، ومستوى **المالونديالدهيد** (MDA)، ونشاط **الكاتالاز** (CAT)). كشفت النتائج عن اختلافات كبيرة بين الأنماط الجينية المدروسة، مما يُبرز التباين في تحملها للملوحة، ويؤكد على أهمية المؤشرات المحددة في تقييم الإجهاد التأكسدي.

### الكلمات المفتاحية: الحمص، الإجهاد الملحي، الإجهاد التأكسدي، الكلوروفيل، البرولين،

### (CAT) والكاتالاز(MDA) مالون ديل الديهايد

Liste des figures

### **Figure 1 : Mécanisme montrant un stress oxydant au sein d’une cellule………………...……….4**

### Figure 2 : Evolution de la plantation…………………………………………………………….....20

### Figure 3 : Les plantations de pois chiche sous stress……………………………………………...22

### Figure 4 : Teneur de chlorophylle de trois variétés de pois chiche……………………….............27

### Figure 5 : Teneur de Proline de trois variété de pois chiche……………………………...............28

### Figure 6 : Teneur de Malone dialdéhyde (MDA) de trois variété de pois chiche………………. 30

### Figure 7 : Teneur en catalase (CAT) de trois variété de pois chiche……………………31

### Liste des abréviations

### Abs Absorbance CAT Catalase DPPH 2,2-diphénylpicrylhydrazyl ERO Espèces Réactives à l’oxygène. FAO Food and Agriculture Organization GPX Glutathion peroxidase GSH Glutathion. H2O2 Peroxyde d’hydrogène. MDA malonedialdéhyde NaCl chlorure de sodium Pro Proline POD Peroxydase SOD Supéroxyde Dismutase T Témoin TBA Acide 2- thiobarbiturique UV Ultra-Violet

Table des matières

### **Remerciements Dédicace Résumé Liste des Figures Liste des abréviations Introduction Générale………………………………………………………………………1**

### CHAPITRE 1 : Etude Bibliographique

### **1. Définition du stress oxydant…………………………………………………………...…4 2.** **Conséquence du stress oxydatif……………………………………………………......... 5 2.1. Oxydation des lipides……………………………………………………………………5 2.2. Oxydation des protéines………………………………………………………………...5 2.3. Oxydation d’ADN……………………………………………………………………….5** 3. **Les antioxydants……………………………………………………………………...........6** 3**.1. Antioxydants enzymatique………………………………………………………...........6 3.1.1. Supéroxyde dismutase………………………………………………………….......... 6 3.1.2. La glutathion peroxydase……………………………………………………………..6 3.1.3. Catalase…………………………………………………………………………...........7 3.2.3. Antioxydants non enzymatique……………………………………………………….7 3.2.1. Glutathion……………………………………………………………………………...7 3.2.2. Vitamine C……………………………………………………………………………..8 3.2.3. Vitamine E……………………………………………………………………..............8**

### **1. Définition du stress salin………………………………………………………………….9 2. Types de salinité……………………………………………………………………...........9 2.1. Salinité primaire…………………………………………………………………...........9 2.2. Salinité secondaire………………………………………………………………………9 3. Effet de la salinité sur les plantes…………………………………………………...........9 3.1. Effet de la salinité sur la germination………………………………………….............9 3.2. Effet de la salinité sur la croissance et le développent………………………….........10 3.3. Effet de la salinité sur la photosynthèse des plantes…………………………………10 3.4. Effet de la salinité sur la biochimie de la plante……………………………………...10 3.5. Effet de la salinité sur le métabolisme de l’azote……………………………………11 4. Mécanismes d’adaptation des plantes à la salinité…………………………………....11 4.1. Adaptation morphologiques……………………………………………………….....11 4.2. Adaptation phénologiques……………………………………………………………11 4.3. Adaptation physiologiques……………………………………………………….......11 5. Les Mécanismes de résistance à la salinité…………………………………………….11 5.1. Exclusion……………………………………………………………………………....12 5.2. Inclusion……………………………………………………………………………….12 5.3. Ajustement osmotique………………………………………………………………. 13 6.** Les paramètres biochimiques en rapport avec la défense des plantes face au stress.13 6.1**. La chlorophylle……………………………………………………………………......13 6.2. La proline……………………………………………………………………………...14 6.3. Le** Malone dialdéhyde (MDA)………………………………………………………..14 **6.4. La catalase……………………………………………………………………………..15 7. Quelques méthodes des dosage du stress oxydants chez les plantes………………....15**

CHAPITER 2 : Matériel et Méthode

### 1. Objectif de travail………………………………………………………………………20 2. Matériel végétale………………………………………………………………………..20 2.1. Mise en place du la culture……………………………………………………….......20 2.2. Tourbe utilisée………………………………………………………………………...21 3.L’expérimentation……………........................................................................................22  3.1. Préparation de la solution salin………………………………………………...........22 3.2. Irrigation………………………………………………………………………….......22  4. Les techniques du dosage de stress sur le pois chiche ………………………….……23 4.1. Dosage de chlorophylle………………………………………………………………23 4.2. Dosage de proline…………………………………………………………………….23 4.3. Dosage de Malone dialdéhyde (MDA)………………………………………………24 4.4. Dosage de Catalase…………………………………………………………………...24

### CHAPITRE 03 : Résultats et discussion

### 1. Paramètres physiologiques …………………………………………………………….26 1.1. Teneur de chlorophylle….............................................................................................26 2. Paramètres Biochimiques……………………………………………………………... 27 2.1. Teneur de proline……………………………………………………………………..27 2.2. Teneur de malonedialdéhyde (MDA)………………………………………………..28 2.3. Teneur de catalase………………………………………………………………….... 30 Conclusion………………………………………………………………………………….32 Références bibliographique……………………………………………………………….35

### 

### 

Introduction Générale

Introduction

### Les plantes sont en permanence exposées à des fluctuations environnementales susceptibles d’induire un stress perturbant leur homéostasie cellulaire, notamment par la production accrue d'espèces réactives de l'oxygène (ROS). Une accumulation excessive et phytotoxique de ces radicaux oxygénés peut conduire à la mort cellulaire. Toutefois, il est désormais bien établi que ces molécules jouent un rôle central dans les mécanismes de réponse au stress, en agissant comme des messagers secondaires. De plus, leur implication dans la régulation de l’expression génique a permis de mettre en évidence leur fonction en tant qu’inducteurs de la mort cellulaire programmée, un processus génétiquement régulé observé aussi bien dans le développement normal des plantes que dans leur réponse aux conditions de stress. **(Bougherra et Boufligha, 2009).**

Le stress oxydant est un déséquilibre entre la production et la stase d’espèces réactives de l’oxygène (ERO) et le système biologique est incapable de les décontaminer ou les éliminer. Ce déséquilibre peut être celui de la diminution de défenses antioxydants de notre organisme qui réduit ainsi sa capacité de défense face à tels agents réactifs, ou de la majoration de la production des ERO. Cette surproduction peut être due à un changement dans l'apport en oxygène (excès ou déficit), présence de composés pro oxydants, ou encore une hyper activation des mécanismes endogène de production de radicaux libres. Ils peuvent également provoquer un stress oxydant des facteurs exogènes comme par exposition à des composés pro oxydant de l'extérieur tels que métaux lourds, radiations. (Valérie *et al*., 2023).

Les cultures légumineuses constituent une base alimentaire indispensable en glucides, pour alimenter le métabolisme, à la fabrication et au contrôle des fonctions de l’organisme, ainsi qu’en protéines, fondamentales à la constitution et au régulateur des fonctions de l’organisme. Selon les espèces, elles constituent en outre un grand foyer de diversification de divers éléments nutritionnels, tels que des lipides, des fibres, des minéraux, et des vitamines, contribuant donc à l'alimentation humaine et animale. Outre leur rôle majeur dans le cycle de l’azote, la culture des légumineuses affecte aussi d'autres cycles biogéochimiques, notamment ceux phosphore et xénobiotique (Schneider *et al*., 2015).

Les légumineuses se caractérisent par leur très forte teneur en protéines (entre 20 et 40 % en matière sèche en fonction des espèces) et de fibres ainsi que de micronutriments (Magrini et Bedoussac, 2017).

### En Algérie, la production de pois chiches, l'une des sources importantes de protéines, est inférieure à la demande nationale, ce qui oblige d’assurer le déficit par l'importation. En effet, l'Algérie est le cinquième importateur de pois chiches au monde et le premier importateur de pois chiches en Afrique (FAO, 2024).

### L'objectif de ce travail est d’étudier et de comparer les réponses chez trois variétés de pois chiches exposées à un stress abiotique qui est le stress salin, l’observation du comportement des plantes se fait dans différents paramètres biochimiques et physiologiques en relation avec le stress oxydatif, notamment la teneur en chlorophylle, en proline, au Malone dialdéhyde (MDA) ainsi que l’activité de la catalase.

### Ce document sera présenté dans les parties suivantes :

### Apres l’introduction, un premier chapitre qui est une étude bibliographique comportant deux parties : qui sont le stress oxydatif, et le stress Salin et quelques techniques relatives à la détection du stress oxydatif chez les plantes.

Le deuxième chapitre : Matériel et Méthode**,** où on expose le matériel biologique et les méthodes techniques utilisé dans cette étude.

### Ensuite Résultats et Discussion : où les résultats obtenus sont exposés et discuter pour en fin ressortir par une Conclusion.

### Chapitre 01 : Etude Bibliographique

### Stress oxydant

### 1. Définition du stress oxydant

Le stress oxydant apparaît dans les systèmes biologiques en présence d’un déséquilibre sur la production d’espèces réactives de l’oxygène (ERO) et leur élimination par les mécanismes de défense antioxydant. Les ERO peuvent induire de grands troubles sur le plan structuré et fonctionnel de la cellule au niveau des différents composants, tels que les protéines, les lipides et acides nucléiques.

En général ces espèces rares réactives sont régies en quantité limite, participant à des processus physiologiques ou issus de réactions métaboliques liées à la production d’énergie ou à la défense du corps. Leurs fonctions sont alors contrôlées par de l’antioxydant système permettant de réactiver leur pouvoir en fonction du niveau de radicaux autour d’eux, assurant l’équilibre entre agents et radical pro-antioxydants. (Figure 1). (Ait yahia et Zemmoura, 2014).

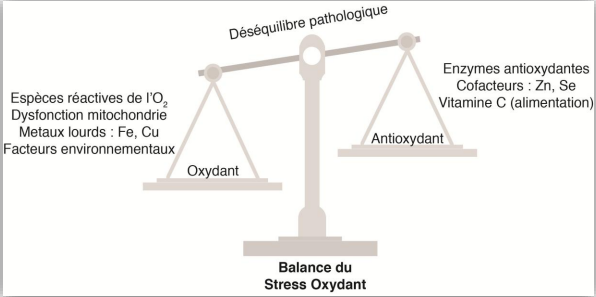


Figure 1 : Mécanisme montrant un stress oxydant au sein d’une cellule (Garrel. C, Bigard. X, 2017).

### **2. Conséquence du stress oxydatif**

Le stress oxydatif donne lieu à une surproduction de réactifs de l'oxygène (ERO) qui produisent des lésions oxydatives au niveau de l'ADN, des protéines et des lipides. (**Murakami** *et al*., 2017).

2.1. Oxydation des lipides

Les ERO peuvent dégrader les lipides, notamment les résidus d'acides gras polyinsaturés présents dans les phospholipides qui sont faciles à oxyder. Cela déclenche une réaction en chaîne de peroxydation lipidique qui modifie la fluidité et la perméabilité lipidique de la membrane et qui peut également perturber la fonction des protéines membranaires (Koechlin, 2006).

2.2. Oxydation des protéines

### Les protéines, surtout celles qui contiennent des groupements sulfhydriles (SH) et des ponts disulfures, sont sujets aux agressions par les radicaux libres. Il s'agit de nombreuses enzymes cellulaires et de protéines transport, qui peuvent donc être oxydées et inactiver. Cette fois, les protéines enzymatique dégradées semblent perdre vite leurs propriétés biologiques et sont beaucoup plus vulnérables aux protéases, surtout au protéasome (Friguet, 2006­­ et Grune, 2006).

### **2.3. Oxydation d’ADN**

### Malgré le fait que l’ADN soit le support de l’information génétique des organismes vivants, il est particulièrement sensible aux attaques des espèces réactives de l’oxygène (ERO). Ces radicaux peuvent réagir avec les bases puriques et pyrimidiques, ainsi que le désoxyribose, les oxydant. Ces dérégulations provoquent des cassures, simple ou double brin de la molécule d’ADN (Favier, 2003). Les dommages aux acides nucléiques peuvent entraîner les mutations ou pourront perturber l'expression des gènes. Un des index de l’agression oxydative sur ces molécules, c'est lui une formation en 8-hydroxy-guanine (8-OHG) un marqueur de ce type de dommages (Koechlin, 2006).

### 3. Les antioxydants

### L'organisme est déterminé d’un ensemble de systèmes de défenses antioxydants très efficaces afin de diminuer la concentration des espèces oxydants dans l’organisme. Les antioxydants sont des systèmes enzymatiques ou non-enzymatiques.

### **3.1. Antioxydants enzymatique**

Les antioxydants enzymatiques, comme la supéroxyde dismutase et la glutathion réductase, mené la liste face aux radicaux libres de l'oxygène. Leur rôle principal consiste à diminuer la concentration des ROS (réactives d’oxygène.) de la cellule. Pour exercer leur activité enzymatique, certaines de ces enzymes sont dépendantes de cofacteurs, notamment certains oligoéléments comme le zinc (Zn) le cuivre (Cu) le manganèse (Mn), le sélénium (Se) ou le fer (Fe). (Mates J. M *et al*., 1999).

### 3.1.1. Superoxyde dismutase (SOD)

Les SOD (superoxyde dismutases) sont la première ligne de défense enzymatique dans le cheminement des espèces réactives de l'oxygène (ROS). Ces sont des protéines métalliques qui catalysent la diamagnétique de l’ion superoxyde (O2• — « et le peroxyde d’hydrogène (H2O2à l’oxygène moléculaire (O2. Il existe plusieurs SOD en fonction de leur localisation cellulaire et du type de métal qu'elles contiennent : Mn-SOD du poste localisé dans les mitochondries, Cu/Zn-SOD du poste dans le cytoplasme ainsi que dans les mitochondries. Des recherches récentes ont également identifié la Cu/Zn-SOD dans l'espace inter-membraneux mitochondriales (Benghersallah, 2015).

3.1.2. La glutathion peroxydase

### La glutathion peroxydase (GPX) rend la réduction du peroxyde d’hydrogène ainsi que d’autres hydro peroxydase, en générant des molécules non toxiques et par l’oxydation du glutathion réduit (GSH) en glutathion oxydé (GSSG). Le glutathion, un tripeptide constitué de glutamate, cystéine et glycine (γ-glutamylcystéinyl-glycine), est abondamment représenté dans les cellules sous sa forme réduite (GSH), à une concentration comprise entre 10⁻⁴ et 10⁻³ mol·L⁻¹, ce qui fait de GSH le premier thiol des cellules intracellularum.

### 

La GPX est composée de quatre sous-unités, chaque une contenant un atome de sélénium sous forme de sélénocystéine au niveau de son site actif, où l'atome de soufre de la cystéine est remplacé par un sélénium. Un déficit en sélénium cause la perte de l’activité enzymatique. Le fonctionnement correct de la GPX dépend du maintien en forme réduite du glutathion, assuré par l'appareil de la glutathion réductase (GR) qui régénère le GSH à partie du GSSG. Cette réaction nécessite du NADPH, H⁺, principalement apporté par la voie des pentoses phosphates en raison du glucose-6-phosphate déshydrogénase. (Valérie *et al*., 2023).



3.1.3. Catalase  l’par des réductions à un électron tel

La catalase est une enzyme qui catalyse la dégradation du peroxyde d’hydrogène (H2O2) en eau et en oxygène (O2). Elle est composée de quatre sous-unités, chaque sous-unité comportant un groupement hème liée à un ion ferreux (Fe³⁺) au niveau du site actif, agissant en tant que composé prosthétique. Cette enzyme se concentre principalement dans les peroxysomes et les hématies (globules rouges). Son action complète celle du superoxyde dismutases (SOD), qui produisent le peroxyde d'hydrogène depuis le radical superoxyde. (Valérie *et al*., 2023)

Ce s

3.2. Antioxydants non enzymatique

3.2.1. Glutathion

Le glutathion est une substance ubiquitaire intracellulaire, détenteur de concentrations milli molaires dans la majorité des cellules et micro molaires dans le sang. En conditions physiologiques, il est principalement sous sa forme déprotonée (GSH), qui représente 90 à 98 % du glutathion total. Au cours d’un stress oxydant, et le GSH est oxydé pour former du glutathion oxydé(GSSG), par formation de ponts disulfures ou des ponts disulfure mixtes (GSSR) dans lesquels glutathion est lié à d’autres radicaux thiols. Le glutathion intervient comme cosubstrat de plusieurs enzymes antioxydants dont la glutathion peroxydase, la glutathion réductase et la glutathion transférase. Il fournit une proportion efficace non seulement contre les espèces réactives de l’oxygène (radicaux libres), mais aussi contre les composés peroxydés (**Forman *et al*.**, 2009).

3.2.2. Vitamine C

La vitamine C est un antioxydant hydro solubles et est reconnue comme l'un des antioxydants les plus puissants dans le plasma sanguin. Elle joue un rôle primordial chez l’être humain par son double rôle : cofacteur enzymatique et agent antioxydant. Dans sa fonction de cofacteur, la vitamine C prend part à de nombreux mécanismes métaboliques tels que la carnitine, le collagène et les catécholamines. Elle est également impliquée dans le présage du métabolisme des stéroïdes, de la tyrosine, du cholestérol, formation des acides biliaires et conversion de la dopamine en noradrénaline **(Naidu, 2003).**

Sur le plan antioxydant, la vitamine C, protège les protéines, lipides, l’ADN, les enzymes, et d’autres antioxydants, en les maintenant dans leur état fonctionnel. Elle agit en réduisant les ions métalliques et en neutralisant les radicaux libres, contribuant donc au maintien de l’équilibre redox cellulaire. (**Carr et Frei, 1999**).

3.2.3. Vitamine E

La vitamine E, antioxydant liposoluble majeur, a été lancée par Evans et Bishop en 1922. Elle est principalement localisée sur les membranes cellulaires et intracellulaires, grâce à sa propre structure offrant une double affinité : la chaîne latérale inter acte avec les lipides, tandis que son noyau chromanol lia les protéines. Cette fixation stratégique permet à la vitamine E de protéger celles-ci efficacement des mécanismes d’oxydation. Cette action antioxydant repose sur la mise en jeu de chaînes d’oxydoréduction comprenant des composés soufrés comme la cystéine et le glutathion, ainsi que le sélénium (**Brigelius-Flohé et Traber, 1999**).

**Le stress salin**

**1. Définition du stress salin**

### La salinité du sol et de l’eau se caractérise par une quantité excessive, notamment de sels solubles, lorsque les taux d’ions sodium (Na⁺), calcium (Ca²⁺) et magnésium (Mg²⁺) sous la forme de chlorures, carbonates ou sulfates bien supérieurs à la normale. Ce stress abiotique est généralement dû, en conditions naturelles, à la présence de chlorure de sodium (NaCl).

### La salinité est l'un des principaux facteurs de limitation de fertilité et productivité des sols. Elle diminue considérablement la production des cultures, notamment dans les zones méditerranéennes ou dans les régions où l'agriculture est fortement tributaire de l'irrigation. Ce phénomène oblige les plantes à supporter un stress permanent dû à la forte concentration en sels. Lorsqu'un seuil est dépassé, la salinité dégrade les sols, plus fortement leur capacité de production (Laouaouda et Bouldroua, 2021).

2. Types de salinité

2.1. Salinité primaire

La salinisation primaire, de provenance géologique, océanique ou lagunaire, est due à des processus naturels liés à des caractéristiques internes du sol. Elle est conditionnée notamment par le climat, l’altération des roches et par les dynamiques hydrologiques.

2.2. Salinité secondaire

La salinisation secondaire, due essentiellement aux techniques d’irrigation, est une menace importante pour les sols, jamais facile à mesurer précisément. Elle se traduit par bilans de sels forts importés progressivement dus à des transformations de la matière organique, ce qui dégrade les propriétés physico-chimiques, telle que la dispersion des argiles et l’instabilité de la structure. Ce phénomène a également une incidence sur les fonctions biologiques du sol notamment en pénalisant le développement des plantes engendrant une augmentation de la pression osmotique. (Laouaouda et Bouldroua, 2021).

3. Effet de la salinité sur les plantes

3.1 Effet de la salinité sur la germination

La salinité va affecter négativement le phénomène de germination en ralentissant sa vitesse et en diminuant le pouvoir germinatif de la même. À faibles concentrations, on observe un retard de germination à des concentrations importantes, l’inhibition est déjà totale. Cet effet est dû à un stress osmotique ou à une toxicité ionique et la salinité empêche également le fonctionnement de ces derniers enzymes comme les protéases, utiles à la mobilisation des réserves au cours de la germination (Aoudj et Boubekeur, 2022).

3.2. Effet de la salinité sur la croissance et le développent

### La salinité affecte négativement la croissance et le développement des plantes, surtout aux stades précoces comme la germination, en provoquant des déséquilibres hormonaux. Elle entraîne une accumulation de sodium (Na⁺) et une diminution de l’absorption d’éléments essentiels comme le potassium (K⁺), le calcium (Ca²⁺) et l’azote, ce qui provoque un déséquilibre nutritionnel. De plus, le stress osmotique lié à la salinité réduit la croissance racinaire et limite l’absorption des nutriments du sol, compromettant ainsi le développement global de la plante (Bouhabila, 2016).

3.3. Effet de la salinité sur la photosynthèse

### La salinité diminue la photosynthèse, essentiellement par la réduction de la superficie foliaire bien plutôt qu'en baissant le taux photosynthétique. Elle modifie aussi morphologie, comme la densité des stomates et la structure des vaisseaux du xylème. Ces effets sont la conséquence de l'action complexe du stress osmotique, ionique et nutritionnel. D'autant plus que la salinité atténue la transpiration, surtout chez les glycophytes sensibles (Lardjani, 2019).

3.4. Effet de la salinité sur la biochimie de la plante

### La salinité modifie la régulation génétique des plantes sur la synthèse des composants cellulaires et fragilise les membranes cellulaires. Le stress salin également induit l'accumulation des proline, un acide aminé particulier aux plantes soumises à ce stress. **(Aspinal et Pale 1981).** La proline est un indicateur important du stress salin, participant à la régulation de la pression osmotique entre le sol et la vacuole. Elle aide aussi à protéger les membranes cellulaires, stabiliser les systèmes enzymatiques et réguler le pH Intérieur de la cellule **(Alem et Amri, 2005).**

### **3.5. Effet de la salinité sur le métabolisme de l’azote**

La salinité affecte négativement le métabolisme de l’azote en réduisant l’oxydation biologique de l’ammonium (NH₄⁺) et la production de nitrates (NO₃⁻), pouvant être totalement inhibée en cas de salinité extrême. (**Debouba M *et al*., 2006**).

4. Les Mécanismes d’adaptation des plantes à la salinité

4.1. Adaptation morphologiques

La salinité et la sécheresse entraînent des adaptations morphologiques chez les plantes, telles que la réduction de la surface foliaire, le flétrissement des tiges, l’enroulement des feuilles ou le développement accentué du système racinaire, afin de limiter la transpiration et d’optimiser la répartition des assimilas (Ayadi et Bounegab, 2020).

### 4.2. Adaptations phénologiques

### Certaines plantes adoptent des adaptations phénologiques en accélérant leur cycle de développement afin d’éviter les périodes critiques de stress, notamment en fin de cycle, comme stratégie d’évitement de la sécheresse ou de la salinité (Levitt, 1980).

### Les adaptations phénologiques, notamment chez les génotypes précoces, permettent une meilleure utilisation de l’eau sur une période plus courte, favorisant ainsi une productivité accrue et une moindre sensibilité aux stress environnementaux par rapport aux génotypes à cycle tardif (Bajji *et al*., 2000).

### 4.3 Adaptations physiologiques

### Les adaptations physiologiques permettent aux plantes de maintenir l’hydratation cellulaire malgré la diminution de l’eau dans le sol due à la salinité ou à la sécheresse. Elles réduisent les pertes d’eau et assurent une bonne hydratation du feuillage, favorisant ainsi son développement (Ayadi et Bounegab, 2020).

### 5. Les Mécanismes de résistance à la salinité

### Les plantes sensibles au chlorure de sodium (NaCl) absorbent ce sel et accumulent le plus possible dans leurs racines, en l'excluant de leurs tissus foliaires ; elles sont appelées « exclues ». En revanche, les espèces tolérantes au NaCl, baptisées « inclues » possèdent typiquement une teneur en sodium plus élevée dans les feuilles qu’en racines lorsque cultive dans un milieu salin (Haouala *et al*., 2007).

### 5.1. Exclusion

### La plante peut retenir le mouvement du sel vers les feuilles, en bloquant son transport dans les succulents. La présence d’endoderme au niveau des racines, associée un transport sélectif des ions, permet à la plante d’absorber des ions Na⁺ utiles tout en réexcrétant des ions en excès (Genoux *et al*., 1991). Certaines halophytes possèdent le pouvoir de diminuer l’absorption exorbitante de sel en les éliminant dès le niveau des racines ou du pied de la tige. Dans ce processus, un mécanisme d’échange ionique est essentiel : le sodium (Na⁺) est échangé hors des vaisseaux du xylème contre du potassium (K⁺) provenant des cellules parenchymateuses du xylème et des tissus environnants et contribue ainsi à la régulation ionique dans la tige et les racines (Lutts *et al*., 2002).

### On observe chez les plantes exclues que la majorité du sodium transporté dans les feuilles est reversé dans les racines via le phloème. (Hopkins, 2003).

### 5.2. Inclusion

### Le sel marche aux feuilles dans le même chemin que l’eau, par le sens de l’ascension de la sève dans les vaisseaux conducteurs. Une fois arrivé aux cellules, il est stocké dans les vacuoles par l’action de pompes de molécules spéciales. Ces vacuoles, baguettes cellulaires fermées, permettant d'isoler le sel des substances essentielles à l'appareil cellulaire, elles réduisent sa toxicité (Berthomieu, 2003). En certaines conditions, le sel lui est également réinjecté à l’extérieur de la banane par des glandes spécialisées (Alem et Amri, 2005). Ce processus d’excrétion est très sélectif, en effet les ions Na+, Cl-, HCO3- sont expulsés contre leur gradient de concentration, tandis que d'autres ions essentiels tels que Ca2+, NO3-, SO4-, H2PO4- sont conservés également à contre-gradients.

### Chez les plantes inclue, les flux de sodium sont essentiellement ascendants et le sel se retrouve dans les parties aériennes (Hopkins, 2003).

### 5.3. Ajustement osmotique

### Important de tous les mécanismes physiologiques de tolérance de la contrainte environnementale, il y a ajustement osmotique. Ce processus s'appuie sur l'accumulation de composés osmorégulateurs, et dits peuvent être iodé soit (tels que K⁺, Na⁺ et Cl⁻), soit organiques molécules comme les sucres solubles (fructose, glucose, tréhalose, raffinose, fructanes), et certains acides aminés libres (par exemple, proline, glycine bétaïne, β-alanine bétaïne ou la proline bétaïne). Cet apport contribue à diminuer le potentiel osmotique et le potentiel de turgescence requis par les processus cellulaires doivent être maintenu. La condensation de ces composés a été détectée chez bien d’espèces végétales soumises à un stress salin et différencie considérablement en fonction de l’espèce, du stade de développement et du niveau de salinité. Les variations entre les plantes témoins et celles traitées à la salinité, en ce qui concerne les solutés (acides aminés libres, proline, sucres solubles total), sont souvent très nettes. Ce caractère, essentiel dans la biologie des organismes a vocation à s'exprimer telles qu'elles et pour s'exprimer dans le bon climat, s'avère vital pour le maintien de fonctions physiologiques comme la photosynthèse, la transpiration à la croissance et peut interviennent dans toutes les étapes du cycle de la vie de la plante. Cela favorise également la protection des membranes cellulaires et des organes enzymatiques, surtout des organes jeunes. La proline, en particulier, est incriminée dans la poursuite du contour entre le cytosol et la vacuole ainsi que dans la régulation du pH cellulaire **(Bentrad, 2022).**

### **6.** Les paramètres biochimiques en rapport avec la défense des plantes face au stress

### **6.1. La Chlorophylle**

La chlorophylle constitue le principal pigment responsable de l’absorption de la lumière au cours de la photosynthèse. Elle joue un rôle essentiel dans la conversion de l’énergie lumineuse en énergie chimique, utilisée pour la synthèse des composés organiques nécessaires à la croissance des plantes. Le contenu en chlorophylle est ainsi considéré comme un indicateur physiologique clé, reflétant l’efficacité photosynthétique et l’état de santé des tissus végétaux.

Lorsqu’une plante est soumise au stress salin, la teneur en chlorophylle diminue de manière significative. Cette réduction résulte de plusieurs facteurs liés, notamment le déséquilibre hydrique provoqué par la forte concentration en sels, qui engendre un stress osmotique et perturbe la biosynthèse des pigments chlorophylliens. De plus, l’accumulation des espèces réactives de l’oxygène (ROS) induit des dommages oxydatifs aux chloroplastes. **(Parida et Das, 2005)**

### **6.2. La proline**

### La proline est un acide aminé non essentiel, hauteur cyclique, dont le rôle dans la réponse des plantes aux stress environnementaux comme la sécheresse, la salinité et la chaleur est très important. Face à ces tensions, les plantes produisent de grandes quantités de proline à l'intérieur de leurs cellules pour les aider à se faire à la vie difficile.

### Quand les plantes sont soumises à un stress, comme celle causée par la sécheresse ou par la salinité, la production de proline augmente dans leurs cellules plantes .Un taux élevé de proline dans la plante est souvent associé à sa valeur de sécheresse. La proline contribue également à solidifier les cellules et à renforcer leur capacité à absorber l'eau en cas de sécheresse. La proline fonctionne comme un protecteur cellulaire des plantes contre le stress environnemental négatif. Elle contribue à maintenir des protéines et des enzymes dans le corps cellulaire, en empêchant leur destruction par le stress. (Szabadosl et Savouré, 2010).

### 6.3. Le malondialdéhyde (MDA)

### Le malondialdéhyde (MDA) est un réactif biochimique façonné dans les plantes par l'oxydation des acides gras insaturés qui sont présents dans les membranes cellulaires. Il s'agit de l'un des principaux marqueurs du stress oxydatif chez les cellules végétales. Cette oxydation survient quand les radicaux libres, engendrés par le stress environnemental tel que le stress hydrique, la salinité, la pollution, fixent dans les graisses des membranes cellulaires et les dégradent provoquant la formation de MDA.

### Le MDA est essentiel dosé pour évaluer la quantité de dommage causée par le stress oxydatif. Lorsqu'une plante est stressée, le taux de MDA dans les cellules de cette dernière est élevé indiquant une augmentation de l'oxydation des lipides. Cette augmentation du MDA est un marqueur de la détérioration des membranes cellulaire résultant du stress environnemental. La mesure du MDA peut se faire pour apprécier la puissance du stress, la sensibilité aux facteurs environnementaux de stress tels que la sécheresse et la salinité sur la santé des végétaux. La rétention de MDA par les plantes est un indice de leur capacité réduite à s'adapter aux conditions environnementales défavorables, entraînant ainsi des dysfonctionnements cellulaires. (He *et al*., 2013).

### 6.4. La catalase

### La catalase est une enzyme antioxydant présente dans la majorité des cellules vivantes exposées à l'oxygène, y compris les cellules végétales. Elle fait partie du système enzymatique de défense et joue un rôle essentiel dans la dégradation du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en eau et en oxygène, un processus indispensable pour protéger les cellules contre les effets toxiques de l'accumulation de radicaux libres et de composés oxydants.

### Lorsque la plante est soumise à un stress environnemental, l’activité de la catalase augmente de manière significative comme mécanisme de défense visant à réduire les niveaux de H₂O₂. Cette élévation d’activité est considérée comme une réponse adaptative de la plante face aux conditions stressantes. Toutefois, en cas de stress sévère ou prolongé, l’activité de la catalase peut diminuer en raison des dommages structurels subis par la cellule ou de l’épuisement des mécanismes de défense antioxydant (Gill et Tuteja, 2010).

### 7. Quelques méthodes des dosages du stress oxydants chez les plantes

### 7.1. Test de DPPH

### Depuis un point de vue méthodologique, le test au radical libre DPPH• constitue une méthode fiable pour évaluer les composés antioxydants contenant des groupes fonctionnels SH, NH ou OH. Réalisé à température ambiante, ce test évite toute dégradation thermique des molécules thermosensibles (Popovici *et al*., 2009). Le DPPH• (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl) est un radical libre stable dont la solution, de couleur violette, présente un pic d’absorbance à 515 nm. Lorsqu’il est mis en présence d’un donneur d’hydrogène à activité antioxydant, le DPPH• est réduit en diphényl-picryl-hydrazine, ce qui provoque une décoloration progressive vers le jaune, observable par une diminution de l’absorbance à 515 nm (Brand-Williams, 1995).

### 7.2. Polyphénols

### Les polyphénols possèdent une forte activité antioxydante, ce qui permet d’évaluer la capacité des plantes à faire face aux stress environnementaux, et de valoriser leur intérêt nutritionnel et thérapeutique. L’estimation de la teneur en polyphénols totaux dans les extraits végétaux repose sur une réaction d’oxydoréduction entre les composés phénoliques et le réactif de Folin-Ciocalteu en milieu alcalin, produisant une coloration bleue dont l’intensité est proportionnelle à la concentration en polyphénols. Cette intensité est mesurée par spectrophotométrie à une longueur d’onde d’environ 765 nm. (Singleton *et al*,. 1999).

### 7.3. Fluorescence

### Les méthodes basées sur la fluorescence reposent sur l’utilisation de sondes oxydables, dont la fluorescence augmente en réponse au stress oxydatif (Pathak *et al*., 2019). Le Dansyl-2,2, 5,5-tétraméthyl-2,5-dihydro-1H-pyrrole (DanePy) est une sonde combinant des propriétés fluorescentes et de résonance de spin électronique (ESR), particulièrement sensible à l’oxygène singulet. La concentration de cet oxygène dans le mélange réactionnel est estimée à partir de la diminution de la fluorescence initialement émise par DanePy. Pour détecter l’oxygène singulet au niveau des tissus végétaux, la sonde est infiltrée soit par immersion de segments foliaires flottants, soit par fixation des racines dans une solution de DanePy (Zulfugarov *et al*., 2011).

### 7.4. Supéroxyde dismutase (SOD)

La SOD est une enzyme clé dans la détoxification des espèces réactives de l’oxygène (ROS), d’où l’intérêt d’évaluer son activité.

L’activité du superoxyde dismutase (SOD) est évaluée selon la méthode de **(****Ries *et al.* 1977),** qui repose sur sa capacité à inhiber la réduction photochimique du nitro bleu de tétrazolium (NBT) par les anions superoxydes. Cette inhibition est mesurée par spectrophotométrie, et une unité d’activité enzymatique correspond à la quantité de SOD nécessaire pour réduire de 50 % la formation du formazan, produit coloré issu de la réduction du NBT. **(Ries *et al.* 1977).**

**7.5. Peroxydase (POD)**

L’activité de la peroxydase permet d’évaluer la capacité des plantes à se défendre contre le stress oxydatif. En effet, la peroxydase joue un rôle clé dans l’élimination des espèces réactives de l’oxygène **(ROS)**, notamment le H₂O₂. Une activité POD élevée traduit une activation du systèmeantioxydant enzymatique, ce qui en fait un indicateur important de la réponse adaptative desplantes aux stress abiotiques comme la salinité, la sécheresse ou les agents pathogènes.

L’activité peroxydase est déterminée par la formation de purpurogalline, issue de la réaction entre le pyrogallol et le peroxyde d’hydrogène (H₂O₂), en présence de l’enzyme peroxydase. Ce composé coloré est mesuré par spectrophotométrie à 420 nm.  
**(Chance *et al,.* 1955)**

### 7.6. Catalase (CAT)

Une activité élevée de la catalase indique que la plante active ses mécanismes de défense pour se protéger des effets nocifs des espèces réactives de l’oxygène (ROS). La catalase est une enzyme antioxydant qui dégrade le **peroxyde d’hydrogène (H₂O₂),** un composé toxique produit en excès lors du stress oxydatif, en **eau (H₂O)** et **oxygène (O₂)**. La méthode de dosage repose sur le suivi de la **disparition du H₂O₂** par spectrophotométrie, généralement à une longueur d’onde de **240 nm**, car le H₂O₂ absorbe à cette longueur. Cette méthode permet d’évaluer **l’activité antioxydant des plantes** face au stress environnemental. **(Aebi, 1984)**

### 7.7. La Proline

### L’accumulation de proline est un mécanisme de défense important contre des conditions défavorables comme la salinité ou la sécheresse. Elle agit comme osmoprotecteur, en stabilisant les protéines et les membranes, aide à réduire les dommages oxydatifs. Ainsi, la mesure de la proline est un indicateur précieux de la tolérance au stress chez les plantes.

### Le dosage de la proline repose sur sa réaction avec l’acide ninhydrine en milieu acide, produisant un composé coloré rouge-violet. L’intensité de cette coloration, mesurée par spectrophotométrie à **520 nm**, est proportionnelle à la concentration en proline dans l’échantillon. Cette méthode permet d’évaluer la réponse adaptative des plantes au stress. (Bates, 1973).

### 7.8. Le malonedialdéhyde (MDA)

### Le MDA est l’un des produits secondaires de la peroxydation des lipides résultant du stress oxydatif, et il est utilisé comme **indicateur des dommages oxydatifs au niveau des membranes cellulaires.**

### La détermination du Malondialdéhyde (MDA) repose sur sa réaction avec l’acide thiobarbiturique (TBA) dans un milieu acide, conduisant à la formation d’un complexe coloré pouvant être mesuré par spectrophotométrie à une longueur d’onde de **532 nm.** La méthode permet d’estimer le degré de stress oxydatif chez les plantes en mesurant les dommages causés aux membranes cellulaires. Une forte concentration de MDA indique une peroxydation lipidique élevée, liée aux stress environnementaux. **(Mahi *et al*., 2015).**

### **7.9. La Chlorophylle**

### L’estimation de la chlorophylle repose sur son extraction à partir des feuilles de la plante à l’aide d’un solvant organique tel que l’acétone ou l’éthanol. Ensuite, l’absorbance de l’extrait est mesurée à deux longueurs d’onde, 665 nm et 649 nm, à l’aide d’un spectrophotomètre. Cette analyse permet de déterminer les teneurs en chlorophylle a, chlorophylle b ainsi que la chlorophylle totale. L’intérêt de cette méthode réside dans son utilisation pour évaluer l’état physiologique de la plante, car une diminution du taux de chlorophylle est généralement un indicateur de stress, tel que la salinité ou la sécheresse. Elle constitue ainsi un outil essentiel pour suivre l’impact des conditions environnementales sur l’efficacité de la photosynthèse et la croissance des plantes. (Torrecillas *et al*,. 1984)

CHAPITRE 02 : Matériel et Méthodes

### 1. Objectif de travail

### L’objectif du présent travail est de comparer la réponse du stress oxydatif de trois variétés de pois chiche : Deux localesV6, V9 et V12 exposées à différents degrés de salinité.

### 2. Matériel végétale

L'étude a été réalisée sur trois variétés de pois chiche de taille et origines différentes **(V6, V9, V12)**. V6 et V9 sont des variétés locales, collectées auprès d'un agriculteur de la région Jabla El wast, et Ain Elberda d'Annaba, tandis que la troisième est une variété introduite qui se trouve sur le marché. Ces variétés ont été utilisées afin d'évaluer leurs performances agronomiques et leur adaptation aux conditions expérimentales.

### 2.1. Mise en place de la culture

Le 2 mars 2025, dans les labos pédagogiques de la faculté Sciences de la Nature et de la Vie, sciences de la terre et de l’Univers de l’université 08 mai 1948, a eu lieu le début de la mise en place de l’expérimentation.

Dans Ce cadre, les trois variétés utilisées ont été exposées chacune à trois concentrations différentes de Na Cl (stress salin) en plus des témoins (traitement à l’eau distillé), réparties sur 16 pots plastiques chacune pour un nombre de répétions de 4 pour chaque concentration.

Les pots ont été remplis chacun avec 400 grammes de tourbe, et neuf graines de pois chiche (approximativement) ont été semées. Au total 48 pots ont été utilisés dans cette expérimentation. Après le semis, un arrosage de 100 ml d'eau distillée a été appliqué deux fois par semaine, et ce, jusqu'à la germination.

### Figure 2 : Evolution de la plantation (photo personnelle)

### 2.2. Tourbe utilisée :

La tourbe de sphaigne, ou simplement tourbe, est un substrat organique riche résultant de la décomposition partielle des sphaignes et des plantes dans des environnements humides et anaérobies, tels que les tourbières. Son utilisation en agriculture est essentielle pour améliorer la structure du sol, la rétention d’eau et la disponibilité des nutriments.

### Composition tourbe (Peat moss) :

### La tourbe (Peat moss) est composée pour la plus grande part de matière organique (90 à 98%), issu principalement des débris végétaux en voie de décomposition. Sa teneur en matière minérale est constamment inférieure 10 % Elle possède une acidité naturelle avec un pH allant de 3,0 à 4,5. La tourbe est très pauvre en éléments nutritifs : la teneur en azote est comprise entre 0,5 et 1 %, celle en phosphore infère 0,1 %, et celle en potassium de 0,01 à 0,05 %. Le rapport carbone/azote (C/N), élevés (de 40 à 100), indiquent la lenteur de la décomposition de la matière organique.

### Provenance : Kekkilä B.B.B. Oy, Vantaa 5100, Finlande. Pays d’origine : Estonie.

**Caractéristique**

* Excellente rétention d’eau : Sa capacité élevée à retenir l’humidité réduit le stress hydrique des plantes et favorise un enracinement optimal.
* Allègement et aération du sol : Allège les sols lourds, facilitant ainsi une meilleure circulation de l’air et de l’eau.
* Acidité modérée (pH 3,5 - 4,5) : Permet d’ajuster le pH du sol en fonction des besoins spécifiques des cultures.
* Apport en matière organique : Stimule l’activité biologique du sol et améliore sa fertilité à long terme.

### 3. L’expérimentation

### 3.1. Préparation de la solution saline

### Nous avons préparé trois solutions salines à base d’NaCl :

### C0 : eau distillée (Témoin) ,0mM de NaCl

### C1 : 25mM de NaCl dans 100ml d’eau distillée

### C2 : 50mM de NaCl dans 100ml d’eau distillée

### C3 : 75mM de NaCl dans 100ml d’eau distillée

### 3.2. Irrigation

### Après la préparation des solutions salines, les trois variétés de pois chiche ont été arrosées. Pour chaque variété, 16 pots ont été utilisés, répétée 4 fois pour chaque traitement :

### T0 (C0 - Eau distillée - témoin) : 4 pots

### T1 (C1 - Solution saline à 25 mM) : 4 pots

### T2 (C2 - Solution saline à 50 mM) : 4 pots

### T3 (C3 - Solution saline à 75 mM) : 4 pots

### 

Chaque pot a reçu 100mL de la solution correspondante, deux fois par semaine.



### F Figure 3 : Les plantations de pois chiche sous stress (photo personnelle)

### 4. Les techniques du dosage de stress sur le pois chiche

### 4.1. Dosage de la chlorophylle

### Les teneurs en chlorophylle a, b et totale (mg/g PF) ont été déterminées selon la méthode légèrement modifiée de la méthode de (Torrecillas *et al*., 1984). Des feuilles d’environ 200 mg de poids frais sont pesées et mises dans 5 ml d'acétone concentrée (80%). Après un séjour de 72 heures à l'obscurité à une température de 4°C, la densité optique de l'extrait est mesurée à 665 nm et à 649 nm. Les teneurs en chlorophylle a, b et totale sont ensuite calculées selon les formules suivantes :

### ♣Chlorophylle a (mg/g PF) = 1 11,63 \* (DO665) – 2,39 \* (DO649) ♣Chlorophylle b (mg/g PF) = 20,11 \* (DO649) – 5,18 \* (DO665) ♣Chlorophylle total (mg/g PF) = 6,45 \* (DO665) + 17,72 \* (DO649)

### 4.2. Dosage de la proline

### La proline est dosée selon la méthode de (Troll et Lendslay, 1955) modifiée par (Dreier et Gôring, 1974). Elle consiste à :

### 1- Prendre 100 mg du matériel végétal, à laquelle ajouter 2 ml de éthanol à 40 %, le tout est chauffé à 60°C dans un bain- marie pendant 30mn.

### 2- Préparer ensuite la solution suivante : 120 ml d’eau distillée, ajouter 300 ml d’acide acétique et 80 ml d’acide ortho phosphorique (H3PO4, d =1.7).

### 3-Après refroidissement (du mélange matière végétale méthanol), prélever 1 ml auquel on ajoute : 1 ml d’acide acétique (CH3COOH) ; 25 mg de ninhydrine (C6H6O4) et 1 ml de la solution préparée.

### 4-La solution obtenue est portée à ébullition pendant 30mn à 100°C. La solution vire au rouge.

### 5-Après refroidissement, 5 ml de toluène sont rajoutés à la solution qui est agitée. Deux phases se séparent : une phase supérieure de couleur rouge contenant la proline et une phase inférieure transparente sans proline. Après avoir éliminé la phase inférieure, la phase supérieure est récupérée est déshydratée par l’ajout d’une spatule de Sulfate de Sodium Na2So4 anhydre (pour éliminer l’eau qu’elle contient).

### 6-Déterminer la densité optique (Do) à l’aide d’un spectrophotomètre à une longueur d’onde de 528nm. Il faut préparer la gamme étalon pour déterminer la teneur en proline de nos échantillons.

### 4.3. Dosage du malonedialdéhyde (MDA)

### La peroxydation lipidique est estimée par la détermination des quantités de Malon dialdéhyde. 50 mg de poids secs sont broyés puis homogénéisés dans 2 ml d’acide Trichloracétique (TCA) à 1 %. L’homogénat est centrifugé à 15000 g pendant 10 min à 4°C. 0,5 ml du surnageant sont mélangés à 1,5 ml d’acide Thiobarbiturique (TBA)

### Préparé dans du TCA à 20 % et incubés à 90°C pendant 20 min. Après l’arrêt de la réaction dans la glace, les échantillons sont centrifugés à 10000 g pendant 5 min. La D.O est lue à 532 nm à l’aide d’un spectrophotomètre. La teneur du MDA est déterminée en utilisant le coefficient d’extinction 155 /Mm/cm **(Mahi *et al*., 2015).**

### 4.4. Dosage de l’activité de la catalase

### Selon la méthode décrite par (Aebi, 1984), 500 mg de poids secs sont broyés puis homogénéisés dans 5 ml tampon phosphate de potassium (50mM, ph=7) L’homogénat est centrifugé à 12000g pendant 10min à 4°C récupérer le surnageant et le conserver sur glace jusqu’à l’analyse. Le milieu réactionnel est composé de 1,5ml de tampon phosphate de potassium (50mM, ph=7) et de70 µL extrait, la réaction se commence par l’ajoute de 930 µL H2O2 (15mM), l’absorbance est enregistrée à 240nm.

### 48 pots (16 pots par variété). Chaque variété a été divisée en quatre groupes de 4 pots, correspondant aux différents traitements suivants : T0 (C0 - Eau distillée, témoin) : 4 pots T1 (C1 - Solution saline à 25 g/L) : 4 pots T2 (C2 - Solution saline à 50 g/L) : 4 pots T3 (C3 - Solution saline à 75 g/L) : 4 pots Chaque pot a reçu 100 la solution correspondante, trois fois par semaine.

### 

### CHAPITRE 03 : Résultats et discussion

### 1. Paramètres physiologiques

### 1.1. Teneur en chlorophylle

### D’après les résultats illustrés dans la figure 4 on observe l’effet de la salinité sur le taux de chlorophylle totale des trois variétés de pois chiche.

### En condition témoin (C0), les échantillons présentent les taux les plus élevés de chlorophylle, atteignant (13,48 mg/g) chez V6, (8,68 mg/g) chez V9, et (7,37 mg/g) chez V12. Ces valeurs représentent l’état physiologique de référence en absence de contrainte saline. Pour la concentration de 25 g/L de NaCl (C1), on a noté une teneur de (11,14 mg/g) chez V6, (7,66mg/g) chez V9, et (6,86 mg/g) chez V12, traduisant l’apparition des premiers effets du stress salin.

### Cette diminution se poursuit à 50 g/L (C2), avec des valeurs de (10,11 mg/g), (6,80 mg/g), et (6,11 mg/g) respectivement, jusqu’à atteindre les niveaux les plus bas à 75 g/L (C3), où les teneurs chutent à (8,64 mg/g) pour V6, (6,04 mg/g) pour V9, et (5,54 mg/g) pour V12.

### Selon Benremichi et Kebbab, 2018. Il existe une corrélation négative entre le stress salin et les pigments chlorophylliens, alors plus la concentration de sel augmente la teneur des pigments chlorophylliens diminue, ce qui influe négativement sur la photosynthèse des plantes stressées. Ceci correspond aux résultats remarqués réduction au niveau de la chlorophylle des trois variétés de pois chiche étudiées, qui ont été affecté par la salinité. D’autres auteurs tels que (Hikosaka *et al*., 2006). Le taux de chlorophylle totale diminue corrélativement au temps d’évolution de stress. La salinité provoque la synthèse de l’acide abscissique qui mène à la fermeture des stomates et réduit la photosynthèse (Xiong et Zhu, 2002).

Le génotype V6 s’est révélé le plus performant en termes de teneur en chlorophylle, indiquant une meilleure capacité photosynthétique et une tolérance accrue face au stress.

### Figure 4 : Teneur en chlorophylle de trois variété de pois chiche

### 2. Paramètres Biochimique

### 2.1. Teneur de proline

### Les résultats illustrés dans la figure 5 relatifs à la teneur en proline révèlent une réponse adaptative claire des variétés de pois chiche au stress salin, avec des niveaux de concentration proline augmentant généralement en fonction de l’intensité de la salinité.

### En condition témoin (C0), les teneurs en proline sont faibles, soit respectivement de (25,45µmol/g) chez V6, (39,2 µmol/g) chez V9, et (41,25 µmol/g) chez V12. Ces valeurs représentent une situation physiologique normale en absence de contrainte salin. A 25 g/L de Na Cl (C1), une réponse sensible débute, avec (38.1 µmol/g) chez V6, (64.2 µmol/g) chez V9 et (45.4µmol/g) chez V12, marquant le début des réponses d’adaptation au stress.

### L’accumulation augmente à la concentration (C2), avec des teneurs de (39,5 µmol/g), (74,2µmol/g) et (53,4 µmol/g), et au (C3), où sont atteintes des valeurs maximales, de (41,5µmol/g) pour V6, (67,85 µmol/g) pour V9, et (73,85 µmol/g) pour V12, indiquant une sensibilité élevée des mécanismes de tolérance au stress salin.

### Selon Szabadosl et Savoure, 2010. La teneur en proline des plantes augmente sous différents stress environnementaux, sécheresse et salinité. Ces données ont conduit à l’hypothèse selon laquelle l’accumulation de la proline dans les plantes stressées a une fonction protectrice. Ceci correspond aux résultats obtenus dans notre étude, par l’augmentation que nous avons remarquée au niveau de la proline des trois variétés de pois chiche affectés par la salinité. D’autre auteurs tels (Aspinal et Paleg, 1981), qui signale que la proline est l’acide aminé le plus caractérisé des plantes soumises au stress salin, l’importance de la proline comme indicateur aux agressions semble jouer un rôle dans le maintien des pressions de la vacuole, mais aussi dans la protection des membranes et des systèmes enzymatiques. Ainsi qu’un régulateur du pH, (Alem et Ameri, 2005). La proline a un rôle dans le renforcement du système antioxydant et la lutte contre les dommages du stress (Molinari *et al*., 2007).

### La variété V6 a présenté la plus faible accumulation de proline, ce qui suggère une meilleure tolérance au stress.

### Figure 5 : Teneur en proline de trois variétés de pois chiche.

### 2.2. Teneur de malonedialdéhyde (MDA)

### Les résultats obtenus (voir figure 6) révèlent une variation des teneurs en MDA en fonction de l’intensité du stress salin, reflétant le degré de peroxydation lipidique et donc l’ampleur du stress oxydatif subi par les tissus du pois chiche.

### En condition témoin (C0), les teneurs initiales en MDA montrent des valeurs relativement élevées, particulièrement chez V12 (678,47 nmol/L), suivie de V9 (574,49 nmol/L) et V6 (516,13 nmol/L). À 25 g/L (C1), une baisse notable est observée chez V6 (390,3 nmol/L) et V12 (529,03 nmol/L), Inversement, V9 montre une augmentation marquée (703,03 nmol/L), reflétant la sensibilité précoce de cette variété à la salinité.

### À (C2), les teneurs en MDA augmentent et se stabilisent autour de (438–522 nmol/L) pour les trois génotypes. À la concentration maximale de 75 g/L (C3), tous les génotypes subissent une forte augmentation de MDA : (664,52 nmol/L) chez V6, (710,94 nmol/L) chez V9, et un pic de (795,74 nmol/L) chez V12. Cela reflète une intensité du stress oxydatif, avec des dommages cellulaires plus marqués.

### Selon l’étude de Mahi ***et al*., 2015,** oùune variabilité d’accumulations de MDA est observée, produit final de la peroxydation lipidique, considéré comme indicateur de stress oxydatifs résultant de stress abiotiques. Le MDA est connu pour être un indicateur de dommages membranaires, donc une augmentation de son accumulation indique des dommages plus importants dans les membranes cellulaires. Ce qui est observé chez les trois variétés testées dans cette étude à partir du traitement C1, où les taux de MDA augmentent au fur et à mesure que les concentrations de Na Cl augmentent, avec un taux relativement élevé pour les témoins (C0) dans les trois variétés, ce qui laisse à supposer que les plantes du test témoins auraient subis un autre stress que le traitement salin appliqué aux autres échantillons.

### Le niveau du MDA invariable semble être une caractéristique des plantes tolérantes à la salinité et le degré des dégâts oxydatifs cellulaires des plantes exposées aux stress abiotiques est fonction de la capacité des plantes à se protéger contre les agents oxydatifs. D’autres auteurs tels que **Delattre, 2005.** Confirment que Le taux élevé du MDA reflètent un stress oxydatif portant notamment sur l’oxydation des lipides.

Le génotype V6 a présenté la plus faible teneur en MDA, indiquant un niveau réduit de dommages oxydatifs et une meilleure stabilité membranaire sous stress.

### 

### Figure 6 : Teneur en malonedialdéhyde (MDA) de trois variété de pois chiche

### 2.3. Teneur de catalase

### Les résultats obtenus (voir Figure 7) montrent des réponses variables selon les génotypes (V6, V9, V12) et les concentrations de Na Cl.

### En condition témoin (C0), l’activité de la catalase est restée faible pour l’ensemble des génotypes, avec (3,05 U/mg prot) chez V6, (6,85 U/mg prot) chez V9 et (11,41 U/mg prot) chez V12. Dès l’exposition au stress salin à 25 g/L (C1), une nette augmentation est enregistrée, notamment chez V6 qui a atteint (65,71 U/mg prot), contre (9,33 U/mg prot) chez V9 et (17,13 U/mg prot) chez V12.

### L’augmentation de l’activité se poursuit à 50 g/L (C2), avec des valeurs atteignant (70,8 U/mg prot) chez V6, (21,71 U/mg prot) chez V9 et (29,71 U/mg prot) chez V12. Le pic d’activité a été observé à 75 g/L (C3), où V6 a enregistré environ (97,85 U/mg prot), contre (25,85 U/mg prot) pour V9 et (43,04 U/mg prot) pour V12.

### Selon l’étude de Nasrollahi *et al*., 2024. Le stress salin augmenterait l’activité de l’enzyme CAT par rapport aux plantes témoins. Lorsque les plantes sont exposées à des conditions de stress telles que la sécheresse ou la salinité, elles peuvent atténuer les effets indésirables en augmentant l’activité enzymatique des antioxydants catalase. Ceci correspond aux résultats de cette étude, où l’augmentation de la CAT est observée chez les trois variétés de pois chiche affecté par la salinité. D’autre auteurs tels que (Yousefvand *et al*., 2022), affirment que les plantes peuvent tolérer le stress salin en augmentant leur activité enzymatique, réduisant ainsi les dommages oxydatifs cellulaires. La catalase est un enzyme qui joue un rôle majeur dans la protection de l’organisme contre les radicaux libre toxique qui sont généré en particulier sous stress environnementaux.

### Les plus hautes activités ont été observées chez la variété V6 dans tous les traitements, par contre V12 est la plus faible.

### Figure 7 : Teneur en catalase (CAT) de trois variété de pois chiche

### Conclusion

### Conclusion

### Le pois chiche constitue une partie importante des ressources alimentaires chez l’homme. Le stress salin est l’un des facteurs abiotiques, qui limite sa production. Pour éviter le stress salin, les plantes développent plusieurs mécanismes adaptatifs qui varient en fonction de l’espèce.

### Cette étude porte sur le comportement biochimique de trois variétés de pois chiche, deux locales et une de l’importation, semés sous différents niveaux de stress salin (25%, 50% et 75%) (Dosage de chlorophylle, dosage de proline, dosage de Malone dialdéhyde (MDA) et dosage de catalase)

### L’étude a montré que le pois chiche est une plante sensible aux contraintes abiotiques qui limitent la productivité légumineuse, la réponse au stress salin chez les trois variétés testées (V6, V9, V12) révèlant l’existence d’une grande variabilité des réponses aux paramètres biochimiques et physiologiques testés.

### L’examen des résultats obtenus permet de mettre en évidence les points suivants : La teneur en chlorophylle des trois variétés étudiées, diminue avec l’augmentation du stress salin, et par contre la proline et les Malone dialdéhyde (MDA) s’accumulent selon les stress appliqués avec certaines fluctuations, ainsi que l’activité enzymatique de la catalase.

### Le génotype V6 semble être le plus tolérant au stress salin, en maintenant les niveaux les plus élevés de chlorophylle totale par rapport aux autres génotypes, ce qui indique une meilleure capacité à préserver l'activité photosynthétique sous l'effet de la salinité. La variété V6 s’est distinguée aussi par sa forte capacité d’adaptation à la salinité, présentant les niveaux les plus bas de proline et de MDA, ce qui indique une efficacité accrue des mécanismes de défense contre le stress osmotique et oxydatif, ainsi qu’une meilleure protection des tissus contre les dommages. Ainsi que sa capacité à maintenir une activité catalase élevée même sous fortes contraintes salines, ce qui suggère une tolérance supérieure au stress salin par le biais d’un système antioxydant plus efficace.

### Le génotype V9 a présenté une tolérance modérée, avec une accumulation intermédiaire de ces composés, traduisant une réponse adaptative équilibrée au stress salin.

### En revanche, le génotype V12 s’est avéré le plus sensible, avec une baisse marquée de taux de chlorophylle, et a enregistré les niveaux les plus élevés de proline et de MDA, révélant des réactions plus importantes au stress et une moindre efficacité des mécanismes de défense, ce qui en fait la variété la moins tolérante à la salinité.

Les résultats obtenus ont montré que le génotype V6 (variété locale) présente la meilleure tolérance au stress salin. Il se distingue par une teneur élevée en chlorophylle, de faibles niveaux de proline et de MDA, ainsi qu'une forte activité de la catalase. Ces performances confirment une réponse physiologique efficace, faisant du V6 un génotype prometteur pour les programmes de sélection.

### En perspective à ce travail, des tests statistiques, donneraient une meilleure appréciation des résultats obtenus.

### Références bibliographiques

### *A*

### Aebi. H, 1984. Catalase in Vitro. In Methods in Enzymology (Vol. 105, Issue C, pp. 121–126).

Aoudj. Kh, Boubekeur. Kh, 2022. L’effet de la salinité et du stress hydrique sur la germination et la croissance au stade juvénile chez l’espèce (Chenopodium quinoa Willd). Mémoire de fin d’études en vue de l’obtention du diplôme de Master académique. Université Iban Khaldoun- Tairet-

### Ait yahia. L, Zemmoura. H, 2014. Etude de L’effet d’un stress oxydatif et le système défensif enzymatique chez le blè dur. Mémoire de Master en biologie et Génomique végétale. Université Constantine 1

Ayadi. I, Bounegab. S, 2020. Etude de la variabilité intraspécifique de tolérance au stress salin chez cinq variétés de blé dur (Triticum durum Desf.) au stade juvénile. Mémoire MASTER ACADEMIQUE. UNIVERSITE KASDI MERBAH – OUARGLA –

### Aspinal, Pale, 1981. In Teggar, N. 2015. Etude de l’effet du stress salin sur la nodulation et sur quelques paramètres biochimiques et morphologiques de la lentille (Lens.culinaris L). Thèse de magister. Université d’Oran Es Senia, Oran, Algérie. 98.

### Alem. C, Amri. A, 2005. Importance de la stabilité des membranes cellulaires dans la tolérance à la salinité chez l’orge. Reviews in Biology and Biotechnology, pp: 439- 450.

### *B*

### Bouhabila. I, 2016. Effet du stress salin sur l'expression de deux facteurs de transcription chez la luzerne annuelle Medicago truncatula : cas du NAC969 et du BHLH32. Mémoire présenté en vue de l’obtention du Diplôme de Master. Université des Frères Mentouri Constantine1

### B**ougherra**. S, Boufligha. N, 2009. Contribution à l’étude du role des métabolites secondaires dans la résistance des plantes au stress oxydatif. Mémoire de fin d’étude en vue de l’obtention du diplôme d’étude supérieure. Université de Jijel.

### **Boucetta. H, Brahmia. B, Lamouri. R, Naamane. S, 2020**. Effet protecteur de la marjolaine (Origanum majorana) contre la néphrotoxicité induite par le bisphénol A. Mémoire En Vue de l’Obtention du Diplôme de Master. Université 8 Mai 1945 Guelma.

Benghersallah. N, 2015. Effet du stress oxydatif sur différentes varriétés de blé dur (Triticum durum desf) et sur leur système défensifs. Mémoire du diplôme de Master. Université des Frère Mentouri constantine.

**B**entrad**. A, 2022.** Mécanismes de Résistances des Plantes au Stress Salin. Mémoire de Master. Université Mohamed Khider de Biskra.

### Brand-Williams. W, Cuvelier. M.E, Berset. C, 1995. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity, Food. Sci. Technol., 28, 25-30.

Bajji. M, Lutts. S, et Kinet. J.M, 2000. La résistance au stress hydrique chez le blé dur : Comparaison des comportements au niveau cellulaire et au niveau de la plante entière, Options Mediterr. Ser. A, n°40, 227- 231: 228 p

### Benremichi. T, et Kebbab. A, 2018. Etude écophysiologique de la féve (Vicia fabe L) et du pois chiche (Cicer arietinum L) en condition de stress salin et en présence de molybdéne. Mémoire En Vue de l’Obtention du Diplôme de Master. Université des Frère Mentouri constantine 1.

### ****Bates, L. S., Waldren, R. P., & Teare, I. D .1973.**** Rapid determination of free proline for water-stress studies. **Plant and Soil**, **39**, 205–207

### Brigelius-Flohé R, Traber MG.1999. Vitamin E: function and metabolism. FASEB J. 1999;13(10):1145–1155. doi:10.1096/fasebj.13.10.1145.

### *C*

### Chance. B, Machly. A.C, 1955. Assay of catalases and peroxidases. Methods in Enzymology, 2. 764-775.

### Carr AC, Frei B. 1999. Does vitamin C act as a pro-oxidant under physiological conditions? FASEB J. 1999;13(9):1007–1024.

### *D*

### Dreier.W et Göring. M, 1974. Der Einflusshoher Salzkon zentration au fvers chieden ephysiologische Parameters von Maiswurzeln. Wiss. Z. Humboldt Univ. Berlin, Reihe/Math. Naturwiss, 23: 641-644

**Debouba M, Maïz N, Yahyaoui A, Ramírez J, Barranco L, Abdallah FB, Gómez L, 2006.** *Physiological and biochemical responses of two Tunisian chickpea (Cicer arietinum L.) cultivars subjected to salt stress.* Plant Physiol Biochem. 44(8):505–513.

### *F*

### FOA, 2024. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Crop statistics. FAOSTAT. Consulté le 30 mars 2019.

**Forman HJ, Zhang H, Rinna A. 2009.** Glutathione: Overview of its protective roles, measurement, and biosynthesis. Mol Aspects Med. Feb-Apr;30(1-2):1–12. doi:10.1016/j.mam.2008.08.006.

### Favier. A, 2003. Le stress oxydant.intérèt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L‟actualité chimique, p. 108-115.

**Friguet B, 2006.** Oxidized protein degradation and repair in ageing and oxidative stress. FEBS Lett. 580(12):2910–2916.

Fetnaci. L, Ferrag. I, Zaidi. Ch, 2020. Approche bibliographique de l’effet du stress hydrique sur la réponse oxydative chez le blé dur (Titicum durum Desf.). Mémoire En Vue de l’Obtention du Diplôme de Master. Université 8 Mai 1945 Guelma.

### *G*

### Grune T, Bader N. 2006. Protein oxidation and proteolysis. Biol Chem. 2006;387(10\_11):1351–1355. doi:10.1515/BC.2006.169.

### Genoux. C, Putzola. F, Maurina. G, 1991. Thème général : la lagun méditerranéenne, TPE: Les plantes halophytes

### Gill. S.S. et Tuteja. N, 2010. *Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants.* Plant Physiology and Biochemistry, 48(12), 909–930.

### Garrel. C, Bigard. X, 2017. Stress oxydatif et micronutriments antioxydants. Nutr Sport. 2017;151.

### *H*

### Haouala. F, Ferjani. H, Ben El Hadj.S, 2007. Effet de la salinité sur la répartition des cations (Na+, K+, et Ca2+) et du chlore (Cl-) dans les parties aériennes et les racines du ray-grass anglais et du chiendent. Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement, Vol. 11, No. 3. pp : 235- 244.

### Hopkins. W.G, 2003. Physiologie végétale. 2éme édition. De Boeck, Bruxelles : 61- 476

### He. Y, Li. X, Chen. L, 2013. Malondialdehyde (MDA) as a marker of oxidative stress in plants. Environmental and Experimental Botany, 85, 53-61.

### **H**ikosaka K, Noguchi K, Terashima I, 2006. Photosynthetic nitrogen use efficiency in leaves of woody and herbaceous species. Funct Ecol. 2006;20(6):984–991.

*K*

**Koechlin-Ramonatxo C, 2006.** Le stress oxydant : définitions, mesures et implications en physiopathologie. Nutr Clin Métabol. 2006;20(3):165–177.

*L*

Luttge. U, Kiuge. M, Bauer. M.G, 2002. Botanique. 3éme édition, Tec et DocLavoisier Vol. 4, No. 1. pp: 20- 31

### Lardjani. Ayoub, 2019. L’effet de stress salin sur la germination du fève (Variété Locale, Luz de Otono, Claro de Luna). Mémoire de Master. Université Mohamed Khider de Biskra.

Laouaouda. A, Bouldroua. Kh, 2021. Etude de Quelques Effets Du Stress Salin Chez Différentes variétés du Blé Dur (TriticumdurumDesf). Mémoire En Vue de l’Obtention du Diplôme de Master. Université 8 Mai 1945 Guelma.

**Levitt J, 1980.** Responses of Plants to Environmental Stresses. Volume II: Water, Radiation, Salt, and Other Stresses. Academic Press, New York

*M*

Marie-Benoit. M, Laurent. B, 2017. Légumineuses et agriculture durable. Dictionnaire d’agroécologie.

Mates. J.M, Perez-Gomez. C, Nunez de Castro. I, 1999**.** Antioxidant enzymes and human diseases. Clin Biochem. 32(8):595–603.

**Mahi. Z, Lemoine. R, Dedaldechamp. F, Maurousse. L, and Moulay Belkhodja, 2015.** Salinity effects on growth and photosynthetic parameters in four Acacia species. Int J Innov Appl Stud. 2015;10(1):102–110.

### Molinari. H.B.C, Marur. C.J, Daros. E, 2007. Evaluation of the stress-inducible production of proline in transgenic sugarcane (Saccharum spp.): osmotic adjustment, chlorophyll fluorescence and oxidative stress. Plant Physiology, 30: 218- 229.

**Murakami T, Shimokawa M, Horie H, 2017.** Retinal diseases associated with oxidative stress and the effects of a free radical scavenger (Edaravone). Yakugaku Zasshi. 2017;137(9):1137–1143.

### ***N***

**Naidu KA,** **2003.** Vitamin C in human health and disease is still a mystery. An overview. *Nutrition Journal.* 2003;2:7. doi:10.1186/1475-2891-2-7.

**Nasrollahi M, Ahmadi B, Khoshgoftarmanesh SA, Gholami E, Nasiri S, Etemadi A, Montagnoli A.2024**. Enhancing salt stress tolerance in kidney beans: The synergistic effects of biochar and salicylic acid in arid and semi-arid regions. Sci Hortic. 2024;324:112148.

### ***P***

### Popovici. C, Saykova. I, Tylkowski. B, 2009. Evaluation de l’activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH, Revue de génie industriel, 4, 25-39

### Parida, A. K., & Das, A. B. 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. Ecotoxicology and Environmental Safety, 60(3), 324–349.

**Pathak A, Priyadarshini P, Tiwari M, 2019.** Editorial: Reactive oxygen species (ROS) detection methods in biological systems. Front Physiol. 2019;10:80.

### *****R*****

### ****Ries. S.K and Houtz. R.L, 1977.**** Soluble and bound peroxidase activity in wheat roots as affected by light and darkness. Plant Physiology, ****59****(1), 39–42

### *S*

### **Schnieder. A, Huyghe. Ch, Coordinateurs,** 2015. Les légumineuses pour des systèmes agricoles et alimentaires durables. Edition Quae RD 10, 78026. Versailles codex.

### Szabadosl. L, Savouré. A, 2010. Proline : à multifunctional amino acid. Trends in Plant Science, 15(2), 89-97.

### Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. 1999. **Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent.** Methods in enzymology, 299, 152–178.

*T*

### Torrecillas. A, Leon. A, Del Amor. F, et Martinez-Mompean. M.C, 1984. Rapid determination of leaf Clorofila in discos limonero. Fruits, 39:617 - 622

### Troll. W et Lindsey. G, 1955. A photometricmethod for the determination of proline. J BiolBiochem, 215: 655-660.

### ***V***

### **Valérie. Payet, Marie, Suzanne, 2023.** Etude bibliographique du stress oxydant et de son implication en pathologie des carnivores Domestiques. Thèse d’exercice pour obtenir le titre de Docteur Veterinaire Diplome d’etat. Université Paul-Sabatier de Toulouse.Favier,

### *X*

### Xiong. L and Zhu. J.K, 2002. Molecular and genetic aspects of plant responses to osmotic stress. Plant Cell Environ. 25, 131–139

### *Y*

### Yousefvand. P, Sohrabi. Y, Heidari. G, Weisany. W, Mastinu. A, 2022. Salicylic Acid Stimulates Defense Systems in Allium hirtifolium Grown under Water Deficit Stress. Molecules 27, 3083.

### *Z*

### Zulfugarov. S, Trovu. A, Hong kim. J, et Hwan lee. C, 2011. Detection of Reactive Oxygen Species in Higher Plants.Journal in Plant Biology· December 201. DOI: 10.1007/s12374-011-9177-4 .