جامعة سيدي محمد بن عبد الله بفاس
UNIVERSITÉ SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH DE FES
كلية العلوم والتقنيات فاس
FACULTÉ DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE FÈS

N° d'ordre : ……

Centre des Etudes Doctorales : Sciences et Techniques et Sciences Médicales
Formation Doctorale : Sciences et Génie de la Matière, de la Terre et de la Vie
Discipline : Biologie
Spécialité* :Biotechnologie et phytoressources
Laboratoire : Biotechnologie Microbienne et Molécules Bioactives (BM2B)

Thèse pour l'obtention de DOCTORAT

Influence de l'acide salicylique sur les paramètres biochimiques et physiologiques et sur la structure des trichomes glandulaires chez *Salvia officinalis* et *Mentha suaveolens* cultivées en conditions de stress

Présentée par :
Madame ES-SBIHI Fatima Zohra

Soutenue le samedi 06 juillet 2024 à 10h au Centre de Conférence de la Faculté des Sciences et Techniques de Fès, devant le jury composé de :

NOM ET PRÉNOM	TITRE	ETABLISSEMENT	
Sanae BENNIS	PES	Faculté de Médecine et de Pharmacie et Médecine Dentaire de Fès	Président
Tayeb KOUSSA	PES	Faculté des Sciences d'El Jadida	Rapporteur
Said LOUAHLIA	PES	Faculté des Sciences Dhar El Mehraz de Fès	Rapporteur
Lalla Aaicha RIFAI	PH	Faculté des Sciences d'El Jadida	Rapporteur
Khalid DERRAZ	PES	Faculté des Sciences et Techniques de Fès	Examinateur
Zakaria HAZZOUMI	Pr	Université Mohamed 6 Polytechnique de Ben Guerir	Examinateur
Khalid AMRANI JOUTEI	PES	Faculté des Sciences et Techniques de Fès	Directeur de thèse

Résumé

La salinité et le stress métallique sont parmi les principaux facteurs qui nuisent à la croissance, au rendement et à la qualité des cultures. Dans cette optique, nous avons proposé une approche multidisciplinaire dont l'objectif majeur est de tester l'effet de l'acide salicylique sur l'amélioration de la croissance de deux plantes aromatiques et médicinales (*Mentha suaveolens* et *Salvia officinalis*) cultivées en présence de stress salin, de stress cuivrique et de stress en zinc. Le stress salin (NaCl à 150 mM) et le stress métallique (Zn, Cu) à 40 mM entrainent une diminution de la longueur de la plante, de la synthèse de la chlorophylle et de l'absorption des éléments minéraux tels que K, P et Ca. Nous remarquons également une forte augmentation dans les teneurs en marqueurs de stress notamment en peroxyde d'hydrogène, en malondialdéhyde, en composés phénoliques totaux, en tanins condensés et en proline. Par ailleurs, chez *Salvia officinalis*, le stress salin et le stress en zinc entrainent une diminution du rendement des huiles essentielles alors que le stress cuivrique entraine une légère augmentation. Chez *Mentha suaveolens*, les stress métallique (stress cuivrique et en zinc) et salin diminuent le rendement des huiles essentielles. Cette variation du rendement des huiles essentielles est confirmée par la variation de la densité des glandes peltées. En outre, le stress métallique (Zn, Cu) et le stress salin affectent négativement la qualité des huiles essentielles puisqu'on constate une diminution importante des teneurs en composés majoritaires. Cependant, la pulvérisation foliaire avec l'acide salicylique, principalement à 0,5 mM, sur des plantes stressées entraine une reprise de l'absorption des éléments minéraux, de la croissance des plantes, de la synthèse des pigments chlorophylliens et du rendement des huiles essentielles, largement affectés par le stress. L'acide salicylique entraine ainsi une baisse des marqueurs de stress (peroxyde d'hydrogène, malondialdéhyde, composés phénoliques totaux, tanins condensés et proline). Il améliore également la qualité et la quantité des huiles essentielles ainsi que la densité des glandes peltées.

Par ailleurs, les observations en MEB des feuilles de *Salvia officinalis* montrent que le stress salin et le stress au Zinc entrainent l'apparition de structures glandulaires atypiques avec des déformations en forme de petites poches à leur surface et des glandes avec une morphologie ovale. Ces déformations disparaissent en présence de l'AS. Notons également que l'AS entraine une augmentation du diamètre des glandes lorsque les plantes sont stressées avec un excès de cuivre. Ce diamètre peut atteindre 145 µm chez *Salvia officinalis* et 127,9 µm chez *Mentha suaveolens*.

Mots clés : stress salin, stress métallique, acide salicylique, nutrition minérale, peroxyde d'hydrogène, MDA, composés phénoliques totaux, proline, glandes sécrétrices, huiles essentielles, Mentha suaveolens, Salvia officinalis

Abstract

Salinity and metal stress are among the main factors that adversely affect crop growth, yield and quality. In this sense, we proposed a multidisciplinary approach whose major objective is to test the salicylic acid effect on improving of two aromatic and medicinal plants (*Mentha suaveolens* et *Salvia officinalis*) cultived in the presence of saline stress, cupric stress and zinc stress. Salt stress (NaCl at 150 mM) and metal stress (Zn, Cu) at 40 mM lead to a reduction in plant length, chlorophyll synthesis and mineral elements absorption such as K, P and Ca.We also noted a large increase in the stress markers levels, including hydrogen peroxide, malondialdehyde, total phenolic compounds, condensed tannins and proline. Furthermore, in *Salvia officinalis*, salt stress and zinc stress lead to a reduction in the essential oil yield while copper stress leads to a slight increase. In *Mentha suaveolens*, metal stress (copper and zinc stress) and saline stress reduce the essential oil yield. This variation in the essential oil yield is confirmed by the variation in the peltate glands density. In addition, metal stress (Zn, Cu) and salt stress negatively affect the essential oil quality since there is a significant reduction in the majority compounds contents. However, foliar spraying with salicylic acid, mainly at 0.5 mM, on stressed plants leads to a resumption of the mineral elements absorption, plant growth, the chlorophyll pigments synthesis and the essential oil yield, largely affected by stress. Salicylic acid leads to a reduction in stress markers (hydrogen peroxide, malondialdehyde, total phenolic compounds, condensed tannins and proline). It also improved the essential oil quality and quantity as well as the peltate glands density.

In addition, scanning electron microscopy observation of *Salvia officinalis* leaves showed that salt stress and zinc stress lead to the appearance of atypical glandular structures with deformations in the form of small pockets on their surface and glands with an oval morphology. These deformations disappear in the presence of Salicylic acid. We noted also that salicylic acid caused an increase in gland diameter when plants are stressed with excess copper. This diameter can reach 145 µm in *Salvia officinalis* and 128 µm in *Mentha suaveolens*.

Keywords: salt stress, metal stress, salicylic acid, mineral nutrition, hydrogen peroxide, MDA, total phenolic compounds, proline, secretory glands, essential oils, Mentha suaveolens, Salvia officinalis

Liste des abréviations

AS : acide salicylique

MDA : malondialdéhyde

H_2O_2 : peroxyde d'hydrogène

CAT : catalase

APX : ascorbate peroxydase

SOD : superoxyde dismutase

ERO : espèces réactives oxygénés

POD : Peroxydase

PAL : phénylalanine-ammonia-Iyase

MEB : microscopie électronique à balayage

ABA : acide abscissique

AIA : acide indole-acétique

MS : matière sèche

MF : matière fraiche

PSII: Le photosystème II

GPX : La glutathion peroxydase

Table des matières

Introduction générale 1

Chapitre 1 : Synthèse bibliographique

I. Huiles essentielles 3

1. Définition 3

2. Composition 3

2.1. Les terpènes 3

2.2. Phénylpropanoïdes 4

3. Biosynthèse 4

3.1. Voie terpénoïdes 4

3.2. Voie phénylpropanoïdes 4

4. Lieu de synthèse et stockage des huiles essentielles 4

4.1. Trichomes non glandulaires 5

4.2. Trichomes glandulaires 5

II. Stress salin et métalique 6

1. Stress salin 6

1.1. Définition du stress salin 6

1.2. Action de la salinité sur les végétaux 6

1.2.1. Sur la croissance et le développement 6

1.2.2. Sur la photosynthèse 6

1.2.3. Sur le statut oxydatif 7

1.2.4. Sur l'assimilation des minéraux 7

1.3. Mode d'adaptation des plantes à l'excès de sels 7

1.3.1. Au niveau morphologique 8

1.3.2. Au niveau physiologique 8

2. Stress métallique 9

2.1. Action des métaux sur les végétaux 9

2.1.1. Sur la croissance et le développement 9

2.1.2. Sur l'assimilation des minéraux 9

2.1.3. Sur le statut oxydatif 10

2.2. Mode d'adaptation des plantes à l'excès de métaux **10**
III. Acide salicylique **11**
1. Rôle de l'acide salicylique **11**
2. Biosynthèse **11**
3. Signalisation et transport de l' acide salicylique **11**
4. Effet de l' acide salicylique exogène sur la croissance et la productivité **11**
5. Acide salicylique et le stress abiotique **12**
5.1. Effet de l'acide salicylique sur le statut hormonal **12**
5.2. Effet de l' acide salicylique sur le statut oxydatif **13**
6. Effet de l' acide salicylique exogène sur les plantes exposées aux métaux lourds **13**
7. Effet de l' acide salicylique exogène sur les plantes exposées aux stress salin **14**
IV. Présentation des espèces végétales **15**
1. *Salvia officinalis* **15**
1.1. Discription morphologique **15**
1.2. Compositions chimique **16**
1.3. Utilisation Thérapeutique **16**
2. *Mentha suaveolens* **16**
2.1. Dscription morphologique **16**
2.1. Composition chimique **17**
2.2. Utilisation Thérapeutique **17**

Chapitre 2 : Matériel et méthodes

I. Matériel végétale et les conditions de croissance **18**
1. Bouturage des plantes **18**
2. Application des traitements **18**
2.1. Traitement avec les métaux lourds (Cu et Zn) et AS **18**
2.2. Traitement avec NaCl et AS **18**
II. Observations microscopique **19**
1. Microscopie électronique à balayge **19**
2. Détermination de la densitédes trichomes glandulaires peltés **19**
III. Les dosages biochimiques **19**
1. Quantification des teneurs en mineraux **19**
2. Dosage des chlorophylles **19**
3. Dosage du peroxyde d'hydrogène **20**
4. Dosage du malondialdéhyde **20**

5. Dosage de la proline **21**
6. Dosage des composés phénoliques totaux **21**
7. Dosage des tanins condensés **22**
8. Extraction des huiles essentielles **22**
IV. Analyse des huiles essentielles par GC-M **23**
V. Analyses statistiques **23**

Chapitre 3: Influence de l' acide salicylique sur le comportement morphologique et biochimique chez *Salvia offcinalis* et *Mentha suaveolens* cultivées sous stress cuivrique

Introduction **25**
I. Influence de l'acide salicylique sur le comportement morphologique et biochimique chez *Salvia offcinalis* et *Mentha suaveolens* cultivées sous stress cuivrique **26**
1. Croissance des parties aériennes et racinaires **26**
2. Translocation de Cu et d'autres éléments minéraux (Ca, K et P) chez *Salvia officinalis* et *Mentha suaveolens* **27**
2.1. Chez *Salvia officinalis* **27**
2.2. Chez *Mentha suaveolens* **28**
3. Teneurs en chlorophylles **29**
4. Teneurs en peroxyde d'hydrogène **29**
5. Teneurs en malondialdéhyde **30**
6. Teneurs en composés phénoliques **31**
7. Teneur en tanins condensés **32**
II. Influence de l'acide salicylique sur le rendement et la composition des huiles essentielles chez *Salvia offcinalis* et *Mentha suaveolens* cultivées sous stress cuivrique **33**
1. Chez *Salvia offcinalis* **33**
2. Chez *Mentha suaveolens* **36**
Discussion **38**

Chapitre 4: Influence de l'acide salicylique sur le comportement morphologique et biochimique chez *Salvia offcinalis* et *Mentha suaveolens* cultivées sous stress en zinc

Introduction **42**
I. Influence de l'acide salicylique sur le comportement morphologique et biochimique chez *Salvia offcinalis* et *Mentha suaveolens* cultivées sous stress en Zn **43**
1. Croissance des parties aériennes et racinaires **43**

2. Translocation de Zn et d'autres éléments minéraux (Ca, K et P) chez *Salvia officinalis* et *Mentha suaveolens* **44**
2.1. Chez *Salvia officinalis* **44**
2.2. Chez *Mentha suaveolens* **44**
3. Teneurs en chlorophylles **45**
4. Teneurs en peroxyde d'hydrogène **46**
5. Teneurs en malondialdéhyde **47**
6. Teneurs en composés phénoliques **48**
7. Teneurs en tanins condensés **49**
8. Teneurs en Proline **49**
II. Influence de l'acide salicylique sur le rendement et la composition des huiles essentielles chez *Salvia offcinalis* et *Mentha suaveolens* cultivées sous stress de zinc **50**
1. Chez *Salvia offcinalis* **50**
2. Chez *Mentha suaveolens* **53**
Discussion **55**

Chapitre 5 : Influence de l'acide salicylique sur le comportement morphologique et biochimique chez *Salvia offcinalis* et *Mentha suaveolens* cultivées sous stress salin

Introduction **58**
I. Influence de l'acide salicylique sur le comportement morphologique et biochimique chez *Salvia offcinalis* et *Mentha suaveolens* cultivées sous stress salin **59**
1. Croissance des parties aériennes et racinaires **59**
2. Translocation du Na et des éléments minéraux (Ca, K et P) chez *Salvia officinalis* et *Mentha suaveolens* **60**
2.1. Chez *Salvia officinalis* **60**
2.2. Chez *Mentha suaveolens* **61**
3. Teneurs en chlorophylles **62**
4. Teneurs en peroxyde d'hydrogène **62**
5. Teneurs en malondialdéhyde **63**
6. Teneurs en composés phénoliques **64**
7. Teneur en tanins condensés **65**
8. Teneurs en Proline **66**
II. Influence de l'acide salicylique sur le rendement et la composition des huiles essentielles chez *Salvia offcinalis* et *Mentha suaveolens* cultivés sous stress salin **66**
1. Chez *Salvia offcinalis* **66**
2. *Mentha suaveolens* **69**
Discussion **71**

Chapitre 6 : Evolution des structures glandulaires de *Salvia officinalis* et de *Mentha suaveolens* soumises à différents stress

Introduction **75**

I. Ultrastructure des glandes de *Salvia offcinalis* **77**

II. Effet de stress de stress en zinc sur la structure des glandes de *Salvia officinalis* 80

III. Effet de stress salin sur la structure des glandes de *Salvia officinalis* **84**

IV. Ultrastructure des glandes de *Mentha suaveolens* **87**

V. Influence de l'acide salicylique sur glandes de sécrétion des huiles essentielles chez *Salvia offcinalis* et *Mentha suaveolens* cultivées sous stress cuivrique **90**

1. Chez *Salvia offcinalis* **90**

2. Chez *Mentha suaveolens* **93**

VI. Influence de l'acide salicylique sur les glandes de sécrétion des huiles essentielles chez *Salvia offcinalis* et *Mentha suaveolens* cultivées sous stress au zinc **96**

1. Chez *Salvia offcinalis* **96**

2. Chez *Mentha suaveolens* **98**

VII. Influence de l'acide salicylique sur la densité des glandes de sécrétion des huiles essentielles chez *Salvia offcinalis* et *Mentha suaveolens* cultivées sous stress salin **100**

1. Chez *Salvia offcinalis* **100**

2. Chez *Mentha suaveolens* **102**

Discussion **104**

Conclusion générale **107**

Perspectives **109**

Références bibliographiques **110**

Introduction générale

Dans leur environnement naturel, les végétaux sont soumis à un grand nombre de contraintes environnementales de nature biotique et abiotique qui peuvent affecter la germination, la croissance, la qualité et le rendement des plantes cultivées. La salinité et le stress métallique sont parmi les stress abiotiques considérés comme très préjudiciables pour la production des écosystèmes naturels et agricoles. Le stress salin et le stress métallique ont un grand impact sur le rendement, affectant la croissance des plantes, l'accumulation de la matière sèche, l'absorption des nutriments, la synthèse de la chlorophylle, l'élongation des feuilles. Plusieurs études ont montré l'apport des phytohormones (acide gibbérellique, acide salicylique, acide jasmonique…) et des composés antioxydants d'origine organique (polyphénols, vitamine C, caroténoïdes…) ou minérale (KNO_3…) dans le renforcement de la tolérance des plantes aux stress (Ghamati *et al.*, 2005).

L'acide salicylique (AS) ou l'acide ortho-hydroxybenzoïque est une phytohormone de nature phénolique omniprésente dans les végétaux (Raskin 1992). Il participe à la régulation des processus physiologiques tels que la fermeture stomatique, l'absorption des nutriments, la synthèse de la chlorophylle, la synthèse des protéines, le gravitropisme, la transpiration et la photosynthèse (Popova *et al.*, 1997 ; Sakhabutdinova 2004 ; Fariduddin *et al.*, 2003).

L'effet remédiateur de l'AS sur la croissance de la plante dans des conditions de stress abiotiques est lié à son rôle sur l'absorption de nutriments, stabilité de la membrane, relations hydriques, régulation stomatique, photosynthèse, croissance, inhibition de la biosynthèse de l'éthylène et la synthèse de protéine kinase (Srivastava et Dwivedi 2000 ; Khan *et al.*, 2003 ; Stevens *et al.*, 2006 ; Arfan *et al.*, 2007). Des études de Morris *et al.*, (2000) montrent que l'AS participe à la signalisation et à la régulation de l'expression des gènes au cours de la sénescence des feuilles d'Arabidopsis. Il est donc pertinent d'examiner le rôle de l'AS exogène dans la régulation de diverses activités physiologiques et biochimiques des plantes sous stress biotique et abiotique. Dans cette optique, ce travail a pour but d'étudier les effets remédiateur de l'AS sur la croissance, la nutrition minérale, la synthèse des huiles essentielles et leurs compositions, de plantes exposées à divers stress abiotiques notamment le stress cuivrique, stress en zinc et stress salin.

Cette thèse est divisée en six chapitres :

- Le premier chapitre est consacré à une étude bibliographique sur la biosynthèse des huiles essentielles et de l'AS d'une part et d'autre part sur l'influence des facteurs environnementaux défavorables,

notamment le stress métallique (Zn et Cu) et le stress salin, sur la productivité et le métabolisme de la plante.

- Le deuxième chapitre est consacré à la méthodologie utilisée le long du travail.

- Le troisième chapitre se focalise sur l'influence de l'AS sur les comportements morphologiques et biochimiques chez *Salvia offcinalis* et *Mentha suaveolens* cultivés sous stress cuivrique.

- Le quatrième chapitre s'intéresse à l'Influence de l'AS sur les comportements morphologiques et biochimiques chez *Salvia offcinalis* et *Mentha suaveolens* cultivés sous stress en zinc.

- Le cinquième chapitre traite l'influence de l'AS sur les comportements morphologique et biochimique chez *Salvia offcinalis* et *Mentha suaveolens* cultivés sous stress salin.

- Le sixième chapitre consiste à étudier l'évolution des structures glandulaires de *Salvia officinalis* et de *Mentha suaveolens* cultivés sous stress métallique et salin.

Chapitre 1 : Synthèse bibliographique

I. Huiles essentielles

1. Définition

Les huiles essentielles sont importantes dans la physiologie et l'écologie des plantes. Elles sont chargées d'attirer les adversaires naturels des herbivores (i) pour fournir une protection contre les agents pathogènes, pour la signalisation de plante à plante, (iii) pour attirer les graines et pollinisateurs pour faciliter la reproduction des plantes, (iv) dans la tolérance des plantes. Les composés organiques volatils, y compris les huiles essentielles, sont des molécules organiques qui ont une pression de vapeur élevée ou une volatilité élevée à pression et température normales.

2. Composition

Dans les plantes aromatiques, les composés organiques volatils proviennent de trois catégories de produits chimiques, notamment les composés phénoliques, les dérivés d'acides gras et les terpénoïdes. Généralement, les constituants prédominants des huiles essentielles végétales sont les terpènes, qui sont extraites des différentes parties de plantes par distillation ou par d'autres méthodes. Les constituants des huiles essentielles se répartissent principalement en deux classes chimiques distinctes : les terpènes et les phénylpropanoïdes. Bien que les terpènes et leurs dérivés oxygénés soient plus abondants dans les huiles essentielles, certaines espèces contiennent de grandes quantités de shikimates ; à savoir les phénylpropanoïdes, et lorsque ces composés sont présents, ils confèrent une odeur et une saveur spécifiques à la plante (Baser et Buchbauer, 2015 ; Tisserand et Young, 2013 ; Zuzarte et Salgueiro, 2015).

2.1. Les terpènes

Les terpènes constituent la classe de composés organiques volatils la plus vaste et la plus diversifiée. Les terpènes sont classés en fonction du nombre d'unités isoprène dans leur structure, par exemple les hémiterpènes (une unité), les monoterpènes (deux unités), les sesquiterpènes (trois unités), les diterpènes (quatre unités), etc. La plupart des huiles essentielles sont des mélanges très complexes de monoterpènes et de sesquiterpènes et comprennent des phénols biogénétiquement apparentés (phénylpropanes et cinnamates), ainsi que des glucides, des alcools, des éthers, des aldéhydes et des cétones qui sont responsables de leurs caractéristiques.

2.2. Phénylpropanoïdes

Les phénylpropanoïdes contiennent une ou plusieurs unités C3 à C6. Ils ont généralement un groupe fonctionnel éther méthylique attaché au cycle et une queue propényle. Leurs principaux représentants dans les huiles essentielles comprennent les hydrocarbures oxygénés anéthole, eugénol et safrole, qui possèdent tous une double liaison carbone-carbone dans la chaîne latérale.

3. Biosynthèse

3.1. Voie terpénoïdes

L'unité de base est l'IPP (isopentyl pyrophosphate), molécule à cinq atomes de carbone ayant une structure semi-alvéolaire. Il est dérivé de l'Acétyl CoA, lui-même issu du PEP (phosphoenol pyruvate) provenant directement du fructose. La construction des squelettes hydrocarbonées a lieu de la même manière par juxtaposition « tête à queue » d'unités isopréniques, unité pentacarbonés ramifiées assemblées enzymatiquement. Ainsi, on trouve des squelettes hydrocarbonés à dix carbones (monoterpène), à quinze carbones (sesquiterpène) et plus rarement, à vingt carbones (diterpène).

3.2. Voie phénylpropanoïdes

La synthèse des huiles essentielles par la voie des phénylpropanoïdes commence par un métabolite du fructose, le PEP (Phosphoenolpyruvate). Elle aboutit à un très grand nombre de substances aromatiques, via une série d'acides, dont l'acide shikimique (d'où son nom, voie shikimique) et l'acide cinnamique. Les métabolites terminaux, importants en thérapeutique, sont les acides aromatiques suivants : AS, cinnamique et benzoïque et leurs esters dont le salicylate de méthyle, les cinnamates, les benzoates, certains phénols (eugénol) ainsi que les coumarines et quelques grandes familles chimiques de molécules non volatiles, comme les tannoïdes et les flavonoïdes, se trouvent incluse dans cette voie.

4. Lieu de synthèse et stockage des huiles essentielles

Les Lamiaceae constituent une famille riche en espèces aromatiques caractérisées par la synthèse des huiles essentielles d'intérêt industrielle et médicinale biosynthétisé et accumulées dans les trichomes glandulaires répartis sur les organes aériens végétatifs et reproducteurs. Le stockage des huiles essentielles dans ces structures peut être utilisé pour limiter la toxicité pour la plante elle-même, car il est démontré que de nombreux terpènes sont potentiellement toxiques pour les tissus végétaux lorsqu'ils sont libérés dans les cellules environnantes (Loveys *et al.* 1992). Ces huiles essentielles sécrétées par les trichomes glandulaires protègent les plantes contre les herbivores, les agents pathogènes et jouent un rôle dans l'attraction des pollinisateurs. Dans les Lamiaceae, la morphologie,

la distribution et la fréquence des trichomes glandulaires sont utilisées comme caractères déterminants au niveau de la sous-famille. La classification majeur classe les glandes en deux groupes, les trichomes non glandulaires et les trichomes glandulaires, qui diffèrent par la morphologie et par la nature des substances à secréter.

4.1. Trichomes non glandulaires

Les trichomes non glandulaires peuvent être unicellulaires ou multicellulaires, ramifiées ou non ramifiées. Ils peuvent différer en longueur, taille et forme des cellules et peuvent être symétriques ou asymétriques. Les trichomes multicellulaires non ramifiés peuvent être unisériés, bisériés ou multisériés. Les trichomes multicellulaires ramifiés peuvent avoir des branches unicellulaires ou multicellulaires, de différentes longueurs, égales ou inégales (werker 2000). Ils assurent une fonction de protection comme barrière mécanique et n'assurent aucune sécrétion des huiles essentielles.

4.2. Trichomes glandulaires

Dans un grand nombre des Lamiaceae, deux types de trichomes glandulaires sont rencontrés : les glandes capitées et les glandes peltées qui différent par leur morphologie, la nature de la substance à secréter ainsi que le moment de sécrétion.

Les glandes peltées : ces glandes sont caractérisées avec une cellule basale, une tige courte unicellulaire et une tête large et ronde avec une grande chambre sous-cuticulaire pour le matériel de sécrétion, (« poils glandulaires à long terme », comme indiqué par Werker, 1993). Ce type de glande est caractérisé par une cuticule rigide qui s'amincit au cours de la maturation de la glande ce qui facilite l'éclatement par événements mécaniques ou à la fin de la vie de la glande. Rodrigues *et al.,* (2013) et Janošević *et al.,* (2016) ont indiqué que lors de la maturation, ces glandes forment un grand espace dans lequel s'accumule la matière de sécrétion par l'élévation de la cuticule des cellules de la tête sécrétrice. Janošević *et al.,* (2016) ont indiqué qu'une ligne de faiblesse équatoriale est devenue visible autour de la tête ; la libération d'exsudat est réalisée par la rupture de la cuticule le long de cette ligne et la remontée ultérieure du capuchon. D'autres facteurs tels que les températures élevées, les faibles taux d'humidité de l'air et les prédateurs peuvent également provoquer la rupture de la cuticule (Werker, 1993). Les produits de sécrétion de ces glandes sont caractérisés avec une nature complexe, contenant des composants lipophiles et hydrophiles avec une prédominance de contenu lipophile (Maleci Bini *et al.,* 1983 et Werker *et al.,* 1985).

Les glandes capitées : Ces poils sont formés par une base comprenant des cellules de l'épiderme, une tige et une tête plus petite que celle des glandes peltées, et dont les produits de sécrétion sont extrudés à l'extérieur peu de temps après leur production (« poils glandulaires à court terme », comme indiqué dans Werker, 1993). Les poils capités présentent des variations morphologiques caractérisées par une cuticule mince avec la présence ou l'absence de chambre sous cuticulaire.

II. Les stress

1. Stress salin

1.1. Définition du stress salin

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

1.2. Action de la salinité sur les végétaux

1.2.1. Sur la croissance et développement de la plante

La salinité est une contrainte majeure qui affecte la croissance et le développement des plantes à cause du changement du potentiel osmotique, du déséquilibre nutritionnel, de la toxicité des ions sodium, et du déséquilibre hormonal (Bouaouina *et al.*, 2000). De plus, la réponse immédiate au stress salin est la réduction de la vitesse de l'expansion (Wang et Nil, 2000). Le stress salin entraine aussi la diminution de la biomasse des feuilles, tiges et racines (Chartzoulakis et Klapaki, 2000).

1.2.2. Sur la photosynthèse

Le stress salin affecte la photosynthèse de nombreuses espèces végétales : elle réduit la vitesse de la photosynthèse suite à une diminution de la conductance stomatique de CO_2 (Santiago *et al.*, 2000). La diminution de la vitesse photosynthétique est due à plusieurs facteurs comme la déshydratation des membranes cellulaires ce qui réduit leur perméabilité au CO_2, la réduction de l'approvisionnement en CO_2 à cause de la fermeture des stomates, la sénescence accrue induite par la salinité et le changement dans l'activité des enzymes (Iyengar et Reddy, 1996).

1.2.3. Sur le statut oxydatif

Parmi les conséquences de la salinité chez les plantes est la production des espèces réactives oxygénées (ERO) qui sont les principaux indicateurs du stress oxydatif tels que l'anion superoxyde, le peroxyde d'hydrogène et le radical hydroxyle (Gill et tuja, 2010). L'augmentation des ERO expose la cellule au stress oxydatif provoquant :

- La peroxydation lipidique : elle a lieu au niveau des membranes cellulaires et des organites lorsque le niveau de ERO dépasse un certain seuil. En outre, elle est considérée comme le processus le plus dommageable qui se produit chez toutes les plantes et considérée également comme indicateur du niveau de destruction des lipides sous différentes contraintes. Parmi les produits de la peroxydation lipidique il y a le malondialdéhyde (MDA) (Moller *et al.,* 2007).
- Oxydation des protéines : les protéines sont aussi susceptibles d'être oxydées par ERO, de façon comparable à l'oxydation des lipides (Levine, 2002).
- Dommage de l'ADN.

1.2.4. Sur l'assimilation des minéraux

De façon générale, l'excès de Na^+ provoque un déséquilibre dans les concentrations des différents éléments minéraux indispensables à la croissance de la plante (Orcutt, 2000). La concentration élevée de NaCl s'accompagne d'une réduction de la concentration en Mg^{2+}, K^+, N, P et Ca^{2+}dans la plante. Ce déséquilibre nutritionnel est une cause possible des réductions de croissance en présence de sel lorsque des ions essentiels comme K^+, Ca^{2+}, P ou NO_3 deviennent limitants **(**Haouala *et al.,* 2004).

1.3. Mode d'adaptation des plantes à l'excès de sels

Quand des plantes sont exposées à des concertations élevées de sel, elles peuvent développer divers mécanismes pour leur survie. Certaines tolèrent des concentrations élevées par exclusion ou par compartimentation d'ions dans la vacuole, d'autres par la production de corps organiques dissous dans le cytoplasme pour abaisser le potentiel osmotique (Harinasut *et al.,* 2000).

La réponse au sel des espèces végétales dépend de l'espèce elle-même, de sa variété, de la concentration en sel, des conditions de culture et du stade de développement de la plante (Mallek-maalej *et al.,* 1998).

1.3.1. Au niveau morphologique

On peut résumer ces caractéristiques par :

- L'épaississement de la cuticule
- La raréfaction des stomates
- Le développement de grandes vacuoles pour favoriser le stockage de NaCl

1.3.2. Au niveau physiologique

- **Compartimentation vacuolaire**

La compartimentation est la stratégie la plus efficace pour éviter la toxicité du Na^+. Elle capte le sel qui parvient aux feuilles, au même titre que l'eau, par le mouvement ascendant de la sève dans les vaisseaux. A l'intérieur des cellules, le sel est alors stocké dans les vacuoles grâce à des systèmes de "pompes" moléculaires (Bouchoukh, 2010). Par ailleurs, on peut ajouter que l'exclusion de l'excès de sodium du cytoplasme nécessite la synthèse des osmolytes compatibles avec la réduction du potentiel osmotique, ce dernier est essentiel pour pouvoir prélever de l'eau dans des conditions de stress salin. Ce processus est couteux en énergie pour la plante.

- **Accumulation de solutés organiques**

Les osmolytes ou les osmorécepteurs, sont des petites molécules hydrophiles non chargées et non toxiques et de pH neutre. Leurs structures chimiques présentent des affinités pour le groupement carboné des protéines. De ce fait, ils protègent l'intégrité des membranes contre les effets dénaturants des concentrations salines élevées (Calu, 2006). Parmi ces osmotlytes on trouve les acides aminés (comme la proline) et les sucres solubles totaux qui s'accumulent dans les tissus des plantes cultivées sous stress salin et qui sont impliqués dans le mécanisme d'ajustement osmotique (khaled *et al.*,2003). Par ailleurs, Il est rapporté dans plusieurs études que les protéines et les polyamines sont également accumulées sous stress salin (Omami, 2005).

- **Synthèse des antioxydants**

Pour se protéger contre les ERO et leurs dérivées, les cellules végétales utilisent des systèmes de défense antioxydants enzymatiques comme CAT, SOD, APX…, et des systèmes antioxydants non enzymatiques comme l'accumulation de la proline, les polyphénols, flavonoïdes et caroténoïdes…

2. Stress métallique

Les métaux en quantités d'oligo-éléments jouent un rôle important dans de nombreux processus métaboliques et biochimiques de la plante. Par ailleurs, parallèlement au développement de l'industrie, la pollution par les métaux lourds est devenue un problème mondial au cours des dernières années. Les sols agricoles reçoivent des niveaux toxiques considérables des métaux provenant de la pollution environnementale résultant des activités anthropiques (Yruela 2005 ; Micó *et al.,* 2006). L'utilisation excessive, peu judicieuse et non réglementée de fongicides, de bactéricides et de pesticides à base de cuivre ou de zinc pour lutter contre les maladies et les ravageurs des plantes a entraîné une accumulation de Cu et du zinc dans la couche superficielle des sols agricoles. Parmi les aspects de la toxicité des métaux lourds est l'inactivation des biomolécules, soit par le blocage de groupes fonctionnels, soit par l'échange d'ions vitaux (Janda *et al.,* 2007). Une autre source de toxicité des métaux lourds est l'auto-oxydation de ces métaux et la formation des ERO, qui peuvent également endommager les cellules.

2.1. Action des métaux sur les végétaux

2.1.1. Sur la croissance et développement de la plante

Une concentration élevée des métaux dans les plantes entraine une diminution de la longueur des racines, des pousses et des feuilles (Benimali *et al.,* 2010, Michaud *et al.,* 2008, Rizwan 2012). La toxicité des métaux modifie la surface foliaire, l'expansion et la taille de la tige (Barbosa *et al.,* 2013). Sanchez-Pardo *et al.,* (2014) ont montré que les feuilles de soja traité avec Cu (192 μM) pendant 35 jours sont légèrement plus fines et les cellules du parenchyme palissadique et les cellules de l'épiderme adaxial sont plus petites que celles des plantes témoins. Le stress métallique modifie également l'ultrastructure chloroplastique des plantes stressées. Van Assche (1973) a montré qu'une forte concentration de zinc inhibe l'activité métabolique des plantes.

2.1.2. Sur l'assimilation des minéraux

Un effet assez fréquent et courant de la toxicité des métaux chez les plantes est la diminution de l'absorption et de l'accumulation d'autres nutriments minéraux (Marschner 1995 ; Kopittk et Menzies 2006). L'absorption et l'agrégation d'autres nutriments végétaux dans de nombreuses espèces végétales d'importance agricole sont affectées en raison d'une concentration et/ou d'une accumulation excessive des métaux (Ali *et al.,* 2002).

2.1.3. Statut oxydatif

Un effet direct de l'excès des métaux dans les plantes au niveau cellulaire est le stress oxydatif provoqué par l'augmentation de la concentration de ERO, en affectant directement ou indirectement les voies métaboliques. Les dommages oxydatifs induits par les métaux et la réponse antioxydante sont étudiés dans plusieurs plantes cultivées. Dans les semis de blé, la peroxydation lipidique mesurée par le MDA et la conductivité électrique augmentent de manière significative avec l'augmentation des niveaux de Cu dans la solution nutritive (Azooz *et al.*, 2012). De même, l'excès des métaux augmente les niveaux de MDA et de H_2O_2 dans le maïs (Aly et Mohamed 2012 ; Kumar *et al.*, 2008), le colza (Ivanova *et al.*, 2010), le concombre (Işeri *et al.*, 2011) et le riz (Chen *et al.*, 2000).

Cette production de ERO dans les plantes est éliminée par diverses enzymes antioxydants telles que SOD, POD, CAT et APX (Mocquot *et al.*, 1996 ; Meng *et al.*, 2007 ; Liu *et al.*, 2014). Il a été également observé que sous le stress métallique, les enzymes impliquées dans le cycle ascorbate-glutathion augmentent en raison du stress oxydatif induit par les métaux (Gupta *et al.*,1999). Les métaux lourds activent également la biosynthèse des acides aminés libres et de la proline (Azooz *et al.*, 2012). Par ailleurs ce type de stress augmente la teneur en thiols non protéiques et les activités de la glutathion transférase dans les pousses et les racines des plantes stressés (Gajewska et Sklodowska 2010).

2.2. Mode d'adaptation des plantes à l'excès de métaux

Afin lutter contre la toxicité des métaux, les plantes développent certains mécanismes de tolérance pour maintenir une concentration correcte de métaux essentiels comme le Cu et Zn dans les différentes parties actives de la plante (Yruela 2005, 2009 ; Shahid *et al.*, 2014). La première stratégie de défense consiste à éviter l'accumulation de concentrations toxiques dans les sites sensibles de la cellule plutôt que de développer des protéines capables de résister aux effets des métaux lourds (Yruela 2009). D'autres mécanismes cellulaires peuvent être développés pour faire face à l'excès de métaux, tels que la réduction de l'absorption des métaux, l'immobilisation de l'excès des métaux dans les racines, la séquestration dans les vacuoles, la chélation des métaux avec des phytochélatines, des métallothionéines, des acides organiques et des protéines (Clemens 2006 ; Yruela 2009 ; Song *et al.*, 2014). Un niveau élevé des métaux peut stimuler l'accumulation des acides tels que le citrate, la proline ou l'histidine qui peuvent agir comme chélateur (Sharma et Dietz 2006 ; Dresler *et al.*, 2014).

III. Acide salicylique

1. Rôle de l'acide salicylique

L'AS ou l'ortho-hydroxybenzoïque est une molécule omniprésente de signalisation impliquée dans beaucoup de phénomènes physiologiques des plantes (Raskin, 1992). C'est une molécule de nature phénolique qui possède un cycle aromatique avec un groupe hydroxyle ou son dérivé fonctionnel et il est considérée comme un régulateur de croissance végétale endogène en raison de ses fonctions de régulation de divers métabolismes de la plante (Raskin, 1990). Ainsi, l'AS a une fonction essentielle dans la régulation des processus de développement des plantes qui affectent l'absorption des nutriments, l'élongation de la tige, le développement des feuilles et la sénescence (Rubio *et al.,* 2009). Par ailleurs, l'AS est considéré comme une molécule de signalisation importante impliquée dans la résistance aux maladies des plantes en réponse à diverses agressions pathogènes (Alverez, 2000) et aux divers stress environnementaux (Senaratna *et al.*,2000).

2. Biosynthèse

L'AS est biosynthétisé par voie Phénylpropanoïde qui débute avec la phénylalanine. Cette dernière est transformée en acide cinnamique par l'intermédiaire de la PAL. L'acide cinnamique est transformé en acide benzoïque, qui est finalement, hydroxylé par l'acide benzoïque-2-hydroxylase en AS (Dempsey *et al.,* 2011).

3. Signalisation et transport de l'acide salicylique

La plupart des stress entraine l'accumulation de l'AS, ce qui montre son implication dans la signalisation du stress. En outre, le mouvement de l'AS synthétisé dans les cellules est régulé par les ERO et le Ca^{2+} (Chen et Kuc 1999 ; Chen *et al.,* 2001). L'AS peut traverser la couche cuticulaire résistante sous sa forme méthylée (MeSA) (EERO *et al.,* 1999). Ce dernier est un précurseur inactif d'AS qui peut être transloqué et converti en AS à la demande. De plus, c'est une molécule volatile de signalisation qui passe des tissus infectés aux tissus non infectés par le biais du phloème.

4. Effet de l'acide salicylique exogène sur la croissance et la productivité

L'AS régule diverses activités physiologiques et biochimiques des plantes et régule leur croissance et leur productivité. L'AS est l'une des phytohormones les plus importantes, les plus efficaces et les moins coûteuses, qui a le potentiel d'améliorer la croissance des racines dans les légumes et les salades d'importance économique (Hayat *et al.,* 2010). Tomaszewski et Thimman, (1966) ont rapporté que l'AS augmente les concentrations d'AIA et des gibbérellines, ce qui pourrait expliquer la croissance

végétative accrue sous l'effet de l'AS. L'effet positif de l'AS sur la croissance et la productivité peut être attribué à ses effets stimulants sur la photosynthèse et à l'amélioration de la nutrition minérale (Farooqi et Sharma, 1988 ; Hashmi et *al.,* 2012). Par ailleurs, la pulvérisation de l'AS accélère également la floraison chez les plantes ornementales (Martin-Mex *et al.,* 2005).

5. Acide salicylique et le stress abiotique

La corrélation observée entre la concentration de l'AS et la résistance des plantes laisse supposer que c'est une molécule de signale responsable de l'induction de la tolérance à certain nombre de stress biotiques et abiotiques (Nicol *et al.,*1998). Il a été prouvé que l'AS participe à la régulation de plusieurs voies métaboliques et physiologiques. Ainsi, l'application exogène de l'AS par irrigation ou par pulvérisation a un effet sur une large gamme des processus physiologiques en conditions défavorables externes comme le stress métallique et salin.

5.1. Effet de l'acide salicylique sur le statut hormonal

Des facteurs environnementaux défavorables entraînent de fortes variations de l'équilibre des phytohormones, liées non seulement à l'accumulation d'ABA et de l'AS, mais également à une baisse du niveau des hormones de croissance tel que AIA et des cytokinines (Zholkevich et Pustovoytova 1993 ; Jackson 1997). Selon Chao *et al.,* (2010) l'application de l'AS exogène à 3 mM améliore l'expression du gène OsWRKY45, ce qui provoque par la suite une augmentation de la concentration de l'AS endogène

L'augmentation de l'ABA induite par l'AS pourrait contribuer à une préadaptation des plantes au stress (Shakirova 2007) car l'ABA joue un rôle dans l'induction de gènes codant pour la synthèse d'une gamme de protéines de stress (Christmann *et al.,* 2006 ; Wang et Zhang 2008) et d'une gamme de protéines PR (Moons *et al.,* 1997). De plus, l'ABA joue un rôle clé dans le mouvement des stomates et entraine une diminution de la transpiration et une réduction de la perte en eau (Wilkinson et Davies 2010). Shakirova *et al.,* (2013) en utilisant le fluridone, un inhibiteur de biosynthèse de l'ABA, ils ont montré le rôle de l'AS sur l'accumulation rapide de l'ABA et son maintien à des niveaux élevés chez des plantes de blé soumises au stress métallique et salin. Cela se traduit par la prévention de la résistance aux effets des ions toxiques en présence de stress, confirmé par les paramètres de croissance des plantes, la diminution des niveaux d'accumulation de MDA et la libération d'électrolytes par les tissus. Selon ces auteurs, ces données fournissent un argument solide en faveur de la probabilité que l'ABA endogène est intermédiaire hormonal pour déclencher les réactions de défense sous l'influence

de l'AS, qui constituent la base du développement de la résistance des plantes au stress métallique et salin.

D'autres études sont révélées que l'AS interfère également avec la biosynthèse et/ou l'action de l'éthylène dans les plantes (Raskin *et al.,* 1990). Selon Srivastava et Dwivedi (2000), l'AS peut retarder la maturation des fruits de la banane, probablement en inhibant la biosynthèse de l'éthylène ou son action. Par ailleurs, Romani *et al.,* (1989) ont démontré que l'AS et ses dérivés inhibent la production d'éthylène dans des cellules de poire en culture, dans des hypocotyles de haricot et dans des disques de tissu de fruits de pomme. Il a également été montré que l'AS supprime l'activité de la lipoxygénase dans les disques de kiwi, ce qui entraîne une réduction de la production de radicaux libres et de la biosynthèse de l'éthylène (Xu et Tian 2000).

5.2. Effet de l'acide salicylique sur le statut oxydatif

Un déclin de la productivité végétale sous stress est souvent associé à une réduction de la capacité photosynthétique via la génération des espèces réactives oxygénées (Noreen *et al.,* 2010). Ces composés affectent négativement les fonctions de la membrane plasmique estimées par les niveaux de peroxydation des lipides membranaires (MDA). Par conséquent, les plantes développent des systèmes efficaces pour l'élimination de ERO, qui comprennent des enzymes spécifiques piégeant ces radicaux comme le SOD, APX, CAT, GPX, des antioxydants non enzymatiques comme les composés phénoliques et les métabolites azotés, tels que les acides aminés, en particulier la proline. L'AS s'est avéré être un agent préventif efficace contre ERO, induisant les activités de certaines enzymes antioxydants notamment le CAT, APX et SOD (Horváth *et al.,* 2007) qui pourrait par la suite améliorer le processus de photosynthèse et réduire les effets toxiques de stress, contribuant ainsi à l'amélioration du rendement (Faghih *et al.,* 2017 ; Kim *et al.,* 2017 ; Pirasteh-Anosheh et Emam 2018 ; Ahmad *et al.,* 2018).

6. Effet de l'acide salicylique exogène sur les plantes exposées aux métaux lourds

De nombreux chercheurs ont signalé le rôle de l'AS dans la remédiation des effets négatifs des métaux lourds dans les plantes (El-tayeb *et al.,*2006 ; Kováčik *et al.,*2010 ; Popova *et al.,*2012 ; Mei *et al.,* 2015). Szalai *et al.,* (2013) ont constaté que l'application de l'AS à 0,5 mM à des plantes de *Zea mays* exposées au stress dû au Cd entraine une augmentation des teneurs en phytochélatines (responsables de la tolérance des plantes aux ions métalliques). Selon Mei *et al.,* (2015) l'AS, principalement à 0,5 mM, diminue les teneurs en Cu dans diverses parties de la plante, chez le Coton. De plus, Mostofa and Fujita (2013) ont montré que la diminution des niveaux de cuivre accumulés dans les feuilles et les

racines sous l'effet de l'AS est accompagnée d'une amélioration de la nutrition minérale affectée par le cuivre (Gunes *et al.,* 2005). Mostofa et Fujita (2013) ont suggéré que le mécanisme de tolérance induite par l'AS est associé à une exclusion ou à une limitation d'absorption du métal. D'autre part El-Tayeb *et al.,* (2006) suggèrent que le mécanisme peut être associé à la translocation de Cu et/ou une augmentation des protéines de liaison au Cu. De plus, Belkadhi *et al.,* (2014) ont signalé une augmentation du contenu en glutathion réduit sous l'effet de l'AS en présence de stress en Ni. Yang *et al.,* (2003) ont montré que l'AS augmente l'efflux de citrate des racines pour inhiber l'absorption d'aluminium.

7. Effet de l'acide salicylique exogène sur les plantes exposées aux stress salin

La salinité affecte la croissance et le développement des plantes (Aftab *et al.*,2011) à cause de fortes accumulations des ions sodium (Bouchoukh, 2010) ce qui provoque un déséquilibre nutritionnel (Munns, 2002 ; Kasrati *et al.*,2014), un stress osmotique, oxydatif et au déséquilibre hormonal (Ashraf *et al.*,2010), des changements dans les activités métaboliques (Jaleel *et al.,* 2007 ; Rouphael *et al.,* 2018). Plusieurs études ont montré l'importance de l'utilisation exogène de régulateurs de croissance notamment l'AS, pour atténuer les effets néfastes de la salinité sur différentes plantes (Qiu *et al.,* 2014 ; Akram *et al.,* 2017 ; Ahmad *et al.,* 2017 ; Nie *et al.,* 2018 ; Tahjib *et al.*,2018). Ces auteurs ont lié l'effet positif de l'AS à la réduction des pertes d'eau en réduisant la transpiration et en absorbant plus d'eau du sol pour ajuster le statut hydrique de la plante. Par ailleurs, l'accumulation de ERO induite par le sel, qui est une cause potentielle de stress oxydatif, est souvent positivement corrélée avec la teneur en MDA dans les plantes (Siddiqui *et al.,* 2017 ; Akram *et al.,* 2017 ; Soundararajan *et al.,* 2018 ; Freitas *et al.,* 2018). Cependant, le traitement des feuilles de maïs avec l'AS atténue les effets du stress oxydatif induit par le sel, comme en témoigne la diminution du taux de MDA dans les feuilles des plantes *Hordeum vulgare* (Pirasteh-Anosheh et Emam 2018 ; Ahmad *et al.,* 2018). La stimulation de la croissance sous l'effet de l'AS peut être liée également à l'amélioration de la nutrition minérale, du statut hormonal, de l'assimilation du CO_2 et de la photosynthèse. Dans ce même contexte Tahjib *et al.,* (2018) ont attribué l'effet positif de l'AS en réponse au stress salin à la capacité de l'AS (1) à améliorer les performances de croissance en stimulant l'efficacité de la photosynthèse, (2) à réduire les dommages oxydatifs par l'induction des activités de CAT et d'APX, et (3) à protéger les paramètres contribuant au rendement.

Selon Shakirova *et al.,* (2003) l'AS entraine une augmentation des divisions cellulaires dans le méristème apical des racines des plantules, ce qui provoque une augmentation de la croissance des plantes. L'effet positif de l'AS sur la productivité des plantes cultivées sous stress salin est liée également à l'amélioration de la nutrition minérale de la plante et la réduction du rapport Na + / K

(Ahmed *et al.,* 2018 ; Faghih *et al.,* 2017et Rashad et Hussien 2014). L'amélioration de la photosynthèse sous l'effet de l'AS peut être attribuée à ses effets stimulants sur l'activité de RuBisCO, PEP carboxylase de et l'anhydrase carbonique (Mateo *et al.,* 2006 ; Idrees *et al.,* (2012). Shi *et al.,* (2006) ont attribué l'effet positif de l'AS sur les teneurs en chlorophylle à une absorption accrue des éléments minéraux et l'efficacité de la PSII (Khan *et al.,*2014), à la mobilisation du nitrate tissulaire interne ou à la biosynthèse de la chlorophylle.

IV. Présentation des espèces végétales

1. *Salvia officinalis*

Salvia officinalis est un arbuste vivace de 30 à 60 cm de hauteur, à tiges ligneuses formant des rameaux quadrangulaires dressés et velus, aux feuilles ovales et allongées, gris verdâtre en raison d'une pubescence cotonneuse sur la face inférieure. Cette plante se caractérise par une odeur aromatique et de petites fleurs bleu-violettes qui s'épanouissent en Juin ou Juillet (Benkherara *et al.,* 2011). Cette plante spontanée dans les lieux arides est très répandue dans le bassin méditerranéen. Elle pousse sur les terrains les plus pauvre, même s'ils sont pierreux, car elle est peu exigeante et très généreuse, elle aime l'ensoleillement, elle se cultive dans m'importe quel potager comme plante aromatique et culinaire (Cretti, 1981).

1.1.Description morphologique

Cette plante vivace à tige ligneuse à la base, forme un buisson qui dépasse parfois 80 cm, rameaux vert-blanchâtre, feuilles assez grandes, épaisses, vert-blanchâtres et opposées : fleurs bleu-violacé clair en épis terminaux lâches, disposées par trois à six en verticilles espacés. Calice campanulé à cinq dents longues et corolle bilabiée supérieure en casque et lèvre inférieure trilobée avec des fruits en forme de tétrakènes.



Figure 1 : Aspect de la plante ***Salvia officinalis***



Figure 2 : Fleurs de ***Salvia officinalis***

1.2. Compositions chimique

Sa teneur en huile essentielle varie de 0,8 à 2,5 %. Elle est caractérisée par la présence des cétones monoterpéniques bicycliques, les α et β-thuyones, du comphor et par du cinéole comme des composants majoritaires. Les composés phénoliques sont également largement synthétisés chez *Salvia officinalis*. Plusieurs travaux indiquent la présence des acides phénoliques (Cuvelier *et al.,* 1996 ; Wang *et al.,* 1998), les flavonoïdes tels que les flavonols (Kenjeric *et al.,* 2008), les flavanones, les flavones (Cuvelier *et al.,* 1996) et les flavone glycosides (Lima *et al.,* 2007). La sauge contient 5% de tanins, 5,60% de résine, 6% de gommes, des acides phosphoriques, oxaliques, des nitrates, 9% de pentosanes, des traces d"asparagine, de la thuyone, du bornéol, du cinéol, du camphor ; des terpènes salvines (Beloued, 2001).

1.3.Utilisation Thérapeutique

Les infusions de la sauge sont utilisées pour le traitement de plusieurs maladies de la circulation sanguine et les problèmes du système nerveux et les troubles digestifs (Radulescu *et al.,* 2004). Elle est utilisée également comme antimicrobienne, antispasmodique, antibactérien, anti-inflammatoire, anti tumoral, antiviral, calmante, antioxydant, fébrifuge, des troubles mentaux et nerveux. Elle est également ajoutée comme désinfectant, cataplasmes et dans certains bains contre les maladies de la peau d'origine mycosique. Elle est efficace contre l'asthénie consécutive à une maladie infectieuse, et contre l'hypersudation nocturne, notamment lorsqu'elle est liée à la ménopause. Cette plante aromatique est employée dans la cuisine pour son goût puissant légèrement amer et comphoré. (Bruneton, 2009 ; Albano et Miguel, 2011).

2. *Mentha suaveolens*

*Mentha sauveolens*est une espèce vivace poussant de manière sauvage dans les endroits humides. Cette espèce aromatique est considérée comme un agent aromatisant important. Le genre Mentha, l'un des éléments importants de la famille des Lamiaceae, est représenté par environ 19 espèces et 13 hybrides naturels. Présent dans l'Afrique du nord, l'Amérique et au Japon, l'Asie et l'Europe tempérée (Abbaszadeh *et al.,* 2009).

2.1.Description morphologique

Mentha suaveolens (Merceta) La menthe à feuilles rondes ne pose pas de problème de détermination en raison de la forme de ses feuilles rondes, épaisses. La tige, typique des labiées, est à section carrée. L'ensemble de la plante est couvert de poils denses et blanchâtre qui la rendent douce au toucher. Les

petites fleurs sont rassemblées en épis terminant les rameaux. La hauteur de la plante est de 25 à 80 cm, la fleure est de 5 mm de Long.



Figure 3 : Aspect de la plante ***Mentha suaveolens***



Figure 4 : Fleurs de ***Mentha suaveolens***

2.2.Composition chimique

Sa teneur en huile essentielle varie de 1 à 2,5% (matière sèche), et est caractérisée par la présence du menthol, menthone, carvone et par la présence des autres terpénoides (pulegone, piperitone, menthofurane, pinène, l-limonène, cadinène, phellandrène - acetaldéhyde, isovalerique aldehyde,

2.3. Utilisation Thérapeutique

Les menthes sont parmi les herbes les plus populaires utilisées pour leurs propriétés médicinales et en aromathérapie. Les études, ont montré que l'espèce *Mentha suaveolens* engendre une diminution signifiante de l'effet contractile induit par l'histamine, la sérotonine et l'acétylcholine (Moreno *et al.*, 2002). Des études pharmacologiques ont montré que cette huile essentielle de *Mentha sauveolens* est utilisée surtout pour les troubles digestifs, les spasmes, les inflammations, les colites, les états nauséeux, et contre certains parasites. Elle a aussi des propriétés stomachiques qui permettent de faciliter le travail digestif et la digestion, ainsi pour lutter contre certains troubles digestifs. Ainsi, elles permettent d'éliminer les gaz stagnants dans les intestins, par son effet carminatif.

Chapitre 2 : Matériel et méthodes

I. Matériel végétale et les conditions de croissance

1. Bouturage des plantes

Des boutures de *Salvia offcinalis* et de *Mentha suaveolens* d'environ de 10 cm de longeur, comprenant au moins 2 entre-nœuds sont bouturés dans des pots en plastiques contient du sol et placés en serre à une température comprise entre 25 et 30 ºC.

2. Application des traitements

2.1.Traitement avec les métaux lourds (Cu et Zn) et l'acide salicylique

30 jours après leur transplantation, 200 ml d'une solution de $CuSO_4$ ou de $ZnSO_4$ à 40 mM est utilisée pour l'arrosage des plantes. Cette concentration de Cu et de Zn a été choisie après une serie d'expérimentations préliminaires qui ont montré une inhibition de la croissance de *Salvia offcinalis* et de *Mentha suaveolens* à partir 40 mM.
L'arrosage avec cette solution est réalisé toutes les semaines pendant cinq semaines.

60 jours après la transplastation, 100 ml d'une solution d'AS (0,5 mM ou 1 mM) sont pulvérisés sur les feuilles à l'aide d'un pulvérisateur manuel (ces concentrations de l'AS ont été choisies sur la base d'une expérience de criblage préliminaire). Cette pulvérisation foliaire de l'AS est réalisée pendant 3 semaines.
Pour chaque métal, six traitements sont ainsi réalisés :

Contrôle, AS 0,5 mM, AS 1 mM, Cu, Cu + AS 0,5 mM et Cu + AS 1 mM.

Contrôle, AS 0,5 mM, AS 1 mM, Zn, Zn + AS 0,5 mM et Zn + AS 1 mM

100 jours après la transplantation des plantes, des prélèvements sont effectués pour les différents dosages. Pour tous les traitements comme pour le contrôle, cinq répétitions sont réalisées.

2.2.Traitement avec NaCl et l'acide salicylique

30 jours après leur transplantation, 200 ml d'une solution de NaCl à 150 mM est utilisée pour l'arrosage des plantes. Cette concentration de NaCl a été choisie après une serie d'expérimentations préliminaires qui ont montré une inhibition de la croissance de *Salvia offcinalis* et de *Mentha suaveolens* à partir 150 mM de NaCl. L'arrosage avec cette solution est réalisé toutes les semaines pendant cinq semaines.
60 jours après la transplastation, 100 ml d'une solution d'AS (0,5 mM ou 1 mM) sont pulvérisés sur les feuilles à l'aide d'un pulvérisateur manuel (ces concentrations de l'AS ont été choisies sur la base

d'une expérience de criblage préliminaire). Cette pulvérisation foliaire de l'AS est réalisée pendant 3 semaines.

Pour le stress salin, six traitements sont ainsi réalisés:

Contrôle, AS 0,5 mM, AS 1 mM, NaCl, NaCl+ AS 0,5 mM et NaCl+ AS 1 mM.

100 jours après la transplantation des plantes, des prélèvements sont effectués pour les différents dosages. Pour tous les traitements comme pour le contrôle, cinq répétitions sont réalisées.

II. Observations microscopique

1. Microscopie électronique à balayge

Les observations microscopiques des feuilles fraîches sont réalisées à l'aide d'un microscope électronique à balayage environnemental (Quanta 200, FEI Company). Le microscope est équipé d'un canon à électrons au tungstène. Les analyses ont réalisées sous pression partielle de vapeur d'eau.

2. Détermination de la densité des trichomes glandulaires peltés

Le comptage des glandes peltées est effectué sur la face ventrale des feuilles fraîches sur une surface de 1 mm^2, en prenant en considération les zones basale (près du pétiole), centrale et apicale de la feuille. Pour chaque traitement, le nombre de glandes représente la moyenne des glandes de cinq plantes et trois feuilles par plante.

III. Les dosages biochimique

1. Quantification des teneurs en mineraux

Après séchage des parties aériennes et racinaires à l'étuve (100°) pendant 48h, 100 mg de matière sèche sont calcinés à 450 ^oC pendant 12h au four à moufle. Les cendres obtenues sont dissoutes dans 3 ml d'acide nitrique (0,1N) puis filtrées à travers un papier wathman, et le volume est ajusté à 20 ml avec l'eau distillée.

➔ A partir de cette solution, le dosage est effectué par spectrométrie d'émission plasma à couplage inductif (ICP).

2. Dosage des chlorophylles

1 g de feuilles sont broyées avec une pincée de carbonate de magnésium et 5g de sulfate de sodium anhydre. 10 ml d'acétone à 80% sont ajoutés avec le broyat, puis filtré sur Büchner, et le résidu est

récupéré dans des tubes à essai. L'extractions avec l'acétone est répétée jusqu'à l'obtention d'un filtrat incolore et le volume final de l'extrait est noté (Inskeep et Bloom,1985).
Les concentrations (g/l) de la chlorophylle est déterminée à partir de l'équation établie par Arnon et McKinney (1941) après la mesure des DO à 663 et 645 nm de l'extrait acétonique.

$$\text{Chlorophylle totale} = (0{,}0202\ \text{D.O}\ 645) + (0{,}00802\ \text{D.O}\ 663)$$

3. Dosage du peroxyde d'hydrogène

L'extraction et le dosage de H_2O_2 sont réalisés selon la méthode décrite par Sergieve *et al.*, (1997).
1 g de matériel végétal sont broyés dans 15 ml d'acide trichloracétique, le broyat est centrifugé pendant 15 min à 12 000 trs/min. Le dosage est réalisé en ajoutant à 0,5 ml du surnageant, 0,5 ml de tampon phosphate 10 mM pH 7 et 1 ml d'iodure de potassium à 1mM. La densité optique des tubes est déterminée à 390 nm**.**
La concentration de H_2O_2 est estimée à partir d'une courbe étalon réalisée par le même mode opératoire en utilisant des concentrations croissantes de H_2O_2 allant de 4,125 µmol/l à 66 µmol/l.

$$Y(\mu\text{mol/l}) = 0{,}0057x + 0{,}0049$$

4. Dosage du malondialdéhyde

Les dommages oxydatifs des lipides des feuilles et des racines sont déterminés en utilisant la méthode de Heath et Packer, (1968) afin d'évaluer le niveau de la peroxydation des lipides.

Le taux de peroxydation lipidique est mesuré en termes de teneur en MDA, produit de la peroxydation lipidique. Le principe du dosage repose sur la réaction qui se produit entre le malondialdéhyde et l'acide thiobarbiturique formant le dérivé coloré MDA-TBA. Le MDA est extrait à partir de 0,5 g de feuilles ou de racines fraîches broyées avec 10 ml d'acide trichloroacétique (TCA) à 0,1%. Après centrifugation à 12 000 trs/min pendant 5 minutes, 1 ml du surnageant est ajouté à 4 ml d'alcool butylique tertiaire (TBA) à 0,5% préparé dans TCA à 20%. Les échantillons sont incubés à 95°C pendant 30 minutes. Ensuite, la réaction est arrêtée dans un bain de glace (Si la réaction est trouble, centrifuger à 15 000 trs/min pendant 5 min à 4°C). L'absorbance est mesurée à 532 nm puis à 600 nm.

La teneur en MDA est exprimée en µmol g^{-1} MF à partir de la formule suivante établie par Heath et Packer, (1968) :

$$MDA(\mu mol/g\ MF) = \frac{(Do\ 532 - DO\ 600)x\ V}{155\ x\ MF} x\ 1000$$

155 : Coefficient d'extinction molaire ($mM^{-1}cm^{-1}$)

MF : Matière végétale fraiches (g)

V : Volume de l'extrait (ml)

5. Dosage de la proline

L'extraction et le dosage de la proline sont réalisés selon la méthode décrite par Bates et *al.,* (1973). 100 mg de matériel végétal sont broyés dans 2 ml d'une solution hydro alcoolique à 40% de méthanol puis portés au bain marie à 85°C pendant une heure puis centrifugés à 1200 trs/min pendant 15 min. Le dosage de la proline est réalisé en ajoutant à 1 ml de l'extrait, 1 ml d'acide acétique, 25 mg ninhydrine et 1 ml d'un mélange constitué par l'eau distillé, l'acide acétique et l'acide ortho phosphorique 6M (respectivement 12 ml, 30 ml et 8 ml). Les tubes sont incubés dans un bain-marie pendant 1h à 100°C. 3 ml de toluène sont ensuite ajoutés et le tout subit une homogénéisation de quelques minutes. Deux phases se séparent, la phase supérieure contenant la proline. La densité optique des tubes est déterminée à 528 nm.

La concentration en proline est estimée à partir d'une courbe étalon réalisée par le même mode opératoire sur des solutions de concentrations croissantes de proline allant de 0,01 µg/l à 0,1 µg/l.

$$Y\ (\mu g/l) = 11{,}41x + 0{,}056$$

6. Dosage des composés phénoliques totaux

Principe de dosage

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

Extraction des composés phénoliques totaux

- 0,5g de matériel végétal sont broyés dans 5 ml d'une solution hydro-alcoolique à 50% d'éthanol.
- Les extraits sont récupérés dans des tubes puis laissés sous agitation pendant une nuit pour permettre l'extraction de la totalité des phénols.
- Dans les feuilles, la chlorophylle est éliminée en ajoutant à 3ml d'extrait 0,5ml de chloroforme suivie d'une centrifugation à 5000 trs/min pendant 5 min.

Dosage des composés phénoliques totaux

Le dosage des composés phénoliques est réalisé en ajoutant à 0,5 ml d'extrait 3 ml d'eau et 0,5 ml de Na_2Co_3 à 20 %. 3 min après agitation, on ajoute 0,5 ml de réactif de Folin-ciocalteu. Les tubes sont ensuite placés à 40˚C pendant 30 min. l'absorbance est déterminée à 760 nm.

La concentration des composés phénoliques est déduite à partir d'une courbe étalon réalisée par le même mode opératoire sur des solutions de concentrations croissantes d'acide gallique allant de 6,25 mg/l jusqu'à 100 mg/l.

$$Y(mg/l) = 0{,}003x$$

7. **Dosage des tanins condensés**

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

Dans deux tubes, on met 3 ml de l'extrait éthanolique auquel on rajoute 3 ml de HCl concentré. Le Tubes 1 est placé dans le bain marie à 100°C pendant 30 minutes, suivi d'un refroidissement rapide, le Tube 2 est maintenu à température ambiante. Après 30 min, on rajoute 0,5 ml d'éthanol dans les deux tubes. La lecture au spectrophotomètre est réalisée à 550 nm.

$$T\ (g/l) = (DO1\text{-}DO2) \times 19{,}33$$

8. Extraction des huiles essentielles

100 g de feuilles *Salvia offcinalis* et *Mentha suaveolens* sont soumis à une hydrodistillation dans un appareil de type Clevenger pendant 180 minutes après l'apparition de la première goutte de distillat.

L'huile essentielle est récupérée, déshydratée avec du sulfate de sodium anhydre puis conservée à 4 °C à l'obscurité. Le rendement en HE, exprimée en ml par 100 g est donné par la formule suivante :

$$R\%\ (ml/100g\ MS) = (V\ (ml)/MS\ (g)\ X100$$

R: Rendement en huile essentielle de matière sèche

V : Le volume d'huiles essentielles collectées (ml)

MS : Masse sèche de la plante (g)

IV. Analyse des huiles essentielles par GC-MS

La composition des huiles essentielles est déterminée par chromatographie en phase gazeuse (GC) (série Agilent 7890A) couplée à la spectrométrie de masse (MS) et équipée d'un injecteur multimode, d'une colonne BD-ASTMD 6584 (15 m × 0,320 mm × 0,1 μm). Le protocole consiste en l'injection de1 μl d'une solution d'huile essentielle solubilisée dans du chloroforme dans la colonne en split mode 1 : 2 en utilisant de l'hélium comme gaz vecteur à 4 ml min^{-1}. Les températures de la source d'ions et du quadruple sont respectivement de 230 °C et 150 °C. Le programme de température du four est démarré à 30 °C et maintenu 1 min puis augmenté à 2 °C min^{-1} jusqu'à 75 °C et maintenu une minute puis augmenté de 8 °C min^{-1} jusqu'à 210 °C et maintenu constant pendant 1 min. La composition de l'huile essentielle déterminée à partir des zones de pic est calculée en pourcentage des composés totaux existant dans la détection de l'échantillon en utilisant le mode de balayage complet entre 30 et 1050 m z^{-1} avec un facteur de gain de 5 et l'identification a été réalisée à l'aide de NIST 2014 MS Library.

V. Analyses statistiques

Les données sont présentées sous forme d'une moyenne d'au moins 3 répétitions pour les dosages biochimiques, ± l'erreur standard ou l'écart type de cette moyenne. Les résultats obtenus ont fait l'objet d'analyse de la variance des moyennes avec les tests ANOVA one-way et ANOVA two-ways, pour évaluer la signification de l'effet au seuil $P \leq 0,05$ par rapport à la plus petite différence significative avec les tests Tukey (post hoc). Toutes les analyses statistiques ainsi que l'évaluation des interactions entre les paramètres étudiés et des tendances de leurs évolutions sont effectuées avec le logiciel de statistique IBM.SPSS Version 19.

Chapitre 3: Influence de l' acide salicylique sur le comportement morphologique et biochimique chez *Salvia offcinalis* et *Mentha suaveolens* cultivées sous stress cuivrique

Itroduction

Ces derniers temps, la pollution par le cuivre (Cu) représente une préoccupation pour le monde entier car c'est un minéral non biodégradable et difficile à éliminer. Le taux élevé de résidus de Cu dans le sol peut causer de nombreux problèmes pour l'environnement et la santé humaine. Cependant, le Cu est un oligo-élément naturel essentiel à la croissance des plantes. À de faibles concentrations, le Cu joue un rôle crucial dans divers processus tels que le métabolisme des protéines et des ions, la photosynthèse, le transport respiratoire et la fixation de l'azote (Kamali *et al.*, 2012). Généralement, les tissus végétaux contiennent environ 10 μg g^{-1}MS de Cu (Ducic et Polle 2005) et cet élément peut devenir toxique lorsqu'il dépasse ces limites. De plus, une concentration élevée de Cu dans le sol ou l'eau peut réduire les performances des plantes. La teneur en Cu varie entre 2 et 40 mg Kg^{-1} dans le sol non pollué et peut atteindre 1000 mg Kg^{-1} dans le sol pollué (Baize 1997). Le Cu se caractérise par son accumulation dans le cortex de la racine, ce qui affecte l'absorption d'autres nutriments essentiels à la croissance de la plante (Kopittk et Menzies 2006 ; Azeez *et al.*, 2015). D'autres travaux ont montré l'effet négatif du stress cuivrique sur la biomasse et le rendement des plantes à la fois en culture hydroponique et en sol (Bouazizi *et al.*,2010). Deef (2007) a noté que le rendement en huile essentielle augmente et que sa composition chimique varie dans le romarin lorsque la concentration en Cu augmente de 50 à 3200 ppm. Chez le basilic, Zheljazkov et Warman (2006) ont indiqué que le traitement avec du Cu à 100 mg l^{-1} provoque une augmentation du rendement en huile essentielle.

De plus, plusieurs études ont montré que l'AS exogène contribue à la régulation des voies métaboliques et physiologiques des plantes cultivées sous stress en Cu (El-Tayeb *et al.*,2006; Kováčik *et al.*, 2010 ; Popova *et al.*, 2012 ; Mei *et al.*, 2015 ; Mostofa et Fujita 2013). L'effet curatif de l'AS sur la croissance des plantes en condition de stress cuivrique est lié à son rôle dans la teneur en eau, l'assimilation des nutriments, la synthèse des pigments chlorophylliens, la croissance, la régulation stomatique, l'inhibition de la biosynthèse de l'éthylène, la régulation du profile hormonal et la synthèse des protéines kinases (Srivastava et Dwivedi 2000 ; Khan *et al.*, 2003 ; Stevens *et al.*, 2006 ; Arfan *et al.*, 2007).

Dans cette étude, nous avons testé l'effet remédiateur de l'AS sur les effets toxiques du stress cuivrique sur la croissance des plantes et l'absorption de minéraux, la densité des glandes sécrétrices, la teneur en huile essentielle et sa composition chez *Salvia officinalis* et *Mentha suaveolens.*

I. Influence de l'acide salicylique sur le comportement morphologique et biochimique chez *Salvia officinalis* et *Mentha suaveolens* cultivées sous stress cuivrique

1. Croissance des parties aériennes et racinaires

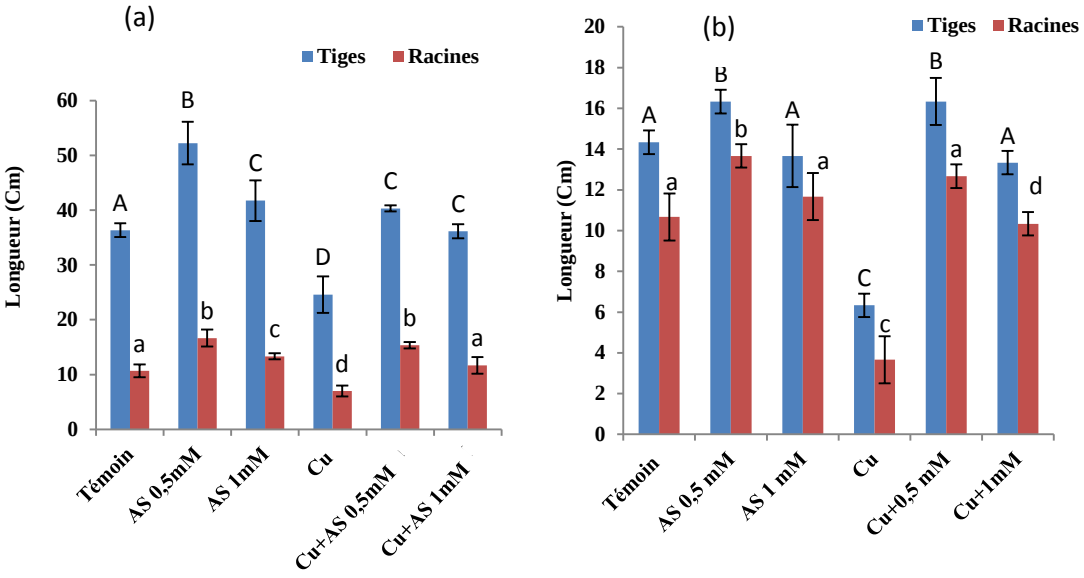

Figure 5 : Influence du stress cuivrique et de l'AS sur la longueur des parties aériennes et racinaires (cm) chez *Salvia officinalis* (a) *Mentha suaveolens* (b). Les valeurs indiquées par des lettres différentes sont significativement différentes ($P \leq 0,05$).

Chez *Salvia officinalis,* le cuivre inhibe la croissance de la plante. Cette inhibition peut atteindre 32% dans la partie aérienne et 34 % dans la partie racinaire (fig. 5a) par rapport le témoin. Cependant, dans les conditions d'un stress cuivrique, l'application de l'AS fait rétablir la longueur de la partie aérienne et racinaire à des valeurs presque identiques à celles des plantes témoins quand l'AS est appliqué à 1 mM et même supérieures pour un traitement de 0,5 mM. Cette augmentation peut atteindre presque 64% pour la tige et 119% pour la racine (fig. 5a) par rapport les plantes stressées et non traitées avec l'AS.

Chez *Mentha suaveolens,* le cuivre inhibe également la croissance de la plante (fig. 5b). Ces diminutions atteignent respectivement presque 56% et 65,60% par rapport le témoin. Par contre, dans les conditions de stress cuivrique le traitement avec l'AS permet de remédier l'inhibition de la croissance des parties aériennes et racinaires. Cette remédiation atteint son maximum sous l'effet de l'AS à 0,5 mM (fig.5b). Ces augmentations atteignent 158% et 245% respectivement dans les parties aériennes et racinaires par rapport les plantes stressées et non traitées avec l'AS.

2. Translocation de Cu et d'autres éléments minéraux (Ca, K et P) chez *Salvia officinalis* et *Mentha suaveolens*

2.1. Chez *Salvia officinalis*

Tableau 1 : Influence de l'AS et du stress cuivrique sur les teneurs en éléments minéraux (Cu, P, K, Ca) chez *Salvia officinalis*. Les valeurs indiquées par des lettres différentes sont significativement différentes (P ≤0,05).

		Cu (mg/g MS)	*Ca (mg/g MS)*	*K (mg/g MS)*	*P (mg/g MS)*
Racines	***Témoin***	0,07±0,06a*	7,85±0,047a	8,87±0,05A*	1,01±0,01A
	AS 0,5 mM	Tr	16,11±0,10b	12,84± 0,02B*	1,13±0,01A
	AS 1 mM	Tr	16,00±0,11b	12,60±0,02B*	1,03±0,01A
	Cu	9,98±0,08b*	9,69 ±0,02c	4,06±0,02C*	0,08±0,01B
	Cu + AS 0,5mM	0,10± 0,00c*	12,95±0,13d	11,08±0,03D*	2,35±0,00C
	Cu + AS 1mM	0,19± 0,01c*	10,06±0,06e	8,32±0,03E*	2,30±0,011C
Feuilles	***Témoin***	Tr	11,4 ± 0,94a*	11,41±0,94A	2,40±0,11A*
	AS 0,5mM	Tr	19,3 ± 1,10b*	19,27±1,10B	2,66±0,05A*
	AS 1mM	Tr	15,0±0,42b*	15,03±0,38A	2,46±0,11A*
	Cu	0,89 ± 0,01a	10,64±0,01c*	6,67±1,53C	1,33±0,30B*
	Cu+ AS 0,5mM	Tr	15,17±0,01d*	13,78±1,71AD	2,45±0,02A*
	Cu + AS 1mM	Tr	14,40±0,01e*	11,64± 0,16c	2,255±0,23A*

L'application du Cu dans le milieu de croissance augmente considérablement la concentration de ce métal dans les diverses parties de la plante (Tableau 1). Cette accumulation se fait principalement dans les racines (9,98 mg/g MS) mais on assiste néanmoins à un transfert d'une quantité assez importante dans les feuilles (0,89 mg/g MS). L'absorption du K^+, du P et du Ca^{2+} est également affectée par l'application du Cu. On assiste à une baisse considérable des teneurs en ces éléments minéraux aussi bien dans les feuilles que dans les racines. Cependant, la pulvérisation foliaire avec l'AS entraîne un ralentissement dans l'absorption de Cu dans les racines et par la suite dans les feuilles puisqu'on constate des valeurs très faibles dans les racines et seulement des traces dans les feuilles. Par ailleurs, l'AS entraîne une amélioration des teneurs en éléments minéraux (K^+, P et Ca^{2+}) dans les différentes parties de la plante. Ainsi, nous notons une augmentation des teneurs de phosphore dans les feuilles jusqu'à des valeurs presque identiques à celles du témoin. Par contre, au niveau de la racine, le contenu en phosphore dépasse celui du témoin. En ce qui concerne le potassium et le calcium, on assiste à un rétablissement de leurs teneurs dans les deux parties de la plante à des niveaux qui dépassent celles du témoin. Ce phénomène est encore plus accentué lorsque l'AS est appliqué à une concentration de 0,5 mM. Par rapport aux plantes témoins, on assiste à une importante absorption racinaire estimée 25% pour le Potassium, 132% pour phosphore et 65% pour le calcium. Les feuilles sont également

concernées par cette amélioration puisqu'on assiste à une augmentation par rapport au témoin d'environ 20,77% pour le K et 33% pour le Ca et une faible augmentation pour le phosphore.

2.2. Chez *Mentha suaveolens*

Tableau 2 : Influence de l'AS et du stress cuivrique sur les teneurs en éléments minéraux (Cu, P, K, Ca) chez *Mentha suaveolens*. Les valeurs indiquées par des lettres différentes sont significativement différentes (P ≤0,05).

		Cu (mg/g MS)	***Ca (mg/g MS)***	***K (mg/g MS)***	***P (mg/g MS)***
Racines	***Témoin***	Tr	13,86±0,02a	12,11±0,1A*	0,47±0,1A
	AS 0,5 mM	Tr	15,10±0,01b	15,07±0,01 B*	0,65±0,2B
	AS 1 mM	Tr	14,85±0,03c	10,52±0,06C*	0,97±0,1C
	Cu	7,3±0,03A	9,30±0,01d	9,48±0,05 D*	0,18±0,01D
	Cu + AS 0,5mM	Tr	13,44±0,03a	14,07±0,09E*	1,51±0,09E
	Cu + AS 1mM	Tr	11,02±0,01a	11,07±0,4F*	0,83±0,07F
Feuilles	***Témoin***	Tr	14,46±0,01a*	12,64±0,01A	1,25±0,01A*
	AS 0,5mM	Tr	10,15±0,01b*	16,61±0,02B	1,49±0,03A*
	AS 1mM	Tr	18,54±0,02c*	12,63±0,01A	1,01±0,01B*
	Cu	4,3±0,01a	9,57±0,01d*	8,83±0,02C	0,29±0,02A*
	Cu+ AS 0,5mM	Tr	14,18±0,11a*	14,08±0,03D	1,61±0,01A*
	Cu + AS 1mM	0,12	13,18±0,03a*	13,22±0,02E	1,32±0,02A*

Comme dans le cas de *Salvia officinalis*, le traitement des plantes de *Mentha suaveolens* avec le Cu à 40 mM augmente considérablement la concentration de ce métal dans les diverses parties de la plante (Tableau 2). Cette accumulation se fait principalement dans les racines (7,3 mg/g MS) et son transfert dans les feuilles est néanmoins très important (4,3 mg/g MS). L'absorption du K^+, du P et du Ca^{2+} est également affectée par l'excès de Cu dans le milieu. On assiste à une baisse considérable de leurs teneurs aussi bien dans les feuilles que dans les racines. Cependant, l'application de l'AS sur des plantes stressées entraîne d'une part une inhibition quasi-totale de l'absorption du Cu par la plante, ce dernier se retrouvant sous forme de traces, d'autre part une amélioration des teneurs en K^+, P et Ca^{2+}dans les différentes parties de la plante principalement lorsque l'AS est appliqué à une concentration de 0,5 mM. On assiste à une amélioration de l'absorption racinaire par rapport aux plantes stressées de 48% pour le K, 738 % pour le phosphore et 44,50% pour le calcium. Les feuilles sont également concernées par cette amélioration puisqu'on assiste par rapport aux plantes témoins à une augmentation de 59,45% pour le K et 48,20% pour le Ca et 455% pour le P.

3. Teneurs en chlorophylles

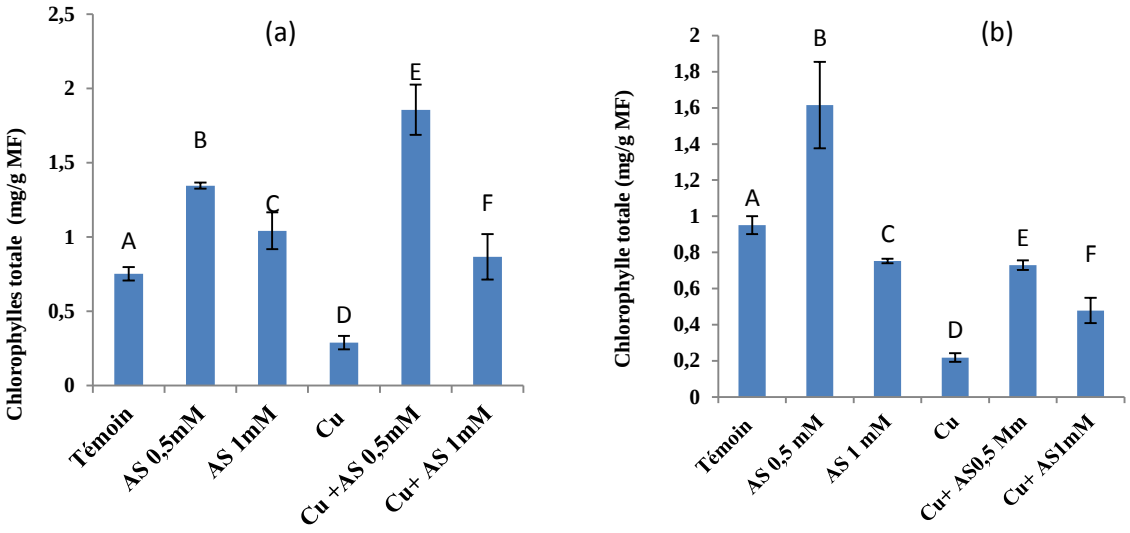

Figure 6 : Influence du stress cuivrique et de l'AS sur les teneurs en chlorophylle totale (mg/g MF) chez *Salvia officinalis* (a) et chez *Mentha suaveolens* (b). Les valeurs indiquées par des lettres différentes sont significativement différentes (P ≤0,05).

Le stress cuivrique inhibe fortement la synthèse de la chlorophylle chez les deux plantes étudiées. On assiste à une diminution de ses teneurs par rapport au témoin de 61% et de 77% respectivement chez *Salvia officinalis* (fig. 6a) *Mentha suaveolens* (fig. 6b). Par contre, on remarque une remédiation de cette inhibition suite à la pulvérisation foliaire de l'AS, principalement à 0,5 mM, puisqu'on assiste à des augmentations qui peuvent atteindre un maximum et qui sont estimées à 541% et 232% respectivement chez *Salvia officinalis* et *Mentha suaveolens* par rapport aux plantes stressées.

4. Teneurs en peroxyde d'hydrogène

Le stress cuivrique augmente fortement la concentration de H_2O_2 chez le deux plantes étudiées (fig. 7) aussi bien au niveau foliaire que racinaire. Concernant la partie aérienne, on assiste à une augmentation de 95% Chez *Salvia officinalis* (fig. 7a) et de124% chez *Mentha suaveolens* (fig.3b) par rapport au témoins. Cependant, la pulvérisation foliaire des plantes avec l'AS diminue fortement les teneurs en H_2O_2 principalement à 0,5 mM. Ces diminutions atteignent presque 57% chez *Salvia officinalis* et 52% chez *Mentha suaveolens* par rapport aux plantes stressées.

Les parties racinaires subissent les mêmes variations que les parties aériennes. Nos résultats montrent une forte accumulation de H_2O_2 sous l'effet de stress cuivrique. Ces augmentations sont estimées à 125% et 122% respectivement chez *Salvia officinalis* et *Mentha suaveolens*. Par ailleurs, le traitement

foliaire des plantes avec l'AS principalement à 0,5 mM, diminue fortement ces teneurs de 65% et de 49% respectivement chez *Salvia officinalis* et *Mentha suaveolens* par rapport aux plantes stressées.

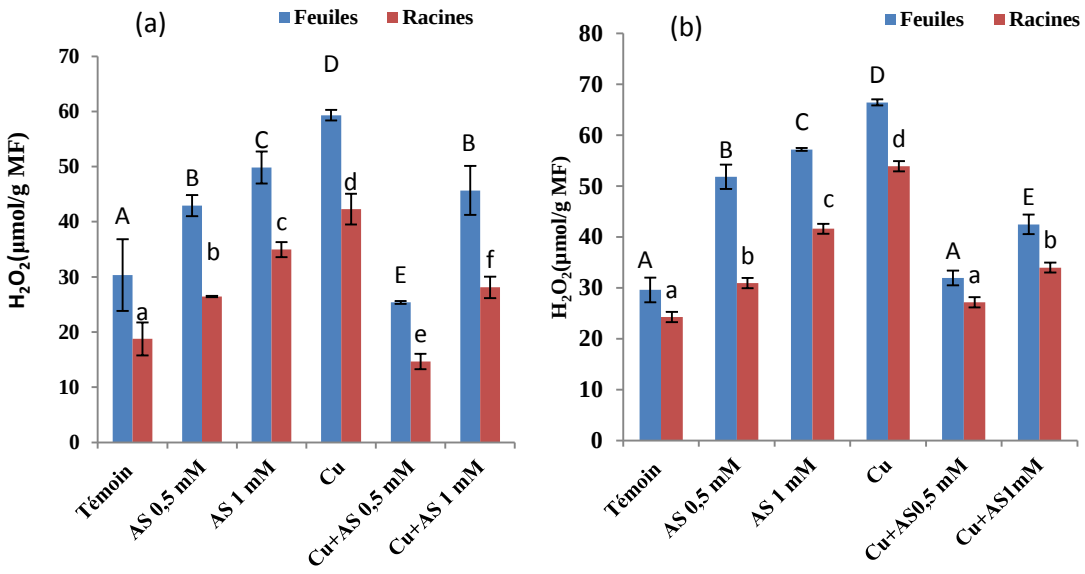

Figure 7 : Influence du stress cuivrique et de l'AS sur les teneurs en H_2O_2 (µmol/g MF) chez *Salvia officinalis* (a) et chez *Mentha suaveolens* (b). Les valeurs indiquées par des lettres différentes sont significativement différentes (P ≤0,05).

5. Teneurs en malondialdéhyde

Au niveau foliaire, la teneur en MDA augmente fortement sous l'effet du cuivre. Cette augmentation atteint 214% chez *Salvia officinalis* (fig. 8a) et 220% chez *Mentha suaveolens* par rapport au témoin (fig. 8b). En revanche, le traitement foliaire avec l'AS entraine une forte diminution des teneurs en MDA. Ces diminutions sont plus prononcées sous l'effet de la concentration 0,5 mM puisqu'elles atteignent 56% et 64%, respectivement chez *Salvia officinalis* et *Mentha suaveolens* par rapport aux plantes stressées.

Au niveau des parties racinaires, on assiste au même phénomène puisque les teneurs en MDA augmentent fortement en présence du cuivre dans le milieu de croissance. Cette augmentation est estimée avec 262% chez *Salvia officinalis* et 885% chez *Mentha suaveolens* par rapport au témoin. Cependant, l'application foliaire de l'AS entraine une diminution de 75% chez *Salvia officinalis* et 61% chez *Mentha suaveolens* par rapport aux plantes stressées.

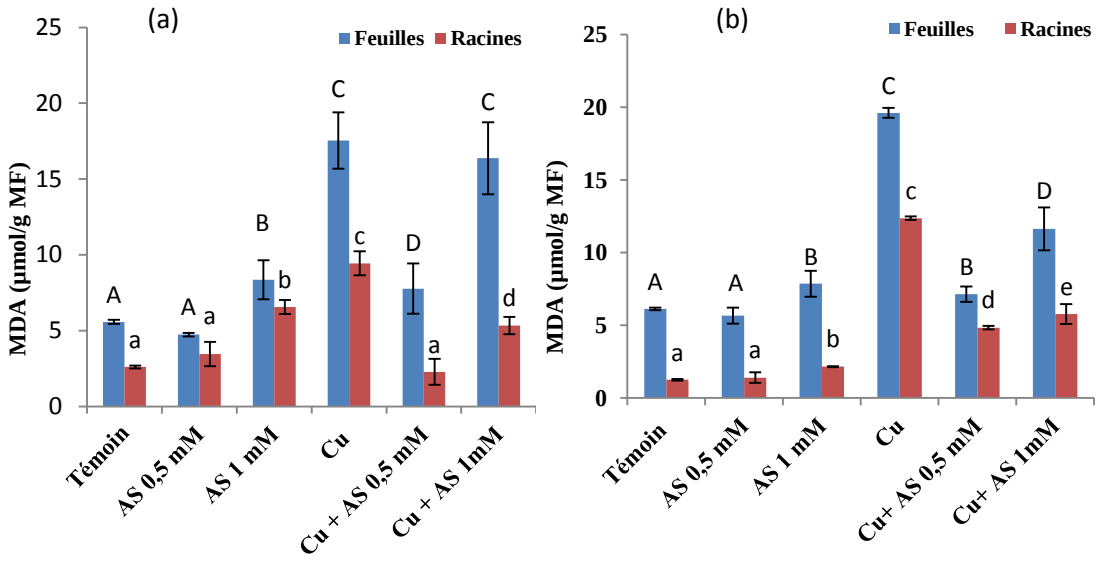

Figure 8 : Influence du stress cuivrique et de l'AS sur les teneurs en MDA (µmol/g MF) chez *Salvia officinalis* (a) et chez *Mentha suaveolens* (b). Les valeurs indiquées par des lettres différentes sont significativement différentes (P ≤0,05).

6. Teneurs en composés phénoliques totaux

Dans les deux plantes étudiées, les teneurs en composés phénoliques augmentent fortement au niveau foliaire et racinaire en présence de cuivre. Au niveau foliaire, ces augmentations sont estimées à 102% chez *Salvia officinalis* (fig. 9a) et 183% chez *Mentha suaveolens* par rapport au témoin (fig. 9b). En revanche, la pulvérisation de ces plantes stressées avec AS diminue les teneurs en composés phénoliques chez les deux plantes principalement à 0,5 mM. Ces diminutions atteignent 24% chez *Salvia officinalis* 68% chez *Mentha suaveolens* par rapport aux plantes stressées.

Dans les parties racinaires nous assistons à une forte accumulation des composés phénoliques. Cette augmentation est estimée avec 72 % chez *Salvia officinalis* et 422 % chez *Mentha suaveolens* par rapport au témoin.

Cependant, le traitement foliaire avec l'AS diminue fortement ces teneurs principalement lorsqu'on applique l'AS à 0,5 mM. Ces diminutions atteignent 67 % chez *Salvia officinalis* et 89% chez *Mentha suaveolens* par rapport aux plantes stressées.

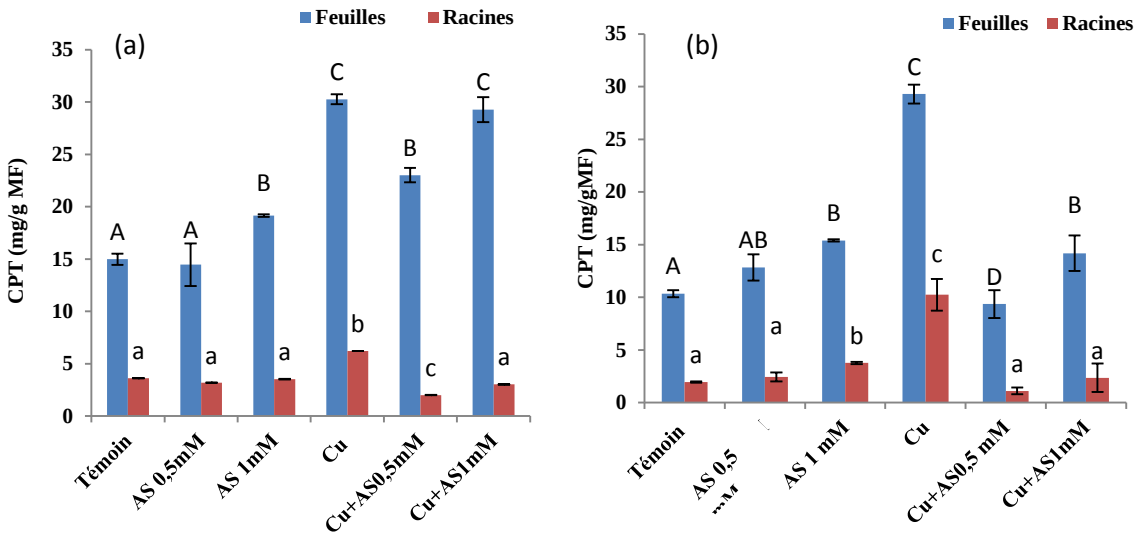

Figure 9 : Influence du stress cuivrique et de l'AS sur les teneurs en composés phénoliques (CPT) (mg/g MF) chez *Salvia officinalis* (a) et chez *Mentha suaveolens* (b). Les valeurs indiquées par des lettres différentes sont significativement différentes (P ≤0,05).

7. Teneur en tanins condensés

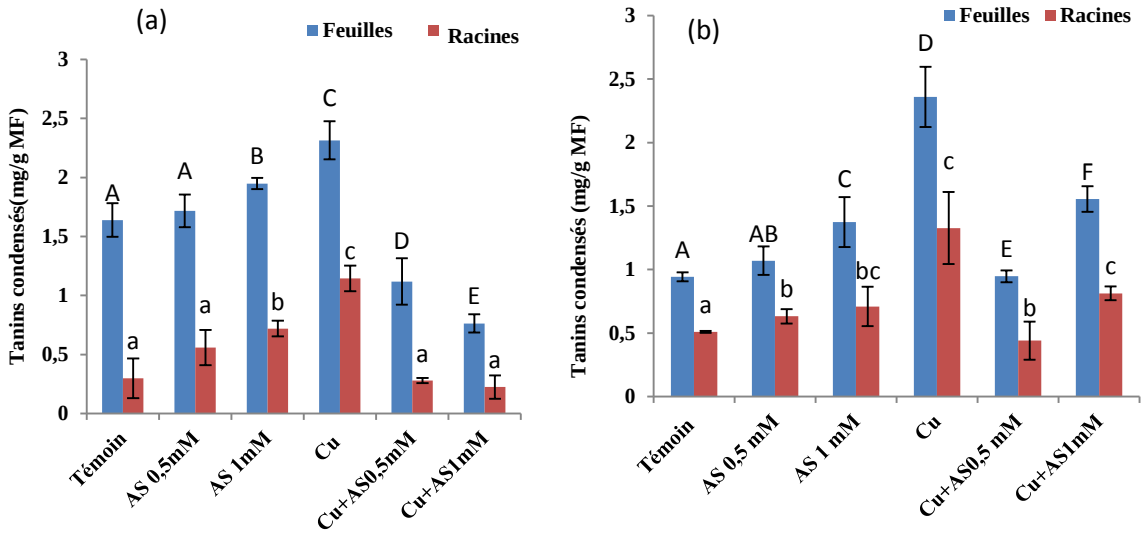

Figure 10 : Influence du stress cuivrique et de l'AS sur les teneurs en tanins condensés (mg/g MF) chez *Salvia officinalis* (a) et chez *Mentha suaveolens* (b). Les valeurs indiquées par des lettres différentes sont significativement différentes (P ≤0,05).

Les tanins condensés sont également influencés avec le stress cuivrique. Ces teneurs augmentent fortement aussi bien au niveau foliaire que racinaire chez *Salvia officinalis* (fig.10a) et *Mentha suaveolens* (fig.10b). Dans les feuilles, on assiste à une augmentation par rapport au témoin de 41% chez *Salvia officinalis* et de 150% chez *Mentha suaveolens*. Par contre, après application foliaire de l'AS principalement à 0,5 mM, on constate une diminution de ces teneurs estimées à 51,5% chez *Salvia officinalis* et 60% chez *Mentha suaveolens* par rapport aux plantes stressées.

Dans les parties radiculaires, les teneurs en tanins condensés subissent les mêmes variations que les parties aériennes chez les deux espèces. Le cuivre augmente les teneurs en tanin condensé avec 239% chez *Salvia officinalis* et 160 % chez *Mentha suaveolens* par rapport au témoin. Le traitement avec l'AS diminue les teneurs en tanin condensé dans les parties racinaires. Cette diminution est plus importante lorsque le traitement est effectué avec la concentration 0,5 mM.

II. Influence de l'acide salicylique sur le rendement et la composition des huiles essentielles chez *Salvia offcinalis* et *Mentha suaveolens* cultivées sous stress cuivrique

1. Chez *Salvia offcinalis*

Chez *Salvia offcinalis,* les différents traitements appliqués aux plantes entraînent une augmentation du rendement en huiles essentielles (tableau 3). En absence de stress cuivrique, la pulvérisation foliaire de l'AS entraine une amélioration du rendement et cette amélioration est d'autant plus importante que la concentration d'AS est plus élevée. Le rendement peut atteindre 1,8% quand l'AS est appliqué à 1 mM montrant une amélioration de 50% par rapport au témoin.

En outre, la présence de cuivre dans le sol entraîne également une augmentation importante du rendement en huile essentielle qui peut atteindre 1,4% montrant une amélioration de 17% par rapport au témoin (1,2%).

Par ailleurs, la pulvérisation foliaire de l'AS sur des plantes ayant subi un stress cuivrique montre d'une part que le rendement en huile essentielle augmente, d'autre part que cette augmentation est très importante aux faibles concentrations d'AS (0,5 mM). Ce rendement peut atteindre 2,8% montrant une amélioration de 133% par rapport au contrôle.

Les composés des huiles essentielles de *Salvia officinalis* identifiés sont énumérés dans le tableau 3. Quatre catégories de molécules sont identifiées, qui sont principalement des monoterpènes hydrocarbonés et oxygénés ainsi les sesquiterpènes hydrocarbonés et oxygénés, avec des pourcentages différents en fonction des traitements. Les monoterpènes oxygénés représentent la famille principale quel que soit le traitement. Les trois principaux composés de cette huile sont le 1,8-cinéole, l'α-thujone et le camphor, avec un équilibre de disparition et d'apparition de certaines molécules et la modification du contenu de molécules préexistantes.

Le stress cuivrique entraîne une réduction de 19% du contenu en monoterpènes oxygénés par rapport au témoin. Cette diminution est principalement due à la diminution des teneurs en composés majoritaire, le 1,8-cinéole, qui varie de 14,92% à 13,30%, le camphor de 26,4% à 21,7% et l'α-thujone de 27,5% à 19,25%. De plus, cet élément métallique (Cu) influence positivement la teneur en

sesquiterpènes (hydrocarbonés et oxygénés) et en monoterpènes hydrocarbonés, en augmentant de près de 92% la teneur en sesquiterpènes hydrocarbonés, de 134% les sesquiterpènes oxygénés et de 26% les monoterpènes hydrocarbonés par rapport au témoin.

Cependant, dans les plantes stressées, l'AS permet de récupérer les niveaux de monoterpènes oxygénés jusqu'à leurs valeurs normales obtenues pour le témoin. Il y a une augmentation de 20% pour la concentration de 0,5 mM et de 15,7% pour la concentration de 1 mM par rapport aux plantes stressées non traitées avec de l'AS. Sous contrainte de cuivre, on observe également une augmentation des teneurs en monoterpénes hydrocarbonées passant de 14,7% du témoin à 16,95% chez les plantes traitées avec l'AS (1mM), avec apparition de nouveaux composés tels que le pseudolimonène, le 3-carène et le 2-carène.

Nous notons que les teneurs en sesquiterpènes hydrocarbonés et oxygénés augmentent également dans les plantes traitées avec l'AS, les premiers passant de 2,03% pour le contrôle à plus de 5%, les seconds passant de 1,94% dans le contrôle à 6,30% dans les plantes traitées à l'AS à 1 mM.

Tableau 3 : : Influence de l'AS et du stress cuivrique sur le rendement et la composition des huiles essentielles chez *Salvia officinalis.* Les valeurs indiquées par des lettres différentes sont significativement différentes (P ≤0,05).

	Témoins	AS 0,5 mM	AS 1mM	Cu	Cu+AS 0,5 mM	Cu+AS 1mM
Rendement (%)	1,2±0,01a	1,5±0,01b	1,8± 0,1c	1,4±0,01d	2,8± 0,08e	1,7±0,05 f
Composés	**Surface de pic (%)**					
Monoterpènes hydrocarbonés						
Tricyclene	0,21	0,24	0,26	0,23	0,24	0,24
α-Pinene	nd	7,44	2,00	7,14	nd	nd
αFenchene	nd	nd	nd	nd	nd	0,36
Cyclofenchene	nd	tr	nd	nd	0,38	nd
β-Terpinene	6,43	nd	nd	4,64	Nd	nd
Camphene	4,30	4,62	5,30	4,73	4,86	4,47
β-Pinene	1,85	2,24	nd	nd	nd	nd
Myrcene	1,02	1,11	1,20	1,08	1,10	1,12
α-Terpinene	0,12	nd	nd	nd	nd	nd
Terpinolene	0,25	0,36	0,41	0,37	0,17	0,16
α-ocimene	0,10	nd	nd	nd	nd	Nd
β-ocimene	0,17	0,11	nd	0,10	0,15	0,12
γ-Terpinene	nd	nd	0,31	0,27	0,30	Nd
2-carene	nd	0,15	0,12	nd	0,38	0,45
3-carene	nd	nd	nd	nd	2,18	2,20
Cis-Sabinene Hydrate	0,21	nd	nd	nd	0,16	0,16
Pseudolimonene	nd	nd	8,30	nd	7,03	7,23
Somme (%)	**14,66**	**16,27**	**17,90**	**18,56**	**16,95**	**16,51**
Monoterpènes oxygénées						
1,8-Cineole	**14,92**	**15,06**	**15,57**	**13,30**	**16,48**	**13,91**
Thujanol	0,10	nd	nd	nd	nd	0,47
β- Terpineol	0,12	nd	nd	0,15	nd	tr
β – Thujone	2,90	3,42	3,50	2,78	3,04	3,30
α – Thujone	**27,43**	**22,22**	**21,11**	**19,25**	**22,08**	**20,59**
Camphor	**26,41**	**27,44**	**27,81**	**21,71**	**26,18**	**26,37**
Thujol	0,64	nd	0,45	nd	0,46	nd
Endo-borneol	0,52	1,47	2,63	2,68	1,55	2,68
Bornyl acetate	1,80	nd	0,90	nd	1,01	1,15
Terpinen-4-ol	0,77	nd	0,80	0,66	0,75	0,91
L-α-terpineol	nd	0,40	0,66	0,15	0,38	0,40
Estragol	0,39	1,62	0,91	0,60	0,68	0,65
Pulegone	nd	0,10	0,10	nd	0,15	0,29
Somme (%)	**76**	**71,73**	**74,44**	**61,28**	**73,51**	**70,90**
Sesquiterpènes hydrocarbonés						
Cariophyllene	1,11	1,82	1,4	1,87	1,91	2,52
Humulene	0,92	1,57	1,6	1,76	1,88	2,66
γ-Muurolene	nd	0,14	0,10	0,15	1,16	0,15
γ- Cadinene	nd	0,13	nd	0,13	nd	nd
δ-Cadinene	nd	nd	nd	Nd	0,13	0,18
Germacrene-D	tr	nd	0,12	Nd	nd	0,18
Somme (%)	**2,03**	**3,66**	**3,1**	**3,91**	**5,08**	**5,51**
Sesquiterpènes oxygénés						
Sabinol isovalerate	0,31	nd	0,17	Nd	0,20	0,19
Caryophyllene oxide	0,98	0,79	0,72	0,85	0,68	0,92
Humulene epoxide II	0,65	0,78	0,75	0,73	0,68	0,98
Viridiflorol	nd	2,81	2,70	2,97	2,62	4,21
Somme (%)	**1,94**	**4,38**	**4,34**	**4,55**	**4,18**	**6,30**
Total (%)	**94,63**	**96,04**	**99,78**	**88,30**	**99,72**	**99,22**

2. Chez *Mentha suaveolens*

En absence de stress métallique, la pulvérisation foliaire de l'AS améliore le rendement en huile essentielle de *Mentha suaveolens* (tableau 4). Cette amélioration est d'autant plus importante que la concentration d'AS est plus élevée. Le rendement peut atteindre (0,74%) en présence de l'AS à 1 mM montrant une amélioration de 61% par rapport au témoin. Par ailleurs, contrairement à *Salvia officinalis*, la présence de cuivre dans le sol entraîne une diminution du rendement en huile essentielle pouvant atteindre presque 54 % par rapport au témoin. Par contre, dans ces conditions de stress cuivrique, la pulvérisation foliaire de l'AS a pour effet d'augmenter le rendement et on constate que la concentration de 0,5 mM est plus efficace puisque le rendement peut atteindre 1,43% montrant une amélioration de 210,86% par rapport au contrôle.

Quatre catégories de molécules sont identifiées dans le tableau 4 qui sont principalement les monoterpènes oxygénés qui représentent la famille principale quel que soit le traitement, les monoterpènes hydrocarbonés, les sesquiterpènes hydrocarbonés et les sesquiterpènes oxygénés. Les quatre principaux composés de cette huile sont 1,8-cinéole, thujanone, camphor et Pulegone. On assiste également à un équilibre d'apparition et de disparition de certaines molécules et la modification de la teneur de molécules préexistantes selon les conditions de culture. Ainsi, le stress cuivrique entraine diminution de près de 19,23% des teneurs en monoterpènes oxygénés. Il entraine également une diminution des teneurs en composés majoritaires, le 1,8-cinéole qui varie de 8,92 à 5,96 %, le thujanone de 7 à 5,73 %, le Pulegone de 10,32 à 4,32% et le camphor de 10,06 à 5,58%. Par ailleurs, la pulvérisation de l'AS sur ces plantes stressées entraine une augmentation très importante des monoterpènes oxygénés qui peut atteindre 67% par rapport au témoin quand l'AS est appliqué à 0,5 mM. Dans ces conditions, ce phénomène est dû à l'augmentation des composés majeurs qui montrent les teneurs les plus élevées par rapport à tous les traitements. Le 1,8-cinéole passe de 8,92 à 14 %, le thujanone de 7 à 14,62 et le Pulegone de 10,32 à 16,11% et le camphor de 10,06 à 17,05%.

Notons que dans les conditions de non stress, on assiste à une amélioration du rendement et de la composition chimique des huiles essentielles sous l'effet de l'AS. A 0,5 mM, cette concentration entraine une augmentation de 148,76% des teneurs en sesquiterpènes hydrocarbonés, et de 62,56% des teneurs en monoterpènes oxygénés. Cette dernière est due à l'augmentation des composés majoritaires, le 1,8-cinéole qui passe de 8,92 à 11,87%, le thujanone de 7 à 9,03, le camphor de 10,06 à 16,44 et le Pulegone de 10,32 à 15,11%.

Tableau 4 : : Influence de l'AS et du stress cuivrique sur le rendement et la composition des huiles essentielles chez *Mentha suaveolens*. Les valeurs indiquées par des lettres différentes sont significativement différentes (P ≤0,05).

	Control	AS 0,5 mM	AS 1mM	Cu	Cu+AS 0,5 mM	Cu + AS1mM
Rendement (%)	0,46	0,54	0,74	0,21	1,43	0,45
Composés	**Surface de pic (%)**					
Monoterpènes hydrocarbonés						
α-Pinene	0,88	0,5	0,47	0,39	0,47	0,26
β-Terpinene	nd	0,7	0,85	0,56	0,8	0,75
Limonene	2,28	2,81	1,38	1,59	1,45	1,49
α-Terpinene	1,2	0,23	1,5	0,2	2,2	1,2
Terpinolene	0,3	0,73	0,5	nd	0,9	0,6
γ-Terpinene	0,3	0,52	0,3	0,1	0,3	0,3
3-carene	1,34	1,63	1,4	1,87	nd	1,94
Somme (%)	**6,3**	**7,12**	**6,4**	**4,71**	**6,12**	**6,54**
Monoterpènes oxygénées						
1,8-Cineole	**8,92**	**11,87**	**10,06**	**5,96**	**14**	**11,4**
Thujanone	**7**	**9,03**	**8,89**	**5,73**	**14,62**	**12**
Thujanol	2,1	5,5	5,6	3,09	4,09	6,09
Terpineol	6,09	6,9	6,99	4,13	5,9	4,62
Thujone	0,6	3,42	3,4	2	2,4	2,57
Menthol	2,32	7,22	4,74	3,94	4,38	8,94
Menthone	2,23	5,22	6,64	3,94	4,38	1,94
Camphor	**10,06**	**16,44**	**15**	**5,58**	**17,05**	**15**
Bornyl acetate	0,23	0,57	0,55	0,46	0,87	0,83
Terpinen-4-ol	0,18	0,82	0,33	0,82	0,72	0,82
L-α-terpineol	0,34	0,4	0,8	0,32	0,47	0,85
Myrtenol	0,16	0,6	0,56	0,3	0,36	0.26
Estragol	0,82	0,41	0,4	0,9	0,56	0,94
Pulegone	**10,32**	**15,11**	**12,18**	**4,32**	**16,11**	**13,47**
Somme (%)	**51,37**	**83,51**	**76,14**	**41,49**	**85,91**	**79,47**
Sesquiterpènes hydrocarbonés						
Sabinene hydrate	0,6	0,66	0,29	0,13	0,5	1
Cariophyllene	0,34	0,59	0,94	0,87	0,7	0,28
Humulene	0,39	0,34	1,29	0,4	0,78	0,79
γ-Muurolene	0,34	0,73	0,75	0,98	0,69	0,79
Cadinene	0,4	0,82	0,4	0,2	0,62	0,94
β –Longipinene	0,2	0,25	0,56	0,32	0,24	0,2
Germacrene-D	0,56	2,65	3,76	0,36	0,23	0,6
Somme (%)	**2,83**	**6,04**	**7,99**	**3,26**	**3,76**	**4,6**
Sesquiterpènes oxygénés						
Geranyl isovalerate	0,23	0,74	0, 94	0,18	0,94	0,22
Sabinol isovalerate	0,34	0,93	0,21	0,11	0, 59	0,39
Caryophyllene oxide	0,34	0, 3	0,12	0,1	0,56	0,39
Humulene epoxide II	0,28	0,42	0,4	0,19	0,56	0,94
Viridiflorol	0,64	nd	0,6	0,5	0,56	0,56
Cadinol	0,22	0,42	0,56	0,44	0,28	0-,4
Caryophylladienol II	0,69	nd	0,56	0,6	0,6	0,6
Somme (%)	**2,74**	**1,58**	**2,45**	**2,12**	**3,5**	**3,1**
Total (%)	**63,24**	**99,48**	**92,98**	**51,58**	**99,29**	**93,71**

Discussion

Le stress cuivrique peut avoir des effets néfastes sur la croissance et la productivité des plantes. Notre étude montre que le stress cuivrique réduit la croissance des pousses et des racines, ce qui confirme les résultats montrés sur d'autres plantes (Al-Hakimi et Hamada 2011 ; Barbosa *et al.,* 2013). Cette inhibition de la croissance peut être attribuée à la toxicité du Cu sur divers processus tels que la respiration et la photosynthèse (Yruela 2005). Dans ce sens, notre étude montre que l'application de Cu dans le milieu de croissance augmente considérablement les concentrations de Cu dans les diverses parties des plantes de *Salvia offcinalis* et *Mentha suaveolens*. Le cuivre s'accumule beaucoup plus dans les racines que dans les feuilles. Krzesłowska (2011) a soutenu que l'apoplaste racinaire est un compartiment majeur d'accumulation des métaux dans les plantes. Cette augmentation de la teneur en Cu s'accompagne d'une diminution des teneurs en K^+, P et Ca^{2+}. En effet, la toxicité du Cu entraîne une diminution de l'absorption et de l'accumulation de nutriments minéraux indispensables à la croissance des plantes (El-Metwally *et al.,* 2010 ; Adrees *et al.,* 2015). Panou-Filotheou *et al.,* (2001) ont observé une réduction de la masse racinaire due à la toxicité du Cu en raison d'une absorption limitée des nutriments et d'eau par la plante. D'autres auteurs ont montré qu'un excès de Cu à l'intérieur des tissus végétaux inhibe l'expansion des cellules radiculaires (Wehr *et al.,* 2004). Par ailleurs, une translocation efficace du Cu vers les feuilles en dommage la synthèse des pigments chlorophylliens et par conséquent, entraîne une réduction de la croissance. Ainsi, nous avons montré dans notre étude une diminution des teneurs en chlorophylles chez les plantes traitées avec le cuivre. Mei *et al*., (2015) ont signalé que la diminution des teneurs en chlorophylle peut être liée à l'inhibition des enzymes régulateurs de la biosynthèse de la chlorophylle comme la δ- acide aminolévulinique déshydratase et la proto-chlorophyllide réductase ou à l'inhibition de l'absorption minérale essentielle à la biosynthèse de la chlorophylle comme Mg^{2+}. De plus, les concentrations excessives de Cu perturbe l'ultra structure des chloroplastes et des pigments photosynthétiques, entraînant une diminution de l'efficacité d'assimilation du carbone. Dans ce contexte, Ahmed *et al.,* (2018) ont montré que les activités de RuBisCo et Anhydrase carbonique, ont été considérablement réduites en raison de l'application de Cd dans le sol.

En outre, un transport excessif des ions de Cu dans les tissus végétaux peut accélérer la production des ERO (Drazkiewicz *et al.,* 2004) et par la suite endommager les cellules et les organites cellulaires (Wang *et al.,* 2004). Le Cu, en tant que l'un des métaux redox-actifs qui catalyse la réaction de Fenton, peut accélérer la génération de radicaux OH• très dommageables à partir d'O_2 et de H_2O_2 (Avery 2001).

Baryla *et al.,* (2000) ont démontré que la peroxydation lipidique des membranes pouvait être utilisée comme test biologique de toxicité pour les plantes, car elle est très sensible au Cu. Dans la présente étude, la production de ERO induite par le Cu (H_2O_2) a provoqué directement des lésions de la membrane lipidique dans les tissus des plantes étudiées confirmée par des niveaux élevés de MDA.

Concernant la synthèse des composés phénoliques et les tanins condensés, le stress cuivrique engendre une forte accumulation de ces deux métabolites secondaires dans la plante avec une forte accumulation au niveau foliaire. A des concentrations élevées, les métaux stimulent la synthèse de ces molécules pour lutter contre les effets néfastes des métaux lourds suite à l'augmentation d'activités de certains enzymes impliqués dans la synthèse de ces composés. Michalak (2006) et Lavid et *al.,* (2001) ont indiqué que les tanins condensés jouent un rôle important dans la lutte contre les stress métalliques grâce à leurs activité antioxydante contre le stress, en particulier oxydatif.

Le stress cuivrique augmente le rendement en huile essentielle chez *Salvia offcinalis*, confirmant les résultats d'Abu-Darwish (2009) sur *Salvia offfcinalis* et ceux de Zheljazkov et Warman (2006) sur le basilic. La stimulation de la production des huiles essentielles sous stress en Cu pourrait être due au fait que les plantes produisent des concentrations élevées de terpènes dans des conditions de stress environnemental en raison d'une faible allocation de carbone à la croissance, suggérant un échange entre croissance et défense (Turtola *et al.,* 2003). Par contre chez *Mentha suaveolens,* nous constatons une diminution des teneurs en huiles essentielles sous l'effet de stress cuivrique. Des travaux ont également montré une diminution sous l'effet de cuivre chez des espèces de Mentha (Zheljazkov et Warman2006).

Nous avons observé d'autre part de nombreuses variations qualitatives et quantitatives concernant la composition chimique des huiles essentielles selon les traitements. Ces modifications se traduisent par l'apparition ou la disparition de certains composés et des modifications du contenu de composés préexistants. Chez *Salvia officinalis,* nos résultats montrent que le stress cuivrique diminue les teneurs en composé majoritaire qui sont le 1,8-cinéole, l'α-thujone et le camphor. Le stress du cuivre entraîne une réduction du contenu en monoterpènes oxygénés par rapport au témoin. De plus, cet élément métallique (Cu) influence positivement la teneur en sesquiterpènes (hydrocarbonés et oxygénés) et en monoterpènes hydrocarbonés. Stancheva *et al.,* (2014) ont rapporté que les métaux lourds induit une diminution des teneurs en composés majoritaires des huiles essentielles de *Salvia officinalis,* ce qui

indique une détérioration de la qualité de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* sous le stress cuivrique. Chez *Mentha suaveolens* le stress cuivrique diminue également le contenu des composés majoritaires, le 1,8-cinéole, le thujanone, le camphor et le Pulegone.

La pulvérisation de l'AS sur ces deux plantes améliore la croissance de ces deux plantes étudiées. Nos résultats montrent que la pulvérisation de l'AS sur les plantes stressées augmente la croissance aérienne et racinaire avec une croissance maximale enregistrée chez les plantes traitées avec une faible concentration (0,5 mM). Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus sur *Oryza sativa* L. (Mostofa et Fujita 2013) et sur *Phaseolus vulgaris* (Zengin 2014). Hashmi *et al.,* (2012) ont montré que l'augmentation de la croissance végétative par la pulvérisation foliaire d'AS peut être liée à la stimulation de la synthèse de l'AIA et des gibbérellines. De plus, selon El-Tayeb (2005), l'AS induit la synthèse de protéine kinase qui peut jouer un rôle important dans la régulation de la différenciation, de la division cellulaire et de la morphogenèse. En outre, l'AS améliore la croissance des tiges et des racines grâce à une meilleure assimilation des nutriments (Hashmi *et al.,* 2012). L'amélioration de la croissance chez les deux plantes étudiées peut donc être liée à la diminution des teneurs de cuivre dans les feuilles et les racines avec l'amélioration de l'assimilation des nutriments Ca^{2+}, k et P. Le meilleur résultat est obtenu lorsque l'AS est appliqué à 0,5 mM. Ces résultats sont en accord avec ceux de Mei *et al.,* (2015) sur le coton. Mostofa et Fujita (2013) ont suggéré que le mécanisme de tolérance induit par l'AS est associé à l'exclusion du Cu ou à une absorption limitée de ce métal. Cette diminution de la concentration de Cu induite par l'AS s'accompagne d'une amélioration des teneurs en éléments minéraux, ce qui est en accord avec les résultats de Gunes *et al.,* (2005). Dans notre étude, l'inhibition médiée par l'AS du processus ascendant de Cu pourrait être considérée comme l'un des effets physiologiques potentiels de l'AS sur les plantes de *Salvia officinalis* et *Mentha suaveolens*. Selon Ahmad *et al.,* (2017), l'absorption accrue de minéraux nutritifs pourrait être due à l'activité H^{+-} ATPase induite par l'AS. Sous stress cuivrique, la concentration de 0,5 mM montre également la teneur en chlorophylle la plus élevée. Des auteurs montrent l'effet positif de l'AS sur la photosynthèse en présence de stress métallique en améliorant l'activité de RuBisCo et anhydrase carbonique (Ahmed *et al.,* 2018) et sur la conductance stomatique ce qui améliore l'activité photosynthétique. L'augmentation des teneurs en pigments est liée également à l'amélioration de la nutrition des plantes.

Cette étude fournit également des preuves que le stress oxydatif induit par le Cu est efficacement atténué par la pulvérisation foliaire avec l'AS de *Salvia officinalis* et *Mentha suaveolens* principalement aux faibles concentrations (0,5 mM). Nous avons montré que le traitement avec l'AS sous stress Cu

présente des teneurs faibles en H_2O_2 et en MDA. Le faible niveau observé des teneurs en MDA dans les plantes traitées avec l'AS indique le rôle protecteur de l'AS pour diminuer la peroxydation des organites cellulaires. Ces résultats sont en accord avec ceux de Kawano et Muto (2000) et El tayeb *et al.,* (2006) qui ont également rapporté que la génération de OH• par réaction de type Fenton est abaissée

par l'AS en présence de stress cuivrique. Il est suggéré que l'AS pourrait chélater les métaux de transition, réduisant ainsi la formation d'OH• et / ou pourrait agir directement comme un piégeur d'OH•. Mei *et al.,* (2015) ont montré que le traitement avec l'AS des plantes de coton entraine une amélioration dans les activités des enzymes antioxydants tel que le SOD, POD et GR.

Nos résultats montrent que l'application de l'AS sous contrainte de Cu entraine une réduction de l'accumulation de la proline dans la tige et les racines, ce qui montre l'effet positif de l'AS sur le statut hydrique de la plante. Ces résultats sont en accord avec les travaux de El tayeb *et al.,* (2006) et Mostofa and Fujita (2013). Des travaux montrent l'effet positif de l'AS sur la transpiration, l'utilisation de l'eau et la conductance des stomates (Fariduddin *et al.,* 2003 ; Khan 2003 et Kumar *et al.,* 2000).

Chez les deux plantes étudiées, nos résultats montrent que la pulvérisation de l'AS (principalement à 0,5 mM) en présence de stress cuivrique augmente également le rendement des huiles essentielles. Des auteurs ont également liée l'effet positif de l'AS sur le rendement des huiles essentielles à l'augmentation de nombre de glandes peltées (Idrees *et al.,*2010, Rowshan *et al.,* 2010 ; Khanam et Mohammad 2018). Des auteurs ont montré l'effet positif de l'AS sur les enzymes responsables de la synthèse des terpènes et sur l'activité des PAL (phénylalanine amonia lyase : enzyme clé dans la voie de la synthèse des huiles essentielles) (Idrees *et al.,* 2010 ; Rowshan *et al.,* 2010 ; Hashimi *et al.,* 2012). Dans ce sens, nous notons une variation positive dans la composition des huiles essentielles. Nous remarquons que l'AS entraine une amélioration des teneurs des composés majoritaires, les meilleures concentrations sont obtenus sous l'effet de 0,5 mM. En effet, la concentration de 0,5 mM permet de modifier la qualité des huiles essentielles puisque nous notons une augmentation des teneurs de toutes les familles constitutives de l'huile essentielle des plantes étudiées. Pirbalouti *et al.,* (2014) ont indiqué que l'application foliaire de l'AS réduisait l'effet du stress dû au déficit hydrique sur la quantité du composé majoritaire de l'huile essentielle de *Thymus daenensis* en augmentant les concentrations de carvacrol, d'α-thujone, d'α-pinène et de p-cymène. Ces mêmes auteurs ont ajouté que l'AS peut convertir le thymol en son isomère (carvacrol) et jouerait un rôle important de signalisation dans l'activation de diverses réponses de défense des plantes, comme la biosynthèse de métabolites secondaires spéciaux, qui jouent le rôle de phytoalexines dans les plantes (Sirvent et Gibson, 2002).

Chapitre 4 : Influence de l' acide salicylique sur le comportement morphologique et biochimique chez *Salvia offcinalis* et *Mentha suaveolens* cultivées sous stress en Zinc

Introduction

Le zinc est un micronutriment essentiel pour la croissance et la reproduction saine et normale des plantes, des animaux et des humains (Prasad 2012). Chez les plantes, le Zn joue un rôle clé en tant que constituant structurel ou cofacteur régulateur d'un large éventail d'enzymes et de protéines différentes dans de nombreuses voies biochimiques importantes. Ces rôles incluent le métabolisme des glucides (à la fois dans la photosynthèse et dans la conversion des sucres en amidon), le métabolisme des protéines, le métabolisme des auxines (régulateur de croissance), la formation du pollen, le maintien de l'intégrité des membranes biologiques, la résistance à l'infection par certains agents pathogènes (Marschner 1995). La nature des éléments métalliques et leurs concentrations dans le sol ont un fort impact sur la croissance des plantes. Selon leurs concentrations, ces éléments peuvent jouer le rôle bénéfique ou toxique. La toxicité se manifeste par une inhibition de la croissance (Collins 1981), un déséquilibre nutritionnel (Misra *et al.,* 2005) ainsi que par une inactivation des biomolécules par blocage de groupes fonctionnels ou par échange d'ions vitaux (Misra et Sharma 1991). Elle peut également entraîner des variations dans le rendement et la composition des huiles essentielles (Misra et Sharma 1991 ; Zheljazkov et Warman,2003). Macfarlane et Burchett (2002) ont montré que le Zn à 125 µg g^{-1} dans le sol stimule les paramètres de croissance d'*Avicennia marina* alors qu'il devient toxique à partir de 500 µg g^{-1}. D'autre part, les applications exogènes de régulateurs de croissance se sont avérées efficaces pour améliorer la croissance des plantes, la production et le rendement sous stress de Zn. Ainsi, plusieurs études ont montré que l'AS exogène contribue à la régulation des voies métaboliques et physiologiques des plantes cultivées sous métaux lourds tels que le cuivre, le cadmium, le chrome et le plomb sur les plantes (El-Tayeb *et al.,* 2006 et Tamás *et al.,* 2015). Il est donc pertinent d'examiner l'influence de l'AS sur la régulation de divers facteurs physiologiques et activités biochimiques de *Salvia officinalis* et *Mentha suaveolens* cultivées sous stress en Zn.

Dans cette étude, nous avons testé l'effet remédiateur de l'AS contre les effets toxiques du stress en zinc sur la croissance des plantes, l'absorption de minéraux, la densité des glandes sécrétrices, ainsi que sur la teneur et la composition de l'huile essentielle chez *Salvia officinalis* et *Mentha suaveolens*.

I. Influence de l'acide salicylique sur le comportement morphologique et biochimique chez *Salvia officinalis* et *Mentha suaveolens* cultivées sous stress en Zn

1. Croissance des parties aériennes et racinaires

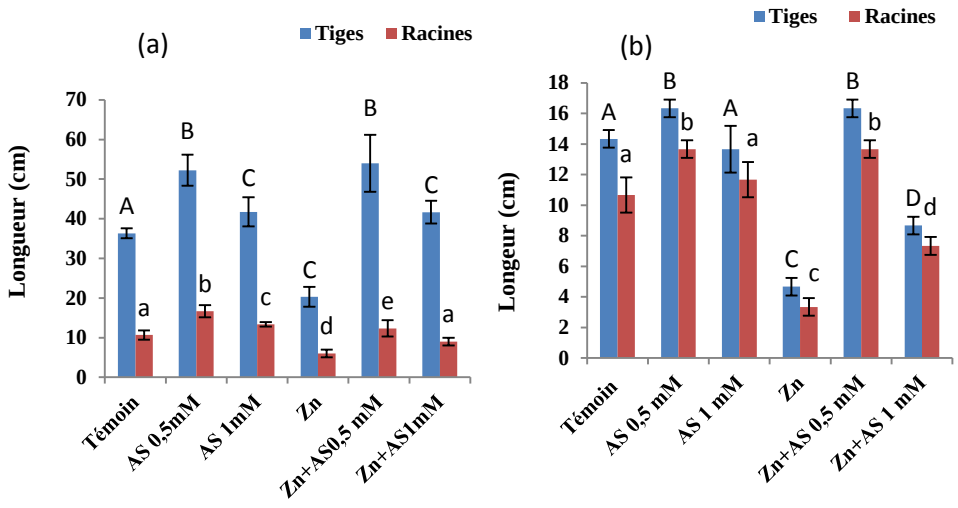

Figure 11 : Influence du stress en zinc et de l'AS sur la longueur des parties aériennes et racinaires de *Salvia offcinalis* (a) et de *Mentha suaveolens* (b). Les valeurs indiquées par des lettres différentes sont significativement différentes (P ≤0,05)

Chez le témoin de *Salvia officinalis,* la croissance normale des parties aérienne et est estimée à 36 cm et 10 cm respectivement (fig. 11a). Ces valeurs sont largement affectées après irrigation de ces cultures avec le Zn qui entraine une chute très importante de la longueur de la plante estimée à environ 44%, 20 cm et 6 cm respectivement pour la tige et pour la racine (fig. 11a). Par contre, la pulvérisation foliaire avec l'AS de ces plantes stressées montre un effet inhibiteur de l'influence néfaste du Zn sur la croissance. Nous constatons une augmentation de la longueur des parties aérienne et racinaire après le traitement des plantes stressées avec l'AS principalement à 0,5 mM. Ces augmentations atteignent environ 165,61% et 105,50% respectivement au niveau aérien et racinaire par rapport aux plantes stressées.

Les mêmes observations peuvent être faites chez les plantes de *Mentha suaveolens* (fig. 11b). L'irrigation de ces plantes avec le Zn inhibe la croissance aussi bien dans la partie aérienne que racinaire. Cependant, la pulvérisation de ces plantes stressées avec l'AS augmente fortement la croissance de ces plantes. Ces augmentations au niveau des tiges et des racines vont respectivement jusqu'aux 250% et 310% sous l'effet de l'AS 0,5 mM par rapport aux plantes stressées.

2. Translocation de Zn et d'autres éléments minéraux (Ca, K et P) chez *Salvia officinalis* et *Mentha suaveolens*

2.1.Chez *Salvia officinalis*

Tableau 5 : Influence de l'AS et du stress en zinc sur les teneurs en éléments minéraux (Zn, P, K, Ca) chez *Salvia officinalis*. Les valeurs indiquées par des lettres différentes sont significativement différentes (P ≤0,05).

		Zn (mglg MS)	Ca (mglg MS)	K (mglg MS)	P (mglg MS)
Feuilles	Témoin	0,48 ± 0,03A	12,56 ± 0,09a	11,41±0,94A*	2,47±0,11a*
	AS (0,5mM)	0,83 ± 0,07B	13,86 ±0,02b	19,27±1,10B*	2,66±0,05a*
	AS (1mM)	0,92 ± 0,01C	13,19±0,41b	15,03±0,37C*	2,47±0,11a*
	Zn	3,31 ± 0,18D	9,74±0,36c	9,41±0,21D*	0,72±0,10b*
	Zn + AS (0,5mM)	0,87 ± 0,01B	15,37±0,12d	28,07±0,29E*	1,67±0,11c*
	Zn + AS (1mM)	1,06 ± 0,05E	12,55±0,21a	26,62±0,17F*	1,68±0,21c*
Racines	Témoin	0,50±0,01a	8,41±0,07A	6,42±0,05a*	1,01±0,01A*
	AS (0,5mM)	0,51±0,00a	16,11±0,10B	12,84±0,02b*	3,85±0,01B*
	AS (1mM)	0,90±0,08b	15,03±0,37C	8,87±0,02c*	1,13±0,01A*
	Zn	6,89±0,66c	6,87±0,19D	4,05±0,04d*	0,54±0,12C*
	Zn + AS (0,5mM)	0,89±0,00b	9,93±0,11E	16,33±0,29e*	0,86±0,12D*
	Zn + AS (1mM)	1,16±0,00d	8,78±0,02F	18,26±0,11f*	0,69±0,10D*

Dans des conditions de stress, le Zn s'accumule de manière significative dans la racine et peut même être transféré vers les feuilles où ses teneurs atteignent des valeurs très élevées (3,31 mgg^{1} MS contre 0,48 mg g^{-1} MS pour le contrôle). Cette accumulation de Zn s'accompagne d'une diminution importante des teneurs en Ca, K et P. Par contre, la pulvérisation foliaire de l'AS entraine une diminution significative des quantités de Zn aussi bien dans les feuilles que dans les racines. Ces diminutions sont plus prononcées à 0,5 mM avec 74% et 87%, respectivement dans les feuilles et dans les racines par rapport aux plantes stressées. A 0,5 mM, l'AS favorise l'augmentation de l'absorption des éléments minéraux dans les deux parties de la plante (feuilles et racines), qui peut atteindre par rapport aux plantes stressées 58% pour Ca, 198% pour K, 131% pour P au niveau des feuilles et 44,54% pour Ca, 303% pour K et 59% pour P au niveau des racines.

2.2.Chez *Mentha suaveolens*

Dans des conditions de stress, le Zn s'accumule de manière significative dans la racine (4,11 mgg^{-1} MS) par rapport le control (0,18 mg g^{-1} MS) et peut même être transféré vers les feuilles où ses teneurs atteignent des valeurs élevées (2,30 mg g^{1} MS) par rapport au control (0,10 mg g^{-1} MS). Cette accumulation de Zn s'accompagne d'une diminution des contenus de Ca, K et P. Par contre, la pulvérisation foliaire de l'AS diminue significativement l'accumulation du Zn dans les feuilles et les racines. Ces diminutions sont plus prononcées à 0,5 mM avec 91,30% et 96,59%, respectivement dans

les feuilles et dans les racines par rapport aux plantes stressées. Cette concentration de l'AS (0,5 mM) favorise l'absorption des éléments minéraux dans les deux parties de la plante (feuilles et racines), qui peut atteindre par rapport aux plantes stressées 109% pour Ca, 40,84% pour K, 144,82% pour P au niveau des feuilles et 161,44% pour Ca, 86,19% pour K et 476,92% pour P au niveau des racines, comparés aux plantes stressées.

Tableau 6 : Influence de l'AS et du stress en zinc sur les teneurs en éléments minéraux (Zn, P, K, Ca) chez *Mentha suaveolens*. Les valeurs indiquées par des lettres différentes sont significativement différentes (P ≤0,05).

		Zn (mg/g MS)	Ca (mg/g MS)	K (mg/g MS)	P (mg/g MS)
Feuilles	Témoin	0,10±0,01	10,15±0,01a*	12,64±0,01A	1,25±0,01A*
	AS (0,5mM)	0,13±0,001	18,54±0,01b*	16,61±0,02B	1,49±0,03A*
	AS (1mM)	0,14±0,01	14,46±0,02c*	12,63±0,01A	1,01±0,01B*
	Zn	2,3±0,10	6,5±0,05d*	9,28±0,05C	`0,58±0,06C*
	Zn +AS (0,5mM)	0,20±0,02	13,59±0,04a*	13,07±0,001D	1,42±0,01A*
	Zn + AS (1 mM)	0,26±0,01	10,67±0,06b*	12,06±0,1A	1,16±0,02*
Racines	Témoin	0,18±0,03a*	13,86±0,02a	12,11±0,1A*	0,47±0,1A
	AS (0,5 mM)	0,19±0,11a*	15,10±0,01b	15,07±0,01 B*	0,65±0,2B
	AS (1 mM)	0,18±0,02a*	14,85±0,03c	10,52±0,06C*	0,97±0,1C
	Zn	4,11±0,01b*	5,94±0,10d	8,33±0,04D*	0,13±0,09D
	Zn + AS (0,5mM)	0,14±0,05c*	15,53±0,05b	15,51±0,10B*	0,75±0,05E
	Zn + AS (1mM)	0,38±0,04d*	11,26±0,03d	10,63±0,12C*	0,74±0,06F

3. Teneurs en chlorophylles

Le Zn appliqué dans le milieu de culture entraine une diminution importante des teneurs en chlorophylle totale dans les feuilles par rapport aux plantes témoins estimées à 52 % chez *Salvia officinalis* (fig. 12a) et 65 % chez *Mentha suaveolens* (fig.12b). Par contre, le traitement foliaire avec l'AS permet de remédier à cette diminution parce qu'on observe une augmentation de la synthèse de la chlorophylle. Cette stimulation est plus prononcée avec l'AS à 0,5 mM. Dans ce cas, on assiste à une augmentation estimée à 599,53% chez *Salvia officinalis* et 546,66% chez *Mentha suaveolens* par rapport aux plantes stressées.

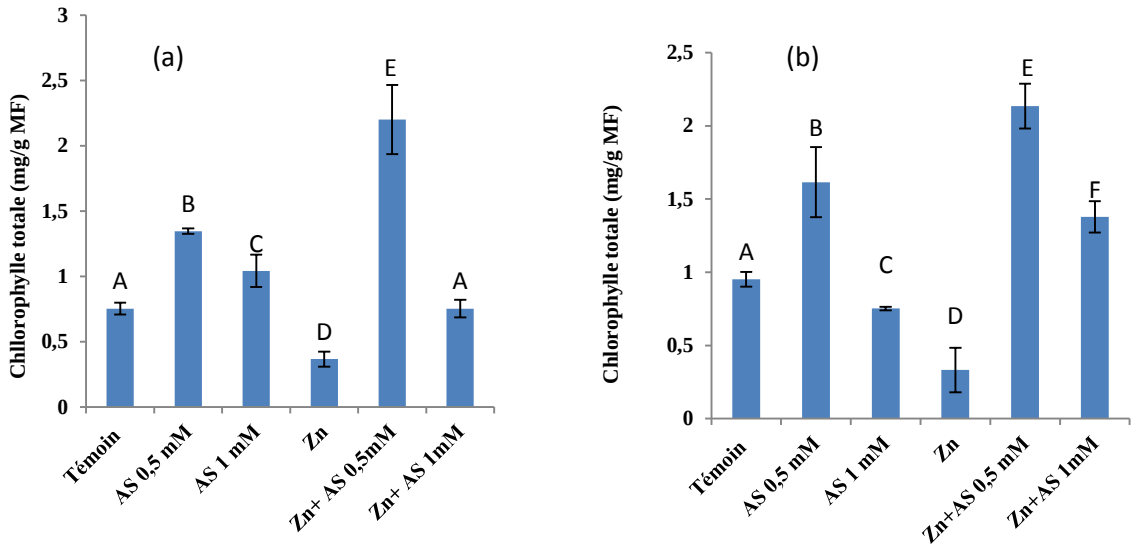

Figure 12 : Influence de l'AS et du stress en zinc sur les teneurs en chlorophylle chez *Salvia officinalis* (a) et chez *Mentha suaveolens* (b). Les valeurs indiquées par des lettres différentes sont significativement différentes (P ≤0,05).

4. Teneurs en peroxyde d'hydrogène

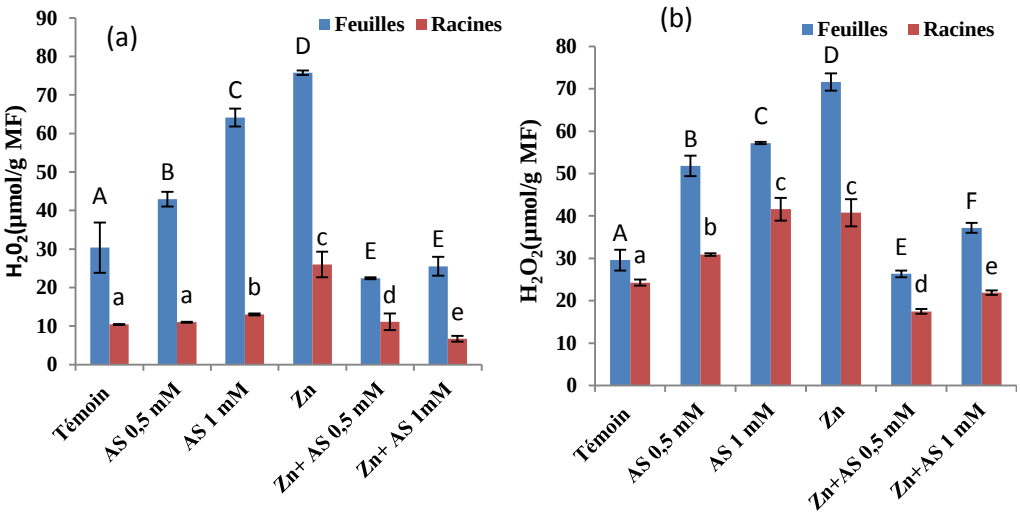

Figure 13 : Influence de l'AS et du stress en zinc sur les teneurs en H_2O_2 (µmol/g MF) chez *Salvia officinalis* (a) et chez *Mentha suaveolens* (b). Les valeurs indiquées par des lettres différentes sont significativement différentes (P ≤0,05).

L'irrigation des plantes avec le Zn entraine une augmentation très importante des teneurs en H_2O_2 au niveau de la plante. Dans les feuilles, on assiste à une augmentation estimée à 149,67% chez *Salvia officinalis* et 142,10% *Mentha suaveolens* par rapport au témoin. En revanche, la pulvérisation foliaire des plantes avec l'AS entraine une baisse de la synthèse de ce radicale libre. Cette diminution est plus prononcée lorsque l'AS est appliqué à 0,5 mM. Dans ces conditions, les teneurs en H_2O_2 diminuent de 70,40% chez *Salvia officinalis* et de 63,22% chez *Mentha suaveolens* par rapport aux plantes stressées.

Les mêmes constatations peuvent être émises au niveau des racines, les teneurs en H_2O_2 augmentent fortement sous l'effet du zinc alors que le traitement avec l'AS diminue fortement ces teneurs. Cette diminution est plus importante à 0,5 mM. Ces diminutions sont estimées à 57,21% et 57,14% respectivement chez *Salvia officinalis* et *Mentha suaveolens* par rapport aux plantes stressées.

5. Teneurs en malondialdéhyde

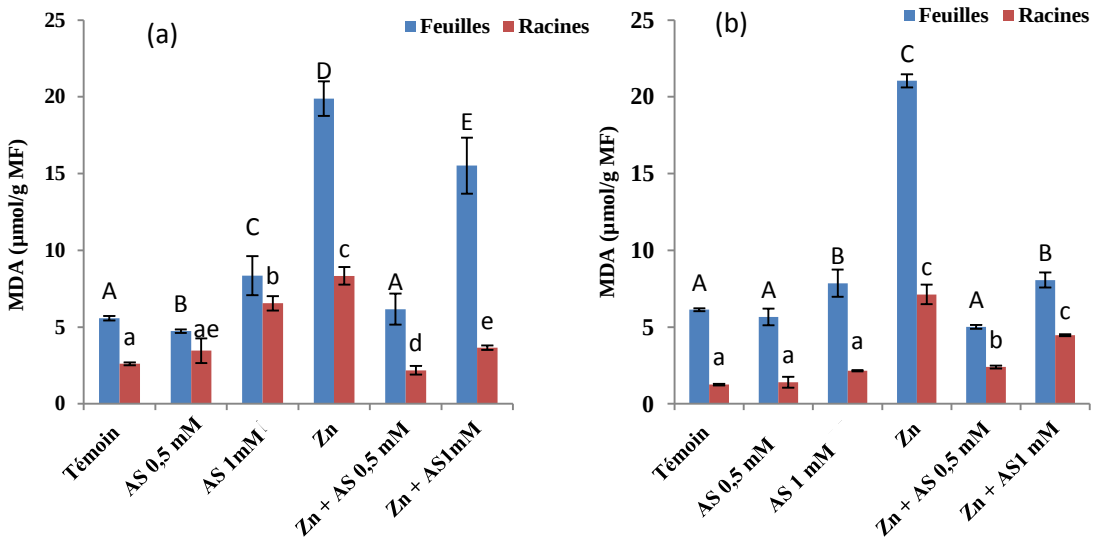

Figure 14 : Influence de l'AS et du stress en zinc sur les teneurs en MDA (µmol/g MF) chez *Salvia officinalis* (a) et chez *Mentha suaveolens* (b). Les valeurs indiquées par des lettres différentes sont significativement différentes (P ≤0,05).

Au niveau foliaire, les teneurs en MDA augmentent sous l'effet de stress en Zn chez les deux plantes testées. Ainsi, on assiste à une augmentation de presque 257% chez *Salvia officinalis* et 243,23 % chez *Mentha suaveolens* rapport aux plantes témoins. Cependant, la pulvérisation foliaire avec l'AS de ces plantes stressées diminue les teneurs en MDA. Cette diminution est plus prononcée lorsque l'AS est appliqué à 0,5 mM. Ces diminutions atteignent 70,41% et 63,22% respectivement chez *Salvia officinalis* et *Mentha suaveolens* par rapport aux plantes stressées. Dans ces conditions, les teneurs en MDA deviennent comparables à celles obtenues chez le témoin.

Au niveau racinaire, on assiste également à une accumulation importante de MDA. Cette accumulation est estimée à 220,38% et 469,6% respectivement chez *Salvia officinalis* et *Mentha suaveolens*. Par contre, le traitement avec l'AS diminue la production de MDA de 73,75% et 66,29 % respectivement chez *Salvia officinalis* et *Mentha suaveolens* par rapport aux plantes stressées. On assiste dans ces conditions à une remédiation de ces teneurs qui redeviennent comparables à celle du témoin.

6. Teneurs en composés phénoliques totaux

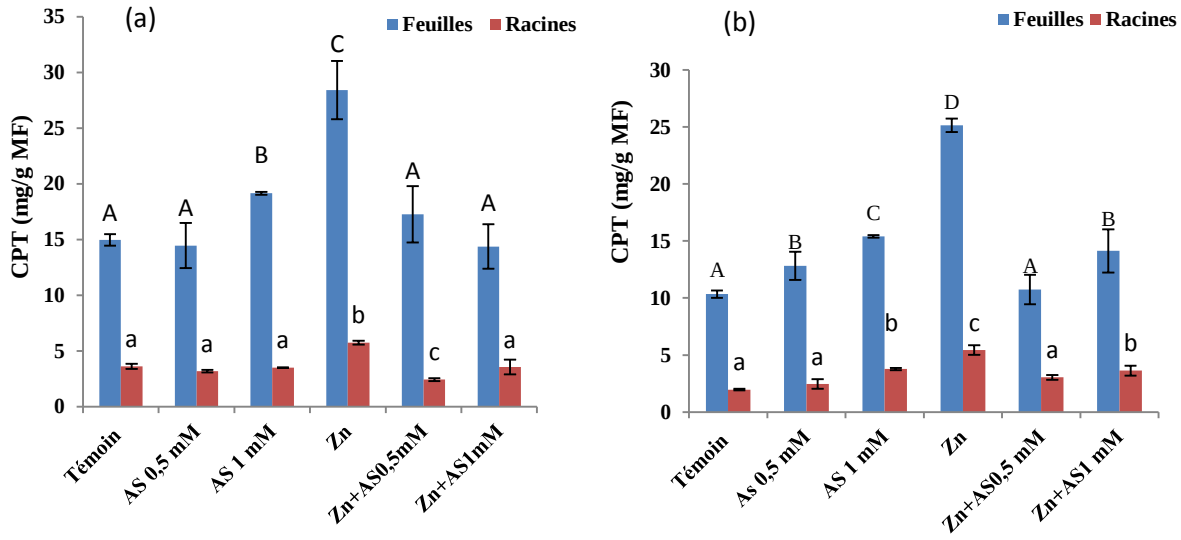

Figure 15 : Influence de l'AS et du stress en zinc sur les teneurs en composés phénoliques totaux (CPT) (mg/g MF) chez *Salvia officinalis* (a) et chez *Mentha suaveolens* (b). Les valeurs indiquées par des lettres différentes sont significativement différentes (P ≤0,05).

La synthèse des composés phénoliques augmente dans les plantes sous l'effet de stress de Zn. Au niveau foliaire, cette augmentation est plus prononcée chez *Mentha suaveolens* (143,32 %) que chez *Salvia officinalis* (89,76 %). L'application foliaire de l'AS diminue fortement les teneurs des composés phénoliques principalement lorsque le traitement est réalisé avec 0,5 mM. Par rapport aux plantes stressées, ces diminutions sont de l'ordre de 39,23 % chez *Salvia officinalis* et de 57,34 % chez *Mentha suaveolens*, A cette concentration, l'AS permet de rétablir les teneurs en polyphénols à des valeurs presque identiques à celles obtenues dans les plantes témoins

Dans les racines, on constate les mêmes variations des teneurs en polyphénols. Ainsi, le Zn augmente la synthèse des polyphénols de 59% par rapport au témoin chez *Salvia officinalis* et 177,55% chez *Mentha suaveolens*. En revanche, la pulvérisation foliaire avec l'AS, principalement à 0,5 mM diminue les teneurs de ces composés. Cette diminution est estimée à 57,77% et 44,11% respectivement chez *Salvia officinalis* et *Mentha suaveolens* par rapport aux plantes stressées. Les teneurs obtenues dans ces conditions ne sont pas différentes de celles obtenues chez les plantes témoins

7. Teneurs en tanins condensés

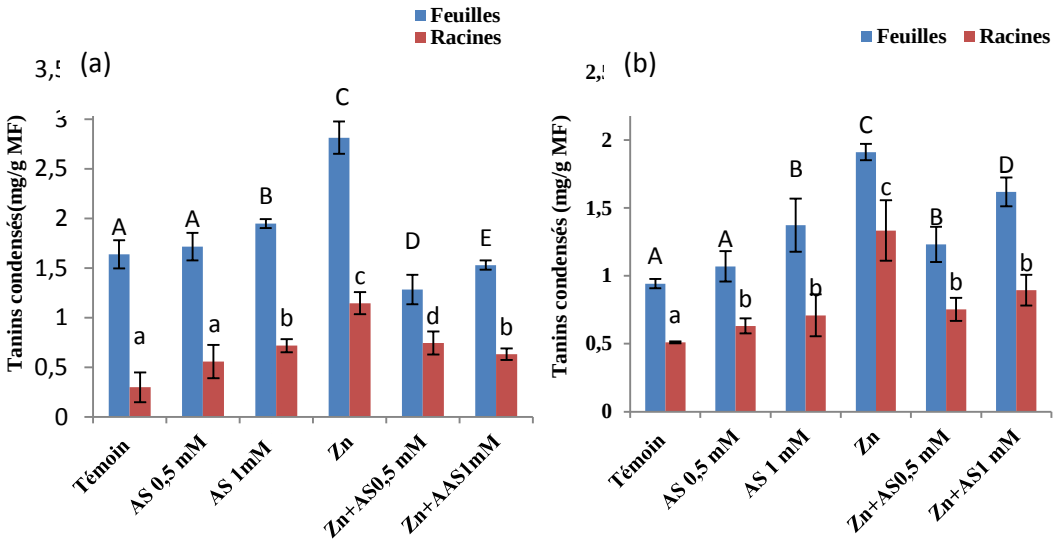

Figure 16 : Influence de l'AS et du stress en zinc sur les teneurs en tanins condensés (mg/g MF) chez *Salvia officinalis* (a) et chez *Mentha suaveolens* (b). Les valeurs indiquées par des lettres différentes sont significativement différentes (P ≤0,05).

Le stress de Zn augmente la teneur des tanins condensés dans les diverses parties de la plante. Chez *Salvia officinalis*, cette augmentation atteint 71,69 % et 284,56%, respectivement au niveau foliaire et racinaire. Chez *Mentha suaveolens* cette augmentation est plus prononcée et atteint 103 % et 161 % par rapport au témoin respectivement au niveau foliaire et racinaire. Le traitement de ces plantes stressées avec l'AS entraine une diminution des teneurs en tanins condensées dans les parties foliaires et racinaires chez les deux plantes étudiées. Cette diminution est plus importante lorsque l'AS est appliqué à 0,5 mM. On assiste ainsi à une baisse de 35% et 43,60% respectivement chez *Salvia officinalis* et *Mentha suaveolens* par rapport aux plantes stressées. Notons que dans le cas des feuilles de Salvia, ces teneurs diminuent jusqu'à atteindre une valeur inférieure à celle obtenue chez le témoin.

8. Teneurs en Proline

La synthèse de la proline dans les feuilles et les racines de *Salvia officinalis* et *Mentha suaveolens* est significativement influencée par le stress de Zn. Nous remarquons une augmentation des teneurs de la proline dans les parties foliaires et racinaires des deux plantes étudiées. Au niveau des feuilles cette augmentation de la teneur en proline est plus prononcée chez *Salvia officinalis* (209,51 %) que Chez *Mentha suaveolens* (99 %). Par ailleurs, la pulvérisation foliaire par l'AS entraine une diminution des teneurs de la proline dans la plante. Cette diminution est plus importante sous l'effet de l'AS à 0,5 mM. Par rapport aux plantes stressées, les teneurs en proline diminuent de 67,76 % dans les feuilles et 90% dans les racines chez *Salvia officinalis* et de 60,57 % dans les feuilles et 81,86 % dans les racines chez

Mentha suaveolens. En plus, on constate dans ces conditions que ces teneurs atteignent des valeurs inférieures à celle des plantes témoins.

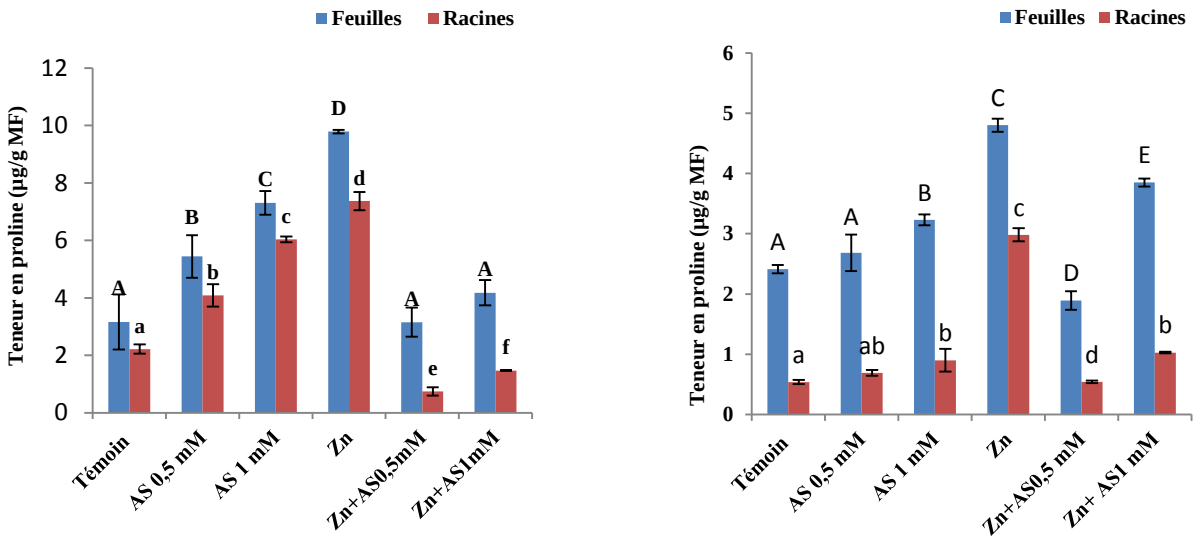

Figure 17 : Influence de l'AS et du stress en zinc sur les teneurs en proline (µg/g MF) chez *Salvia officinalis* (a) et chez *Mentha suaveolens* (b). Les valeurs indiquées par des lettres différentes sont significativement différentes (P ≤0,05).

II. Influence de l'acide salicylique sur le rendement et la composition des huiles essentielles chez *Salvia offcinalis* et *Mentha suaveolens* cultivées sous stress de zinc

1. Chez *Salvia offcinalis*

La culture des plantes en présence d'un stress de Zn entraine une diminution significative de la synthèse des huiles essentielles, qui passe de 1,2% à 0,4% (réduction estimée à 66,66% par rapport au témoin). Néanmoins, la pulvérisation foliaire de l'AS sur les plantes stressées diminue l'effet négatif du Zn en augmentant le rendement en huile essentielle. Cette augmentation est estimée de 425% à 0,5 mM et de 250% à 1 mM par rapport les plantes stressées.

D'autre part, quatre catégories de composés sont identifiées qui sont principalement les monoterpènes hydrocarbonés et oxygénés, et les sesquiterpènes hydrocarbonés et oxygénés, avec des pourcentages différents selon les traitements. Les monoterpènes oxygénés représentent la famille principale quel que soit le traitement. Les principaux composés de cette famille sont le 1,8-cinéol, l'α-thujone et le camphor, avec un équilibre entre disparition et apparition de certains composés. Le stress en zinc réduit fortement la teneur en monoterpènes oxygénés par rapport au témoin avec 62,82%. Par conséquent, nous avons noté une diminution des teneurs en composés principaux, le camphor varie de 26,41% à 6,46%, le 1,8-cinéol de 14,92 à 11,44 % et l'α-thujone disparait complètement chez les plantes stressées. D'autre part, le stress en zinc entraine l'apparition de la thujanone (3,09%). D'un autre côté,

le stress de zinc augmente les teneurs en sesquiterpènes hydrocarbonés et oxygénés avec 239,90% et 136,59 % respectivement, par rapport au témoin. Dans les plantes stressées, l'application de l'AS augmente les monoterpènes hydrocarbonés (avec 27% à 0,5 mM et 77,78% à 1 mM) et les monoterpènes oxygénés (avec 160 % à 0,5 mM et 115,63 % à 1 mM) par rapport aux plantes stressées non traitées avec l'AS. En outre, on assiste à une augmentation des teneurs du 1,8-cinéol qui passe de 11,44 % (Zn) à 13,48 % (Zn + AS 1 mM), camphor de 6,46% (Zn) à 19,29% (Zn +AS 1 mM) et α – Thujone apparaissent avec une concentration de 20,74% (Zn +AS 1 mM) après sa disparition sous l'effet du zinc. L'AS à 0,5 mM permet également une augmentation des teneurs en camphor de 6,46% (Zn) à 13,52% (Zn +AS 0,5 mM) et du 1,8-cinéol de 11,44% (Zn) à 22,97% (Zn +AS 0,5 mM) et α – Thujone apparaissent avec une concentration de 30,85%.

Tableau 7 : Influence de l'AS et du stress en zinc sur le rendement et la composition des huiles essentielles chez *Salvia officinalis*. Les valeurs indiquées par des lettres différentes sont significativement différentes (P ≤0,05)

	Témoin	AS 0,5 mM	AS 1mM	Zn	Zn + SA 0,5 mM	Zn +SA 1mM
Rendement (%)	**1,2±0,01a**	**1,5±0,01b**	**1,8± 0,1c**	**0,4 ± 0,1d**	**2,1 ± 0,02 e**	**1,4 ± 0,01 f**
Composés	**Surface de pic (%)**					
Monoterpènes hydrocarbonés						
Tricyclene	0,21	0,24	0,26	nd	nd	nd
α-Pinene	nd	7.44	2,00	nd	nd	5,21
Fenchone	nd	nd	nd	0,22	tr	0,17
β-Terpinene	6,43	nd	nd	nd	nd	nd
Camphene	4,30	4,62	5,30	2,92	8,34	6,31
β-Pinene	1,85	2,24	nd	4,67	4,05	2.96
β-Myrcene	1,02	1,11	1,20	5,12	nd	2,74
α-Terpinene	0,12	nd	nd	nd	nd	nd
Terpinolene	0,25	0,36	0,41	0,57	0,33	0,58
α-ocimene	0,10	nd	nd	nd	nd	nd
β-ocimene	0,17	0,11	nd	0,05	2,22	0,10
γ-Terpinene	nd	nd	0,31	1,15	2,96	0,97
2-carene	nd	0,15	0,12	nd	nd	1,33
Cis-Sabinene Hydrate	0,21	nd	nd	nd	nd	0,76
Pseudolimonene	nd	nd	8,30	nd	nd	3,02
Somme (%)	**14,66**	**16,27**	**17,90**	**14, 09**	**17,90**	**25,05**
Monoterpènes oxygénés						
1,8-Cineole	**14,92**	**15,06**	**15,57**	**11,44**	**22,97**	**13,48**
Thujanone	**nd**	**nd**	**nd**	**3,09**	**nd**	**0,46**
Thujanol	0,10	nd	nd	0,29	2,29	0,90
β- Terpineol	0,12	nd	nd	nd	nd	nd
β – Thujone	**2,90**	**3,42**	**3,50**	**0,34**	**nd**	**0,61**
α – Thujone	**27,43**	**22,22**	**21,11**	**nd**	**30,85**	**20,74**
Comphor	**26,41**	**27,44**	**27,81**	**6,46**	**13,52**	**19,29**
Thujol	0,64	nd	0,45	0,09	nd	0,38
Endo-borneol	0,52	1,47	2,63	1,64	2,48	0,90
Borneol	nd	nd	nd	1,51	nd	1,06
Bornyl acetate	1,80	nd	0,90	1,28	0,96	1,04
Terpinen-4-ol	0,77	nd	0,80	1,51	nd	0,93
L-α-terpineol	nd	0,40	0,66	0,39	0,23	0,53
Myrtenol	nd	nd	nd	0,23	0,26	0,64
Estragol	0,39	1,62	0,91	nd	nd	nd
Pulegone	nd	0,10	0,10	nd	nd	nd
Costol	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Somme (%)	**76**	**71,73**	**74,44**	**28,27**	**73,56**	**60,96**
Sesquiterpènes hydrocarbonés						
Cariophyllene	1,11	1,82	1,4	2,83	5,57	3,19
Aromadendrene	nd	nd	nd	0,34	0,37	nd
Humulene	0,92	1,57	1,6	3,00	4,38	3,36
γ-Muurolene	nd	0,14	0,10	0,17	0,18	0,28
Cadinene	nd	0,13	nd	0,25	nd	nd
Copaene	nd	nd	nd	0,31	0,17	0,21
Germacrene-D	tr	nd	0,12	nd	nd	nd
Somme (%)	**2,03**	**3,66**	**3,1**	**6,90**	**8,11**	**7,04**
Sesquiterpènes oxygénés						
Geranyl isovalerate	nd	nd	nd	0,15	nd	0,25
Sabinol isovalerate	0,31	nd	0,17	nd	nd	0,40
Caryophyllene oxide	0,98	0,79	0,72	nd	0,19	nd
Humulene epoxide II	0,65	0,78	0,75	0,34	0,18	0,38
Viridiflorol	nd	2,81	2,70	4,10	nd	5,63
Somme (%)	**1,94**	**4,38**	**4,34**	**4,59**	**0,37**	**6,66**
Total (%)	**94,61**	**96,04**	**99,77**	**82,55**	**99,94**	**99,71**

2. Chez *Mentha suaveolens*

La présence de Zn dans le sol entraîne une diminution du rendement en huile essentielle qui pouvant atteindre presque 65,22 % % par rapport au témoin. La pulvérisation foliaire de l'AS a un effet différent car la concentration de 0,5 mM est la plus appropriée pour augmenter le rendement. Ce dernier peut atteindre 1,43% montrant une amélioration de 793,75% par rapport les plantes stressées.

Les composés d'huile essentielle de *Mentha suaveolens* identifiés sont énumérés dans le tableau 8. Quatre catégories de molécules sont identifiées, qui sont principalement des monoterpènes hydrocarbonés et oxygénés et des sesquiterpènes hydrocarbonés et oxygénés, avec des pourcentages différents en fonction des traitements. Les monoterpènes oxygénés représentent la famille principale quel que soit le traitement. Les trois principaux composés de cette huile sont le 1,8-cinéole, thujanone, le camphor et le Pulegone avec un équilibre de disparition et d'apparition de certaines molécules et la modification du contenu de molécules préexistantes.

Le stress en zinc diminue le contenu des composés majoritaires, le 1,8-cinéole qui varie par rapport le témoin de 8,92 à 7,66 %, le thujanone de 7 à 3,30 %, le camphor de 10,06 à 8,88% et le Pulegone de 10,32 à 8,72%. Cet élément métallique influence négativement les teneurs de toutes les familles moléculaires identifiées.

Chez les plantes stressées, la pulvérisation de l'AS permet d'améliorer les teneurs en composés majoritaires principalement à une concentration de 0,5 mM. Cette concentration donne les teneurs les plus élevées par rapport tous les traitements utilisés. Le 1,8-cinéole passe de 7,66 (Zn) à 15 % (Zn + AS 0,5 mM), le thujanone de 3,30 (Zn) à 13,06 (Zn + AS 0,5 mM) et le Pulegone de 8,88 (Zn) à 18% (Zn + AS 0,5 mM).

Tableau 8 : Influence de l'AS et du stress en zinc sur le rendement et la composition des huiles essentielles chez *Mentha suaveolens*. Les valeurs indiquées par des lettres différentes sont significativement différentes (P ≤0,05).

	Témoin	AS 0,5 mM	AS 1mM	Zn	Zn +AS 0,5 mM	Zn +AS1mM
Rendement (%)	0,46±0,01a	0,54±0,02b	0,74±0,01c	0,16±0,02d	1,43±0,1e	0,45±0,1f
Composés	**Surface de pic (%)**					
Monoterpènes hydrocarbonés						
α-Pinene	0,88	0,5	0,47	0,93	0,74	0, 62
β-Terpinene	nd	0,7	0,85	Nd	0,38	0,70
Limonene	2,28	2,81	1,38	0,95	1,45	1,94
α-Terpinene	1,2	0,23	1,5	Nd	1,92	0,92
Terpinolene	0,3	0,73	0,5	Nd	1,9	1,6
γ-Terpinene	0,3	0,52	0,3	0,1	0,93	0,53
3-carene	1,34	1,63	1,4	0,7	0,98	0,49
Somme (%)	**6,3**	**7,12**	**6,4**	**2,68**	**8,3**	**6,18**
Monoterpènes oxygénées						
1,8-Cineole	**8,92**	**11,87**	**10,06**	**7,66**	**15**	**11,14**
Thujanone	**7**	**9,03**	**8,89**	**3,30**	**13,06**	**12,23**
Thujanol	2,1	5,5	5,6	2,00	4,90	3,00
Terpineol	6,09	6,9	6,99	2,43	6,09	4,25
Thujone	0,6	3,42	3,4	2,3	3,14	3,56
Menthol	2,32	7,22	4,74	1,94	3,33	4,94
Menthone	2,23	5,22	6,64	2,11	3,35	2,96
Comphor	**10,06**	**16,44**	**15**	**8,88**	**18,00**	**16,34**
Bornyl acetate	0,23	0,57	0,55	0,66	0,70	0,63
Terpinen-4-ol	0,18	0,82	0,33	0,1	0,60	0,72
L-α-terpineol	0,34	0,4	0,8	0,23	0,44	0,65
Myrtenol	0,16	0,6	0,56	0,39	0,63	0,36
Estragol	0,82	0,41	0,4	0,28	0,90	1,04
Pulegone	**10,32**	**15,11**	**12,18**	**8,72**	**15,18**	**13,47**
Somme (%)	**51,37**	**83,51**	**76,14**	**41**	**85,32**	**75,29**
Sesquiterpènes hydrocarbonés						
sabinene hydrate	0,6	0,66	0,29	0,13	0,6	0,83
Cariophyllene	0,34	0,59	0,94	0,17	0,4	0,42
Humulene	0,39	0,34	1,29	0,11	0,48	0,39
γ-Muurolene	0,34	0,73	0,75	0,18	0,49	0,43
Cadinene	0,4	0,82	0,4	0,21	0,52	0,49
β –Longipinene	0,2	0,25	0,56	0,32	0,24	0,32
Germacrene-D	0,56	2,65	3,76	0,26	0,63	0,61
Somme (%)	**2,83**	**6,04**	**7,99**	**1,38**	**3,36**	**3,49**
Sesquiterpènes oxygénés						
Geranyl isovalerate	0,23	0,74	0, 94	0,10	0,39	0,22
Sabinol isovalerate	0,34	0,93	0,21	0,13	0, 49	0,36
Caryophyllene oxide	0,34	0,3	0,12	0,11	0,55	0,34
Humulene epoxide II	0,28	0,42	0,4	0,10	0,30	0,29
Viridiflorol	0,64	nd	0,6	0,15	0,76	0,65
Cadinol	0,22	0,42	0,56	0,14	0,23	0,23
Caryophylladienol II	0,69	nd	0,56	0,16	0,6	0,70
Somme (%)	**2,74**	**2,81**	**2,45**	**0,89**	**2,83**	**2,79**
Total (%)	**63,24**	**99,48**	**92,98**	**45,95**	**99,81**	**88,75**

Discussion

La présente étude montre que le stress en Zn inhibe la croissance des tiges et des racines de *Salvia offcinalis et* de *Mentha suaveolens*, ce qui est en accord avec les travaux de Collins (2005) et de Sresty et Madhava (1999). De plus, Sagardoy *et al.*,(2009) ont rapporté que l'augmentation des concentrations en Zn dans *Beta vulgaris* L. entraîne une diminution du poids sec, avec l'apparition de symptômes de chlorose. L'addition du Zn à 40 mM dans les milieux de croissance augmente considérablement les concentrations de Zn dans diverses parties des plantes de sauge avec une accumulation maximale dans les racines. Macfarlane et Burchett (2002), Frey *et al.*,(2000) ont rapporté que le Zn s'accumule dans les vacuoles des cellules de l'épiderme et des mésophylles des feuilles. De plus, Turner et Marshall (1972) ont indiqué que l'exclusion des métaux dans les racines peut être un mécanisme de tolérance puisque les métaux se lient aux parois cellulaires des racines et l'étendue de cette liaison est proportionnelle au degré de tolérance au métal lourd. Certains auteurs ont rapporté que les symptômes de toxicité deviennent visibles à des concentrations supérieures à 300 mg kg^{-1} de MS (Chaney 1993) ; Marschner (2011). Ces concentrations élevées provoquent un déséquilibre nutritionnel qui entraîne un retard de croissance (Misra *et al.,* 2005 ; Chaudhry *et al.,* 1995). D'autres chercheurs ont rapporté le même effet après accumulation d'autres métaux tels que le cuivre (El-Metwally*et al.,* (2010), Adrees *et al.,* 2015) et le cadmium (Özkan 2008 ; Sandalio *et al.,* (2009). Dans cette perspective, nos résultats ont montré que la teneur en minéraux des racines et des tiges est également significativement diminuée sous l'effet stress en Zn. Ces résultats sont confirmés par Sagardoy *et al.*,(2009) qui ont montré que l'augmentation des concentrations de Zn diminue les concentrations de plusieurs nutriments dans *Beta vulgaris* L. tels que K, Mg, Mn, P, Ca et Fe. De plus, Ambler *et al.,* (1970) ont rapporté une inhibition de la translocation du fer de la racine vers les feuilles provoquant une chlorose.

Comme nous avons déjà montré pour le cuivre (le chapitre 3), nos résultats indiquent que le Zn est capable de déclencher une production excessive de H_2O_2 dans les tissus foliaires et racinaires. Le MDA augmente également sous l'effet de stress en zinc. Ces résultats sont en accord avec ceux de Myrene et Devaraj (2012). Le zinc entraine une augmentation dans les concentrations des composés phénolique totaux et les tanins condensées.

En outre, la production d'huile essentielle dans les deux plantes est fortement inhibée par le stress de Zn, ce qui confirme les résultats de Misra et Sharma (1991) et Misra *et al.*,(2005) qui ont montré des perturbations dans les teneurs en huile essentielle de *Mentha arvensis* cultivée en présence des concentrations élevées en Zn (à 25 µg g^{-1} MS). Copetta *et al.,* (2006) et Hashmi *et al.,* (2012) ont

montré l'importance de la nutrition minérale sur le rendement en huile essentielle. Ainsi, on peut relier cet effet négatif du Zn sur l'huile essentielle au déséquilibre nutritionnel sous toxicité du Zn. L'application du stress de Zn a un impact négatif sur les niveaux de chlorophylle. La biosynthèse de l'huile essentielle en tant que métabolite secondaire est liée à l'activité photosynthétique (Croteau 1987) et que les métaux provoquent des perturbations de la synthèse des chlorophylles, suite à la synthèse des radicaux libres (Misra *et al.,* 2005 ; Díaz *et al.,* 2001).

Concernant la composition des huiles des deux plantes étudiées, les résultats montrent quatre catégories de composés identifiées qui sont principalement des monoterpènes hydrocarbonés et oxygénés, également des sesquiterpènes hydrocarbonés et oxygénés, avec des pourcentages différents selon les traitements. Le stress en zinc diminue les composées majoritaires chez les deux plantes étudiées. Ces mêmes résultats sont obtenus par Stancheva *et al.,* (2014) chez *Salvia Officinalis* traitées avec le zinc. Ce qui indique une détérioration de la qualité de l'huile essentielle sous l'effet de l'excès de zinc.

Plusieurs auteurs ont utilisé l'AS exogène contre certains stress biotiques (Makandar *et al.,*2006 ; Hayat *et al.,*2010) et abiotiques comme le stress salin (Rouphael *et al.,*2018), le stress hydrique (Damalas 2019), les contraintes thermiques (Jahan *et al.,*2019), le stress cadmique (Szalai *et al.,* 2013). Notre travail montre ainsi l'effet positif de l'AS, en particulier à 0,5 mM, sur la croissance des tiges et des racines des plantes cultivées en présence de concentrations élevées en Zn. La stimulation de la croissance par l'AS est liée à l'amélioration de la nutrition minérale, du profil hormonal et de la photosynthèse. Dans ce sens, nos resultats montrent une amélioration de la nutrition et de la photosynthése des plantes stressées. Ces résultats sont confirmés par les résultats de Guo *et al.,* (2013) sur le cadmium, et de Gunes *et al.,*(2005) sur le cuivre. De plus, nous avons montré l'effet positif de l'AS sur la synthèse des pigments chlorophylliens confirmant les résultats de Tahjib *et al.,* (2018) dans le maïs et de Faghih *et al.,* (2017) chez des fraisiers soumis au stress salin. L'influence de l'AS sur l''amélioration de la photosynthèse sous l'effet de stress peut être attribuée à ses effets stimulants l'activité de RuBisCO, PEP carboxylase et anhydrase carbonique (Mateo *et al.,*2006) ainsi à la stimulation de l'assimilation minérale et à l'efficacité du PSII (Khan *et al.,* 2014), à la mobilisation du nitrate tissulaire interne ou à la biosynthèse de la chlorophylle (Shi *et al.,* (2006). Comme on a déjà montré dans le cas de stress cuivrique, l'AS diminue également la teneurs en composés phénoliques et en tanins condensés en cas du stress de Zinc.

La pulvérisation de l'AS, en particulier à 0,5 mM, augmente la teneur en huile essentielle des plantes stressées. En condition de stress, Khanam et Mohammad (2018) ont également montré une augmentation des teneurs en huile essentielle de *Mentha piperita* L. sous l'effet de l'AS. Ces auteurs

ont lié cette augmentation à l'amélioration de la croissance, de la photosynthèse, de l'assimilation des nutriments et de la densité des glandes peltées. Idrees *et al.*,(2010) et Rowshan *et al.*,(2010) ont également montré que la pulvérisation de l'AS augmente la densité des glandes peltées. Chez *Zea mays* exposé au stress cadmique, Szalai *et al.*,(2013) ont montré que l'application de l'AS à 0,5 mM augmente les niveaux de phytochélatines, responsables de la tolérance des plantes aux ions métalliques. Dans notre étude, cet effet positif de l'AS sur la croissance, les teneurs en chlorophylles et la biosynthèse des huiles essentielles sous stress de Zn pourrait être lié à la limitation de l'absorption et de la translocation du Zn dans les feuilles en environnement stressant et à l'amélioration de l'équilibre nutritionnel perturbé par l'accumulation de Zn. L'AS entaraine une augmentation de la densité des glandes de secrétion des huiles essentielles ce qui confirme l'augmentation du rendement des huiles essentielles.

Concernant la composition des huiles des plantes stressées, nos résultats montrent une modification de la qualité des huiles essentielles sous l'effet de l'AS principalement à 0,5 mM : Chez les deux plantes étudiées, on assiste à une augmentation dans les teneurs en composés majoritaires. Ainsi, chez *Mentha suaveolens,* le 1,8-cinéole passe de 7,66 (Zn) à 15 % (Zn + AS 0,5 mM), le thujanone de 3,30 (Zn) à 13,06 (Zn + AS 0,5 mM) et le Pulegone de 8,88 (Zn) à 18% (Zn + AS 0,5 mM). Les mêmes constatations sont observées chez *Salvia offcinalis* puisqu'on assiste à une augmentation des teneurs en 1,8-cinéol qui passe de 11,44% (Zn) à 22,97% (Zn + AS 0,5 mM), du camphor qui passe de 6,46% (Zn) à 13,52% (Zn + AS 0,5 mM) et de l'α-Thujone qui apparait à une concentration de 30,85% (Zn + AS 0,5 mM) après sa disparition sous l'effet du zinc.

Ces résultats montrent l'effet positif de l'AS sur la quantié et la qualité des huiles essentielles en présence de zinc. Dans ce sens, Pirbalouti *et al.,* (2014) ont indiqué que l'application foliaire de l'AS réduisait l'effet du stress hydrique sur la quantité des composés majoritaires de l'huile essentielle de *Thymus daenensis.* Rowshan *et al.*,2010 ont démontré que le rendement en huile essentielle de *Salvia macrosiphon* augmentait après l'application de l'AS à 400 mg l^{-1} avec des taux accrus d'hexylisobutanate et de linalol et l'apparition de nouveaux composés comme le 1,8-cinéol et le α-pinène.

Chapitre 5 : Influence de l' acide salicylique sur le comportement morphologique et biochimique chez *Salvia offcinalis* et *Mentha suaveolens* cultivées sous stress salin

Introduction

Le stress salin est parmi les problèmes environnementaux critiques à l'échelle du globe causé soit par la présence initiale de sels dans le sol ou la nappe phréatique, soit dans l'eau d'irrigation. Ce phénomène peut causer à long terme un danger pour la sécurité alimentaire.

La tolérance à la présence de sels est alors une qualité largement recherchée pendant de nombreuses décennies chez les végétaux d'intérêt agronomique afin d'élargir leur culture dans ces régions. Les mécanismes de tolérance au sel sont de deux types principaux : ceux qui minimisent l'entrée de sel dans la plante ainsi que dans le cytoplasme et ceux qui minimisent le niveau de stress par des changements biochimiques et moléculaire.

Par ailleurs, l'AS joue un rôle majeur dans la résistance à la salinité et d'autres problèmes environnementaux. Dans cette optique, des auteurs ont suggéré que l'application foliaire de l'AS pourrait être une technique efficace pour remédier aux effets négatifs de la salinité dans les cultures économiquement importantes (Jini et Joseph 2017 ; Rady *et al.,* 2017). De plus Tahjib *et al.,* (2018) ont attribué l'effet positif de l'AS sous la salinité à la capacité de l'AS (1) à améliorer la croissance par la stimulation de la capacité photosynthétique, (2) à l'induction de l'activité des enzymes antioxydants pour réduire les dommages oxydatifs (3) à la protection des paramètres contribuant au rendement.

Dans ce chapitre nous nous sommes intéressés à évaluer l'influence de l'AS sur la croissance aérienne et racinaire, sur la synthèse des pigments chlorophylliens, sur l'accumulation de Na, P, K et Ca ainsi sur quelques paramètres biochimiques (H_2O_2, MDA, proline, les composés phénoliques) sur la synthèse des huiles essentielles (rendement et composition), sur la densité et la morphologie des glandes de sécrétion des huiles essentielles.

I. Influence de l'acide salicylique sur le comportement morphologique et biochimique chez *Salvia officinalis* et *Mentha suaveolens* cultivées sous stress salin

1. Croissance des parties aériennes et racinaires

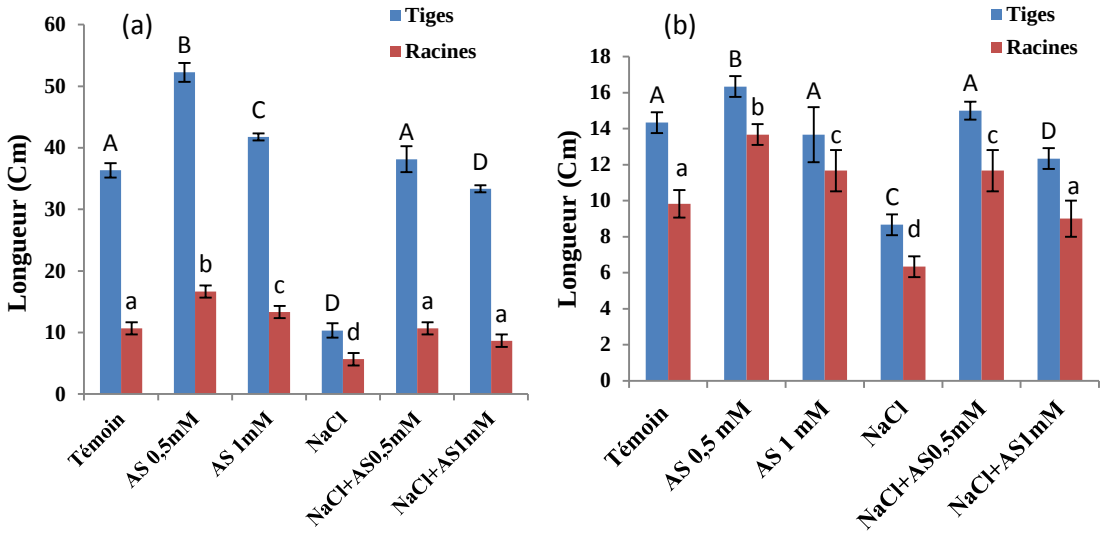

Figure 18 : Influence du stress salin et de l'AS sur la longueur des parties aériennes et racinaires de *Salvia officinalis* (a) et de *Mentha suaveolens* (b). Les valeurs indiquées par des lettres différentes sont significativement différentes (P ≤0,05)

La croissance des plantes de *Salvia officinalis* et *Mentha suaveolens* est influencée d'une manière significative par le stress salin. La salinité inhibe la croissance de la partie aérienne qui diminue avec 71,56 % chez *Salvia officinalis* et avec 39,51 % chez *Mentha suaveolens* par rapport le témoin. Cependant, le traitement de ces plantes stressées par l'AS principalement à 0,5 mM permet de remédier à cette inhibition en faisant augmenter la longueur d'environ 269% chez *Salvia officinalis* et 73%chez *Mentha suaveolens* par rapport les plantes stressées et non traitées avec l'AS.

La salinité inhibe également la croissance racinaire. Cette inhibition est estimée par rapport le témoin avec 46,86% chez *Salvia officinalis* et 35,60% chez *Mentha suaveolens.* Par contre, la pulvérisation foliaire de ces plantes stressées avec l'AS (à 0,5 mM) à remédier cette inhibition en améliorant la croissance de 88% chez *Salvia officinalis* et de 84% chez *Mentha suaveolens* par rapport les plantes stressées et non traitées avec l'AS.

2. Translocation du Na et des éléments minéraux (Ca, K et P) chez *Salvia officinalis* et *Mentha suaveolens*

2.1 Chez *Salvia officinalis*

Tableau 9 : Influence du stress salin et de l'AS sur les teneurs en éléments minéraux (Na P, K, Ca) chez *Salvia officinalis*. Les valeurs indiquées par des lettres différentes sont significativement différentes (P ≤0,05)

		Na (mglg MS)	*Ca (mglg MS)*	*K (mglg MS)*	*P (mglg MS)*
Racines	***Témoin***	0,50 ±0,01a	8,41±0,07A	6,42±0,05a*	1,01±0,01A*
	AS (0,5mM)	0,51 ± 0,00a	16,11 ± 0,10B	12,84 ± 0,02b*	3,85 ± 0,01B*
	AS (1mM)	0,90 ± 0,08b	15,03 ± 0,37C	8,87± 0,02c*	1,13 ± 0,01A*
	NaCl	24,33 ± 0,51c	3,70 ± 0,43D	4,12 ± 0,02d*	0,53 ± 0,11C*
	NaCl + AS (0,5mM)	5,73 ± 0,30d	9 ± 0,20E	8,60 ± 0,20c*	0,96 ± 0,05A*
	NaCl + AS (1mM)	10,67 ± 0,57e	6,43 ± 0,40F	7,70 ± 0,10c*	0,61 ± 0,12D*
Feuilles	***Témoin***	5,53 ± 0,00A	12,56 ± 0,09a	11,41 ± 0,94A*	2,47 ± 0,11a*
	AS (0.5mM)	0,73 ± 0,02B	13,86 ±0,02b	19,27 ± 1,10B*	2,66 ± 0,05a*
	AS (1mM)	0,82 ± 0.01C	13,19 ± 0,41b	15,03 ± 0,37C*	2,47 ± 0,11a*
	NaCl	18 ± 1D	9 ± 0,68c	5 ± 0,37 D*	0,73 ± 0,22b*
	NaCl + AS (0,5mM)	3,05 ± 0,05E	14,79 ± 0,37d	10,60 ± 0,49E*	1,42 ± 0,03c*
	NaCl + AS (1mM)	8,39 ± 0,16F	11,50 ± 0,77e	7,31 ± 0,10F*	0,59 ± 0,11b*

L'application d'un stress salin dans le milieu augmente considérablement la concentration du sodium dans les diverses parties de la plante. Cette accumulation se fait principalement dans les racines mais on assiste néanmoins à un transfert d'une quantité assez importante dans les feuilles. En outre, le stress salin entraine une baisse considérable des différents éléments minéraux aussi bien dans les racines que dans les feuilles.

En revanche, l'application de l'AS sur des plantes stressées entraine une diminution des effets négatifs de l'excès des ions Na grâce à l'inhibition de l'absorption de ce dernier par la plante puisqu'on constate des valeurs très faibles dans les racines et dans les feuilles principalement lorsque l'AS est appliqué à 0,5 mM. Ces diminutions peuvent atteindre 83% et 76 % respectivement dans les feuilles et les racines par rapport aux plantes stressées.

En plus, à cette concentration de 0,5 mM, l'AS augmente les teneurs des éléments minéraux dans la plante. Par rapport aux plantes stressées, ces augmentations peuvent atteindre 64% pour le Ca, 112% pour le K et 94% pour le P au niveau des feuilles, et 143% pour le Ca, 108% pour le K et 81% pour le P au niveau des racines

2.2. Chez *Mentha suaveolens*

Tableau 10: Influence du stress salin et de l'AS sur les teneurs en éléments minéraux (Na P, K, Ca) chez *Mentha suaveolens*. Les valeurs indiquées par des lettres différentes sont significativement différentes (P ≤0,05).

		Na (mglg MS)	***Ca (mglg MS)***	***K (mglg MS)***	***P (mglg MS)***
Racines	***Témoin***	0,54 ± 0,11a*	13,86 ± 0,02a	12,11 ± 0,1A*	0,47 ± 0,1A
	AS (0,5mM)	0,74 ± 0,10b*	15,10 ± 0,01b	15,07±0,01B*	0,65 ± 0,2B
	AS (1mM)	0,48 ± 0,01a*	14,85 ± 0,08c	10,52±0,06C*	0,97 ± 0,1C
	NaCl	15,53±0,06c*	9,90 ± 0,04d	7,89 ± 0,02D*	0,29 ± 0,01D
	NaCl + AS (0,5mM)	1,59 ± 0,01d*	14,31 ± 0,06c	14,89 ± 0,1C*	0,99 ± 0,12A
	NaCl + AS (1mM)	2,52 ± 0,01e*	13,11 ± 0,03a	12,16±0,2A*	0,39 ± 0,04E
Feuilles	***Control***	3,13 ± 0,01a	14,46 ± 0,01a*	12,64 ± 0,01A	1,25 ± 0,01A*
	AS (0.5mM)	3,53 ± 0,02b	18,54 ± 0,01b*	16,61 ± 0,02B	1,49 ± 0,03A*
	AS (1mM)	3,48 ± 0,01b	10,15 ± 0,02c*	12,63 ± 0,01A	1,01 ± 0,01B*
	NaCl	10,78 ± 0,01c	8,88 ± 0,10d*	6,13 ± 0,02C	0,47 ± 0,03C*
	NaCl + AS (0,5mM)	4,60 ± 0,02d	13,36 ± 0,06d*	11,77 ± 0,04D	1,06 ± 0,03D*
	NaCl + AS (1mM)	5,54 ± 0,02e	11,13 ± 0,12e*	10,30 ± 0,08E	1,29 ± 0,03A*

Le tableau montre l'accumulation de Na, Ca, K et P selon les différentes conditions de culture. Dans des conditions de stress salin, on assiste à une accumulation très importante du Na dans les racines où sa teneur peut atteindre 15,53 mg g^{-1} MS contre 0,54 mg g^{-1} MS pour le témoin. On assiste également un transfert d'une quantité importante de cet ion vers les feuilles où son contenu atteint des valeurs élevées de 10,78 mg g^{1} MS contre 3,13 mg g^{-1} MS pour le témoin. Par ailleurs, dans ces conditions de stress, l'accumulation de Na s'accompagne d'une diminution de l'absorption racinaire des différents éléments minéraux(Ca, K et P) et par conséquent leur transfert vers les feuilles. Par contre, la pulvérisation de l'AS sur des plantes ayant au préalable subi un stress salin permet de remédier aux effets néfastes de l'excès de Na. Comme précédemment, c'est la concentration de 0,5 mM qui permet d'obtenir les meilleurs résultats : A cette concentration, on constate une diminution significative de l'accumulation de Na dans les feuilles et les racines. Ces diminutions atteignent 57,32% et 89,76%, respectivement dans les feuilles et les racines. On constate également que l'AS (0,5 mM) favorise l'augmentation de l'absorption racinaire des éléments minéraux, qui peut atteindre 44% pour le Ca, 88% pour le K et 241% pour le P par rapport aux plantes stressées. Le transfert de ces éléments vers les feuilles est également amélioré avec 50,45% pour le Ca, 92% pour K, 125,53% pour P par rapport aux plantes stressées.

3. Teneurs en chlorophylles

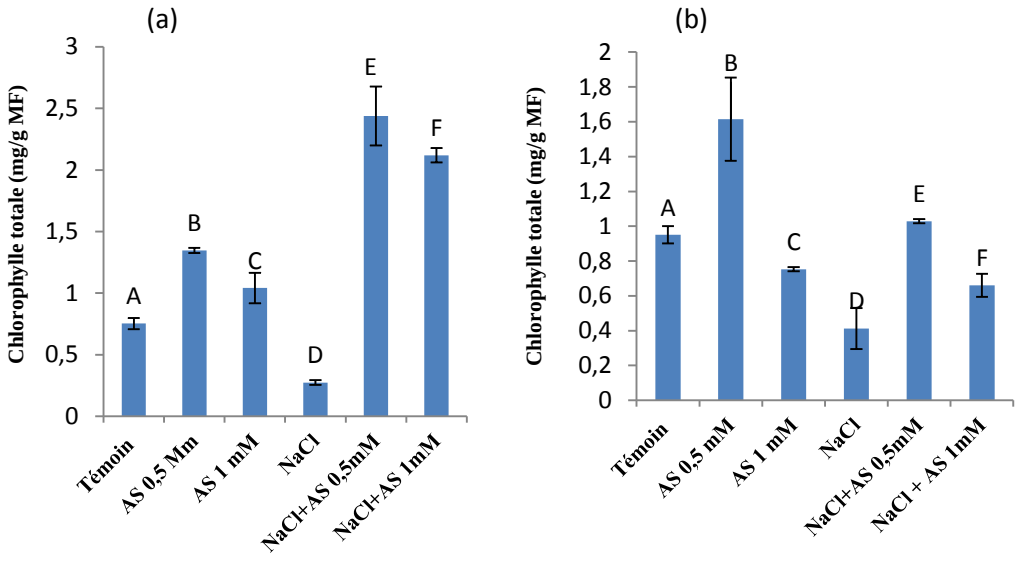

Figure 19 : Influence de l'AS et du stres salin sur les teneurs en chlorophylle chez *Salvia officinalis* (a) et chez *Mentha suaveolens* (b). Les valeurs indiquées par des lettres différentes sont significativement différentes (P ≤0,05).

La synthèse des pigments chlorophylliens est largement inhibée par le stress salin puisque nous enregistrons une diminution des teneurs en ces pigments de près de 63,61% chez *Salvia officinalis* et de 57% chez *Mentha suaveolens*. Par contre, après pulvérisation des plantes stressées avec l'AS, principalement à 0,5 mM, on constate une accumulation d'une quantité importante des chlorophylles qui peut atteindre plus de 789% chez *Salvia officinalis* et 150% chez *Mentha suaveolens.*

4. Teneurs en peroxyde d'hydrogène

Le stress salin augmente fortement les teneurs en H_2O_2 au niveau de la partie aérienne, et peuvent atteindre 138% chez *Salvia officinalis et* 115% chez *Mentha suaveolens* par rapport au témoin. Cependant ces teneurs s'atténuent avec l'application de l'AS, principalement à 0,5 mM, qui permet de ramener ces teneurs à une valeur équivalente à celle du témoin. Les mêmes observations peuvent être faites au niveau des racines où l'on constate une augmentation estimée à 72% chez *Salvia officinalis* et à 101% chez *Mentha suaveolens* en cas de stress salin, alors que l'application de l'AS (principalement à 0,5 mM) entraine une diminution de ces teneurs les ramenant à des niveaux équivalents de ceux du témoin.

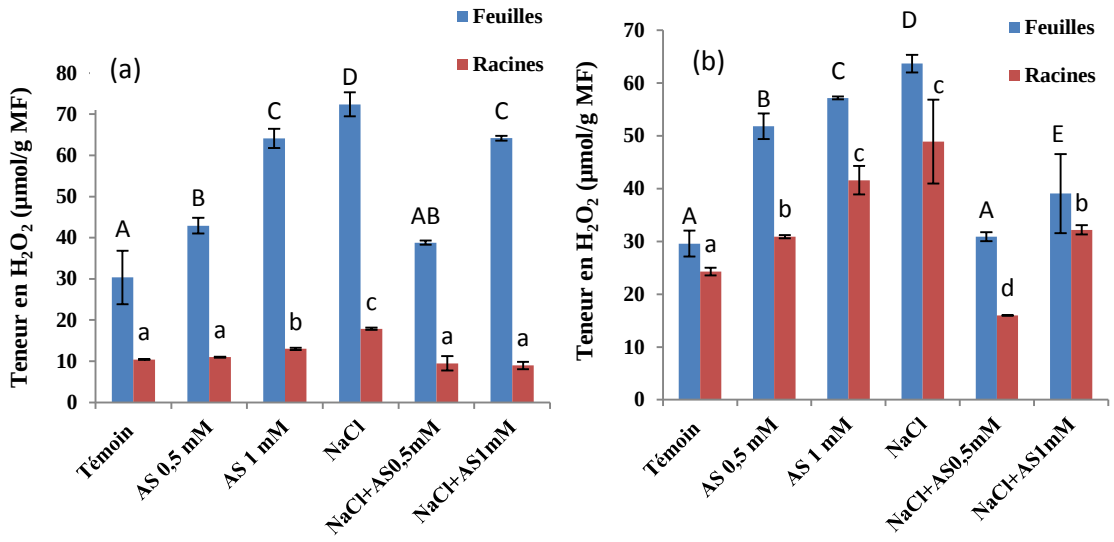

Figure 20 : Influence du stress salin et de l'AS sur les teneurs en H_2O_2 (µmol/g MF) chez *Salvia officinalis* (a) et chez *Mentha suaveolens* (b). Les valeurs indiquées par des lettres différentes sont significativement différentes ($P \leq 0,05$).

5. Teneurs en malondialdéhyde

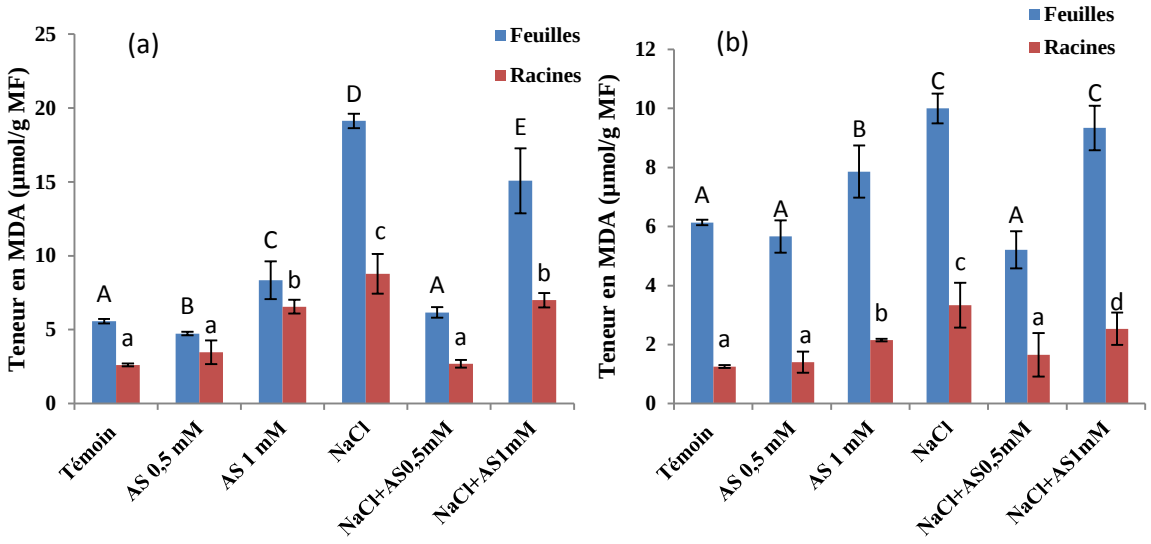

Figure 21 : Influence du stress salin et de l'AS sur les teneurs en MDA (µmol/g MF) chez *Salvia officinalis* (a) et chez *Mentha suaveolens* (b). Les valeurs indiquées par des lettres différentes sont significativement différentes ($P \leq 0,05$).

Les plantes ayant subi un stress salin augmentent fortement leurs teneurs en MDA dans les feuilles de 243% chez *Salvia officinalis* et de 63% chez *Mentha suaveolens*. Cependant, ces teneurs s'atténuent fortement avec l'application d'AS. Ainsi, le taux de peroxydation des lipides dans des conditions salines est contrecarré par le traitement avec l'AS à 0,5 mM dans les deux plantes car nous assistons à

un rétablissement de ces teneurs aux valeurs rencontrées chez les témoins. Des tendances similaires sont observées également au niveau racinaire chez les deux plantes étudiées.

6. Teneurs en composés phénoliques

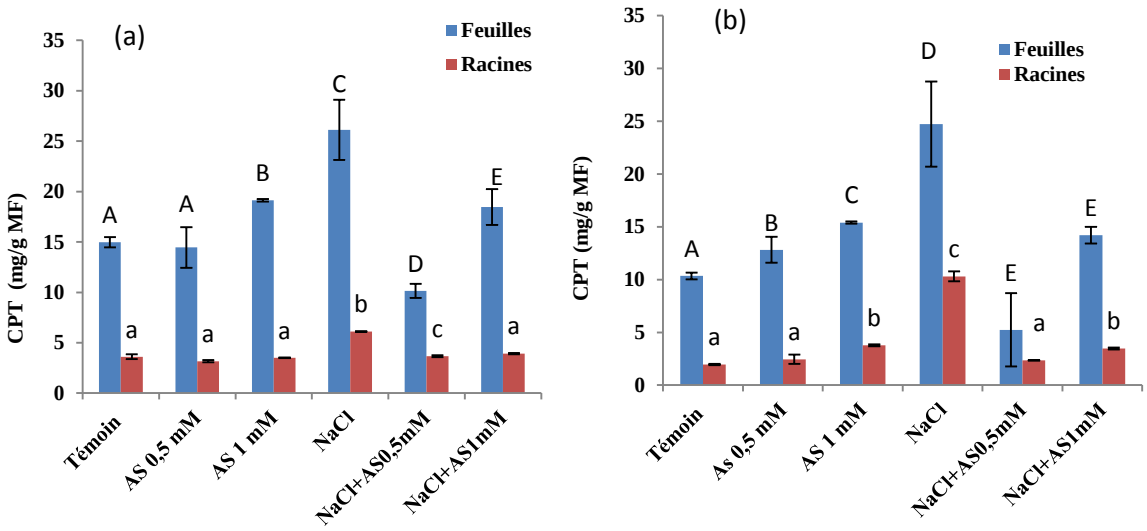

Figure 22 : Influence du stress salin et de l'AS sur les teneurs en composés phénoliques totaux (CPT) (mg/g MF) chez *Salvia officinalis* (a) et chez *Mentha suaveolens* (b). Les valeurs indiquées par des lettres différentes sont significativement différentes ($P \leq 0,05$).

L'irrigation des plantes par une solution contenant le NaCl augmente significativement les teneurs en composés phénoliques totaux au niveau foliaire et racinaire. Au niveau foliaire, cette augmentation peut atteindre 74,46% chez *Salvia officinalis* et 139% chez *Mentha suaveolens*. Par ailleurs, l'AS entraine une très importante diminution des teneurs en composés phénoliques par rapport à celles des plantes non traitées. La concentration 0,5 mM montre une diminution des teneurs en composés phénoliques à des valeurs inférieures à celles rencontrées chez les témoins des deux plantes.

Au niveau racinaire, en présence du stress salin, l'augmentation des teneurs en composés phénoliques peut atteindre 69,52% chez *Salvia officinalis* et 425,81 % chez *Mentha suaveolens* par rapport au contrôle. Le traitement avec l'AS diminue les teneurs en composés phénoliques au niveau racinaire. Le meilleur résultat est obtenu lorsque le traitement est effectué avec la concentration 0,5 mM. Cette concentration entraine une diminution avec 77,24 % chez *Mentha suaveolens* et 40 % chez *Salvia officinalis* par rapport aux plantes stressées non traitées avec l'AS.

7. Teneur en tanins condensés

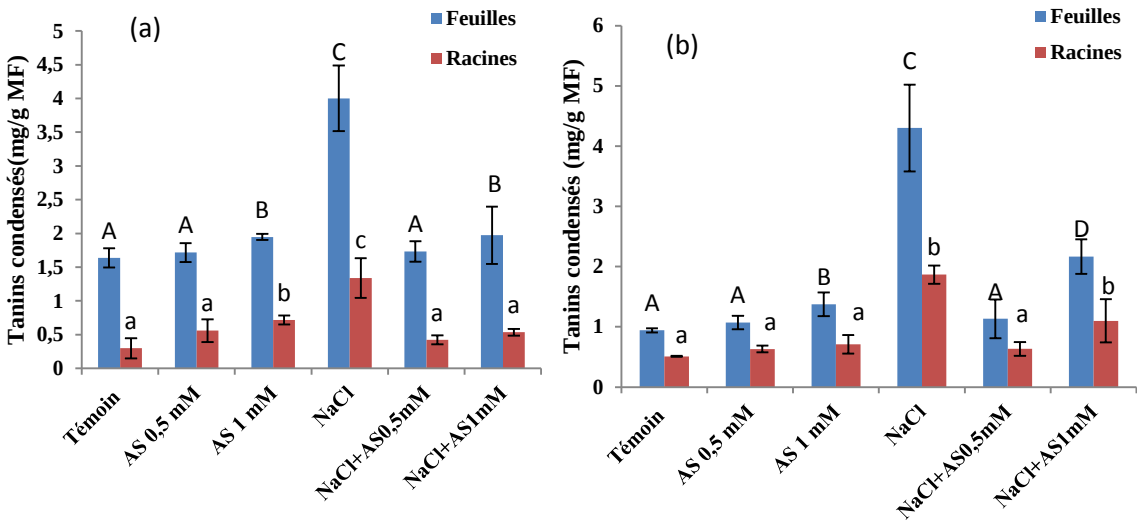

Figure 23 : Influence du stress salin et de l'AS sur les teneurs en tanins condensés (mg/g MF) chez *Salvia officinalis* (a) et chez *Mentha suaveolens* (b). Les valeurs indiquées par des lettres différentes sont significativement différentes ($P \leq 0,05$).

En conditions de salinité, les teneurs en tanins dans les feuilles augmentent d'une manière importante chez les deux plantes. Cette augmentation est estimée à 144% chez *Salvia officinalis* et à 356 % chez *Mentha suaveolens* par rapport au control. En présence de l'AS à 0,5 mM, ces teneurs en tanins condensés diminuent fortement jusqu'à des valeurs équivalentes à celles rencontrées chez les témoins. Ces diminutions sont estimées à 56,72% chez *Salvia officinalis* et à 73,65% chez *Mentha suaveolens* par rapport aux plantes stressées non traitées avec l'AS.

Au niveau racinaire, les teneurs en tanins condensés subissent les mêmes tendances que les parties aériennes. Les teneurs en tanins condensés augmentent de 349 % au niveau racinaire chez *Salvia officinalis* et de 265% chez *Mentha suaveolens* par rapport au control. Le traitement avec l'AS principalement à 0,5 mM, entraine une diminution de ces teneurs en tanins condensés estimée à 68% chez *Salvia officinalis* et 66 % chez *Mentha suaveolens* par rapport aux plantes stressées non traitées avec l'AS.

8. Teneurs en Proline

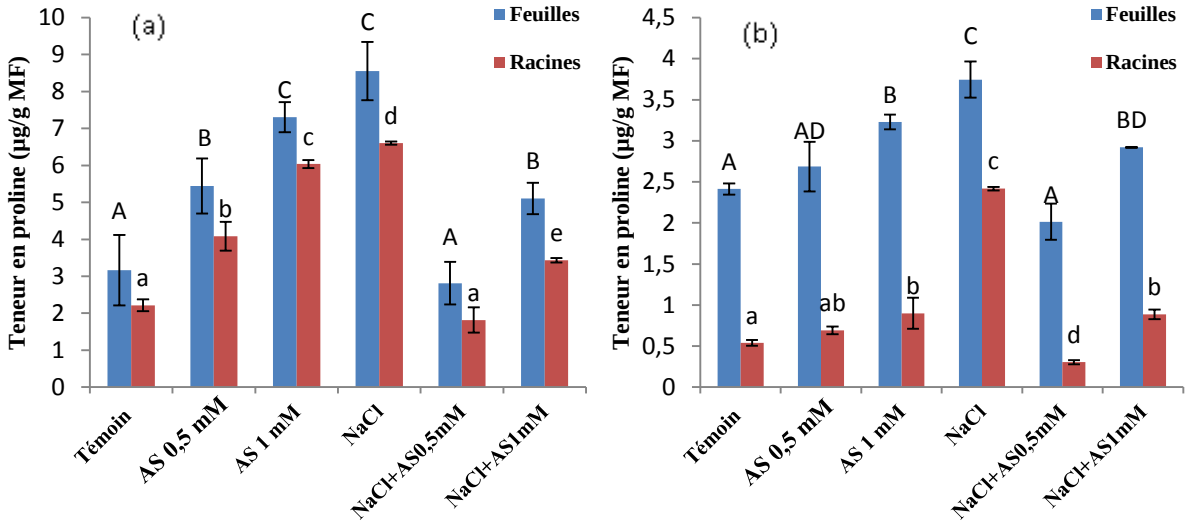

Figure 24 : Influence du stress salin et de l'AS sur les teneurs en proline (µg/g MF) chez *Salvia officinalis* (a) et chez *Mentha suaveolens* (b). Les valeurs indiquées par des lettres différentes sont significativement différentes ($P \leq 0,05$).

Nous assistons à une augmentation très importante des teneurs en proline aussi bien dans les feuilles que dans les racines en présence du stress salin. Chez *Salvia officinalis*, ces augmentations atteignent 170% au niveau foliaire et 198% au niveau racinaire, alors que chez *Mentha suaveolens* elles atteignent 55% au niveau foliaire et 349% au niveau racinaire. Néanmoins, les teneurs en proline des plantes cultivées sous stress salin subissent une baisse considérable lorsqu'on applique une pulvérisation foliaire avec l'AS. Ainsi, à la concentration de 0,5 mM, l'AS permet de ramener ces teneurs élevées à des valeurs significativement équivalentes à celles des témoins, alors qu'à 1 mM, on assiste à une baisse significative mais qui n'est pas très importante.

II. Influence de l'acide salicylique sur le rendement et la composition des huiles essentielles chez *Salvia offcinalis* et *Mentha suaveolens* cultivées sous stress salin

1. Chez *Salvia offcinalis*

Le rendement et la composition des huiles essentielles de *Salvia officinalis* cultivée sous les différents traitements sont répertoriés dans le tableau 11. Le stress salin entraine une diminution de 33% du rendement en huiles essentielles par rapport au témoin. Par contre, l'application de l'AS à des plantes stressées entraine une augmentation très importante des rendements en huiles essentielles. Ces augmentations peuvent atteindre 112% lorsque l'AS est utilisé à 0,5 mM et presque 62% lorsqu'il est utilisé à 1 mM.

En ce qui concerne la composition, quatre catégories de composés ont été identifiées qui sont principalement des monoterpènes hydrocarbonés et oxygénés, ainsi que des sesquiterpènes hydrocarbonés et oxygénés, avec des pourcentages différents selon les traitements. Les monoterpènes oxygénés représentent la famille principale quel que soit le traitement. Les principaux composés de cette famille sont le 1,8-cinéol, la thujone et le camphor , avec un bilan de disparition et d'apparition de certains composés. Le stress salin diminue les teneurs en monoterpènes hydrocarbonés et en monoterpènes oxygénés par rapport au témoin avec 34,11% et 1,83%, respectivement. Ainsi, nous notons une diminution de la teneur des composés majoritaires, le camphor varie de 26,41 à 19,11 %, la **α**-thujone de 27,43 à 20,20 % et le 1,8 cinéol de 14,92 à 10,00 %. D'autre part, le stress salin provoque l'apparition de la thujanone (15,73 %) avec des pourcentages élevés. Nous notons également l'apparition d'autres composés sous l'effet de NaCl non détectés dans les plantes témoins comme le viridiflorol (0,32 %), le caryophylladiénol II (0,38 %), l'isovalérate de géranyl (0,18 %), le -longipinène (0,34 %), le bornéol (0,83 %), l-α-terpinéol (1,58 %), Myrténol (0,27 %) et γ-Muurolene (0,24 %). Cependant, le stress salin augmente les teneurs en sesquiterpènes hydrocarbonés et oxygénés respectivement de 49,75 % et 19,07 % par rapport au témoin. Par ailleurs, l'application de l'AS sur des plantes ayant subi un stress salin, augmente les teneurs en monoterpènes hydrocarbonés de 24,84 % à 0,5 mM et de 33,02 % à 1 mM, et les monoterpènes oxygénés de 8,75 % à 0,5 mM et de 2,69 % à 1 mM. Dans ces conditions, l'AS à 0,5 mM entraine une augmentation des composés majoritaires: le camphor varie de 10,00 à 14,00 %, la -thujone de 20,20 à 25,38 %, la thujanone de 15,73 à 16,62 % et le 1,8-cinéol de 10,00 à 14,00 %. A 1 mM l'AS augmente la teneur en camphor de 19,11 à 24,62 %, le thujone de 20,20 à 27,58 % et le 1,8-cinéol de 10,00 à 14,14 %.

Tableau 11 : Influence de l'AS et du stress salin sur le rendement et la composition des huiles essentielles chez *Salvia officinalis*. Les valeurs indiquées par des lettres différentes sont significativement différentes ($P \leq 0,05$).

	Témoin	AS 0,5 mM	AS 1mM	NaCl	NaCl +AS 0,5 mM	NaCl+AS 1mM
Rendement (%)	1,2 ± 0,01a	1,5 ± 0,01b	1,8 ± 0,1c	0,8 ± 0,1d	1,7 ± 0,1e	1,3 ± 0,1f
Composés	**Surface de pic (%)**					
Monoterpènes hydrocarbonés						
Tricyclene	0,21	0,24	0,26	nd	nd	nd
α-Pinene	nd	7,44	2,00	2,09	2,89	2,93
β-Terpinene	6 ,43	nd	nd	2,00	2,69	2,88
Camphene	4,30	4,62	5,30	nd	4,07	nd
β-Pinene	1,85	2,24	nd	2,09	1,93	2,54
β-Myrcene	1,02	1,11	1,20	1,92	nd	1,21
α-Terpinene	0,12	nd	nd	Tr	0.20	1,76
Terpinolene	0,25	0,36	0,41	0,88	0,16	0,85
α-ocimene	0,10	nd	nd	nd	nd	nd
β-ocimene	0,17	0,11	nd	nd	0,12	nd
γ-Terpinene	nd	nd	0,31	0,68	nd	0,68
2-carene	nd	0,15	0,12	nd	nd	nd
Cis-Sabinene Hydrate	0,21	nd	nd	nd	nd	nd
Pseudolimonene	nd	nd	8,30	nd	nd	nd
Somme (%)	**14,66**	**16,27**	**17,90**	**9,66**	**12,06**	**12,85**
Monoterpènes oxygénées						
1,8-Cineole	**14,92**	**15,06**	**15,57**	**10,00**	**14,00**	**14,14**
Thujanone	**nd**	**nd**	**nd**	**15,73**	**16,62**	**6,00**
Thujanol	0,10	nd	nd	0,72	nd	0,23
β- Terpineol	0,12	nd	nd	0,15	0,19	0,22
β – Thujone	2,90	3,42	3,50	1,55	0,40	0,12
α – Thujone	**27,43**	**22,22**	**21,11**	**20,20**	**25,38**	**27,58**
camphor	**26,41**	**27,44**	**27,81**	**19,11**	**23,05**	**24,62**
Thujol	0,64	nd	0,45	nd	nd	nd
Endo-borneol	0,62	1,47	2,63	1,35	0,73	1,07
Borneol	nd	nd	nd	0,83	nd	0,48
Bornyl acetate	1,83	nd	0,90	1,41	nd	0,51
Terpinen-4-ol	0,87	nd	0,80	0,88	nd	0,90
L-α-terpineol	nd	0,40	0,66	1,58	0,40	0,35
Myrtenol	nd	nd	nd	0,27	0,26	0,24
Estragol	0,59	1,62	0,91	nd	nd	nd
Pulegone	nd	0,10	0,10	0,45	0,11	0,16
Costol	nd	nd	nd	0,38	nd	nd
Somme (%)	**76**	**71,73**	**74,44**	**74,61**	**81,14**	**76,62**
Sesquiterpènes hydrocarbonés						
Cariophyllene	1,11	1,82	1,4	1,29	2,24	1,30
Humulene	0,92	1,57	1,6	1,00	0,13	1,09
γ-Muurolene	nd	0,14	0,10	0,24	0,18	0,16
Cadinene	nd	0,13	nd	nd	nd	nd
β –Longipinene	nd	nd	nd	0,34	0,30	0,17
Germacrene-D	tr	nd	0,12	0,17	nd	0,14
Somme (%)	**2,03**	**3,66**	**3,1**	**3,04**	**2,85**	**2,86**
Sesquiterpènes oxygénés						
Geranyl isovalerate	nd	nd	nd	0,18	nd	0,13
Sabinol isovalerate	0,31	nd	0,17	nd	0,36	0,38
Caryophyllene oxide	0,98	0,79	0,72	0,65	0,71	0,29
Humulene epoxide II	0,65	0,78	0,75	0,49	0,96	1,30
Viridiflorol	nd	2,81	2,70	0,32	0,71	0,29
Caryophylladienol II	nd	nd	nd	0,38	0,24	0,17
β-Santalol	nd	nd	nd	0,29	0,30	0,22
Somme (%)	**1,94**	**4,38**	**4,34**	**2,31**	**2,28**	**2,78**
Total (%)	**94.63**	**96,04**	**99,78**	**89,62**	**98,33**	**95,11**

2. *Mentha suaveolens*

Le rendement et la composition des huiles essentielles de *Mentha suaveolens* cultivée sous les différents traitements sont répertoriés dans le tableau 12. Le stress salin entraine une diminution de 73,91% du rendement en huiles essentielles par rapport au témoin. Par contre, l'application de l'AS à des plantes stressées entraine une augmentation très importante des rendements en huiles essentielles. Ces augmentations peuvent atteindre par rapport aux plantes stressées 841% lorsque l'AS est utilisé à 0,5 mM et presque 350 % lorsqu'il est utilisé à 1 mM.

Concernant la composition, quatre catégories de composés sont identifiées qui sont principalement des monoterpènes hydrocarbonés et oxygénés, ainsi que des sesquiterpènes hydrocarbonés et oxygénés, avec des pourcentages différents selon les traitements. Le NaCl affecte la qualité des huiles essentielles de la plante puisque nous enregistrons une diminution des concentrations de toutes les molécules constitutives de cette huile essentielle. Dans ces conditions, nous enregistrons une diminution par rapport le témoin estimé à 46% chez les monoterpènes hydrocarbonés, 53% chez les monoterpènes oxygénées, 62% chez les sesquiterpènes hydrocarbonés et 79,2 % chez les sesquiterpènes oxygénés. La salinité entraine une forte diminution dans les teneurs des composés majoritaires notamment le 1,8-Cineol (varie de 8,92 à 4,33%), le thujanone (varie de 7 à 2,13%), le camphor (varie de10,06 à 5,88%) et le pulegone (varie de 10,32 à 5,02%). Par ailleurs, l'application de l'AS, principalement à 0,5 mM, sur des plantes ayant subi un stress salin permet de remédier à l'effet négatif du NaCl sur la qualité des huiles essentielles. Ainsi, nous enregistrons des augmentations estimées à 139,70% des monoterpènes hydrocarbonés, 254,74% des monoterpènes oxygénées, 117,59% des sesquiterpènes hydrocarbonés et 182,45% des sesquiterpènes oxygénés. En outre, à la concentration de 0,5 mM, l'AS améliore les concentrations des composés majoritaires affecté avec le stress salin : 1,8-Cineol augmente de 4,33 à 17,00%, le thujanone de 2,13 à 14,60%, le camphor de 5,88 à 18,90% et Pulegone de 5,02 à 16,11%.

Tableau 12 : Influence de l'AS et du stress salin sur le rendement et la composition des huiles essentielles chez *Mentha suaveolens*. Les valeurs indiquées par des lettres différentes sont significativement différentes ($P \leq 0,05$).

	Control	AS 0,5 mM	AS 1mM	NaCl	NaCl+AS 0,5 mM	NaCl+AS1mM
Rendement (%)	0,46 ± 0,01a	0,54 ± 0,01b	0,74 ± 0,02c	0,12 ± 0,01d	1,13 ± 0,02e	0,54 ± 0,01f
Composés	**Surface de pic (%)**					
Monoterpènes hydrocarbonés						
α-Pinene	0,88	0,5	0,47	0,3	0,93	0, 51
β-Terpinene	nd	0,7	0,85	nd	0,88	0,17
Limonene	2,28	2,81	1,38	1,5	2,50	0,94
α-Terpinene	1,2	0,23	1,5	0,4	1,02	1,20
Terpinolene	0,3	0,73	0,5	0,1	1,2	1,6
γ-Terpinene	0,3	0,52	0,3	0,1	0,53	0,35
3-carene	1,34	1,63	1,4	1	1,09	0,49
Somme (%)	**6,3**	**7,12**	**6,4**	**3,4**	**8,15**	**4,75**
Monoterpènes oxygénées						
1,8-Cineole	**8,92**	**11,87**	**10,06**	**4,33**	**17,00**	**10,14**
Thujanone	**7**	**9,03**	**8,89**	**2,13**	**14,60**	**11,23**
Thujanol	2,3	5,5	5,6	1,00	3,00	3,10
Terpineol	6,09	6,9	6,99	3,43	6,00	5,26
Thujone	0,6	3,42	3,4	0,3	2,14	2,75
Menthol	2,32	7,22	4,74	0,94	2,33	2,94
Menthone	2,23	5,22	6,64	0,49	3,30	1,94
camphor	**10,06**	**16,44**	**15**	**5,88**	**18,90**	**14,43**
Bornyl acetate	0,23	0,57	0,55	0,16	0,80	0,53
Terpinen-4-ol	0,18	0,82	0,33	0,10	0,30	0,12
L-α-terpineol	0,34	0,4	0,8	0,23	0,24	0,25
Myrtenol	0,16	0,6	0,56	0,09	0,23	0,26
Estragol	0,82	0,41	0,4	0,12	0,97	0,84
Pulegone	**10,32**	**15,11**	**12,18**	**5,02**	**16,11**	**13,60**
Somme (%)	**51,37**	**83,51**	**76,14**	**24,22**	**85,92**	**67,39**
Sesquiterpènes hydrocarbonés						
sabinene hydrate	0,6	0,66	0,29	0,03	0,45	0,34
Cariophyllene	0,34	0,59	0,94	0,07	0,14	0,12
Humulene	0,39	0,34	1,29	0,12	0,72	0,49
γ-Muurolene	0,34	0,73	0,75	0,28	0,39	0,23
Cadinene	0,4	0,82	0,4	0,20	0,32	0,33
β –Longipinene	0,2	0,25	0,56	0,12	0,10	0,13
Germacrene-D	0,56	2,65	3,76	0,26	0,23	0,61
Somme (%)	**2,83**	**6,04**	**7,99**	**1,08**	**2,35**	**2,25**
Sesquiterpènes oxygénés						
Geranyl isovalerate	0,23	0,74	0, 94	nd	0,19	0,14
Sabinol isovalerate	0,34	0, 93	0,21	0,03	0,28	0,15
Caryophyllene oxide	0,34	0, 3	0,12	0,21	0,23	0,24
Humulene epoxide II	0,28	0,42	0,4	0,11	0,12	0,13
Viridiflorol	0,64	0,5	0,6	0,12	0,51	0,25
Cadinol	0,22	0,42	0,56	0,04	0,12	0,13
Caryophylladienol II	0,69	0,5	0,56	0,06	0,16	0,10
Somme (%)	**2,74**	**2,81**	**2,45**	**0,57**	**1,61**	**1,14**
Total (%)	**63,24**	**99,48**	**92,98**	**29,27**	**98,03**	**75,53**

Discussion

Les résultats obtenus dans ce chapitre montrent les effets négatifs du stress salin sur la croissance de *Salvia offcinalis* et de *Mentha suaveolens*. Cette réduction de la croissance est étroitement associée à la toxicité des ions sodium accumulés dans la plante (Bouchoukh, 2010 ; Aftab *et al.,* 2011). On assiste ainsi à un déséquilibre nutritionnel (Munns 2002 ; Kasrati *et al.,* 2014 ; Rashad et Hussien 2014) et/ou à une réduction d'absorption de l'eau ce qui provoque par la suite des changements dans les activités métaboliques (Jaleel *et al.,* 2007 ; Rouphael *et al.,* 2018). Dans ce sens, nos résultats montrent une augmentation des teneurs en sodium avec une diminution des teneurs en K, P et Ca.

Par ailleurs, la diminution des teneurs en pigments chlorophylliens observée dans les conditions de stress salin est susceptible d'interférer négativement sur le rendement de la photosynthèse qui est l'un des processus métaboliques indispensables liées à la croissance de la plante. Cette baisse de rendement confirme les résultats d'Ahmad *et al.,* (2017) et de Hashimi *et al.,* (2011). La diminution des teneurs en chlorophylles pourrait être due à l'instabilité des complexes protéiques, responsables de la synthèse de la chlorophylle et/ou à la destruction de la chlorophylle par l'activité accrue de la chlorophyllase qui dégrade la chlorophylle dans les conditions salines (drees *et al.,* 2011). Parmi les aspects de toxicité des concentrations excessives des sels est l'accumulation des ERO (Noreen et Muhammad 2008). Ces radicaux libres peuvent déséquilibrer le métabolisme de la plante par l'action oxydative des lipides, des protéines et des acides nucléiques lorsqu'ils sont produits en excès (McCord, 2000). L'accumulation des ERO induite par le sel, qui est une cause potentielle de stress oxydatif, est souvent positivement corrélée avec la teneur en MDA (Siddiqui *et al.,* 2017 ; Akram *et al.,* 2017 ; Soundararajan *et al.,* 2018 ; Freitas *et al.,* 2018). Dans ce sens, nos résultats montrent une accumulation excessive de H_2O_2 accompagnée d'une accumulation importante de MDA. En outre, le métabolisme secondaire de la plante, particulièrement la synthèse des polyphénols et des huiles essentielles, est largement stimulé par le stress salin. Concernant la synthèse des huiles essentielles, nos données montrent que la salinité diminue la synthèse de ces composés terpéniques chez les deux plantes étudiées. Ces données confirment les résultats de Kasrati *et al.,* (2014) qui ont montré que la synthèse des huiles essentielles de *Mentha suaveolens* diminue pour un taux de salinité de 150 mM. Khanam et Mohammad (2018) ont également montré que des concentrations de 100 et 150 mM affectent gravement la synthèse des huiles essentielles chez *Mentha piperita.* Par contre, Taarit *et al.,* (2009) ont montré une augmentation de rendement des huiles essentielles chez *Salvia officinalis* sous l'effet d'un taux de salinité de 75 et 100 mM. Chez *Mentha pulegium,* Karray-Bouraoui *et al.,* (2009) ont montré que le traitement avec NaCl à 50 mM augmente ce rendement. L'effet négatif de la salinité sur la synthèse des huiles essentielles peut être attribué à l'inhibition de l'apport de cytokinines aux parties aériennes à partir des

racines et à l'altération du rapport entre les teneurs en cytokinines et les teneurs en acide abscissique (El-keltawi et Croteau, 1987). Cet effet négatif peut également être dû à la toxicité des ions Na^+ sur la membrane cellulaire, le cytoplasme, le noyau de la cellule et sur la disponibilité de certains nutriments essentiels à la plante (Kasrati, *et al.,* 2014). Prakasa *et al.,* (1995) ; Croteau (1987) ont également suggéré que parmi les facteurs qui influencent le rendement des huiles essentielles des plantes aromatiques et médicinales il y a également la densité des glandes sécrétrices.

Concernant la composition chimique des huiles essentielles, nous avons observé de nombreuses variations qualitatives et quantitatives selon les traitements. Ces modifications se traduisent par l'apparition ou la disparition de certains composés et des modifications des teneurs en composés préexistants. *Salvia officinalis* est l'une des plantes médicinales et aromatiques les plus importantes, avec des propriétés antioxydantes, antimicrobiennes, spasmolytiques, astringentes, anti-hidrotique et sensorielles spécifiques. Son huile essentielle est principalement composé de 1,8 cinéole, la thujone et le camphor. Russo *et al.,* (2013) ont montré l'importance de l'effet de l'α-thujone et du camphor dans l'activité anticancéreuse de *Salvia officinalis*. Dans notre étude, nous avons remarqué que le stress salin diminuait la teneur de ces composés majoritaires : le 1,8-cinéol, varie de 14,92 à 10,00 % de camphor de 26,41 à 19,11 % et de α-thujone de 27,43 à 20,20%. Nous avons noté l'apparition d'une nouvelle molécule majeure la thujanone (son contenu 15,73%). Nous avons noté également l'apparition d'autres composés sous l'effet de sel non détectés dans les plantes témoins comme le viridiflorol (0,32%), le caryophylladiénol II (0,38%), l'isovalérate de géranyl (0,18%), le longipinène (0,34%), le bornéol (0,83%), l-α terpinéol (1,58 %) et Myrtenol (0,27 %).

Chez *Mentha suaveolens,* le NaCl affecte la qualité des huiles essentielles de la plante puisque nous enregistrons une diminution des concentrations de toutes les molécules constitutives de cette huile essentielle. La salinité entraine une forte diminution dans les teneurs des composés majoritaires notamment le 1,8-Cineol, le thujanone, le camphor et le pulegone.

Par ailleurs, plusieurs travaux montrent l'effet positif des régulateurs de croissance exogènes notamment l'AS, pour atténuer les effets néfastes de la salinité sur différentes plantes (Qiu *et al.,* 2014 ; Akram *et al.,* 2017 ; Ahmad *et al.,* 2017 ; Nie *et al.,* 2018). Dans cette optique, nos résultats montrent que la pulvérisation foliaire avec l'AS, principalement à 0,5 mM, améliore la croissance de *Salvia officinalis* et de *Mentha suaveolens* cultivés sous stress salin. Cette amélioration de la croissance est confirmée par une diminution des niveaux de Na accompagnée par une augmentation des teneurs en K, P et Ca^{2+} qui sont affectées par la salinité. Ahmad *et al.,* (2018) ont montré une augmentation des teneurs en Ca^{2+} et K accompagné d'une diminution des teneurs en Na. Ahmed *et al.,* (2017) ; Faghih *et al.,* (2017) ; Gautam et Singh (2009) ont lié la stimulation de la croissance par l'AS à une

amélioration d'assimilation de Fe, K, Mg, N, P, K, Mg, Mn et Ca avec une diminution de la concentration de Na^+. Selon Shakirova *et al.,* (2003) l'AS augmente le niveau de division cellulaire dans le méristème apical des plantules, ce qui provoque une augmentation de la croissance des plantes. L'amélioration de la croissance est également liée au profil hormonal amélioré sous l'effet de l'AS. Shakirova *et al.,* (2003) ; Kováčik *et al.,* (2010) puis Ahmed *et al.,* (2017) ont montré une diminution du taux des cytokinines et de l'AIA sous l'effet de la salinité ce qui provoque une inhibition de la croissance. Des auteurs ont montré que l'AS augmente les teneurs en AIA et en ABA qui joue un rôle dans la régulation des gènes et des activités des enzymes antioxydants (Bari et Jones, 2009), augmente le mouvement des stomates (Wilkinson et Davies 2010) et entraine une diminution de la transpiration et une réduction de la perte en eau. Shakirova *et al.,* (2013) ont conclu que l'AS stimule la synthèse de l'ABA endogène qui est un intermédiaire hormonal susceptible de déclencher les réactions de défense qui constituent la base du développement de la résistance des plantes au stress. Cette résistance des plantes aux stress est confirmée dans nos travaux par l'effet de l'AS principalement à 0,5 mM sur l'atténuation des concentrations de H_2O_2 après la pulvérisation de l'AS. Ainsi, Pirasteh-Anosheh et Emam (2018) ; Ahmad *et al.,* (2018) ; Mutlu *et al., (*2009) ; Lee *et al.,* (2019) ont signalé une atténuation du stress oxydatif induit par le sel avec une diminution du taux de MDA dans les feuilles des plantes *Hordeum vulgare* et *Vicia faba.* Aftab *et al., (*2011) ont lié l'atténuation des effets négatifs du stress à une amélioration de l'activité des enzymes antioxydants (CAT, APX et SOD). L'AS diminue également les teneurs en polyphénols et en tanins condensés dans cas de stress salin. Cette diminution peut être attribuée à l'activation des polyphénols oxydases (PPO) qui catalysent les composés phénoliques en quinones (Boukraa *et al.,* 2008). Elle peut également être due à la liaison des polyphénols aux autres substances organiques tels les carbohydrates ou les protéines (Saharan *et al.,* 2002). Par ailleurs, la proline est considérée comme un soluté impliqué dans l'ajustement osmotique sous stress (Azooz *et al.,* 2004) donc la réduction du taux de proline indique le rôle positif de l'AS en présence de stress salin (Aftabe *et al.,* 2011).

En outre, nous avons montré que l'AS améliore l'activité photosynthétique des plantes principalement à 0,5 mM confirmant les résultats de Noreen et Muhammad, (2008) qui ont attribué la stimulation de la croissance induite par l'AS à la stimulation de la capacité photosynthétique. Cet effet positif pourrait être lié à l'effet positif de l'AS sur l'activité de RuBisCO, PEP carboxylase et la biosynthèse de la chlorophylle (Mateo *et al.,* 2006).

Par ailleurs, le traitement des plantes avec l'AS stimule la synthèse des huiles essentielles. Aftab *et al.,* (2011) et Idrees *et al.,* (2011) ont montré une amélioration du rendement des huiles essentielles sous l'effet de l'AS en présence de stress salin. En outre, Khanam et Mohammad (2018) ont montré que

l'interaction NaCl×AS présente le meilleur rendement chez *Mentha piperita* L. Ces derniers auteurs ont lié cette amélioration à une augmentation des teneurs en NPK, de nombre et du diamètre de glandes peltées sous l'effet de l'AS. Cette amélioration peut être également liée à une amélioration de la photosynthèse et de la croissance (Syeed *et al.,* 2011). De plus, cette amélioration pourrait être liée à l'effet bénéfique de l'AS sur les glandes de sécrétion des huiles essentielles et sur les enzymes responsables de la biosynthèse des mono et sesquiterpènes (Rowshan *et al.,* 2010). Cette augmentation des teneurs en huiles essentielles pourrait également être dû à une augmentation du nombre de glandes et à des modifications du profil hormonal des plantes (Copetta *et al.,* 2006 ; Hazzoumi *et al.,* 2017), car des taux accrus d'auxines et de gibbérellines ont été enregistrés chez les plantes traitées par l'AS (Tomaszewski et Thimman, 1966 ; Hashmi *et al.,* 2012). Chez le basilic Hazzoumi *et al.,* (2016) ont remarqué une augmentation de la densité des glandes peltées après le traitement avec AIA.

Concernant la qualité des huiles essentielles, la pulvérisation de l'AS chez *Salvia officinalis* augmente les teneurs des composés majoritaires affectés par le stress salin. Des résultats similaires sont observés par Pirbalouti *et al.,* (2014) et Mohammadi *et al.,* (2019), qui indiquent que la pulvérisation foliaire du thym avec l'AS réduit l'effet du stress hydrique sur la concentration du composé principal de l'huile essentielle, et augmente les concentrations de p-cymène, α-pinène, α-thujone et carvacrol (Pirbalouti *et al.,*2014). Chez *Mentha suaveolens,* la pulvérisation de l'AS permet la remédiation aux effets négatifs du NaCl sur la qualité des huiles essentielles. L'AS améliore les concentrations des composés majoritaires affectées avec le stress salin. Cet effet peut être attribué à l'effet bénéfique de l'AS sur le métabolisme et les activités enzymatiques responsables de la biosynthèse des mono et sesquiterpènes (Ahmad *et al.,* 2018). De plus, Rowshan *et al.,* 2010 ont démontré que le rendement en huile essentielle de *Salvia macrosiphon* augmentait après l'application de l'AS à 400 mg l^{-1} avec des taux accrus d'hexylisobutanate et de linalol et l'apparition de nouveaux composés comme le 1,8-cinéol et le α-pinène.

Chapitre 6 : Evolution des structures glandulaires de *Salvia officinalis* et de *Mentha suaveolens* soumises à différents stress

Introduction

Les Lamiaceae constituent une famille riche en espèces aromatiques caractérisées par la synthèse des huiles essentielles d'intérêt industrielle et médicinale biosynthétisée et accumulées dans le trichome glandulaire répartis sur les organes aériens végétatif et reproductif. Le stockage des huiles essentielles dans ces structures peut être utilisé pour limiter la toxicité pour la plante elle-même, car il est démontré que de nombreux terpènes sont potentiellement toxiques pour les tissus végétaux lorsqu'ils sont libérés dans les cellules environnantes (Loveys *et al.,* 1992). Ces huiles essentielles sécrétées par les trichomes glandulaires protègent les plantes contre les herbivores, les agents pathogènes et jouent un rôle dans l'attraction des pollinisateurs. Dans les Lamiaceae, la morphologie, la distribution et la fréquence des trichomes glandulaires sont utilisées comme caractères déterminants au niveau de la sous-famille.

Salvia officinalis est un sous-arbuste ligneux vivace originaire de la région méditerranéenne. Il est maintenant largement cultivé dans le monde entier, principalement pour obtenir des feuilles séchées destinées à être utilisées comme matière première en médecine, en parfumerie et dans l'industrie alimentaire (Bruneton, 1999). Dans presque toutes les espèces étudiées de la sauge, on distingue deux types principaux de trichomes glandulaires, le pelté et le capité, qui se distinguent par la taille de la tête, la longueur de la tige (la morphologie) et aussi par le matériel sécrétoire et le mode de sécrétion (Werker *et al.,*1993). D'un point de vue fonctionnel, Werker (1993) a classifié les trichomes glandulaires en deux types, selon différents modes et moments de la sécrétion : (a) le trichome glandulaire à court terme, qui commencent et finissent rapidement la sécrétion ; (b) le trichome glandulaire à long terme, dans lesquels du matériel sécréteur est accumulé dans un grand espace sous-cuticulaire.

Les glandes capitées ont une longueur, une forme de tête et un processus de sécrétion très variables. Ils peuvent être subdivisés en différents types, de types I, II, III et IV qui diffèrent par la structure, la localisation, le matériel sécrétoire (Werker *et al.,* 2000 ; Werker 1993). Les trichomes glandulaires des feuilles peuvent protéger *Salvia officinalis* de la concurrence d'autres plantes, car les terpènes tels que le camphene, le camphor et le 1,8-cinéol, composants typiques de l'huile essentielle de sauge, sont de puissants agents allélopathiques (Harborne, 1993).

Le genre Mentha, comprenant plus de 25 espèces, est produit d'environ 2 000 t d'huile essentielle dans le monde, ce qui en fait le deuxième plus important genre producteur d'huiles essentielles, après Citrus (Mucciarelli *et al.,* 2001). Le genre Mentha possède des trichomes glandulaires responsables sur la biosynthèse, la sécrétion et l'accumulation d'huile essentielle et de trichome non glandulaire (poils

protecteurs) (McCaskill *et al.,* 1992 ; Serrato-Valenti *et al.,* 1997). Le trichome glandulaire est subdivisé en deux types : le peltées et le capitées, qui se distinguent par la taille de la tête, la longueur de la tige aussi par le matériel sécrétoire, le mode et le moment de sécrétion (Werker et *al.,* 1993).

Dans ce travail nous nous sommes intéressés a étudié effet de la toxicité du stress (Zn, Cu et NaCl) sur le trichome glandulaire.

I. Ultrastructure des glandes de *Salvia officinalis*

Des observations microscopiques photonique de feuilles de *Salvia officinalis* ont montré l'existence de poils protecteurs (trichome non glandulaires) (fig. 25a) et de deux types de glandes sécrétoires : peltées et capitées. Les glandes peltées (fig. 25b, c, d) et capitées (fig. 26) diffèrent par la taille de la tête, la longueur de la tige, le mode et la période de sécrétions.

Les glandes peltées sont formées d'une cellule basale, d'une tige courte et unicellulaire et d'une tête large et ronde (fig. 25b, c, d). Nos observations mettent en évidence des glandes peltées composées de 12 cellules avec un disque central de 4 cellules et 8 cellules périphériques (fig. 25e).

Les glandes capitées (fig. 26) sont constituées d'une base comprenant des cellules épidermiques, d'une tige et d'une tête plus petite que celle des glandes peltées. Ces glandes possèdent une morphologie variable puisque nos observations montrent la présence des glandes avec une tige à une seule cellule (fig. 26a, b, c) et des glandes à plusieurs cellule (fig. 26 d, e, f). Par ailleurs, nos observations en microscopie optique montrent la présence de produit de sécrétion (Flèche rouge) sur les glandes capitées (fig. 26a, b, d, e). Le matériel de sécrétion exsude lentement juste après sa production à travers une cuticule poreuse ou à travers la cuticule intacte et est libéré soudainement si la cuticule est rompue.

Les observations par microscopie électronique à balayage confirment celles réalisées par microscopie photonique c'est-à-dire présence des glandes peltées (fig. 27a), des glandes capitées (fig. 27b) et de trichomes non glandulaires.

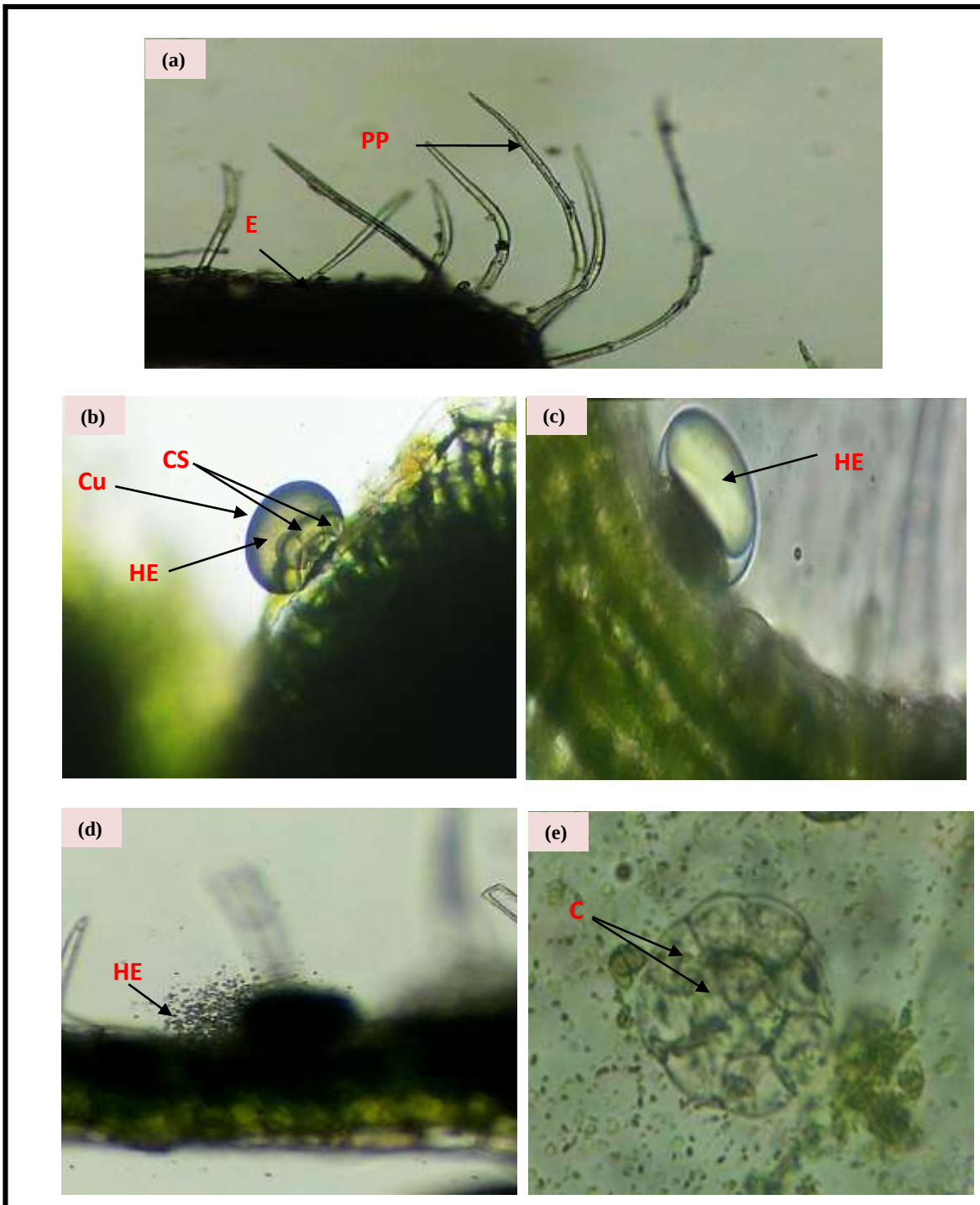

Figure 25 : Observations en microscopie photonique sur les feuilles de *Salvia officinalis*. (**G × 400**)
Poils protecteurs (a) ; glande peltées en phase de sécrétion (b, c) ; glandes peltées en phase post sécrétion (d) ; glande peltées détachée avec 12 cellules (e).
PP : Poil protecteur ; CS : Cellule de sécrétion ; Cu : Cuticule ; HE : huiles essentielles ; E : Epiderme ; C : Cellule

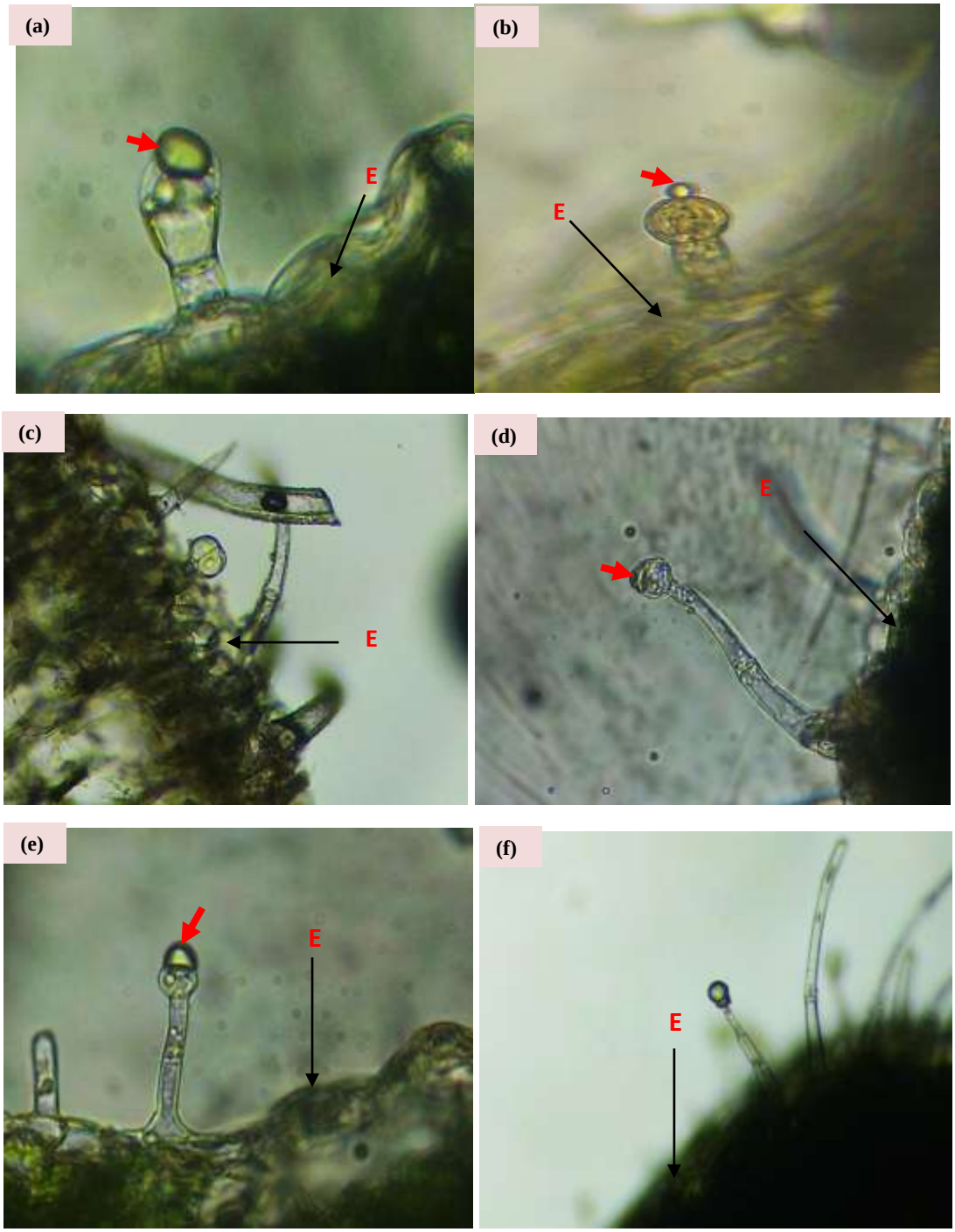

Figure 26 : Observation en microscopie photonique des glandes capitées chez *Salvia officinalis.* (**G × 400)**
E : Epiderme

.

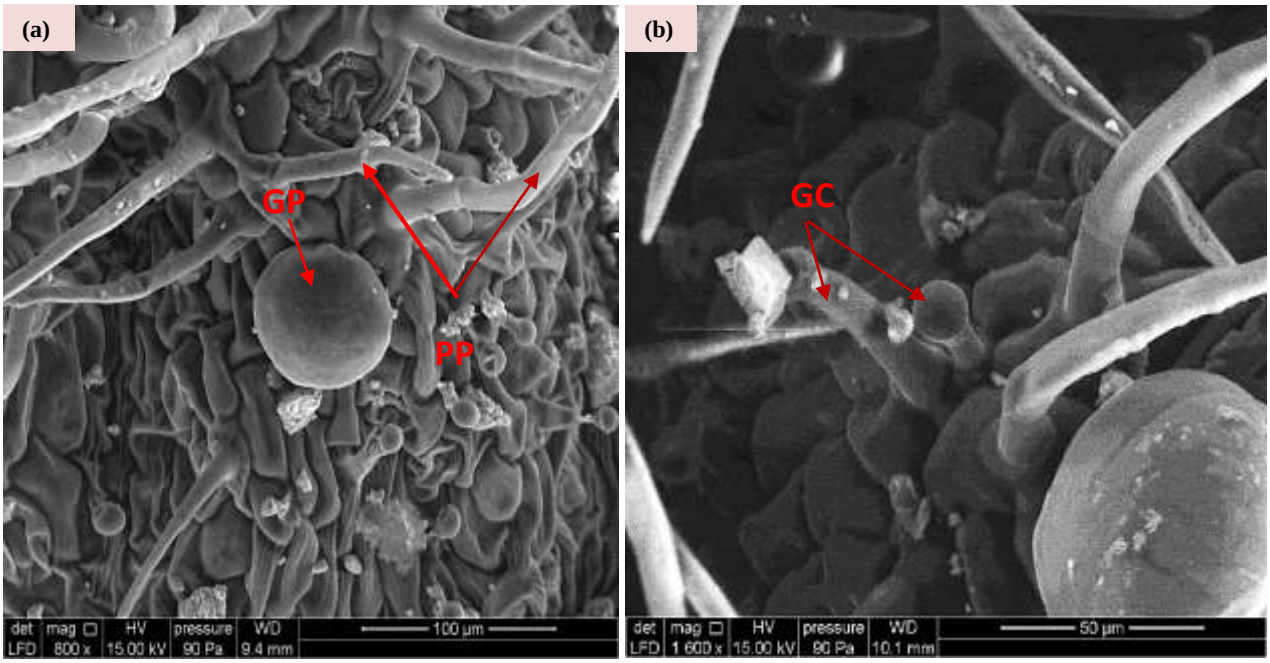

Figure 27 : Observation en microscopie électronique à balayage environnementale de la face ventrale des feuilles de *Salvia officinalis.* (a) glandes peltées ; (b) glandes capitées
GP : glandes peltées ; GC : glandes capitées ; PP : Poil protecteur

II. Effet de stress de stress en zinc sur la structure des glandes de *Salvia officinalis*

Chez les plantes traitées avec le zinc, les observations en MEB montrent la présence des glandes peltées et capitées présentant des caractéristiques identiques à celles observées chez les plantes témoins. En plus de toutes ces formes courantes des glandes, le traitement au Zn a révélé la présence de structures différentes caractérisées par une morphologie atypique, présentant des déformations sous forme de poches à leur surface (fig. 28b et 29). Ces poches, généralement de forme sphérique, peuvent être uniques à la surface d'une glande et même souvent, ce sont plusieurs poches localisées sur une même glande (fig. 29). D'un autre côté, en plus de la forme habituellement sphérique des glandes, nous constatons l'apparition d'une autre forme de déformation sous l'effet du zinc. Cette déformation consiste en la forme ovoïde des glandes (Fig. 30). Par ailleurs, les observations en MEB de plantes ayant été cultivées en présence de zinc et traitées par pulvérisation foliaire avec l'AS à 0,5 ou à 1 mM n'ont jamais permis de rencontrer de telles structures déformées. Ceci laisse suggérer l'effet toxique du Zn sur l'apparition de ces anomalies structurelles, alors que le traitement avec l'AS joue un rôle inhibiteur de cet effet toxique du zinc.



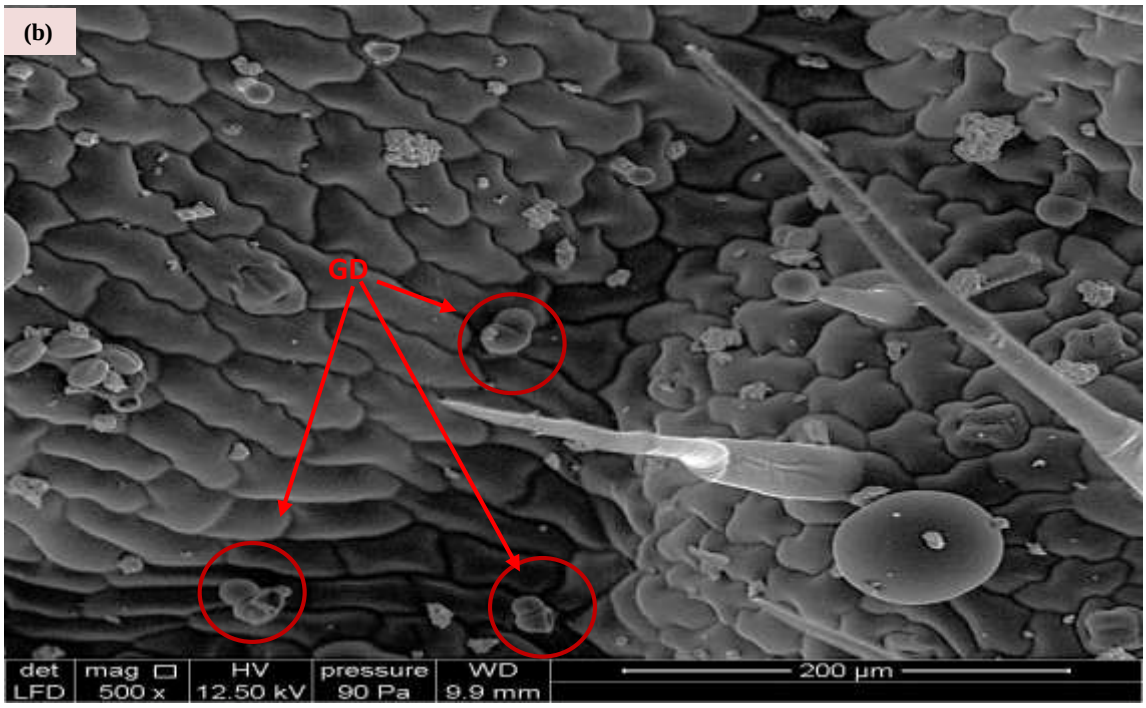

Figure 28 : Observation en microscopie électronique à balayage environnementale de la face ventrale des feuilles de *Salvia officinalis.*
Témoin (a) et Zn (b).
GD : glandes déformées

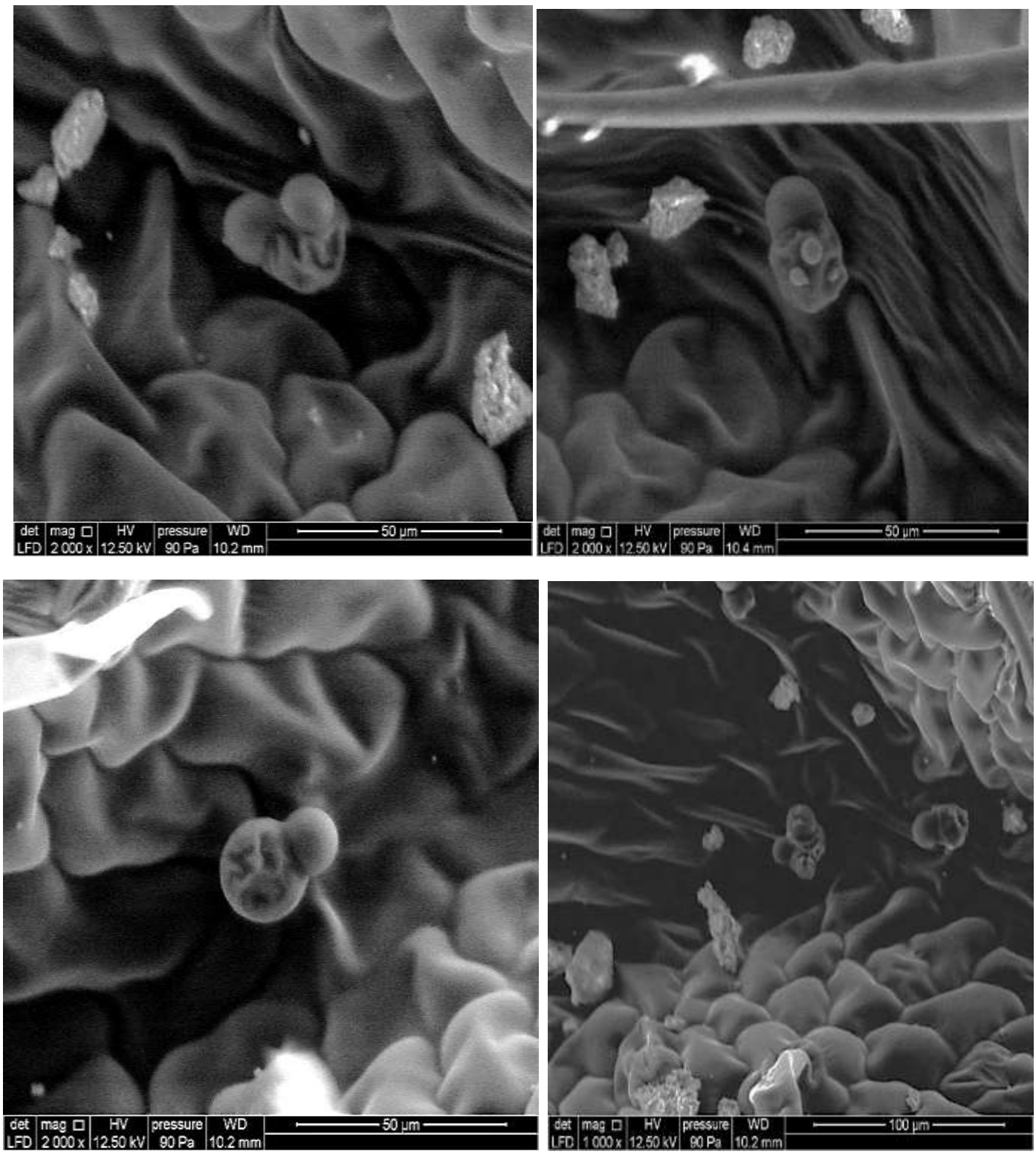

Figure 29 : Observation en microscopie électronique à balayage environnementale de la face ventrale des feuilles de *Salvia officinalis* montrant des déformations glandulaires sous forme de poche après le traitement avec le Zinc

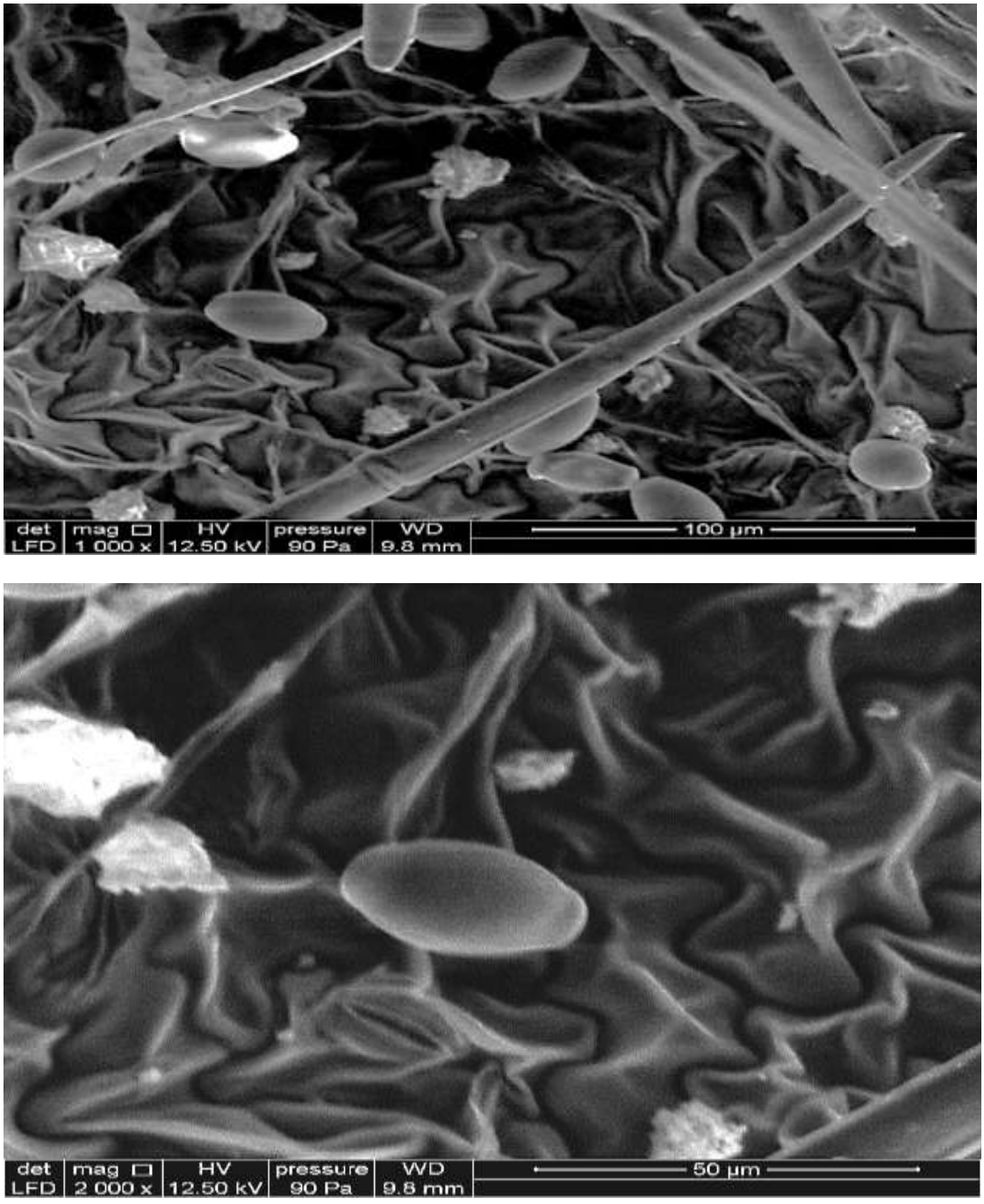

Figure 30 : Observation en microscopie électronique à balayage environnementale de la face ventrale des feuilles de *Salvia officinalis* montrant des glandes ovales après le traitement avec le Zinc

III. Effet de stress salin sur la structure des glandes de *Salvia officinalis*

Les observations en MEB de feuilles de *Salvia officinalis* ayant subi un stress salin montrent des glandes sécrétrices présentant des caractéristiques identiques à celles observées chez les témoins. Cependant, à côté de ces glandes à formes habituelles, un certain nombre d'anomalies dans la structure ont été observées dans certaines glandes. Les observations (fig. 31b et fig. 32) montrent des glandes présentant des anomalies qui consistent en la présence de structures glandulaires caractérisées par des déformations sous forme de petites poches situées sur la tête de la glande (fig. 31b). On peut ainsi rencontrer des glandes qui possèdent une seule poche (fig.32c et d) et parfois deux poches (fig. 32e). A côté de ce type de déformation qui est le plus fréquemment observé, on constate une deuxième anomalie, moins fréquente, qui réside dans le fait que certaines glandes perdent leur caractéristique sphérique et prennent une forme ovoïde (fig. 32a). Ces anomalies observées dans les feuilles des plantes stressées disparaissent complètement lorsque ces plantes reçoivent un traitement avec l'AS.

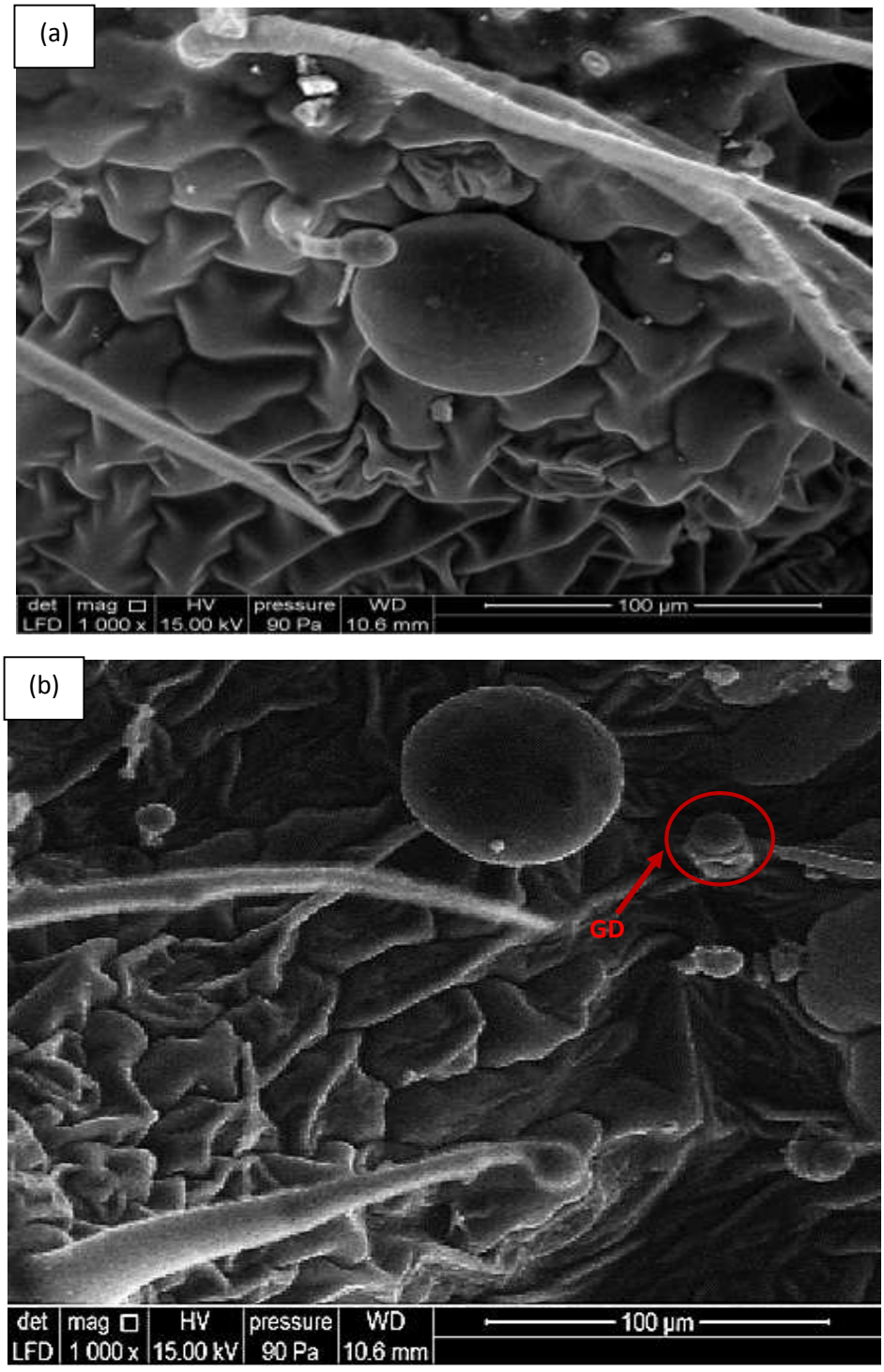

Figure 31 : Observation en microscopie électronique à balayage environnementale de la face ventrale des feuilles de *Salvia officinalis* Témoin (a) et cultivée sous stress salin (b). GD : glandes déformées

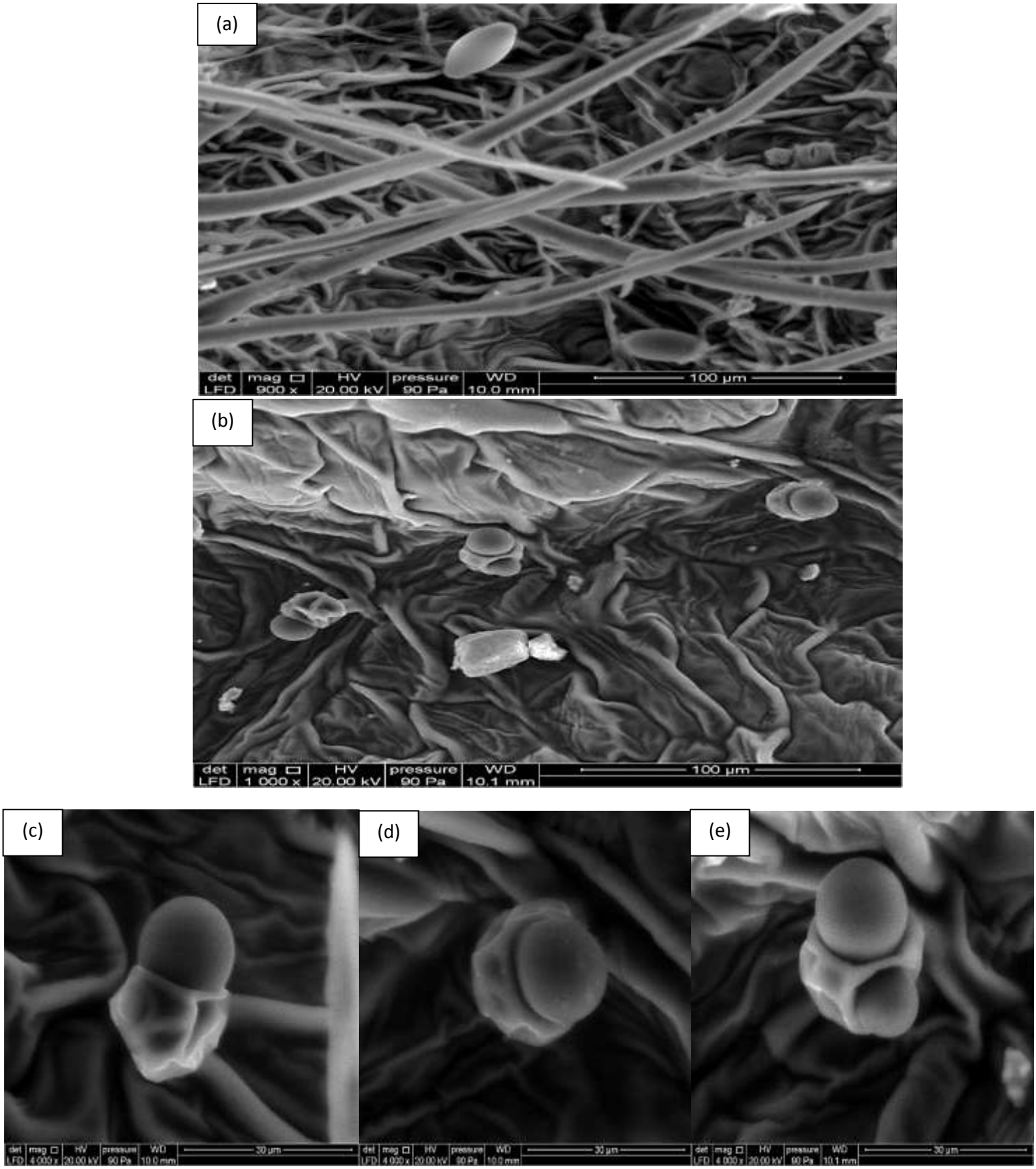

Figure 32 : Observations en microscopie électronique à balayage environnementale de feuilles de *Salvia officinalis* cultivée sous stress salin. (a) glande ovale ; (b) glande avec des poches ; (c et d) glandes avec une seule poche ; (d) glande avec deux poches

IV. Ultrastructure des glandes de *Mentha suaveolens*

Les observations microscopiques réalisées en microscopie photonique sur les feuilles de *Mentha suaveolens* montrent la présence de trichomes non glandulaires (fig. 33) et deux types trichomes glandulaires : peltées (fig. 34) et capitées (fig. 35) qui différent par leur morphologie.

Le trichome non glandulaire : sont multicellulaire ramifiées (fig. 33a) ou non ramifiées (fig. 33b). Ce type de glande assure une fonction de protection comme barrière mécanique et n'a pas assuré une sécrétion des huiles essentielles.

Les glandes peltées : Nos observation montrent que ces glandes sont caractérisées avec une cellule basale, une tige courte unicellulaire et une tête large et ronde (fig.34) avec une grande chambre sous-cuticulaire pour le matériel de sécrétion, « poils glandulaires à long terme », comme indiqué par Werker, 1993).

Les glandes capitées : Ces poils consiste en une base comprenant des cellules de l'épiderme, une tige et une tête plus petite que celle des peltées (fig. 35), Ces glandes sont caractérisées par une cuticule mince avec une chambre sous cuticulaire.

Les observations réaliser par MEB confirment celles réalisées par microscopie photonique c'est-à-dire présence des glandes peltées (fig. 36a), des glandes capitées (fig. 36b) et de trichomes non glandulaires.

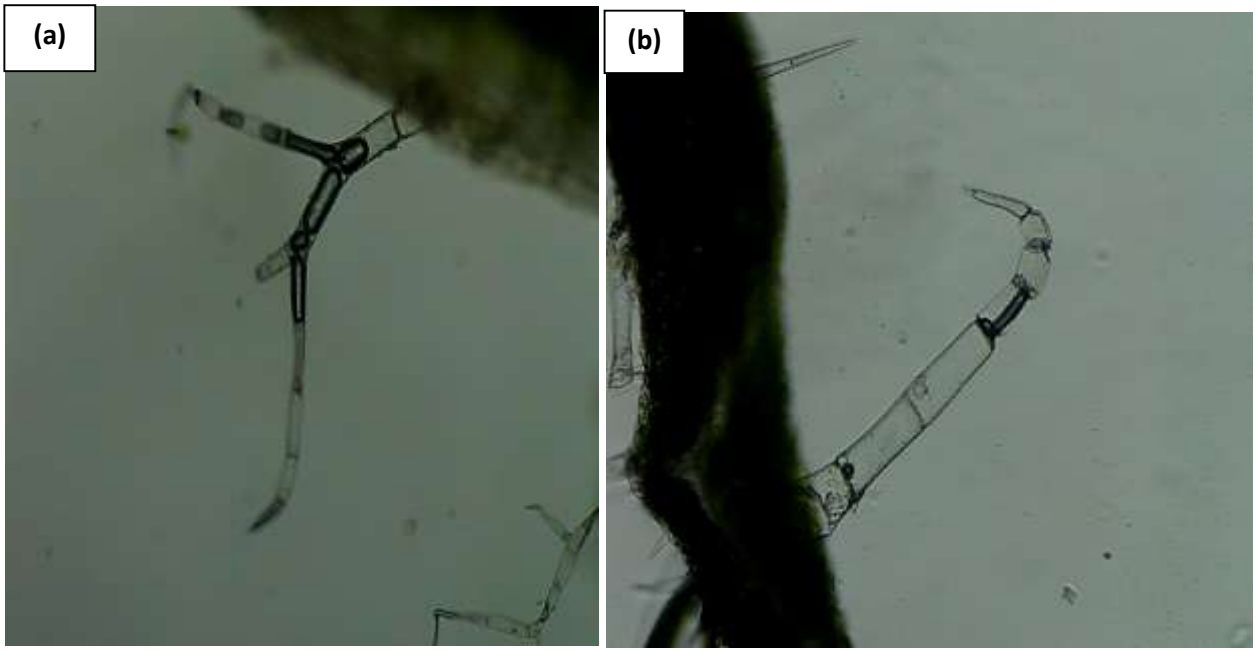

Figure 33 : observation par microscopie optique de poils protecteurs chez *Mentha suaveolens*, (**G × 400)**
(a) poil ramifié ; (b) poil non ramifié

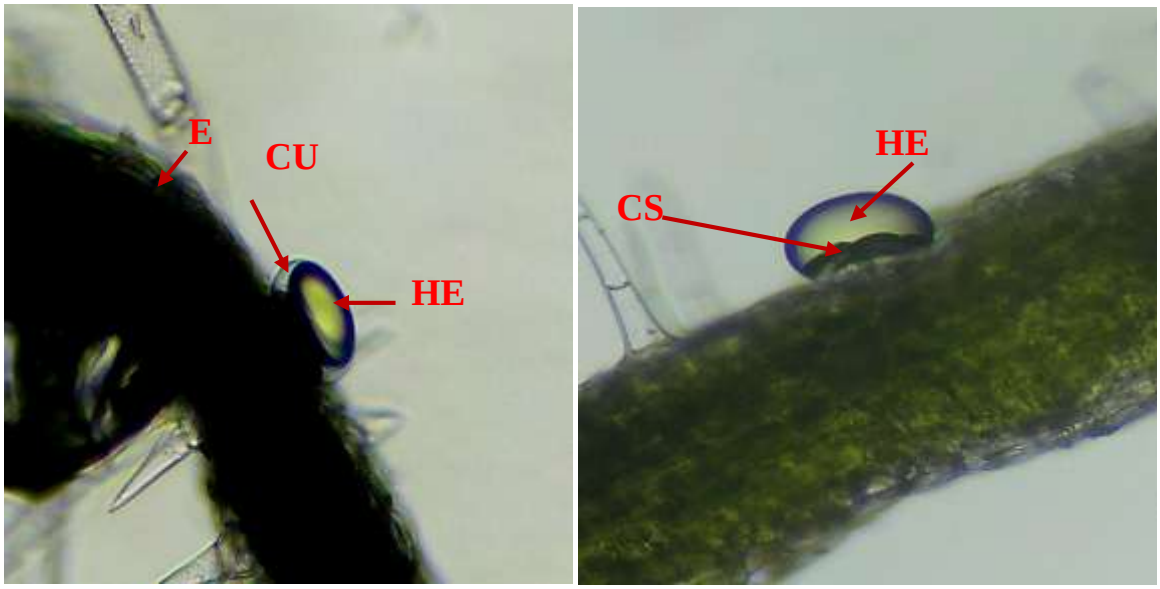

Figure 34 : observation de microscopie optique de glande peltées chez *Mentha suaveolens.* (**G × 400)**
E : épiderme ; Cu : cuticule ; HE : huile essentielle ; CS : cellules de secrétions

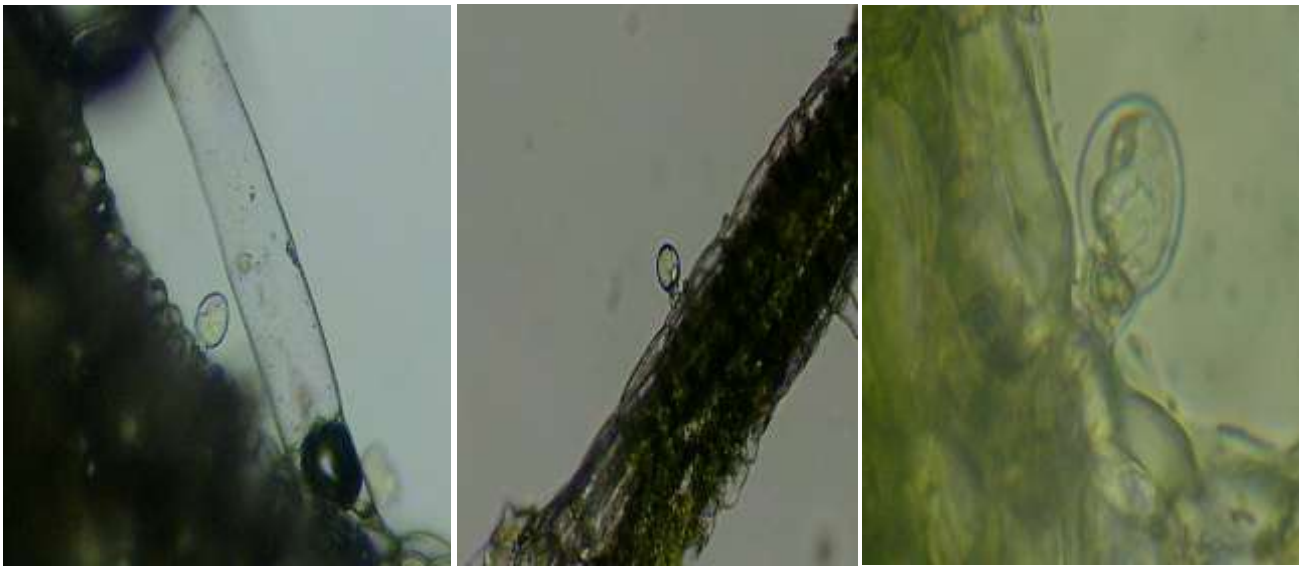

Figure 35 : observation de microscopie optique de glande capitée chez *Mentha suaveolens.* **(G × 400)**

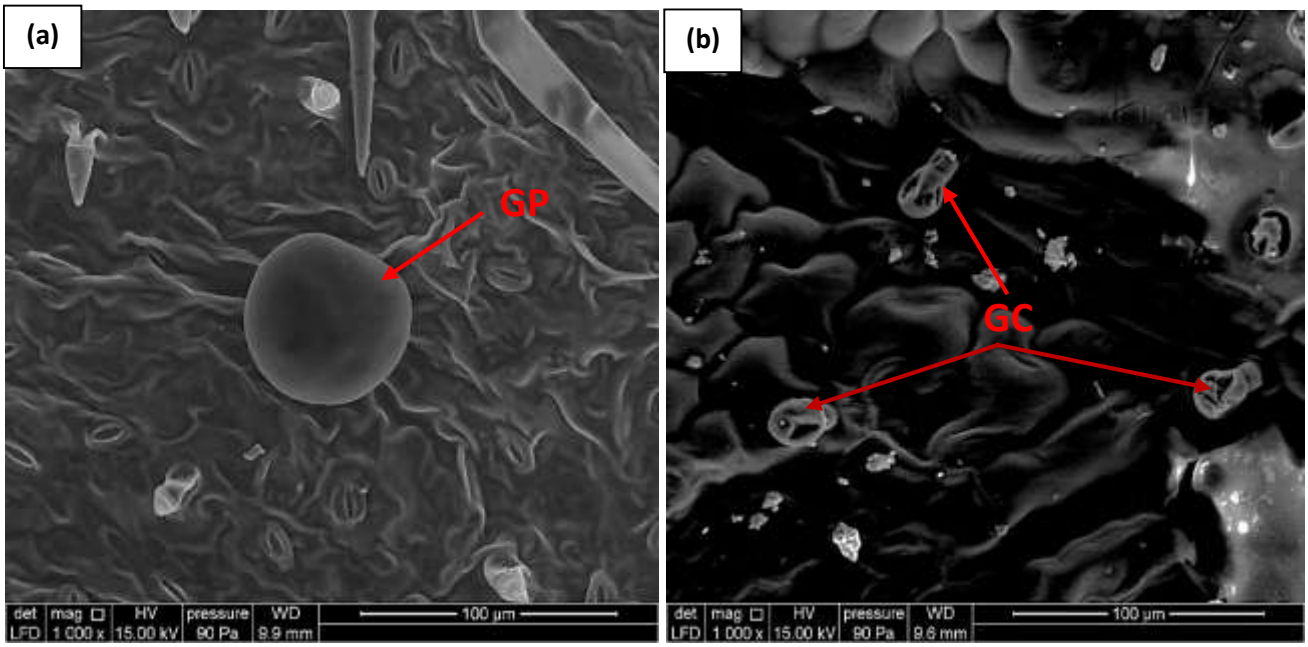

Figure 36 : Observation en microscopie électronique à balayage environnementale de la face ventrale des feuilles *Mentha suaveolens.* Glandes peltées (a) et capitées (b)

V. Influence de l'acide salicylique sur glandes de sécrétion des huiles essentielles chez *Salvia officinalis* et *Mentha suaveolens* cultivées sous stress cuivrique

1. Chez *Salvia officinalis*

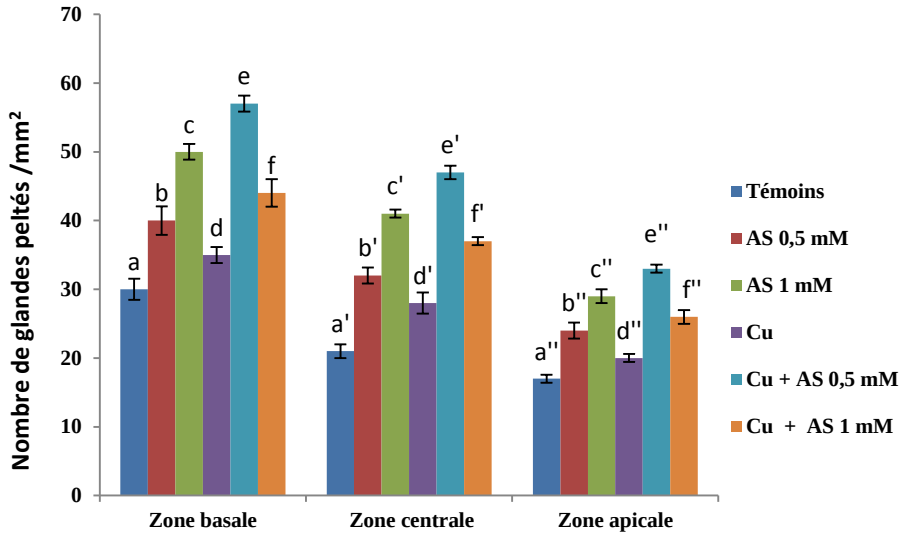

Figure 37 : Influence du stress au cuivre et de l'AS sur la densité des glandes peltées de la face ventrale des feuilles de *Salvia officinalis*. Les valeurs suivies de lettres différentes sont significativement différentes ($P \leq 0,05$)

La figure 37 et les observations au MEB de la face ventrale des feuilles, fig. 37 montrent une augmentation du nombre de glandes peltées par rapport aux feuilles témoins et ceci quel que soit le traitement appliqué : Chez les plantes stressées, on constate que le nombre de ces structures augmente légèrement dans les différentes régions de la feuille (fig. 37 et 38). Par ailleurs, la pulvérisation foliaire avec l'AS sur des plantes cultivées en présence de contrainte de cuivre augmente d'une façon très importante le nombre de glandes peltées (fig. 38c et 38d). Néanmoins, dans ces conditions, ce sont les faibles concentrations de l'AS (0,5 mM) qui permettent d'obtenir la densité la plus élevée (Fig. 38c), augmentant par rapport le témoin de 90%, 124% et 94% respectivement dans les zones basale, centrale et apicale (Fig. 37). En outre, dans ces même plantes (Cu + AS 0,5 mM) nous remarquons la présence des glandes volumineuses dont le diamètre peut atteindre 145 µm (fig. 39b, c, d). Par contre, les glandes peltées des plantes témoins possèdent un diamètre qui peut atteindre pour la majorité d'entre elles 70 à 85 µm (fig. 39a)

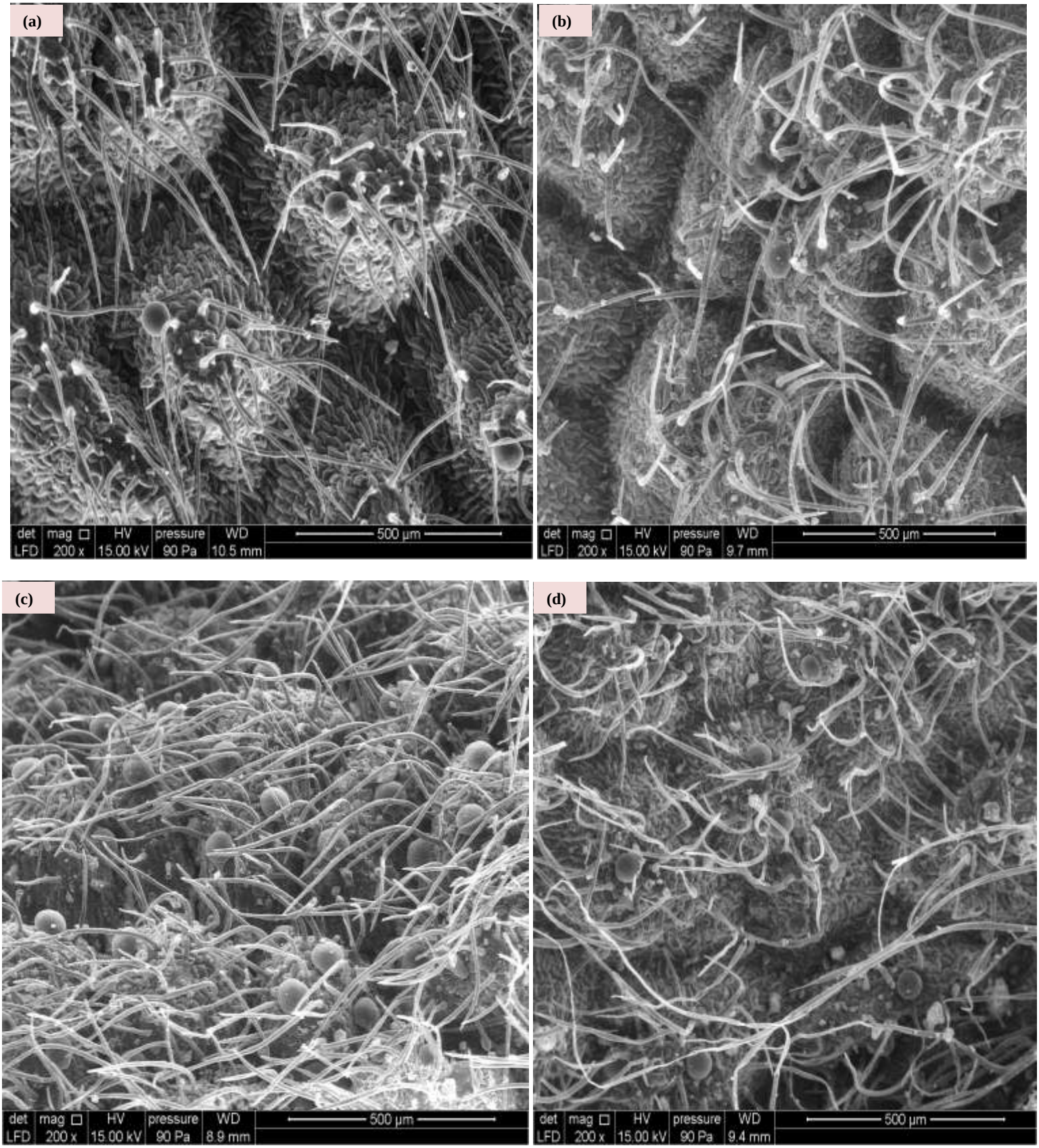

Figure 38 : Observation en microscopie électronique à balayage environnementale de la face ventrale des feuilles de *Salvia officinalis.* Témoin (a), Cu (b), Cu + AS 0,5 mM (c), Cu + AS 1mM (d)

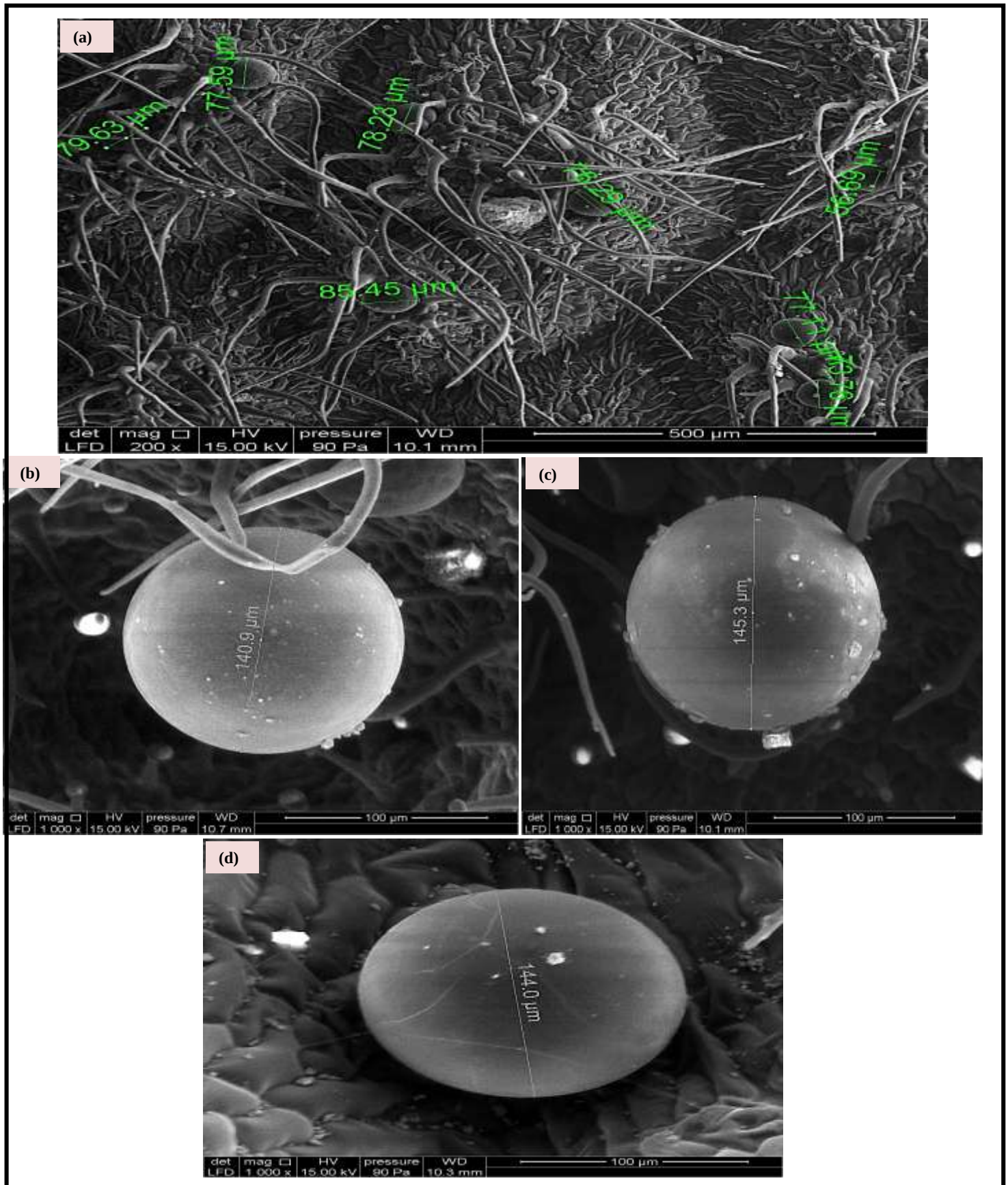

Figure 39 : Observation par microscopie électronique à balayage environnementale chez les feuilles de *Salvia officinalis* Témoin (a), plantes traitée avec Cu + AS 0,5 mM montrant des glandes de grande taille (b, c, d)

2. Chez *Mentha suaveolens*

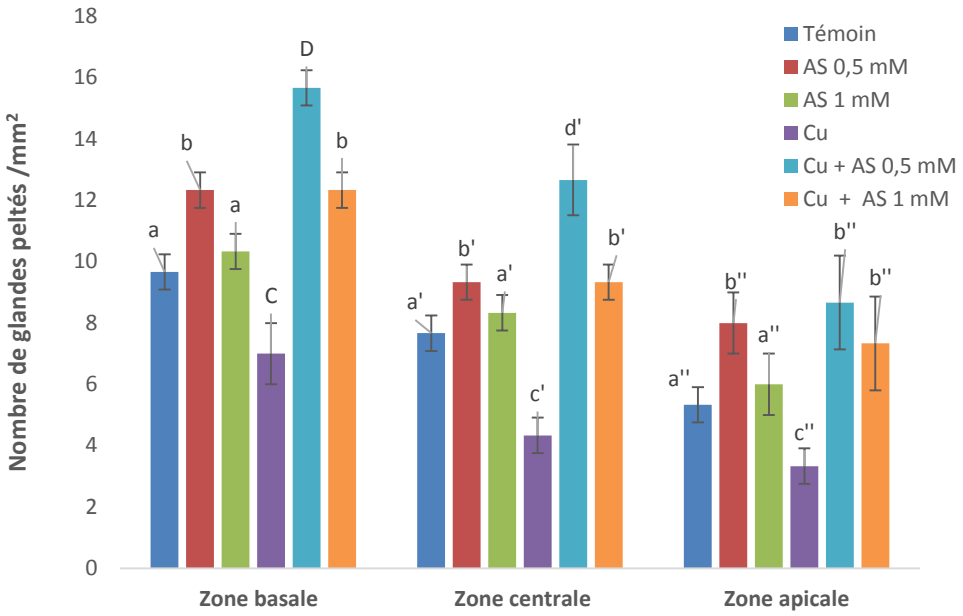

Figure 40 : Influence du stress au cuivre et de l'AS sur la densité des glandes de la face ventrale des feuilles de *Mentha suaveolens*. Les valeurs suivies de lettres différentes sont significativement différentes ($P \leq 0,05$)

La figure 40et les observations en MEB (fig. 41b) montrent que le stress cuivrique entraine une diminution de la densité des glandes peltées dans les différentes zones de la face ventrale des feuilles. Cette diminution peut atteindre 37,5% dans la zone apicale, 43,5% dans la zone centrale et 27,6% dans la zone basale (fig. 40) par rapport aux feuilles des plantes témoins. Par contre, la pulvérisation foliaire avec l'AS principalement à 0,5 mM sur ces plantes stressées (fig. 41c) augmente fortement le nombre de glandes. Dans ces conditions, ces augmentations atteignent 124%, 193% et 160 % respectivement dans les zones basale, centrale et apicale par rapport aux plantes stressées. Nous notons par ailleurs une augmentation du diamètre des glandes chez les plantes stressées et traitées avec l'AS à 0,5 mM (fig. 41c). Chez ces plantes nous remarquons la présence de quelques glandes volumineuses avec un grand diamètre qui peut atteindre jusqu'a 125,5 et 127,9 µm (fig. 42b, c). Cependant, Les glandes peltées des plantes témoin possèdent un diamètre qui ne peut dépasser 65 µm (la majorité d'entre elles 50 à 65 µm) (fig. 42a).

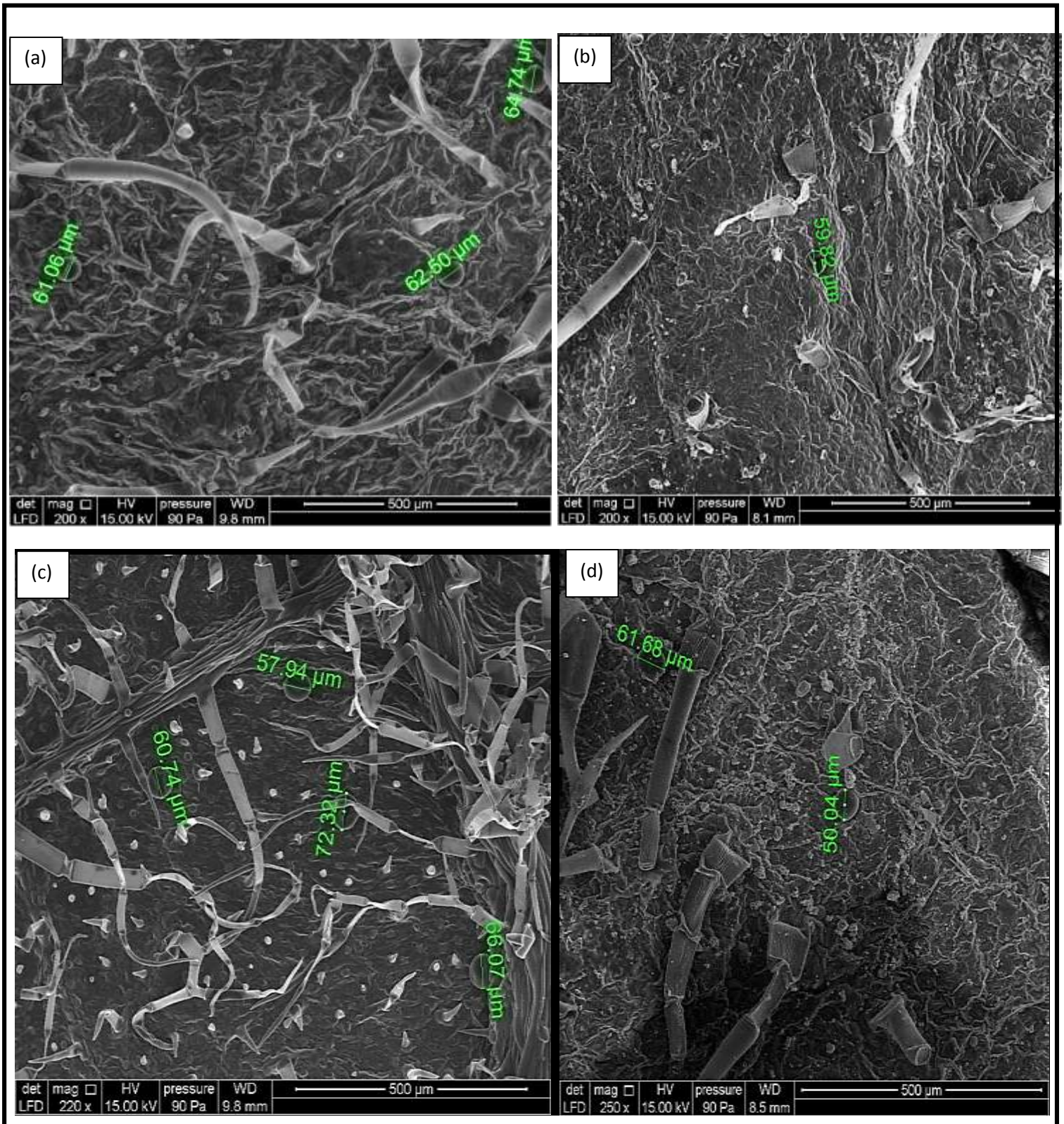

Figure 41: Observation en microscopie électronique à balayage environnementale de la face ventrale des feuilles de *Mentha suaveolens*.
Témoin (a), Cu (b), Cu + AS 0,5 mM (c), Cu + AS 1 mM (d).

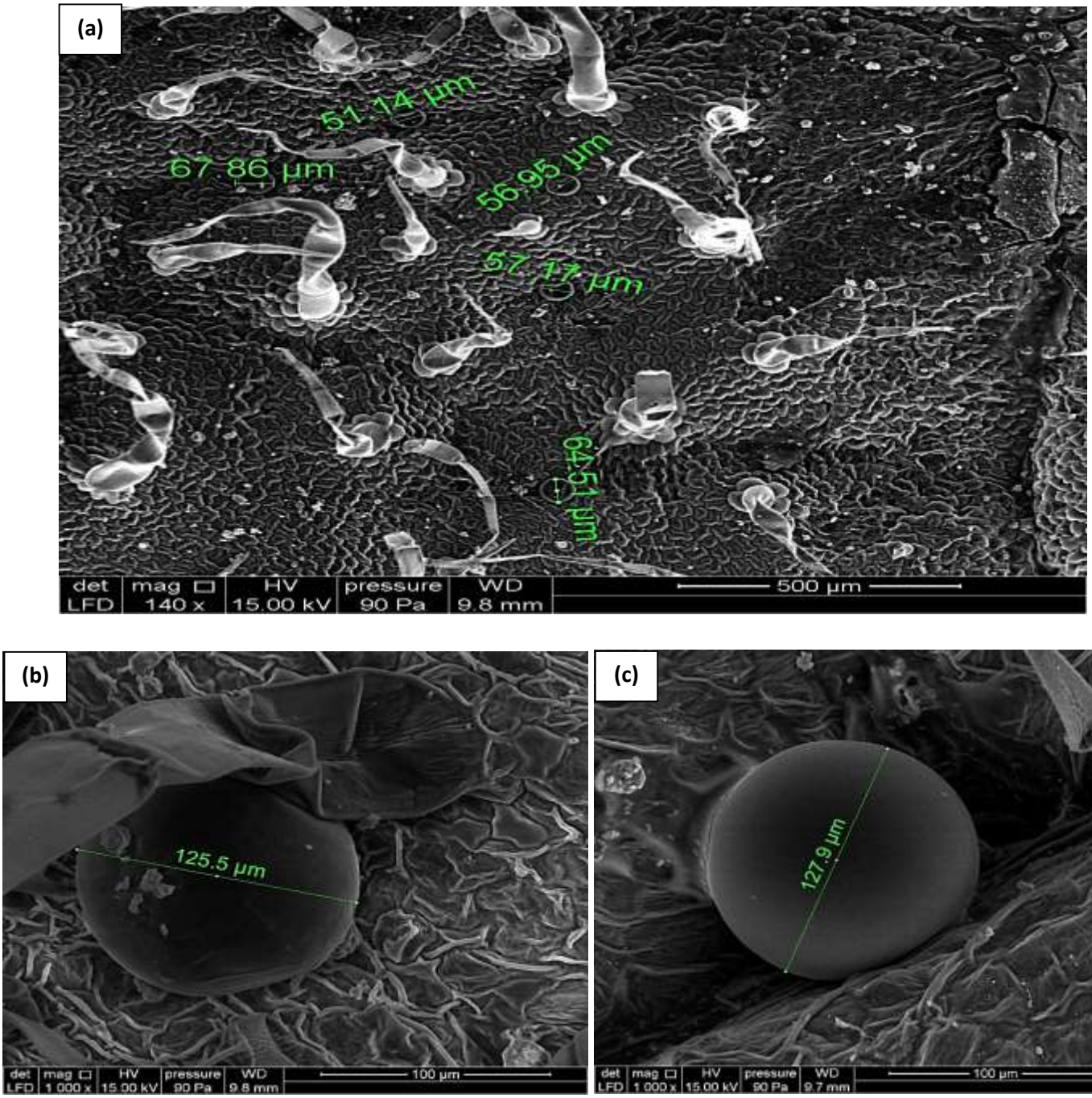

Figure 42 : Observation en microscopie électronique à balayage environnementale des feuilles de *Mentha suaveolens* Témoin (a), plantes traitée avec Cu + AS 0,5 mM montrant des glandes de grande taille (b, c)

VI. Influence de l'acide salicylique sur les glandes de sécrétion des huiles essentielles chez *Salvia officinalis* et *Mentha suaveolens* cultivées sous stress au zinc

1. Chez *Salvia officinalis*

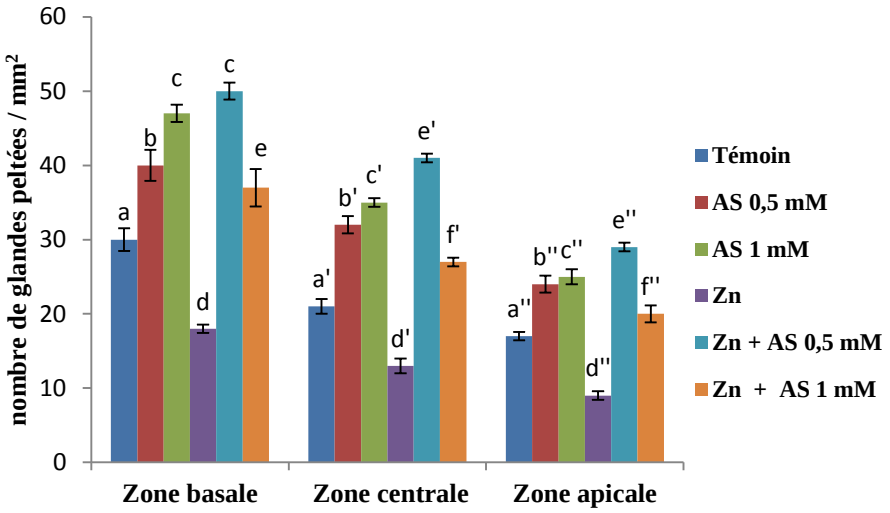

Figure 43 : Influence du stress au zinc et de l'AS sur la densité des glandes peltées de la face ventrale des feuilles de *Salvia officinalis*. Les valeurs suivies de lettres différentes sont significativement différentes ($P \leq 0,05$)

La figure 43 et les observations en MEB de la face ventrale de *Salvia officinalis* (fig. 44) montrent que la densité des glandes de sécrétion des huiles essentielles est influencée par les différents traitements. Le stress provoqué avec le zinc entraine une diminution de la densité des glandes peltées dans les trois zones de la feuille. Ces diminutions atteignent presque 40% (au niveau basale), 38% (au niveau centrale) et 47% (au niveau apicale) par rapport au témoin.

Le traitement des plantes stressées avec les l'AS entraine une forte augmentation de la densité des glandes dans les différentes zones de la feuille par rapport les plantes stressées (fig. 43). Cette augmentation de la densité est plus prononcée lorsque la pulvérisation est effectuée avec l'AS à 0,5 mM (fig. 44c).

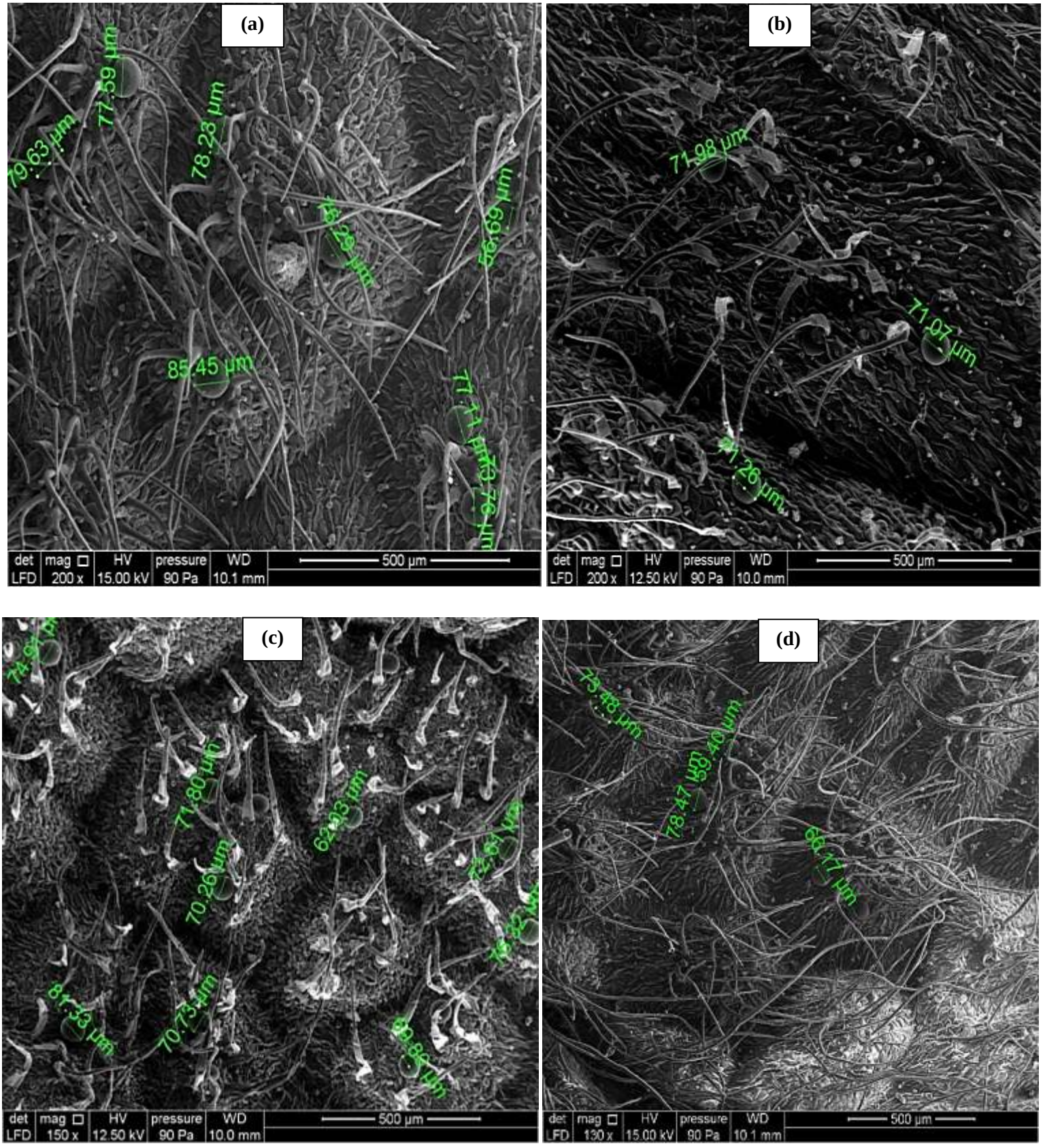

Figure 44 : Observation en microscopie électronique à balayage environnementale de la face ventrale des feuilles de *Salvia officinalis.* Témoin (a), Zn (b), Zn + AS 0,5 mM (c) et Zn + AS 1 mM (d)

2. Chez *Mentha suaveolens*

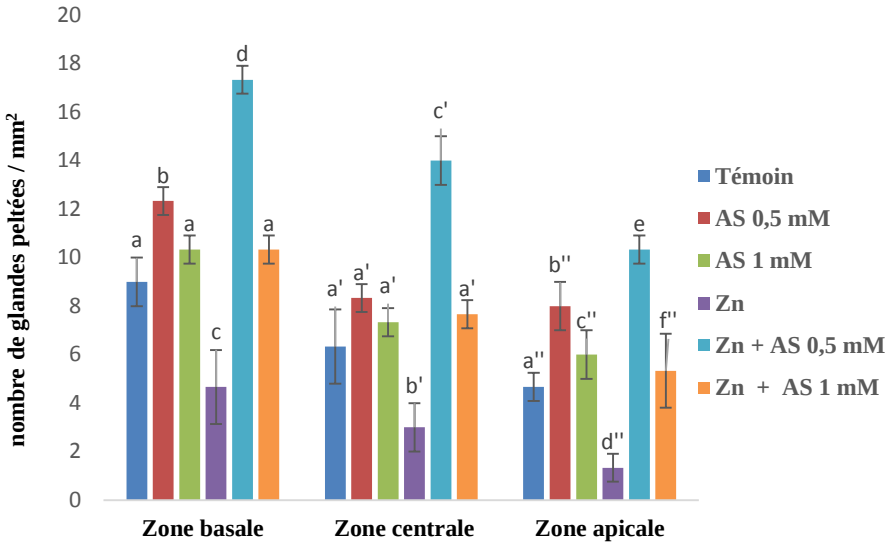

Figure 45 : Influence du stress au zinc et de l'AS sur la densité des glandes peltées de la face ventrale des feuilles de *Mentha suaveolens*. Les valeurs suivies de lettres différentes sont significativement différentes ($P \leq 0,05$)

Le stress au zinc affecte négativement la densité des glandes peltées (fig. 45, fig. 46b) dans les trois zones étudiées. Ces diminutions atteignent 72 % dans la zone apicale, 53 % dans la zone centrale et 48% dans la zone basale par rapport le témoin (fig. 45). Cependant, la pulvérisation foliaire avec l'AS des plantes soumises au stress au zinc entraine une augmentation très importante du nombre des glandes par rapport aux plantes stressées. Cette augmentaion est plus pronocée lorsque la pulverisation est effectuée avec l'AS à 0,5 mM (fig. 46c). Dans ces conditions, ces augmentations atteignent 271 % dans la zone basale, 367 % dans la zone centrale et 675 % dans la zone apicale.

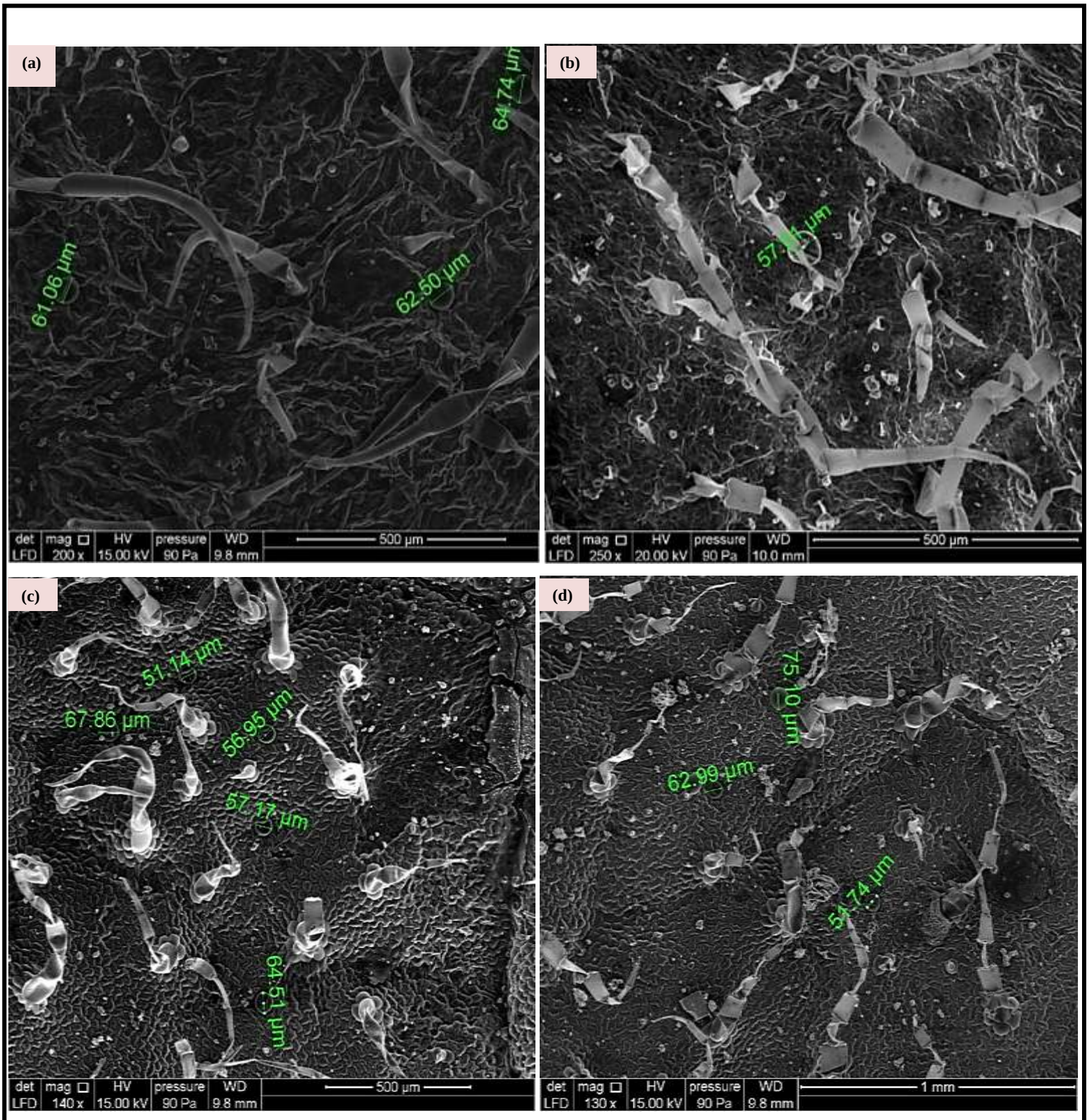

Figure 46 : Observation en microscopie électronique à balayage environnementale de la face ventrale des feuilles de *Mentha suaveolens.*

Témoin (a), Zn (b) et Zn + AS 0,5 mM (c), Cu+ AS 1mM (d)

VII. Influence de l'acide salicylique sur la densité des glandes de sécrétion des huiles essentielles chez *Salvia officinalis* et *Mentha suaveolens* cultivées sous stress salin

1. Chez *Salvia officinalis*

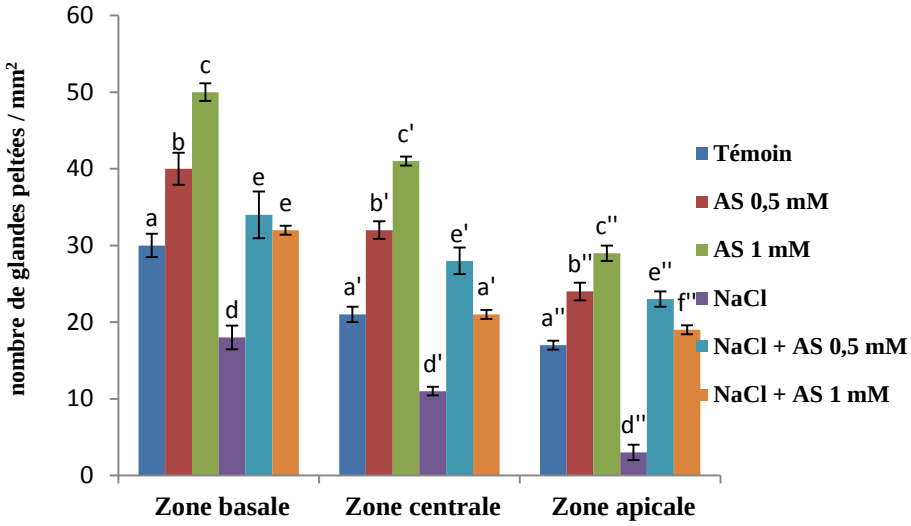

Figure 47 : Influence du stress salin et de l'AS sur la densité des glandes peltées de la face ventrale des feuilles de *Salvia officinalis*. Les valeurs suivies de lettres différentes sont significativement différentes ($P \leq 0,05$)

Les observations en MEB montrent que lorsque les plantes sont cultivées en présence d'un stress salin, la densité des glandes peltées diminue significativement dans les trois zones de la feuille (fig. 47 et fig. 48b). Ces diminutions atteignent presque 40% au niveau de la zone basale, 47% au niveau de la zone centrale et 82% au niveau de la zone apicale. Néanmoins, dans ces conditions de stress, la pulvérisation foliaire avec l'AS entraine une augmentation très significative du nombre de ces glandes. Cette augmentation est plus importante à 0,5 mM (fig. 48c) qui peut atteindre 89% dans la zone basale, 154% dans la zone centrale et 667% dans la zone apicale.

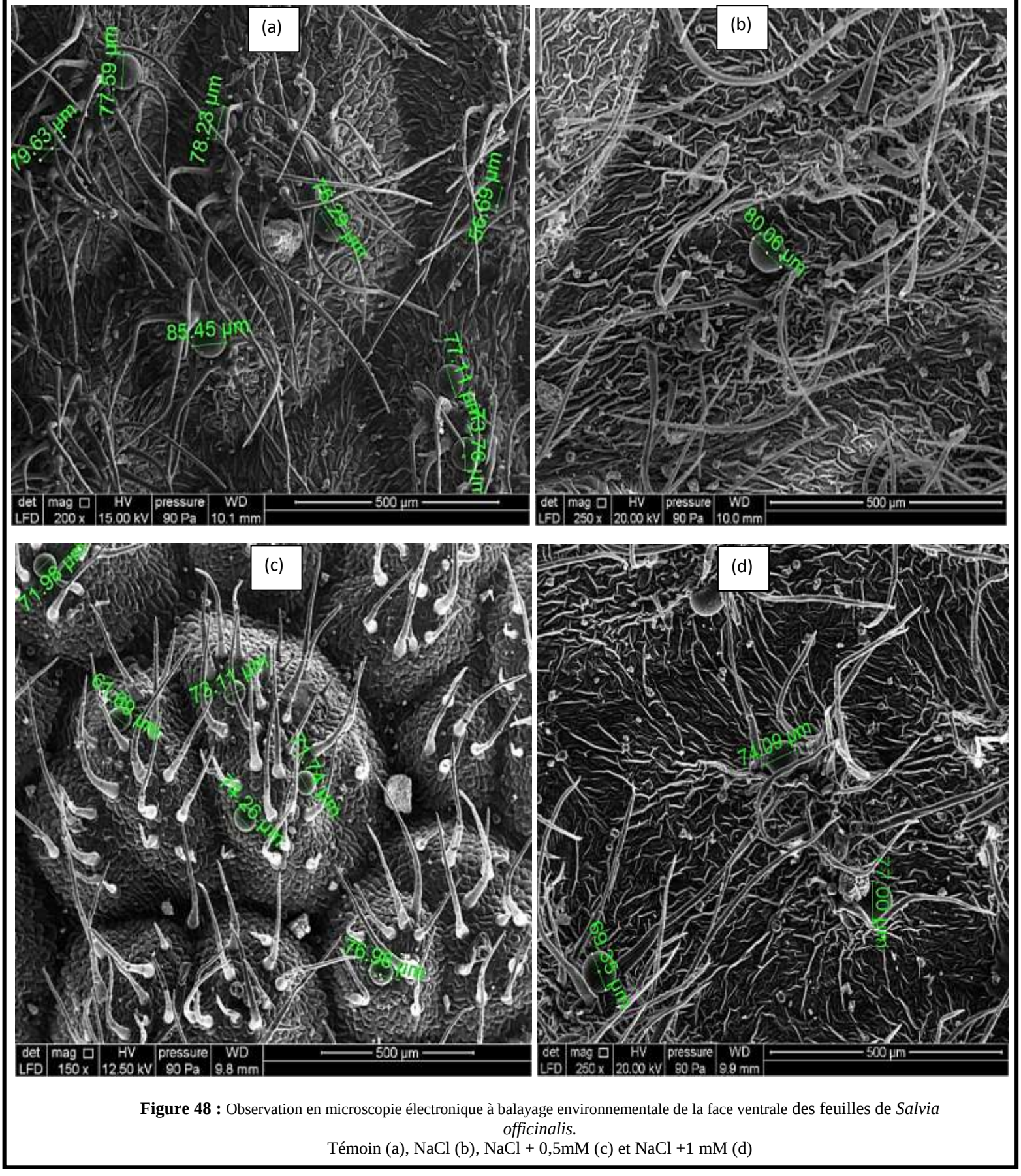

Figure 48 : Observation en microscopie électronique à balayage environnementale de la face ventrale des feuilles de *Salvia officinalis.*
Témoin (a), NaCl (b), NaCl + 0,5mM (c) et NaCl +1 mM (d)

2. Chez *Mentha suaveolens*

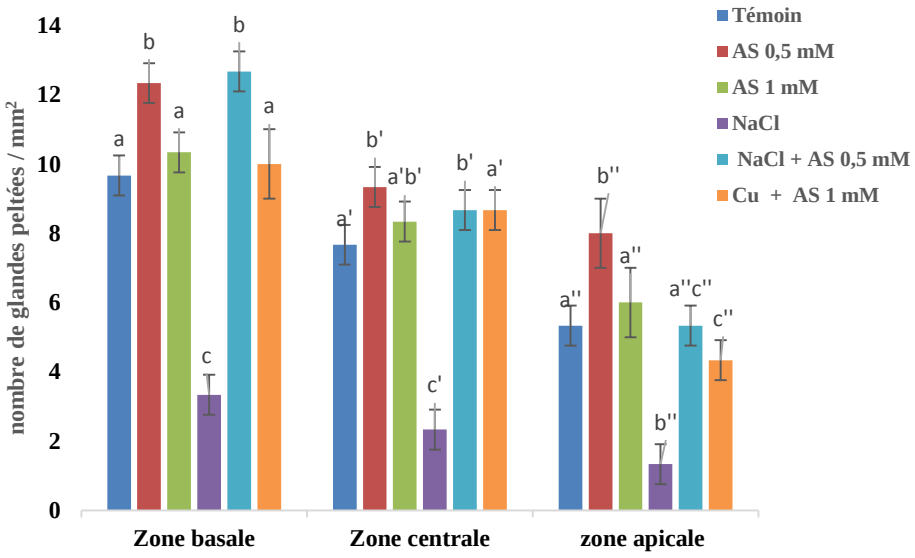

Figure 49 : Influence du stress salin et de l'AS sur la densité de glandes peltées des feuilles de *Mentha suaveolens.* Les valeurs suivies de lettres différentes sont significativement différentes ($P \leq 0,05$)

Les observations en MEB montrent que lorsque les plantes sont cultivées en présence d'un stress salin, la densité des glandes peltées diminue significativement dans les trois zones de la feuille (fig. 49 et fig. 50b). Ces diminutions atteignent presque 65,52 % au niveau basale, 70% au niveau centrale et 75% au niveau apicale. Néanmoins, dans ces conditions de stress, la pulvérisation foliaire avec l'AS entraine une augmentation très significative du nombre de ces glandes. Cette augmentation est plus importante à 0,5 mM (fig. 50c) qui peut atteindre 280,48 % au niveau basale, 300 % au niveau centrale et 300% au niveau apicale.

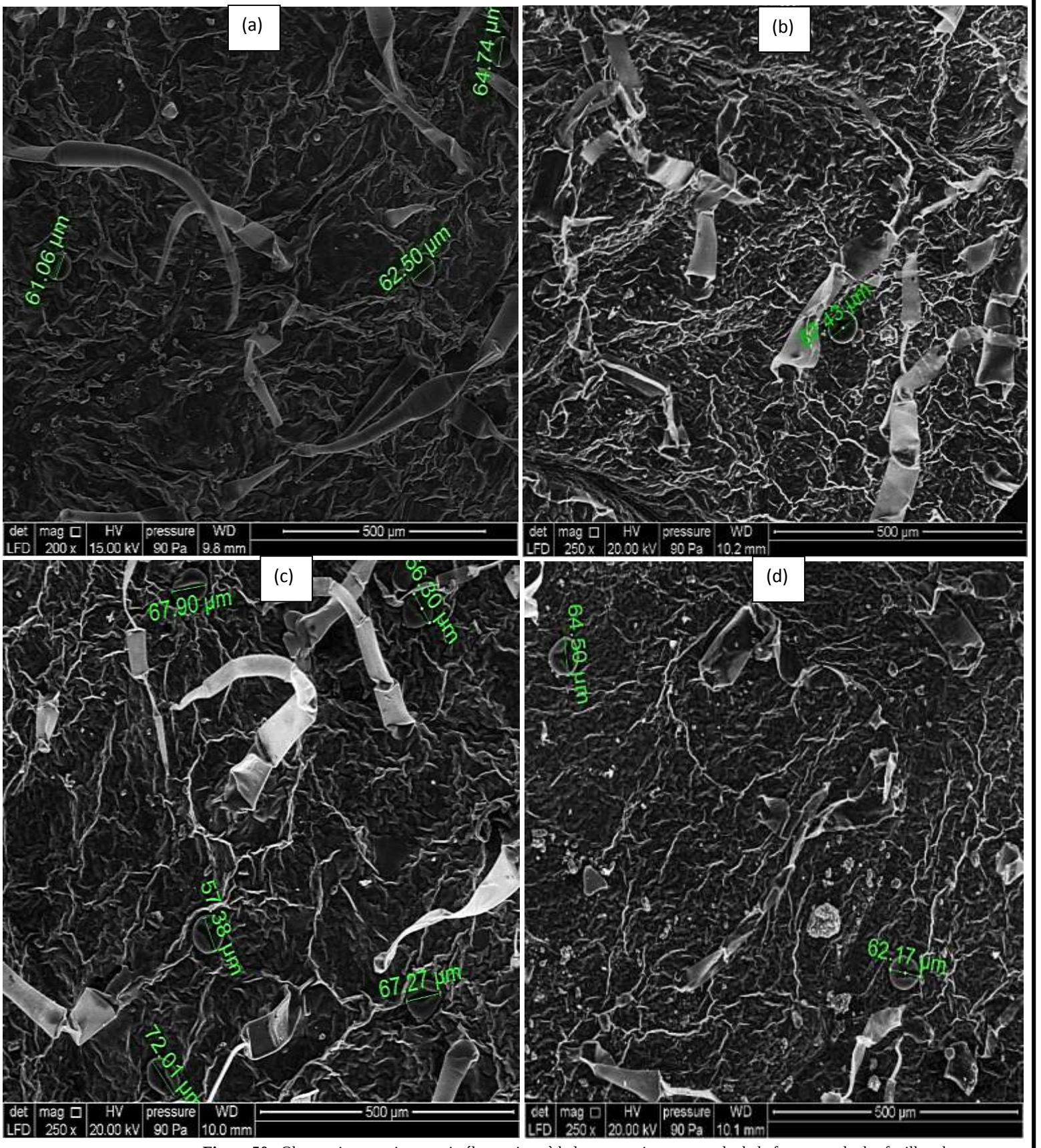

Figure 50 : Observation en microscopie électronique à balayage environnementale de la face ventrale des feuilles chez *Mentha suaveolens*.
Témoin (a), NaCl (b), NaCl + AS 0,5 mM (c) et NaCl + AS 1 mM (d)

Discussion

Les observations effectuées en microscopie photonique et en MEB des feuilles de *Salvia officinalis* ont montré la présence de glandes peltées, capitées et de trichomes non glandulaires (poils protecteurs). Hazzoumi *et al.,* (2019) ont également noté chez *Salvia officinalis* la présence de glandes peltées avec une tige unicellulaire et une grande tête ronde, et de glandes capitées avec une tige plus longue et une tête plus petite que celle des glandes peltées.

Les glandes capitées (« trichomes glandulaires à court terme », comme l'indique Werker, 1993), présentent les principaux poils sécrétoires d'une substance protectrice, libèrent leur matériel sécrétoire peu de temps après leur production et servent à protéger les jeunes organes. Il n'y a aucune preuve d'accumulation de produit de sécrétion dans l'espace sous-cuticulaire (Bisio *et al.*, 1999).

Corsi et Bottega (1999) ont montré que *Salvia officinalis* possède quatre types de glandes capitées qui diffèrent par leur structure, leur emplacement, leur matériel sécrétoire et leur mode de sécrétion :

Type I avec un pédoncule unicellulaire ou bicellulaire court et une grosse tête sécrétoire unicellulaire ou bicellulaire et caractérisé par l'absence de chambre sous-cutanée. Le matériau sécrétoire exsude lentement à travers la cuticule intacte et est libéré soudainement si la cuticule est rompue.

Le type II est très petit avec une tige unicellulaire et une tête sécrétoire avec une chambre sous-cutanée. Le matériel sécrétoire exsude probablement à travers un seul pore.

Le type III est grand, caractérisé par une longue tige, une cellule du cou et une tête unicellulaire.

Le type IV est une glande de grande taille avec une longue tige mince, composee de quatre cellules.

Les glandes peltées (trichomes glandulaires à long terme, comme indiqué par Werker, 1993) représentent les glandes dans lesquelles le matériel sécrétoire s'accumule progressivement sous une cuticule et qui sert à protéger les organes matures. Dans la fleur, ces glandes jouent le rôle de protection contre les herbivores et d'attraction des pollinisateurs et présentent la structure principale d'accumulation et de sécrétion des terpénoïdes.

Ces mêmes structures sont également rencontrées dans les feuilles de *Salvia officinalis* cultivées sous stress salin et sous stress au Zn. Cependant, dans ces plantes stressées, nous avons mis en évidence la présence de quelques anomalies jamais observées dans les plantes témoins et dans les plantes traitées avec l'AS. Ces anomalies consistent en des structures glandulaires avec des déformations en forme de poches situées sur la tête. Le nombre de ces poches peut être variable (en nombre de 1 ou plus).

Ces poches peuvent être soit une goutte de sécrétion, soit des anomalies causées par la toxicité du Zn et de NaCl. Cette dernière hypothèse semble la plus plausible car ces structures n'apparaissent que dans les plantes traitées au Zn et au NaCl. En effet, nous n'avons jamais pu rencontrer de telles structures dans les plantes témoins et dans les plantes pulverisées avec l'AS seul. Dans ce sens, l'hypothèse d'une excrétion d'huile est écartée car les glandes peltées libèrent leur contenu vers l'extérieur par éclatement de la cuticule. Chez Salvia, Corsi et Bottega (1999) ; Serrato-Valenti *et al.,* (1997) ; Bisio *et al.,* (1999) et Janošević *et al.,* (2016) ont montré qu'au moment de la sécrétion, les matériaux s'accumulent dans un grand espace qui se développegrace à l'élévation de la cuticule et de la couche la plus externe des parois des cellules sécrétoires. Une ligne de faiblesse équatoriale devient visible autour de la tête, la rupture de la cuticule le long de cette ligne et le détachement ultérieur de la coiffe cuticulaire entraînent la libération d'exsudat. Ces mêmes auteurs ont montré que la matière n'est libérée que lorsque la cuticule est brisée par des événements mécaniques ou à la fin de la vie de la glande. Les glandes capitées libèrent leur contenu à travers un seul pore. Mais, dans notre cas sur les mêmes glandes plusieurs poches sont observées (au nombre de 1 ou plus). Dans ce ce sens, Bisio *et al.,* (1999) ont montré dans le genre Salvia deux mécanismes potentiels pour la libération de matériel sécrété par les glandes capitées: (1) le passage d'une gouttelette à travers la cuticule intacte ; ou (2) rupture précoce de la cuticule (pore unique).

En outre, nos observations en MEB, de feuilles provenant de plantes ayant subi un stress montrent également la présence de glandes caractérisées par une morphologie ovale qui n'est pas rencontrée chez le témoin et chez les plantes traitées avec l'AS. Cette constatation confirme l'hypothèse qui stipule que ces déformations sont des anomalies apparaissant sous l'effet de concentrations toxiques de Zn et du NaCl. Les observations des feuilles pulvérisées par les deux concentrations d'AS en présence de stress montrent la présence des mêmes glandes (peltées, capitée et les poils de protections) observées chez le témoin. Nous avons remarqué l'absence de ces structures déformées détectées dans les plantes stressées, ce qui confirme que ces anomalies apparaissent du fait d'une toxicité externe (Zn et NaCl).

Chez *Mentha suaveolens,* les observations en microscopie montrent également la présence de trichomes non glandulaires et de trichomes glandulaires capités et peltés. Ces mêmes glandes sont détectées sous tous les traitements. Chez *Mentha suaveolens* nous n'avons pas détecté la présence des glandes déformées.

Par ailleurs, nos observations en MEB montrent une augmentation de la densité des glandes peltées chez *Salvia officinalis* traitée avec le cuivre. La pulvérisation de ces plantes stressées avec l'AS entraine une plus forte augmentation de la densité des glandes peltées principalement à 0,5 mM. Dans les

plantes stressées et traitées avec l'AS à 0,5 mM (Cu+0,5 mM), nous constatons également des glandes présentant un aspect très gonflé et dont le diamètre peut atteindre 145 µm. Par contre, les glandes peltées des plantes témoins possèdent un diamètre qui peut atteindre pour la majorité d'entre elles 70 à 85 µm. Toutes ces variations sont confirmées par une augmentation du rendement en huiles essentielles obtenu dans le troisième chapitre.

D'autre part, le stress salin et le stress au zinc diminuent la densité des glandes sécrétrices des huiles essentielles par rapport au témoin. Cependant, le traitement avec l'AS entraine une augmentation de la densité des glandes principalement à 0,5 mM. Cette variation de la densité des glandes est confirmée par une variation du rendement en huile essentielle (chapitre 4 et 5) dans le même sens de la variation de la densité des glandes peltés.

Chez *Mentha suaveolens,* tous les types de stress engendré dans cette étude (NaCl, Cu, Zn) entrainent une diminution de la densitee de glandes peltées, Cette diminution dans le nombre de glandes de sécrétion des huiles essentielles sous l'effet de stress est confirmée par la diminution du rendement en huiles essentielles. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Khanam et Mohammad (2018) chez *Mentha piperita.* Cependant, le traitement avec l'AS améliore la densité des glandes principalement a 0,5 mM. Cette augmentation de densité est confirmée par une augmentation du rendement en huiles essentielles sous l'effet de l'AS. Plusieurs auteurs ont lié l'effet positif de l'AS sur le rendement des huiles essentielles à l'augmentation de nombre de glandes peltées (Idrees *et al.*,2010 ; Rowshan *et al.,* 2010 ; Khanam et Mohammad 2018). Nous notons par ailleurs une augmentation du diamètre des glandes chez les plantes stressées avec le Cu et traitées avec l'AS à 0,5 mM (Cu + 0,5 mM). Chez ces plantes, nous remarquons la présence de quelques glandes volumineuses avec un grand diamètre qui peut atteindre jusqu'a 125,5 et 127,9 µm. Cependant, les glandes peltées des plantes témoin possèdent un diamètre qui ne peut dépasser pas 65 µm (la majorité d'entre elles 50 à 65 µm).

Conclusion générale

cette optique, notre étude a révélé une diminution dans les concentrations de 1,8-cineole, α – thujone et le camphor chez *Salvia officinalis* ainsi que dans les concentrations de 1,8-Cineole, le thujanone, le camphor et le Pulegone chez *Mentha suaveolens*. Par ailleurs, le traitement foliaire avec l'AS de ces plantes stressées améliore la qualité des huiles essentielles en entrainant l'augmentation de la synthèse de ces composés majoritaires chez les deux plantes étudiées. Les meilleures concentrations de composés majoritaires sont obtenues sous l'effet du traitement avec l'AS à 0,5 mM.

Les observations en microscopies photonique et en MEB réalisées dans ce travail montrent la présence de trichomes non glandulaires et de deux types majeurs de trichome glandulaire chez les deux plantes. Le premier groupe concerne les glandes peltées ou glandes à long terme dans laquelle la substance de sécrétion s'accumule dans l'espace subcuticulaire et présentent la structure principale d'accumulation et de sécrétion des terpénoïdes. Le deuxième groupe sont les capitées ou glandes à court terme dont la sécrétion est rapide peu de temps après leur production. Les glandes peltées se caracterisent avec une tige unicellulaire et une grande tête ronde, et les glandes capitées avec une tige plus longue et une tête plus petite que celle des glandes peltées.

La structure des glandes peltées chez *Salvia officinalis* est influencée par le stress salin et le stress au Zinc. Dans cette vision, nos observations montrent que ces deux traitements entrainent l'apparition de structures glandulaires atypiques avec des déformations en forme de petites poches à leur surface, le nombre de ces poches peut être variable (en nombre de 1 ou plus). En outre, nos observations en MEB de feuilles provenant de plantes ayant subi un stress montrent également la présence de glandes caractérisées par une morphologie ovale. Ces structure ne sont pas rencontrées chez le témoin et chez les plantes traitées avec l'AS. Ce qui confirme que ces déformations sont des anomalies apparaissant sous l'effet de concentrations toxiques de Zn et du NaCl. Les observations des feuilles pulvérisées par les deux concentrations d'AS en présence de stress montrent la présence des mêmes glandes (peltées, capitée et les poils de protections) observées chez le témoin. Nous avons remarqué l'absence de ces structures déformées détectées dans les plantes stressées, ce qui confirme que ces anomalies apparaissent du fait d'une toxicité externe (Zn et NaCl). Ce qui montre l'effet remédiateur de l'AS en présence du Zinc et de NaCl.

Chez *Mentha suaveolens*, les observations en microscopies optique et en MEB montrent également la présence de trichomes non glandulaires et de trichomes glandulaires capités et peltés. Les glandes

peltées sont caractérisées par une cellule basale, une tige courte unicellulaire et une tête large et ronde. Les glandes capitées consistent en une base comprenant des cellules de l'épiderme, une tige et une tête plus petite que celle des peltées. Ces mêmes glandes sont détectées sous tous les traitements. Chez *Mentha suaveolens* nous n'avons pas détecté la présence des glandes déformées sous l'effet de stress.

D'autre part, chez les deux plantes étudiées cultivées sous stress cuivrique et pulvérisées avec l'AS à 0,5 mM (Cu + 0,5 mM), nous avons mis en évidence la présence de glandes volumineuses. Chez *Salvia officinalis,* les glandes peltées des plantes témoins possèdent un diamètre qui peut atteindre pour la majorité d'entre elles 70 à 85 µm. Cependant, chez les plantes stressées et traitées l'AS à 0,5 mM (Cu + 0,5 mM), nous constatons des glandes présentant un aspect très gonflé et dont le diamètre peut atteindre 145 µm. De plus, chez *Mentha suaveolens* nous remarquons également la présence de quelques glandes volumineuses avec un grand diamètre qui peut atteindre jusqu'à 125,5 et 127,9 µm. Cependant, les glandes peltées des plantes témoin possèdent un diamètre qui ne peut dépasser pas 65 µm (la majorité d'entre elles 50 à 65 µm).

Perspectives

Nous souhaitons par la suite travailler sur l'effet de l'acide salicylique sur :

- Synthèse de l'acide gibbérellique et activités enzymatiques synthétisées au cours de la germination des graines
- Activités enzymatiques synthétisées au cours du débourrement des bourgeons chez les arbres fruitiers
- Synthèse et activité de quelques phytohormones endogènes au cours de la croissance des végétaux et de la maturation des fruits (précocité, qualité du fruit …)
- Activités de certaines enzymes antioxydantes
- Symbiose Mycorhizienne et celle les bactéries biostimulantes
- Effet sur l'absorption d'autres métaux lourds (chrome, plomb…)

Références bibliographiques

A

Abbaszadeh B, Valadabadi SA, Farahani HA, Darvishi HH (2009) Studying of essential oil variations in leaves of Mentha species. African Journal of Plant Science, 3(10), 217-221.

Abu-Darwish MS (2009) Essential oils yield and heavy metals content of some aromatic medicinal plants grown in Ash-Shoubak region, south of Jordan. Adv Environ Biol 3:296–301.

Adrees M, Ali S, Rizwan M, Ibrahim M, Abbas F, Farid M, Bharwana SA (2015) The effect of excess copper on growth and physiology of important food crops: a review. Environ Sci Pollut Res 22 :8148–8162.

Aftab, T, Khan MMA, da Silva JAT, Idrees, M, Naeem, M (2011). Role of salicylic acid in promoting salt stress tolerance and enhanced artemisinin production in *Artemisia annua* L. Journal of plant growth regulation, 30(4), 425-435.

Ahmad P, Alyemeni MN, Ahanger MA, Egamberdieva D, Wijaya L, Alam P (2018) Salicylic Acid (SA) Induced Alterations in Growth, Biochemical Attributes and Antioxidant Enzyme Activity in Faba Bean (*Vicia faba* L.) Seedlings under NaCl Toxicity. Russian J Plant Physiol.;65(1):104–14.

Ahmad F, Singh A, Kamal A (2017) Ameliorative effect of salicylic acid in salinity stressed *Pisum sativum* by improving growth parameters, activating photosynthesis and enhancing antioxidant defense system. Biosci Biotech Res Comm 10:481–489.

Akram S, Siddiqui MN, Hussain BMN, Bari MA, Mostofa MG, Hossain MA, Tran LSP (2017) Exogenous glutathione modulates salinity tolerance of soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] at reproductive stage. J Plant Growth Regul 36:877–888.

Albano SM, Miguel MG (2011) Biological activities of extracts of plants grown in Portugal. Industrial Crops and Products, 33(2), 338-343.

Ali NA, Bernal MP, Ater M (2002) Tolerance and bioaccumulation of copper in *Phragmites australis* and *Zea mays*. Plant Soil 239:103 – 111.

Al-Hakimi ABM, Hamada AM (2011) Ascorbic acid, thiamine or salicylic acid induced changes in some physiological parameters in wheat grown under copper stress. Plant Protect Sci 47:92–108.

Alvarez ME (2000) Salicylic acid in the machinery of hypersensitive cell death and disease resistance. In Programmed Cell Death in Higher *Plants* (pp. 185-198). Springer, Dordrecht.

Aly AA, Mohamed AA (2012) The impact of copper ion on growth, thiol compounds and lipid peroxidetion in two maize cultivars (*Zea mays* L.) grown in vitro. Aust J Crop Sci 6:541–549.

Ambler JE, Brown JC, Gauch HG (1970) Effect of zinc on translocation of iron in soybean plants. Plant Physiol. 46:320–32.

Arfan M, Athar HR, Ashraf M (2007) Does exogenous application of salicylic acid through the rooting medium modulate growth and photosynthetic capacity in two differently adapted spring wheat cultivars under salt stress. Journal of Plant Physiology, 164(6), 685-694.

Arnon, McKinney (1941) Absorption of light by chlorophyll solutions, J. Biol. Chem., 140, 315- 332.

Azeez MO, AdesanwoOO AJA (2015) Effect of Copper (Cu) application on soil available nutrients and uptake. Afr J Agric Res 10:359–36.

Azooz MM, Abou-Elhamd MF, Al-Fredan MA (2012) Biphasic effect of copper on growth, proline, lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities of wheat (*Triticum aestivum*'cv. *Hasaawi*) at early growing stage. Aust J Crop Sci. 6:688–694.

Azooz MM, Shaddad MA, Abdel-Latef AA (2004) The accumulation and compartmentation of proline in relation to salt tolerance of three sorghum cultivars. Indian J Plant Physiol 9:1–8

B

Baize D (1997) Teneurs totales en éléments traces métalliques dans les sols (France): Références et stratégies d'interprétation. Programme ASPITET, France.

Barbosa RH, Tabaldi LA, Miyazaki FR, Pilecco M, Kassab SO, Bigaton D (2013) Foliar copper uptake by maize plants: effects on growth and yield. Cienc Rural 43:1561–1568.

Bari R, Jones JDG (2009) Role of plant hormones in plant defence responses. Plant Mol Biol. 69(4):473–88.

Baryla A, Laborde C, Montille JL, Trianaphylides C, Chagvardieff P (2000) Evaluation of lipid peroxidation as a toxicity bioassay for plants exposed to copper. Environ. Pollut., 109, 131-135.

Başer HK, Buchbauer G (2015) Handbook of essential oils: science, technology, and applications. Handbook of essential oils: science, technology, and applications., (Ed. 2).

Bates LS, Waldren RP, Teare ID (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and soil. 39(1), 205-207.

Belkadhi A, De Haro A, Soengas P, Obregon S, Cartea ME, Chaibi W, Djebali W (2014) Salicylic acid increases tolerance to oxidative stress induced by hydrogen peroxide accumulation in leaves of cadmium-exposed flax (*Linum usitatissimum* L.). Journal of Plant Interactions, 9(1), 647-654.

Beloued A (2001) Médicinal plants in Algeria. University publications office, Algiers, ISBN: 9961.0.0304.4, pp: 277.

Benkherara S, Bordjiba O, Djahra AB (2011) Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de la Sauge officinale : *Salvia officinalis* L. sur quelques entérobactéries pathogènes. Synthèse : Revue des Sciences et de la Technologie, 23, 72-80.

Benimali CS, Medina A, Navarro CM, Medina RB, Amoroso MJ, Gómez MI (2010) Bioaccumulation of copper by *Zea mays* : impact on root, shoot and leaf growth. Water Air Soil Pollut. 210 :365–370.

Bisio A, Corallo A, Gastaldo P, Romussi G, Ciarallo G, Fontana N, Profumo P (1999) Glandular Hairs and Secreted Material in *Salvia lepharophylla brandegee* ex Epling Grown in Italy. Ann Bot. 83 : 441–52.

Bouaouina S, Zid, E, Hajji M (2000) Tolérance à la salinité, transports ioniques et fluorescence chlorophyllienne chez le blé dur (*Triticum turgidum* L.). Royo C., Nachit MM, Di Fonzo N. & Araus JL, éds. L'amélioration du blé dur dans la région méditerranéenne : nouveaux défis. Zaragoza: CIHEAMIAMZ, 239-243.

Bouazizi H, Jouili H, Geitmann A, Ferjani EE (2010) Copper toxicity in expanding leaves of *Phaseolus vulgaris* L. antioxidant enzyme response and nutrient element uptake. Ecotoxicol Environ Saf. 73 :1304–1308.

Bouchoukh I (2010) Comportement écophysiologique de deux Chénopodiacées des genres Atriplex et Spinacia soumises au stress salin.

Boukraa, L., Benbarek, H., & Moussa, A. (2008). Synergistic action of starch and honey against Candida albicans in correlation with diastase number. Brazilian Journal of Microbiology, 39, 40-43.

Bruneton J (1999) Pharmacognosy phytochemistry medicinal plants. Lavoisier, London

C

Calu G (2006). Effet du stress salin sur les plantes. Comparaison entre deux plantes modèles : *Arabidopsis thaliana* et *Thellungiella halophila*. Trends in Plant Science, 11, 1-8.

Chaney RL (1993) Zinc phytotoxicity. In: Zinc in soils and plants. Springer. Dordrecht. p.135–150.

Chao YY, Chen CY, Huang WD, Kao CH (2010) Salicylic acid-mediated hydrogen peroxide accumulation and protection against Cd toxicity in rice leaves. Plant and Soil, *329*, 327-337.

Chartzoulakis K, Klapaki, G (2000). Response of two greenhouse pepper hybrids to NaCl salinity during different growth stages. *Scientia Horticulturae*, 86 (3), 247-260.

Chaudhry FM, Alam SM, Rashid A, Latif A (1995). Mechanism of differential susceptibility of two rice varieties to Zn deficiency. Plant Soil. 46:637–42.

Chen HJ, Hou WC, Kuc J, Lin YH (2001) Ca^{2+}-dependent and Ca^{2+}- independent excretion modes of salicylic acid in tobacco cell suspension culture. J. Exp. Bot. 52, 1219–1226.

Chen LM, Lin CC, Kao CH (2000) Copper toxicity in rice seedlings: changes in antioxidative enzyme activities, H_2O_2 level, and cell wall peroxidase activity in roots. Bot Bull Acad Sin. 41:99–103.

Chen HJ, Kuc J (1999) Ca^{2+} dependent excretion of salicylic acid in tobacco cell suspension culture. Botanic. Bul. Acad. Sinica. 40, 267–273.

Christmann A, Moes D, Himmelbach A, Yang Y, Tang Y, Grill E (2006) Integration of abscisic acid signalling into plant responses. Plant Biology 8, 314-325

Clemens S (2006) Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants. Biochimie 88:1707–1719.

Collins JC (1981) Zinc in: Lepp, N (Ed.). The Effect of Heavy Metal Pollution on Plants. Applied Science Publishers. London. p. 145–170.

Copetta A, Lingua G, Berta G (2006) Effects of three AM fungi on growth, distribution of glandular hairs, and essential oil production in *Ocimum basilicum* L. var Genovese. Mycorrhiza. 16: 485–494.

Corsi G, Bottega S (1999) Glandular hairs of *Salvia officinalis* : new data on morphology, localization and histochemistry in relation to function. Ann Bot. 84:657–64.

Cretti, L. (1981) Les Plantes aromatiques et médicinales : comment les reconnaître et les utiliser. Éditions Atlas.

Croteau R (1987) Biosynthesis and catabolism of monoterpenoids. Chem Rev. 87:929–54.

Cuvelier ME, Richard H, Berset C (1996) Antioxidative activity and phenolic composition of pilot-plant and commercial extracts of sage and rosemary. Journal of the American Oil Chemist' s Society, 73(5), 645-652.

D

Damalas CA (2019) Improving drought tolerance in sweet basil (*Ocimum basilicum*) with salicylic acid. Sci Hort. 246:360–5.

Deef HE (2007) Copper treatments and their effects on growth, carbohydrates, minerals and essential oil contents of *Rosmarinus officinalis* L. World J of Agric Sci 3:322–328

Dempsey DMA, Vlot AC, Wildermuth MC, Klessig DF (2011) Salicylic acid biosynthesis and metabolism. The Arabidopsis Book, 0156.

Díaz J, Bernal A, Pomar F, Merino F (2001) Induction of shikimate dehydrogenase and peroxidase in pepper (*Capsicum annuum* L.) seedlings in response to copper stress and its relation to lignification. Plant Sci.; 161:179–188.

Drązkiewicz M, Skórzyńska-Polit, E, Krupa, Z (2004) Copper-induced oxidative stress and antioxidant defence in Arabidopsis thaliana. Biometals, 17(4), 379-387.

Dresler S, Hanaka A, Bednarek W, Maksymiec W (2014) Accumulation of low-molecular-weight organic acids in roots and leaf segments of *Zea mays* plants treated with cadmium and copper. Acta Physiol Plant 36:1565–1575.

Ducic T, Polle A (2005) Transport and detoxification of manganese and copper in plants. Braz J Plant Physiol 17:103–112.

E

El-Keltawi NE, Croteau R (1987) Salinity depression of growth and essential oil formation in spearmint and marjoram and its reversal by foliar applied cytokinin. Phytochemistry. 26:1333 – 4.

EL-Metwally AE, Abdalla FE, El-Saady AM, Safina SA, EI-Sawy SS (2010) Response of wheat to magnesium and copper foliar feeding under sandy soil condition. J Am Sci 6:818–823.

El-Tayeb MA, El-Enany AE, Ahmed NL (2006) Salicylic acid-induced adaptive response to copper stress in sunflower (*Helianthus annuus* L.). J Plant Growth Regul 50:191–199

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

Emam H, Ahmed E, Abdel-Daim M (2018) Antioxidant capacity of omega-3-fatty acids and vitamin E against imidacloprid-induced hepatotoxicity in Japanese quails. Environmental Science and Pollution Research, 25, 11694-11702.

F

Faghih S, Ghobadi C, Zarei A (2017) Response of strawberry plant cv. 'Camarosa' to salicylic acid and methyl jasmonate application under salt stress condition. J Plant Growth Regul 36:651–659.

Fariduddin Q, Hayat S, Ahmad A (2003) Salicylic acid influences net photosynthetic rate, carboxylation efficiency, nitrate reductase activity and seed yield in *Brassica juncea*. Photosynthetica. 41:281–284.

Farooqi, AHA, Sharma (1988) Effect of growth retardants on growth and essential oil content in Japanese mint. Plant Growth Regul. 7: 39-45.

Freitas PA, de Souza Miranda R, Marques EC, Prisco JT, Gomes E (2018) Salt tolerance induced by exogenous proline in maize is related to low oxidative damage and favorable ionic homeostasis. J Plant Growth Regul 37:911–924.

Frey B, Keller C, Zierold K, Schulin (2000) Distribution of Zn in functionally different leaf epidermal cells of the hyperaccumulator *Thlaspica erulescens*. Plant, Cell and Environ. 23:675–87.

G

Gajewska E, SkŁodowska M (2010) Differential effect of equal copper, cadmium and nickel concentration on biochemical reactions in wheat seedlings. Ecotoxicol Environ Saf 73:996–1003.

Gautam S, Singh PK (2009) Salicylic acid-induced salinity tolerance in corn grown under NaCl stress. Acta Physiol Planta. 31:1185.

Gill SS, Tuteja, N (2010) Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. Plant physiology and biochemistry. 48 (12), 909-930.

Gunes A, Inal A, Alpaslan,M, Eraslan F, Bagci EG, Cicek N (2007). Salicylic acid induced changes on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress and mineral nutrition in maize (*Zea mays* L.) grown under salinity. Journal of Plant Physiology, 164(6), 728-736.

Gunes A, Inal A, Alpaslan M, Cicek N, Guneri E, Eraslan F, Guzelordu T (2005) Effects of exogenously applied salicylic acid on the induction of multiple stress tolerance and mineral nutrition in maize (*Zea mays* L.). Arch Agron Soil Sci 51:687–695.

Guo Q, Meng L, Maoa P, Jia Y, Shi Y (2013) Role of exogenous salicylic acid in alleviating cadmium induced toxicity in Kentucky bluegrass. Biochem Syst Ecol. 50:269–76.

Gupta M, Cuypers A, Vangronsveld J, Clijsters H (1999) Copper affects the enzymes of the ascorbate-glutathione cycle and its related metabolites in the roots of *Phaseolus vulgaris*. Physiol Plant. 106 :262– 267.

H

Haouala F, Ferjani, H, El Hadj SB (2007) Effet de la salinité sur la répartition des cations (Na^+, K^+ et Ca^{2+}) et du chlore (Cl-) dans les parties aériennes et les racines du ray-grass anglais et du chiendent. Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement. 11 (3), 235-244.

Harborne JB (1993) Plant toxins and their effects on animals. Introduction to ecological biochemistry. Academic Press, London, pp71–103.

Harinasut, P, Srisunak S, Pitukchaisopol S, Charoensataporn R (2000) Mechanisms of adaptation to increasing salinity of mulberry: Proline content and ascorbate peroxidase activity in leaves of multiple shoots. Science Asia, 26(26), 207-11.

Hashmi N, Khan MMA, Idrees M, Aftab T (2012) Exogenous salicylic acid stimulates physiological and biochemical changes to improve growth, yield and active constituents of fennel essential oil. Plant growth regulation, 68(2), 281-291.

Hayat Q, Hayat S, Irfan S, Ahmad A (2010) Effect of exogenous salicylic acid under changing environment : a review. Environ Exp Bot 68 :14–25.

Hazzoumi Z, Moustakime Y, Joutei KA (2019) Essential Oil and Glandular Hairs: Diversity and Roles. In: Essential Oils-Oils of Nature. IntechOpen.

Hazzoumi Z, Moustakime Y, Joutei KA (2017) Effect of arbuscular mycorrhizal fungi and water stress on ultrastructural change of glandular hairs and essential oil compositions in *Ocimum gratissimum*. Chemical and Biological Technologies in Agriculture, 4(1), 1-13.

Hazzoumi Z (2016) Contribution à l'étude des huiles essentielles et de certains métabolites secondaires de trois plantes aromatiques et médicinales. Doctorat national, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah Faculté des Sciences et Technique, Fès, Maroc.

Heath RL, Packer L (1968) Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives of biochemistry and biophysics, 125(1), 189-198.

Horváth E, Pál M, Szalai, G, Páldi E, Janda T (2007) Exogenous 4-hydroxybenzoic acid and salicylic acid modulate the effect of short-term drought and freezing stress on wheat plants. Biologia Plantarum. 51(3), 480-487.

I

Idrees M, Naeem M, Aftab T, Khan MMA (2011) Moinuddin. Salicylic acid mitigates salinity stress by improving antioxidant defense system and enhances vincristine and vinblastine alkaloids production in periwinkle (Catharanthus roseus). Acta Physiol Planta.;33:987–99.

Idrees, M, Khan, MMA, Aftab T, Naeem M, Hashmi N (2010) Salicylic acid-induced physiological and biochemical changes in lemongrass varieties under water stress. Journal of Plant Interactions, *5*(4), 293-303.

Inskeep WP, Bloom PR (1985) Extinction coefficients of chlorophyll a and b in N, N-dimethylformamide and 80% acetone. Plant physiology, 77(2), 483-485.

Işeri OD, Korpe DA, Yurtcu E, Sahin FI, Haberal M (2011) Copper induced oxidative damage, antioxidant response and genotoxicity in *Lycopersicum esculentum Mill*. and *Cucumis sativus* L. Plant Cell Rep 30:1713–1721

Ivanova EM, Kholodova VP, Kuznetsov VV (2010) Biological effects of high copper and zinc concentrations and their interaction in rapeseed plants. Russ J Plant Physiol 57:806–814.

Iyengar ERR, Reddy MP (1996) Photosynthesis in highly salt tolerant plants. Handbook of photosynthesis. Marshal Dekar, Baten Rose, USA, 909.

J

Jackson M (1997) Hormones from roots as signals for the shoots of stressed plants. Elsevier Trends Journal, 2: 22–28.

Jahan MS, Shu S, Wang Y, Chen Z, He M, Tao M, Guo S (2019). Melatonin alleviates heat-induced damage of tomato seedlings by balancing redox homeostasis and modulating polyamine and nitric oxide biosynthesis. BMC Plant Biology, 19(1), 1-16.

Jaleel CA, Gopi R, Sankar B, Manivannan P, Kishorekumar A, Sridharan R, Panneerselvam R (2007) Studies on germination, seedling vigour, lipid peroxidation and proline metabolism in *Catharanthus roseus* seedlings under salt stress. S Afr J Bot. 73:190–195.

Janda T, Szalai G, Rios-Ganzalez K, Veisz O, Paldi E (2003) Comparative study of frost tolerance and antioxidant activity in cereals. Plant Sci. 164: 301–306.

Janošević D, Budimir S, Alimpić A, Marin P, Al Sheef N, Giweli A, Duletić-Laušević S (2016) Micromorphology and histochemistry of leaf trichomes of *Salvia aegyptiaca* (Lamiaceae). Arch Biol Sci. 68:291–301.

Jini D, Joseph B (2017) Physiological mechanism of salicylic acid for alleviation of salt stress in rice. Rice Sci. 24(2):97–108.

K

Kamali M, Sarcheshme PM, Maghsoudi MA (2012) Copper effects on growth parameters of hollyhock (*Althaea rosea* L.). J Orna Horti. Plants 2 :95–101.

Kasrati A, Jamali, CA, Bekkouche, K, Wohlmuth H, Leach D, Abbad A (2014) Plant growth, mineral nutrition and volatile oil composition of *Mentha suaveolens*. timija cultivated under salt stress conditions. Industrial Crops and Products, 59, 80-84.

Karray-Bouraoui N, Rabhi M, Neffati M, Baldan B, Ranieri A, Marzouk B, Smaoui A (2009) Salt effect on yield and composition of shoot essential oil and trichome morphology and density on leaves of *Mentha pulegium*. Industrial Crops and Products, 30(3), 338-343.

Kawano T, Muto S (2000) Mechanism of peroxidase actions for salicylic acid-induced generation of active oxygen species and an increase in cytosolic calcium in tobacco cell suspension culture. Journal of experimental botany, 51(345), 685-693.

Kenjerić D, Mandić M, Primorac L, Čačić, F (2008) Flavonoid pattern of sage (*Salvia officinalis* L.) unifloral honey. Food Chemistry, 110(1), 187-192.

Khaled LB, Gõmez A, Honrubia M, Oihabi A (2003) Effet du stress salin en milieu hydroponique sur le trèfle inoculé par le Rhizobium. Agronomie, 23(7), 553-560.

Khan IR, Asgher M, Khan NA (2014) Alleviation of salt-induced photosynthesis and growth inhibition by salicylic acid involves glycinebetaine and ethylene in mungbean (*Vigna radiata* L.). Plant Physiol and Bioch. 80:67–74.

Khan W, Prithviraj B, Smith DL (2003) Photosynthetic responses of corn and soybean to foliar application of salicylates. J. Plant Physiol. 160:485– 492.

Khanam D, Mohammad F (2018) Plant growth regulators ameliorate the ill effect of salt stress through improved growth, photosynthesis, antioxidant system, yield and quality attributes in *Mentha piperita* L. Acta Physiol Planta. 40:188.

Kim Y, Kim S, Shim IS (2017) Exogenous salicylic acid alleviates salt-stress damage in cucumber under moderate nitrogen conditions by controlling endogenous salicylic acid levels. Hortic Environ Biotechnol 58:247–253.

Kopittk PM, Menzies NW (2006) Effect of Cu toxicity on growth of cowpea (*Vigna unguiculata*). Plant Soil 279: 287–296.

Kováčik J, Klejdus B, Hedbavny J, Bačkor M (2010) Effect of copper and salicylic acid on phenolic metabolites and free amino acids in *Scenedesmus quadricauda* (Chlorophyceae). Plant Sci 178:307–311.

Krzesłowska M (2011) The cell wall in plant cell response to trace metals: polysaccharide remodeling and its role in defense strategy. *Acta physiologiae plantarum*, *33*, 35-51.

Kumar P, Tewari RK, Sharma PN (2008) Modulation of copper toxicity induced oxidative damage by excess supply of iron in maize plants. Plant Cell Rep 27:399–409.

L

Lavid N, Schwartz A, Yarden O, Tel-Or E (2001). The involvement of polyphenols and peroxidase activities in heavy-metal accumulation by epidermal glands of the waterlily (Nymphaeaceae). Planta, 212, 323-331.

Lee BR, Zhang Q, Park SH, Islam MT, Kim TH (2019) Salicylic acid improves drought-stress tolerance by regulating the redox status and proline metabolism in *Brassica rapa*. Horticulture Environment and Biotechnology. 60(1), 31-40.

Levine RL (2002) Carbonyl modified proteins in cellular regulation, aging, and disease 2, 3. Free Radical Biology and Medicin. 32(9), 790-796.

Li YL, Craker LE, Potter T (1995) Effect of light level on essential oil production of sage (*Salvia officinalis*) and thyme (*Thymus Vulgaris*). Int Sympo Med Aroma Plants. 426:419–426.

Lima, CF, Valentao PC, Andrade PB Seabra RM, Fernandes-Ferreira M, Pereira-Wilson, C (2007) Water and methanolic extracts of *Salvia officinalis* protect HepG2 cells from t-BHP induced oxidative damage. Chemico-Biological Interactions, 167(2), 107-115.

Loveys BR, Robinson SP, Brophy JJ, Chacko EK (1992) *Mango sapburn*: components of fruit sap and their role in causing skin damage. Funct Plant Biol 19:449–457.

M

MacFarlane GR, Burchett MD (2002) Toxicity, growth and accumulation relationships of copper, lead and zinc in the grey mangrove *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. Mar Environ Res; 54: 65–84.

Makandar R, Essig JS, Schapaugh MA, Trick HN, Shah J (2006) Genetically engineered resistance to Fusarium head blight in wheat by expression of Arabidopsis NPR1. Mol Plant Microbe Intearact. 19 : 123–9.

Maleci Bini L (2006) The glandular trichomes of Labiaceae. International Symposium The Labiatae: Advances in Production, Biotechnology and Utilization, Sanremo, Italy: 22-25 February 2006.

Mallek-Maalej E, Boulasnem F, Salem MB (1998) Effet de la salinité sur la germination de graines de céréales cultivées en Tunisie. Cahiers Agricultures, 7(2), 153-156.

Manivasagaperumal R, Vijayarengan P, Balamurugan S, Thiyagarajan G (2011) Effect of copper on growth, dry matter yield and nutrient content of *Vigna radiata* (L) Wilczek. J Phytol 3:53–62.

Marschner H (2011) Marschner's mineral nutrition of higher plants. Academic press.

Marschner H (1995) Mineral nutrition of higher plants, 2nd edn. Academic, San Diego.

Martin-Mex R, Villanueva-Couoh E, Herrera-Campos T, Larque-Saavedra A (2005) Positive effect of salicylates on the flowering of African violet. Sci. Hort. 103, 499–502.

Mateo A, Funck D, Muhlenbock P, Kular B, Mullineaux PM, Karpinski S (2006) Controlled levels of salicylic acid are required for optimal photosynthesis and redox homeostasis. J Experim Botany. 57:1795–807.

McCaskill D, Gershenzon, J, Croteau R (1992) Morphology and monoterpene biosynthetic capabilities of secretory cell clusters isolated from glandular trichomes of peppermint (*Mentha piperita* L.). Planta, 187(4), 445-454.

McCord JM (2000) The evolution of free radicals and oxidative stress. The American journal of medicine, 108(8), 652-659.

Mei L, Daud M, Ullah N, Ali S, Khan M, Malik Z, Zhu SJ (2015) Pretreatment with salicylic acid and ascorbic acid significantly mitigate oxidative stress induced by copper in cotton genotypes. Environ Sci Pollut Res 22:9922–9931.

Meng QM, Zou J, Zou JH, Jiang WS, Liu DH (2007) Effect of Cu^{2+} concentration on growth, antioxidant enzyme activity and malondialdehyde content in Garlic (*Allium sativum* L.). Acta Biol Cracov Bot. 49:95–101.

Michalak A (2006) Phenolic compounds and this antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. Polish J. Environ. Stud. vol.15, p.523-530.

Michaud AM, Chappellaz C, Hinsinger P (2008) Copper phytotoxicity affects root elongation and iron nutrition in durum wheat (*Triticum turgidum durum* L.). Plant Soil. 310:151–165.

Micó C, Recatala L, Peris M, Sanchez J (2006) Assessing heavy metal sources in agricultural soils of a European Mediterranean area by multivariate analysis. Chemosphere. 65:863–872.

Misra A, Srivastava AK, Srivastava NK, Khan A (2005) Zn-acquisition and its role in growth, photosynthesis, photosynthetic pigments, and biochemical changes in essential monoterpene oil (s) of *Pelargonium graveolens*. Photosynthetica. 43:153–5.

Misra A, Sharma S (1991) Zn concentration for essential oil yield and menthol concentration of Japanese mint. Fertilizer Res. 29:261–5.

Mocquot B, Vangronsveld J, Clijsters H, Mench M (1996) Copper toxicity in young maize (*Zea mays* L.) plants: effects on growth, mineral and chlorophyll contents, and enzyme activities. Plant Soil. 182:287–300.

Mohammadi H, Amirikia F, Ghorbanpour M, Fatehi F, Hashempour H (2019) Salicylic acid induced changes in physiological traits and essential oil constituents in different ecotypes of *Thymus kotschyanus* and *Thymus vulgaris* under well-watered and water stress conditions. Industrial Crops and Products. 129:561–74.

Møller IM, Jensen PE, Hansson A (2007) Oxidative modifications to cellular components in plants. Annu Rev Plant Biol. 58, 459-481.

Moons A, Prinsen E, Bauw G, Van Montagu M (1997). Antagonistic effects of abscisic acid and jasmonates on salt stress-inducible transcripts in rice roots. The Plant Cell, *9*(12), 2243-2259.

Moreno L, Bello R, Primo-Yúfera E, Esplugues J (2002) Pharmacological properties of the methanol extract from *Mentha suaveolens* Ehrh. Phytotherapy research, 16(S1), 10-13.

Mostofa MG, Fujita M (2013) Salicylic acid alleviates copper toxicity in rice (*Oryza sativa* L.) seedlings by up regulating antioxidative and glyoxalase systems. Ecotoxicol J 22:959–973.

Mucciarelli M, Camusso W, Bertea CM, Bossi S, Maffei M (2001) Effect of (+)-pulegone and other oil components of Mentha× piperita on cucumber respiration. Phytochemistry, 57(1), 91-98.

Munns R (2002) Comparative physiology of salt and water stress. Plant, cell and environment. 25(2), 239-250.

Mutlu S, Atici, Ö, Nalbantoglu B (2009) Effects of salicylic acid and salinity on apoplastic antioxidant enzymes in two wheat cultivars differing in salt tolerance. Biologia Plantarum. 53(2), 334-338.

Myrene R, Devaraj VR (2012) Induction of oxidative stress and antioxidative mechanisms in hyacinth bean under zinc stress. African Crop Science Journal, 20(1).

N

Negrão S, Schmöckel SM, Tester M (2017) Evaluating physiological responses of plants to salinity stress. Ann Bot 119:1–11.

Nguyen KH, Mostofa MG, Li W, Van Ha C, Watanabe Y, Le DT, Thao NP, Tran LSP (2018) The soybean transcription factor GmNAC085 enhances drought tolerance in Arabidopsis. Environ Exp Bot. 151:12–20.

Nicole, M, Daniel, JF, Martinez C, Bresson E, El Bachir O, Lopez F, Geiger JP (1998) The hypersensitive reaction of cotton to *Xanthomonas campestris* pv. Recent Research Development in Microbiolog. (2): 641-654.

Nie W, Gong B, Chen Y, Wang J, Wei M, Shi Q (2018) Photosynthetic capacity, ion homeostasis and reactive oxygen metabolism were involved in exogenous salicylic acid increasing cucumber seedlings tolerance to alkaline stress. Sci Hort. 235:413–423.

Noreen S, Muhammad A (2008) Alleviation of adverse effects of salt stress on sunflower (*Helianthus annuus* L.) by exogenous application of salicylic acid: growth and photosynthesis. Pak J Bot. 40(4):1657–63.

O

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

Orcutt DM (2000) The physiology of plants under stress: soil and biotic factors (Vol. 2). John Wiley and Sons.

Özkan M (2008) Glandular and glandular hairs of *Salvia recognita Fisch*. And Mey. (Lamiaceae) in Turkey. Bangladesh J Bot. 37:93–95.

P

Panou-Filotheou H, Bosabalidis AM, Karataglis S (2001) Effects of copper toxicity on leaves of oregano (*Origanum vulgare* subsp. hirtum). Ann Bot 88:207–214.

Pirasteh-Anosheh H, Emam Y (2018) Modulation of oxidative damage due to salt stress using salicylic acid in *Hordeum vulgare*. Arch Agron Soil Sci. 64:1268–1277.

Pirbalouti AG, Samani MR, Hashemi M, Zeinali H (2014) Salicylic acid affects growth, essential oil and chemical compositions of thyme (*Thymus daenensis Celak*.) under reduced irrigation. J Plant Growth Regul. 72:289–301.

Popova LP, Maslenkova LT, Ivanova A, Stoinova Z (2012) Role of salicylic acid in alleviating heavy metal stress. In Environmental adaptations and stress tolerance of plants in the era of climate change. Springer, New York, NY 447-466.

Prakasa REV, Ganesha RRS, Ramesh S (1995) Seasonal variation in oil content and its composition in two chemotypes of scented geranium (*Pelargonium* sp.). J Essent Oil Res. 7:159–63.

Prasad AS (2012) Discovery of human zinc deficiency: 50 years later. *Journal of Trace* Elements in Medicine and Biology, 26(2-3), 66-69.

Q

Qiu Z, Guo J, Zhu A, Zhang L, Zhang M (2014) Exogenous jasmonic acid can enhance tolerance of wheat seedlings to salt stress. Ecotoxicol Environ Saf. 104:202–208.

R

Radulescu V, Chiliment S, Oprea E (2004) Capillary gas chromatography–mass spectrometry of volatile and semi-volatile compounds of *Salvia officinalis*. Journal of chromatography A, 1027(1-2), 121-126.

Rady MM, Taha RS, Semida WM, Alharby HF (2017) Modulation of salt stress effects on *Vicia faba* L. plants grown on a reclaimed-saline soil by salicylic acid application. Roman Agric Res. 34:175–85.

Rashad RT, Hussien RA (2014) A comparison study on the effect of some growth regulators on the nutrients content of maize plant under salinity conditions. Annals of Agricultural Sciences. 59(1), 89-94.

Raskin, I (1992) Role of salicylic acid in plants. Annual review of plant biology, 43(1), 439-463.

Raskin I, Skubatz H, Tang W, Meeuse BJ (1990) Salicylic acid levels in the thermogenic and non-thermogenic plants. Annals of Botany, 66(4), 369-373.

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

Rizwan M (2012) Silicon-mediated heavy metal tolerance in durum wheat: evidences of combined effects at the plant and soil levels (Doctoral dissertation, Aix-Marseille France).

Rodrigues MN. Oliveira GB, Albuquerque J, Menezes JDA, Assis Neto AC, Miglino MA, de Oliviera, M (2013). Aspectos anatômicos do aparelho genital masculino de preás adultos (Galea spixii Wagler, 1831). *Biotemas*, *26*(1), 181-188.

Romani N, Koide S, Crowley M, Witmer-Pack M, Livingstone A M, Fathman, C, Steinman RM (1989) Presentation of exogenous protein antigens by dendritic cells to T cell clones. Intact protein is presented best by immature, epidermal Langerhans cells. The Journal of experimental medicine, 169(3), 1169-1178.

Rouphael Y, Raimondi G, Lucini L, Carillo P, Kyriacou MC, Colla G, Cirillo V, Pannico A, El-Nakhel C, Pascale SD (2018) Physiological and metabolic responses triggered by omeprazole improve tomato plant tolerance to NaCl stress. Front Plant Sci 9:249.

Rowshan V, Khoi MK, Javidnia K (2010) Effects of salicylic acid on quality and quantity of essential oil components in *Salvia macrosiphon*. J Biol Environ Sci. 4:77–82.

Rubio S, Rodrigues A, Saez A, Dizon M.B, Galle A, Kim TH, Santiago J, Flexas J, Schroeder JI, Rodriguez PL (2009) Triple lossof-function of protein phosphatases type 2C leads to partial constitutive response to endogenous ABA. Plant Physiol. 150, 1345–1355.

Russo A, Formisano C, Rigano D, Senatore F, Delfine S, Cardile V, Rosselli S, and Bruno, M (2013) Chemical composition and anticancer activity of essential oils of Mediterranean sage (*Salvia officinalis* L.) grown in different environmental conditions. Food Chem. Toxicol. 55: 42–47.

S

Sagardoy R, Morales F, López-Millán AF, Abadía A, Abadía J (2009) Effects of zinc toxicity on sugar beet (*Beta vulgaris* L.) plants grown in hydroponics. Plant Biol. 11:339–350.

Saharan K, khetarpaul N, bishnoi S (2002) Anti-nutrients and protein digestibility of Faba bean and rice bean as affected by soaking, deshelling and germination. Journal of food science and technology. 39(4), 418-422.

Sakhabutdinova AR, Fatkhutdinova DR, Shakirova FM (2004) Effect of salicylic acid on the activity of antioxidant enzymes in wheat under conditions of salin. Appl Biochem Microbiol. 40:501–505.

Sanchez-Pardo B, Fernandez-Pascual M, Zornoza P (2014) Copper microlocalisation and changes in leaf morphology, chloroplast ultrastructure and antioxidative response in white lupine and soybean grown in copper excess. J Plant Res. 127:119–129.

Sandalio LM, Rodriguez-Serrano M, Del-Rıo LA, Romero-Puertas MC (2009) Reactive oxygen species and signaling in cadmium toxicity. In: del Rio LA, Puppo A (eds) Reactive oxygen species in plant. Springer Berlin p. 175–189.

Santiago LS, Lau TS, Melcher, PJ, Steele OC, Goldstein G (2000) Morphological and physiological responses of *Hawaiian Hibiscus tiliaceus* populations to light and salinity. International journal of plant sciences. 161(1), 99-106.

Senaratna T, Touchell D, Bunn E, Dixon K (2000) Acetyl salicylic acid (Aspirin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plants. Plant Growth Regulation. 30(2), 157-161.

Sergiev I, Alexieva V, Karanov E (1997) Effect of spermine, atrazine and combination between them on some endogenous protective systems and stress markers in plants. Compt Rend Acad Bulg Sci. 51(3), 121-124.

Serrato-Valenti G, Bisio A, Cornara L, Ciarallo G (1997) Structural and histochemical investigation of the glandular trichomes of *Salvia aurea* L. leaves, and chemical analysis of the essential oil. Ann Bot. 79:329–36.

Shahid M, Pourrut B, Dumat C, Nadeem M, Aslam M, Pinelli E (2014) Heavy-metal induced reactive oxygen species: phytotoxicity and physicochemical changes in plants. Rev Environ Contamin Toxicol. 232:1–44.

Shakirova FM, Bezrukova MV, Yuldashev RA, Fatkhutdinova AR, Murzabaev AR (2013) Involvement of lectin in the salicylic acid-induced wheat tolerance to cadmium and the role of endogenous ABA in the regulation of its level. Doklady Biol Sci.;448(1):49–51.

Shakirova FM, Sakhabutdinova AR, Bezrukova MV, Fathutdinova RA, Fathutdinova DR (2003) Changes in hormonal status of wheat seedlings induced by salicylic acid and salinity. Plant Sci. 164:317–22.

Sharma SS, Dietz KJ (2006) The significance of amino acids and amino acid-derived molecules in plant responses and adaptation to heavy metal stress. J Exp Bot 57:711–726.

Shi Q, Bao Z, Zhu Z, Ying Q, Qian Q (2006) Effects of different treatments of salicylic acid on heat tolerance, chlorophyll fluorescence, and antioxidant enzyme activity in seedlings of *Cucumis sativa* L. Plant Growth Regul.48: 127–35.

Siddiqui MN, Mostofa MG, Akter MM, Srivastava AK, Sayed MA, Hasan MS, Tran LSP (2017) Impact of salt-induced toxicity on growth and yield-potential of local wheat cultivars: oxidative stress and ion toxicity are among the major determinants of salt tolerant capacity. Chemosphere. 187:385–394.

Sirvent T, Gibson D (2002) Induction of hypericins and hyperforin in *Hypericum perforatum* L. in response to biotic and chemical elicitors. Physiol Mol Plant Pathol. 60:311–320.

Song Y, Zhang H, Chen C, Wang G, Zhuang K, Cui J, Shen Z (2014) Proteomic analysis of copper-binding proteins in excess copper stressed rice roots by immobilized metal affinity chromatography and two-dimensional electrophoresis. Bio Metals. 27:265–276.

Soundararajan P, Manivannan A, Ko CH, Jeong BR (2018) Silicon enhanced redox homeostasis and protein expression to mitigate the salinity stress in Rosa hybrida 'Rock Fire'. J Plant Growth Regul. 37 :16–34.

Sresty TVS, Madhava Rao KV (1999) Les modifications ultrastructurales en réponse à un stress zinc et de nickel dans les cellules de la racine de pois de pigeon. Environ Exp Bot. 41: 3–13.

Srivastava MK, Dwivedi, UN (2000) Delayed ripening of banana fruit by salicylic acid. Plant science, 158 (1-2), 87-96.

Stancheva I, Geneva M, Boychinova M, Mitova I, et Markovska Y (2014) Physiological response of foliar fertilized *Matricaria recutita* L. grown on industrially polluted soil. Journal of Plant Nutrition, 37(12), 1952-1964.

Stevens J, Senaratna T, Sivasithamparam K (2006) Salicylic acid induces salinity tolerance in tomato (*Lycopersicon esculentum* cv. Roma): associated changes in gas exchange, water relations and membrane stabilisation. J Plant Growth Regul. 49:77–83.

Syeed S, Anjum NA, Nazar R, Iqbal N, Masood A, Khan NA (2011) Salicylic acid mediated changes in photosynthesis, nutrients content and antioxidant metabolism in two mustard (*Brassica juncea* L.) cultivars differing in salt tolerance. Acta physiologiae plantarum. 33(3), 877-886.

Szalai G, Krantev A, Yordanova R, Popova LP, Janda T (2013) Influence of salicylic acid on phytochelatin synthesis in *Zea mays* during Cd stress. Turk J Bot. 37: 708–14.

T

Taarit MB, Msaada K, Hosni K, Hammami M, Kchouk ME and Marzouk B (2009) Plant growth, essential oil yield and composition of sage (*Salvia officinalis* L.) fruits cultivated under salt stress conditions. Indust Crops and Prod. 30:333–337

Tahjib M, Siddiqui MN, Sohag AAM, Sakil MA, Rahman MM, Polash MAS, Tran LSP (2018) Salicylic acid mediated enhancement of photosynthesis attributes and antioxidant capacity contributes to yield improvement of maize plants under salt stress. J Plant Growth Regul. 37(4):1318–30.

Tamás L, Mistrík I, Alemayehu A, Zelinová V, Bočová B, Huttová J (2015) Salicylic acid alleviates cadmium-induced stress responses through the inhibition of Cd-induced auxin-mediated reactive oxygen species production in barley root tips. J of plant physiol. 173:1–8.

Tomaszewski M, Thimann, KV (1966) Interactions of phenolic acids, metallic ions and chelating agents on auxin-induced growth. Plant Physiology, 41(9), 1443-1454.

Tisserand R, Young R (2013) Essential oil safety: a guide for health care professionals. Elsevier Health Sciences.

Turner RG, Marshall C (1972) The accumulation of zinc by subcellular fractions of roots of *Agrostis tenuis* Sibth. relation to zinc tolerance, New Phytol. 71:671–6.

Turtola S, Manninen AM, Rikala R, Kainulainen P (2003) Drought stress alters the concentration of wood terpenoids in Scots pine and Norway spruce seedlings. J Chem Ecol. 29:1981–1985.

V

Van Assche F (1973) Physiological study of zinc toxicity on photosynthesis, Ph.D. thesis, Univ. Instelling Antwerpen, Germany.

W

Wang XF, Zhang DP (2008) Abscisic acid receptors: Multiple signal-perception sites. Annals of Botany 101, 311-317.

Wang SH, Yang ZM, Yang H, Lu B, Li SQ, Lu Y P (2004) Copper-induced stress and antioxidative responses in roots of Brassica juncea L. Botanical Bulletin of Academia Sinica, 45.

Wang Y, Nil N (2000) Changes in chlorophyll, ribulose bisphosphate carboxylase–oxygenase, glycine betaine content, photosynthesis and transpiration in Amaranthus tricolor leaves during salt stress. J Hortic Sci. Biotechnol.75, 623–627.

Wang M, Shao Y, Huang TC, Wei GJ, Ho, CT (1998) Isolation and structural elucidation of aroma constituents bound as glycosides from sage (*Salvia officinalis*). Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46(7), 2509-2511.

Wani PA, Khan MS, Zaidi A (2008) Chromium-reducing and plant growth-promoting Mesorhizobium improves chickpea growth in chromium-amended soil. Biotechnol Lett 30:159–163.

Wehr JB, Menzies NW, Blamey FPC (2004) Inhibition of cell-wall autolysis and pectin degradation by cations. Plant Physiol Biochem 42:485–492.

Werker E (2000) Trichome diversity and development. 31:1–35.

Werker E, Putievsky E, Ravid U, Dudai N, Katzir I (1993) Glandular hairs and essential oil in developing leaves of *Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae). Ann Bot. 71:43–50.

Wilkinson S, Davies WJ (2010) Drought, ozone, ABA and ethylene: new insights from cell to plant to community. Plant Cell Environ. 33(4):510–25.

X

Xu X, Tian S (2008) Salicylic acid alleviated pathogen-induced oxidative stress in harvested sweet cherry fruit. Postharvest biology and technology, 49(3), 379-385.

Y

Yang ZM, Wang J, Wang S, Xu L (2003) Salicylic acid-induced aluminum tolerance by modulation of citrate efflux from roots of Cassia tora L. *Planta*, *217*, 168-174.

Yruela I (2009) Copper in plants: acquisition, transport and interactions. Funct Plant Biol 36:409–43.

Yruela I (2005) Copper in plants. Braz J Plant Physiol 17:145–146

Z

Zengin F (2014) Exogenous treatment with salicylic acid alleviating copper toxicity in bean seedlings. Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences, 84, 749-755.

Zheljazkov VD, Warman PR (2006) Application of high-Cu compost to dill and peppermint. J Agric Food Chem. 52:2615–2622.

Zholkevich VN, Pustovoytova TN (1993) The role of *Cucumis sativum* L. leaves and content of phytohormones under soil drought. Russian Journal of Plant Physiology, 40: 676–680.

Zuzarte M, Salgueiro L (2015) Essential oils chemistry. Bioactive essential oils and cancer, 19-61.