

Effet du stress salin sur le système foliaire d'une légumineuse vivrière (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivée dans un sol de bentonite

M. KOUADRIA¹, M. SEHARI¹, A. HASSANI¹, F. KOULALI¹, S. ZOUABLIA¹

(Reçu le 27/03/2019; Accepté le 11/07/2019)

Résumé

Le but de ce travail est de caractériser l'effet du stress salin sur deux variétés de l'espèce *Phaseolus vulgaris* L. qui est une plante sensible à la salinité. Pour étudier la réponse des deux variétés utilisées en situation de stress salin, nous avons analysés certains paramètres morphologiques et biochimiques du système foliaire de la plante afin d'identifier les bio-indicateurs de stress, certaines stratégies de tolérance et mettre en évidence des critères d'adaptation ainsi que le génotype qui pourrait être cultivé en condition de salinité sans que le rendement ne soit fortement diminué. Pour cela, les deux variétés testées («coco rose» et «djedida») ont été soumises au stress salin à raison de 6 g/l soit environ 100 mM de NaCl additionné d'argile «bentonite» à 2 doses différentes (3,5 et 7%) jusqu'au stade fructification, en plus du témoin à 0 g/l et sans bentonite. Selon les résultats obtenus, les deux variétés étudiées ont eu des réactions différentes vis-à-vis du stress salin. En effet, la biomasse de la partie aérienne de la variété «coco rose» est plus importante que celle de la variété «djedida», surtout en présence du NaCl. D'autre part, la stratégie de la variété de haricot «coco rose» est d'accumuler plus de sucres solubles dans les feuilles ainsi que la réduction de la surface foliaire et une diminution du nombre de fruits. Par contre, il y a eu une accumulation plus importante de sucres solubles et de proline dans les feuilles de la variété «djedida» ainsi que des feuilles réduites, un système racinaire moins développé et un nombre de fruit nul, ce qui démontre sa grande sensibilité à l'excès de sel. Enfin, l'ajout de bentonite réduit l'effet nocif de la salinité chez la plante.

Mots clés: Variété, *Phaseolus vulgaris*, salinité, bentonite, proline, sucres, adaptation.

Effect of salt stress on the foliage system of a food legume (*Phaseolus vulgaris* L.) grown in bentonite soil

Abstract

The purpose of this research is to characterize the effect of salt stress on two varieties of *Phaseolus vulgaris* L. which is a salinity sensitive plant. To study the response of the two varieties to salt stress, we analyzed some of the plant's morphological and biochemical parameters to identify the stress indicators, tolerance strategies, and highlight adaptation criteria as well as the genotype that could be grown under salinity without significantly decreasing yield. For this purpose, the two varieties were ("coco rose" and "djedida") were subjected to salt stress of 6 g/l or approximately 100 mM of NaCl supplemented with "bentonite" clay at 2 different rates (3.5 and 7%) until the fruiting stage, compared to the control without salt or "bentonite". According to the results, the two studied varieties have different reactions to salt stress. The biomass of the aerial part of the "pink coco" variety is greater than that of the variety "djedida", especially in the presence of NaCl. On the other hand, the strategy of the bean variety "pink coco" was to accumulate more soluble sugars in leaves as well as reducing leaf area and decreasing the number of fruits. On the other hand, there was a larger accumulation of soluble sugars and proline in leaves of the variety "djedida" as well as reduced leaves, a less developed root system and zero number of fruits which show high sensitivity to excess salt for this variety. Finally, addition of "bentonite" reduced the harmful effect of salinity in the plant.

Keywords: Variety, *Phaseolus vulgaris*, salinity, bentonite, proline, sugars, adaptation.

INTRODUCTION

Parmi les contraintes qui limitent la production des légumineuses et la plupart des espèces végétales, la salinité des sols constitue un facteur important (Daoud et Halimi, 1994; Teakle *et al.*, 2007) qui génère une contrainte hydrique et réduit les surfaces cultivables. Ceci menace l'équilibre alimentaire mondial, en particulier dans les zones arides et semi-arides où les ressources hydrauliques souterraines sont importantes mais saumâtres. En effet, plus de la moitié des sols irrigués sont touchés par la salinité (Zhu, 2001; Bartels et Sunkar, 2005) à cause de l'accumulation des sels et tout particulièrement le Na⁺ provenant de l'eau d'irrigation salée (Bennaceur *et al.*, 2001; Mezni *et al.*, 2002) et de l'utilisation excessive des intrants chimiques.

Par ailleurs, pour lutter contre la carence protéique et optimiser les ressources végétales, les légumineuses sont les plus prometteuses vu leur richesse en acides aminés et en réserves énergétiquement riches. Par ailleurs, comme la croissance de la plupart des végétaux dépend de la présence

d'azote dans le sol, ce sont également les légumineuses qui s'affranchissent largement de cet élément en s'associant à des bactéries du sol du genre *Rhizobium*, capables de capter l'azote de l'air pour l'oxyder et l'échanger avec la plante en forme minérale contre de la matière organique (Setia et Marschner, 2012).

Dans ce contexte, le développement de nouveaux systèmes de production agricole qui renforcent l'utilisation des ressources naturelles écologiquement non polluants et qui permettent de réduire l'usage d'engrais chimiques a permis de concentrer l'attention sur le rôle potentiel de la fixation biologique de l'azote. L'objectif du présent travail est l'étude du comportement d'une légumineuse cultivée, en l'occurrence le haricot (*Phaseolus vulgaris*) associé à ses bactéries symbiotiques racinaires, dans un sol salé amendé en Bentonite qui est une argile servant à améliorer la réponse des plantes face aux contraintes abiotiques en augmentant la capacité d'échange cationique du sol (Reguieg, 2007; Reguieg *et al.*, 2011).

¹ Faculté des Sciences de la Vie et la Nature, Université Ibn Khaldoun, Tiaret, Algérie

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Mise en place de l'essai

Après désinfection à l'hypochlorite de sodium (1%) pendant 10 min et rinçage à l'eau distillée, les graines des deux génotypes à étudier sont mises à germer dans des boîtes de pétri à l'obscurité dans les conditions de laboratoire (18-20°C) sur papier filtre humide. Après cela, les graines germées sont repiquées dans des pots de 25 cm de diamètre et 40 cm de hauteur remplis d'un substrat composé de sable, de fumier de vache et de terre (respectivement 3/1/1) additionné de 3,5 et 7% de Bentonite. Les conditions de culture en serre sont une température diurne de 18°C ±3 et nocturne de 10°C ±3; une hygrométrie de 65 à 70% et une photopériode de 10 h (Figure 1).

La salinité est apportée à l'aide de solutions aqueuses à 100 mM de NaCl. Les pots sont maintenus à l'humidité à la capacité au champ par l'apport d'un volume d'eau correspondant à la perte d'eau par 24 heures, soit: Poids du pot saturé en eau - Poids du pot après 24 heures.



Figure 1: photo du dispositif expérimental

Les paramètres analysés

La teneur relative en eau TRE ou RWC en %: déterminée par la méthode de Clarcke et Mc Caig (1982) améliorée par Sangakkara *et al.*, (1996) selon la formule suivante:

$$TRE \% = ((P_i - P_s) / (P_{pt} - P_s)) \times 100$$

(P_i : poids initial, P_s : poids sec, P_{pt} : poids au maximum de turgescence)

Le dosage de la proline: réalisé selon la méthode de Troll et Lindsley (1955) améliorée par Lahrer et Magne cité par Leport (1992). La densité optique est lue à 528 nm au spectrophotomètre UV 1200. Les valeurs obtenues sont reportées sur la courbe-étalon construite à partir d'échantillons de proline à quantités connues (100, 200, 300, 400 et 500 mg de proline pure) (Figure 2).

Le dosage des sucres solubles

La concentration en sucres solubles est déterminée par la méthode de Dubois *et al.*, (1956) et par la lecture de la densité optique mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre (Biotech Engineering Management CO. LTD.(UK) UV-9200) à $\lambda = 490$ nm. Enfin, les valeurs obtenues sont reportées sur la courbe-étalon construite à partir d'échantillons de glucose à quantité connue. Les teneurs en sucres solubles sont exprimées en mg/g MS (Figure 2).

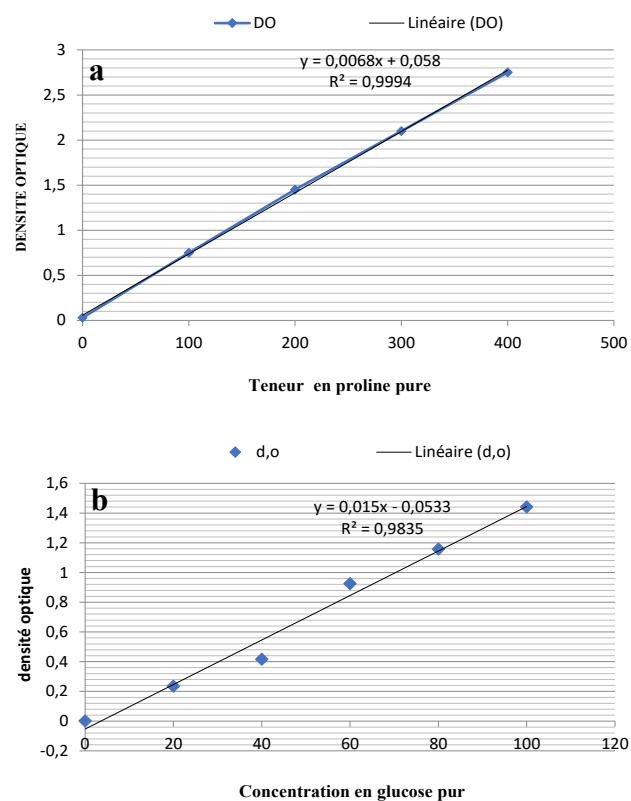


Figure 2: courbe d'étalonnage de la proline (a), et des sucres solubles (b)

La surface foliaire: estimée et mesurée par la méthode des analyses quantitatives réalisées par le traitement des photographies de feuilles de pois chiche avec le logiciel Image J (version 1.43u), software du National Institut of Health (NIH), des États-Unis.

Matière sèche de la partie aérienne

Le poids sec aérien (g): les organes frais de la partie aérienne sont pesés puis mis dans des sachets en papier numérotés et étuvés à 80°C pendant 48 heures (tiges et feuilles) et enfin pesés à l'état sec.

RÉSULTATS

La teneur relative en eau (TRE)

Dans l'essai conduit en situation de stress salin et sol à bentonite, l'analyse de la variance a montré des résultats très significatifs du paramètre «TRE». En effet, on note l'influence de la variété ($p=0,06\%$), une légère influence de la salinité ($p=5,9\%$) et celle de leur interaction avec $p=2,3\%$ sachant que le seuil d'erreur admis est de 5%. Par ailleurs, les moyennes numériques de la TRE montrent une variation en fonction de la dose de sel utilisée pour les deux variétés, Djedida et Coco rose qui est respectivement des TRE de 74,2 et 80,2 à 0 g/l et de 60,8 et 82,9 à 6 g/l.

La proline

L'analyse de la variance de la teneur en proline a montré des résultats légèrement significatifs ($p=0,054$) entre les variétés mais sans effet significatif de la salinité ($p=14,9\%$) ou de l'interaction «salinité-variété» ($p=49,8\%$). Par ailleurs, les résultats moyens varient entre 0,116 mg.g⁻¹

de MF pour la variété coco-rose et 0,337 mg.g⁻¹ de MF obtenus pour Djedida. D'autre part, l'accumulation de la proline est plus importante au niveau des plantes soumises à 100 mM de NaCl additionnée de bentonite (dose 1) où on a enregistré 0,81 et 0,26 mg.g⁻¹ de MF respectivement, pour les deux géotypes «Djedida» et «Coco rose» contre 0,69 et 0,13 mg.g⁻¹ de MF en sol salé sans bentonite, (Figure 3a).

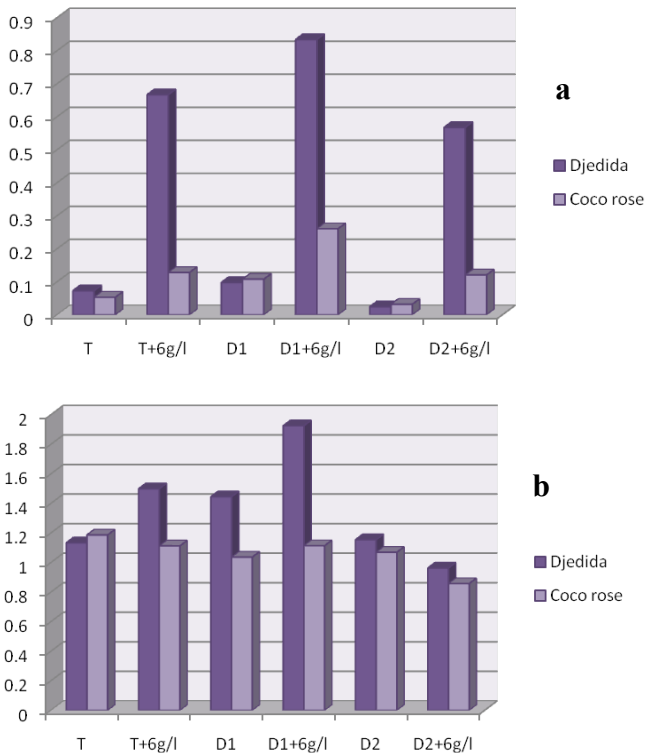


Figure 3: Histogrammes comparatifs du taux de proline «a» et des sucres solubles «b» (en mg.g⁻¹ de MF)

Les sucres solubles

Pour les sucres solubles, l'analyse de la variance a montré une influence hautement significative de la salinité sur le taux de sucres solubles dans les feuilles avec p=0.013 ainsi que celle de la variété (p=0,003) mais non significatifs pour l'interaction entre la salinité et la variété (p=0,068). Par ailleurs, pour l'ensemble des variétés (Figure 3b), les résultats moyens sont compris entre 1,353 mg.g⁻¹ de MF pour la variété djedida et 1,062 mg.g⁻¹ de MF pour la variété coco rose.

La surface foliaire

Les résultats statistiques mettent en évidence un effet très significatif de la salinité (p=0,004) sur la surface foliaire, de même pour le facteur «variété» (p=0,001) mais pas d'interaction significative géotype*salinité (p= 0,473).

Par ailleurs, les résultats obtenus (Figure 4) montrent une différence remarquable pour ce paramètre entre les deux variétés. En effet, la moyenne variétale est de 20,6 cm² obtenu par Djedida et de 33,6 cm² par coco rose. D'autre part, les deux géotypes soumis à la salinité présentent une réduction de la surface foliaire comparée au témoin non stressé qui est de 66% pour la variété «Djedida» et de 25% pour la variété «Coco rose».

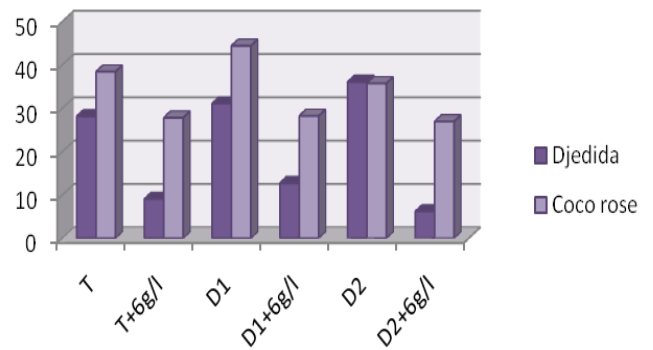


Figure 4: Histogrammes comparatifs de la surface foliaire (cm²)

Le Poids sec aérien

Pour le poids sec aérien, l'influence est significative pour le facteur salinité (p = 0,001) mais elle n'est pas significative pour le facteur géotype ou l'interaction avec des probabilités respectives de p=0,147 et p=0,579. En effet, pour la moyenne variétale chez le témoin, elle est de 4,17 et 4,35 g, respectivement pour «Djedida» et «Coco rose» alors que pour les plantes stressées par excès de sel, les valeurs respectives sont de 1,27 et 1,93 g.

DISCUSSION

La salinité est un phénomène complexe qui conduit souvent à un stress osmotique dû à la diminution des quantités d'eau disponible au niveau de la rhizosphère (Belkhdja et Bidai, 2004), suite à la réduction de l'aptitude des plantes à absorber l'eau (Bartels et Sunkar, 2005; Hassani *et al.*, 2008). Par conséquent, cela provoque une baisse de la croissance de la plante stressée et de sa productivité de biomasse végétale (Tester et Davenport, 2003).

À travers les relations établies entre les paramètres physiologiques et la salinité (Tableau 1), il ressort que la teneur relative en eau est corrélée négativement avec la salinité appliquée jusqu'au stade de la fructification avec r = -0,712**. Cela signifie qu'à ce stade, les besoins en eau sont plus importants et c'est une des phases végétatives critiques pour la plante. Cette situation s'explique par le fait que le statut hydrique de la plante est en relation avec

Tableau 1: Corrélations entre le stress salin et les paramètres physio-biochimiques

	Situation saline	TRE	Proline	Sucres	Surface foliaire	PS racine
Situation saline	1					
TRE	-0.088	1				
Proline	0.445*	-0.232	1			
Sucres	-0.035	-0.157	0.381	1		
Surface foliaire	-0.589*	0.628	-0.651**	-0.325*	1	
PS racine	-0.712**	-0.235	-0.398*	-0.066	0.616**	1

la capacité de prélèvement d'eau du sol et des mécanismes développés pour limiter les pertes en eau. Cette relation semble évidente et confirmée par de nombreuses études (Benlaribi, 1990; Ali dib, 1992). Dans ces conditions, on remarque que la variété Djedida a une faible TRE égale à 60,8 % comparée à Coco rose avec 82,9 %. L'accumulation des composés organiques (osmolytes) a été mise en évidence chez plusieurs espèces végétales soumises à la contrainte saline. Cette accumulation varie dans de larges proportions suivant l'espèce, le stade de développement et le niveau de la salinité.

Par ailleurs, l'accumulation de la proline constitue un véritable mécanisme de tolérance à la salinité (Hassani *et al.*, 2008) sous l'effet de la contrainte «halohydrrique». Dans cette situation, il y a inhibition de l'oxydation de la proline car du stress résulte des dommages ultras structuraux (Belhassen, 1993), ce qui favorise une accumulation de la proline qui ne semble pas être affectée par l'adjonction de bentonite au substrat-sol.

Concernant le stress salin et les paramètres physio-biochimiques, la matrice de corrélation a permis de dégager des relations significatives entre les paramètres aériens et le traitement salin.

En effet, la corrélation hautement significative et négative entre la salinité et la surface foliaire d'une part et entre la salinité et le poids sec aérien d'autre part, avec respectivement $r = -0,589^{**}$ et $r = -0,724^{**}$. Par ailleurs, la surface foliaire a subi des variations importantes, en particulier pour la variété djedida qui a affiché une réduction d'environ 70% soit 33,8 cm² à 0 g/l et 9,35 cm² à 6 g/l ce qui est probablement due à son degré d'adaptation à la situation saline, surtout après l'examen de son système racinaire qui présente un bon développement.

En effet, la surface foliaire montre des corrélations significatives et positives avec les paramètres racinaires tels que la longueur ($r = 0,566^{**}$), ce qui confirme le rôle régulateur des racines par l'émission de substances chimiques dont l'ABA qui joue un rôle d'inhibiteur de la surface foliaire et de la transpiration. Le tableau montre également un effet corrélatif hautement significatif et négatif de la salinité sur le poids sec aérien ($r = -0,724^{**}$), ce qui indique que lorsque l'intensité du stress augmente, le poids sec des deux parties diminue. D'une manière générale, la diminution de la croissance de la partie aérienne constitue une forme d'adaptation morphologique des plantes face à la contrainte saline. En effet, des auteurs comme Bartels et Sunkar (2005), Hassani *et al.*, (2008) signalent que sous l'effet du stress salin, les plantes présentent des adaptations telles qu'un faible allongement des organes, un raccourcissement des tiges et/ou une diminution de la surface foliaire.

Concernant le stress salin et les paramètres racinaires, le tableau 1 de la matrice des corrélations, affiche une relation négative du rapport PSR/PSA et la situation saline car ($r = -0,272$) cela signifie que ce rapport varie dans le sens contraire du gradient salin. Ce rapport varie dans le sens positif avec la salinité [0,12 (0 mM) → 0,17 (100 mM)].

CONCLUSION

Pour parvenir à définir quelques paramètres permettant à la plante de surmonter les différents stress, en particulier celui de la contrainte saline, une étude physio-biochimique des feuilles et des racines a été menée afin de vérifier et pouvoir confirmer le rôle de certains paramètres morphologiques et biochimiques dans la résistance et l'adaptation de la plante stressée et cela chez deux variétés de Haricot cultivé.

L'étude effectuée en conditions en serre a montré que l'action du sel est d'autant plus marquée que la concentration saline est élevée. Selon, les résultats obtenus, on note que le maintien de l'humidité interne des plantes de haricot est étroitement conditionné par la manifestation des mécanismes qui leurs sont liés. Ainsi, le maintien des potentialités hydriques est principalement assuré par des modifications du tissu foliaire. Ainsi, la teneur d'eau relative semble être un bon indicateur de l'état hydrique car on a constaté une forte variation pour les forts traitements salins sous forme d'une baisse d'environ 20% pour Djedida. Parmi les principales réactions à la contrainte SALINE s'inscrit la réduction de la surface foliaire qui favorise la protection de la plante en limitant l'évaporation d'eau.

Il est à signaler que la variété Djedida présente toujours les surfaces les plus réduites en conditions de stress salin. Le pourcentage de réduction par rapport au témoin est de 66% pour la variété «Djedida» et de 25% pour la variété «Coco rose».

Pour la proline, elle est oxydée en condition d'alimentation normale, au fur et à mesure de sa formation. Cependant, sous l'effet du stress salin, il y a inhibition de cette oxydation car de ce stress résulte des dommages ultras structuraux. L'excès de sel provoque chez la plante une accumulation de la proline. La teneur en proline augmente en présence de Bentonite et du sel, respectivement de 15% et de 50% pour les deux génotypes «Djedida» et «Coco rose» en comparaison au témoin sans Bentonite.

Pour les sucres solubles, la hausse est de 25% pour «Djedida» en dose 1 g de bentonite et 6 g de sel comparé au témoin avec sel sans Bentonite. Pour le génotype «Coco rose», les valeurs sont presque les mêmes dans tous les traitements. Ces travaux témoignent d'une osmorégulation, permettant aux cellules foliaires de garder un niveau de turgescence compatible avec les activités métaboliques.

En conclusion, il ressort de cette étude que la variété de haricot «coco rose» réagit à l'excès de sel en réduisant sa surface foliaire et en maintenant la teneur en eau des feuilles. Par contre, pour la variété de Haricot «Djedida», c'est l'inverse. Les résultats obtenus montrent que les génotypes étudiés ont des réactions différentes vis à vis des concentrations croissantes en NaCl. Le rapport (MSR/MSA) est élevé suite à la matière sèche racinaire qui a augmenté alors que la matière sèche aérienne a diminué dans les traitements à forte concentrations de sel. Enfin, il semble qu'un amendement de 3 à 4 % en Bentonite des sols salés, peut améliorer la tolérance des plantes cultivées face à la contrainte saline.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Bartels D. and Sunkar R. (2005). Drought and salt tolerance in plants. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 24: 23–58.
- Belhassen É., This D., Monneveux P. (1995). L'adaptation génétique face aux contraintes de sécheresse. *Cahiers Agricultures*, 4: 251-261.
- Belkhodja M., Bidai Y. (2004). La réponse des graines d'*Atriplex halimus* L. à la salinité au stade de la germination. *Revue Sécheresse*, 15: 331-335.
- Benaceur, M., Rahmoun, C., H. Sdiri, M. Medahi, M. Selmi (2001). Effet du stress salin sur la germination, la croissance et la production de grains de blé. *Revue Sécheresse*, 12: 167-174.
- Benlaribi M. (1990). Adaptation au déficit hydrique chez le blé dur: Études des caractéristiques morpho-physiologiques. Université de Constantine, Algérie, Thèse Doctorat es Sciences.
- Clarke, J.M., McCaig, T.N. (1982). Excised-leaf water retention capability as an indicator of drought resistance of *Triticum* genotypes. *Canadian Journal of Plant Science*, 62: 571-578.
- Daoud Y., Halitim A. (1994). Irrigation et salinisation au Sahara algérien. *Revue Sécheresse*, 5: 151-160.
- Dib T. A., Monneveux P., Araus J. L. (1992). Adaptation à la sécheresse et notion d'idéotype chez le blé dur. II. Caractères physiologiques d'adaptation. *Agro* n° 12, pp 381-393.
- Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J.K., Pebers P.A and Smith F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.*, 28: 350-356.
- Hassani A, Dellal A, Belkhodja M, et Kaid-Harch M. (2008). Effet de la salinité sur l'eau et certains osmolytes chez L'orge (*Hordeum Vulgare*). *European Journal of Scientific Research*, 23: 61-69.
- Leport L. (1992). Accumulation de proline associée aux contraintes environnementales et à la floraison chez le colza (*Brassica napus* L.). Thèse D'état, 156 p. Rennes.
- Mezni M., Albouchi E. Bizid et M. Hamza (2002). Effet de la salinité des eaux d'irrigation sur la nutrition minérale chez trois variétés de luzerne pérenne (*Medicago sativa*). *Agro.*, 22: 283-291.
- Reguieg H.Y. (2007). Effet de la bentonite sur les sols sableux de la région de Mostaganem, étude de comportement d'une association blé-pois chiche. Thèse de Doctorat. Institut National Agronomique El Harrach, Alger.
- Reguieg H.Y., Belkhodja M., Chibani A. (2011). Effect of Bentonite on the sandy soils of arid regions: Study of behavior of an association of wheat and chickpea. *Journal of Environmental Science and Engineering*, 5: 1668-1677.
- Sangakkara U.R., Hartwing A., Nosberger J. (1996). Soil moisture and potassium affect the performance of symbiotic nitrogen fixation in faba bean and common bean. *Plant and Soil*, 184: 123-130.
- Setia R., P. Marschner (2012). Carbon mineralization in saline soils as affected by residue composition and water potential. *Biol. Fertil. Soils* pp. 1-7.
- Teakle N.L., Flowers T.J., Real D., Colmer, T.D. (2007). *Lotus tenuis* tolerates the interactive effects of salinity and waterlogging by 'excluding' Na⁺ and Cl⁻ from the xylem. *Journal of Experimental Botany*, 58: 2169-2180.
- Tester M., Davenport R. (2003). Na⁺ tolerance and Na⁺ transport in higher plants. *Ann. Bot.* 91: 503–527.
- Troll W., Lindsley J. (1955). A photometric method for the determination of proline. *J Biol Chem*, 215: 655-660.
- Zhu, J.-K. (2001). Plant salt tolerance. *Trends Plant Sci.* 6: 66–71.