

UNIVERSITE SAAD DAHLEB DE BLIDA

Faculté des sciences Agro- vétérinaires

Département des Sciences Agronomiques

MEMOIRE DE MAGISTER

Spécialité : Amélioration des productions végétales

ETUDE DES CARACTERISTIQUES PHYSIOLOGIQUES ET

BIOCHIMIQUES CHEZ L'ESPECE *Atriplex halimus* SOUMISE À UN

STRESS SALIN

Par

Faiza HAMDANI

Devant le jury composé de :

S. D. Snoussi	Professeur, U, de Blida	Président
F. Z. Benrebiha	Maître de conférence, U, de Blida	Promoteur
M. S. Abdul-hussain	Maître de conférence, U, de Blida	Examineur
A. k. Kameli	Professeur, E.N.S, Alger	Examineur

Blida, juin 2007

ملخص

الملوحة و الجفاف يحدان بصفة معتبرة الإنتاجية النباتية بنسبة 40 % من مساحة الأرض لاسيما في مناطق

البحر الأبيض المتوسط . في الجزائر 3,2 ملين هكتار مست بالملوحة .

تعيش النباتات المقاومة للملوحة بصورة طبيعية في هذه الأنظمة البيئية . عدة آليات فيزيولوجية و بيوكيميائية

تتدخل في مقاومة هذه الملوحة تعتبر التراكيز المتزايدة لمحلول كلور الصوديوم (NaCl) (25 غ/ل و 30 غ/ل) المطبقة

على نباتات فتية لنوع *Atriplex halimus* مميّنة . عند التركيز 20 غ/ل تنمو النباتات بصعوبة ، في حين سجل نمو

و تطور ناجح للنباتات الفتية التي لم يطبق عليها تراكيز محلول كلور الصوديوم (NaCl)، و كذا النباتات الخاضعة

للتراكيز الآتية: 2غ/ل ، 5 غ/ل ، و 15غ/ل. تعود هذه المقاومة للملوحة إلى تجمع شوارد : الصوديوم (Na+) ،

الكلور (Cl-) و البوتاسيوم (K+) و كذا تجمع الحمض الأميني (البرولين) بالإضافة إلى السكريات الذائبة على مستوى

الأوراق و هذا مع الحفاظ على جهاز التركيب الضوئي.

كما سجلت تغيرات نوعية للدهون الغشائية . إن فصل البروتينات الكلية بتقنية الهجرة الكهروباثية على هلام

الاجاروز اظهر وجود بروتين ربيسكو (Rubcas) و بروتين (PEPcase) و متعدد البيبتيد غير معروف ذو وزن

جزئي يعادل 64 كيلودلتون.

الكلمات الدالة : *Atriplex halimus*، الملوحة و الاجهاد الملحي.

RESUME

La salinité et la sécheresse limitant considérablement la productivité végétale sur 40% de la surface terrestre notamment en régions méditerranéennes. En Algérie, 3,2 millions hectares sont affectés par la salinité.

Les halophytes dans ces écosystèmes évoluent naturellement ; plusieurs mécanismes d'ordre physiologiques et biochimiques interviennent dans la tolérance à cette salinité. Les concentrations croissantes en NaCl (25 g/l et 30 g/l) appliquées sur les plantules d'*Atripelx halimus* apparaissent comme des doses létales pour ces dernières, avec des difficultés de croissance à la concentration 20 g/l en NaCl. Une croissance et un développement avec succès ont été enregistrés chez les plantules non stressées et les plantules traitées par des concentrations en NaCl de 2 g/l, 5 g/l, 10 g/l et 15 g/l. Cette tolérance a été manifestée par une accumulation des ions Na⁺, Cl⁻ et K⁺, de la proline et des sucres solubles au niveau des feuilles tout en protégeant l'appareil photosynthétique.

Des modifications qualitatives des lipides membranaires ont été enregistrées. La séparation des protéines totales par électrophorèse sur gel d'agarose a révélé la présence de la protéines RuBPcase, de la protéine PEPcase et un polypeptide inconnu de 64 KDa.

Mots clés : *Atriplex halimus*, salinité, stress salin.

ABSTRACT

The salinity and draught limit considerably plant productivity on 40% of the earth area notably in Mediterranean regions. In Algeria 3, 2 ha are affected by salinity.

Plants which resist to salinity in this ecosystem evolve naturally. Several physiological and biochemical mechanisms involve in tolerance to that salinity.

The increasing NaCl concentrations (25 g/l and 30 g/l) applied on the *Atriplex halimus* seedling, appears like lethal doses for this seedling with difficulties to grow at the NaCl concentration (20g/l). Successful increasing and development were registered in the case of seedling have not been treated by different concentrations and in the case of seedling treated with NaCl concentration: 2g/l, 5g/l, 10 and 15g/l. This tolerance was manifested by an accumulation of ions Na⁺, Cl⁻ and K⁺, of the proline and soluble sugars on the leaves, while protecting photosynthetic system.

Qualitative modifications of membranes lipids were registered. The separation of total proteins by electrophoresis on the agaros gel revealed presence of protein Rubcas , protein PEPcase and a unknown polypeptide from 64 KDa.

Key words: *Atriplex halimus*, salinity, salin-stress.

REMERCIEMENT

Je tiens à exprimer ma grande gratitude et ma profonde reconnaissance à ma promotrice Mme BENREBIHA F. Z, pour vouloir m'encadrer, pour ses enseignements et pour sa patience tout au long de la réalisation de ce mémoire.

Qu'il me soit également permis de remercier Mr SNOUSSI S. D pour avoir accepté de présider ce jury.

Mes remerciements vont aussi à Mme ABDUL – HUSSAIN M. S et Mr KAMELI A. K pour avoir accepté d'examiner ce travail.

J'exprime ma reconnaissance à Mr TAGMOUNT DJ et Mr TAGMOUNT S pour leur aide et leur soutien.

Je remercie aussi Mr KHERBECH M et Mr BOUCHEDOUB Y de m'avoir accordé la réalisation des différentes analyses.

En fin, je tiens à remercier toute personne ayant participé de loin ou de près à la réalisation de ce travail.

LISTE DES ABREVIATIONS

- CE : Conductivité électrique.
- S.A.0 : Superficie agricole utile.
- ABA : Acide abscissique.
- CDSP : Chloroplastic Drought -Induced Stress Protein.
- CDSP32 : Chloroplastic Drought-induced Stress Protein of 32 KDa.
- H.C.D.S : Haut Commissariat de Développement de la steppe.
- PC : Phosphatidylcholine.
- PI : Phosphatidylinositol.
- PS : Phosphatidylserine.
- PE : Phosphatidylethanolamine.
- AP : Phosphatidique.
- DPG : Diphosphatidylglycerol.
- PEPcase : phosphoenolpyruvate carboxylase.
- C.C.M : Chromatographie sur couche mince.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	18
CHAPITRE 1	
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	
1. Présentation de l'espèce	20
1. 1. Nomenclature	20
1. 2. Répartition	20
1. 3. Description et caractéristiques principales	21
1. 4. Exigences écologiques	24
1. 5. Mode de multiplication	25
2. Salinité	25
2. 1. Définition de la salinité	25
2. 2. Principales sources de sels	26
2. 2.1. Salinisation "primaire"	26
2. 2. 2. Salinisation "secondaire"	28
2. 3. Différents types de salinité	29
2. 4. Répartition des sols salés dans le monde	30
2. 5. Problématique du sol et de l'eau en Algérie	32
2. 5. 1. Présentation générales	32
2.5. 2. Gestion de l'irrigation dans le milieu salin en Algérie	34
3. Réponse des plantes au stress salin	36
3. 1. Définition du stress salin	36
3. 2. Effet du stress salin sur les plantes	37
3. 2. 1. Effet osmotique	38
3. 2. 2. Effet de la toxicité d'ions particuliers	40

3. 3. Comportement des plantes vis-à-vis du stress salin	43
3. 4. Réponses adaptatives des plantes aux stress salin	44
3. 4. 1. Adaptations morphologiques	45
3. 4. 2. Adaptations physiologiques	45
3. 4. 2. 1. Ajustement osmotique	45
3. 4. 2. 2. Aptitude des halophytes à protéger le système photosynthétique	48
3. 4. 2. 3. Perméabilité membranaire	52
3. 4. 3. Adaptations biochimiques	55
3. 4. 3. 1. Accumulation de la proline	55
3. 4. 3. 2. Accumulation des sucres et leurs dérivés, les polyols	57
3. 4. 3. 3. Accumulation des acides organiques	58
3. 4. 3. 4. Synthèse de l'acide abscissique (ABA) et l'éthylène	59
3. 4. 3. 5. Synthèse des protéines spécifiques au stress salin	60

CHAPITRE 2

MATERIELS ET METHODES

1. Matériel végétal	64
2. Mise en place de dispositif expérimental	64
2. 1. Semis	65
2. 2. Irrigation	65
2. 3. Conditions de culture	67
3. Paramètres étudiés	68
3. 1. Paramètres physiologiques	68
3. 1. 1. Taux de survie	69
3. 1. 2. Accumulation des ions Na ⁺ , K ⁺ et le Cl ⁻	69
3. 1. 2. 1. Dosage des ions K ⁺ et de Na ⁺	69
3. 1. 2. 2. Dosage de l'ion Cl ⁻	71
3. 1. 2. 3. Mesure du taux de chlorophylle	71
3. 1. 2. 4. Perméabilité membranaire (séparation des lipides membranaires)	72
3. 1. 2. 4. 1. Extraction des lipides membranaires	72
3. 1. 2. 4. 2. Séparation des lipides membranaires	73
3. 2. Paramètres biochimiques	75

3. 2. 1. Dosage de la proline	75
3. 2. 2. Dosage des sucres solubles	76
3. 2. 3. Dosage des protéines totales	77
3. 2. 3. 1. Extraction des protéines totales	77
3. 2. 3. 2. Dosage des protéines totales	78
3. 2. 3. 3. Séparation des protéines totales par électrophorèse sur gel d'agarose	79
4. Analyse statistique	85
CHAPITRE 3	
RESULTATS ET DISCUSSIONS	
1. Effets des différentes concentrations en NaCl sur les caractéristiques physiologiques	86
1. 1. Effets des différentes concentrations en NaCl sur le taux de survie	86
1. 2. Effets des différentes concentrations en NaCl sur l'accumulation des ions Na ⁺ , K ⁺ et Cl ⁻	91
1. 2. 1. Effets des différentes concentrations en NaCl sur l'accumulation de l'ion Na ⁺	91
1. 2. 2. Effets des différentes concentrations en NaCl sur l'accumulation de l'ion Cl ⁻	94
1. 2. 3. Effets des différentes concentrations en NaCl sur l'accumulation de l'ion K ⁺	96
1. 3. Effets des différentes concentrations en NaCl sur le taux de chlorophylle	101
1. 4. Effets des différentes concentrations en NaCl sur la perméabilité membranaire	104
2 - Effets des différentes concentrations en NaCl sur les caractéristiques biochimiques	111
2. 1. Effets des différentes concentrations en NaCl sur le taux de la proline	111
2. 2. Effets des différentes concentrations en NaCl sur le taux des sucres solubles	114
2. 3. Effets des différentes concentrations en NaCl sur le taux des protéines totales	117

CONCLUSION

123

REFERENCES

128

INTRODUCTION

La salinité est la sécheresse limitant considérablement la productivité végétale sur 40% de la surface terrestre notamment en régions méditerranéennes [1].

La salinisation des sols est un phénomène qui correspond à l'accumulation excessive de sels, ce qui se traduit par une diminution de la fertilité des sols. En Algérie, les caractères pédoclimatiques favorisent dans de nombreuses régions des processus de salinisation des terres très contraignantes pour les agriculteurs.

A ce titre et devant le risque de perdre de nouvelles terres par salinisation, des mesures strictes et urgentes ont été prises pour faire face à ce phénomène. Les principaux enjeux consistent à améliorer les pratiques culturales de manière à économiser les ressources en eau mais également à développer des espèces plus adaptées.

Les plantations d'*Atriplex* apparaissent comme l'une des meilleures solutions pour le rétablissement de ces terres et la restauration des sols. Ces arbustes sont extrêmement rustiques et capables d'être cultivées dans des conditions extrêmes d'aridité et de salinité, et constituent une réserve fourragère pour les périodes de disettes.

Afin de comprendre les mécanismes impliqués dans la tolérance des végétaux à la salinité, nous avons étudié la réponse au stress salin des plantules de l'espèce *Atriplex halimus*, dont l'objectif principal de notre étude est de préciser les limites de tolérance à la salinité au stade juvénile de cette espèce et son comportement vis-à-vis du stress salin tout en se basant sur des analyses d'ordre physiologiques et biochimiques.

CHAPITRE 1

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Présentation de l'espèce

1.1. Nomenclature

- Nom scientifique : *Atriplex halimus* L.
- Nom vernaculaire français: Pourpier de mer.
- Nom vernaculaire arabe: Gtaf.
- Famille : *Chénopodiaceae*.

1.2. Répartition

Le genre *Atriplex* est le plus grand et le plus diversifié de la famille des *Chénopodiaceae* et compte environ 200 espèces dans les régions tempérées et sub-

tropicales ; on trouve également des exemplaires de ce genre dans les régions polaires, bien qu'en nombre très réduit. Généralement, il est associé aux sols salins ou alcalins et aux milieux arides, désertiques ou semi-désertiques [2].

La zone de diffusion de l'espèce *Atriplex halimus* L s'étend des zones semi-arides aux humides ; elle est très commune le long des côtes du Bassin Méditerranéen [3]. En Algérie, le genre *Atriplex* est spontané dans les étages bioclimatiques semi-arides et arides et peut atteindre l'étage humide le long du littoral dans les zones affectées par les embruns marines [4]. Plus au sud, l'*Atriplex haklimus* a été signalée dans des terrains à nappe phréatiques salée, comme In Salah, à Fort-Flatters et dans les oueds entre Hoggar et Tassili des Ajjer ou encore au bord des sebkras de Timimoun et d'El Goléa [5].

1. 3. Description et caractéristiques principales

L'*Atriplex halimus* L est un arbrisseau buissonnant (50-200 cm), généralement argenté et très ramifié. Feuilles à courts pétioles, jusqu'à 6×4 cm ovoïdes-rhombiques ou ovoïdes. Fleurs unisexuées, étiolés et lancéolées, en petites grappes distantes. Fleurs mâles peu apparentes ; fleurs femelles à deux sépales presque rond, à bord entier ou dentelé

[6] (figure 1. 1 ; 1.2 ; 1.3). Cet arbuste fourrager autochtone qui tolère bien les conditions d'aridité (sécheresse, salinité..) peut contribuer à la valorisation des sols marginaux et dégradés et à l'amélioration des productions végétales et animale dans plusieurs régions démunies.

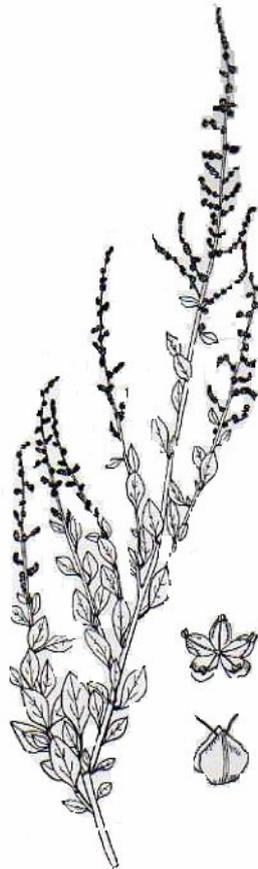


Figure 1. 1 : Aspect morphologique de l'*Atriplex halimus* [5].



Figure 1. 2 : Vue d'ensemble d'une nappe d'*Atriplex halimus* dans la zone d'El mesrane (Djelfa). Notant l'importance d'un pied d'*Atriplex halimus* présentant un diamètre appréciable (de 2 à 3 m).



Figure 1. 3 : Reprise de feuillage au mois d'Avril. Région d'El mesrane (Djelfa).

1. 4. Exigences écologiques

- *Bioclimat* : semi-aride supérieur à hivers chaud à froid.
- *Pluviométries* : 100-500mm de pluie par an. Nécessite un appoint d'eau sous 200mm de pluviométrie par concentration de ruissellement ou par présence d'une nappe phréatique à moins de 10m de profondeur.
- *Température* : supporte l'hiver, des minima absolus peuvent atteindre -5 à -10°C durant la nuit [7].
- *Sol* : Elle peut apparaître sur des terres en rocailles, talus argileux et dans des zones d'épandage plus ou moins salées [8]. Elle peut tolérer des concentrations en NaCl jusqu'à 30 g/l mais il semble que la durée de vie est courte où il est noté une manifestation probable de la proximité de la zone de toxicité (ZID et BOUKHRISS cité par BENREBIHA [9]). Quoiqu'il en soit, l'*Atriplex halimus* est en mesure de pousser et de bien produire si le terrain n'est pas salin.

1. 5. Mode de multiplication

Il existe plusieurs modes de multiplication chez l'espèce *Atriplex halimus* ; semis au printemps dans du sable ; bouturage en été en demi-herbacé ; à l'étouffée ou en rameaux ligneux au printemps [10].

2. Salinité

2. 1. Définition de la salinité

La salinité est un facteur écologique constitué par la teneur en sel (NaCl) dans des eaux ou dans des sols. Dans de nombreux écosystème, la salinité est facteur limitant.

L'excès des sels dans les sols empêche le développement d'une végétation normale, seule quelques plantes halophiles étant capables d'y croître [11].

En pédologie, la salure du sol et la salinité de ses solutions sont deux notions tout à fait différentes. En effet, la salure du sol correspond à la quantité de sels solubles retenus par le sol. La salinité de solutions du sol dépend de son humidité [12], elle s'exprime en CE à 25 °C (conductivité électrique) en millimhos ou en micromhos.

La salinisation est un ensemble de mécanismes suivant les quels le sol s'enrichit en sels solubles et acquière, à un degré plus ou moins fort, le caractère salé [13].

2. 2. Principales sources de sels

La salinisation peut être "primaire" c'est-à-dire héritée des conditions naturelles, liées par exemple à la présence des couches géologiques salées. Elle peut également être "secondaire" c'est-à-dire liée à l'activité de l'homme et en particulier aux pratiques d'irrigation.

2. 2.1. Salinisation "primaire"

Les principales sources de la salinisation primaire sont [14]:

- *Océan*: dans ce cas, l'accumulation des sels se fait par l'intermédiaire de l'atmosphère, qui peut véhiculer des sels dissous dans l'eau de pluie, mais surtout de très fines particules hygroscopiques, sous forme d'aérosols.

Ces sels sont rabattus vers le sol lors de précipitations et sédimentent également par temps sec. Le phénomène est très significatif à proximité du littoral marin,

mais peut s'avérer non négligeable au cœur même des continents (BRESLER *et al.*, 1982 ; MEYBECK, 1984,1987, cité par CHEVERRY et BOURRIE [14]).

La majeure partie des anions chlorures et sulfates, une partie mineure mais non négligeable du sodium et du magnésium vient ainsi indirectement de l'océan.

Dans ces conditions, le faciès hydrochimiques des eaux est

"chloruré- sodique" ou "sulfaté-sodique" .

- *Lithosphère* : du fait de l'altération des roches constituant les îles océaniques ou la croûte continentale. Il s'agit surtout dans le premier cas de basaltes, dans le deuxième cas de granites ou de roche voisines, et des sels dissous résultent de réactions hydrolyses aluminosilicates et des ferromagnésiens.

Dans les roches de la lithosphère continentale, le sodium et le calcium sont plus abondant que le magnésium et le potassium, et les eaux appartiennent donc aux faciès hydrochimiques "bicarbonaté-calcique" et "bicarbonaté- sodique".

- *Sels fossiles* : c'est l'origine principale des phénomènes de salinisation primaire observés à travers le globe. Il peut s'agir soit de nouveaux évaporitiques (roches), soit des solutions du sol salées emprisonnées dans des sédiments

d'origine marine. Beaucoup de pays sont concernés, les sels ainsi remis en circulation pouvant être plutôt d'origine continentale (Caucase, Mandhourie, Mangolie, Tchad..), d'origine marine (les deltas anciens notamment), et ce parfois par des phénomènes d'artésianisme, remontant en surface des eaux salines fossiles très profondes (Asie Centrale, Afrique du Nord...).

2. 2. 2. Salinisation"secondaire"

Un caractère salin accompagne aussi très fréquemment la mise en valeur des terres par irrigation (salinité secondaire) où il est induit par la médiocre qualité de l'eau utilisée, par les engrais ou par des pratiques agricoles mal conduite et l'absence de drainage en particulier (BOUTEYR et LYER, 1995 ; QUADIR et al., 2001, cité par PANSU et GAUTHEYROU [15]. Le phénomène de salinisation est une cause de la désertification suite à l'accumulation de sels dans le sol, ce qui nuit aux cultures [16].

2. 3. Différents types de salinité

On distingue deux types de salinité des sols: les sols salins (solontchaks) et les sols alcalins (Solonetz).

Les sols salins (solontchaks) ont pour principales caractéristiques leur richesse en sels solubles notamment des chlorure et sulfate de sodium, de magnésium, de potassium, etc. Ces sols sont généralement dominant dans les régions arides et semi-arides.

Les sols alcalin (Solonetz) ; ce sont des sols présentant des teneures en sels alcalins (carbonates et bicarbonates) telles que le pH est supérieur à 8,8 ce qui empêche la croissance de la plus part des plantes. Le sodium échangeable représente moins de 15% du complexe d'échange (LOZET et MATCHIEN,1997 cité par BAIZE [17]).

Les sols salés peuvent être classés en différentes classes de salinité en fonction de la conductivité électrique (CE) de l'extrait de la pâte saturée (tableau 1.1).

Tableau 1. 1 : Classes de la salinité du sol en fonction de la conductivité électrique

de l'extrait de la pâte saturée et de la somme des anions

(SERVANT, 1975, cité par BAIZE [18]).

	Désignation	CE mmho/cm à 25°C	Somme des anions (mél/l)
0	Non salé	< 2,5	< 2,5
1	Faiblement salé	2,5 - 5	25 - 50
2	Moyennement salé	5 - 10	50 - 105
3	Salé	10 - 15	105 - 165
4	Fortement salé	15 - 20	165 - 225
5	Très fortement salé	20 - 27,5	225 - 315
6	Excessivement Salé	27,5 - 40	315- 620
7	Hyper salé	> 40	> 620

2. 4. Répartition des sols salés dans le monde

Les terrains salés se rencontrent surtout le long des côtes maritimes, dans les zones salées et humides, et à l'intérieur des terres dans les zones arides [19] (figure 1. 4).

En effet, le problème de la salinisation s'accroît avec l'extension des superficies irriguées [20]. Le risque de voir de nouvelles terres perdues par salinisation s'est fortement accru depuis 20 ans par suite de très fort développement de l'irrigation (tableau 1. 2).

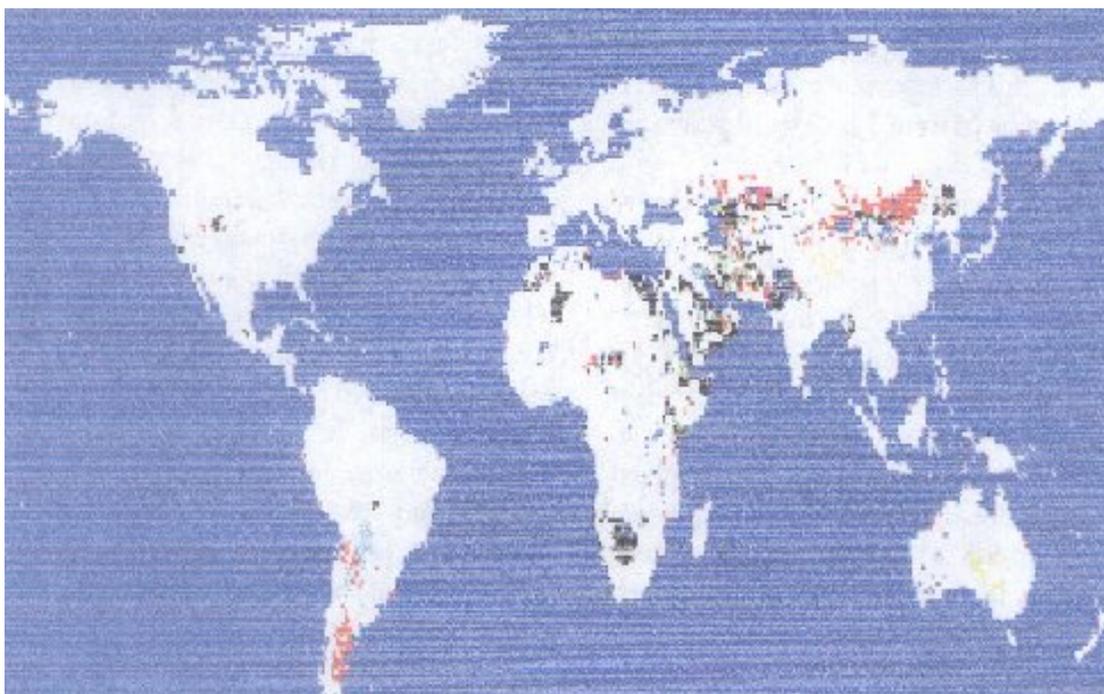


Figure 1. 4 : Répartition des sols salés dans le monde [21].

Tableau 1. 2 : Dégradation des terres cultivées par la salinisation des divers pays au cours des la dernière décennie [11].

Pays	Surfaces irriguées en 10³ ha	Accroissement (en %)	% atteint par le sel
Egypte	2474	-12	40
Soudan	1700	-2	20
Etats unis	19830	19	25
Chine	45420	6	15
Inde	39800	18	27
Iran	5730	-3	30
Irak	1750	11	50
Pakistan	15320	13	40

2. 5. Problématique du sol et de l'eau en Algérie

2. 5. 1. Présentation générales

Actuellement l'eau est considérée comme le plus important pour l'agriculture en Algérie. Cette eau est à la fois rare et mal répartis sur le territoire national, ajoutant à cela l'augmentation des productions agricoles indispensables à la satisfaction des besoins de la population ont conduit à la surexploitation de ces ressources naturelles. En effet la problématique de l'irrigation en Algérie est variable en fonction des zones écologiques.

Sur 238174000 ha de superficie totale, quelques 200.000.000 ha (80%) sont occupés par le sahara. L'agriculture irriguée y est impraticable, du fait d'une pluviométrie de moins de 100 mm d'eau. Une vaste zone semi-aride de 20.000.000 ha s'étend du nord du Sahara à la limite sur des haut plateaux, en passant par l'atlas saharien, c'est le domaine de la steppe où la pluviométrie, très inférieure à 350 mm d'eau. Quelques 150.000.000 ha sont occupées par les chaînes montagneuses du nord, la majeure partie de cette superficie étant inutilisable par l'agriculteur (culture céréalière et pâtures extensives en raison de ses pentes élevées (plus de 12 %) et de ses sols.

Ainsi, il ne reste plus en superficie agricole utile (S.A.U) qu'une étendue estimée à 7,5 millions d'ha (soit à peine 3% de territoire national) concentrés pour l'essentiel dans les plaines et vallées du nord et dont la baisse inquiétante (tableau 1. 3) est due principalement à la nature et au relief du sol, à l'érosion qui touche 10 millions d'ha sur le nord de l'Algérie, à l'urbanisation incontrôlable, à la salinisation et /ou stérilisation des sols des régions steppiques et celles de l'ouest du pays, à la pollution des sols, à la faiblesse des ressources hydriques...etc [22].

Tableau 1. 3 : Régression de la superficie agricole utile en Algérie [22].

Année	Superficie agricole utile (S.A.U) (en ha)
1962	0,75
1967	0,67
1982	0,36
1991	0,32
1996	0,25
2000	0,20

2.5. 2. Gestion de l'irrigation dans le milieu salin en Algérie

En Algérie, la majorité des périmètres irrigués sont confrontés aux problèmes de salinité qui diffèrent selon les régions bioclimatiques agro-pédologiques ; la dégradation avancée du sol suite à l'action conjuguée de l'irrigation, la salinité des eaux, l'insuffisances et/ou l'absence de drainage et la rareté des amendements organiques est marquée.

La problématique de salinité est rencontrée pratiquement au niveau du quasi-totalité des terres agricoles : la steppe est affectée par la salinité sur une superficie d'un million d'hectare, la région Ouest avec 400 000 hectares (périmètres du Bas Chelif, la Mina, Habra Sig et l'Oranais) et 100 000 hectares pour le sud [23].

L'extension de l'agriculture en irriguée et l'utilisation intense des ressources en eau dans un pays chaud et sec entraîne inévitablement l'apparition du problème de salinité des sols et des eaux. L'Algérie qui offre toutes les variantes du climat méditerranéen n'échappe à cette règle, où la sécheresse observée depuis longtemps, a conduit au développement du processus de salinisation des sols sur 3,2 millions d'hectares affectés [24].

A ce titre, et devant la détérioration de la situation et son évolution incontrôlée qui constitue une menace réelle sur les superficies agricoles utiles, des mesures strictes et urgentes ont été prises pour la mise en valeur des sols salés, afin de :

- Préserver certaines zones favorables de la dégradation par la salinisation ;
- Identifier le matériel végétal local adapté, par l'introduction et sélection des espèces tolérantes au sel et adaptées aux conditions locales ; l'identification, la sélection et l'introduction des espèces adaptées aux conditions locales de chaque site retenu :

- Espèces autochtones : *Salsola vermiculata*, *Atriplex halimus*, *Atriplex glauca*, *Kochia prostrata*.

- espèce exotiques : *Atriplex indulata*, *Atriplex lentiformis*, *Atriplex nummularia*, *Atriplex canescens*, *Kochia prostrata*.

- culture fourragères en irrigué : plusieurs espèces adaptées à la salinité des sols et des eaux seront testées, ainsi que d'autres espèces locales, exemple :
Luzerne.

- Déterminer les conditions d'adaptation et de tolérance du système sol-eau- plante dans un milieu salin ;
- Acquérir les connaissances techniques et scientifiques nécessaires pour la gestion de ce phénomène dans les différentes régions du pays ;
- Vulgariser les techniques.

3 - Réponse des plantes au stress salin

3. 1. Définition du stress salin

Le stress est fondamentalement un concept de mécanique, défini par les ingénieurs et les physiciens comme étant une force exercée par unité de surface d'un objet. En réponse au stress, l'objet oppose une déformation, ou un changement de dimensions.

Il est difficile de définir aussi précisément le stress en biologie. J. LEVITT a considéré que la terminologie employée en physique peut et devrait être appliquée aux organismes vivants, mais en pratique, le concept de stress en biologie contient des connotations plus générales. La définition, peut être la plus pertinente d'un stress biologique, serait «une force ou une influence hostile qui tend à empêcher un système normal de fonctionner » [25].

Chez les végétaux, le stress peut être représenté comme étant une agression ou contrainte provoquée sur une plante par des variations des facteurs climatiques ou liés au sol. On parle par exemple : de stress hydrique (manque d'eau), de stress thermique (chaud ou froid), de stress lumineux (intensité lumineuse excessive) et de stress salin : brusque élévation de la teneur en sel dans le milieu racinaire [26].

3. 2. Effet du stress salin sur les plantes

La salinité peut affecter la croissance des plantes de deux façons : par effet osmotique et à cause de certains ions.

3. 2. 1. Effet osmotique

La plante peut absorber l'eau de deux façons :

- Par les organes aériens, l'eau est alors absorbée par les feuilles, mais cette quantité reste toujours faible ;
- Par les racines qui fournissent la quasi-totalité de l'eau nécessaire ;

Cette absorption d'eau est un phénomène d'osmose. Dans un sol convenablement irrigué, la pression osmotique est très faible. Lorsque le sol s'assèche ou lorsqu'il est salé, la pression osmotique s'élève à plusieurs atmosphères [27]. Cependant, les fortes concentrations en sels sont inextricablement liées au stress hydrique. Des concentrations salines élevées génèrent de bas potentiel hydrique du sol, une forme de sécheresse physiologique, qui rendent de plus en plus difficile l'acquisition d'eau et de nutriments par les plantes. Comme elles offrent en commun des aspects, de stress osmotique [25].

au fur et à mesure que la concentration de la solution externe devient hypertonique par rapport aux cellules, les molécules d'eau auraient plutôt tendance à sortir de la cellule qu'à entrer, et les cellules deviendraient déshydratées et mourraient éventuellement (figure 1. 5).

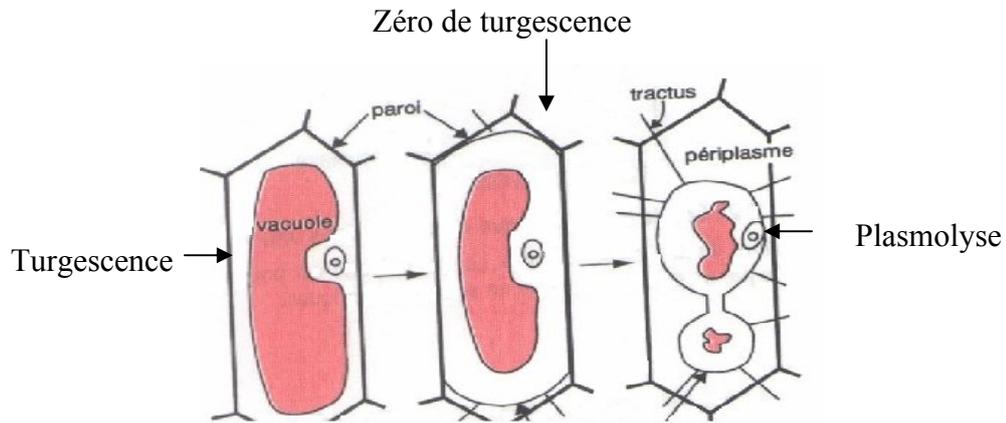


Figure 1.5 : Turgescence et plasmolyse.

Chez les halophytes, l'assimilation quantitative des ions peut être expliquée par l'ajustement osmotique c'est-à-dire par l'abaissement du potentiel des solutés. La quantité des ions apportée par unité de masse racinaire et par unité de temps, constitue une véritable mesure de l'aptitude des plantes à s'adapter à l'osmolarité, chez *Suaeda maritima*, le rythme de transport du Na^+ est beaucoup plus important que chez les non halophytes même à des concentrations externes moyennement élevées (FLOWERS *et al.*, 1977, cité par HAMDY [28]). En effet la pression hydrostatique peut être maintenue par l'ajustement osmotique. La relation du potentiel hydrique extérieur (ψ) avec la pression hydrostatique (P) et la pression osmotique des plantes est la suivante [29] :

$$\Psi = P - \pi$$

Il est clair de l'équation au dessus qu'avec la diminution de ψ , le maintien de la turgescence exigera une augmentation de π de la même magnitude. La perte de la pression

hydrostatique affecte la croissance des plantes. En effet, Lorsque les plantes sont sujettes à la salinité, des blessures peuvent apparaître sous l'effet osmotique (MURTY et JANARDHAN, 1971 cité par HAMDY [28]. WYN JONES (1981) a étudié le concept du stress hydrique dans les conditions de salinité et il a mis au en évidence concernant la perte de la pression hydrostatique et la déshydratation des tissus des plantes par les sels externes (OERTLI, 1968 ; FLOWER *et al.*, 1991 ; ARIF et TOMAS, 1993 cité par HAMDY [28]). En général, la réduction de la croissance des plantes due à la salinité est communément attribuée à l'un ou l'autre ; soit au bas potentiel osmotique externe ou bien à la toxicité directe des ions.

3. 2. 2. Effet de la toxicité d'ions particuliers

La salinisation accentue les effets de la sécheresse en limitant le prélèvement de l'eau par la plante, par réduction de la différence des potentiels osmotiques entre la solution du sol et les cellules végétales. Le stress salin est cependant plus complexe que le stress hydrique, car cet effet physique est combiné à des phénomènes de toxicité ioniques.

L'excès de sels dans les sols provoque chez les végétaux en premier lieu une réduction de la croissance qui se traduit par une diminution du contrôle de statut hydrique,

désordre nutritionnel, ralentissement de la synthèse protéique, perturbation de la stabilité des structures membranaires et inhibition de l'activité des enzymes, changement dans l'extensibilité de la paroi cellulaire, en relation avec sa composition protéique, réduction de la capacité photosynthétique et altération du métabolisme hormonal [30]. Jusqu'à une certaine concentration où tout va être bloqué et on assistera à la mort de la plante.

Dans les régions semi-arides, l'apparition des taches nues sur un champ planté d'une culture peut être l'indication de la présence d'une teneur assez élevée en sel du sol pour tuer les semences en germination. Les sols à forte teneur en carbonate de calcium, ou l'eau de l'irrigation riche en bicarbonate, sont souvent la cause de chlorose chez les plantes. Des nécroses marginales au niveau des feuilles peuvent apparaître (figure 1. 6).

Les extrémités de certaines feuilles de plantes ont une apparence roussie ou brûlées et lorsqu'elles sont arrosées avec des eaux salées, les dommages dus au sel ne font que brûler ou tuer les feuilles en contact direct avec cette solution. Les dommages sont plus importants lorsque l'irrigation se produit par temps chaud et sec [31].



Figure 1. 6 : Symptômes d'excès de salinité sur érable.

3. 3. Comportement des plantes vis-à-vis du stress salin

Sur la base de leur comportement vis-à-vis des stress salins, les plantes peuvent être classées en quatre catégories :

- *Plantes sensibles* : ce sont des plantes dites glycophytes (= qui poussent sur des sols doux, c'est-à-dire non salés). A partir des doses de 2 à 3 g/l (NaCl), ces plantes peuvent être affectées dont il y a une baisse de rendement de 20 %. On peut citer comme exemple : l'haricot, fève, melon, lentille, ail, concombre, divers plantes d'ornement, pin maritime, agrume (Citronnier surtout), abricotier, noyer ;
- *Plantes assez résistantes*, qui peuvent tolérer des concentrations en NaCl de 3 à 5 g/l. On a le cas de la luzerne âgée (dans le stade jeune elle est beaucoup plus sensible), trèfle d'Alexandrie, carotte, pêcher, prunier ;
- *Plantes résistantes*, qui peuvent présenter une tolérance en sels jusqu'à une concentration de 10 g/l, comme la tomate, le maïs(sous certain climats), l'avoine, le blé, le seigle, l'orge, le ray-grass.

- *Plantes très résistantes* : qui sont d'un intérêt spécial, pour la culture en sol salé : épinard, betterave, on peut cité également le genre *Atriplex*, chou, asperge, riz, coton, palmier (jusqu'à 18 g/l) [32].

3. 4. Réponses adaptatives des plantes aux stress salin

Contrairement à leur homologue du monde animal, protégés par l'homéostasie du milieu intérieur, la plupart des cellules de la plante se trouvent confrontées aux conditions environnementales (sécheresse salinité etc.). Afin de subsister, les végétaux doivent développer des modifications morphologiques, physiologiques et biochimiques.

Les halophytes (du grec halo= sel) sont des végétaux qui se développent en présence de sels. Toutes les plantes vivent dans un milieu contenant des sels variés, puisqu'elles se nourrissent d'ions minéraux prélevés dans l'eau du sol, mais pour les halophytes, la quantité de sels solubles est anormalement grande. Les anions sont essentiellement des chlorures, des sulfates et des bicarbonates. Les deux premières sont naturellement toxiques pour les plantes dès qu'ils atteignent des concentrations élevées. Les cations les plus représentés sont le sodium, le calcium et le magnésium [33]. Cette résistance des halophytes à la salinité est assurée grâce aux divers mécanismes :

3. 4. 1. Adaptations morphologiques

Par leur morphologie, les halophytes rappellent des plantes grasses [34]. Les adaptations de la forme et de la structure des halophytes vont dans le sens d'une économie d'eau : cuticule épaisse, stomates peu nombreux, grand développement des parenchymes aquifères (d'où succulence, en particulier des feuilles) [35].

3. 4. 2. Adaptations physiologiques

3. 4. 2. 1. Ajustement osmotique

Certains halophytes sont considérés comme des accumulateurs de sel ces dernières ont recours à une absorption ionique élevée pour maintenir la turgescence des cellules, lorsque le potentiel hydrique du sol est faible. Leurs tissus présentent une pression osmotique très élevée. Tel est le cas dans les milieux riches en sel ou à l'intérieur des végétaux, des pressions osmotiques supérieures à 100 atmosphères peuvent être enregistrées. En effet, 10 g de Na Cl par litre développent une pression osmotique d'environ 7 atmosphères. Lorsque cette pression osmotique tend à s'élever, il y a une hausse concomitante de la pression osmotique interne dont sont capables seulement certaines plantes halophytes [36].

Les concentrations élevées en Na Cl nuisent aux enzymes et aux systèmes réactionnels du cytoplasme , qui sont sensibles aux sels chez les halophytes comme chez les glycophytes, le Na^+ s'entoure d'un film d'eau particulièrement large et perturbe ainsi la structure moléculaire de l'eau dans le cytoplasme. C'est pourquoi le NaCl absorbé comme composé osmotique s'accumule dans les vacuoles, la concentration en Na^+ dans le cytoplasme restant alors faible. Mais dans ce cas un problème se pose c'est que : un gradient osmotique ne peut pas s'établir de part et d'autre du tonoplaste entre le cytoplasme et la vacuole puisqu'il n'y a pas de contre pression de la paroi cellulaire, pour cela les cellules doivent atteindre un état d'équilibre où les effets osmotiques du Na Cl dans les vacuoles sont compensés par les effets osmotiques d'autres substances dans le cytoplasme. Il s'agit d'une adaptation qui se repose sur la biosynthèse de différentes substances organiques [37].

Contrairement aux accumulateurs de sels, certains halophytes sont considérés comme les régulateurs de salinité. Des régulateurs de salinité de la mangrove (Rhizophoramangle), n'absorbent pas le sel mais en excrètent des quantités considérables par leurs racines (figure 1. 7). D'autres régulateurs de salinité absorbent le sel, mais en excrètent de grandes quantités dans des glandes à sel spécialisées des feuilles (figure 1. 8).

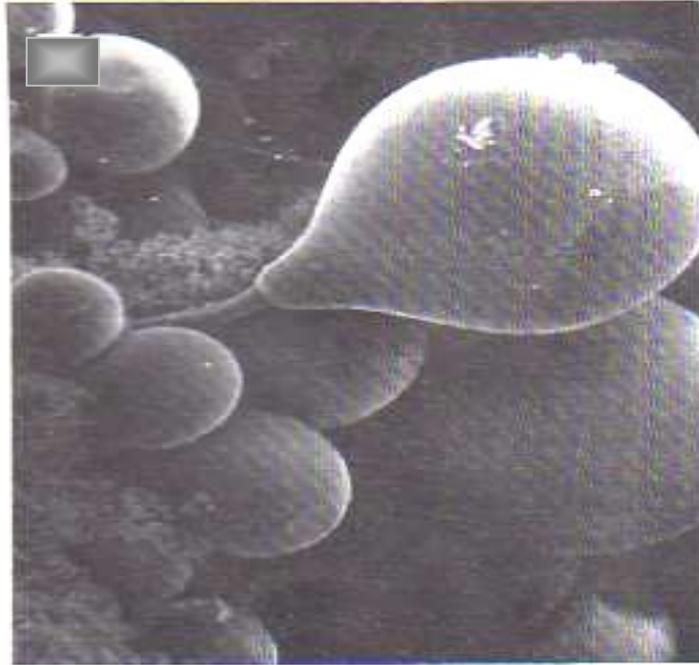


Figure 1. 7 : Poils sécréteurs (de sel) de l'*Atriplex spongia* [19].

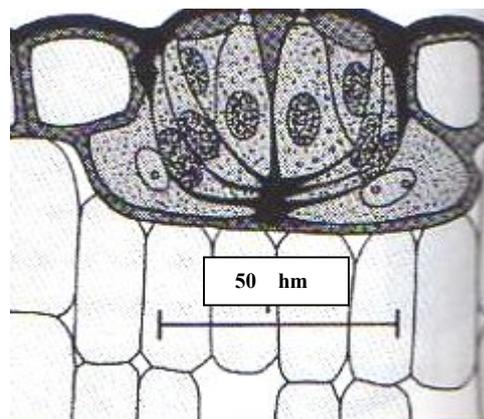


Figure 1. 8 : Glande à sel de *limonium vulgare* [19].

Le sel excrété cristallise à la surface des feuilles, où il devient inoffensif. Sous le climat sec de l'Afrique orientale, la face inférieure des feuilles de *Avicennia maritima* L se couvre dans la journée d'une couche dense de cristaux de chlorure de sodium. Au cours de la nuit, l'absorption hygroscopique de l'eau de l'atmosphère entraîne la dissolution des cristaux [38].

On peut ajouter également le cas de Tamarix qui a la faculté de rejeter les sels en excès par des pores spéciaux repartis sur les feuilles [39].

3. 4. 2. 2. Aptitude des halophytes à protéger le système photosynthétique

Le fonctionnement des plantes en C4 (graminées tropicales et certaines plantes d'*Atriplex*, etc) apparaît comme une excellente adaptation à la vie en régions sèches ou salées. Ces plantes peuvent maintenir longtemps les stomates presque fermés pour limiter la transpiration (figure 1. 9). La réduction de l'absorption de CO₂ qui en résulte est compensée par l'efficacité élevée de la fixation du CO₂ et par l'absence de photorespiration qui représente normalement une perte de carbone [40].

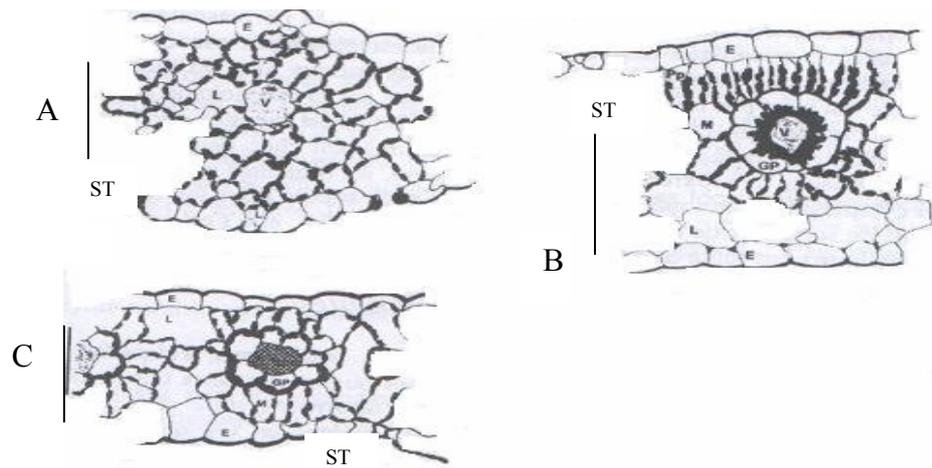


Figure 1. 9: Anatomie de feuilles de plantes C3 et C4 [41].

A : Monocotylédone C3 : *Avena sativa*.

B : Dicotylédone C4 : *Gomphena celosioides*.

C : Monocotylédone C4 : *Zea maays*.

Les feuilles des plantes en C4 possèdent deux types de cellules chlorophylliennes

(figure 1. 10) : au niveau du mésophylle, dans le cytoplasme, de l'acide

phosphoénolpyruvique est carboxylé pour donner de l'acide oxaloacétique :



Puis, dans les chloroplastes, le NADPH₂ provenant de la photosynthèse réduit cet acide oxaloacétique en acide malique (ou partiellement en acide aspartique s'il y a en même temps amination) :



Cet acide malique va migrer dans les cellules chlorophylliennes de la gaine périvasculaire où il sera décarboxylé en CO₂ + acide pyruvique :



Le CO₂ servira à la carboxylation du ribulose diphosphate dans un cycle de Calvin classique, tandis que l'acide pyruvique repassera dans les cellules du mésophylle où, utilisant l'ATP provenant de la photosynthèse de ces cellules, il donnera de l'acide phosphoénolpyruvique grâce au quel le cycle pourra recommencer.

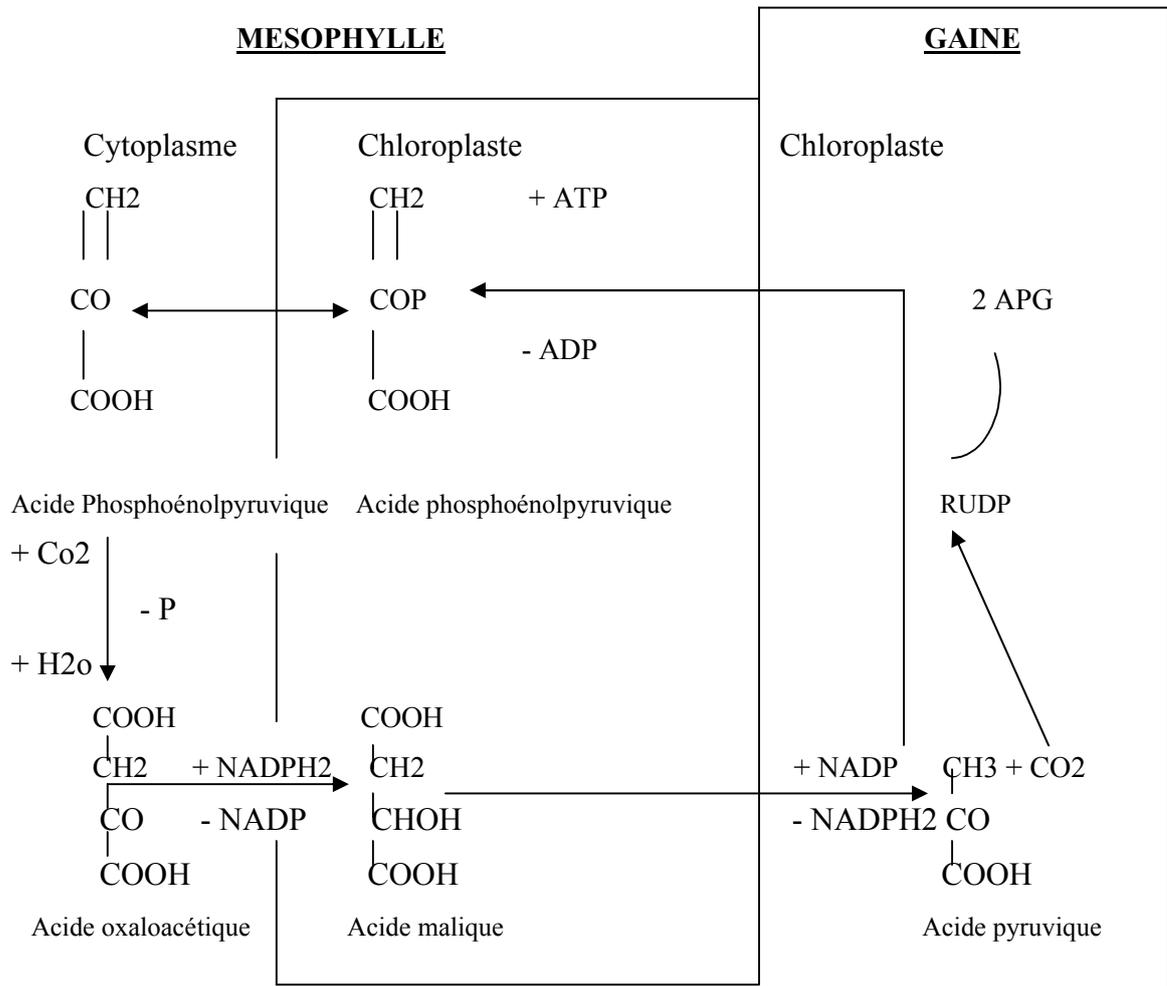


Figure 1. 10 : Fonctionnement photosynthétique des plantes en C4 [42].

La photosynthèse des cellules du mésophylle ne comportent pas de cycle de Calvin et sert uniquement à fixer le CO₂ ; les dépenses énergétiques sont donc plus grandes que chez les plantes en C₃ ; cependant le rendement globale est meilleur car la concentration en CO₂ des cellules de la gaine se trouvent augmentées, les pertes par photorespiration sont pratiquement nulles [42].

3. 4. 2. 3. Perméabilité membranaire

La membrane cellulaire est le premier site de l'interaction du sel avec la plante, l'effet du sel entraîne des modifications quantitatives et qualitative dans les classes lipidiques de la membrane [43].

Les membranes forment des limites au tour de la cellule et autour des différents compartiments intracellulaires. Elles agissent comme des barrières à perméabilité sélective permettant à l'environnement interne de la cellule ou d'un organite d'être différent de l'environnement externe. Toutes les membranes contiennent deux composés de base : des lipides et des protéines. Certaines membranes contiennent également des glucides.

Les trois classes principales de lipides membranaires sont les glycérophospholipides, les sphingolipides et les stérol.

Les glycérophospholipides, ont trois composantes : un groupement phosphorylé qui constitue une tête polaire, un squelette de glycérol (trois carbones) et deux chaînes hydrocarbonées d'acides gras. Les principaux glycérophospholipides des membranes sont : la phosphatidylcholine, la phosphatidyléthanolamine, le phosphatidylglycérol, le phosphatidylinositol et la phosphatidylserine. On trouve du diphosphatidylglycérol essentiellement dans la membrane mitochondriale interne (figure 1. 11).

Les sphingolipides sont formés d'un sphingosine lié à une seule chaîne d'acides gras et soit à un groupement phosphorylé (Sphingomyéline) soit à un ou plusieurs résidus glucidiques (les glycosphingolipides: cérébrosides et gangliosides) (figure 1. 12).

Dans les membranes plasmiques animales, le principal stérol est le cholestérol tandis que dans les cellules végétales, on trouve des molécules structurellement proches : le stigmasterol et le β - sitostérol [44].

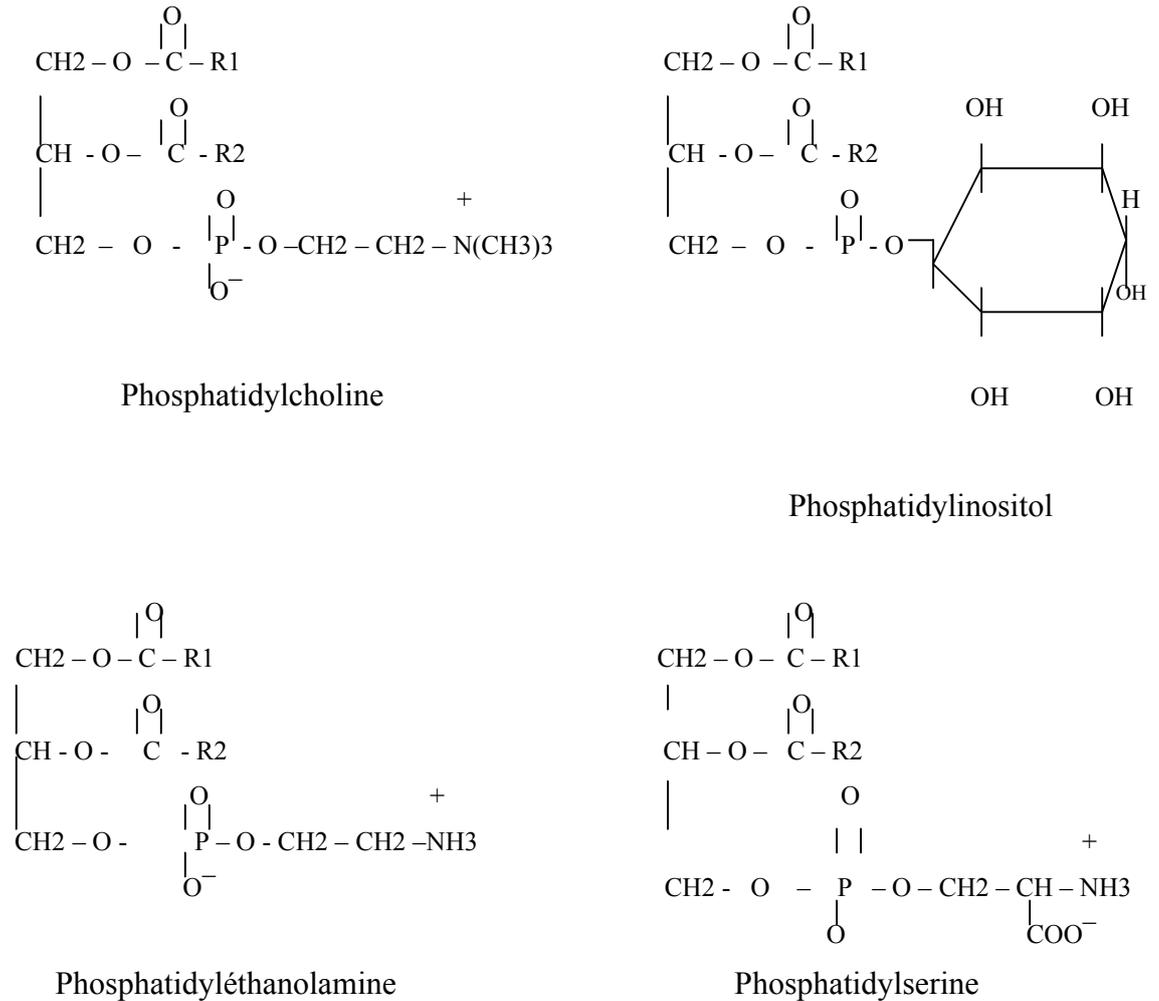


Figure 1. 11: Les principaux glycérophospholipides des membranes [44].

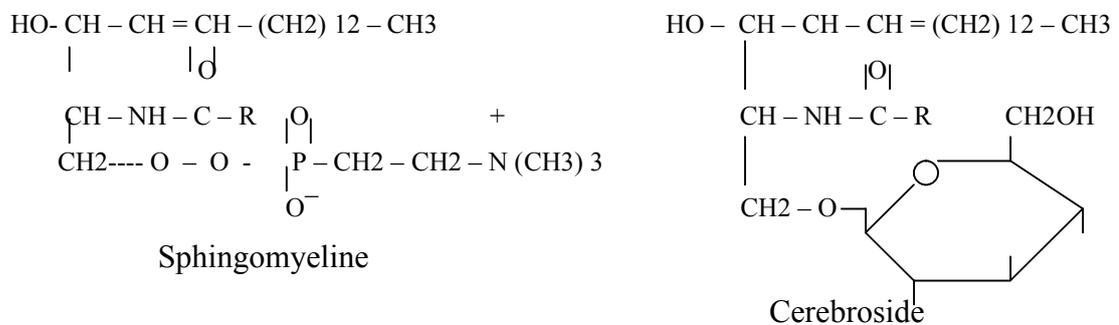


Figure 1. 12 : Les sphingolipides [44].

3. 4. 3. Adaptations biochimiques

Un autre moyen dont disposent les halophytes pour assurer leur ajustement osmotique, est la fabrication sous l'influence du sel de composés organiques : oses, acides organiques, et surtout aminoacides, notamment la proline et glycobétaine et par la synthèse des protéines.

3. 4. 3. 1. Accumulation de la proline

La proline (acide pyrrolidine -2 carboxilique) (figure 1. 13) est un acide aminé cyclique, faisant partie avec l'hydroxyproline de la classe des acides aminés à fonction amine secondaire. Très répandu dans la nature, il est abondant dans les prolamines végétales (zéine, gliodine), et la gélatine [45].

Une accumulation de proline s'observe chez les plantes soumises à la sécheresse tandis qu'une concentration élevée en proline, glycine, bétaine caractérise les halophytes. Dans les deux cas, c'est pour la plante, le moyen de maintenir une pression osmotique supérieure à celle du sol sans faire appel à une trop grande quantité d'ions minéraux toxiques [47].

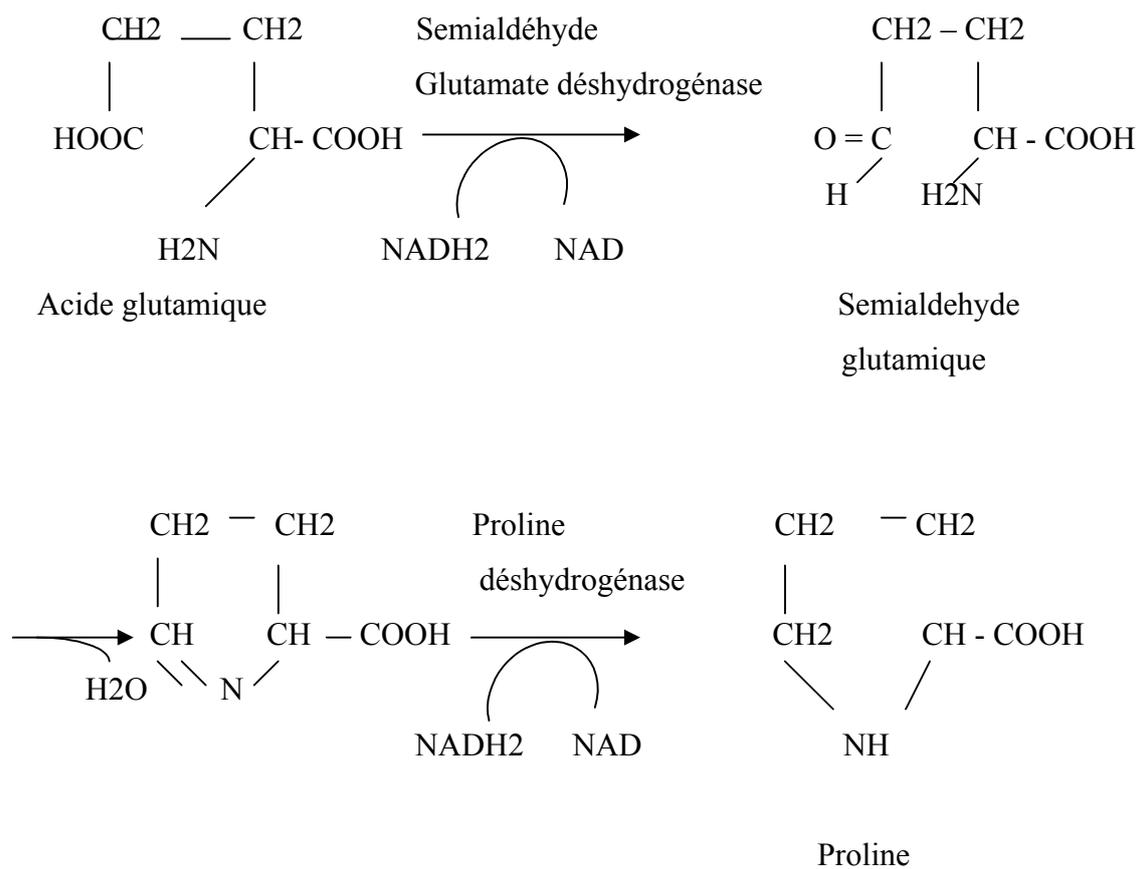


Figure 1.13: Biosynthèse de la proline [46].

3. 4. 3. 2. Accumulation des sucres et leurs dérivés, les polyols

Les teneurs en saccharose et en amidon des racines et des feuilles semblent indicatrices de degré de résistance des espèces à la salinité. Ainsi des polyols peuvent être accumulés dans le cytoplasme lors d'un stress salin.

Par réduction du groupement aldéhyde ou cétone en fonction alcool, on obtient des polyalcool (ou polyols). C'est ainsi que la réduction du D-glucose donne le D-glucitol (plus couramment appelé sorbitol), celle du D-mannose donne le mannitol. Le composé à trois atomes de carbone, le glycérol, que l'on peut considérer comme le produit de réduction du glycéraldéhyde ou de la dihydroxyacétone est un trialcool [48] (figure 1. 14).

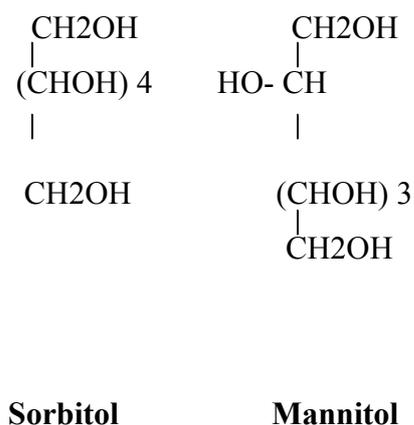


Figure 1. 14: Les principaux polyols du stress salin [49].

3. 4. 3. 4. Synthèse de l'acide abscissique (ABA) et l'éthylène

L'acide abscissique (ABA) est un sesquiterpène (= 3 isoprène) (figure 1. 16), en plus de son action inhibitrice sur la croissance et le développement des plantes, son rôle dans la fermeture des stomates lors d'un déficit hydrique et l'abscission des feuilles, il joue un rôle important dans l'adaptation aux concentrations salines élevées.

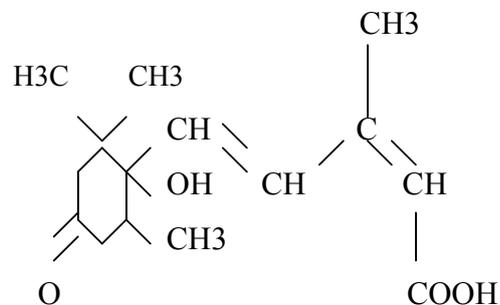


Figure 1. 16 : Acide abscissique.

Chez les plantes entières, de hautes teneures en sel augment la concentration des feuilles en ABA, le quel semble transporté à partir des racines. La réponse au sel ressemble à l'augmentation de la production d'ABA par les racines et à son transport aux tiges en cas de déficit hydrique du sol [50]. L'éthylène (CH₂=CH₂), n'a pas de rôle direct dans la croissance. Son rôle déterminant lors d'une réponse à un stress (agressions diverses, blessures,..) ; En réponse aux stress thermique, hydrique, salin, l'ABA,

l'éthylène amènent la transcription de divers molécules d'adaptation dont les protéines de choc thermique (HSP), les osmorégulateurs (proline, bétaine, glycine et polyols) [47].

3. 4. 3. 5. Synthèse des protéines spécifiques au stress salin

Le sel induit des modifications qualitatives et quantitatives dans la synthèse des protéines, détectables par électrophorèse. On peut citer:

Protéines CDSP (Chloroplastic Drought -Induced Stress Protein): ce sont des protéines qui s'accumulent dans le compartiment chloroplastique codées par le génome nucléaire. Deux protéines de 32 et 34 KDa appelées CDSP32 et CDSP34 pour (Chloplastic Drought- Induced Stress Protein) appartiennent à ce groupes (PRUVOT *et al.*, 1996 et REY *et al.*, 1998, cité par MAROC [51]).

La protéine **CDSP34** qui s'accumule en conditions de manque d'eau, de forte lumière, de forte température et de stress salin. Son rôle principal est de protéger l'appareil photosynthétique lors de stress de différentes natures. Deux hypothèses relatives à son mode d'action ont été émises :

- *Hypothèse 1* : Il s'agit d'une association de la protéine avec les membranes des thylakoïdes, ce qui peut stabiliser les membranes et les associations protéines – lipides qui maintient l'appareil photosynthétique dans un état fonctionnel.
- *Hypothèse 2* : Elle indique que **CDSP34** joue un rôle plus directe dans l'efficacité de l'appareil photosynthétique (MONTE *et al.*, 1999, cité par MONTAIGU [52]).

La protéine **CDSP32** (Chloroplastic Drought-induced Stress Protein of 32 KDa) a été mise en évidence par électrophorèse bidimensionnelle (figure 1. 17) dans le stroma des chloroplastes de plants de pomme de terre soumis à un déficit hydrique par l'arrêt de l'arrosage pendant 10 jours [53]. Elle a été également étudiée sous d'autres contraintes osmotiques ,telles qu'un stress basse température ou un stress salin.

Les protéines **Kinases** ; des chercheurs chinois ont étudié la protéine Kinase se liant à la calmoduline du tabac (NICBK2) durant le développement de la plante et sous stress salin et ont mis en évidence que l'expression de NTCBK2 s'est fortement stimulée après 10 minutes de traitement hypersalin, avec un maximum une trentaine de minutes

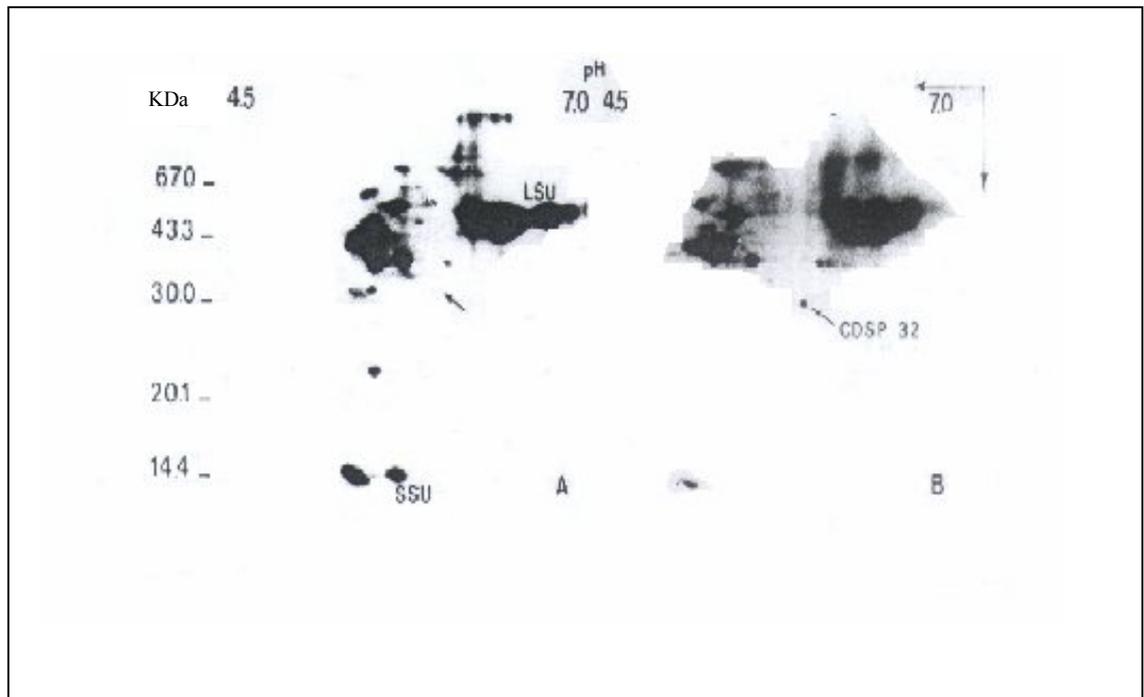


Figure 1. 17 : Profil 2 –D de protéines du stroma marquées au ³⁵S de feuilles de pomme de terre A ; CRE 95% témoin ; B, CRE 65% : plant non arrosé pendant 10 jours [53].

après. L'expression est fortement stimulée dans les organes floraux. Les auteurs ont utilisé l'hybridation *in situ* pour suivre l'expression [54].

Les protéines de la famille des **fibrillines**, qui sont synthétisées spécifiquement lors de contraintes environnementales, elles pourraient être considérées comme des marqueurs ubiquitaires du stress. Ces dernières ont été identifiées chez plusieurs espèces végétales ainsi que chez certaines algues (LANGENKAMPER *et al.*, 2001, cité par

MONTAIGU [52]). En conditions de stress ces protéines s'accumulent dans les chloroplastes où elles associent aux membranes des thylakoïdes lamellaires et à des globules lipidique appelées plastoglobules (EYMERY et REY, 1995 cité par MONTAIGU, [52]) dont il y a une association des fibrilles aux lipides par le biais des zones hydrophobes. La modification de la teneur en lipides des membranes en condition de stress (NAVARRI-IZZO *et al.*, 1993, cité par MONTAIGU [52]) pourrait être le facteur déterminant de l'association des protéines de types fibrilline avec les membranes. L'affinité des protéines serait plus forte pour les membranes ayant une composition en lipides caractéristiques des stress.

De nombreuses protéines présentant des similarités avec des **protéases** ont été isolées suite à une induction par un stress hydrique. Chez le colza (*Brassica napus*) STROEHER *et al.*, (1997) cité par DUBO [55] ont mis en évidence la surexpression d'une protéase à cystéine. Une protéase à cystéine a aussi été isolée chez *M. crystallium* lors d'un stress salin (FORSTHOEFEL *et al.*, 1998, cité par DUBO [55]).

CHAPITRE 2

MATERIELS ET METHODES

1. Matériel végétal

Les semences d'*Atriplex halimus* L, proviennent de la wilaya de Djelfa. La récolte a été faite en décembre 2005 – janvier 2006 par les services de : Haut Commissariat de Développement de la steppe (H.C.D.S).

Les fruits ont été décortiqués manuellement dans le but d'extraire la graine de l'enveloppe. Sachant que le taux de germination était de 95 %.

2. Mise en place de dispositif expérimental

Notre étude expérimentale a été menée selon un dispositif expérimental aléatoire en randomisation totale, à un facteur étudié (effet des différentes concentrations en NaCl sur les caractéristiques physiologiques et biochimiques chez les plantules de l'espèce

Atriplex halimus L) avec 6 répétitions dont la méthodologie suivie pour la mise en place de ce dispositif est la suivante ;

2. 1. Semis

Le semis a été effectué directement dans des pots remplis de sable de diamètre moyen provenant du bord d'oued de la wilaya de Tizi-Ouzou. Une fois lavé et séché, ce substrat sert de support à la culture.

Notant que le semis était suivi immédiatement par une irrigation à l'eau distillée.

2. 2. Irrigation

Une irrigation à l'aide d'une solution nutritive de MORARD (1973) (tableau 2. 1 et 2. 2) contenant les différentes concentrations en NaCl (tableau 2. 3) a été appliquée sur des plantules âgées de 4 jours dont les échantillons témoins ont été arrosés uniquement à la solution nutritive. Le pH égale à 5,6

Tableau 2.1: Solution nutritive, macroéléments

(MORARD, 1973, cité par MORARD [56]).

Macroéléments	K	Ca	Mg	Na	N	N	P	S	Cl
	K +	Ca ⁺⁺	Mg ⁺⁺	Na ⁺	NH ₄ ⁺	NO ₃ ⁻	H ₂ PO ₄ ⁻	SO ₄ ⁻ -	CL ⁻
Concentrations (meq/l)	7	10	3	-	-	15	2	3	-

Tableau 2. 2: Solution nutritive, micro-éléments

(MORARD, 1973 cité par MORARD [56]).

Micro-éléments	Fe	Mn	Cu	Zn	B	Mo
Concentrations (mg/l)	5	0,49	0,06	0,11	0,26	0,01

Tableau 2. 3: Les différentes concentrations en NaCl.

Traitements	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
Concentrations en NaCl (g/l)	0	2	5	10	15	20	25	30

La mesure de la conductivité électrique est le test de salinité des sols le plus pratiqué (RHOADES et MIYAMTO, 1991 ; SHIROKOVA *et al.*, 2000, cité par PANSU et GAUTHEYROU [15]. Elle est proportionnelle à la quantité et à la nature des sels dissous dans les solutions [15].

La conductivité électrique de chaque traitement a été mesurée à l'aide d'un conductimètre à 25°C (tableau 2. 4).

2. 3. Conditions de culture

Dès le semis, l'expérimentation a été conduite dans le phytotron où la température est réglée à 25 °C ± 1 avec un photopériode de 16 heures d'éclairage et 8 heures d'obscurité. L'éclairage est assuré par une série de néons d'une intensité lumineuse de 25 000 lux.

Tableau 2. 4 : Conductivité électrique des différents traitements salins.

Traitement	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
Concentration en NaCl (g/l)	0	2	5	10	15	20	25	30
CE (ms) à 25°C	2,34	5,78	10,93	18,75	25	28,90	32,81	37,5

3. Paramètres étudiés

Les paramètres étudiés sont d'ordre physiologiques et biochimiques. Les échantillons destinés aux différentes analyses ont été prélevés après 45 jours de la date d'application des différentes concentrations en NaCl. Les différentes analyses ont été effectuées seulement sur la partie aérienne (plus particulièrement les feuilles).

3. 1. Paramètres physiologiques

Cette catégorie d'analyses s'adresse au comportement de l'organisme entier, en général à un stade juvénile : taux de survie, transport et utilisation des ions majeurs du

milieu et l'aptitude de la plante de protéger le système photosynthétique et en fin la perméabilité membranaire.

3. 1. 1. Taux de survie

Aux concentrations salines modérées, le critère étudié pourrait être la croissance ; aux fortes doses, le critère de survie est plus approprié [43]. Partant de cette référence, le critère étudié dans notre cas est le taux de survie.

3. 1. 2. Accumulation des ions Na⁺, K⁺ et le Cl⁻

3. 1. 2. 1. Dosage des ions K⁺ et de Na⁺

Le potassium est un élément absorbé en quantité relativement importante par les végétaux, son rôle apparaît dispersé dans de multiples fonctions de la vie de la plante. Ainsi participe-t-il sous sa forme ionique :

- aux processus de dépolarisation par les charges positives qu'il porte ;
- à la création de forces osmotiques grâce aux quelles l'eau est absorbée par les

racines, le potassium joue ainsi un rôle marqué dans la dynamique de l'eau chez

le végétal.

- au déroulement des processus photosynthétiques ;
- à l'activation de nombreux enzymes [57].

Pour le dosage du potassium et de sodium, nous avons adopté la technique de minéralisation par calcination de la matière végétale (poudre) dont le principe est de se débarrasser de toute la matière organique par dégradation thermique et volatilisation et de mettre en solution l'élément à doser.

100 mg environ d'échantillons secs (passé une heure à 105°C avant la pesée) ont été émis dans des capsules en silice et progressivement la température à 520°C en deux heures puis laissés une nuit pour se refroidir dès que les échantillons ont été retirés de four ces derniers ont été déposés immédiatement dans le dessiccateur pendant un quart d'heure. Les cendres ainsi obtenues ont été dissous dans 2 ml d'acide nitrique (HNO_3 , HNO_3 , $d=1,4$ et $0,5\text{N}$) et portée à ébullition pendant 20 minutes, puis filtrés dans des fioles jaugées de 50 ml. Après refroidissement les fioles ont été ajustées à l'eau distillée.

Le dosage des échantillons et des gammes étalon a été réalisé par photométrie à flamme.

3. 1. 2. 2. Dosage de l'ion Cl⁻

Le chlore a été dosé par Argentimétrie, qui consiste à précipiter les chlores par les nitrates d'argent (AgNO_3) titré en présence de chromate de potassium.

La solution de nitrate d'argent 0,05N a été préparée en pesant 8,495 g d' AgNO_3 et de la dissoudre dans 100 ml d'eau distillée. Quant à la solution de chromate de potassium à 5%, a été préparée en mélangeant 50g de K_2CrO_4 avec un litre d'eau distillée. Donc à partir des solutions minéralisées, nous avons prélevé une aliquote de 20 ml au quels on a ajouté 5 goûtes de la solution saturée de K_2CrO_4 . En suite on a titré avec AgNO_3 (0,05N) jusqu'à l'apparition d'une couleur rouge brique qui est due à la précipitation de Ag_2CrO_4 .

3. 1. 2. 3. Mesure du taux de chlorophylle

Le dosage des chlorophylles a été obtenu après broyage de 100 mg de matériel végétal dans 0,66 ml d'acétone à 80 %. Les extraits ont été centrifugés 10 minutes à 3000 rpm, puis dosés par spectrophotométrie. La densité optique (DO) a été mesurée à une

longueur d'onde de 652 nm. Les quantités correspondantes en chlorophylle (mg/ml) ont été déterminées par la formule suivante :

$$\text{Chlorophylles (mg/ml)} = \text{absorbance à 652 nm} \times 5,8 \text{ [58].}$$

3. 1. 2. 4. Perméabilité membranaire (séparation des lipides membranaires)

La perméabilité membranaire peut être testée par les modifications quantitatives et qualitatives des classes lipidiques sous l'effet du stress salin.

La technique que nous avons utilisée pour la séparation des lipides membranaires est la chromatographie sur couche mince (C.C.M).

3. 1. 2. 4. 1. Extraction des lipides membranaires

La technique utilisée pour l'extraction des lipides membranaires est la technique de FOLCH [59].

De chaque traitement, trois prélèvements de 100 mg de matières fraîches ont été pesées et broyées dans l'isopropanol (2ml) chauffé à 70°C pendant 15 minutes. 0,3 ml de

méthanol ont été ajouté au broyat afin de rompre les liaisons lipoprotéiques. 0,6 ml de chloroforme ont ensuite été ajoutée au mélange pour solubiliser les lipides (sous agitation 2 minutes). Afin d'obtenir une bonne séparation entre la phase aqueuse et la phase organiques (lipidique) on a ajouté 0,4 ml d'eau distillée. Après centrifugation à 4500 rpm pendant 10 minutes, la phase organique a été récupérée. En fin, après évaporation du solvant à sec, l'extrait sec est repris dans 0,2 ml de chloroforme.

3. 1. 2. 4. 2. Séparation des lipides membranaires

La technique utilisée pour la séparation des lipides membranaire est la chromatographie sur couche mince (C.C.M). Le principe de base de la CCM consiste à déposer un volume déterminé d'extrait à analyser sur une phase chromatographique dont la partie basse est ensuite immergée dans un solvant éluant (figure 2. 1). Celui-ci monte par la suite le long de la plaque et entraîne les composant de l'extrait à des vitesses différentes. Les substances ainsi séparées sont rendues visibles par l'emploi de réactifs chimiques [60].



Figure 2. 1: Cuve chromatographique.

Les échantillons ainsi extraits ont été déposés à l'aide d'une micropipette de 1 μ l sur des plaques de gel de silice préalablement activées une heure à 100°C. Le solvant de migration qui permet de séparer les différentes classes de lipides, comprend : (chloroforme – méthanol–acide acétique–eau distillée) à raison de : 65–25–8–2 respectivement.

L'exposition des plaques aux vapeurs d'iode révèle la plus part des lipides en taches violettes sur fond jaunes brun. L'exposition en lumière ultra violette (courte = 254 nm), nous a permis de visualiser d'une manière plus nette les différentes classes de lipides qui ont un aspect de taches fluorescentes.

3. 2. Paramètres biochimiques

L'étude des paramètres d'ordre biochimiques peut nous donner une idée sur les caractères cellulaires liés à la tolérance au stress salin tel que : l'accumulation de substances organiques caractéristiques des stress, induction de protéines spécifiques.

3. 2. 1. Dosage de la proline

La technique utilisée pour le dosage de la proline est celle de Troll et Linsley (1955), cité par BOUKEL et HOUASSINE [61], en utilisant un réactif approprié : ninhydrine. La proline donne avec la ninhydrine une coloration jaune [62].

Trois prélèvements de 100 mg de tissus foliaires ont été effectués pour chaque traitement. Les échantillons ainsi prélevés ont été introduit respectivement dans des tubes à essais au quel on a ajouté 2 ml d'éthanol à 40% qui ont été chauffé au bain- marie à 85°C pendant 60 minutes pour éviter la volatilisation de l'alcool. Après refroidissement 1 ml de l'extrait a été prélevé au quel on a ajouté 1 ml d'acide acétique et 1 ml du réactif de ninhydrine dont sa préparation est la suivante : (120 ml d'eau distillée + 300 ml d'acide acétique + 80 ml d'acide orthophosphorique à densité de 1,7 + 25 mg de ninhydrine). Le

mélange (extrait et réactif) a été porté à ébullition durant 30 minutes. Après refroidissement 5 ml de benzène ont été ajoutés dans chaque tube : deux phases se séparent, la phase supérieure colorée en jaune indique la présence de la proline alors que la phase inférieure est sans proline. La détermination des densités optiques des différents échantillons a été faite à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 528 nm.

Des solutions étalons de proline ont été préparées à partir d'une solution mère à 0,125% dans HCl (0,3N). Les dilutions ont été faites avec HCl (0,3 N) afin d'obtenir des concentrations de 0,1, 0,2 et 0,4 µg /ml. Une courbe étalon a été établie pour calculer la concentration en proline des différents échantillons.

3. 2. 2. Dosage des sucres solubles

Le dosage des sucres solubles a été réalisé par la méthode à l'antrone [58].

L'extraction des sucres solubles a été faite après macération du matériel végétal prélevé (trois prélèvements de 100 mg de tissus foliaires de chacun des traitements) dans 3 ml d'éthanol à 80% et laissé pendant 48 heures, puis chauffé au bain-marie à 70°C pendant 30 minutes. 2 ml ont été prélevés de l'extrait préalablement dilué 10 fois avec de l'éthanol

à 80% au quel on a ajouté 4 ml de réactif composé de 0,2 g d'anthrone pure additionné à 100 ml d'acide sulfurique (H₂SO₄). Le réactif doit être préparé au moins 4 heures à l'avance. Après agitation, les tubes ont été placés au bain – marie à 92°C pendant 8 minutes, puis refroidis pendant 30 minutes dans la glace et à l'obscurité. L'absorbance est lue à la spectrophotométrie à une longueur d'onde de 585 nm, et la lecture a été faite d'après la courbe d'étalonnage établie avant le dosage.

3. 2. 4. Dosage des protéines totales

3. 2. 4. 3. 1. Extraction des protéines totales

Dans le cas particulier des protéines pariétales, insolubles dans nos conditions expérimentales, il était nécessaire d'utiliser une extraction à la soude 1N avant d'effectuer le dosage des protéines par la méthode de Bradford. Cette extraction à la soude permet d'obtenir les protéines solubles et les protéines insolubles.

Sur chacun des traitements étudiés, on a effectué trois prélèvements de 300 mg de tissus foliaires qui ont été broyés dans la soude (1M), à la fin de broyage une petite quantité de soude a été ajoutée et laissé en contact pendant 1h30 (au minimum) à la température

ambiante. Le très fin broyat ainsi obtenu a été transvasé dans le tube à centrifuger pendant 10 minutes à 4000 rpm. Puis le surnageant recueilli a été amené à 1,5 ml par le NaOH 1M.

3. 2. 4. 3. 2. Dosage des protéines totales

La méthode utilisée pour le dosage des protéines totales est la méthode de Bradford [63]. Le dosage a été effectué par spectrophotométrie sur une partie aliquote après avoir diluer 10 à 20 fois l'extrait.

Le principe de la méthode de Bradford consiste à :

- préparer une série de tubes contenant 0,1 à 5,0 µg de sérum albumine dans un volume finale de 50 µl. une courbe étalon a été réalisée à partir de ces différentes dilutions ;
- préparer les différents tubes contenant 50 µl de l'extrait à doser (surnageant et culot) ;
- ajouter 950 µl de la solution de colorant à tous les tubes ;
- laisser les tubes à la température ambiante pendant 5 minutes.
- lire l'absorbance à 595 nm ;

- utiliser la courbe étalon pour calculer la concentration en protéines des échantillons ;

Notant que le réactif utilisé pour la préparation de la solution du colorant est le bleu de Coomassie. En effet 10 mg de réactif (en poudre) ont été mélangés à 10 ml d'acide phosphorique à 88% et 4,7 ml avec de l'eau distillée. Ce mélange a été ensuite dilué jusqu'à 100 ml avec de l'eau distillée.

3. 2. 4. 3. 3. Séparation des protéines totales par électrophorèse sur gel d'agarose

Le principe de ce type d'électrophorèse est de séparer les protéines avec un gel tamponné. Après électrophorèse, les protéines séparées dans le gel sont immobilisées dans une solution fixative et le gel est alors séché en un film. Les fractions protéiques sont révélées par la coloration du film avec un colorant spécifique des protéines.

- Composition des réactifs :

Gel SPE : agarose 1%, tampon Barbitol 1,2%, > 0,1% Azide de sodium et
composant non réactifs utiles pour une utilisation optimal.

Tampon B-2 BARBITAL (18,2 g) : acide 5,5 – diéthylbarbiturique, 10
mmol/l après reconstitution ; sel de sodium de l'acide 5,5 –
diéthylbarbiturique, 50 mmol/l après reconstitution.

Colorant bleu de Coomassie.

Colorant VIOLET HF : Acide Violet à 1,5 g.

- Préparations des différentes solutions :

- Solution tampon B-2 BARBITAL, pH 8,6 : un flacon de 18,2 g de tampon
est mélangé dans 1500 ml d'eau distillées.
- Solution acide –alcool : 20% d'acide acétique, 30% de méthanol ; 600ml de
méthanol et 400 ml d'acide acétique glacial ont été ajoutés à 100 ml d'eau
distillée.
- Colorant bleu de Coomassie: 0,25% (p/v) de bleu de Coomassie préparé
dans 45% (v/v) de méthanol et 10% (v/v) d'acide acétique.

- Colorant Violet HF : le flacon de colorant (1,5 g) a été mélangé dans 250 ml de méthanol + 250 ml eau distillée + 50 ml acide acétique.

- Procédure d'électrophorèse :

- Chaque compartiment de la cuve d'électrophorèse a été rempli avec 45 ml de tampon B-2 Barbitol ;
- Les bacs de traitement des gels d'agarose ont été remplis avec 300 ml des solutions suivantes :

- Solution d'acide alcool I	300 ml
- Solution de colorant Violet HF	300 ml
- Solution de décoloration	300 ml

Notant que le colorant bleu de Coomassie a été coulé sur des plaques plates.

- Après avoir retiré le gel d'agarose de son emballage ; ce dernier a été placé sur une feuille de papier pour être séché délicatement avec un buvard pour gel (figure 2. 2) ;

- Entre les doigts une matrice d'application a été positionnée au- dessus des deux points "A" situés aux extrémités du gel d'une façon à ce que les fentes de la matrice entrent en contact en premier avec le gel. Puis sécher délicatement la matrice avec un buvard pour matrice (figure 2.3);
- 10 µl de chaque échantillon ont été déposés sur le centre de chaque fente de la matrice. Une fois qu'on a déposé le dernier échantillon, un temps de 2 minutes est accordé, ce ci pour une diffusion complète. En suite la matrice a été retirée délicatement ;
- Le gel a été en suite placé sur son support en respectant les polarités (+) et (-) figurant sur les cotés du gel et sur le support. L'ensemble a été placé dans la cuve d'électrophorèse (chambre de migration) (figure 2. 4 et 2. 5) pendant 25 minutes réglée à 100 volts;
- L'électrophorèse terminée, le gel est retiré de la cuve d'électrophorèse et placé dans un cadre (figure 2. 6) dont il a été plongé dans la solution d'acide alcool I (solution fixative) pendant 3 minutes. Puis il a été placé dans l'étuve jusqu'à séchage complet;

- Le gel entièrement séché a été coloré selon deux procédures ; coloration au bleu de Coomassie et coloration au Violet HF.

- Coloration au bleu de Coomassie : Une fois le gel a été entièrement séché ; ce dernier a été plongé dans la solution de bleu de Coomassie déjà préparé pendant 2 heures et laissé à la température ambiante. Après coloration, le gel a été décoloré dans une première solution de décoloration composée de : 50% de méthanol, 7% acide acétique et 43% d'eau distillée. Puis il a été décolorées dans une deuxième solution de décoloration (7% éthanol, 5% acide acétique et 88% d'eau distillée) .

- Coloration au Violet HF : le colorant Violet HF est un colorant 10 fois plus sensible que le colorant Noir Amide. Il est utilisé pour la détection et la quantification des protéines dans les liquides à faibles concentration protéiques qui est notre cas. Lorsque le gel a été entièrement séché, il a été placé dans la solution de coloration et laissée à la température ambiante pendant 2 heures. Une fois coloré, le gel a été plongé dans une solution de

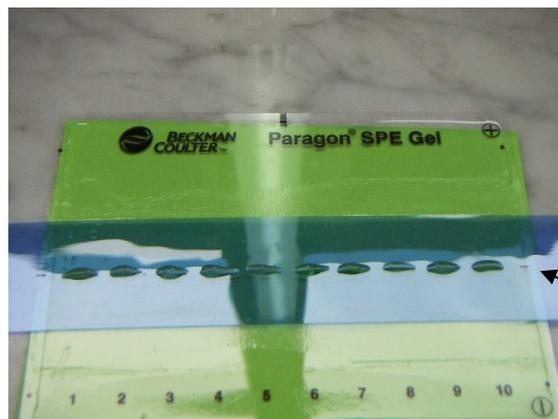
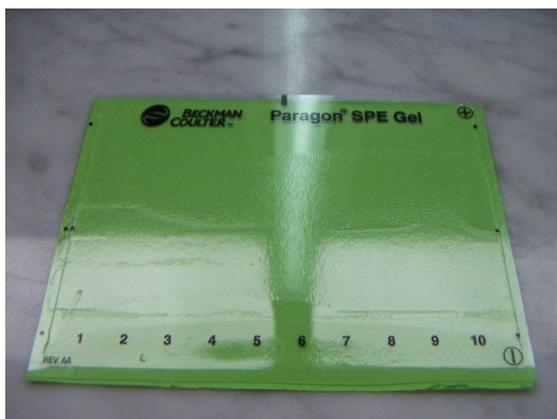


Figure 2.2: Dépôt du gel sur papier buvard. **Figure 2.3:** Dépôt des échantillons sur la matrice.



Figure 2.4: Dépôt du gel dans la chambre de migration.

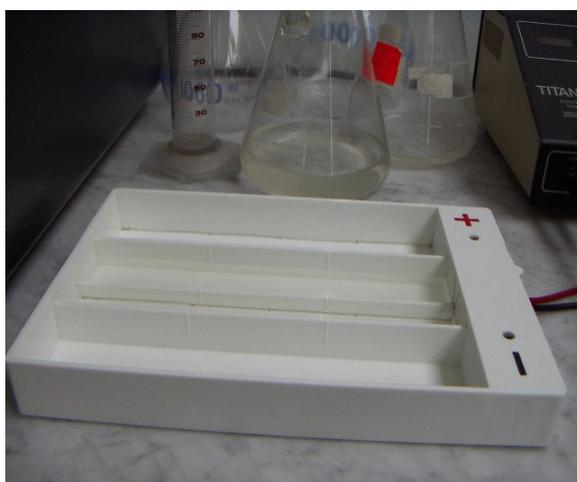


Figure 2.5: Chambre de migration.



Figure 2.6: Gel d'agarose placé dans le cadre.

décoloration constituée de :100 ml méthanol + 250 ml eau distillée + 50 ml

acide acétique ;

Après coloration et décoloration un séchage obligatoire a été réalisé.

La détermination du poids moléculaires des polypeptides a été réalisée par une courbe étalon, ceci en rapportant la Rf de chaque protéine standard au logarithme de son poids moléculaire. Le poids moléculaire d'un polypeptide inconnu peut alors être déterminé en trouvant sa Rf sur la courbe étalon et on utilisant \log_{10} poids moléculaire de l'ordonnée. L'antilog de ce nombre est le poids moléculaire de ce polypeptide. (Avec la permission de HOEFFER, cité par PREBAL [63]).

4. Analyse statistique

Le logiciel utilisé pour l'analyse statistique est le STATITCF.

Une analyse de la variance au seuil 5% a été utilisée pour le traitement des résultats et qui consiste à rechercher si l'effet traitement est significatif avec certains risques d'erreurs. La signification des résultats est exprimée en fonction de la probabilité pour une erreur réellement commise. Dans notre cas, nous avons utilisé la probabilité d'erreur de 5%. Le test de NEWMAN et KEULS au seuil de 5% a été utilisé pour la comparaison des moyennes.

CHAPITRE 3

RESULTATS ET DISCUSSIONS

Après 45 jours sous l'effet du stress salin, la présence de NaCl dans la solution nutritive a entraîné des modifications d'ordre physiologiques et biochimiques chez les plantules d'*Atiplex halimus*.

1. Effets des différentes concentrations en NaCl sur les caractéristiques

physiologiques

1. 1. Effets des différentes concentrations en NaCl sur le taux de survie

➤ **Analyse de la variance**

A l'issue de nos essais, l'analyse de la variance montre qu'il y a une action très hautement significative du facteur sel sur le pourcentage de survie (tableau 3. 1).

Tableau 3. 1 : Analyse de la variance (taux de survie).

	S.C.E	DDL	CARRES MOYENS	TEST F	PROBA	E.T	C.V
VAR. TOTALE	71419,83	47	1519,57				
VAR. FACTEUR 1	65313,08	7	9330,44	61,12	0,0000		
VAR. RESIDUELLE 1	6106,75	40	152,67			12,36	23,7%

➤ Test de NEWMAN-KEULS au seuil de 5.p 100

L'effet de la concentration du sel sur le pourcentage de survie d'après le test de NEWMAN-KEULS au seuil de 5.p 100 est très hautement significatif.

Nous constatons que les taux le plus élevé A été obtenu par le témoin ($94,39 \pm 9,06$) %, suivi par les traitements T1, T2 T3 représentés par le groupe AB) et le traitement T4 (représenté par le groupe B) dont les valeurs sont plus ou moins proches.

A partir de la concentration en NaCl de 20 g/l, le taux de survie a diminué d'une faon considérable, ce ci pour les traitements T5, T6 et T7 respectivement ($14,56 \pm 12,09$; $1,44 \pm 1,61$; $1,02 \pm 1,58$) % (tableau 3. 2) (figure 3. 1).

Tableau 3. 2 : Effet des différentes concentrations en NaCl sur le pourcentage de survie

(%) (Test de NEWMAN-KEULS au seuil de 5.p 100).

Concentrations en NaCl (g/l)	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
	0	2	5	10	15	20	25	30
Moyennes (%)	94,39	82,00	81,22	75,48	67,05	14,56	1,44	1,02
Ecart types	9,06	9,31	13,46	18,69	18,73	12,90	1,61	1,58
Groupes homogènes	A	AB	AB	AB	B	C	C	C

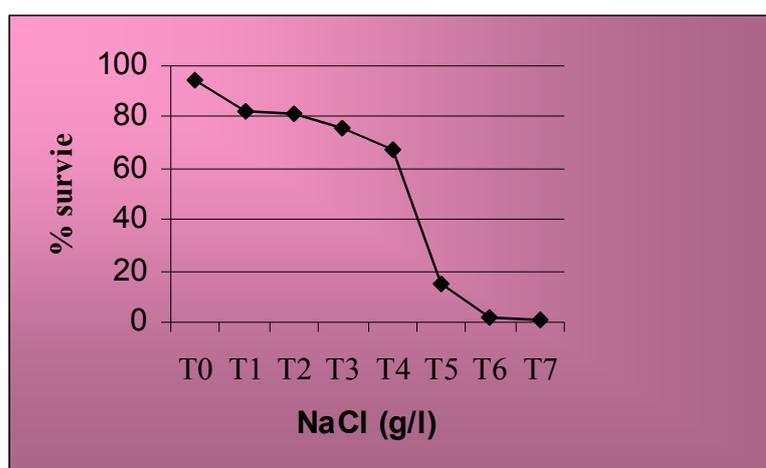


Figure 3. 1: Effet des différentes concentrations en NaCl sur le taux de survie.

➤ Discussion

Les résultats de cet essai montrent que les différentes concentrations en NaCl contenues dans la solution nutritive ont un effet très hautement significatif sur le pourcentage de survie des plantules d'*Atriplex halimus*.

Après 48 heures de l'application du traitement T7 (30 g/l de NaCl), on a observé le flétrissement de la quasi-totalité des plantules (figure 3. 2). Quant au traitement T6 (25 g/l de NaCl), au bout d'une semaine, on a remarqué une chute considérable du taux de survie. Concernant le traitement T5 (20 g/l de NaCl), les plantules traitées ont pu persister jusqu'au 48^{ème} jours mais avec un pourcentage de survie assez faible par rapport aux traitements T1, T2, T3 et T4 où on a enregistré des valeurs plus élevées avec un bon développement de nos plantules.

Les halophytes douées d'une pression osmotique élevée peuvent absorber l'eau dans un sol salé jusqu'à une certaine limite au-delà de laquelle, l'excès de sels bloque l'eau du sol (c'est la sécheresse physiologique) ou intoxique les cellules [64].



Figure 3. 2 : Flétrissement des plantules après 48 heures du traitement (NaCl = 30 g/l).

A partir de ces résultats, on peut conclure que les limites de la tolérance au NaCl de l'*Atriplex halimus* au stade juvénile se situe entre 15 et 20 g/l au de là de ces concentrations, les plants subiront des difficultés pour subsister. Comme on peut déduire également que l'*Atriplex halimus* est une halophyte non obligatoire c'est-à-dire quelle peut croître et se développer avec succès sur des sols non salés.

Suite au faible pourcentage de survie enregistré au niveau des traitements T5, T6 et T7, l'étude portée sur les paramètres physiologiques et biochimiques a été réalisée seulement sur le témoin, T1, T2, T3 et T4, c'est-à-dire à une concentration maximale égale à 15 g/l de NaCl.

1. 2. Effets des différentes concentrations en NaCl sur l'accumulation des ions

Na⁺, K⁺ et Cl⁻

1. 2. 1. Effets des différentes concentrations en NaCl sur l'accumulation de l'ion Na⁺

➤ Analyse de la variance

L'analyse de la variance facteur sel met en évidence son action très hautement significative sur l'accumulation de Na⁺ au niveau des feuilles (tableau 3.3).

Tableau 3. 3: Analyse de la variance (taux de sodium).

	S.C.E	DDL	CARRES MOYENS	TEST F	PROBA	E.T	C.V
VAR. TOTALE	194179,27	14	13869,95				
VAR. FACTEUR 1	191503,27	4	47875,82	178,91	0,0000		
VAR. RESIDUELLE 1	2676,00	10	267,60			16,36	7,3%

➤ Test de NEWMAN-KEULS au seuil de 5.p 100

Les différentes concentrations en NaCl (tableau 3. 4) exercent une action très hautement significative sur le taux de Na⁺ au niveau des feuilles. Par apport au témoin qui présente un taux de Na⁺ (15,91 ± 5,31) µmol/g de MS, on remarque que, plus la concentration en NaCl devient importante plus l'accumulation de Na⁺ au niveau des feuilles devient importante. En effet le groupe A représenté par le traitement T3 présente un taux de Na⁺ le plus élevé suivi du traitement T4, T2 (groupe B) et T1 (groupe C) (figure 3. 3).

Tableau 3. 4: Effet des différentes concentrations en NaCl sur le taux de sodium ($\mu\text{mol/g}$ de MS) (Test de NEWMAN-KEULS au seuil de 5.p 100).

Concentrations en NaCl (g/l)	T0	T1	T2	T3	T4
	0	2	5	10	15
Moyennes ($\mu\text{mol/g}$ de MS)	15,91	202,02	267,55	341,56	289,85
Ecart types	5,31	21,94	11,80	17,00	20,01
Groupes homogènes	D	C	B	A	B

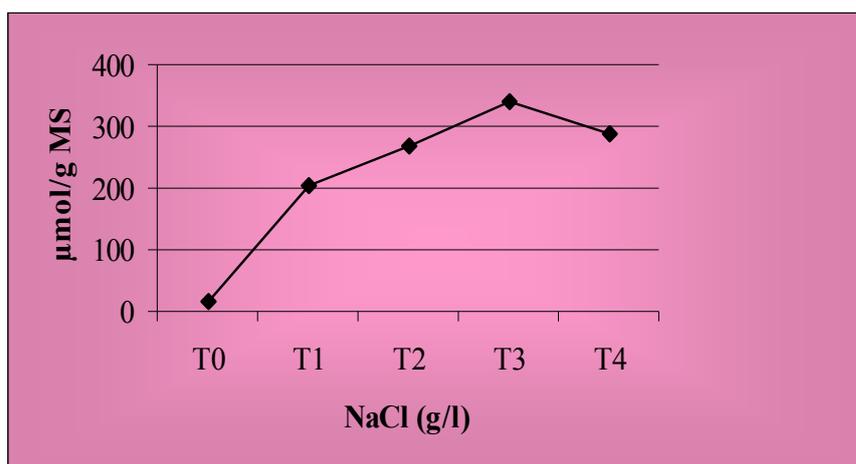


Figure 3. 3: Effet des différentes concentrations en NaCl sur le taux de sodium.

1. 2. 2. Effets des différentes concentrations en NaCl sur l'accumulation de l'ion Cl-

➤ Analyse de la variance

L'analyse de la variance pour cette variable (taux de Cl-) est représentée par le tableau 3. 5. Il ressort de cette analyse un effet très hautement significatif du facteur sel sur le taux de Cl- au niveau des feuilles.

Tableau 3. 5 : Analyse de la variance (taux de Cl-).

	S.C.E	DDL	CARRES MOYENS	TEST F	PROBA	E.T	C.V
VAR. TOTALE	420306,72	14	30021,91				
VAR. FACTEUR 1	398711,50	4	99677,88	46,16	0,0000		
VAR. RESIDUELLE 1	21595,22	10	2159,52			46,47	15,8%

➤ Test de NEWMAN-KEULS au seuil de 5.p 100

D'après le test de NEWMAN-KEULS au seuil de 5.p 100, l'effet du stress salin sur le taux de Cl- est très hautement significatif (tableau 3. 6).

Nous constatons que le taux de Cl⁻ augmente d'une concentration à une autre en NaCl avec des taux les plus élevés ($462,53 \pm 0,00$ et $431,42 \pm 51,60$) $\mu\text{mol/g}$ de MS représentés par les traitements T4 et T3 respectivement. Quant aux plantules non stressées ; ces dernières ont présentées un taux de Cl⁻ le plus faibles ($18,05 \pm 0,00$) $\mu\text{mol/g}$ de MS (figure 3. 4).

Tableau 3. 6 : Effet des différentes concentrations en NaCl sur le taux de chlore.

($\mu\text{mol/g}$ de MS) (Test de NEWMAN-KEULS au seuil de 5.p 100).

Concentrations en NaCl (g/l)	T0	T1	T2	T3	T4
	0	2	5	10	15
Moyennes $\mu\text{mol/g}$ de MS	18,05	210,64	344,23	341,42	462,53
Ecart types	0,00	69,44	57,56	51,60	0,00
Groupes homogènes	A	A	A	B	C

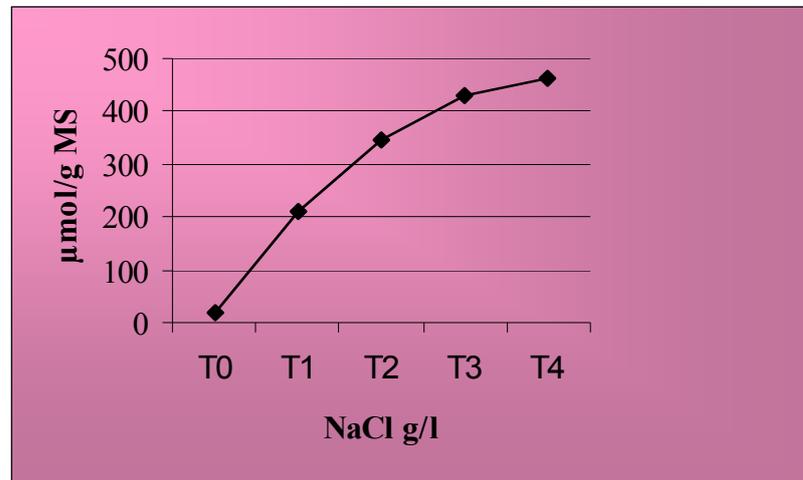


Figure 3. 4: Effet des différentes concentrations en NaCl sur le taux de chlore.

1. 2. 3. Effets des différentes concentrations en NaCl sur l'accumulation de l'ion K⁺

➤ Analyse de la variance

D'après le tableau 3. 7, on constate que l'analyse de la variance facteur stress salin révèle une action très hautement significative sur le taux de K⁺ au niveau des feuilles.

Tableau 3. 7: Analyse de la variance (taux de potassium).

	S.C.E	DDL	CARRES MOYENS	TEST F	PROBA	E.T	C.V
VAR. TOTALE	142623,19	14	10187,37				
VAR. FACTEUR 1	141132,19	4	35283,05	236,64	0,0000		
VAR. RESIDUELLE 1	1491,00	10	149,10			12,21	4,8%

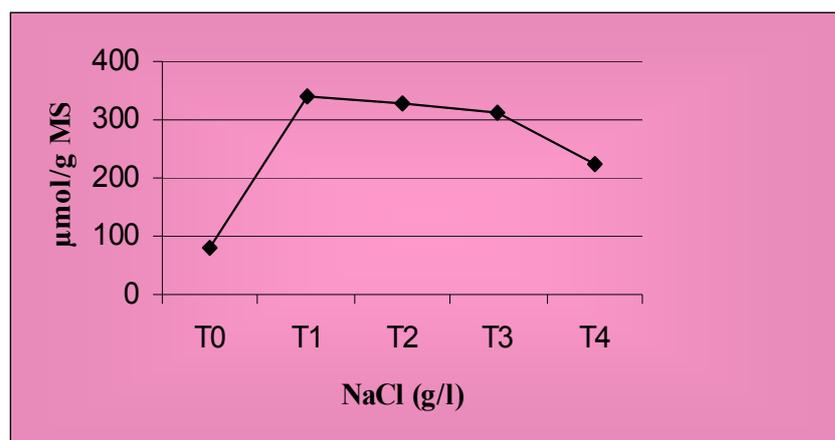
➤ Test de NEWMAN-KEULS au seuil de 5.p 100

Le test de NEWMAN-KEULS au seuil de 5.p 100 (tableau 3. 8) indique que l'effet des différentes concentrations en NaCl est très hautement significatif sur l'accumulation de K⁺ au niveau des feuilles. Comparant le témoin avec les autres traitements, on remarque que, le témoin représenté par le groupe C présente un taux de potassium le plus faible ($79,23 \pm 11,79$) $\mu\text{mol/g}$ de MS par rapport aux autres traitements T1, T2, T3, et T4 dont les valeurs sont plus élevées (figure 3. 5).

Tableau 3. 8: Effet des différentes concentrations en NaCl sur le taux de potassium.

(μmol/g de MS) (Test de NEWMAN-KEULS au seuil de 5.p 100).

Concentrations en NaCl (g/l)	T0	T1	T2	T3	T4
	0	2	5	10	15
Moyennes μmol/g de MS	79,23	338,05	327,01	311,56	225,45
Ecart types	11,79	14,63	4,62	12,02	15,05
Groupes homogènes	A	A	A	B	C

**Figure 3. 5:** Effet des différentes concentrations en NaCl sur le taux potassium.

➤ Discussion sur l'accumulation des ions Na⁺, Cl⁻ et K⁺

D'après les résultats obtenus, on remarque que les plantules d'*Atriplex halimus* ont continué de croître à des concentrations salines comprises entre 2 g/l et 15 g/l tout en accumulant le Na⁺ et l'ion Cl⁻ au niveau des feuilles.

L'accumulation de niveaux élevés de Na⁺ dans les feuilles est une caractéristique de la réussite de la culture halophyte dans les concentrations élevées en Na⁺ (FLOWER et *al.*, 1980, cité par WURTELE [65]).

Il est connu que les concentrations élevées en NaCl provoquent chez les plantes une diminution du taux de K⁺ et déshydratation des tissus. Cependant, notre étude menée sur les plantules d'*Atriplex halimus*, a mis en évidence une bonne utilisation de K⁺ sous l'effet du stress salin dont la concentration de K⁺ au niveau des feuilles augmente d'une manière proportionnelle directement avec les concentrations en NaCl.

Sous l'effet du stress salin les ions en excès s'accumulent dans la vacuole, alors que les concentrations de Na⁺ et Cl⁻ sont maintenues à faible valeur dans le cytoplasme [29], ce qui explique la tolérance de nos plantules à ces fortes concentrations en NaCl.

Le potassium joue un rôle important dans la régulation de la pression osmotique cellulaire [66].

L'hydratation foliaire dans les normes n'est pas corrélée seulement avec l'accumulation des ions majeurs Na^+ et Cl^- . En effet, les quantités d'eau foliaire sont associées en grande partie à l'accumulation des différents ions. Car une grande accumulation des ions Na^+ ne provoque pas la déshydratation des tissus, il est probable que ces ions sont compartimentés à l'intérieur de la cellule, on suppose que ces ions sont le K^+ et d'autres ions.

Des résultats similaires ont été obtenus par une étude portée sur l'effet du NaCl sur l'accumulation des ions Na^+ , K^+ , et Cl^- chez l'espèce *Thellungiella halophilla*. Les résultats obtenus ont montré que les plants de cette espèce croissant en présence de NaCl accumulent de grandes quantités de Na^+ et Cl^- dans les tissus foliaires avec une bonne assimilation de K^+ [67].

Certaines espèces de graminées tolérantes au NaCl , comme *Agropyron scirpeum* et *Aegilops searsii*, montrent une concentration élevée en NaCl dans les tissus foliaires associée à un compartimentage efficace [68]. Chez le blé et l'orge, une corrélation existe

entre la croissance en milieu salin, la vitesse d'absorption de K^+ et son efficacité

d'utilisation (GLASS et PERLEY, 1980 ; TALL, 1984, cité par PIRI *et al* [68].

A partir des résultats obtenus, on peut déduire que l'*Atriplex halimus* fait partie des accumulateurs de sels.

1. 3. Effets des différentes concentrations en NaCl sur le taux de chlorophylle

➤ Analyse de la variance

L'analyse de la variance met en évidence une action très hautement significative du traitement salin sur le pourcentage de survie (tableau 3. 9).

Tableau 3. 9: Analyse de la variance (taux de chlorophylle).

	S.C.E	DDL	CARRES MOYENS	TEST F	PROBA	E.T	C.V
VAR. TOTALE	0,03	14	0,002				
VAR. FACTEUR 1	0,03	4	0,01	12.73	0,0007		
VAR. RESIDUELLE 1	0,01	10	0,001			0,02	5,4%

➤ Test de NEWMAN-KEULS au seuil de 5.p 100

D'après le tableau 3.10 de test de NEWMAN-KEULS, on remarque que la quantité de chlorophylle varie d'une manière très hautement significative d'un traitement à un autre. Cependant le taux le plus élevé a été obtenu chez les plantules non stressées (témoin) ($0,46 \pm 0,04$) mg/l, suivi par le groupe B (représentant les traitements salins : T1, T2, T3) et le groupe C (représentant le traitement T4) avec des valeurs plus ou moins proches (figure 3.6).

Tableau 3.10: Effet des différentes concentrations en NaCl sur le taux de chlorophylle.

(mg/l) (Test de NEWMAN-KEULS au seuil de 5.p 100).

Concentrations en NaCl (g/l)	T0	T1	T2	T3	T4
	0	2	5	10	15
Moyennes mg/l	0,49	0,44	0,43	0,43	0,35
Ecart types	0,04	0,02	0,03	0,02	0,02
Groupes homogènes	A	B	B	B	C

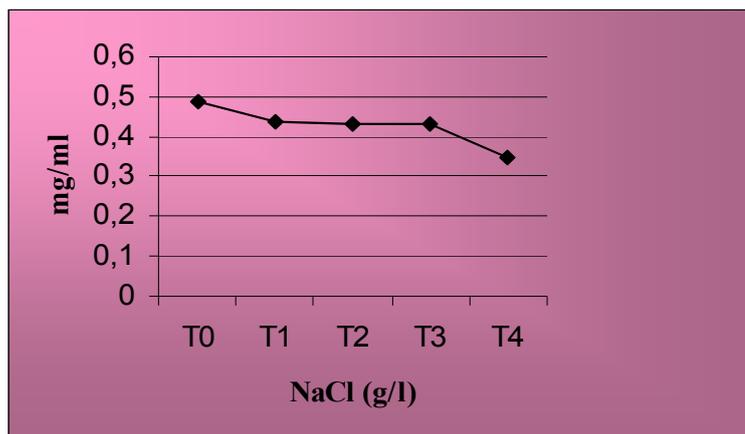


Figure 3.6: Effet des différentes concentrations en NaCl sur le taux de chlorophylle.

➤ Discussion

Nos résultats montrent qu'il y a un effet stress salin sur le fonctionnement de la photosynthèse chez les plantules stressées dont le taux de chlorophylle a plus ou moins diminué par rapport au témoin . Ce ci peut être expliqué du fait que les halophytes sont considérées comme étant des plantes en C4. Ces plantes peuvent maintenir longtemps les stomates fermés lors d'une sécheresse physiologique suite aux fortes concentrations en sels, ce qui provoque une diminution de l'activité photosynthétique tout en compensant la réduction de l'absorption de CO₂, par leur efficacité élevée de la fixation de CO₂ et par l'absence de photorespiration qui représente normalement une perte de carbone. Donc on

peut déduire de ces résultats, que malgré les concentrations en NaCl aux quelles ont été soumises nos plantules, ces dernières ont pu protégé leur appareil photosynthétique tout en assurant une bonne croissance et un bon développement de la partie aérienne (figure 3.7 ; 3.8 ; 3.9 ; 3.10 ; 3.11), il est nécessaire de citer le rôle majeur de potassium dans la protection de l'appareil photosynthétique lors d'un stress salin dont on a enregistré une bonne assimilation de l'ion K^+ .

Le potassium intervient dans les processus de la photosynthèse, favorise la synthèse des glucides et participe au transfert de ceux-ci vers les organes de réserve. Ce qui lui permet de conférer aux plantes une meilleure résistance aux différents stress [69].

1. 4. Effets des différentes concentrations en NaCl sur la perméabilité membranaire

➤ Séparation des lipides membranaires

La séparation des lipides membranaires par C.C.M, nous a permis de maître en évidence les glycerophospholipides et les glycolipides (lipides associés au sucres).

En se referant à un standard qui a migré dans un solvant de même composition de notre solvant de migration et où la R_f de chaque type de lipide est connue, on a pu identifier

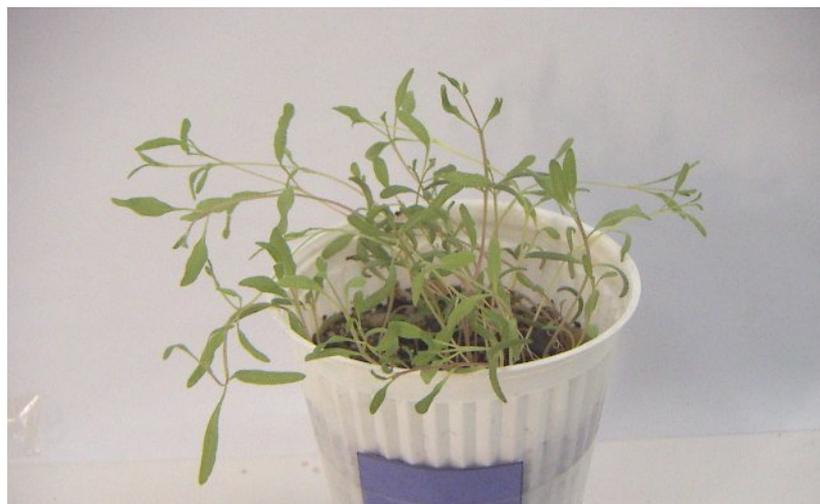


Figure 3. 7 : Plantules non stressées.



Figure 3. 8: Plantules stressées (NaCl = 2 g/l).



Figure 3. 9 : Plantules stressées (NaCl =5 g/l).



Figure 3. 10: Plantules stressées (NaCl = 10 g/l).



Figure 3. 11: Plantules stressées (NaCl = 15 g/l).

les principaux glycérophospholipides et des glycolipides chez les plantules d'*Atriplex halimus* soumises au stress salin. Sachant que R_f est le rapport entre la distance parcourue par le lipide et la distance parcourue par le front du solvant [70].

Les principaux glycérophospholipides identifiés sont : phosphatidylcholine (PC), phosphatidylinositol (PI), phosphatidylserine (PS), phosphatidyléthanolamine (PE), acide phosphatidique (AP), diphosphatidylglycérol (DPG), un type de lipide X inconnu et enfin les glycolipides.

La répartition de ces différents glycérophospholipides a été différente entre les plantules stressées et les plantules non stressées (témoin). On a noté la présence de PC chez les plantules traitées au NaCl et son absence chez le témoin, le PE et l'AP qui ont été révélés chez les plantules non stressées, n'ont enregistré aucune révélation chez les plantules stressée (tableau 3. 11) (Figure 3.12).

Tableau 3. 11: Les différentes classes de lipides membranaires.

	Plantules s non stressées	Plantules stressées
PC	–	+
PI	+	+
PS	–	+
PE	+	–
AP	+	–
DPG	+	+
Glycolipides	+	+
X	+	+

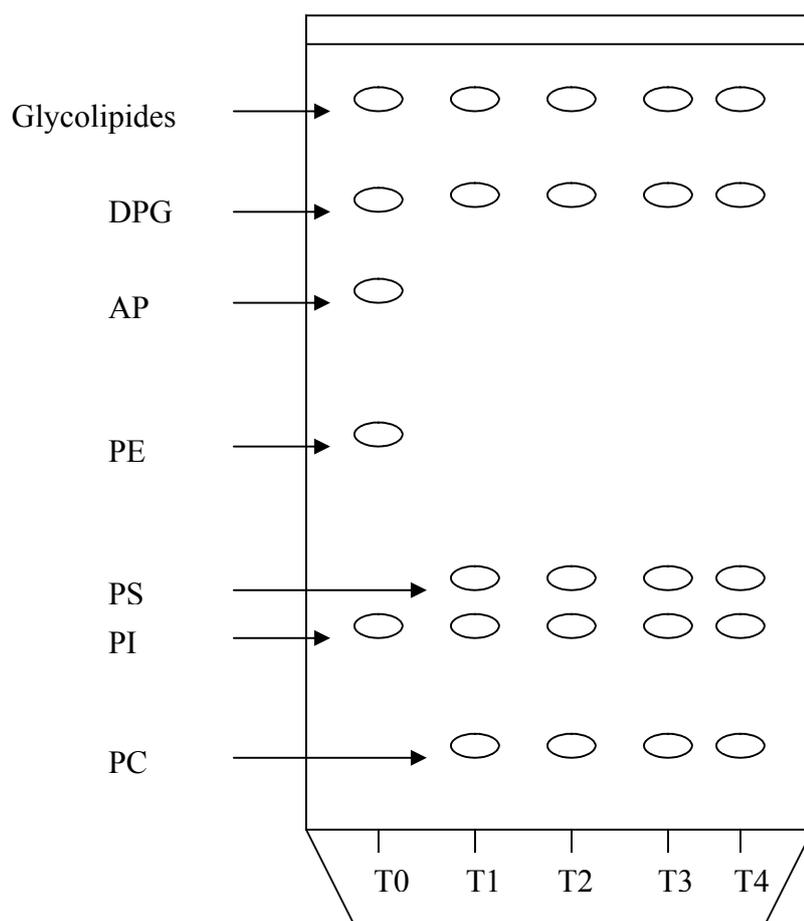


Figure 3. 12 : Séparation des lipides membranaires par C.C.M.

➤ Discussion

D'après les résultats obtenus, on peut dire que les traitements salins ont pu provoquer des modifications dans la qualité des lipides constituant la membrane cellulaire et par conséquent une modification dans la perméabilité cellulaire.

Des modifications quantitatives et qualitatives des classes lipidiques peuvent modifier la perméabilité membranaire sous l'effet du stress salin [43]. Cette modification de la perméabilité à l'égard des ions est probablement la cause primaire de la meilleure tolérance à la salinité [71].

Partant de ces indications, on peut conclure que la résistance de nos plantules aux fortes concentrations salines résulte de la modification dans la composition qualitative des lipides membranaires.

2 - Effets des différentes concentrations en NaCl sur les caractéristiques biochimiques

2. 1. Effets des différentes concentrations en NaCl sur le taux de la proline

➤ Analyse de la variance

L'analyse de la variance facteur stress salin indique qu'il y a une action hautement significative sur le taux de la proline, (tableau 3.12).

Tableau 3. 12: Analyse de la variance (taux de proline).

	S.C.E	DDL	CARRES MOYENS	TEST F	PROBA	E.T	C.V
VAR. TOTALE	0,07	14	0,005				
VAR. FACTEUR 1	0,05	4	0,0125	6,24	0,0090		
VAR. RESIDUELLE 1	0,02	10	0,002			0,05	15,5%

➤ Test de NEWMAN-KEULS au seuil de 5.p 100

A l'issue de nos essais, les résultats obtenus (tableau 3. 13) montre que la modification des concentrations en NaCl d'un traitement à un autre entraîne une action

hautement significative sur le taux de proline. Le taux le plus élevé a été obtenu avec les traitements T3 et T4 ($0,34 \pm 0,03$; $0,39 \pm 0,08$) $\mu\text{mol/g}$ de MF respectivement qui sont représentés par le groupe A, suivi de très près par les traitements T2 et T1 qui appartiennent aux groupes AB. En dernière place, on trouve le témoin (T0) avec un taux de proline de ($0,21 \pm 0,02$) $\mu\text{mol/g}$ de MF (figure 3. 13).

Tableau 3. 13: Effet des différentes concentrations en NaCl sur le taux de la proline.

($\mu\text{mol/g}$ de MF) (Test de NEWMAN-KEULS au seuil de 5.p 100).

Concentrations en NaCl (g/l)	T0	T1	T2	T3	T4
	0	2	5	10	15
Moyennes $\mu\text{mol/g}$ de MF	0,21	0,28	0,27	0,34	0,39
Ecart types	0,02	0,05	0,03	0,03	0,08
Groupes homogènes	B	AB	AB	A	A

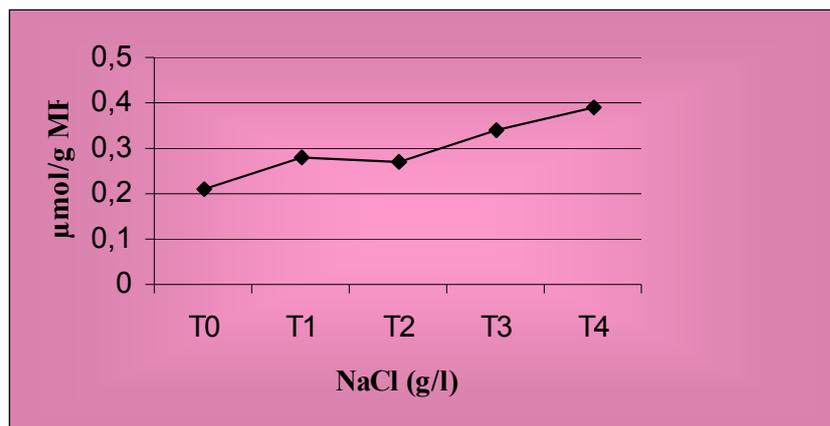


Figure 3. 13: Effet des différentes concentrations en NaCl sur le taux de la proline.

➤ Discussion

A l'issue de notre étude, les résultats obtenus montrent que par rapport au témoin, on remarque que le taux de proline augmente au fur et à mesure que la concentration en NaCl augmente, il y a donc un effet du stress salin.

L'un des moyens dont disposent les halophytes pour leur ajustement osmotique est la fabrication de la proline [32].

Les résultats obtenus concernant le taux de la proline au niveau des feuilles concordent avec ceux obtenus par ARBAOIU [72] sur les différentes variétés de la tomate industrielle (*Lycopersicum esculentum* Mille) au stade juvénile. Chez ces dernières, le

métabolisme de la proline s'active en présence de sels pour les différentes variétés de cette espèce, les feuilles semblent être les sites d'accumulation de la proline les plus importants.

Donc on peut dire que l'accumulation foliaire de la proline chez l'*Atriplex halimus* est une réaction d'adaptation au stress salin.

2. 2. Effets des différentes concentrations en NaCl sur le taux des sucres solubles

➤ Analyse de la variance

L'analyse de la variance facteur (sel), révèle qu'il existe une action hautement significative sur le taux de sucres solubles (tableau 3. 14).

Tableau 3. 14: Analyse de la variance (taux des sucres solubles).

	S.C.E	DDL	CARRES MOYENS	TEST F	PROBA	E.T	C.V
VAR. TOTALE	3773,11	14	269,51				
VAR. FACTEUR 1	2932,70	4	733,18	8,72	0,0029		
VAR. RESIDUELLE 1	840,40	10	84,04			9,17	9,2%

➤ Test de NEWMAN-KEULS au seuil de 5.p 100

Le Test de NEWMAN-KEULS (tableau 3. 15) montre que le traitement T4 a donné le taux le plus élevé ($118,18 \pm 13,83$) $\mu\text{g}/100$ mg de MF en sucres solubles qui est représenté par le groupe A, suivi par des traitements proches regroupés dans le groupe AB. Quant au témoin et T1, on a enregistré des valeurs plus faibles (figure 3. 14).

Tableau 3. 15: Effet des différentes concentrations en NaCl sur le taux des sucres solubles.

($\mu\text{g}/100$ mg de MF) (Test de NEWMAN-KEULS au seuil de 5.p 100).

Concentrations en NaCl (g/l)	T0	T1	T2	T3	T4
	0	2	5	10	15
Moyennes ($\mu\text{g}/100$ mg de MF)	78,84	90,98	100,90	110,83	118,18
Ecart types	7,89	8,29	8,09	5,72	13,83
Groupes homogènes	C	BC	AB	AB	A

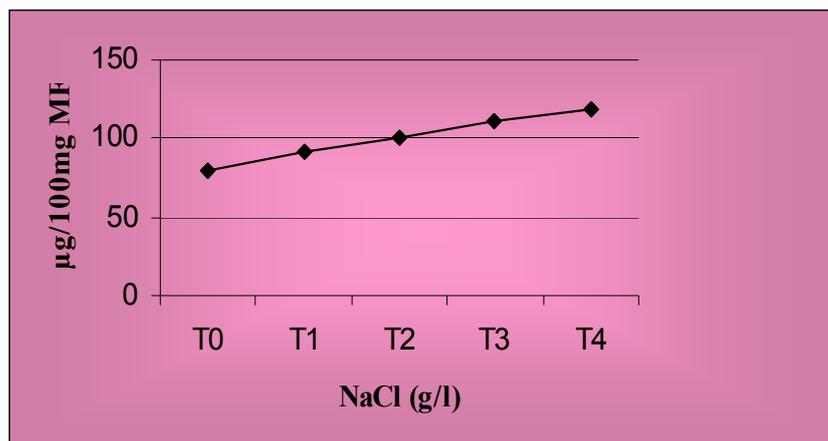


Figure 3. 14: Effet des différentes concentrations en NaCl sur le taux des sucres solubles.

➤ Discussion

Nos résultats montrent que, les concentrations élevées en NaCl dans la solution nutritive entraînent en parallèle une augmentation du taux des sucres solubles au niveau des feuilles.

Afin d'assurer l'ajustement osmotique, les effets osmotiques du NaCl dans les vacuoles doivent être compensés par les effets osmotiques d'autres substances dans le cytoplasme ce ci par la biosynthèse de différentes substances organiques tel que les sucres solubles. Donc l'effet des concentrations salines a pu être compensé par l'accumulation de sucres solubles dans les feuilles, des résultats comparatifs ont été obtenus chez les porte-

greffes d'agrumes au Maroc. Le NaCl a fortement stimulé l'accumulation des sucres solubles au niveau des feuilles [73].

2. 3. Effets des différentes concentrations en NaCl sur le taux des protéines totales

➤ Analyse de la variance

L'analyse de la variance facteur salinité révèle qu'il existe une action très hautement significative sur le taux des protéines totales (tableau 3. 16).

Tableau 3. 16: Analyse de la variance (taux des protéines solubles).

	S.C.E	DDL	CARRES MOYENS	TEST F	PROBA	E.T	C.V
VAR. TOTALE	332361,22	14	23740,09				
VAR. FACTEUR 1	314163,81	4	78540,95	43,16	0,0000		
VAR. RESIDUELLE 1	18197,41	10	1819,74			42,66	15,4%

➤ Test de NEWMAN-KEULS au seuil de 5.p 100

Le test de NEWMAN- KEULS (tableau 17) montre qu'il y a deux groupes homogènes : groupe A représenté par le témoin avec un taux en protéines totales le plus élevé ($558,33 \pm 44,23$) ($\mu\text{g}/100 \text{ mg de MF}$) représenté par le témoin et le groupe B représenté par T1, T2, T3 et T4 avec des valeurs plus ou moins faibles (figure 3.15).

Tableau 3. 17: Effet des différentes concentrations en NaCl sur le taux des protéines totales ($\mu\text{g}/100 \text{ mg de MF}$) solubles (Test de NEWMAN-KEULS au seuil de 5.p 100).

Concentrations en NaCl (g/l)	T0	T1	T2	T3	T4
	0	2	5	10	15
Moyennes ($\mu\text{g}/100 \text{ mg de MF}$)	558,33	251,04	179,16	158,33	241,66
Ecart types	44,23	80,91	17,21	1,80	17,21
Groupes homogènes	A	B	B	B	B

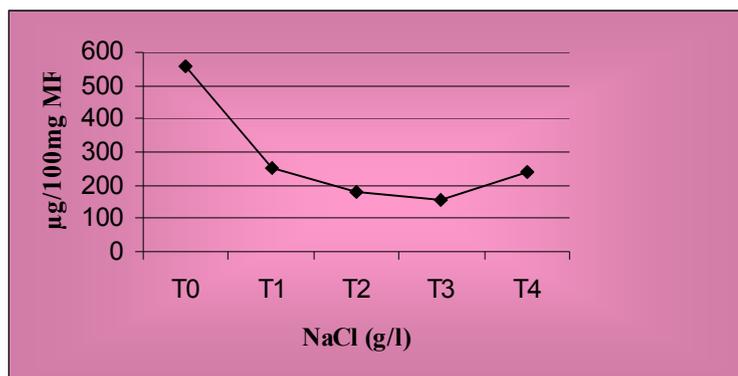


Figure 3. 15: Effet des différentes concentrations en NaCl sur le taux des protéines totales.

➤ Discussion

L'effet du stress salin a induit des modifications quantitatives et qualitatives sur le taux de protéines totales dont on a enregistré des valeurs plus faibles par rapport au témoin.

La séparation des protéines totales par électrophorèse sur gel d'agarose avec la révélation au bleu de Coomassie, nous a permis d'identifier chez les traitements salins : T3 et T4 la présence de deux protéines de 51 et 13 KDa. Elles correspondent à la grande et à la petite sous-unité de la RuBPcase (Rubisco) (figure 3. 16).

La RuBPcase est vraisemblablement la protéine la plus abondante de la biosphère. Elle peut représenter jusqu'à 15% des protéines solubles pour les espèces herbacées en C4 [74]. C'est le premier enzyme de carboxylation mais elle peut aussi, selon les conditions du

milieu, présenter une activité oxygénase et être la première enzyme du cycle de décarboxylant de la photorespiration [74]. Ce qui explique son abondance chez les plantules d'*Atriplex halimus*, étant donné que ces dernières faisant partie des plantes en C4 qui utilise cette enzyme pour la décarboxylation afin de protéger leur appareil photosynthétique lors du stress salin.

Notant que la petite sous-unité de la RuBPcase n'a pu être révélée par la coloration au bleu de Coomassie alors qu'elle a pu être mise en évidence par la coloration au Violet HF (figure 3. 17). Elle a été révélée chez le témoin et tous les traitements salins.

Un polypeptide de 100 KDa (figure 3. 16) a été observé lors d'une coloration au bleu de Coomassie chez le témoin et le traitement T1 (NaCl =2 g/l). Il correspond à la phosphoénolpyruvate carboxylase ou PEPcase. La PEPcase est une enzyme clé du métabolisme crassulacéen et de la photosynthèse en C4 [19]. Un autre polypeptide inconnu de 64 KDa a été révélé seulement chez le témoin.

A la fin, on peut conclure que la diminution de la quantité en protéines totales chez les plantules stressées peut être due à cette absence de ce polypeptide de 64 KDa et que le changement qualitative et quantitative dans le taux des protéines totales est un indice positif de la tolérance à la salinité.

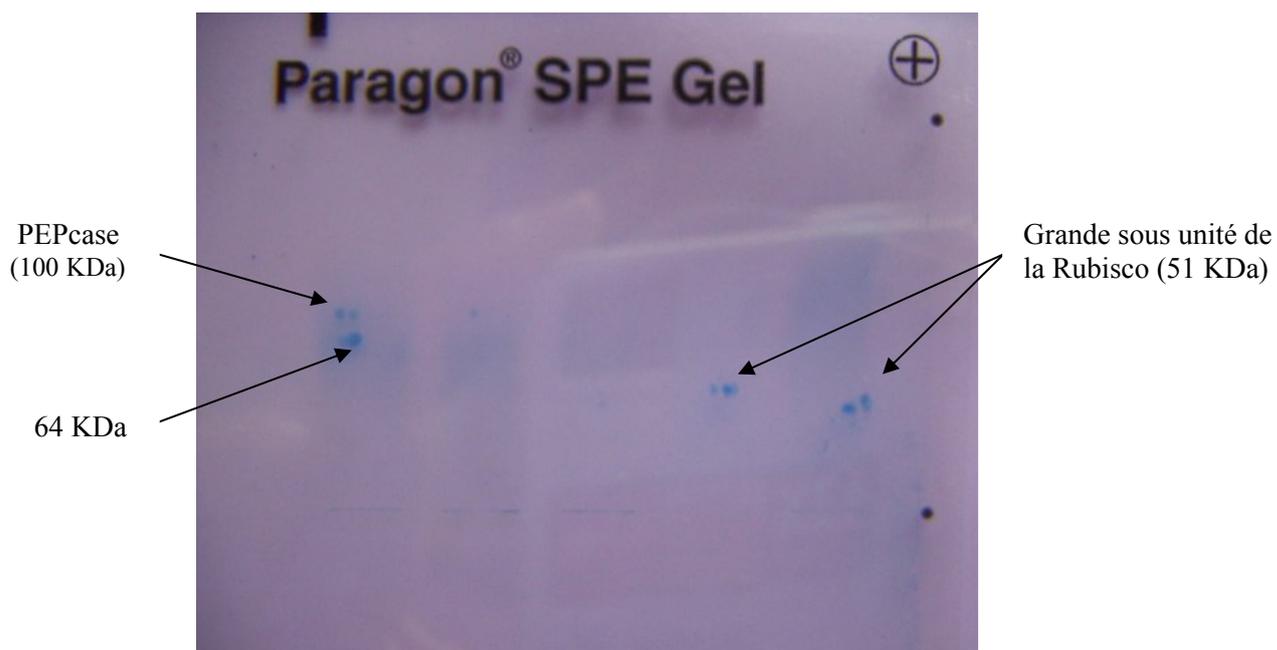


Figure 3. 16 : Séparation des protéines totales par électrophorèse sur gel d'agarose (révélation au bleu de Coomassie).

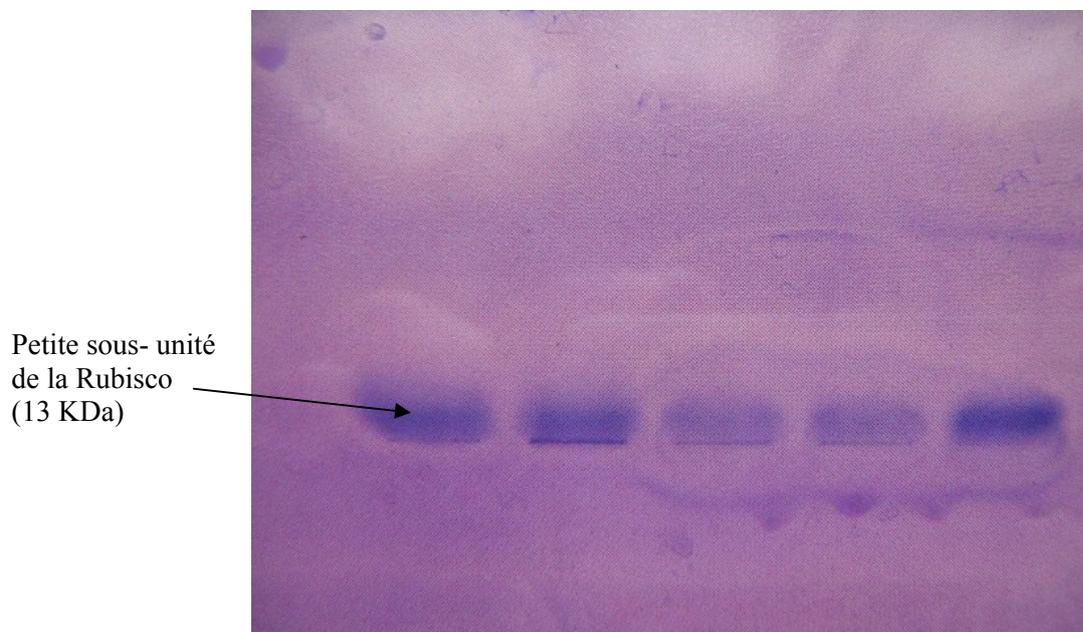


Figure 3. 17: Séparation des protéines totales par électrophorèse sur gel d'agarose (révélation au Violet HF).

CONCLUSION

Notre étude menée sur l'effet du stress salin sur les caractéristiques physiologiques et biochimiques des plantules d'*Atriplex halimus* nous a permis de conclure que les fortes concentrations en NaCl (25 g/l et 30 g/l) provoquent le fleurissement et la mort de nos plantules tandis qu'à la concentration de 20 g/l de NaCl, le pourcentage de survie malgré qu'il était faible ($14,56 \pm 12,90$ %), les plantules ont pu subsister et croître mais avec difficulté. Donc les limites de tolérance de cette espèce à la salinité au stade juvénile se situent entre 15 et 20 g/l au de la de laquelle les plantes peuvent souffrir.

Quant aux autres traitements salins, les plantules ont continué à croître et se développer avec succès, le pourcentage de survie le plus élevé a été obtenu chez les plantules non stressées suivi de valeurs plus ou moins proches par les autres traitements (2 g/l, 5 g/l, 10 g/l et 15 g/l), ce qui fait renforcer l'idée que l'*Atriplex halimus* est une halophyte non obligatoire c'est-à-dire qu'elle peut croître et se développer avec succès sur

des sols non salés. Mais ça n'empêche pas qu'elle a prouvé une excellente tolérance à ce stade juvénile et à ces concentrations salines plus particulièrement celle de 15 g/l où la plus part des végétaux soumis à cette concentration ne peuvent résister et pour la plus part d'entre eux est une dose létale.

La tolérance des plantules d'*Atriplex halimus* vis-à-vis du stress salin s'est manifestée par des changements d'ordre physiologiques et biochimiques.

Concernant les modifications physiologiques plus particulièrement l'accumulation des ions Na⁺, Cl⁻ et K⁺, on a enregistré une accumulation importante en ions Na⁺ et Cl⁻ au niveau des feuilles des plantules traitées par rapport au témoin. Cette accumulation a été accompagnée par une accumulation également importante de l'ion K⁺, ce qui a assuré le maintien de la turgescence cellulaire. Cependant on peut conclure que l'un des mécanismes dont disposent les halophytes pour résister à la salinité est l'accumulation des ions Na⁺ et Cl⁻ au niveau des feuilles avec une bonne utilisation de l'ion K⁺, ce qui nous permet de classer l'espèce *Atriplex halimus* parmi le groupe des halophytes dit accumulateurs de sels.

La protection de l'appareil photosynthétique est un autre critère d'adaptation de nos plantules aux différentes concentrations en NaCl. Cette protection est liée à plusieurs facteurs à savoir : une bonne sélectivité vis-à-vis du K⁺ étant donné que le potassium joue un rôle important dans la régulation de la pression osmotique et dans le processus de la photosynthèse. Elle est liée également du fait que l'*Atriplex halimus* fait partie des plantes en C4 c'est-à-dire qu'elles sont capables de protéger leur appareil photosynthétique lors d'une sécheresse physiologique suite au stress salin par la fermeture des stomates.

La membrane cellulaire est le premier site de l'interaction du sel avec la plante. L'étude de sa perméabilité a enregistré une modification qualitative des lipides membranaires. Certains glycerophospholipides ont été présents chez le témoin et absents chez les plantules stressées et vis versa, tel que la phosphatidylcholine et la phosphatidylserine qui étaient présentes chez les plantules stressées et absentes chez les plantules non stressées ; la phosphatidyléthanolamine et l'acide phosphatidique qui étaient absents chez les plantules traitées au NaCl et présents chez les plantules non traitées. Cette modification qualitative en lipides membranaires a permis à nos plantules d'avoir une meilleure résistance à la salinité.

Afin d'assurer l'ajustement osmotique en présence de NaCl, les halophytes accumulent de quantités importantes des ions Na⁺ et Cl⁻ dans leur vacuoles, la concentration en ces ions dans le cytoplasme reste alors faible. Mais ceci reste insuffisant car un autre problème se pose c'est que : un gradient osmotique ne peut pas s'établir de part et d'autre du tonoplaste entre le cytoplasme et la vacuole puis qu'il n'y a pas de contre pression de la paroi cellulaire, pour cela les cellules doivent atteindre un état d'équilibre où les effets osmotiques de NaCl dans les vacuoles sont compensés par les effets osmotiques d'autres substances organiques : oses, acides aminés et la synthèse de protéines spécifiques au stress salin.

Nos essais ont révélé une accumulation plus importante en proline chez les plantules traitées par le NaCl que le témoin. De même pour les sucres solubles où les taux les plus élevés ont été enregistrés chez les plantules stressées. Cette accumulation de ces substances organiques n'est qu'une réaction d'adaptation à la salinité.

L'effet du stress salin a induit également des modifications quantitatives et qualitatives sur les protéines totales. La séparation des protéines totales par électrophorèse sur gel d'agarose avec la révélation au bleu de Coomassie et au Violet HF, nous a permis

d'identifier la présence de deux protéines de 51 KDa et 13 KDa chez les palantules stressées (NaCl = 10 g/l et 15 g/l) correspondant à la grande et à la petite sous-unité de la RuBPcase (Rubisco) qui est une protéine de grande importance chez les plantes en C4 dont elle présente une activité oxygénase et être la première enzyme du cycle de décarboxylation de la photorespiration. Ce qui permet à ces plantes de protéger l'appareil photosynthétique lors des différents stress.

Un polypeptide de 100 KDa a été identifié chez le témoin et le traitement salin (2 g/l). Il correspond à la phosphoénolpyruvate carboxylase ou PEPcase. La PEPcase est une enzyme clé du métabolisme crassulacéen et de la photosynthèse en C4 [19]. Un autre polypeptide inconnu de 64 KDa a été identifié seulement chez le témoin.

A la fin, il serait intéressant pour l'avenir de compléter ces résultats obtenus par des études plus précises plus particulièrement les protéines par des méthodes d'immunodétection afin d'identifier la nature de polypeptides 64 KDa et d'autres protéines. Des études au niveau moléculaires doivent être réalisées afin de préciser le ou les gènes responsables de cette tolérance et pour quoi pas de les transférer chez les cultures sensibles à la salinité par le biais de génie génétique.

REFERENCES

1.	Jebara, M., Aouani, M., Mhamdi, R. et Mar, M., “Effet du sel sur des isolats de <i>sinorhizobium sp.</i> Detunisie <i>in vitro</i> ou en association avec <i>Medicago sp</i> ”, Cahiers d'études et de recherche francophones/ Agricultures, V. 9, n°2, (Mars – Avril 2000), 99-102.
2.	Mulas, M. et Mulas, G., “Potentialités d'utilisation stratégique des plantes des Genres <i>Atriplex</i> et <i>Opuntia</i> dans la lutte contre la désertification”, Short and Medium- Term Priority Environment Action Program (SMAP), (Février, 2004), 86 p.
3.	Dejean, J. et Recgros R., “Petit guide panoramique de la flore méditerranéenne”, Ed. Delachaux, Paris, (1978), 78 p.
4.	Maire, R., “Flore de l'Afrique du nord (Maroc, Algérie, Tunisie, Tripolitaire, Cyrénaïque et shara)”, V. III, (1962), 57-93.
5.	Ozenda, P., “Flore du Sahara”, Ed. Centre national des la recherche scientifique, Pairs, (1977), 622 p.
6.	Ingri, D. et Schonfelder, P., “Guide de la flore méditerranéenne”, Ed. HLIER, Paris, (1988), 314 p.
7.	Sadji, A, “Arbres et arbustes fourragers dans les zones arides et semi-arides”, Colloque sur les zones arides et sahariennes, INRF, Algérie, (1987), 61- 66.
8.	Quezel, R. et Santa, S., “Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méditerranéennes”, Tome I, Ed. INRA, Paris, (1962), 565 p.

9.	Benrebiha, F. Z., "Etude de différents milieux de culture, de substance de croissance et de salinité sur la morphogenèse de l' <i>Atriplex halimus</i> ", Thèse Doct, Univ, Algérie, (2003), 120 p.
10.	Belot, A., "Dictionnaire des arbres et arbustes de jardin", Ed. Bordas, Paris, (1978), 383p.
11.	Ramade, F., "Dictionnaire encyclopédique de l'écologie et des sciences de l'environnement", Ed. Ediscience international, Paris, (2002), 1075 p.
12.	Durand, J. H., "les sols irrigables", Ed. Agence de coopération culturelle et technique conseil international de la langue française, Paris, (1983), 339 p.
13.	Lozer, J. et Mathieu, C., "Dictionnaire de science du sol", Ed. Technique et Documentation –Lavoisier, Paris, (1990), 384 p.
14.	Cheverry, C. et Bourrié, G., "La salinisation des sols", In : Sol interface fragile, Ed. INRA, Paris, (1998), 109 -127.
15.	Pansu, C. et Gautheyrou J., "L'analyse du sol minéralogique, organique et minérale", Ed. Spinger, France, (2003), 993p.
16.	Collin, P. et Schawer, M., "Larousse- Environnement et écologie", Ed. Larousse, (1992), 196 p.
17.	Baize, D., "Petit lexique de pédologie", Ed. INRA, Paris, (2004), 271 p.
18.	Baize, D., "Guide des analyses en pédologie", Ed. INRA. Paris (2000), 257 p.
19.	Ulrich, L., Kluge, M. et Bauer, G., "Traité fondamental de botanique", Ed. Technique et documentation", Paris, (1992), 574 p.
21.	Maillard, J., "Le point sur l'irrigation et la salinité des sols en zone sahélienne- Risques et recommandations", Ed. Handicap international, (Novembre 2001), 1- 34.

21.	Oudija, F. et Ismaili, M., "Effet de NaCl sur l'embryogenèse somatique et sur les capacités de régénération chez le blé. Etude de la compétence embryogène des cultures de blé initiées directement en présence de NaCl", <i>affrican crop science Journal</i> , V. 10, n°3, (2002), 221-229.
22.	Ziani, D., "L'agriculture Algérienne des défis à relever", <i>Agro ligne</i> , n°31, (Décembre 2003), 4-5 p.
23.	Kessira, M., "Gestion de l'irrigation dans les milieux salins", In : <i>Advances is soil salinity and drainage management to save water and protct the environnement</i> , Ed. Ministry of agriculture- Algeria, (2002), 305 – 323.
24.	Moulay, B. et Bidai, Y., "La réponse des graines d' <i>Atriplex halimus L.</i> à la salinité au stade de la germination", <i>Science planétaire/ Sécheresse</i> , V. 15, n° 4, (2004), 1-9.
25.	Shakespeare, W., "La physiologie des plantes soumises aux stress", In: <i>Physiologie végétale</i> , Ed. De Boeck et Larcier, Bruxelles, (2003), 451- 475.
26.	Mazoyer, M., "Larousse Agricole", Ed. Larousse/UUEF, (Québec), 2002, 767p.
27.	Lafon, J.P., Tharaud- Prayer, C. et Levy, G., "Biologie des plantes cultivées- organisation physiologique de la nutrition", Ed. Technique et Documentation- L avoisier, Paris, (1988), 238 p.
28.	Hamdy, A., A review paper on : "Soil salinity, crop salt reponse and crop salt tolerance mechanisms", In: <i>Advances is soil salinity and drainage management to save water and protct the environnement</i> , Ed. Ministry of agriculture- Algeria, (2002), 2- 72.
29.	Steinbeck, J., "Les cellules végétales et l'eau", In : <i>Physiologie végétale</i> , Ed. De Boeck et Larcier, Bruxelles, (2003), 23 – 35.
30.	Rochdi, O., Lemsellek, J., Bousarhal, A. et Rachidi, A., "Evaluation sous serre de la tolérance à la salinité de quelques porte-greffes d'agrumes : <i>Citrus aurantium</i> et deux hybrides de <i>Poncirus trifoliata</i> (<i>Poncirus</i> × <i>Citrus sinensis</i> et <i>Poncirus</i> × <i>Mandarinier sunki</i> ", <i>Biotechno. Agrom. Soc. Environ</i> , V. 9, n°1, (2005), 65 – 73.
31.	Donahus, R., "Nature des sols et croissance végétale", Ed. Intercontinental (1958), 312 p.

32.	Heller, R., Esnault, R. et Lance, C., “Physiologie végétale- nutrition”, Ed. Masson, Paris, (1989), 273 p.
33.	Laberche, J. C., “Biologie végétale”, Ed. Dunod, Paris, (2004), 270 p.
34.	Bouillard, B., “Dictionnaire de botanique”, Ed. ellipses, Paris, (1988), 398 p.
35.	Gorenflot, R., “Appareil végétatif”, Ed. Masson, Paris, (1990), 247 p.
36.	Delange, Y., “Les végétaux des milieux arides”, Ed. Science et Découvertes- Rocher, (1988). 120 p.
37.	Ulrich, L., Kluge, M. et Bauer, G., “Traité fondamental de botanique”, Ed. Technique et documentation, Lavoisier, (2002), Paris, 604 p.
38.	White, F., “La végétation de l’Afrique”, Ed. Unesco, (1986), 384 p.
39.	Vial, Y. et Vial, M., “Sahara milieu vivant”, Ed. Hatier, Paris, (1974), 223 p.
40.	Robert, D. et Rland, J. C., “Biologie végétale- organisation cellulaire”, Ed. Doin Initatives santé, (1998), 367 p.
41.	Weil, H. J., Bonnet, J., Boulanger, Y., Chambon, P., Dubertret, G., Florentz, C., Kedinger, C., Lazdunski, M., Montreuil, J., Patte, J. C., Rebel, G., Rossignol, M., Shechter, E. et Wright, M., “Biochimie générale”, Ed. Masson, Paris, (2001), 655 p.
42.	Deysson, G., “Physiologie et botanique des plantes vasculaires- nutrition et métabolisme”, Ed. Du et SEDES, (1982), 353 p.
43.	Zid, E. et Grignon, C., “Les tests de sélection précoce pour la résistance des plantes aux stress”. Cas des stress salin et hydrique. In Chalbi, N. et Demarly, Y, Ed. L’amélioration des plantes pour l’adaptation aux milieux arides, Paris, AUPELF – UREF, John Libbey Eurotex, (1991), 91 – 108.
44.	Hanes, N., Hooper, N.M. et Houghton, J.D, “Biochimie”, Ed. PortRoyal livres , Paris, (2000), 421 p.

45.	Polonovski, J., “Dictionnaire de biologie”, Ed. Conseil international de la langue française, Paris, (2000), 967 p.
46.	Krunh, J., “Biochimie, Etudes médicales et biologiques – Métabolisme”, Tome II, Ed. Hermann, Paris, (1979), 242 p.
47.	Guignard, J.L., “Biochimie végétale”, Ed. Dunod, Paris, (2000), 274 p.
48.	Weil, J.H., Bounet, J., Boulanger, Y., Chambon, P., Dubertret, G., Florentz, C., Kedinger, C., Lazdunski, M., Montoriel, J., PATTE, J.C., Rebel, G., Rossignol, M., Shechter, E. et Wright, M., “Biochimie générale”, Ed. Dunod, Paris, (2001), 665 p.
49.	Borg, J. et Reeber, A., “Biochimie métabolique”, Ed. Ellipses, Paris, (2004), 240 p.
50.	Heller, R., “Physiologie végétale, développement”, Tome II, Ed. Masson, Paris, (1985), 215 p.
51.	Maroc, A., “Etude des caractéristiques physiologiques, biophysiques et biochimiques chez quelques variétés d’orge (<i>Hodeum vulgare</i>), vis-à-vis du stress hydrique”, Thèse Magistère, Univ, Blida, Algérie, (2005.), 85 p.
52.	Montaigu, A., “Etude du rôle de CDSP34, protéine chloroplastique synthétisée en réponse aux contraintes environnementales chez <i>Solanum tuberosum</i> ”, Thèse DEA, Univ Aix – Marseille II, France, (2002), 20 p.
53.	Verrier, S., “Caractérisation chez <i>Arabidopsis thaliana</i> de l’expression de protéines impliquées dans la protection de l’appareil photosynthétique contre le stress oxydant”, Thèse DEA, Univ, Aurillac, France, (2004), 20 p.
54.	Berkaloff, A., “Concepts et techniques- physiologie végétale”, Le bulletin des biotechnologies, INRA, n°218, (Juillet 2004), 1- 35.
55.	Dubos, C., “Réponse moléculaire de jeunes plants de pin maritime soumis à un stress hydrique en milieu hydroponique”, Thèse doctorat, Univ, Nancy – I, France, (2001), 212 p.

56.	Morard, P., “Les cultures végétales hors sol”, Ed. Publications agricoles, Agen, (1995), 304 p.
57.	Morel, R., “Les sols cultivés, Ed. Technique et Documentation”, Lavoisier, Paris, (1989), 373 p.
58.	Plummer, D. T., “Introduction aux techniques de biochimie”, Ed. McGraw - Hill, Paris, (1989), 331 p.
59.	Shechter, E. et Rossignol, B., “ Biochimie et biophysique des membranes, Aspects structuraux et fonctionnels”, Ed. Masson, Paris, (1997), 446 p.
60.	Bounia, M., “Analyse biochimique quantitative par nanochromatographie sur couche mince”, Ed. Masson, Paris, (1983), 198 p.
61.	Boukel, M. et Houassine, D., Adaptation au stress hydrique de quelques variétés de blé dur (<i>Triticum durum</i> ’est), Thèse magistère, INA, Alger, (1997), 90p.
62.	Stryer, L., “La biochimie”, Ed. Flammarion, Paris, (1959), 1065 p.
63.	Perbal, B., “Clonage moléculaire”, Ed. Vigot, Paris, (1991), 984 p.
64.	Faurie, C., Ferra, C., Médou, P. et Dévaux, J., “Ecologie – approche scientifique et pratique”, Ed. Technique et Documentation, Paris, (1998), 339 p.
65.	Wurtel, E.S., Responses of callus cultures, microshoot cultures and whole plants of the halophyte, <i>Atriplex canescens</i> Var. <i>Gigantea toexogena</i> NaCl, In : Proceedings – symposium on shrub. Ecophysiology and biotechnology. General technical report INT, (February, 1989), 40 – 48.
66.	Vilain, M., “Les composantes de la production”, Ed. Technique et Documentation, Lavoisier, Paris, (1987), 416 p.
67.	M’ rah, S., Ouerghi, Z., Berthomieu, C., Havaux, M., Jungas, C., Hajji, M., Grignon, C. et Lachaâl, M., “Effects of NaCl on the growth, ion accumulation and photosynthetic parameters of <i>Thellungiella halophila</i> ”, Journal of plant physiology 163, (2006), 1022-1031.

68.	Piri, K., Anceau, C., El Jaafari, S., Lepolvre, P. et Semal, J., “Sélection <i>in vitro</i> de plantes androgénétiques de blé tendre résistantes à la salinité”, Ed. AUPELF – UREF, John Libbery Eurotext, Paris, (1994), 311-320.
69.	Clément, J.M., “Larousse Agricole”, Ed. Larousse, Paris, (1981), 1207 p.
70.	Shechter, M. et Rossignol, B., “Biochimie et biophysique des membranes – aspects structuraux et fonctionnels”, Ed. Dunod, Paris, (2000), 466 p.
71.	Beloualy, N. et Bouharmont, J., “Amélioration de la tolérance à la salinité par sélection <i>in vitro</i> chez deux portes - greffes de Citrus”, Ed. AUPELF – UREF, John Libbely Eurotext, Paris, (1993), 301-304.
72.	Arbaoui, M., “Action de la salinité et du stress hydrique sur le comportement métabolique et anatomique de quelques variétés de tomate industrielle (<i>Lycopersicum exculentum mill</i>)”, Thèse Magistère, INA, Algérie, (1997), 92 p.
73.	Aitladdou, M., Bousrhal, A., Benyaha, H. et Benazzog, A., “Effet du stress salin sur l’accumulation de la proline et des sucres solubles dans les feuilles de porte – greffes d’agrumes au Maroc”, Ed. CIRAD, EDP Sciences, (2002), 1-2.
74.	Godon, B., “Protéines végétales”, Ed. Technique et Documentation, Lavoisier, (1985), 629 p.

