

La symbiose Légumineuses-rhizobia sous conditions de salinité : Aspect Agro-physiologique et biochimique de la tolérance

[Legume-rhizobia symbiosis under saline conditions: Agro-physiological and biochemical aspects of tolerance]

Mohamed Farissi¹, Faissal Aziz², Abdelaziz Bouizgaren³, and Cherki Ghoulam¹

¹Department of Biology,
Unit of Plant Biotechnology and Symbiosis Agro-physiology,
Faculty of Sciences and Techniques, Gueliz Marrakesh 40000, Morocco

²Department of Biology,
Faculty of Sciences Semlalia, Marrakesh 40000, Morocco

³Department of Plant Breeding,
National Institute for Agronomic Research, Marrakesh 40000, Morocco

Copyright © 2014 ISSR Journals. This is an open access article distributed under the **Creative Commons Attribution License**, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ABSTRACT: Salinity of soils and irrigation waters remains in the arid and semi arid ecosystems, a major obstacle to the development and growth of plants. This constraint on the legumes-rhizobia symbiosis occurs by an osmotic and/or ionic effect inhibiting various physiological and biochemical processes governing the growth of the host plant, the survival and proliferation of rhizobia and subsequently the inhibition of the infection process and the biological nitrogen fixation. The ability of plants to prevent and repair damages caused under saline conditions is associated with changes in many physiological and biochemical process including vacuolar sequestering of sodium ion, maintaining a high cytosolic K^+/Na^+ concentration ratio, accumulation of osmoprotector solutes, induction of an oxidative stress response and of plant hormones.

KEYWORDS: legumes, rhizobia, symbiosis, salinity, tolerance.

RESUME: La salinité des sols et des eaux d'irrigation demeure dans les écosystèmes arides et semi arides, un obstacle majeur au développement et à la croissance des végétaux. Cette contrainte sur la symbiose légumineuses-rhizobia se manifeste par un effet osmotique et /ou ionique inhibant les différents processus physiologiques et biochimiques gouvernant la croissance de la plante hôte, la survie et la prolifération des rhizobia et par la suite l'inhibition des processus d'infection et de la fixation biologique de l'azote. La capacité des plantes à prévenir et réparer les dommages engendrés sous conditions salines est associée à différents changements physiologiques et biochimiques incluant la séquestration du sodium dans les vacuoles, le maintien d'un haut ratio cytosolique K^+/Na^+ , l'accumulation d'osmoprotecteurs, et l'induction d'une réponse anti-oxydante et des phytohormones.

MOT-CLEFS: légumineuses, rhizobia, symbiose, salinité, tolérance.

1 INTRODUCTION

Dans le bassin méditerranéen, la culture des plantes légumineuses occupe une place primordiale au niveau des agro-systèmes vu leurs intérêts agronomiques, économiques et nutritionnels qu'elles apportent via leur symbiose avec les rhizobia [1]; [2];[3]; [4]; [5]. En effet, cette symbiose fournit l'azote nécessaire pour la croissance et le développement de la plante et contribue à l'amélioration du bilan azoté des sols [6]. Selon Lodwig et al. (2003) [7], la réduction biologique de l'azote atmosphérique en ammonium fournit environ 65% de l'azote disponible dans la biosphère. La majeure partie de cet azote est apporté par la symbiose légumineuses-rhizobia [8], avec un apport annuel d'azote dans les terres estimé de 200 à 300 kg N/ha [9]. Par conséquent, la symbiose rhizobienne pourrait, par la culture des légumineuses, dispenser les agriculteurs de la fertilisation chimique coûteuse et polluante.

Cependant, la salinisation des sols et des eaux d'irrigation enregistrée dans les écosystèmes aride et semi aride, en particulier dans le bassin méditerranéen, constitue l'un des facteurs limitatifs de la productivité végétale et du rendement agricole [10]; [11]; [5]. Près de 10% des terres sont affectés par le sel et 10 millions d'hectares de terres agricoles sont perdus chaque année [12]. Un grand nombre de ces terres sont cultivées avec des légumineuses pour lesquelles la salinité constitue une contrainte importante dans de nombreuses régions du monde et limite sévèrement la fixation symbiotique de l'azote [13]; [14]; [1]. En effet, la salinité agit sur la survie et la prolifération des rhizobia au niveau du sol et la rhizosphère, inhibe le processus d'infection et affecte directement le fonctionnement des nodules au niveau des racines [15]; [1]; [4], affectant ainsi la croissance des plantes, la photosynthèse et la demande en azote, et par suite la productivité et le rendement. En conséquence, les agriculteurs apportent de grandes quantités d'azote pour stimuler cette croissance, ce qui est en contradiction avec les propriétés biologiques des légumineuses et est néfaste pour l'économie des exploitations à revenu limité, ainsi que sur l'environnement en contribuant à la pollution de la nappe phréatique par les nitrates.

Dans ce contexte, la présente synthèse bibliographique a pour objectif de mettre l'accent sur les principaux effets causés par la contrainte saline sur la symbiose associant des légumineuses aux rhizobia. Beaucoup d'informations portant sur les différents mécanismes agro-physiologiques et biochimiques liés à la tolérance seront développées.

2 DEFINITION ET TYPES DE SALINITE

La salinité désigne la surcharge en sels minéraux solubles de l'eau d'irrigation ou de la solution du sol, ces sels sont représentés en grande partie par la combinaison de trois cations (Ca^{2+} , Mg^{2+} et Na^+) et trois anions (Cl^- , SO_4^{2-} et HCO_3^-). En général, le chlorure de sodium (NaCl) est le plus fréquent et représente plus de 90 % des sels [17].

On définit en général deux types de salinité : la salinité primaire et la salinité secondaire. La première résulte de la présence initiale de sels dans le sol ou dans la nappe phréatique. La seconde résulte des apports de l'eau d'irrigation [16].

3 LES NORMES DE LA SALINITE DES EAUX ET DES SOLS

3.1 LES SOLS

Un sol est considéré comme étant salin s'il contient assez de sels solubles pour nuire à la croissance et au développement des plantes. Un sol est salin si sa conductivité électrique à 25°C dépasse 4 dS.m^{-1} (Tableau 1).

Tableau 1. Classifications des sols salinisés [18]

Classification	Conductivité électrique (dS.m^{-1})	pH du sol	Ratio d'adsorption du sodium	Condition physique du sol
Saline	> 4.0	< 8.5	< 13	Normal
Salin-sodique	> 4.0	< 8.5	> 13	Normal
Sodique	< 4.0	> 8.5	> 13	Pauvre

3.2 LES EAUX

L'évaluation de la salinité des eaux d'irrigation est en général basée sur la conductivité électrique à 25°C. Les eaux dont la conductivité électrique est inférieure à 0.25 mmhos/cm sont faiblement salines alors que celles pour lesquelles cette conductivité est comprise entre 0.75 et 2.25 mmhos/cm sont très salines (Tableau 2).

Tableau 2. Classification des eaux d'irrigation selon leurs conductivités électriques [19].

Classe de salinité	Conductivité électrique (mmhos/cm)	Degré de salinité
C1	0.0 à 0.25	Faible
C2	0.25 à 0.75	Moyen
C3	0.75 à 2.25	Fort
C4	2.25 à 5	Très fort
C5	> 5	excessif

4 IMPACT DE LA SALINITE SUR LA SYMBIOSE LEGUMINEUSE-RHIZOBIA

4.1 EFFET SUR LA GERMINATION DES GRAINES

La germination constitue un stade critique dans le cycle de développement de la plante. Elle conditionne l'installation de la plantule, sa fixation sur le milieu, et probablement sa productivité ultérieure. La germination des plantes, qu'elles soient halophytes ou glycophytes, est affectée par la salinité [20].

L'influence de NaCl sur la germination de la légumineuse *Medicago sativa* L. se traduit soit par un allongement de la phase de latence avant la germination, soit par l'inhibition complète de celle-ci [21]; [2]. Chez d'autres plantes légumineuses telles que *Glycine max* L., *Mucuna poggii* Taub., *Phaseolus adenanthus* L., *Phaseolus vulgaris* L. et *Vigna unguiculata* L., Taffouo et al. (2009) ont noté que les pourcentages de germination des graines diminuaient à partir d'une concentration de 50 mM NaCl. Ces réductions peuvent être dues à la création d'un potentiel osmotique externe qui empêche l'absorption d'eau ou à des effets toxiques des ions sodium et chlorure sur les graines en germination [22]. En fait, le stress salin affecte le métabolisme de l'embryon des graines en germination et induit des perturbations dans les processus impliqués dans la mobilisation des réserves de l'endosperme [21]. La salinité entraîne une réduction de l'activité des enzymes hydrolytiques de l'endosperme des graines, telles que les amylases, les protéases et les phosphatases. Cette réduction est plus importante chez les légumineuses sensibles que chez les tolérantes [23].

4.2 EFFET SUR LA CROISSANCE DES LEGUMINEUSES

La salinité est une contrainte majeure qui affecte la croissance et le développement des plantes. La croissance de la majorité des plantes est réduite ou inhibée quand la concentration en sel dans l'environnement racinaire s'élève au dessus de 100 mM NaCl. Chez les légumineuses, l'effet dépressif du sel se manifeste à partir d'un seuil critique de concentration, caractéristique de l'espèce ou de la variété [21] ; [1]; [3]. Ainsi, la croissance végétative de *Phaseolus vulgaris* L. est fortement déprimée par une concentration de NaCl de l'ordre de 25 mM [1]. Chez la luzerne, le sel entraîne une réduction des productions de matière sèche aérienne et racinaire [13]; [24].

Plusieurs causes sont évoquées pour expliquer le déterminisme de la réduction de la croissance sous les conditions de stress salin, incluant entre autre, la diminution du contrôle du statut hydrique [22], le désordre nutritionnel [21], le ralentissement de la synthèse protéique, la perturbation de la stabilité des structures membranaires et l'inhibition de l'activité des enzymes [25];[1], les changements dans l'extensibilité de la paroi cellulaire en relation avec sa composition protéique, et la réduction de la capacité photosynthétique [26]. Mezni (2010) [27] a montré que le stress causé par la salinité inhibe de manière significative la croissance de différents organes de la luzerne, toutefois, les racines sont souvent plus touchées que les parties aériennes [28].

4.3 EFFET SUR LA CROISSANCE ET LA SURVIE DES RHIZOBIA

La salinité est un facteur majeur limitant la fixation symbiotique de l'azote. Elle affecte d'une manière délétère la croissance et la persistance des souches rhizobiennes dans le sol [4]. Jebara et al. (2000)[29] ont montré que certains isolats de *Sinorhizobium* nodulant *Medicago sp*, avaient une croissance lente sous des conditions salines. La croissance des rhizobia a été notée normale sous des concentrations en NaCl d'environ 1 %. Certaines souches ont été rapportées pour leur capacité à croître à des concentrations élevées en sel (>3%), notamment *Sinorhizobium meliloti* [30].

4.4 EFFET SUR LE PROCESSUS D'INFECTION ET LE DEVELOPPEMENT DES NODULES

Le stress salin peut affecter la symbiose légumineuse-rhizobia indirectement, en réduisant la croissance de la plante hôte et en affectant certains de ses processus physiologiques, ou bien directement en inhibant le processus d'infection et le développement des nodules [8]; [29]; [31]. Chez des cultivars tolérants de pois chiche, la salinité inhibe le processus d'infection et affecte la taille et le nombre des nodules [32], tandis que chez la fève, une inhibition du cordon d'infection a été remarquée (Zahran et Sprent, 1986). Cependant, une stimulation de la croissance des nodules a été observée chez certaines légumineuses comme les cultivars tolérants du pois chiche [33] ou de luzerne [34]. En général, les premières étapes de la nodulation sont les plus sensibles au stress salin [31].

4.5 EFFET SUR LA FIXATION BIOLOGIQUE DE L'AZOTE ET LA RESPIRATION NODULAIRE

La salinité inhibe l'activité de la nitrogénase [34] et la respiration nodulaire [35] qui cause, par la suite, une diminution des teneurs en azote total dans la plante [36]; [1]. La réduction de l'activité fixatrice de N_2 est généralement due à la réduction de la respiration nodulaire [37]. Cette réduction est due à une limitation du substrat N_2 ou à la régulation de la diffusion de l'oxygène dans le nodule [38] ou une diminution de la production de protéines cytosoliques, surtout la légghémoglobine, par les nodules [39]. Serraj et al. (1994) [35], ont montré que l'augmentation de la pression d'oxygène dans le milieu d'une racine nodulée permet de supprimer l'effet inhibiteur du stress salin sur l'activité nitrogénase. D'autres résultats suggèrent que l'accumulation des ions toxiques (Na^+ et Cl^-) dans les nodosités peut affecter le métabolisme dans ces organes et inhiber leur activité fixatrice d'azote [40].

4.6 EFFET SUR LES PARAMETRES HYDRIQUES

Dans la nature, les plantes perdent de l'eau par transpiration et ont tendance à la remplacer par son absorption à partir de la solution du sol [41]. La présence des sels dans le milieu de culture limite la disponibilité de l'eau pour la plante et par conséquent, cette dernière se trouve en état de déficit hydrique [3]. Les potentiels hydrique et osmotique de plantes deviennent plus négatifs avec l'augmentation de la salinité, alors que la pression de turgescence se trouve augmentée [42]. Le stress salin réduit la teneur en eau, le contenu relatif en eau et le potentiel hydrique chez les légumineuses telles que *Phaseolus vulgaris* L. [43], *Vicia faba* L. [44] et *Ceratonia siliqua* L. [45]. Ces réductions sont plus importantes chez les cultivars sensibles comparativement aux tolérants. Le statut hydrique de la plante est un facteur déterminant pour l'activité métabolique et la survie des feuilles [46]. La réduction de la teneur relative en eau entraîne une faible disponibilité de l'eau pour l'extension cellulaire [47].

4.7 EFFET SUR LA PHOTOSYNTHESE

L'effet de salinité sur la photosynthèse se manifeste essentiellement par la réduction de l'assimilation du CO_2 , la conductance stomatique [48],[6] et le ralentissement de l'activité du transport des électrons du photosystème II [49]. La réduction de la photosynthèse par la salinité est l'une des causes majeures de la réduction de la croissance et de la productivité végétale. Dans ce sens, les mesures de la photosynthèse sont souvent utilisées dans les études d'adaptation des plantes à différentes contraintes du milieu, telles que la salinité. Garg et Singla (2004) [50] ont noté les réductions de l'assimilation photosynthétique nette (P_N), la concentration interne en CO_2 , la conductance des stomates et la transpiration chez les plantes de pois chiche. Le même constat a été observé par Gama et al. (2007) [51] chez l'haricot. La réduction de P_N est accompagnée de la réduction de la conductance des stomates. La fermeture de ceux-ci pourrait être à l'origine de la diminution de la concentration intracellulaire en CO_2 par limitation de son entrée dans les feuilles.

4.8 EFFET SUR LE METABOLISME CARBONE

L'énergie nécessaire à la fixation de l'azote par les bactéroïdes est fournie par la plante sous forme de carbone réduit. La plante fournit du saccharose à travers le phloème. De fortes activités sucrose synthase et invertase sont présentes dans le cytosol des cellules infectées, permettant l'hydrolyse du saccharose en glucose. Le glucose est ensuite métabolisé en phosphoénolpyruvate, en oxaloacétate, en malate et en succinate. Ces deux derniers composants constituent la principale source carbonée des bactéroïdes [52]. Le malate est un métabolite clé chez les plantes et il est synthétisé par l'action de phosphoénolpyruvate carboxylase et la malate déshydrogénase. Une inhibition de l'activité de ces deux enzymes, de la sucrose synthase et de l'invertase alcaline a été noté dans les nodules de luzerne et de haricot [39]; [1].

4.9 EFFET SUR LA NUTRITION MINERALE

Le stress salin engendre un déséquilibre de la nutrition minérale de la plante qui résulte d'une perturbation de l'absorption et du transport des éléments essentiels. En général, la présence du NaCl dans le milieu de culture inhibe l'absorption des ions K^+ , Ca^{2+} , P_i , NO_3^- , NH_4^+ et renforce celle des ions salins, Na^+ et Cl^- qui s'accumulent jusqu'à devenir toxiques pour la plante [27], [1]. Ainsi, Farissi et al. (2014b) [5] ont montré chez *Medicago sativa* L. que la contrainte saline engendrait des réductions significatives de K^+ et des accumulations significatives de Na^+ . Chez la même espèce, Ibriz et al. (2004) [53] ont noté que la salinité provoquait une accumulation de Na^+ et Cl^- , et une réduction d'absorption de K^+ , Ca^{2+} et de N. Les activités de certaines enzymes impliquées dans la nutrition azotée n'échappent pas à la surcharge en sel. En effet, il s'est avéré que le stress salin a une influence sur l'activité de la nitrate réductase [5], une enzyme clé dans les processus d'assimilation de l'azote. Gouia et al. (1994) [54] ont noté que l'effet négatif du NaCl sur l'activité de cette enzyme était plus remarquable sur les plantes de la fève sensible au sel. Egalement, l'augmentation de la concentration en NaCl réduit l'activité nitrate réductase dans les organes de *Medicago sativa* L. [55].

4.10 EFFET SUR LA PEROXYDATION DES LIPIDES

La salinité affecte la composition en lipides membranaires chez les plantes supérieures en modifiant leur intégrité, leur fluidité et par conséquent, leur perméabilité. Taffouo et al. (2004) [56] ont noté que l'augmentation de la concentration en sel dans le milieu rhizosphérique réduisait significativement la teneur des feuilles en lipides chez *Glycine max* L., *Mucuna poggei* Taub., *Phaseolus adenanthus* L., *Phaseolus vulgaris* L. et *Vigna unguiculata* L. Des teneurs élevées en MDA (Malonyldialdéhyde), métabolite issue de la peroxydation des lipides, ont été rapportées chez *Medicago officinalis* L., *Astragalus adsurgens* Pall. et *Medicago sativa* L. sous conditions de salinité [57].

5 MECANISMES DE TOLERANCE A LA SALINITE

La prévention des dommages causés par le stress salin et leur réparation sont nécessaires pour la survie des cellules. Ces stratégies peuvent inclure différents changements morphologiques, biochimiques et physiologiques.

5.1 SEQUESTRATION DU SODIUM

Les plantes en général et la symbiose rhizobienne en particulier, détectent le stress salin à travers le signal ionique (Na^+) et osmotique. L'excès de Na^+ peut être détecté par les protéines transmembranaires ou les enzymes récepteurs de Na^+ [58]. L'excès de Na^+ et Cl^- provoque des changements de structures de protéines et une dépolarisation membranaire qui peuvent conduire à la perception de la toxicité ionique.

Les antiports Na^+/H^+ de membrane plasmique, pompent le Na^+ à partir des cellules racinaires pour être transporté vers les feuilles. Ce transport est la première ligne de défense qui sert à empêcher l'accumulation de Na^+ dans le cytosol [58]. En conditions de salinité, la séquestration vacuolaire de Na^+ est une stratégie importante et rentable pour l'ajustement osmotique qui en même temps peut réduire la concentration de Na^+ cytosolique. Les antiports vacuolaires Na^+/H^+ utilisent le gradient de protons générés par la H^+ /adénosine triphosphatase ($H^+/ATPase$) vacuolaire et la H^+ /pyrophosphatase ($H^+/PPase$) pour la séquestration de Na^+ dans la vacuole. Le stress salin active les $H^+/ATPase$ et $H^+/PPase$ des tonoplastes [59]. Par conséquent, la coordination entre les antiports Na^+/H^+ , $H^+/ATPase$ et $H^+/PPase$ est cruciale pour la tolérance au stress salin.

5.2 PRELEVEMENT DE K^+

Dans les conditions optimales, les plantes maintiennent un haut ratio cytosolique K^+/Na^+ . Le stress salin entraîne la diminution de ce ratio, du fait que les ions Na^+ sont en concurrence avec les ions K^+ , ce qui est défavorable pour les processus biochimiques cellulaires. De même, une forte concentration de potassium augmente le potentiel osmotique qui entraîne une entrée d'eau à partir du milieu extérieur [60]. Le prélèvement de K^+ est essentiel pour la turgescence cellulaire et le déroulement des processus biochimiques sous stress salin [61].

5.3 BIOSYNTHESE DES OSMOPROTECTEURS ET AJUSTEMENT OSMOTIQUE

Les légumineuses tolérantes à la salinité réalisent l'ajustement osmotique en concentrant les ions salins dans leurs tissus. Mais, les quantités accumulées deviennent rapidement toxiques. Dès lors, une des stratégies d'adaptation consiste à

synthétiser des osmoprotecteurs, principalement des sucres et des composés aminés tels que la proline et la glycine-Bétaïne [21].

Chez la luzerne plusieurs études ont montré une accumulation importante de la proline à partir d'une concentration de 100 mM de NaCl [27]; [21]. Verdoy et al. (2006) [62] ont constaté chez *Medicago truncatula* L. transgénique que la salinité provoquait l'accumulation de proline dans les nodules et améliorait la croissance et la fixation symbiotique d'azote. La proline agit comme un osmoticum dont l'accumulation cytoplasmique permet de neutraliser les effets ioniques et osmotiques de l'accumulation du sel dans la vacuole [63]. Cet acide aminé joue un rôle également dans le maintien des pressions cytosol-vacuole et de régulation du pH [64] ainsi que la stabilité des membranes [65].

Les sucres pourraient contribuer à plus de 50% à l'ajustement osmotique des glycophytes soumises aux conditions de salinité [65]. L'accumulation des carbohydrates dans les plantes légumineuses en réponse à la salinité a été documentée dans les espèces de *Phaseolus* [66] et *Medicago sativa* [21]. Leurs fonctions majeures consistent dans l'osmo-protection, l'ajustement osmotique, le stockage du carbone et le piégeage des radicaux libres [67].

5.4 INDUCTION DES ENZYMES ANTIOXYDANTES

Le stress salin provoque la formation de dérivés réactifs de l'oxygène tels que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), le superoxyde (O^{2-}) et les radicaux libre. Ces dérivés causent des dommages oxydatifs aux différents composants cellulaires, y compris les lipides membranaires, les protéines et les acides nucléiques [68].

Pour faire face aux dérivés réactifs de l'oxygène, les plantes ont développé des mécanismes anti-oxydants enzymatiques et non-enzymatiques [69]. Dans ce sens, l'induction de la superoxyde dismutase est considérée comme le premier mécanisme de défense contre ces dérivés par réaction de dismutation de O^{2-} en H_2O_2 et O_2 . La catalase (CAT) et les peroxydases (POD) assurent la conversion de H_2O_2 en H_2O et O_2 [70]. Chez la légumineuse *Medicago sativa* L., Wang et al. (2009) [57] ont constaté l'augmentation de l'activité des enzymes antioxydantes comme mécanisme d'adaptation au stress salin. Arab et Ehsanpour, (2006) [71] ont noté que le traitement des semences d'une plante légumineuse par l'acide ascorbique augmentait le niveau de la tolérance au sel. Le maintien d'une activité antioxydante élevée est positivement corrélé à la diminution de la peroxydation des lipides, au maintien de la stabilité des membranes cellulaires des nodules et par la suite au maintien d'une biomasse nodulaire élevée. Mhadhbi et al. (2004)[72] ont rapporté que les activités peroxydases les plus élevées ont été détectées dans les symbioses pois chiche-rhizobia les plus tolérantes au stress salin. Egalement, Tejera et al. (2004)[14] ont noté que l'augmentation d'activité SOD détectée dans les nodules de haricot exposés à la salinité expliquait l'amélioration de la tolérance.

5.5 INDUCTION DES PHYTOHORMONES

Les phytohormones telles que l'acide abscissique (ABA), l'acide indolacétique (AIA), l'acide gibbérellique (AG) et les cytokinines, sont impliquées dans la régulation de la réponse des plantes à la salinité et permettent d'atténuer les effets dépressifs de cette contrainte. Javid et al. (2011)[73] ont noté que l'ABA joue un rôle majeur dans la signalisation des réponses d'adaptation des plantes aux stress. L'ABA est produite dans les racines en réponse à une diminution du potentiel hydrique du sol et transporté vers les feuilles où il se fixe à des récepteurs de la membrane plasmique de cellules de garde des stomates [74]. Fatemeh et al. (2012)[75] ont noté que la pulvérisation des phytohormones, notamment AG, sur les feuilles améliorait la croissance sous conditions de salinité. L'effet inhibiteur de NaCl sur la photosynthèse, la croissance et la translocation des assimilats a été trouvée atténuée par ABA [76]. Chez *Phaseolus vulgaris* L., Saeidi-Sar et al. (2012) [77] ont rapporté que l'interaction de l'acide ascorbique avec AG diminuait les quantités de MDA et de H_2O_2 . L'effet interactif de ces substances a amélioré la teneur en protéines et l'activité des enzymes antioxydantes dans les plantes de haricot sous stress salin.

6 CONCLUSION ET PERSPECTIVES

L'effet de la présence du sel dans le milieu racinaire sur la symbiose légumineuses-rhizobia a été discuté. L'accent a été mis sur le comportement agro-physiologique et biochimique.

Les surfaces agricoles perdues chaque année à cause de la salinité ne cessent d'augmenter et conséquemment, la lutte contre la contrainte saline constitue actuellement un grand défi pour la production agricole. Une bonne compréhension de l'ensemble des mécanismes physiologiques et biochimiques impliqués dans la réponse des légumineuses à la salinité, et la détermination des liaisons existantes entre ces différents mécanismes, la croissance des plantes ainsi que la nodulation peut constituer une approches prometteuse pour aider à la sélection des variétés de légumineuses tolérantes et des combinaisons

symbiotiques légumineuses-rhizobia performantes pour la fixation de l'azote atmosphérique sous conditions salines. Egalement, la liaison avec la génomique fonctionnelle, notamment avec les avancements actuels dans la génomique et la bioinformatique, pourrait conduire à l'identification de gènes candidats (gènes codant pour les transporteurs du sodium) comme des outils pour élucider les mécanismes impliqués dans l'efficacité de la symbiose rhizobienne sous conditions des contraintes environnementales.

REFERENCES

- [1] Faghire M, Bargaz A, Farissi M, Palma F, Mandri B, Lluch C et al. Effect of salinity on nodulation, nitrogen fixation and growth of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) inoculated with rhizobial strains isolated from the Haouz region of Morocco. *Symbiosis* 2011; 54, DOI: 10.1007/s13199-011-0144-0.
- [2] Farissi, M., Ghoulam, C., Bouizgaren, A. Variabilité de la tolérance à la salinité de la luzerne : évaluation au stade germination de populations issues de différents agro-écosystèmes marocains. *Fourrages* 2013a; 216: 329-332.
- [3] Farissi M., Ghoulam C. and Bouizgaren A. Changes in water deficit saturation and photosynthetic pigments of Alfalfa populations under salinity and assessment of proline role in salt tolerance. *Agricultural Science Research Journals* 2013b; 3: 29-35.
- [4] Farissi, M., Bouizgaren, A., AZIZ, F., Faghire, M., Ghoulam, C. Isolation and screening of rhizobial strains nodulating alfalfa for their tolerance to some environmental stresses. *PJAR* 2014a; 2, 9-19.
- [5] Farissi, M., Faghire, M., Bouizgaren, A., Bargaz, A., Makoudi, B., Ghoulam, C. Growth, nutrients concentrations and enzymes involved in plants nutrition of alfalfa populations under saline conditions. *J. Agr. Sci. Tech.* 2014b; 16:301-314.
- [6] Latrach, L., Farissi, M., Mouradi, M., Makoudi, B., Bouizgaren, A., Ghoulam, C. Growth and nodulation in alfalfa-rhizobia symbiosis under salinity: effect on electrolyte leakage, stomatal conductance and chlorophyll fluorescence. *Turk. J. Agric. For.* 2014; 38 : 320-326
- [7] Lodwig EM, Hosie AHF, Bourdès A, Findlay K, Allaway D, Karunakaran R, Downie JA, Poole PS. Amino-acid cycling drives nitrogen fixation in the legume-Rhizobium symbiosis. *Nature* 2003; 422: 722-726.
- [8] Zahran HH, 1999. Rhizobium-Legume Symbiosis and Nitrogen Fixation under Severe Conditions and in an Arid Climate. *Microb Mol Biol Reviews* 63:968-989.
- [9] Peoples MB, Lilley DM, Burnett VF, Ridley AM, Garden DL. Effects of surface application of lime and superphosphate to acid soils on growth and N₂ fixation by subterranean clover in mixed pasture sward. *Soil Biol Biochem* 1995; 27:663-671.
- [10] Maggio A, De Pascale S, Ruggiero C, Barbieri G. Physiological response of field-grown cabbage to salinity and drought stress. *Europ J Agro* 2005; 23: 57- 67.
- [11] Farissi M, Bouizgaren A, Faghire M, Bargaz A, Ghoulam C. Agro-physiological responses of Moroccan alfalfa (*Medicago sativa* L.) populations to salt stress during germination and early seedling stages. *Seed Sci Technol* 2011; 39: 389- 401.
- [12] Monirifar H, Barghi M. Identification and Selection for Salt Tolerance in Alfalfa (*Medicago sativa* L.) Ecotypes via Physiological Traits. *Notu Sci Biol* 2009; 1: 63-66.
- [13] Ibriz M, Thami Alami I, Zenasni L, Alfaiz C, Benbella M. Production des luzernes des régions pré-sahariennes du Maroc en conditions salines. *Fourrages* 2004; 180: 527-540.
- [14] Tejera NA, Campos R, Sanjuan J, Lluch C. Nitrogenase and antioxidant enzyme activities in *Phaseolus vulgaris* nodules formed by *Rhizobium tropici* isogenic strains with varying tolerance to salt stress. *J Plant Physiol* 2004; 161: 329-338.
- [15] Ben Khaled L, Gómez AM, Honrubia M, Oihabia A. Effet du stress salin en milieu hydroponique sur le trèfle inoculé par le *Rhizobium*. *Agro* 2003; 23:553-560.
- [16] Lacharme M. Le contrôle de salinité dans les rizières. *Manuel Tech de Riziculture* 2001; 85 p.
- [17] Dudley LM. Salinity in the soil environment. In : *Handbok of plant and crop stress*. Ed. Pessaraki M, Univ of Arizona 1994; 13-29 p.
- [18] Brady NC. *The Nature and Properties of Soils*, New Jersey 2002; USA, Prentice Hall.
- [19] Durand JH. *Les sols Irrigables. Etude pédologique*. Presses Universitaire de France. Agence de Coopération Culturelle et Technique 1983. 338 p
- [20] Debez A, Chaibi W, Bouzid S. Effet du NaCl et de régulateurs de croissance sur la germination d'*Atriplex halimus* L. *Cah Agric* 2001 ; 10 : 135-8
- [21] Farissi M, Bouizgaren A, Faghire M, Bargaz A, Ghoulam C. Agro-physiological responses of Moroccan alfalfa (*Medicago sativa* L.) populations to salt stress during germination and early seedling stages. *Seed Sci Technol* 2011; 39: 389- 401.
- [22] Khajeh-hossini M, Powell AA. The interaction between salinity stress and seed vigor during germination of soybean seed. *Seed Sci Technol* 2003; 31: 715-725.
- [23] Dubey RS. Protein synthesis by plant under stress ful condition in *handbook of plant and crop stress* 1994; 277-299 p.

- [24] Chaabena A, Abdelguerfi A, Baameur M. Comportement et caractérisation de quelques variétés de luzerne (*Medicago sativa* L.) dans la région de Ouargla. *Cah Agric* 2004; 13 :271-6.
- [25] Blaha G, Stelzl U, Spahn CMT, Agrawad RK, Frank J, Nierhaus H. Preparation of functional ribosomal complexes and effect of buffer conditions on tRNA positions observed by cryoelectron microscopy. *Methods Enzymol* 2000; 317: 292-309.
- [26] Erice G, Louahlia S, Irigoyen JJ, Sánchez D, Avice JC. Biomass partitioning, morphology and water status of four alfalfa genotypes submitted to progressive drought and subsequent recovery. *J Plant Physio* 2010; 38: 114-120.
- [27] Mezni M, Albouchi A, Bizid E, Hamza M. Minerals uptake, organic osmotica contents and water balance in alfalfa under salt stress. *J Phytol* 2010; 01–12.
- [28] Amooaghaie R. The effect of hydro and osmopriming on alfalfa seed germination and antioxidant defenses under salt stress. *Afr J Biotech* 2011; 10: 6269-6275.
- [29] Jebara M, Aouani ME, Mhamdi R, Ghir R, Mar M. Effet du sel sur des isolats de *Sinorhizobium* sp. de Tunisie in vitro ou en association avec *Medicago* sp. *Cah Agric* 2000; 9 : 99-102.
- [30] Chen WM, Lee TM, Lam CC, Cheng CP. Characterization of halotolerant *Rhizobia* isolated from root nodules of *Canavalia rosea* from seaside areas. *FEMS Microb Eco* 2000; 34, 9-16.
- [31] Cesar AI, Esther MG, Daniel M, Ruben L, Estibaliz L, Erena GQ. Physiological response of legume nodules to drought. *Plant stress* 2011; 5: 24-31.
- [32] Borucki W, Sujkowska M. The effects of sodium chloride salinity upon growth, nodulation, and root nodule structure of pea (*Pisum sativum* L.) plants. *Acta Phys. Plant* 2008; 30: 293-301.
- [33] Soussi M, Lluch C, Ocaña A. Comparative study of nitrogen fixation and carbon metabolism in two chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars under salt stress. *Jof Exp Bot* 1999; 50:1701-1708.
- [34] Aydi S, Sassi S, Abdely C, Growth, nitrogen fixation and ion distribution in *Medicago truncatula* L. subjected to salt stress. *Plant and Soil* 2008; 312: 59-67.
- [35] Serraj R, Roy G, Devron JJ. Salt stress induces a decrease in the oxygen uptake of soybean nodules and their permeability to oxygen diffusion. *Physiol Plant* 1994; 91:161-168.
- [36] Salehi M, Salehi F, Poustini K, Heidari-Sharifabad H. The effect of salinity on the nitrogen fixation in four cultivars of *Medicago sativa* L. in the seedling emergence stage. *Res J Agric Biol Sci* 2008; 4:413-415.
- [37] Bargaz A, Ghoulam C, Faghire M, Aslan Attar H, and Drevon JJ. The nodule conductance to O₂ diffusion increases with high phosphorus content in the *Phaseolus vulgaris*-*rhizobia* symbiosis. *Symbiosis* 2011; 53: 157-164.
- [38] Serrat R. Response of symbiotic nitrogen fixation to drought and salinity stress. *Physiol Mol Biol Plant* 2002; 8: 77-86.
- [39] López M, Herrera-Cervera JA, Iribarne C, Tejera NA, Lluch C. Growth and nitrogen fixation in *Lotus japonicus* and *Medicago truncatula* under NaCl stress: nodule carbon metabolism. *J Plant Physio* 2008; 165: 641- 650.
- [40] Cordovilla MP, Ocana A, Ligerio F, Lluch C. Salinity effects on growth analysis and nutrient composition in four grain legumes *Rhizobium* symbiosis. *J Plant Nutr* 1995; 18:1595-1609.
- [41] Yeo AR. Salinity resistance: Physiology and prices. *Physiol Plant* 1998; 58: 241-222.
- [42] Khan MA. Experimental assessment of salinity tolerance of *Ceriops tagal* seedlings and saplings from the Indus delta, Pakistan. *Aquat Bot* 2001; 70: 259-268.
- [43] Snoussi SA, Halitim A, Valles V. Absorption hydrique en milieu salin chez la tomate et le haricot. *Cah Agric* 2004; 13: 283-7.
- [44] Rabie GH and Almadini AM. Role of bioinoculants in development of salt-tolerance of *Vicia faba* L. plants under salinity stress, *Afr J Biotech* 2005; 4: 210-222.
- [45] El-Refaey El-Dengawy FA, Ahmed Hussein A, Saad Alamri A. Improving Growth and Salinity Tolerance of Carob Seedlings (*Ceratonia siliqua* L.) by *Azospirillum* Inoculation. *American-Eurasian J Agric Environ Sci* 2011; 11: 371-384.
- [46] Sinclair TR, Ludlow MM. Who taught plants thermodynamics? The unfulfilled potential of plant water potential. *Aust J Plant Physiol* 1985; 12: 213-217.
- [47] Katerji N, Van Hoorn JW, Hamdy A, Mastrorilli M, Mou Karzel E. Osmotic adjustment of sugar beets in response to soil salinity and its influence on stomatal conductance, growth and yield. *Agric Water Manage* 1997; 34: 57-69.
- [48] Deng CN, Zhang GX, Pan XL, Zhao KY. Chlorophyll fluorescence and gas exchange responses of maize seedlings to saline-alkaline stress. *Bulg J Agric Sci* 2010; 16: 49-58
- [49] Eyidogan F, Oz MT. Effect of salinity on antioxidant responses of chickpea seedlings. *Acta Physio Plant* 2007; 29:485–493.
- [50] Garg N, Singla R. Growth, photosynthesis, nodule nitrogen and carbon fixation in the chickpea cultivars under salt stress. *Braz J Plant Physiol* 2004; 16:137-146.
- [51] Gama PB, Inanaga S, Tanaka K, Nakazawa R. Physiological response of common bean (*Phaseolus Vulgaris*. L.) seedlings to salinity stress. *Afr J Biotech* 2007; 6:79-88.

- [52] Kahn ML, McDermott TM, Udvardi MK. Carbon and Nitrogen Metabolism in Rhizobia En: "The rhizobiaceae" HP Spaink, A Kondorosi, PJJ Hooykaas (Eds.). Kluwer Academic Publishers Dordrecht, Netherland 1998; 461-485 p.
- [53] Ibriz M, Thami Alami I, Zenasni L, Alfaiz C, Benbella M. Production des luzernes des régions pré-sahariennes du Maroc en conditions salines. Fourrages 2004; 180: 527-540.
- [54] Gouia, H, Ghorbal MH, Touraine B. Effects of NaCl on flows of N and mineral ions and on NO₃ reduction rate within whole plants of salt sensitive bean and salt-tolerant cotton. Plant Physiol 1994; 105:1409-1418.
- [55] Khan MG, Silberbush M, Lips SH. Physiological studies on salinity and nitrogen interaction in alfalfa plants: nitrate reductase activity. J Plant Nutr 1995; 18: 2495-2500.
- [56] Taffouo, V.D., M. Kenne, R. Fokam Tasse, W.O. Fotsop, T. Fonkou, Z. Vondo and A. Amougou. Salt stress variation response in five leguminous plants. Agron. Afr. 2004; 16: 33-44.
- [57] Wang X, Zhao G, Gu H. Physiological and antioxidant responses of three leguminous species to saline environment during seed germination stage. Afr J Biotech 2009; 8: 5773-5779.
- [58] Zhu JK. Regulation of ion homeostasis under salt stress. Cur Opin in plant boil 2003; 6:441-445.
- [59] Fukuda A, Chiba K, Maeda M, Nakamura A, Maeshima M, Tanaka Y. Effect of salt and osmotic stresses on the expression of genes for the vacuolar H⁺-pyrophosphatase, H⁺-ATPase subunit A, and Na⁺/H⁺ antiporter from barley. J Exp Bot 2004; 55:585-94
- [60] Claussen M, Luthen H, Blatt M, Bottger M. Auxin induced growth and its linkage to potassium channels. Planta 1997; 201: 227-234.
- [61] Pilot G, Gaymard F, Mouline K, Cherel I, Sentenac H. Regulated expression of Arabidopsis shaker K⁺ channel genes involved in K⁺ uptake and distribution in the plant. Plant Mol Biol 2003; 51: 773-787
- [62] Verdoy D, De la Pena TC, Redondo FJ, Lucas MM, Pueyo JJ. Transgenic *Medicago truncatula* L. plants that accumulate proline display nitrogen fixing activity with enhanced tolerance to osmotic stress. Plant Cell Environ 2006; 29: 1913-1923.
- [63] Slama I, Ghnaya T, Savouré A, Abdelly C. Combined effects of long-term salinity and soil drying on growth, water relations, nutrient status and proline accumulation of *Sesuvium portulacastrum*. C R Biol 2008; 331: 442-451.
- [64] Ottow E, Brinker M, Fritz E, Teichmann T, Kaiser W, Brosche M, Kangasjarvi J, Jiang X, Polle A. *Populus euphratica* displays apoplastic sodium accumulation, osmotic adjustment by decreases in calcium and soluble carbohydrates, and develops leaf succulence under salt stress. Plant Physiol 2005; 139: 1762- 1772
- [65] Ashraf MY, Harris PJC. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. Plant Sci 2004; 166: 3-16.
- [66] Bayuelo-Jimenez JS, Jasso-Plata N, Ochoa I. Growth and Physiological Responses of *Phaseolus* Species to Salinity Stress. Inter J of Agro 2012. doi:10.1155/2012/527673
- [67] Parida AK, Das AB, Mittra B. Effects of salt on growth, ion accumulation, photosynthesis and leaf anatomy of the mangrove, *Bruguiera parviflora*. Tr Str Fun 2004; 18:167-174.
- [68] Halliwell B, Gutteridge JMC. Free radicals in biology and medicine. Clarendon Press 1989; Oxford.
- [69] Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Tren in Plant Sci 2002; 7: 405-410.
- [70] Gratao PL, Polle A, Lea PJ, Azevedo RA. Making the life of heavy metal-stressed plants a little easier. Funct Plant Biol 2005; 32: 481- 494.
- [71] Arab L, Ehsanpour A. The effects of ascorbic acid on salt induced alfalfa (*Medicago sativa* L.) in vitro culture. Biochem 2006; 18: 63-69.
- [72] Mhadhbi H, Jebara M, Limam F, Aouani ME. Rhizobial strain involvement in plant growth, nodule protein composition and antioxidant enzyme activities of chickpea rhizobia symbioses: modulation by salt stress. Plant Physiol Biochem 2004; 42:717-722.
- [73] Javid MG., Sorooshzadeh A, Moradi F, Sanavy SA, Allahdadi I. The role of phytohormones in alleviating salt stress in crop plants. Aust J Crop Sci 2011; 5: 726-734.
- [74] Babu MA, Singh D, Gothandam KM. The effect of salinity on growth, hormones and mineral elements in leaf and fruit of tomato cultivar PKM1. J Anim Plant Sci 2012; 22,159-164.
- [75] Fatemeh AM, Sedghi M, Pessarakli M. Effects of phytohormones on proline content and antioxidant enzymes of various wheat cultivars under salinity stress. J plant Nutri 2012; 35: 1098-1111.
- [76] Popova LP, Stoinova ZG, Maslenkova LT. Involvement of abscisic acid in photosynthetic process in *Hordeum vulgare* L. during salinity stress. J Plant Growth Regul 1995; 14: 211-218.
- [77] Saeidi-Sar S, Abbaspour H, Afshari H, Yaghoobi SR. Effects of ascorbic acid and gibberellin AG3 on alleviation of salt stress in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seedlings. Acta Physiol Plant 2012; DOI 10.1007/s11738-012-1107-7.