

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE



MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE
LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE DE BLIDA 1

Faculté des Sciences de la nature et de la vie

Département de biotechnologie et d'agroécologie

THÈSE DE DOCTORAT

En Sciences Agronomiques

Spécialité : Production végétale intégrée

CARACTÉRISATION ÉCOPHYSIOLOGIQUE ET BIOCHIMIQUE

D'*Atriplex halimus* EN RÉPONSE AUX STRESS ABIOTIQUES

Présenté par

CASASNI Lydia

Devant le jury composé de :

| | | | |
|----------------|------------|------------------------|------------------------|
| BENREBIHA F/Z. | Professeur | U. Blida 1 | Présidente |
| CHAOUIA C. | Professeur | U. Blida 1 | Directrice de thèse |
| BOUCHENAK F. | MCA | U. Blida 1 | Co-directrice de thèse |
| MEFTI M. | Professeur | ENSA El Harrach, Alger | Examineur |
| ZOUAOUI A. | MCA | U. Blida 1 | Examineur |

Blida, 02 Janvier 2022

RÉSUMÉ

Caractérisation écophysiological et biochimique d'*Atriplex halimus* en réponse aux stress abiotiques

L'*Atriplex halimus* L. est une espèce halophyte autochtone présente à l'état spontané dans de nombreuses régions d'Algérie. Notre étude vise à évaluer la tolérance aux stress hydrique et salin de deux écotypes (localité d'El Mesrane à Djelfa, localité du Hoggar à Tamanrasset).

La première partie du travail étudie la réponse des graines et des plantules âgées de 7 jours soumises à des solutions de chlorure de sodium et de polyéthylène glycol 6000 allant de 0 à -14 MPa. Les graines d'*A. halimus* peuvent germer jusqu'à des concentrations de -1,4 MPa de NaCl et -7 MPa de PEG. La tolérance au stress salin est plus élevée chez les graines et les jeunes plantules provenant de l'écotype de Djelfa comparativement à celles de Tamanrasset qui montrent une meilleure adaptation à la contrainte hydrique.

Le deuxième volet de notre travail s'intéresse à l'évaluation du comportement de jeunes plantules âgées de 3 mois face aux contraintes hydrique et saline en relation avec les paramètres morphologiques, physiologiques et biochimiques. Pour ce faire, les plantules des deux écotypes étudiés ont été soumises à des solutions de NaCl (100 et 300 mM) et de PEG 6000 (50 et 100 g/l) en conditions hydroponiques sous serre. Les résultats montrent une stimulation de la croissance chez les plantules de la localité d'El Mesrane soumises à des doses de NaCl modérées de 100 mM. Celle-ci se traduit par une augmentation de la biomasse fraîche et sèche des plantules. La présence de concentrations élevées en NaCl et PEG entraînent une accumulation de sucres solubles, de proline et de glycine bêtaïne. Les sucres solubles totaux sont accumulées en petites quantités chez les plantules de la localité du Hoggar traitées avec des solutions de NaCl et chez celles de l'écotype d'El Mesrane soumises à la contrainte hydrique, elles joueraient un rôle d'osmoprotecteurs. La glycine bêtaïne est produite chez les plantules de la région de Djelfa traitées avec des doses élevées de stress de 300 mM de NaCl et 100 g/l de PEG. Les plantules de la région de Tamanrasset soumises au stress présentent quant à elles une diminution du contenu en glycine bêtaïne. La proline est synthétisée en réponse aux deux contraintes, et ce quel que soit l'écotype étudié. L'osmolyte jouerait un rôle important dans l'ajustement osmotique.

La dernière partie s'intéresse à l'impact des contraintes abiotiques sur l'expression des gènes impliqués dans la biosynthèse de la proline et la glycine bêtaïne ainsi qu'un gène codant pour un transporteur de proline. La proline accumulée au niveau des feuilles des plantules des deux écotypes est fortement corrélée à l'expression des gènes P5CS et P5CR. L'expression des gènes CMO et BADH est corrélée positivement avec la concentration en glycine bêtaïne produite au niveau de la partie aérienne des plantules de la localité d'El Mesrane. Cette corrélation n'est pas enregistrée chez les plantules de la localité du Hoggar. Bien que de petites quantités de proline et de glycine bêtaïne ont été détectées au niveau racinaire, aucune corrélation n'est significative. Le niveau d'expression du gène codant pour la ProT est positivement corrélé aux contenus foliaires en proline et en glycine bêtaïne, cela suggère que la ProT serait responsable du transport de ces molécules dans toute la plante.

Les travaux effectués montrent une tolérance importante de l'*Atriplex halimus* L. aux contraintes hydrique et saline ainsi qu'une variabilité de réponse entre les écotypes (Djelfa, Tamanrasset) ayant des étages bioclimatiques différents.

Mots clés : *Atriplex halimus* L., Ecotypes, NaCl, PEG, Tolérance, Expression des gènes.

ABSTRACT

Eco-physiological and biochemical characterization of *Atriplex halimus* in response to abiotic stress

Atriplex halimus L. is an indigenous halophyte species that occurs spontaneously in many parts of Algeria. Our study aims to assess the tolerance to water and saline stress of two ecotypes (locality of El Mesrane in Djelfa, locality of Hoggar in Tamanrasset).

The first part of the work investigates the response of seeds and 7-day-old seedlings subjected to solutions of sodium chloride and polyethylene glycol 6000 ranging from 0 up to -14 MPa. *A. halimus* seeds can germinate at concentrations of -1.4 MPa of NaCl and -7 MPa of PEG. Saline stress tolerance is higher in seeds and young seedlings from the Djelfa ecotype compared to those from Tamanrasset, which show a better adaptation to water stress.

The second part of our work focuses on the assessment of the behaviour of 3-month old seedlings dealing with water and saline constraints in relation to morphological, physiological and biochemical parameters. To do this, the seedlings of the two ecotypes studied were subjected to solutions of NaCl (100 and 300 mM) and PEG 6000 (50 and 100 g/l) under hydroponic conditions in greenhouse. The results show a growth stimulation in seedlings from the locality of El Mesrane subjected to moderate doses of NaCl of 100 mM. This result is related with an increase in the fresh and dry biomass of seedlings. The presence of high concentrations of NaCl and PEG leads to an accumulation of soluble sugars, proline and glycine betaine. The total soluble sugars are accumulated in small amounts in the seedlings of the locality of Hoggar treated with NaCl solutions and in those of the El Mesrane ecotype subjected to water stress, they would play a role of osmoprotectors. Glycine betaine is produced in seedlings from the Djelfa region treated with high stress doses of 300 mM of NaCl and 100 g/l of PEG. The plants from the Tamanrasset region subjected to stress show a decrease in glycine betaine content. Proline is synthesized in response to both constraints, regardless of the ecotype studied. This osmolyte would play an important role in osmotic adjustment.

The last part focuses on the impact of abiotic constraints on the expression of genes involved in the biosynthesis of proline and glycine betaine and a gene encoding a proline transporter. The proline accumulated in the leaves of the seedlings of both ecotypes is strongly correlated with the expression of the P5CS and P5CR genes. The expression of the CMO and BADH genes is positively correlated with the concentration of glycine betaine produced in the aerial part of the seedlings from the locality of El Mesrane. This correlation is not recorded in seedlings from the Hoggar locality. Although small amounts of proline and glycine betaine have been detected at the root level, no correlation is significant. The level of expression of the gene coding for ProT is positively correlated with proline and glycine betaine leaf's contents, suggesting that ProT would be responsible for the transport of these molecules throughout the plant.

The work carried out shows a significant tolerance of *Atriplex halimus* L. to water and saline stresses as well as a variability of response between ecotypes (Djelfa, Tamanrasset) with different bioclimatic stages.

Keywords: *Atriplex halimus* L., Ecotypes, NaCl, PEG, Tolerance, Gene expression.

ملخص

تحديد الخصائص الإكوفيزيولوجية و البيوكيميائية للقطف استجابة للإجهاد اللاأحيائي

القطف نوع من أنواع الهالوفيت الأصلية الموجودة تلقائياً في العديد من مناطق الجزائر. تهدف دراستنا إلى تقييم مدى تحمل نموذجين بيئيين للإجهاد المائي و الملحي (موقع المصران في الجلفة ، موقع الهو غار في تمنراست).

يركز الجزء الأول من العمل على استجابة البذور والشتلات لمحاليل كلوريد الصوديوم والبولي إيثيلين غليكول من 0 إلى 14 ميغا باسكال. يمكن لبذور القطف أن تنتش بتركيزات - 1.4 ميغا باسكال من كلوريد الصوديوم و - 7 ميغا باسكال من البولي إيثيلين غليكول. تحمل الإجهاد الملحي أعلى في البذور والشتلات من موقع الجلفة مقارنة بتمنراست الذي يظهر تكيف أفضل مع الإجهاد المائي

يركز الجزء الثاني من عملنا على تقييم سلوك الشتلات البالغة من العمر ثلاثة أشهر في مواجهة قيود المياه والملح فيما يتعلق بالبارامترات المورفولوجية والفسيزيولوجية والكيميائية الحيوية. وللقيام بذلك، خضعت شتلات النمطين للإجهاد المائي و الملحي. تظهر النتائج تحفيز النمو في الشتلات من منطقة المسران التي تخضع لجرعات دراستهم معتدلة من كلوريد الصوديوم تبلغ 100 ميليمول. ويترجم ذلك إلى زيادة في الكتلة الأحيائية الطازجة والجافة من الشتلات. يؤدي وجود تركيزات عالية إلى تراكم السكريات القابلة للذوبان ، والبرولين ، والجليسين البيتاين. يتراكم مجموع السكريات القابلة للذوبان بكميات قليلة في شتلات منطقة هو غار المعالجة بحلول كلوريد الصوديوم ، للنموذج الإيكولوجي في المسران الذي يتعرض لإجهاد مائي وفي تلك التي يتعرض لها ، فإنها ستؤدي دوراً من أجهزة الأوزموبروتورات. تنتج الغليسين البيتاين في شتلات من منطقة الجلفة تعالج بجرعات عالية من الإجهاد. وتقل محتويات الغليسين البيتاين في منطقة تامنراست التي تعاني من الإجهاد. يتم توليف البرولين استجابة لكلا التقبيين ، بغض النظر عن النموذج البيئي المدروس.

يركز الجزء الأخير على تأثير القيود اللاأحيائية على التعبير عن الجينات المشاركة في التمثيل الحيوي للبرولين و الغليسين بيتاين وجين يشفر ناقل البرولين. يرتبط البرولين المتراكم على أوراق شتلات كلا النمطين البيئيين ارتباطاً قوياً بالتعبير الجينات المشاركة. إن تعبير الجينات المشاركة في التمثيل الحيوي للغليسين ل بيتاين يرتبط بشكل إيجابي بتركيز البيتاين المنتج في الجزء الجوي من شتلات منطقة المسران. ولا تسجل هذه العلاقة في شتلات منطقة هو غار. وعلى الرغم من اكتشاف كميات صغيرة من البرولين والبيتاين على مستوى الجذور، فإنه لا يوجد ارتباط كبير. مستوى التعبير عن الجين الذي يشفر ناقل البرولين يرتبط بشكل إيجابي مع محتويات الفوليار من البرولين و الغليسين البيتاين ، في التمثيل الحيوي. مما يشير إلى أن ناقل البرولين سيكون مسؤولاً عن نقل هذه الجزيئات في جميع أنحاء النبات.

يظهر العمل الذي تم تنفيذه تسامحاً عالياً للقطف مع ال الإجهاد المائي و الملحي فضلاً عن تباين الاستجابة بين النماذج البيئية (الجلفة ، وتمنراست) في مختلف المراحل البيولوجية.

الكلمات المفتاحية : القطف ، تمنراست، الجلفة، كلوريد الصوديوم ، البولي إيثيلين غليكول

REMERCIEMENTS

Je remercie Dieu tout puissant de m'avoir donné la force, le courage et la patience pour accomplir ce modeste travail et d'arriver au terme de cette thèse.

Je tiens à exprimer mes plus vifs remerciements à :

Mme CHAOUIA C., Professeur à l'université de Blida 1 et directrice de ma thèse, pour m'avoir soutenu, épaulé et guidé tout au long de ces années. Je la remercie vivement pour avoir toujours été présente, pour ses encouragements, sa patience et son immense générosité. Je suis fière d'avoir partagé cette belle aventure à vos côtés, votre profonde gentillesse et votre joie de vivre sont sans égales.

Mme BOUCHENAK F., Maître de conférence « A » à l'université de Blida 1 et co-directrice de ma thèse, pour ses nombreuses suggestions et ses conseils qui m'ont été d'une précieuse aide pour valoriser les résultats et améliorer la rédaction de la thèse.

Mme BENREBIHA F/Z., Professeur à l'université de Blida 1, de me faire l'honneur de présider le jury.

M. MEFTI M., Professeur à l'école nationale supérieure agronomique d'Alger, l'un de mes anciens enseignants que j'estime et que j'apprécie énormément. Je le remercie d'avoir accepté d'examiner ce travail.

M. ZOUAOUI A., Maître de conférence « A » à l'université de Blida 1, qui m'a honoré de sa présence en tant que membre du jury et examinateur de cette thèse.

J'adresse mes plus grands remerciements à Monsieur **LUTTS S.**, Professeur au sein du Groupe de Recherche en Physiologie Végétale de l'université de Louvain en Belgique, pour la chance qu'il m'a accordée en m'accueillant au sein de son laboratoire et en me permettant d'apprendre à ses côtés et de bénéficier de ses précieuses connaissances dans le domaine. Je le remercie profondément pour sa gentillesse, sa bienveillance et sa disponibilité tout au long de mon séjour en Belgique.

Je remercie également toute l'équipe GRPV de l'université de Louvain en Belgique (Muriel, Servane, Rémi, Marie, Marie-Eve, Herman, Willy, Brigitte, Béatrice et Baudoin), pour m'avoir si bien accueillie et intégrée au sein de leur famille, pour leur précieuse aide dans mes manipulations et pour tous les joyeux moments que nous avons partagés.

Je remercie tous mes étudiants qui ont contribué à la réalisation de ce travail et avec qui j'ai partagé des moments qui resteront gravés dans ma mémoire, pour certains une belle amitié est née. Merci à Nesrine, Rachid, Noussaiba, Sara, Carlos, Housseem, Ilhem, Meriem, Khadidja et Khawla.

Mes remerciements vont également aux ingénieurs et techniciens de laboratoire : Abderrahmane (laboratoire de biotechnologie), Souhila (laboratoire de biologie végétale), et plus particulièrement Karima (laboratoire de physiologie végétale), merci pour votre grande sympathie et pour avoir mis à ma disposition toutes les conditions nécessaires à la réussite de mon travail.

Je remercie vivement le Haut-Commissariat au développement de la steppe (HCDS) de Djelfa et Mme Aicha de l'Institut National de la Protection des végétaux de Tamanrasset pour avoir mis à ma disposition les fruits d'*Atriplex halimus* et les échantillons du sol.

A ceux et celles qui m'ont aidé, conseillé, ouvert leurs portes et ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail de recherche, qu'ils trouvent ici l'expression de ma gratitude et mes remerciements.

Dédicaces

A mes parents,

Certains sentiments ne peuvent être exprimés avec des mots...

A ma mère, à qui je dois tant, à la merveilleuse femme qui a fait de moi ce que je suis, « La distance peut séparer deux corps mais jamais deux cœurs ».

A mon père, qui a partagé chaque instant de ce long parcours avec tellement d'amour, de patience et d'encouragement. Qui a toujours cru en moi, qui a séché mes larmes et chassé mes doutes. Merci pour ton soutien inconditionnel.

A mes frères, Toufik et Walid, qui sont le pilier sur lequel je peux me reposer. Votre affection sans limite m'accompagne dans tout ce que je réalise. Merci d'être toujours là pour moi.

A mon mari, Redouane, qui a grandement contribué à la réalisation de ce travail, qui n'a jamais cessé de m'encourager et qui a été présent tout le long de mon parcours. Merci pour ta patience, ton soutien et tes précieux conseils.

A ma belle-sœur, Chahinez, qui m'a soutenue et épaulé, je ne pourrais jamais te remercier assez.

A mes beaux-parents, merci de m'avoir aidée et accompagnée dans cette dernière étape.

A mes cousines, Yasmina et Selma, merci de croire en moi, de me soutenir et d'être toujours présentes à mes côtés.

A mon amie, Hadjer, qui m'a toujours tendue la main à chaque fois que j'en avais besoin.

Lydia

SOMMAIRE

RESUME

ABSTRACT

ملخص

REMERCIEMENTS

DEDICACES

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES ABBREVIATIONS

| | |
|--|----|
| INTRODUCTION..... | 1 |
| CHAPITRE I PRESENTATION DE L'ESPECE <i>Atriplex halimus</i> L..... | 5 |
| I.1.Description du genre <i>Atriplex</i> | 5 |
| I.2.Description de l'espèce..... | 6 |
| I.3.Position systématique..... | 8 |
| I.4.Nomenclature..... | 9 |
| I.5.Distribution géographique..... | 9 |
| I.6.Habitat..... | 10 |
| I.7.Intérêts de l' <i>Atriplex halimus</i> L..... | 11 |
| | |
| CHAPITRE II STRESS ABIOTIQUES..... | 14 |
| II.1.Généralités..... | 14 |
| II.2.Effet des contraintes saline et hydrique..... | 15 |
| II.3.Stratégies d'adaptation des plantes aux contraintes saline et hydrique..... | 18 |

| | |
|---|-----|
| CHAPITRE III PRESENTATION DES REGIONS D'ECHANTILLONNAGE..... | 31 |
| III.1.Localisation géographique..... | 31 |
| III.2.Caractéristiques climatiques..... | 32 |
| III.3.Caractéristiques édaphiques..... | 34 |
| | |
| CHAPITRE IV EFFET DES STRESS ABIOTIQUES SUR LA GERMINATION DES GRAINES D' <i>Atriplex halimus</i> L..... | 37 |
| IV.1. Matériel et méthodes..... | 37 |
| IV.2. Résultats obtenus..... | 42 |
| IV.3.Discussion générale..... | 60 |
| | |
| CHAPITRE V EFFET DES STRESS ABIOTIQUES SUR LES PLANTULES d' <i>Atriplex halimus</i> L..... | 66 |
| V.1. Matériel et méthodes..... | 66 |
| V.2. Résultats obtenus..... | 74 |
| V.3. Discussion générale..... | 114 |
| | |
| CONCLUSION GENERALE..... | 130 |
| REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES..... | 134 |
| ANNEXES..... | 157 |

LISTE DES FIGURES

CHAPITRE I

| | | |
|-------------|---|----|
| Figure 1.1. | Arbuste d' <i>Atriplex halimus</i> L..... | 6 |
| Figure 1.2. | Fleurs d' <i>Atriplex halimus</i> L..... | 7 |
| Figure 1.3. | Fruits d' <i>Atriplex halimus</i> L..... | 8 |
| Figure 1.4. | Distribution de l' <i>Atriplex halimus</i> L. en Algérie..... | 10 |
| Figure 1.5. | Caractéristiques édapho-climatiques d' <i>Atriplex halimus</i> L..... | 11 |

CHAPITRE II

| | | |
|-------------|--|----|
| Figure 2.1. | Réponse à la salinité..... | 17 |
| Figure 2.2. | Processus de formation des ROS..... | 19 |
| Figure 2.3. | Stratégies d'adaptation des plantes à la contrainte hydrique..... | 22 |
| Figure 2.4. | Structure chimique de solutés compatibles identifiés chez les halophytes..... | 24 |
| Figure 2.5. | Modèle proposé pour le métabolisme de la proline chez les plantes supérieures..... | 26 |
| Figure 2.6. | Voie de biosynthèse de la glycine bêtaïne chez les plantes supérieures. | 28 |

CHAPITRE III

| | | |
|-------------|---|----|
| Figure 3.1. | Sites de prélèvement des graines d' <i>Atriplex halimus</i> L. (Algérie)..... | 31 |
| Figure 3.2. | Diagramme ombrothermique de la région de Djelfa..... | 33 |
| Figure 3.3. | Diagramme ombrothermique de la région de Tamanrasset..... | 34 |

CHAPITRE IV

| | | |
|-------------|--|----|
| Figure 4.1. | Fruits d' <i>Atriplex halimus</i> L..... | 37 |
| Figure 4.2. | Cinétique de germination des graines d' <i>Atriplex halimus</i> L..... | 43 |
| Figure 4.3. | Jeunes plantules d' <i>Atriplex halimus</i> L. âgées de 7 jours..... | 43 |
| Figure 4.4. | Effet des solutions de NaCl sur le taux de germination..... | 45 |
| Figure 4.5. | Effet des solutions de PEG sur le taux de germination..... | 46 |
| Figure 4.6. | Cinétique de germination des graines soumises aux solutions de NaCl.. | 47 |
| Figure 4.7. | Cinétique de germination des graines soumises aux solutions de PEG... | 48 |
| Figure 4.8. | Effet des solutions de NaCl sur l'index de tolérance..... | 49 |
| Figure 4.9. | Effet des solutions de PEG sur l'index de tolérance..... | 50 |

| | | |
|--------------|---|----|
| Figure 4.10. | Plantules d' <i>Atriplex halimus</i> L. âgées de 7 jours soumises aux solutions de NaCl | 51 |
| Figure 4.11. | Effet des solutions de NaCl sur la longueur de la racicule..... | 51 |
| Figure 4.12. | Effet des solutions de PEG sur la longueur de la racicule..... | 52 |
| Figure 4.13. | Effet des solutions de NaCl sur le poids frais..... | 55 |
| Figure 4.14. | Effet des solutions de PEG sur le poids frais..... | 55 |
| Figure 4.15. | Effet des solutions de NaCl sur le poids sec..... | 56 |
| Figure 4.16. | Effet des solutions de PEG sur le poids sec..... | 57 |
| Figure 4.17. | Effet des solutions de NaCl sur la teneur en eau | 58 |
| Figure 4.18. | Effet des solutions de PEG sur la teneur en eau | 59 |

CHAPITRE V

| | | |
|--------------|--|----|
| Figure 5.1. | Présentation du système hydroponique..... | 67 |
| Figure 5.2. | Feuilles des plantules soumises à des solutions de NaCl..... | 75 |
| Figure 5.3. | Effet des solutions de NaCl sur la surface foliaire..... | 75 |
| Figure 5.4. | Feuilles des plantules soumises à des solutions de PEG..... | 76 |
| Figure 5.5. | Effet des solutions de PEG sur la surface foliaire..... | 76 |
| Figure 5.6. | Effet des solutions de NaCl sur le nombre de feuilles..... | 77 |
| Figure 5.7. | Effet des solutions de PEG sur le nombre de feuilles..... | 78 |
| Figure 5.8. | Effet des solutions de NaCl sur la teneur en eau..... | 84 |
| Figure 5.9. | Effet des solutions de PEG sur la teneur en eau..... | 85 |
| Figure 5.10. | Effet des solutions de NaCl sur la teneur en chlorophylle « a » et « b ».. | 86 |
| Figure 5.11. | Effet des solutions de NaCl sur la teneur en chlorophylle « a+b »..... | 86 |
| Figure 5.12. | Effet des solutions de PEG sur la teneur en chlorophylle « a » et « b »... | 87 |
| Figure 5.13. | Effet des solutions de PEG sur la teneur en chlorophylle « a+b »..... | 88 |
| Figure 5.14. | Effet des solutions de NaCl sur la teneur en caroténoïdes..... | 89 |
| Figure 5.15. | Effet des solutions de PEG sur la teneur en caroténoïdes..... | 90 |
| Figure 5.16. | Effet des solutions de NaCl sur la teneur en sodium..... | 91 |
| Figure 5.17. | Effet des solutions de PEG sur la teneur en sodium..... | 92 |
| Figure 5.18. | Effet des solutions de NaCl sur la teneur en potassium..... | 93 |
| Figure 5.19. | Effet des solutions de PEG sur la teneur en potassium..... | 94 |

| | | |
|--------------|---|-----|
| Figure 5.20. | Effet des solutions de NaCl sur la teneur en sucres solubles..... | 95 |
| Figure 5.21. | Effet des solutions de PEG sur la teneur en sucres solubles..... | 96 |
| Figure 5.22. | Effet des solutions de NaCl sur la teneur en proline..... | 97 |
| Figure 5.23. | Effet des solutions de PEG sur la teneur en proline..... | 98 |
| Figure 5.24. | Effet des solutions de NaCl sur la teneur en glycine bêtaïne..... | 99 |
| Figure 5.25. | Effet des solutions de PEG sur la teneur en glycine bêtaïne..... | 100 |
| Figure 5.26. | Effet des solutions de NaCl et PEG sur l'expression relative du gène P5CS..... | 102 |
| Figure 5.27. | Effet des solutions de NaCl sur l'expression du gène P5CR..... | 103 |
| Figure 5.28. | Effet des solutions de PEG sur l'expression du gène P5CR..... | 104 |
| Figure 5.29. | Effet des solutions de NaCl sur l'expression du gène CMO..... | 105 |
| Figure 5.30. | Effet des solutions de PEG sur l'expression du gène CMO..... | 106 |
| Figure 5.31. | Effet des solutions de NaCl sur l'expression du gène BADH..... | 107 |
| Figure 5.32. | Effet des solutions de PEG sur l'expression du gène BADH..... | 107 |
| Figure 5.33. | Effet des solutions de NaCl sur l'expression du gène ProT..... | 108 |
| Figure 5.34. | Effet des solutions de PEG sur l'expression du gène ProT..... | 109 |
| Figure 5.35. | Matrice de corrélation entre l'expression des gènes P5CS et P5CR et la teneur en proline chez les plantules soumises au stress salin..... | 109 |
| Figure 5.36. | Matrice de corrélation entre l'expression des gènes P5CS et P5CR et la teneur en proline chez les plantules soumises au stress hydrique..... | 110 |
| Figure 5.37. | Matrice de corrélation entre l'expression des gènes CMO et BADH et la teneur en glycine bêtaïne chez les plantules soumises au stress salin..... | 111 |
| Figure 5.38. | Matrice de corrélation entre l'expression des gènes CMO et BADH et la teneur en glycine bêtaïne chez les plantules soumises au stress hydrique..... | 111 |

Figure 5.39. Matrice de corrélation entre l'expression du gène ProT et la teneur en proline et en glycine bétaine chez les plantules soumises au stress salin..... 112

Figure 5.40. Matrice de corrélation entre l'expression du gène ProT et la teneur en proline et en glycine bétaine chez les plantules soumises au stress hydrique..... 113

LISTE DES TABLEAUX

CHAPITRE I

| | | |
|--------------|--|---|
| Tableau 1.1. | Espèces d' <i>Atriplex</i> en Afrique du nord..... | 5 |
|--------------|--|---|

CHAPITRE III

| | | |
|--------------|--|----|
| Tableau 3.1. | Caractéristiques des régions d'étude..... | 32 |
| Tableau 3.2. | Caractéristiques physico-chimiques des sols des régions d'étude..... | 36 |

CHAPITRE IV

| | | |
|--------------|--|----|
| Tableau 4.1. | Effet de la provenance des graines d' <i>Atriplex halimus</i> L..... | 42 |
| Tableau 4.2. | Effet des solutions de NaCl sur la vigueur des jeunes plantules..... | 53 |
| Tableau 4.3. | Effet des solutions de PEG sur la vigueur des jeunes plantules..... | 54 |

CHAPITRE V

| | | |
|--------------|--|-----|
| Tableau 5.1. | Composition de la solution nutritive modifiée..... | 66 |
| Tableau 5.2. | Effet de la provenance sur les plantules d' <i>Atriplex halimus</i> L..... | 74 |
| Tableau 5.3. | Effet des solutions de NaCl sur la hauteur des plantules..... | 78 |
| Tableau 5.4. | Effet des solutions de PEG sur la hauteur des plantules..... | 79 |
| Tableau 5.5. | Effet des solutions de NaCl sur le poids frais des plantules..... | 80 |
| Tableau 5.6. | Effet des solutions de PEG sur le poids frais des plantules..... | 80 |
| Tableau 5.7. | Effet des solutions de NaCl sur le poids sec des plantules..... | 82 |
| Tableau 5.8. | Effet des solutions de PEG sur le poids sec des plantules..... | 83 |
| Tableau 5.9. | Amorces et conditions d'amplifications utilisées pour l'analyse de l'expression des gènes par RT-PCR semi-quantitative chez <i>Atriplex halimus</i> L..... | 100 |

LISTE DES ABREVIATIONS

| | |
|-------------------------|---|
| ABA : | Acide abscissique |
| ADN c : | Acide désoxyribonucléique complémentaire |
| ANOVA : | Analyse de la variance |
| APX : | Ascorbate peroxydase |
| ATPase : | Adénosine tri phosphatase |
| BADH : | Bétaine aldéhyde déshydrogénase |
| BET : | Bromure d'éthidium |
| CaCl₂ | Chlorure de calcium |
| CE : | Conductivité électrique |
| CMO : | Choline mono oxygénase |
| CAT : | Catalase |
| DEPC : | Diéthyl dicarbonate |
| DHA : | Déhydroascorbate |
| DNase : | Désoxyribonucléase |
| dS/m : | Déci siemens/mètre |
| GSH : | Glutathion réduit |
| GSSG : | Glutathion réductase |
| HCDS : | Haut-commissariat au développement de la steppe |
| LEA : | Late embryogenesis abundant |
| MF : | Masse fraîche |
| MDA : | Monodéhydro-ascorbate |
| mM: | Millimole |
| MPa : | Méga Pascal |
| MS : | Masse sèche |
| NaCl : | Chlorure de sodium |
| NADP: | Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate |
| NADPH : | Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (réduite) |
| P5C : | Pyrroline-5-carboxylate |
| P5CDH : | Pyrroline-5-carboxylate déshydrogénase |
| P5CR : | Pyrroline-5-carboxylate réductase |
| P5CS : | Pyrroline-5-carboxylate synthase |
| PCR | Polymerase chain reaction |
| PDH : | Proline déshydrogénase |
| PEG : | Polyéthylène glycol |
| ProT : | Transporteur de proline |
| PSI/PSII | Photosystème I / Photosystème II |
| ROS : | Reactive oxygen species |
| SOD : | Superoxyde dimutase |
| µM : | Micromole |
| TAE : | Tris, Acétate, EDTA |

INTRODUCTION

La terre est aujourd'hui peuplée de plus de 7 milliards d'habitants, on estime que la population mondiale atteindra les 9 milliards d'ici 2050. Répondre aux besoins alimentaires de l'ensemble de la population est un vrai défi pour l'agriculture actuelle qui fait face aux changements climatiques depuis maintenant plusieurs années [1].

Les dérèglements climatiques peuvent se traduire par une diminution de la disponibilité en eau qui, au fil du temps, conduit à une accumulation accrue de sels dans le sol. Le phénomène de salinisation prend de plus en plus d'ampleur, la superficie totale des terres salées a augmenté de plus de 100 millions d'hectares durant les trois décennies (1986/ 2016) [2]. Les terres arables d'environ 20% sont aussi touchées par la salinité, avec le temps ces régions laissent place à des zones de plus en plus arides et salines qui limitent la productivité des cultures [1].

Les zones arides et semi-arides occupent plus d'un tiers de la surface terrestre soit 6,1 milliards d'hectares. Le Proche Orient avec l'Afrique du Nord constitue l'une des zones les plus arides du monde [3] [4]. Les climatologues soulignent que les pays du pourtour méditerranéen seraient parmi les régions les plus impactées par les changements climatiques [5] [6].

L'Algérie connaîtra d'ici 2030 un climat de plus en plus variable caractérisé par une alternance de séquences sèches et pluvieuses, une augmentation de la température et une diminution des précipitations qui, associées à une importante évaporation favorisent l'accumulation des sels dans le sol. Ces variations seront modérées au niveau des régions côtières mais plus intenses dans les régions continentales conduisant à un glissement des étages bioclimatiques vers l'aridité [6] [7].

Face à toutes ces menaces, il est important d'agir de toute urgence afin de réduire les impacts du changement climatique. Graziano da Silva précise que la revalorisation des cultures sous-utilisées est d'une grande importance pour que nos sociétés puissent relever les défis agricoles et alimentaires des populations dans les prochaines décennies [8].

Les halophytes sont une catégorie de plantes souvent négligées et sous-utilisées, elles sont dispersées dans plus de 50 familles, le plus grand nombre se trouve parmi les amarantacées avec 2122 espèces [9] [10]. Les plantes halophytes ont de nombreux intérêts agricoles et écologiques, elles peuvent être cultivées pour l'alimentation humaine et animale, comme source de carburant ou encore comme plante médicinale, elles sont par conséquent un moyen efficace d'améliorer la sécurité alimentaire à l'ère du changement climatique [11].

Face aux contraintes de l'environnement, ces plantes résistantes présentent un large éventail d'adaptation morphologique, physiologique, biochimique et moléculaire qui leurs permettent de croître et de compléter leur cycle de vie dans des conditions rudes [12] [13]. Comprendre les mécanismes de tolérance aux stress hydrique et salin de telles plantes est une étape importante qui permet de transférer par des techniques de transgénèse par exemple, les caractères génétiques des halophytes à des espèces végétales cultivées en vue de l'amélioration et du développement de cultivars tolérants [11] [14].

Depuis 1994, de nombreuses activités mises en place par le Haut Commissariat au Développement de la Steppe (HCDS) en Algérie font appel aux deux espèces fourragères *Atriplex nummularia* et *Atriplex canescens* respectivement introduite d'Australie et des Etats-Unis, pour la restauration des terres dégradées et touchées par la salinité et la désertification. Cependant, la plantation d'*A. canescens* dans les steppes arides d'Algérie a conduit à l'invasion d'une plante parasite l'orobanche : *Orobanche cernua* Loef. introduite avec cette espèce [15] [16] [17].

Dans ce contexte s'inscrit la présente recherche où nous nous sommes intéressés à une halophyte autochtone *Atriplex halimus* L. L'espèce est spontanée dans les étages bioclimatiques arides et semi-arides. Les formations végétales de cette espèce couvrent de grandes surfaces en Algérie allant du littoral jusqu'au Sahara [17] [18] [19].

De nombreux travaux ont contribué à l'étude des mécanismes de tolérance aux contraintes environnementales mis en jeu par *Atriplex halimus* L., et ce à plusieurs stades de développement de la plante. En Algérie, l'ensemble des analyses ont été réalisées sur des graines provenant de la région de Tébessa, Oran, Laghouat et

dans la plupart des cas de la région de Djelfa. Plusieurs auteurs ont évalué l'impact de la salinité sur la croissance des plantules d'*Atriplex halimus* L. en utilisant des sels de nature différentes (NaCl, CaCl₂) et à des concentrations très élevées allant jusqu'à 800 mM. La contrainte hydrique a été induite par une absence d'irrigation au cours d'une durée déterminée ou par le biais de solutions de polyéthylène glycol (un agent osmotique). Plusieurs mécanismes d'adaptation ont été identifiés tels que l'implication d'osmolytes ou de systèmes antioxydants. Les chercheurs ont souligné l'accumulation de la proline et de la glycine bêtaïne chez les plantes soumises à un stress hydrique et salin [20] [21] [22] [23] [24]. Dans la littérature consultée, aucune donnée n'est rapportée sur l'impact de ces contraintes sur l'expression des gènes intervenant sur le métabolisme de ces deux molécules chez cette espèce en Algérie.

L'objectif de cette étude est d'évaluer le comportement de deux écotypes d'*Atriplex halimus* soumis aux stress hydrique et salin. Notre expérimentation s'est déroulée au niveau du laboratoire de physiologie et le laboratoire de recherche en biotechnologie des productions végétales au sein du département de biotechnologie et agroécologie de l'université Blida 1. Des travaux complémentaires ont été effectués au sein du groupe de recherche en physiologie végétale de l'université catholique de Louvain en Belgique. Le matériel végétal a été récolté au niveau de deux localités El Mesrane et le Hoggar dans les régions de Djelfa et de Tamanrasset, respectivement. Les stress salin et hydrique ont été induits par des solutions respectives de chlorure de sodium (NaCl) et de polyéthylène glycol (PEG 6000) au stade germination, sur des jeunes plantules âgées de 7 jours et à un stade plus avancée sur des plantules âgées de 3 mois.

Le présent travail s'articule autour de quatre principaux axes :

- Détermination des seuils de tolérance des graines des deux écotypes d'*Atriplex halimus* aux contraintes hydrique et saline.
- Suivi du comportement des jeunes plantules âgées de 7 jours soumises aux stress hydrique et salin.

- Evaluation des effets de la salinité et du manque d'eau sur les réponses morphologiques, physiologiques et biochimiques de plantules âgées de 3 mois.

- Une étude plus approfondie nous a conduit à une analyse de l'expression des gènes où nous avons quantifié le niveau d'expression des gènes entrant dans le métabolisme de deux molécules clés notamment la proline et la glycine bêtaïne dans la réponse de deux écotypes d'*Atriplex halimus* aux stress abiotiques étudiés (salin et hydrique).

CHAPITRE I

PRÉSENTATION DE L'ESPÈCE *Atriplex halimus* L.

1. Description du genre *Atriplex*

La famille des Amarantacées regroupe le plus grand nombre d'halophytes avec 2122 espèces réparties dans 174 genres. Le groupe *Atriplex* compte parmi les plus importants et renferme 305 espèces présentes dans les différentes régions arides et semi-arides du monde [10] [25].

Ce sont des arbres et arbustes annuels ou pérennes ayant des caractéristiques écologiques et physiologiques leur permettant de croître et de se reproduire dans des environnements rudes [26] [27] [28]. Ils constituent une source de fourrage en période de sécheresse, et peuvent être utilisés dans des programmes d'amélioration pastorale [29] [30] [31] [32]. Les espèces du genre *Atriplex* sont un moyen efficace pour la réhabilitation des sols dégradés, la lutte contre l'érosion, la salinité et la désertification des terres [30] [33] [34] [35] [36].

Le genre *Atriplex* est très répandu en Afrique du Nord avec 15 espèces spontanées, 2 espèces naturalisées et 3 introduites (Tableau 1.1) [37]. En Algérie, certaines espèces sont spontanées dont la plus répandue *Atriplex halimus*, d'autres ont été introduites tels que *Atriplex nummularia*, *Atriplex canariensis*, *Atriplex leucoclada*, *Atriplex polycarpa* et *Atriplex canescens* [38].

Tableau 1.1: Espèces d'*Atriplex* en Afrique du nord [37].

| Espèces spontanées | | Espèces naturalisées | | Espèces introduites |
|--------------------------|-------------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|
| Annuelles | Vivaces | Annuelles | Biannuelles | Vivaces |
| <i>A. chenopodioides</i> | <i>A. colorei</i> | <i>A. inflata</i> | <i>A. semibaccata</i> | <i>A. nummularia</i> |
| <i>A. dimorphostegia</i> | <i>A. coriacca</i> | - | - | <i>A. lentiformis</i> |
| <i>A. hastata</i> | <i>A. glauca</i> | - | - | <i>A. canescens</i> |
| <i>A. littoralis</i> | <i>A. halimus</i> | - | - | - |
| <i>A. patula</i> | <i>A. malvana</i> | - | - | - |
| <i>A. rosea</i> | <i>A. mollis</i> | - | - | - |
| <i>A. tatarica</i> | <i>A. portulacoides</i> | - | - | - |
| <i>A. tornabeni</i> | - | - | - | - |

2. Description de l'espèce

L'*Atriplex halimus* L. est une espèce fourragère répandue sur toute la région méditerranéenne. C'est un arbuste vivace ramifié formant un buisson à partir de la base de 1 à 3 m de haut et de diamètre [39] [40] [41] (Figure 1.1A).

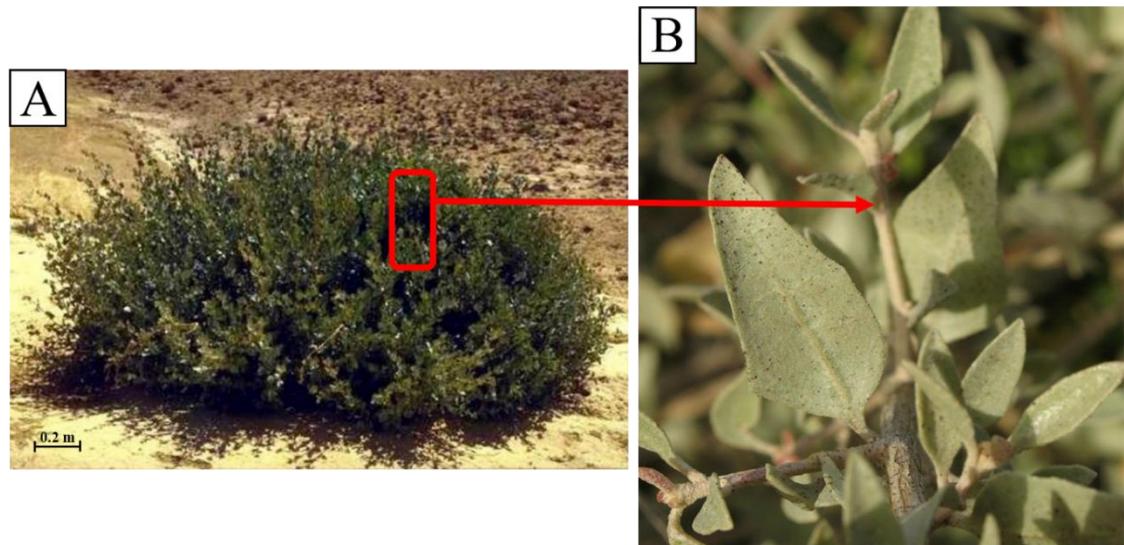


Figure 1.1: Arbuste d'*Atriplex halimus* L. [42] [43].

A : Touffe buissonnante

B : Rameau feuillé

2.1. Système racinaire

Le système racinaire d'*Atriplex halimus* L. est pivotant, il peut être 3 à 5 fois plus important que la tige atteignant jusqu'à 5 mètres de profondeur [39] [44]. L'espèce possède des racines très développées qui lui permettent d'atteindre des réserves profondes d'eau et de former un réseau dense susceptible d'agrèger le sol et de le rendre résistant à l'érosion, c'est un moyen de lutte efficace contre la désertification [45] [46].

2.2. Tige et feuilles

L'*Atriplex halimus* est une espèce très ramifiée avec une tige et des rameaux ligneux à écorce grise-blanchâtre [18] [41]. Les feuilles sont faiblement nervées, persistantes, de couleur gris argenté sur les deux faces avec une forme variable (d'ovale-rhomboidale à lancéolée) (Figure 1.1B). Elles sont munies d'un pétiole basal court et ont une longueur de 1 à 3 cm, sur 0,5 à 2 cm de large et 5 m² de surface [40] [41] [47].

2.3. Fleurs

Les plantes d'*Atriplex halimus* L. sont monoïques. Toutefois, certains individus peuvent être trimonoïques avec des fleurs unisexuées mâles ou femelles, il existe des plantes à fleurs bisexuées (fleurs mâles et femelles sur le même pied) [48].

L'inflorescence est une grappe composée de 20 à 50 cm de longueur, nue ou un peu feuillée à la base (Figure 1.2A) [41]. Les fleurs mâles sont petites, de couleur jaunâtres avec 5 tépales et 5 étamines (Figure 1.2B). Les fleurs femelles sont de couleur verdâtre, sans périanthe avec deux bractéoles opposées (Figure 1.2C) [41] [47]. La floraison s'étale de mai à décembre, selon la région [39].

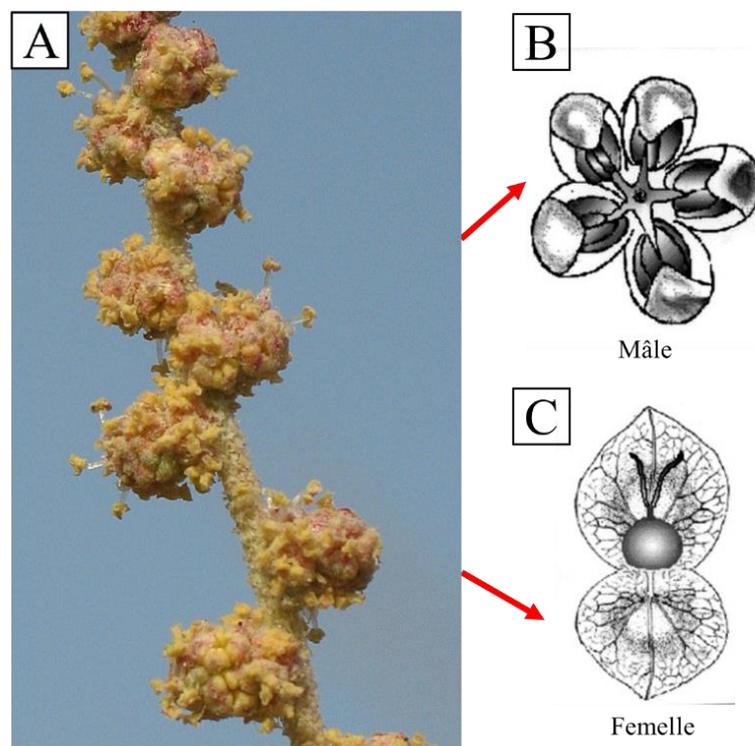


Figure 1.2: Fleurs d'*Atriplex halimus* L. [43] [48].

- A : Inflorescence
- B : Fleur mâle (x 30)
- C : Fleur femelle (x 8)

2.4. Fruits

Les fruits comprennent des valves blanchâtres, coriaces, libres, arrondies en forme de rein, plus larges que hautes. Elles sont entières, lisses et sans nervures (Figure 1.3 A et B). Les graines sont de couleur rousse de 1,5 à 2 mm (Figure 1.3

C) [41]. Elles sont enveloppées par un premier tégument fin de couleur brune et un deuxième tégument de couleur plus claire. La graine comprend un embryon unique et annulaire entourant l'albumen farineux [18].

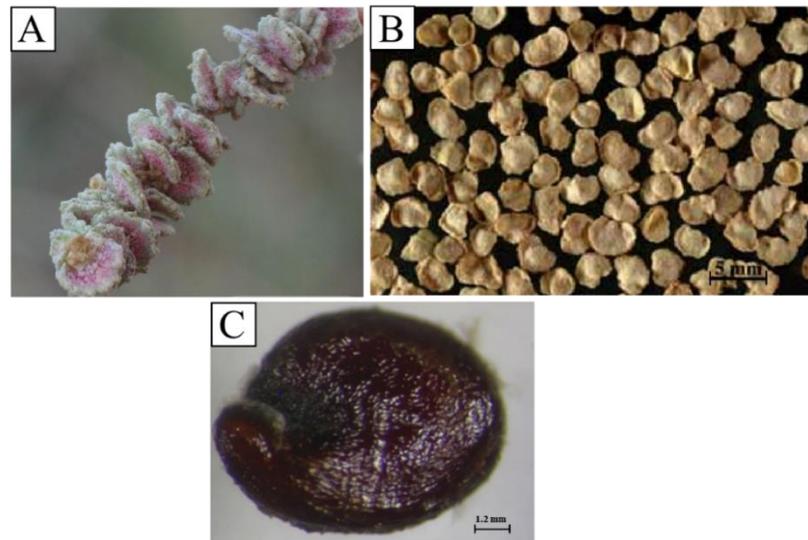


Figure 1.3 : Fruits d'*Atriplex halimus* L. [39] [43] [49].

A : Fruits immatures avec valves transparentes

B : Fruits matures avec valves lignifiées

C : Graine décortiquée

3. Position systématique

Le genre *Atriplex* appartient au règne végétal, embranchement des phanérogames, sous embranchement des Angiospermes de la famille des Amarantacées regroupant environ 2212 espèces dont *Atriplex halimus* L., plante indigène la plus connue du genre *Atriplex* [25].

La position systématique d'*Atriplex halimus* L. dans le règne végétal selon The Angiosperm Phylogeny Group [50] et Kadereit et *al.* [10]:

| | |
|--------------|----------------------------|
| Ordre | Caryophyllales |
| Famille | Amaranthaceae |
| Sous famille | Chenopodioideae |
| Tribu | Atripliceae |
| Genre | <i>Atriplex</i> |
| Espèce | <i>Atriplex halimus</i> L. |

4. Nomenclature

L'*Atriplex halimus* est une espèce ayant différents noms vernaculaires :

En Arabe : Guetaf, El gtaf [51] [52].

En Français : Pourpier de mer, arroche marine, épinard de mer [41].

En Anglais : Sea orach [53], Mediterranean saltbush [19] [54].

5. Distribution géographique

5.1. Dans le monde

L'*Atriplex halimus* est largement présente dans le monde, c'est l'espèce indigène la plus plantée dans les régions méditerranéennes. On la retrouve en Europe du sud (France, Italie, Espagne, Grèce), dans le Proche Orient (Syrie et Palestine occupée) et en Afrique du nord (Algérie, Maroc, Tunisie, Lybie, Egypte) [19] [44] [53] [55] [56]. L'utilisation de l'arbuste comme fourrage a permis d'élargir son aire de répartition et son introduction dans de nombreuses autres régions du monde, notamment en Afrique du sud, Chili, Argentine, Etats-Unis, Oman, Iran, Irak, Pakistan et Nouvelle-Zélande [41].

5.2. En Algérie

L'espèce *Atriplex halimus* L. est l'une des atriplex les plus répandue, elle est spontanée dans les étages bioclimatiques arides et semi-arides [17] [19]. Les formations végétales de cette espèce couvrent de grandes surfaces du Sahara jusqu'au littoral, elle a été recensée dans différentes régions d'Algérie (Figure 1.4) :

- Dans le nord-ouest notamment à Tlemcen, Ain Témouchent [40], Oran, Mostaganem, Relizane [57] et Chlef [58].
- Au niveau de la steppe algérienne : à l'Est à Naâma [59], El Bayedh [60], Saida [17] et Tiaret [61]. Au centre à Tissemsilt [58], Laghouat, Djelfa [21] et M'Sila [62]. A l'Ouest à Sétif [63], Mila [58], Batna [64] et Tébessa [65].
- Au Sahara, l'Atriplex a été recensé à Béchar [18, 66], Ouargla, Adrar [58] et Tamanrasset [67].

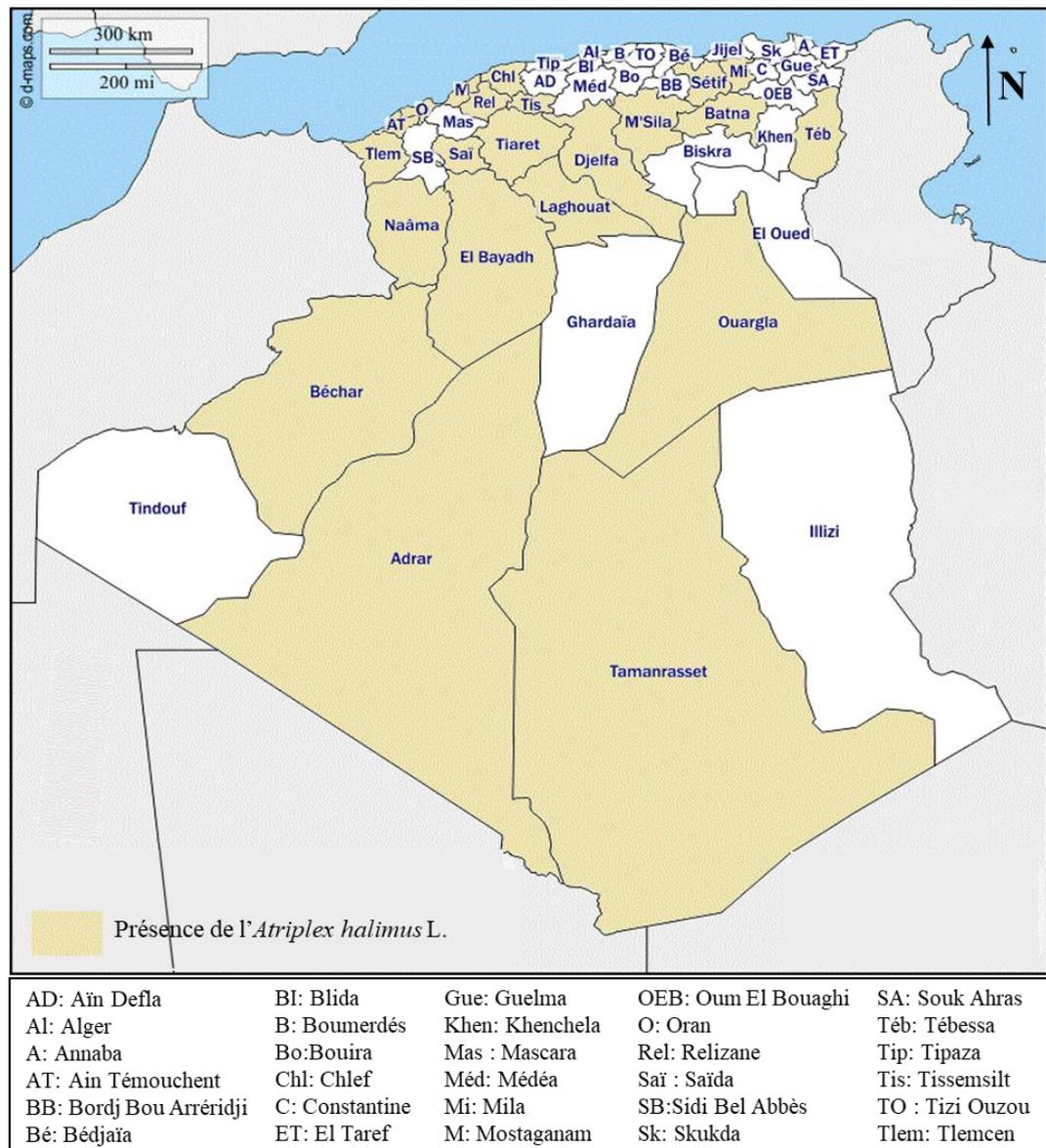


Figure 1.4 : Distribution de l'*Atriplex halimus* L. en Algérie.

6. Habitat

L'*Atriplex halimus* est une plante à C4 à comportement héliophile (Figure 1.5) [20]. Elle s'adapte aux conditions arides et semi-arides, elle se développe sous une pluviométrie de 100 à 400 mm/an et peut survivre plusieurs années sans pluies [68]. Elle peut se développer dans des sols pauvres en matières organiques, très salés et où la conductivité électrique atteint jusqu'à 100 dSm dans les horizons de surface [40] [69]. Elle présente une tolérance modérée au froid, jusqu'à -10 à -12 °C [39] [70], l'*A. halimus* est présente sur une gamme de sols variée, avec une préférence

pour les sols à pH neutre à basique (7-11) à texture sablo-limoneuse (Figure 1.5) [40] [41].

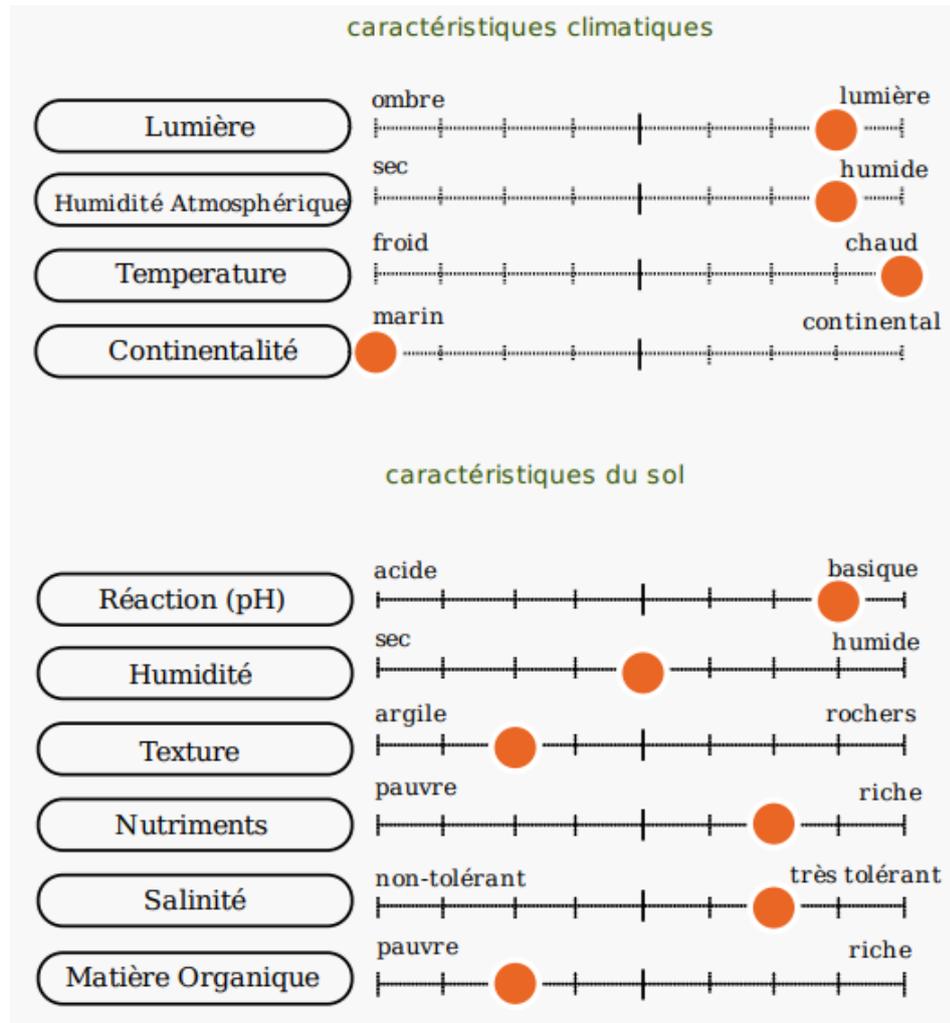


Figure 1.5: Caractéristiques édapho-climatiques d'*Atriplex halimus* L. [71].

7. Intérêts de l'*Atriplex halimus* L.

7.1. Intérêt médicinal

L'*Atriplex halimus* L. est connue pour ses nombreuses vertus médicinales. Rahman et *al.* [53] ont montré que la partie aérienne extraite avec du méthanol ou de l'hexane possède une activité antibactérienne contre de nombreux pathogènes. Les recherches de Chikhi et *al.* [66] ont fournis des informations sur l'activité antidiabétique où les résultats montrent que l'extrait aqueux des feuilles réduit le niveau de glucose sanguin et le niveau hépatique chez les rats où le diabète a été induit avec de la streptozotocine. L'effet antidiabétique des feuilles est connu depuis longtemps par les populations locales du nord-ouest et sud-ouest algérien, les

décoctions de feuilles sont employées dans le traitement du diabète sucré [52]. Dans la région de Djelfa, la plante est traditionnellement utilisée pour traiter le kyste hydatique [72]. A El Bayadh et M'sila, les tiges feuillées servent en cataplasme contre les blessures, l'eczéma et en décoction comme tisane contre les vers intestinaux, l'arythmie, le froid et rhume [60] [62].

7.2. Intérêt fourrager

Les organes de l'*A. halimus* sont utilisés pour l'alimentation du bétail notamment les moutons et les chèvres au sud et à l'est du bassin méditerranéen (Maroc, Espagne, Algérie, Tunisie, Libye, Égypte, Palestine occupée, Liban), il constitue un fourrage très appétant idéal en période de disette [41] [69]. Plusieurs travaux montrent qu'*A. halimus* peut couvrir les éléments nutritifs essentiels pour le cheptel, elle présente une quantité importante de fibres (352g/kg de MS) et peut être utilisée comme supplément dans l'alimentation des chèvres et améliorer aussi le ratio fourrage/concentré [73]. Les arbustes sont riches en protéines et en cendres (12,6% MS et 22,7% MS respectivement), La digestibilité moyenne de la matière sèche peut atteindre 56% [74] [75]. L'espèce seule ou en association avec *Opuntia* constitue un excellent fourrage et ajoute une valeur aux produits de bétails à travers une alimentation locale adaptée [73] [74] [76].

7.3. Intérêt écologique

Les arbustes d'*Atriplex halimus* sont capables de se développer dans des environnements extrêmes caractérisés par une aridité importante dans des sols très pauvres et salins [17] [39] [74]. Dans ces milieux, la présence de cette espèce stimule la microflore du sol et contribue de ce fait à une meilleure fertilité [77] [78] [79]. Son système racinaire profond lui permet également d'augmenter la quantité de carbone organique et de la biomasse microbienne à des profondeurs de sol allant jusqu'à 50 cm et d'utiliser les réserves profondes d'eau et où les pluies sont éphémères et fluctuantes [74] [80].

Les plantations d'arbustes sont utilisées pour la conservation et la restauration des sols, ils assurent ainsi, une meilleure stabilité physique du sol et un couvert permanent qui permet de réduire le ruissellement, lutter contre l'érosion éolienne et la désertification des sols [17] [24] [41] [69] [73] [74]. Plusieurs chercheurs rapportent que l'*Atriplex halimus* peut être recommandée pour des programmes de

phytoremédiation dans les sols agricoles contaminés avec des niveaux élevés très dangereux et mortel en métaux lourds notamment d'arsenic (As) [39] [81]. L'arbuste peut jouer un rôle important dans la restauration des parcours arides et dégradés, il aide à maîtriser le ruissellement de surface et crée de meilleures conditions de croissance pour la végétation [73] [82].

CHAPITRE II

STRESS ABIOTIQUES

1. Généralités sur les stress

Dans leur milieu naturel, les plantes sont sujettes à de nombreux stress environnementaux qui réduisent de manière drastique la productivité et le rendement agricole. Le stress est un état de déséquilibre physiologique causé par un ou plusieurs facteurs externes qui peuvent avoir un effet défavorable sur les végétaux [83]. Deux types de stress peuvent être élucidés :

- Un stress biotique, résultant de l'action de divers agents pathogènes tel que les champignons, les bactéries, les nématodes et les herbivores [83].
- Un stress abiotique défini comme toute condition environnementale pouvant réduire la croissance et le développement des plantes. Ces derniers comprennent la sécheresse, les températures extrêmes, la salinité, La présence des métaux lourds, métalloïdes, la lumière, carence ou excès d'éléments nutritifs, les vents violents, les inondations et d'autres catastrophes naturelles comme les tornades et les incendies de forêt [84].

La réponse des plantes aux stress est fonction de l'intensité et de la durée de la contrainte, Lorsque ces dernières sont soumises à un stress faible à modéré durant une courte période, la blessure causée peut être temporaire. En revanche, si le stress est sévère, des dommages sur la floraison et développement des graines sont vite décelés entraînant une sénescence qui entraînera la mort de la plante [83].

1.1. Contrainte saline

La salinisation se définit comme étant un processus au cours duquel les sels s'accumulent dans le sol ou sur la surface en quantité trop élevée [85] [86], elle est appelée primaire lorsqu'elle est causée par des processus naturels tels que l'altération physique et chimique du sol, l'évapotranspiration, la sécheresse et le manque de précipitations. Elle est dite secondaire lorsqu'elle résulte d'un processus anthropique, elle est principalement associée à un mauvais drainage ou à une mauvaise pratique d'irrigation tels que l'utilisation d'eaux salées [3] [87].

Un sol est classé comme étant salin lorsque la conductivité électrique de l'extrait de pâte saturée est supérieure ou égale à 4 dS/m (équivalent à 40 mmol/L) générant un potentiel osmotique d'environ -20 Méga Pascal [88]. Dans le monde, 34 millions d'hectare des sols sont affectés par un certain niveau de salinité dont 60 % du total de ces terres comprend le Pakistan, la Chine, les Etats-Unis et l'Inde [85].

Des concentrations accrues en sels dans le sol provoquent une dégradation de la structure accompagnée d'une réduction importante de la fertilité qui le rend impropre à la croissance des plantes [3] [86] [87] [89]. La salinité réduit considérablement le rendement des cultures avec des pertes économiques annuelles estimées à près d'un milliard de dollar américain. Dans certains pays, l'estimation des dommages causés à la productivité du sol est d'environ 30 à 35 % de la productivité potentielle [3].

1.2. Contrainte hydrique

Le stress hydrique est un terme qui peut être associé à une diminution de la disponibilité en eau, à la sécheresse, à un stress osmotique dû aux fortes concentrations en sels ou encore à l'excès d'eau [83].

Le stress hydrique provoqué par un déficit en eau est plus fréquent dans les régions arides et semi-arides. Dans ces zones, les conditions climatiques extrêmes avec des faibles précipitations et des températures élevées entraînent une importante perte d'eau dans le sol par évaporation, réduisant de ce fait la disponibilité de l'eau. Chez les plantes, le déficit hydrique du sol mène à une forte diminution du contenu en eau des tissus entraînant une réponse drastique modifiant de ce fait leur métabolisme [90] [91].

La réponse de la plante à cette contrainte peut être étudiée in situ ou en conditions contrôlées, en limitant la disponibilité de l'eau par réduction des apports ou en utilisant des osmoticum tel que le polyéthylène glycol, le mannitol ou le mélibiose [90].

2. Effet des contraintes saline et hydrique

Ces contraintes génèrent de nombreux effets contraignants pour la plante qui se manifestent par des changements au niveau morphologique, physiologique et moléculaire. L'impact de la sécheresse et des teneurs élevées en sels dépend de

l'intensité du stress, de sa durée mais aussi du stade phénologique et de développement de la plante [91].

2.1. Effet sur la germination

La germination est un stade crucial dans le cycle de vie des plantes. Le bon déroulement de cette étape dépend de facteurs internes tels que l'âge ou l'état de la graine et de facteurs externes liés aux conditions environnementales tels que la disponibilité en eau et la présence de sels dans le sol. Ceci est particulièrement important dans les environnements aride et semi-arides où les régimes pluviométriques irréguliers sont prédominants [13].

Les chercheurs soulignent que la germination des graines représente le stade le plus sensible à la salinité et au manque d'eau chez la plupart des plantes [92] [93] [94] [95]. Ces effets se manifestent généralement par un ralentissement de la vitesse de germination, une diminution de la faculté germinative des graines qui entraîne dans certains cas une inhibition totale de celle-ci [46] [96] [97]. Khan et Gul [98] soulignent que les fortes teneurs en sels inhibent la germination des graines par la perte de leur viabilité ou par le bouleversement de l'équilibre des régulateurs de croissance de l'embryon empêchant le démarrage réussi du processus de germination.

Plusieurs auteurs ont également montré que les sels peuvent affecter la germination des graines de deux manières, en créant un potentiel osmotique externe à la graine très faible empêchant l'absorption et l'approvisionnement en eau, ou par les effets toxiques d'ions Na^+ et Cl^- qui causent des lésions spécifiques au processus métabolique de la graine [92] [99] [100]. Notons que chez *Atriplex halimus* L., l'inhibition de la germination sous contrainte saline est principalement due à un effet osmotique et non pas à une toxicité ionique spécifique du NaCl [101].

2.2. Effet sur la croissance de la plante

La contrainte saline a un effet sur la croissance des plantes et dépend de plusieurs facteurs notamment le niveau de sel dans le sol, la durée d'exposition au stress et le type d'espèce (sensible ou tolérante). En prenant compte de ces critères, l'effet du sel sur la croissance de la plante peut être divisé en deux phases (Figure 2.1):

- Phase 1 : caractérisée par une courte exposition à un stress faible à modéré [102] [103]. Cette phase débute immédiatement après que la concentration en sels présente autour des racines augmentent à un seuil qui rend l'absorption de l'eau difficile. Ce phénomène d'osmose conduit à un déséquilibre ionique induisant un stress osmotique [102] [103]. Qu'elles soient sensibles ou tolérantes, la croissance des plantes diminue fortement. Cette diminution se traduit par une inhibition de l'expansion et de la division cellulaire, une fermeture immédiate des stomates perturbant le flux d'ions vers la tige et une réduction importante de la croissance des racines et des tiges. La croissance des parties aériennes est plus sensible au stress osmotique comparé à celle des racines, ceci est probablement due au fait que la plante diminue la surface de ses feuilles afin de limiter l'utilisation de l'eau par la plante, lui permettant ainsi de conserver l'humidité du sol et de prévenir l'accumulation des sels dans le sol [102] [103] [104] [105].
- Phase 2 : correspond à un stress ionique induit à long terme par une accumulation importante des ions, en particulier Na^+ , cette dernière est plus importante dans les feuilles comparées aux racines [104]. Ce phénomène conduit à une sénescence prématurée des feuilles adultes qui n'arrivent plus à diluer les ions. Si le nombre de feuilles desséchées est supérieur à celui des jeunes feuilles, une réduction de la surface photosynthétique et des besoins en carbohydrates se produit impactant de ce fait la croissance des jeunes feuilles [102] [103] [106] [107] [108].

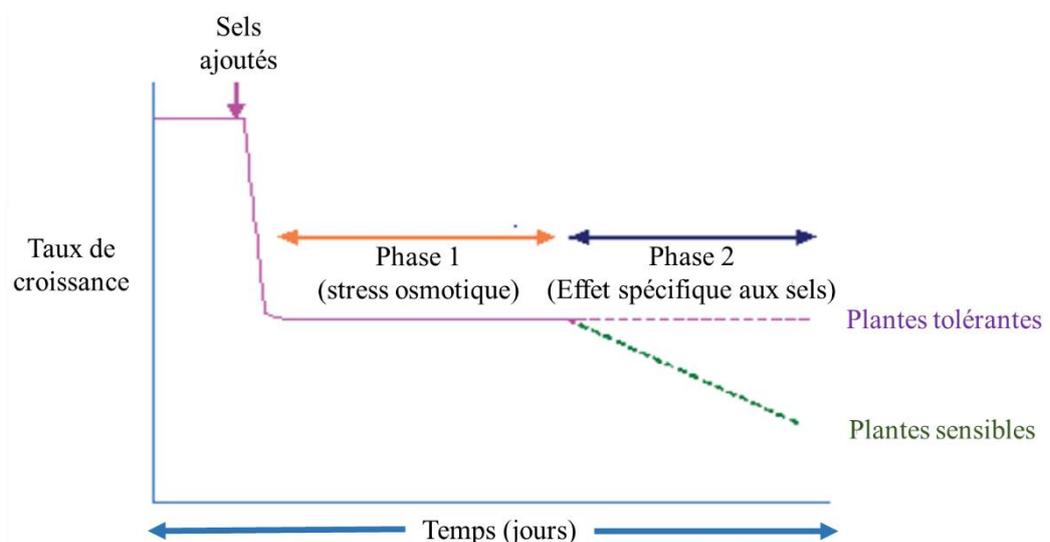


Figure 2.1 : Réponse à la salinité [109].

Le stress hydrique due à la sécheresse est un facteur limitant pour la croissance et l'établissement des cultures tout comme la salinité. L'effet des deux contraintes (saline et hydrique) sur la morphologie de la plante est très similaire.

La réponse végétale la plus évidente à un stress hydrique est une diminution de la biomasse totale, la partie aérienne est plus affectée que la partie racinaire [110] [111]. La réduction de l'expansion cellulaire est due à la faible pression de turgescence qui entraîne une diminution de la surface foliaire et du nombre de feuilles par plante [111] [112] [113]. L'effet de la contrainte hydrique sur la croissance des plantes se traduit également par une diminution de la hauteur et plus particulièrement la longueur de la tige [112] [114] [115]. Chez les espèces du genre citrus par exemple, le stress hydrique conduit à une diminution de plus de 25% de la longueur des jeunes plantules [116].

2.3. Effet sur la physiologie de la plante

Face à un stress abiotique sévère et de longue durée, l'une des premières réactions de la plante est la fermeture des stomates. Ce phénomène entraîne une réduction de la pénétration du CO₂ qui provoque une importante perturbation de l'activité photosynthétique, celle-ci se traduit par une diminution des teneurs en pigments chlorophylliens notamment les chlorophylles « a », « b » et les caroténoïdes, une réduction de la conductance stomatique et un ralentissement des activités enzymatiques du cycle de Calvin [111] [117] [118] [119] [120] [121] [122].

Le manque d'eau et les fortes concentrations de Na⁺ affectent la plante en perturbant la synthèse des protéines, les activités enzymatiques et les métabolismes énergétiques et lipidiques [102] [103] [104] [106] [107] [108] [123].

Les contraintes des stress entraînent également une destruction de certains organites cellulaires, une altération de la composition lipidique et protéique de la membrane plasmique et membrane thylakoidienne ainsi que la fonction et régulation d'importantes protéines membranaires tel que les canaux d'eau et les molécules de signal [124] [125] [126] [127].

L'abondance des ions Na⁺ et Cl⁻ provoque aussi un antagonisme ionique se traduisant par une difficulté de la plante à absorber d'autres minéraux tels que le potassium, le calcium et le manganèse [107].

L'exposition des plantes aux contraintes abiotiques conduit très souvent à la production de formes réactives de l'oxygène (ROS) [128]. Le stress oxydatif causé par les ROS peut altérer de nombreuses fonctions cellulaires entraînant une peroxydation des lipides, une dégradation des protéines, l'inactivation d'enzymes et l'altération des acides nucléiques [129].

2.4. Stress oxydatif

Le stress oxydatif se définit chez les plantes comme étant un déséquilibre entre la production des espèces réactives de l'oxygène (ROS) et la quantité d'antioxydants disponibles pour les éliminer. Les centres de réaction des photosystèmes I (PSI) et II (PSII) dans les thylakoïdes des chloroplastes constituent un site majeur pour la production des ROS [130] [131].

Ces dernières sont des formes réduites ou partiellement excitées de l'oxygène atmosphérique O_2 , elles sont générées dans toutes les cellules vivantes par deux mécanismes (Figure 2.2) [130] :

- La réduction monovalente progressive de l' O_2 qui entraîne la formation d'anion superoxyde ($O_2^{\bullet -}$), de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et de radical hydroxyle ($\bullet OH$.)
- L'excitation énergétique de l'oxygène qui conduit à sa conversion en oxygène singulet (1O_2)

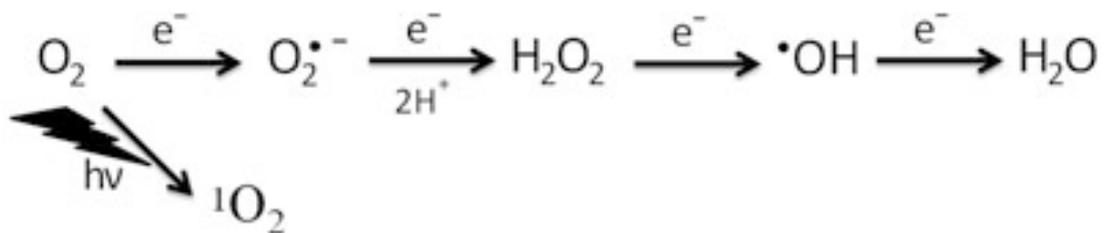


Figure 2.2: Processus de formation des ROS [132].

Sous conditions de croissance optimale, les ROS sont présentes à de faibles concentrations et ont un rôle essentiel dans la régulation de processus physiologiques notamment la prolifération et la différenciation cellulaires, la signalisation du stress, l'interactions avec d'autres organismes, les réponses systémiques et la mort cellulaire programmée [133] [134] [135] [136] [137]. En revanche, sous contraintes de stress notamment hydrique et saline entraînent une production importante de ROS qui cause de nombreux dommages au niveau

des structures cellulaires en réagissant avec les lipides membranaires, les protéines et les acides nucléiques [130] [132].

3. Stratégies d'adaptation des plantes aux contraintes saline et hydrique

Sous stress abiotiques, les plantes développent différents mécanismes de tolérance leur permettant d'augmenter leur taux de survie. Certaines adaptations sont propres à la contrainte saline tels que l'exclusion et la sécrétion des ions, la succulence et la compartimentation vacuolaire. D'autres stratégies sont mises en place par les plantes pour lutter contre les effets délétères de la contrainte hydrique notamment l'esquive et l'évitement. Enfin, certains mécanismes sont communs aux deux contraintes abiotiques incluant l'ajustement osmotique et les stratégies de lutte contre le stress oxydatif.

3.1. Stratégies d'adaptation des plantes à la contrainte saline

En fonction de leur capacité à croître et à se développer en milieu très salin, les plantes peuvent être classées en deux catégories : glycophytes et halophytes.

Les glycophytes sont des plantes sensibles à la contrainte saline, elles sont peu affectées par des concentrations létales mais ne peuvent pas tolérer de fortes doses de sel. Les halophytes se distinguent quant à elles, par leur aptitude à compléter leur cycle de vie dans un substrat riche en sels qui se révèle normalement toxique pour d'autres espèces [88] [103].

En réponse au stress salin, plusieurs mécanismes adaptatifs ont été reportés chez les halophytes, notamment l'exclusion des ions, la compartimentation vacuolaire, l'excrétion, la dilution et l'ajustement osmotique [88] [102] [138] [139].

3.1.1 Exclusion des ions

Sous contrainte saline, les halophytes ont la capacité de diminuer le stress ionique induit par les fortes teneurs en sels en réduisant la concentration d'ions nocifs présents dans la solution du xylème, afin d'empêcher leur remontée jusqu'au feuilles [102] [138] [139]. Ce phénomène est généralement retrouvé chez plusieurs espèces tolérantes aux sels. Bennet et *al.* [140] soulignent que les halophytes sont capables d'exclusion des ions Na^+ et Cl^- à des concentrations très élevées.

L'exclusion du Na^+ du xylème se fait grâce à des adaptations anatomiques qui réduisent les mouvements apoplastiques de la solution de l'extérieur des racines

vers le xylème, elles maintiennent un faible rapport Na^+/K^+ permettant de protéger la membrane cellulaire et de faciliter la synthèse des protéines et autres réactions métaboliques [138] [139].

3.1.2. Sécrétion des ions

La sécrétion est une forme adaptative très utilisée par les espèces du genre *Atriplex* et *Tamarix*. Au niveau des feuilles, ces plantes développent des organes spécialisés appelés glandes salines où de grandes quantités de sels peuvent être accumulées, ces sels sont ensuite cristallisés et deviennent non nocifs pour la plante [88] [139].

3.1.3. Succulence

Chez les plantes dite succulentes, le sel présent dans les cellules est dilué par une absorption importante d'eau ou par une croissance rapide des tissus. La dilution permet aux plantes de minimiser l'effet toxique d'une accumulation excessive d'ions. Ces plantes ont des feuilles et des tiges épaisses, principalement liées à une augmentation de la taille de leur mésophile avec des espaces intracellulaires plus petits. Elles sont caractérisées par un rapport volume/superficie élevé et une croissance rapide [88] [139].

3.1.4. Compartimentation vacuolaire

La compartimentation des ions est un arrangement spatial des ions toxiques utilisée par les plantes comme mécanisme de tolérance aux sels [13] [141] [142]. Les ions Na^+ et Cl^- sont généralement stockés dans la vacuole et/ou dans les tissus les moins sensibles pour limiter leurs effets toxiques et protéger les enzymes présents dans le cytosol [139] [141].

La compartimentation vacuolaire est assurée par l'action d'un antiport vacuolaire sodium/proton (Na^+/H^+), l'ion Na^+ est exclu du cytoplasme et remplacé par l'ion H^+ . Ce phénomène nécessite de l'énergie qui est fournie par les pompes à protons ATPases (H^+ -adénosine triphosphatases) et ATPases (H^+ -pyrophosphatases) [143] [144] [145].

3.2. Stratégies d'adaptation des plantes à la contrainte hydrique

Les réponses mises en place par les plantes en réponse à la contrainte hydrique sont présentées dans la Figure 2.3. L'esquive et l'évitement sont des stratégies

prises en place spécifiquement par les plantes soumises à la contrainte hydrique, tandis que la tolérance est une réponse adaptative à de nombreux stress abiotiques notamment salin ou hydrique [146].

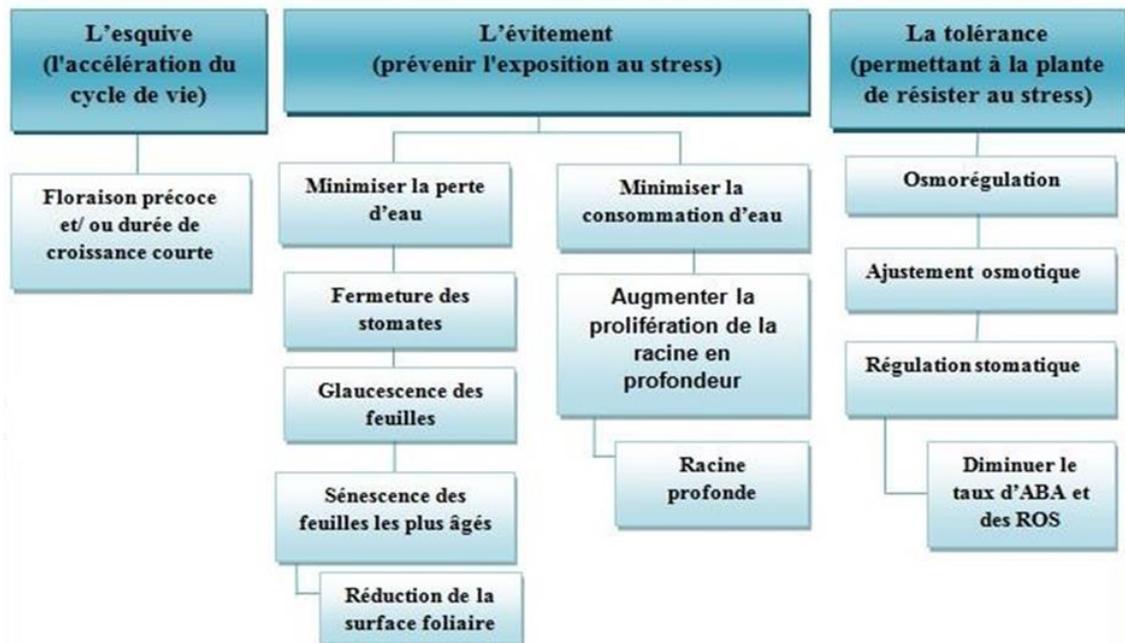


Figure 2.3: Stratégies d'adaptation des plantes à la contrainte hydrique [146].

3.2.1. Stratégie d'esquive

L'esquive est une stratégie d'adaptation utilisée par les plantes dans le but d'échapper partiellement ou complètement au stress [147]. Grâce à la plasticité de la phénologie de la plante, celle-ci peut raccourcir son cycle de croissance ou l'accomplir avant l'installation du stress hydrique (Figure 2.3) [146]. La précocité est observée chez plusieurs espèces tels que les céréales, elle assure une utilisation plus efficace de l'eau qui permet une moindre exposition aux stress environnementaux comparée aux espèces tardives [147] [148] [149].

3.2.2 Stratégie d'évitement

L'évitement est une réponse mise en place par la plante à court terme, l'objectif étant de minimiser la perte d'eau et de maintenir un statut hydrique élevé (Figure 2.3) [147]. Les réponses d'évitement sont mises en place immédiatement après l'exposition des plantes à la contrainte hydrique. La première réaction est une fermeture des stomates qui permet une meilleure utilisation de l'eau en limitant la quantité d'eau perdue par molécules de CO₂ assimilées [90] [111]. L'enroulement

des feuilles et la réduction de leur surface et de leur nombre représentent aussi une réponse adaptative des plantes, l'objectif étant de limiter la transpiration et de réduire les besoins en eau [146] [149].

De nombreux travaux ont montré une croissance racinaire accrue en réponse au stress hydrique, celle-ci permettrait une meilleure acquisition de l'eau ainsi qu'un maintien plus aisé de la pression osmotique via des taux élevés d'osmorégulateurs tel que la proline [150] [151] [152].

3.3. Stratégies d'adaptation communes aux deux contraintes saline et hydrique

Les plantes soumises à une contrainte hydrique prolongée dans le temps, développent différents mécanismes morphologiques et biochimiques qui leurs permettent de survivre à un faible contenu en eau et de maintenir une quantité minimale d'eau [90]. Ces stratégies sont similaires à ceux employés par la plante sous stress salin et comprennent notamment la biosynthèse d'osmoprotecteurs, la production d'antioxydants et la régulation stomatique (Figure 2.3) [1] [153].

3.3.1. Ajustement osmotique

Il a été démontré que l'ajustement osmotique appelé également osmorégulation ou compensation osmotique est un composant efficace de la tolérance au stress. Celle-ci permet de maintenir l'équilibre hydrique de la cellule, elle se fait par l'accumulation d'osmoprotecteurs qui remplacent l'eau à la surface des protéines ou membranes. Parmi ces osmolytes, il y a des composés contenant des nitrogènes tels que la proline, la glycine bêtaïne ou encore des acides organiques, sucres et polyols couramment observés chez différents systèmes végétaux [12] [107] [138] [139]. Les solutés compatibles sont chimiquement divers à faible poids moléculaire, polaires, très solubles et de nature non chargé. A haute concentration, ces composés organiques ne sont pas toxiques et n'interfèrent pas avec les réactions métaboliques de la cellule [139] [154] [155]. La structure des solutés compatibles communément identifiés chez les halophytes sont présentés dans la Figure 2.4 [142].

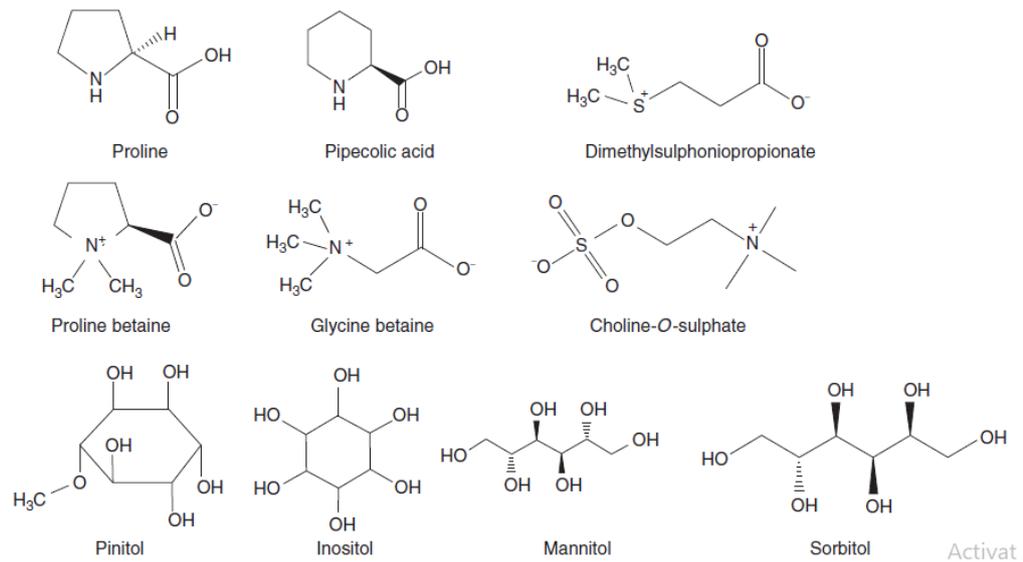


Figure 2.4: Structure chimique de solutés compatibles identifiés chez les halophytes [142].

Les osmolytes n'ont pas uniquement un rôle osmotique, ces molécules atténuent les dommages oxydatifs causés par les radicaux libres produits en réponse au stress et protègent les structures cellulaires, elles maintiennent les activités enzymatiques et luttent contre la dénaturation des enzymes [107] [142] [154] [155].

Chez les amarantacées, les osmolytes les plus couramment accumulés sont les sucres solubles, la proline et la glycine bêtaïne [142].

3.3.1.1. Sucres solubles et sucres alcools

Les sucres solubles ont un rôle primordial dans la cellule comme ressource métabolique et constituant structurale. Ils agissent comme molécules de signalisation régulant divers processus associés à la croissance et au développement de la plante [156].

En conditions de stress, les sucres solubles entraînent une meilleure tolérance des plantes à la dessiccation et à la sécheresse, à travers la protection des processus par lesquelles les enzymes sont synthétisées [157]. Ils permettraient de maintenir les réactions de phosphorylation et de protéger les structures membranaires et protéiniques [157] [158] [159]. Ils contribuent également au maintien de la pression de turgescence des cellules et l'abaissement du potentiel osmotique. Chez les glycophytes, il semblerait que ces osmolytes contribuent à 50% de l'ajustement osmotiques [111] [156] [160]. De nombreux travaux de

chercheurs ont souligné l'action du tréhalose et du saccharose comme osmoprotecteurs [1] [161]. Aussi, les sucres solubles contribuent à l'élimination des espèces réactif d'oxygène (ROS), la stabilisation des membranes et le stockage du carbone en conditions de stress [88] [108].

Les sucres alcools ou polyols contribuent également à la tolérance des plantes aux stress environnementaux. Ils peuvent être cyclique tel que le pinitol ou acyclique tel que le mannitol. Les polyols ont un rôle important dans l'ajustement osmotique et comme antioxydant dans la lutte contre les ROS [137] [142] [155].

Le mannitol est le sucre alcool le plus répandu chez les plantes, il joue un rôle important dans la tolérance aux stress hydrique et salin [162] [163]. Il protège le chloroplaste contre les dommages photo-oxydatifs causés par le radical hydroxyle (OH.) pendant le stress. Les plantes de tabac transgéniques où la mannitol-1-phosphate déshydrogénase bactérienne est surexprimé présentent une importante accumulation de mannitol dans le chloroplaste permettant une meilleure tolérance au stress oxydatif [130] [164].

3.3.1.2. Proline

La proline est un acide aminé protéinogène avec une exceptionnelle rigidité conformationnelle. Outre son rôle essentiel dans les métabolismes primaires, la proline est accumulée en grande quantité en réponse aux stress abiotiques notamment hydrique et salin [103] [107] [155] [165] [166].

La plupart des données concernant le métabolisme de la proline ont été obtenues à partir de travaux réalisés sur l'espèce modèle *Arabidopsis sp.*, mais pourraient également être valables pour d'autres espèces [166] (Figure 2.5).

La proline est concentrée dans le cytosol où elle est synthétisée à partir de glutamate via l'action de deux enzymes, la pyrroline-5-carboxylate synthétase (PC5S) et la pyrroline-5-carboxylate réductase (P5CR) (Figure 2.5). Le glutamate est réduit par le P5CS en glutamate semi aldéhyde qui est spontanément converti en pyrroline-5- carboxylate (P5C). Enfin, le P5CR transforme le P5C en proline [156] [166].

La dégradation de la proline se produit au niveau de la mitochondrie via l'action séquentielle de la proline déshydrogénase (PDH) qui produit du pyrroline-5-

carboxylate (P5C) à partir de la proline, et de la pyrroline-5-carboxylate déshydrogénase (P5CDH) qui converti le P5C en glutamate (Figure 2.5) [166] [167].

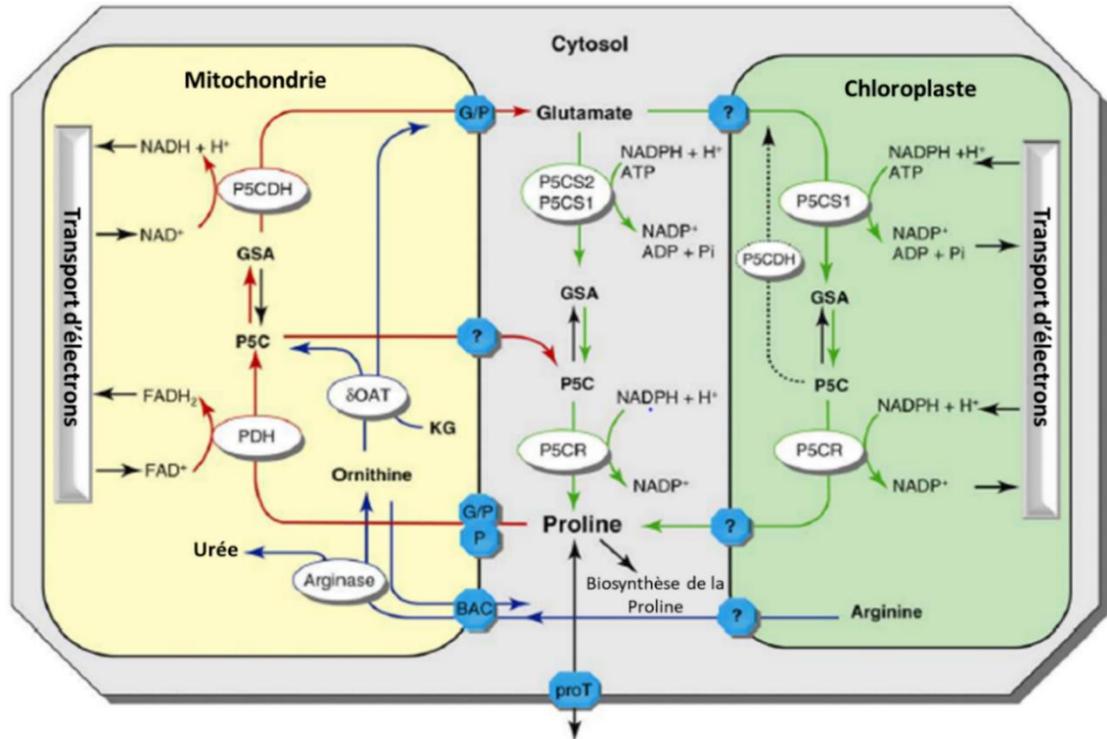


Figure 2.5: Modèle proposé pour le métabolisme de la proline chez les plantes supérieures [166].

La voie de biosynthèse est marquée par des lignes vert, la voie catabolique par des lignes rouges et la voie de l'ornithine par des lignes bleues

La biosynthèse de la proline peut faire appel à un autre précurseur, l'ornithine. Celle-ci est convertie via l'action de l'ornithine-δ-aminotransférase en glutamate semi aldéhyde qui est spontanément converti en P5C, et est recyclé en proline dans le cytosol par P5CR [166] [168]. Chez plusieurs plantes, le transport de la proline entre les cellules et les organes est assuré par un transporteur de proline (ProT) situé au niveau de la membrane plasmique [166] [169] [170].

L'accumulation de la proline peut influencer la tolérance au stress de plusieurs façons notamment par son rôle de soluté compatible dans l'ajustement osmotique du cytoplasme [156]. Elle contribue également à la stabilisation des structures cellulaires, soulage l'acidose cytoplasmique et maintient un rapport NADP⁺/NADPH approprié compatible avec le métabolisme [171] [172]. Au niveau du chloroplaste, la proline agit dans le maintien du flux d'électrons entre les centres d'excitation

photosynthétiques, stabilise la balance redox, réduit la photo-inhibition et l'endommagement de l'appareil photosynthétique [166].

Slama *et al.*, [173] ont observé une corrélation positive entre l'accumulation de la proline et la tolérance aux contraintes saline et hydrique. Dans ces conditions, la molécule induit l'expression de gènes qui entre dans la réponse au stress et joue un rôle important dans la protection contre le stress oxydatif et la détoxification des espèces réactifs d'oxygènes (ROS) [155] [166] [174] [175]. Enfin, la dégradation rapide de la proline peut constituer une source de nitrogène et d'énergie pour la cellule, elle peut fournir suffisamment d'agents réducteurs qui soutiennent la phosphorylation mitochondriale et génère de l'ATP pour la récupération, et la réparation des dommages causés par le stress [103] [172].

En tant que chaperon moléculaire, elle stabilise et protège l'intégrité des protéines et des complexes protéiniques, et améliore l'activité de différents enzymes [166] [176].

3.3.1.3. Composés d'ammonium quaternaire

Parmi le large éventail de composés d'ammonium quaternaire, la glycine bêtaïne est l'un des plus abondamment accumulé chez les plantes exposées aux contraintes environnementales tels que la salinité et la sécheresse [88] [177]. C'est un composé amphotère, électriquement neutre sur une large gamme de valeurs de pH physiologiques. C'est une molécule extrêmement soluble dans l'eau bien qu'elle soit constitué d'une moitié d'hydrocarbure non polaire avec trois groupes méthyl [142].

Chez les plantes supérieures, la glycine bêtaïne est synthétisée au niveau du chloroplaste à partir de la choline via l'action de deux enzymes, la choline mono oxygénase (CMO) et la bêtaïne aldéhyde déshydrogénase (BADH) (Figure 2.6). Elle est convertie par la CMO en bêtaïne aldéhyde, qui est transformée en glycine bêtaïne par la BADH [155] [178].

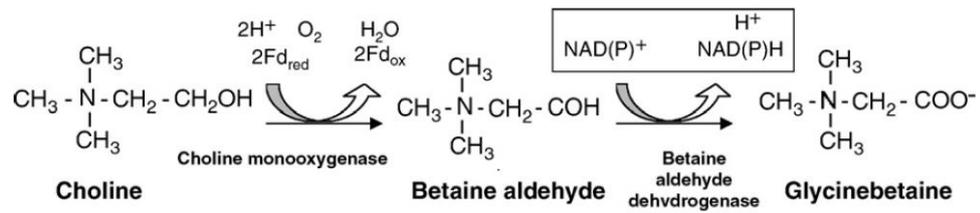


Figure 2.6: Voie de biosynthèse de la glycine bétaine chez les plantes supérieures [155].

Plusieurs travaux ont rapporté que la glycine bétaine est synthétisée à de fortes concentrations chez les plantes soumises aux stress environnementaux et plus particulièrement au stress hydrique [88] [156].

En conditions de stress, la présence de la glycine bétaine au niveau des chloroplastes contribue au bon fonctionnement de la machinerie métabolique dans la cellule par la stabilisation des macromolécules et la protection des chloroplastes, des membranes thylacoïdales et des systèmes photosynthétiques II (PSII), elle empêche l'inhibition de la biosynthèse des protéines, qui de ce fait améliore la réparation de PSII conduisant à l'augmentation de la tolérance au stress [179] [180] [181] [182]. La synthèse et l'accumulation de la glycine bétaine permet également de protéger le cytoplasme contre la toxicité ionique [180].

En tant que soluté compatible, la glycine bétaine joue un rôle important dans l'ajustement osmotique par la stabilisation des structures supérieures de certains complexes protéiniques [142] [178] [179]. Aussi, elle induit l'expression de gènes spécifiques liés à la réponse au stress notamment ceux qui codent pour les enzymes responsables de la détoxification des dérivés réactifs de l'oxygène (ROS) [178] [181] [182] [183].

3.3.2. Stratégies de lutte contre le stress oxydatif

Les plantes font appel à plusieurs stratégies pour lutter contre le stress oxydatif et limiter l'action des ROS notamment des systèmes antioxydants enzymatiques et non enzymatiques [132] [133] [184]. Les principaux composants enzymatiques ne sont pas spécifiques aux différents ROS et comprennent l'acide ascorbique (ASH), le glutathion (GSH), le tocophérol (vitamine E), et les composés phénoliques [185] [186].

Les antioxydants enzymatiques majeurs sont la superoxyde dismutase (SOD), les catalases (CAT), et les ascorbate peroxydase (APX) [185] [186]. Ces enzymes montrent une grande affinité avec des ROS spécifiques et jouent un rôle majeur dans l'élimination de celles-ci [175] [187] :

- La SOD est une métalloprotéine présente dans la mitochondrie et le chloroplaste, elle agit en première ligne de défense contre les ROS et convertie le $O\cdot_2$ en H_2O_2 .
- Les catalases sont des enzymes contenant un hème et qui se situent dans le peroxysome et le glyoxysome, ils assurent la conversion de H_2O_2 en H_2O et $\frac{1}{2} O_2$.
- Les ascorbates peroxydases sont des enzymes clés dans le cycle ascorbate glutathion, ils réduisent le H_2O_2 en eau, ce qui induit la production de monodéhydro-ascorbate (MDA) et de déhydroascorbate (DHA). Celles-ci sont alors transformées sous l'action d'une réductase en ascorbate ou en glutathion oxydé (GSSG), qui est converti en glutathion réduit (GSH) par un glutathion réductase [188].

3.3.3. Phytohormones

Les phytohormones représentent l'un des mécanismes de signalisation les plus importants au niveau de la plante, elles sont induites par le stress et assument des fonctions cruciales dans l'adaptation de celle-ci aux contraintes de l'environnement [88].

L'une des hormones les plus importantes est l'acide abscissique (ABA) qui est considérée comme « hormone de stress », la voie de signalisation de celle-ci est essentielle aux réactions de sécheresse et de stress salin chez les plantes [124].

L'ABA assure de nombreuses fonctions en conditions de stress hydrique et salin. Elle joue un rôle majeur dans la régulation stomatique et permet de protéger les tissus foliaires de la déshydratation en activant les stomates qui se ferment, et ce par la régulation biochimique des processus de transport de l'eau et des ions [7]. L'augmentation des niveaux d'ABA entraîne également une augmentation de la conductivité hydrique dans les racines et le xylème, permettant aux plantes de transporter plus d'eau et donc de récupérer plus rapidement après irrigation [189].

L'hormone assure également une fonction importante dans les voies de transduction conduisant à l'activation de plusieurs gènes qui entrent dans les stratégies de réponse au stress. Ces gènes possèdent des séquences spécifiques (ABRE : Abscisic Acid Responsive Element) au sein de leur promoteur qui fixent des facteurs de transcription activés spécifiquement par l'ABA [190]. L'acide abscissique joue un rôle clé dans la régulation d'un groupe de protéines appelé protéines abondantes de l'embryogenèse tardive (LEA) qui sont produites pendant le stress hydrique. Ces protéines agissent comme chaperons, protègent les activités enzymatiques et évitent la dénaturation des protéines [124].

CHAPITRE III

PRÉSENTATION DES RÉGIONS D'ÉCHANTILLONNAGE

1. Localisation géographique

Le travail a été réalisé sur des graines d'*Atriplex halimus* L. de deux provenances d'Algérie. Le premier lot de fruits a été fourni par le Haut-commissariat au développement de la Steppe (HCDS) de Djelfa situé à 300 km au sud d'Alger, la récolte a été réalisée en 2017 dans la station d'El Mesrane. Le deuxième lot a été récolté en 2018 au niveau de la localité du Hoggar de la région de Tamanrasset à 1900 km au sud d'Alger (Figure 3.1).

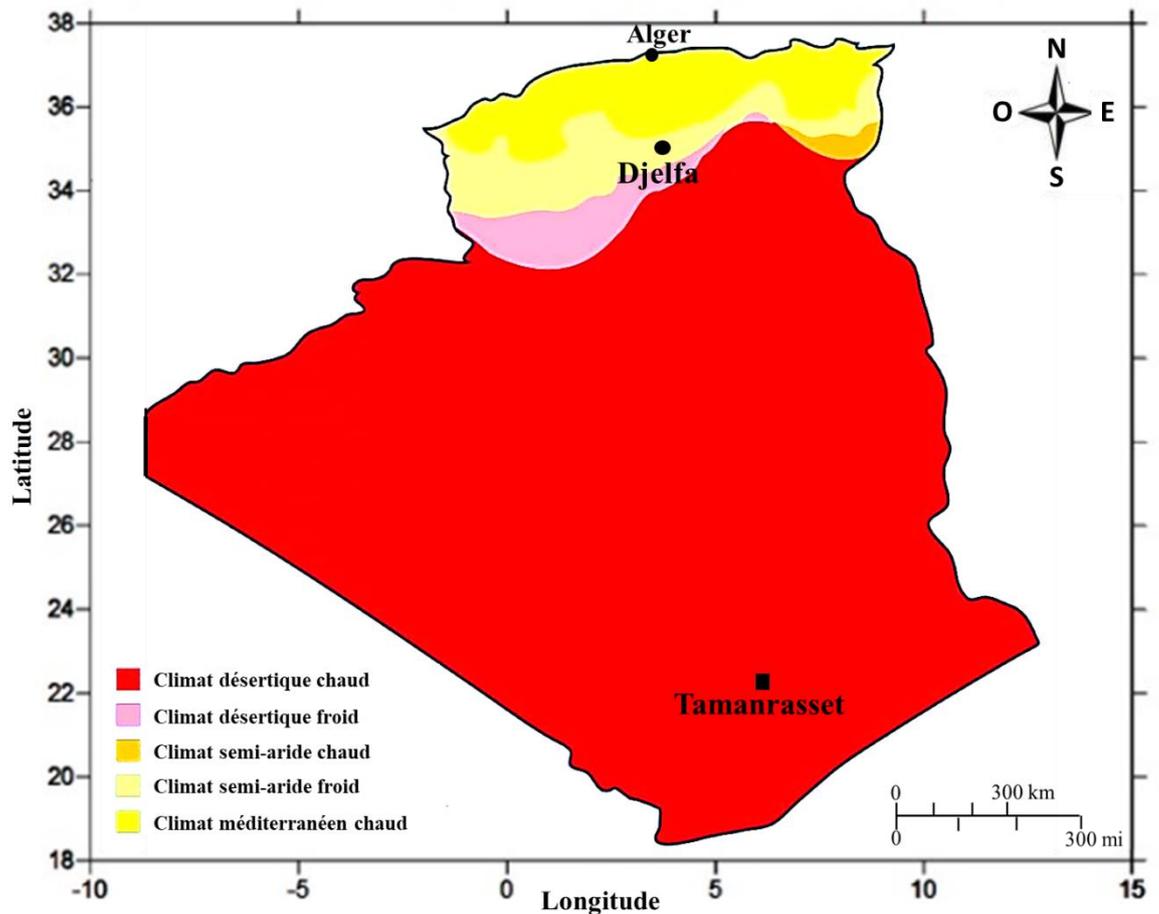


Figure 3.1: Sites de prélèvement des graines d'*Atriplex halimus* L. (Algérie).

Les caractéristiques des deux régions sont présentées dans le tableau 3.1, les étages bioclimatiques sont représentés selon la nouvelle classification de Köppen-Geiger [191].

Les régions de Djelfa et de Tamanrasset se caractérisent par un climat semi-aride froid et désertique chaud, respectivement.

Tableau 3.1: Caractéristiques des régions d'étude.

| Région | Localité | Altitude (m) | Localisation géographique | Etage bioclimatique |
|-------------|------------|-----------------|--------------------------------|------------------------|
| Djelfa | El Mesrane | 1144 | 34° 40' 00" N, 3° 15' 00" E | Semi-aride froid |
| Tamanrasset | Hoggar | 1377 | 22° 47' 13" N, 5° 31' 38" E | Désertique chaud |

2. Caractéristiques climatiques

Les moyennes annuelles de température et de précipitations des deux régions étudiées (Djelfa et Tamanrasset) ont été obtenues par l'organisation météorologique mondiale [192].

Les précipitations enregistrées au niveau de la région de Djelfa au cours de la campagne de récolte des fruits (2016/2017) ont été fluctuantes, nous avons enregistré une période sèche qui s'est étalée du mois de février jusqu'au mois de novembre avec un minimum de pluviométrie au mois de mars (0,25 mm) (Figure 3.2A). Le cumul des précipitations enregistrées au cours de la campagne 2016/2017 est de 178,53 mm, celles-ci sont nettement inférieure à la moyenne des précipitations relevées pendant la décennale (2010/2019) où on enregistre 267,29 mm/an. Notons que la période sèche au cours de la décennale s'étale du mois d'avril jusqu'au mois de novembre, celle-ci est moins importante que celle enregistrée au cours de la campagne de 2016/2017 (Figure 3.2B). La moyenne des températures au cours de cette campagne est de 16,85 °C avec un minimum de 3,6 °C au mois de janvier et un maximum de 29,1 °C au mois de juillet. Ces valeurs sont similaires à celles enregistrées au cours de la décennale où les températures moyennes sont de 16,52 °C (Figure 3.2A).

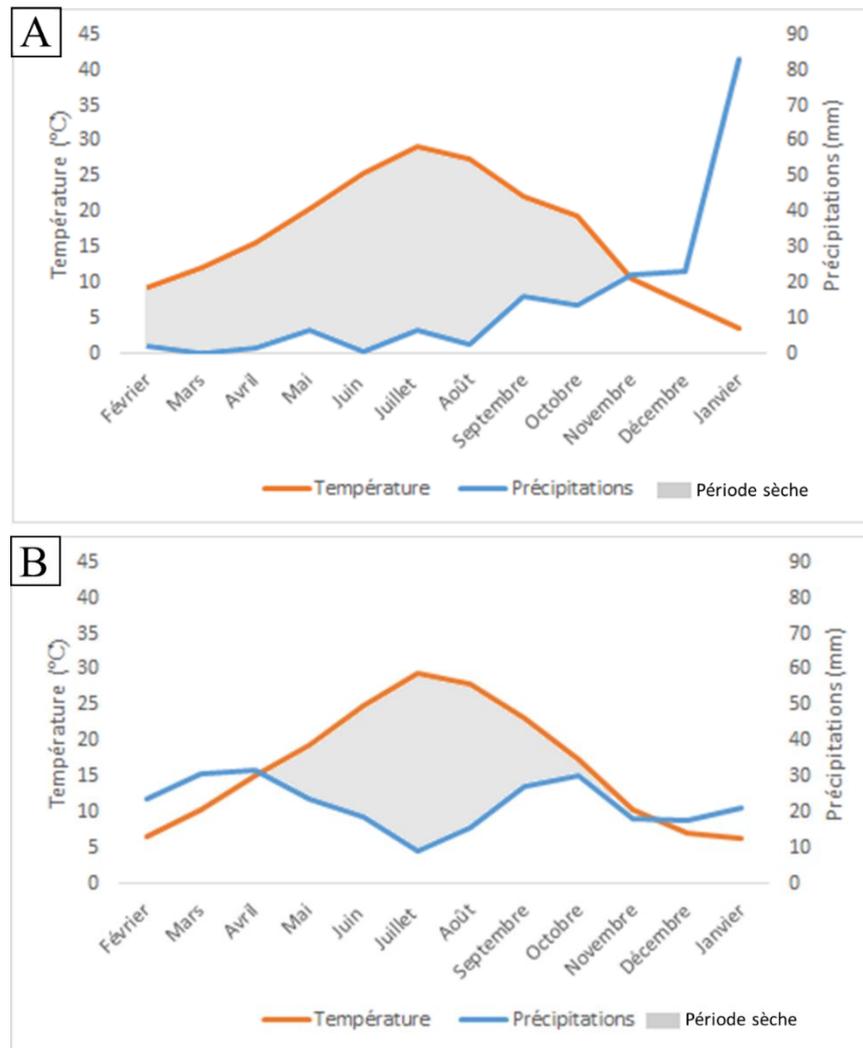


Figure 3.2: Diagramme ombrothermique de la région de Djelfa.
 A : Campagne de récolte (2016/2017)
 B : Période décennale (2010/2019)

La région de Tamanrasset se caractérise par des précipitations très faibles avec une période sèche prononcée toute l'année comparée à la région de Djelfa. Nous avons enregistré au cours de la campagne de récolte (2018/2019) 8 mois sans pluies (Figure 3.3A). Le cumul des précipitations au cours de la campagne est de 61,49 mm avec un maximum de pluies au mois d'août (49,28 mm), celui-ci est supérieur à la moyenne des précipitations enregistrées au cours de la décennale et qui est de 43 mm/an.

Les moyennes de température pendant la période allant de 2018 à 2019 oscillaient entre un minimum de 11,4 °C au mois de janvier et un maximum

de 31,7 °C au mois de juin, ces valeurs sont similaires à celles enregistrées au cours de la décennale (Figure 3.3B).

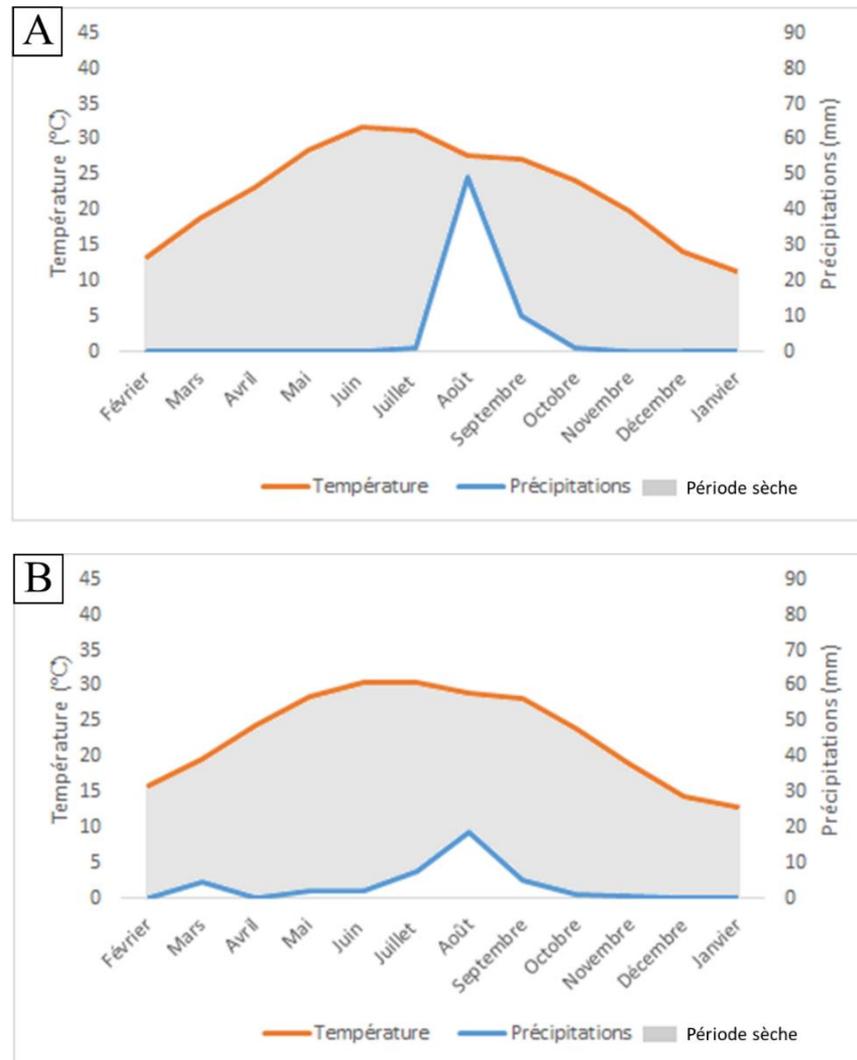


Figure 3.3: Diagramme ombrothermique de la région de Tamanrasset.

A : Campagne de récolte (2018/2019)

B : Période décennale (2010/2019)

3. Caractéristiques édaphiques

3.1. Prélèvement des échantillons

Une analyse physico-chimique du sol des sites d'études a été effectuée au niveau du laboratoire de pédologie de l'université de Blida 1. Les échantillons sont prélevés aléatoirement au niveau du premier horizon du sol (0 - 20 cm), à plusieurs points sur une étendue d'arbustes d'*Atriplex halimus* [193].

3.2. Conductivité électrique et pH du sol

Afin d'obtenir un échantillon représentatif, les différents échantillons prélevés ont été homogénéisés, séchés à l'air libre puis passés au travers d'un tamis de 2 mm. La préparation des échantillons a été réalisée selon le protocole mis en place par le centre d'expertise en analyse environnementale du Québec (2015) [194].

Dans un erlenmeyer, 20 g du sol et 50 ml d'eau distillée ont été mis dans un agitateur mécanique (environ 280 oscillations/minute) pendant 30 minutes à température ambiante. Le filtrat est ensuite récupéré après décantation du solide.

La conductivité électrique et le pH de la solution du sol ont été mesurés à l'aide d'un conductimètre (AD3000) et d'un pH mètre (RADIOMETER M220).

3.3. Matière organique

La détermination du taux de matière organique a été obtenue par le dosage de la teneur en carbone organique suivant la méthode normalisée internationale [195]. Elle consiste à mettre 2g de sol dans une fiole avec 15 ml d'acide sulfurique concentré (H_2SO_4) et 10 ml de dichromate de potassium ($K_2Cr_2O_7$ à 1N). La fiole est couverte d'un verre de montre et laisser 5 min à 70°C. Après refroidissement, 20 ml de la solution précédente de chaque échantillon est diluée avec 150 ml d'eau distillée, puis 5 ml de fluorure de sodium et 3 gouttes de Diphénylamine ($C_{12}H_{11}N$) sont ajoutés. La solution est titrée afin d'en déduire l'excès de bichromate par un réducteur, le sulfate de fer et d'ammonium ($(NH_4)_2Fe(SO_4)_2$ (sel de Mohr) jusqu'à l'apparition d'une couleur bleu verdâtre.

Le pourcentage de carbone total est calculé selon les formules :

$$\%C = (Vt - Ve) \times 0,615P$$

C% : Pourcentage de carbone total, **P** : Poids de l'échantillon du sol,
Ve : Volume équivalent de titrage du sel de Mohr de l'échantillon.
Vt : Volume de titrage du sel de Mohr de la solution témoin,

$$\%MO = \%C \times 1,72$$

% MO : Pourcentage de matière organique sol, **1,72** : coefficient multiplicateur,
% C : Pourcentage du carbone organique.

Après l'analyse physico-chimique des sols des sites de prélèvements, les résultats sont présentés dans le tableau 3.2. Le sol échantillonné au niveau de la localité du Hoggar à Tamanrasset présente une conductivité électrique très faible de 0,00593 dS/m nettement inférieure à celle enregistrée au niveau de la localité d'El Mesrane à Djelfa où le sol a une conductivité électrique de 17,16 dS/m. Notons que pour cette dernière, une augmentation des concentrations en sels a été observée au cours de ces dernières années en comparaison avec les résultats obtenus par Bouchenak et *al.* [21] ayant enregistré au niveau de la même région une conductivité moyenne de 3,32 dS/m.

Tableau 3.2: Caractéristiques physico-chimiques des sols des régions d'étude.

| Région | Conductivité électrique (dS/m) | pH | Teneur en carbone organique (%) | Taux de matière organique (%) |
|-------------|--------------------------------|---------------|---------------------------------|-------------------------------|
| Djelfa | 17,16 ± 0,41 | 6,66 ± 0,20 | 0,58 ± 0,1 | 1,01 ± 0,11 |
| Tamanrasset | 0,00593 ± 0,02 | 7,51 ± 0,33 | 0,31 ± 0,02 | 0,53 ± 0,04 |
| Probabilité | 0,02005 * | 2,227e-07 *** | 0,035 * | 2,4e-09 *** |

Codes significatifs : 0 '****' 0,001 '***' 0,01 '**' 0,05 '*' 0,1 '.' 1

L'analyse du pH du sol a montré une différence hautement significative entre les deux régions, Le sol prélevé dans la localité d'El Mesrane à Djelfa présente un pH à la limite inférieure de la neutralité qui tend vers l'acidité, d'une valeur de 6,66 comparé à celui de la localité du Hoggar à Tamanrasset dont le pH est de 7,51 et qui est à la limite supérieure de la neutralité. La détermination de la matière organique a montré un taux plus important au niveau du sol de la localité d'El Mesrane avec 1,01 % comparé à la localité du Hoggar où nous enregistrons 0,53% de matière organique. Toutefois, les sols des deux régions d'études sont tous deux classés comme pauvres en matière organique selon la classification internationale [195]. L'ensemble de nos résultats sont similaires à ceux relatés dans la littérature et qui indiquent que l'*A. halimus* est présente dans des sols à pH neutre à basique (7-11) et pauvres en matières organiques [40] [41] [69].

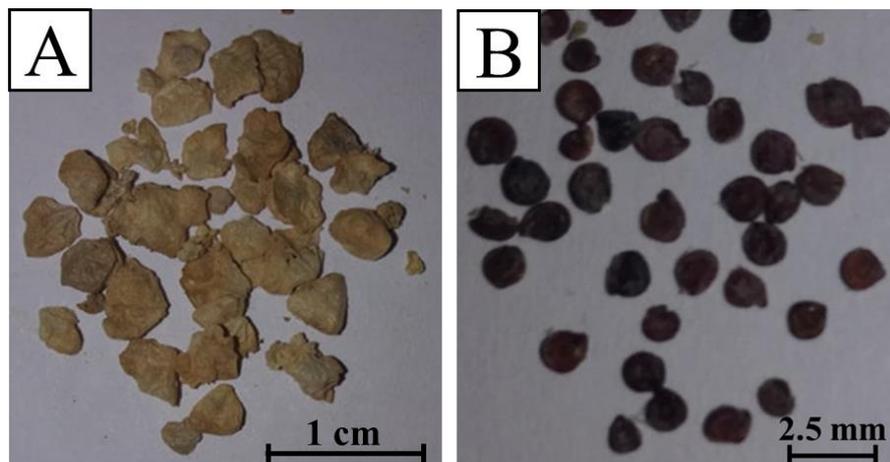
CHAPITRE IV

EFFET DES STRESS ABIOTIQUES SUR LA GERMINATION DES GRAINES D'*Atriplex halimus* L.

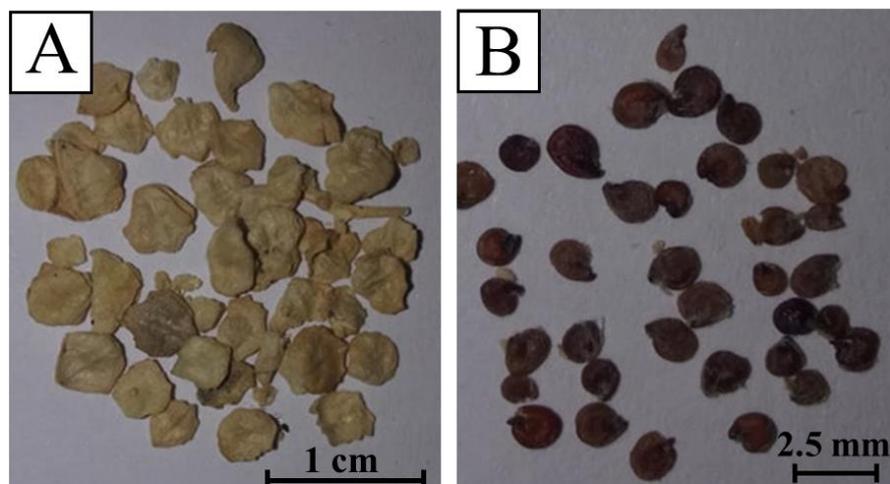
1. Matériel et méthodes

1.1. Présentation du matériel végétal

Les fruits d'*Atriplex halimus* L. présentent des valves fructifères, ils ont été décortiqués manuellement (Figure 4.1).



Ecotype de Djelfa



Ecotype de Tamanrasset

Figure 4.1 : Fruits d'*Atriplex halimus* L.

A : Fruits avec valves
B : Graines décortiquées

1.2. Germination des graines

Les graines extraites ont été trempées dans de l'alcool à 70° puis dans de l'hypochlorite de calcium Ca (ClO)₂ 5% pendant 10 et 20 minutes, respectivement [196]. Après rinçage à l'eau distillée stérile (5 fois), 4 lots de 25 graines ont été mis à germer dans des boîtes de Pétri de 9 mm de diamètre tapissées du papier filtre Whatman stérile et placées dans une étuve à une température de 25 ±1°C.

1.3. Application des traitements salin et hydrique

Deux expérimentations ont été réalisées pour étudier la réponse de l'*Atriplex halimus* aux stress abiotiques (salin et hydrique) durant les premiers stades de développement de la plantule, et ce pour les deux écotypes (Djelfa et Tamanrasset).

Les contraintes saline et hydrique ont été induites durant 14 jours et les graines témoins ont été arrosées avec de l'eau distillée stérile. La germination démarre lorsqu'une radicule de 2 mm émerge du tégument de la graine. Le dispositif expérimental adopté est un bloc aléatoire complet à randomisation totale, avec 4 répétitions de 25 graines.

1.3.1. Etude de la contrainte saline

Nous avons réalisé des essais pour chaque écotype afin d'étudier la contrainte saline, pour cela un ajout de 10 ml de solution de chlorure de sodium à différentes concentrations a été testées: 50, 100, 150, 300, 450 et 600 mM correspondants à -0,2, -0,5, -0,7, -1,4, -2,07 et -2,8 MPa, respectivement. Les potentiels osmotiques externes ont été calculés selon la loi de Van't Hoff :

$$\pi = R.T.(n/V).i.\Phi$$

π : Potentiel osmotique, R : Constante des gaz parfaits, T : Température,
 V : Volume, i : Nombre de particules formées par dissociation du soluté,
 Φ (phi) : Coefficient osmotique.

1.3.2. Etude de la contrainte hydrique

La contrainte hydrique a été induite de la même manière que la contrainte saline par l'ajout de 10 ml de solutions de polyéthylène glycol 6000 à des potentiels osmotiques de -0,2, -0,5, -0,7, -1,4, -2,07, -2,8, -5, -7 et -14 MPa.

Les potentiels osmotiques externes ont été calculés selon la formule de Michel et Kaufmann [197]:

$$PO = (-1.18 \times 10^{-2}) C - (1.18 \times 10^{-4}) C^2 + (2.67 \times 10^4) CT + (8.39 \times 10^{-7}) C^2 T$$

PO : Potentiel osmotique, **C** : Concentration en PEG, **T** : Température.

1.4. Paramètres mesurés

1.4.1. Stade germinatif

Au bout de 14 jours d'expérimentation, les paramètres suivants ont été mesurés :

1.4.1.1. Taux de germination

Le taux de germination (G%) représente le taux de graines germées à la fin de l'expérimentation, il est calculé selon la formule suivante [198] :

$$G(\%) = \frac{n}{N} \times 100$$

G : Pourcentage de germination.

n : Nombre de graines germées à la fin de l'essai.

N : Nombre de graines mises à germer initialement,

1.4.1.2. Cinétique de germination

La cinétique de germination est illustrée par une courbe présentant l'évolution des pourcentages de germination cumulés en fonction du temps. Le comptage des graines germées a été effectué tous les deux jours jusqu'au 14^{ème} jour de l'expérience [199].

1.4.1.3. Indice de tolérance au stress

L'Indice de tolérance au stress (ITS%) est déterminé en relation avec le pourcentage de germination des graines, ce paramètre est calculé selon la formule décrite par Thabet et *al.* [200]:

$$ITS (G\%) = \frac{G\% \text{ graines stressées}}{G\% \text{ graines témoins}} \times 100$$

ITS : Indice de tolérance au stress,

G : Pourcentage de germination.

1.4.2. Stade jeunes plantules

Après germination et apparition de la racicule, 18 jeunes plantules âgées de 7 jours ont subi les mesures suivantes :

1.4.2.1. Longueur de la racicule

La longueur de la racicule (L) est exprimée en centimètre et a été mesurée à l'aide du logiciel (image J) [201].

1.4.2.2. Indice de vigueur

L'Indice de vigueur (IV) est calculé en relation avec le pourcentage de germination et la longueur de la racicule selon la formule décrite par Das et *al.* [202] :

$$IV = G (\%) \times L(\text{cm})$$

IV : Indice de vigueur,
G : Pourcentage de germination,
L : Longueur de la racicule.

1.4.2.3. Poids frais et sec

Les poids frais (PF) et sec (PS) sont déterminés à l'aide d'une balance de précision (0.01mg). Le poids sec est évalué après passage des échantillons à l'étuve à 80°C pendant 24h jusqu'à stabilisation (poids constant).

1.4.2.4. Teneur en eau

La teneur en eau est calculée par la formule :

$$TE (\%) = (PF - PS) / PF * 100$$

TE : Teneur en eau, **PF**: Poids frais (g), **PS**: Poids sec (g).

1.5. Expression des résultats

Les analyses statistiques ont été effectuées avec le logiciel R Studio considérant les résultats significatifs quand $p < 0,01$. La normalité et l'homoscédasticité des données ont été testés avec le test de Shapiro et Hartley respectivement. Les différences pour les divers paramètres ont été analysées en utilisant une

analyse de variance (ANOVA) à deux facteurs et le test de Tuckey HSD (Honest Significant Difference) pour la comparaison des moyennes. Lorsque les données ne respectent pas les conditions de normalité et d'homoscédasticité, des tests non-paramètres sont réalisés.

2. Résultats obtenus

2.1. Effet des écotypes sur les graines d'*Atriplex halimus* L.

L'effet des deux écotypes en provenance de Djelfa et Tamanrasset d'*Atriplex halimus* L. sur la germination a été évalué au stade germination et sur des jeunes plantules âgées de 7 jours. L'analyse de variance n'a montré aucune différence significative entre les deux écotypes ($P=0,99899$) où nous enregistrons des taux similaires de germination oscillant entre 67 et 68 % respectivement pour l'écotype provenant de la localité d'El Mesrane (Djelfa) et du Hoggar (Tamanrasset) (Tableau 4.1).

Tableau 4.1: Effet de la provenance des graines d'*Atriplex halimus* L.

| Paramètres | G (%) | L (cm) | IV | PF (g) | PS (g) |
|-------------|---------|-----------|------------|------------|-----------|
| Djelfa | 67±0,5 | 2,95±0.32 | 207,8±0 | 5,48±0,75 | 0,57±0,09 |
| Tamanrasset | 68±0,81 | 4,11±0.26 | 287,2±9,56 | 7,5±0,70 | 0,43±0,05 |
| Probabilité | 0,99899 | 0,00720** | < 0,01 *** | 0,00277 ** | 0,3858 |

Les astérix indiquent que les traitements sont significativement différents à un seuil de 1 % ($P \leq 0,01$), selon le test de Tukey.

Les courbes de cinétique de germination des deux écotypes empruntent une évolution parallèle. Toutefois, la germination est plus rapide pour les graines provenant de Tamanrasset qui atteignent un taux de 59 % dès le 2^{ème} jour comparativement à celles de Djelfa où uniquement 26 % des graines germent à la même période. La germination s'achève au bout de 8 et 9 jours pour Tamanrasset et Djelfa, respectivement (Figure 4.2).

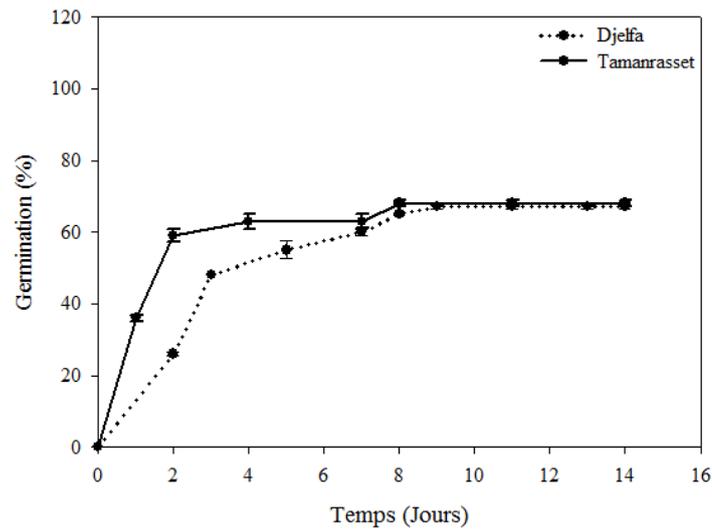


Figure 4.2: Cinétique de germination des graines d'*Atriplex halimus* L.
Chaque valeur représente la moyenne de 4 répétitions de 25 graines \pm l'écart type.

La figure 4.3 montre une différence de longueur radiculaire entre les jeunes plantules des deux écotypes. Les plantules de la localité du Hoggar présentent une longueur de 4,11 cm plus importante que celles de la localité d'El Mesrane qui enregistre une longueur d'environ 2,95 cm.



Figure 4.3 : Jeunes plantules d'*Atriplex halimus* âgées de 7 jours.

Les plantules n'enregistrent aucune différence de poids sec avec une valeur de 0,43 et 0,57 g respectivement pour l'écotype de Tamanrasset et Djelfa. Cependant, les plantules de la localité du Hoggar (Tamanrasset) ont un poids frais de 7,5 g comparées à celles de la localité d'El Mesrane (Djelfa) enregistrant une valeur de 5,48 g. Les résultats montrent également que les plantules de l'écotype de

Tamanrasset sont plus vigoureuses et présentent un Indice de vigueur de 287,2 comparées aux plantules de l'écotype d'El Mesrane ayant un Indice de vigueur plus faible atteignant 207,8.

2.2. Effet des stress sur la germination d'*Atriplex halimus* L.

L'effet des stress hydrique et salin a été évalué au stade germinatif et au stade jeunes plantules âgées de 7 jours.

2.2.1. Taux de germination

2.2.1.1. Stress salin

Les graines d'*Atriplex halimus* L. arrosées avec de l'eau distillée présentent une germination maximale de 67 et 68 % pour l'écotype de Djelfa et de Tamanrasset respectivement. Lorsqu'elles sont soumises à des concentrations croissantes de chlorure de sodium (NaCl) et de polyéthylène glycol (PEG), les résultats de l'analyse de la variance indiquent une différence significative entre la localité d'El Mesrane et celle du Hoggar (Annexe 1.1).

Face à la contrainte saline, le nombre de graines germées diminue avec l'augmentation des concentrations en NaCl dans le milieu (Figure 4.4). La diminution du taux de germination est plus marquée chez les graines de la localité du Hoggar (Tamanrasset) traitées avec des solutions de NaCl à -0,2, -0,5 et -0,7 MPa enregistrant ainsi des valeurs de 26,6, 17,3 et 18,6 %. Comparés à la germination des graines de la localité d'El Mesrane (Djelfa) où nous enregistrons des taux élevés avec 42,2, 33,3 et 35,5 %.

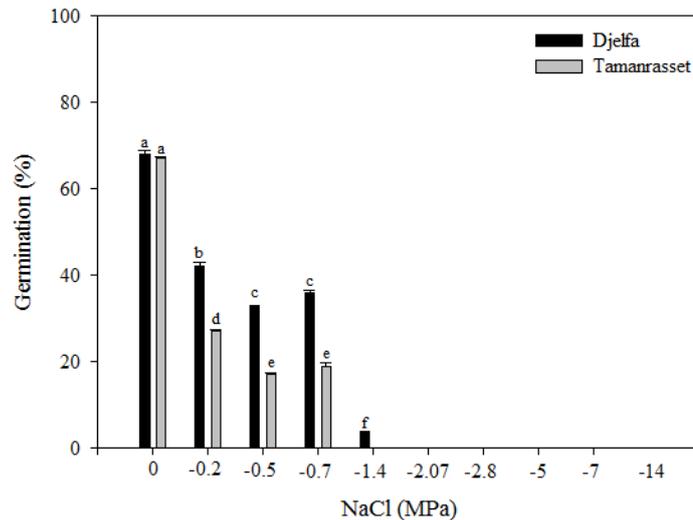


Figure 4.4 : Effet des solutions de NaCl sur le taux de germination.

Chaque valeur représente la moyenne de 4 répétitions de 25 graines \pm l'écart type. Les lettres indiquent que les traitements sont significativement différents à un seuil de 1 % ($P \leq 0,01$), selon le test de Tukey.

Les graines d'*Atriplex halimus* issues de la localité d'El Mesrane ont la capacité de germer jusqu'à des solutions de chlorure de sodium de -1,4 MPa avec une moyenne de 4% comparativement aux graines de la localité du Hoggar dont la germination est nulle au même potentiel osmotique.

2.2.1.2. Stress hydrique

L'étude de l'effet du stress hydrique sur la germination d'*Atriplex halimus* a montré un meilleur taux de germination pour les graines soumises aux solutions de polyéthylène glycol comparées aux solutions de chlorure de sodium. Les graines de la localité du Hoggar (Tamanrasset) soumises au stress à -0,2, -0,5, -0,7 et -1,4 MPa de PEG6000 montrent respectivement une germination oscillant entre 62,64, 65 et 60 %, similaire aux graines témoins imbibées à l'eau distillée où nous enregistrons un taux de germination de 68%. Quant aux graines de l'écotype d'El Mesrane (Djelfa), on observe une diminution du taux de germination avec l'augmentation des concentrations en PEG de 30, 50 et 55 % à des concentrations de -0,7, -0,5 et -0,2 MPa (Figure 4.5).

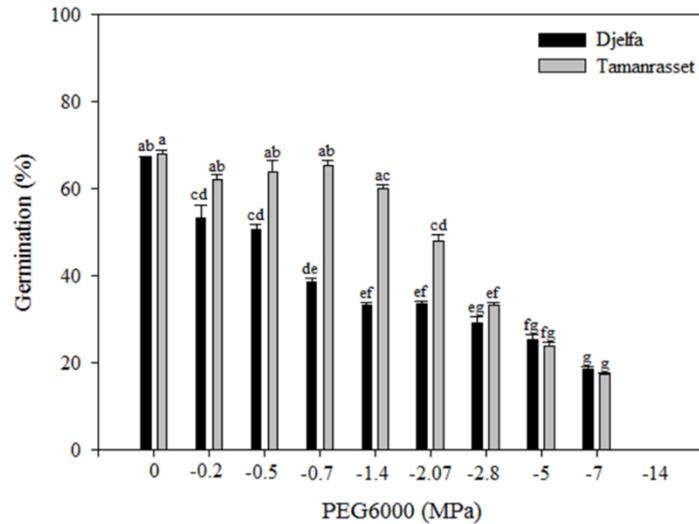


Figure 4.5: Effet des solutions de PEG sur le taux de germination.

Chaque valeur représente la moyenne de 4 répétitions de 25 graines \pm l'écart type. Les lettres indiquent que les traitements sont significativement différents à un seuil de 1 % ($P \leq 0,01$), selon le test de Tukey.

Les graines soumises à des solutions de polyéthylène glycol ont la capacité de germer sous un stress de -7 MPa. Des concentrations en PEG de -2,8, -5 et -7 MPa enregistrent des valeurs respectives de 33, 24 et 17 % de graines germées lorsqu'elles sont issues de la localité du Hoggar. Aux mêmes concentrations, les graines de la localité d'El Mesrane montrent un taux de germination de 30, 23 et 18%.

2.2.2. Cinétique de germination

2.2.2.1. Stress salin

Les graines des deux régions étudiées présentent sous stress une cinétique de germination très différente (Figure 4.6). En effet, pour l'écotype de l'étage bioclimatique semi-aride (Djelfa), la germination des graines soumises au stress peut être divisée en deux phases, dont une exponentielle allant de 0 à 6 jours marquée par une augmentation importante du taux de germination et une phase constante (pallier) allant de 7 à 14 jours où la germination augmente lentement dans un premier temps pour se maintenir après jusqu'à la fin de l'essai. Aux mêmes potentiels osmotiques, la germination des graines de la localité du Hoggar est plus précoce comparée à la localité d'El Mesrane. Au bout de 2 jours, plus de la moitié des graines ont germées. La germination des graines soumises au stress à -0,2, -0,5 et -0,7 MPa de NaCl s'achève au bout du 4^{ème}, 7^{ème} et 8^{ème} jour d'expérience respectivement.

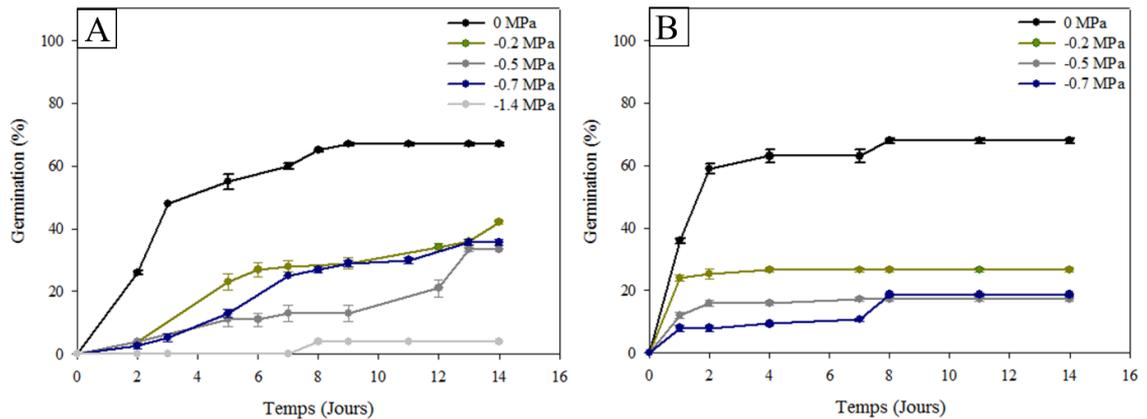


Figure 4.6: Cinétique de germination des graines soumises aux solutions de NaCl.

A : Ecotype de la localité d'El Mesrane (Djelfa)

B : Ecotype de la localité du Hoggar (Tamanrasset)

Chaque valeur représente la moyenne de 4 répétitions de 25 graines \pm l'écart type.

2.2.2.2. Stress hydrique

Les cinétiques de germination des graines des deux écotypes ne présentent pas de différence considérable d'un stress à un autre. Sous contrainte hydrique, les graines issues de la localité de Djelfa empruntent une évolution parallèle à celles germées en conditions normales (témoins) se subdivisant en deux phases distinctes. La première est exponentielle, entre 0 et 3 jours durant laquelle le taux de germination augmente fortement pouvant atteindre jusqu'à 71 et 81 % pour les graines témoins (0MPa) et celles à -2,07 MPa respectivement. La deuxième phase correspond à un pallier où la germination augmente lentement dans un premier temps pour se maintenir et reste constante après 14 jours jusqu'à la fin de l'expérimentation (Figure 4.7).

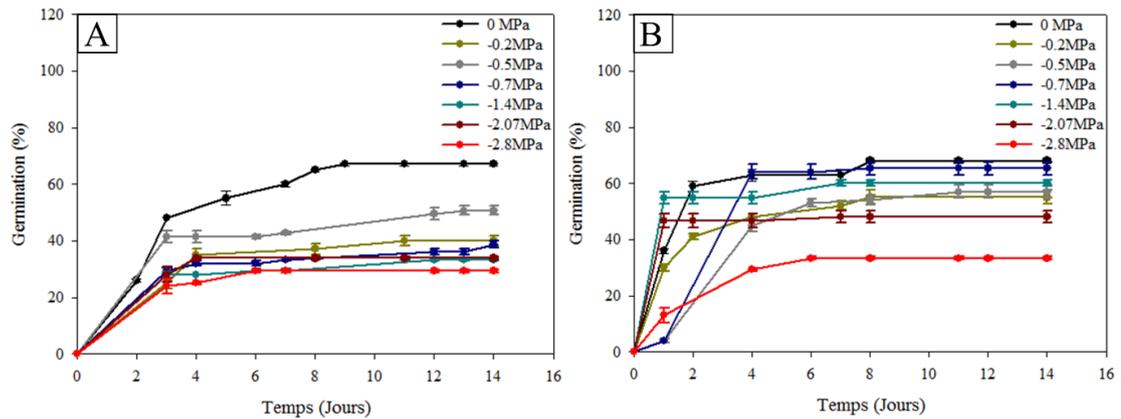


Figure 4.7: Cinétique de germination des graines soumises aux solutions de PEG.

A : Ecotype de la localité d'El Mesrane (Djelfa)

B : Ecotype de la localité du Hoggar (Tamanrasset)

Chaque valeur représente la moyenne de 4 répétitions de 25 graines \pm l'écart type.

Les graines issues de la localité du Hoggar de la région de Tamanrasset, les courbes de cinétiques des graines témoins sont similaires à celles des graines soumises au stress. Au bout de 4 jours, les graines atteignent un taux de germination supérieur à 80%, et ce quel que soit la dose appliquée. Notons que pour l'ensemble des traitements testé, la germination s'achève au bout de 11 jours.

2.2.3. Indice de tolérance au stress

2.2.3.1. Stress salin

L'analyse de la variance a montré une différence très hautement significative entre les graines de la localité d'El Mesrane et celles du Hoggar, et ce quel que soit le stress appliqué. Face à la contrainte saline, une meilleure tolérance est enregistrée chez les graines provenant de la localité d'El Mesrane (Djelfa) avec 62, 49 et 52 % à -0,2, -0,5 et -0,7 MPa de NaCl, respectivement. A des concentrations similaires, les graines provenant de la localité du Hoggar (Tamanrasset) tolèrent moins bien les conditions salines et présentent un Indice de tolérance de 38, 24 et 26 %, respectivement (Figure 4.8).

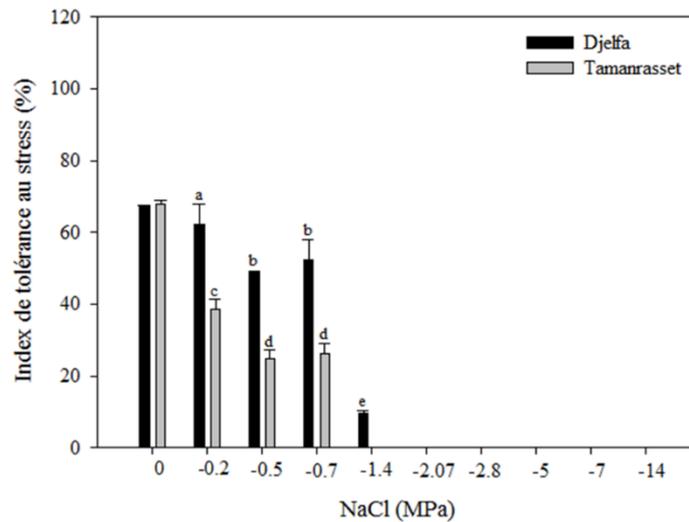


Figure 4.8: Effet des solutions de NaCl sur l'Indice de tolérance.

Chaque valeur représente la moyenne de 4 répétitions de 25 graines \pm l'écart type. Les lettres indiquent que les traitements sont significativement différents à un seuil de 1 % ($P \leq 0,01$), selon le test de Tukey.

2.2.3.2. Stress hydrique

L'évaluation de l'Indice de tolérance aux stress a montré une meilleure tolérance des graines d'*Atriplex halimus* à la contrainte hydrique comparé au stress salin. Les graines de la localité d'El Mesrane tolèrent moins bien la contrainte hydrique comparées à celles provenant de la localité du Hoggar, ces dernières présentent un Indice de tolérance plus élevée lorsqu'elles sont traitées avec des solutions de PEG6000 à -0,2, -0,5, -0,7, -1,4 et -2,07 MPa, elles enregistrent des taux respectifs de 94, 90, 94, 88 et 70 %, comparées à celles de la localité d'El Mesrane (Djelfa) ayant un Indice de tolérance plus faible de 82, 75, 57, 49 et 50% (Figure 4.9). Un stress induit avec des solutions de polyéthylène glycol à -2,8, -5 et -7 MPa entraîne une tolérance similaire chez les deux écotypes avec des taux plus faibles allant de 45, 34 et 26 %, respectivement

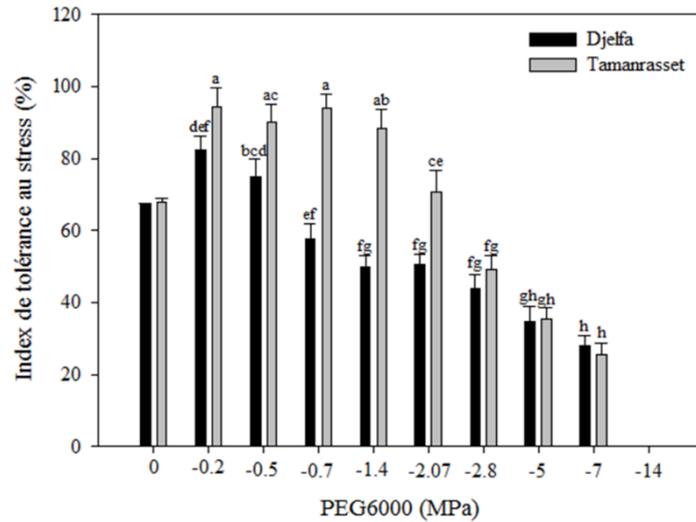


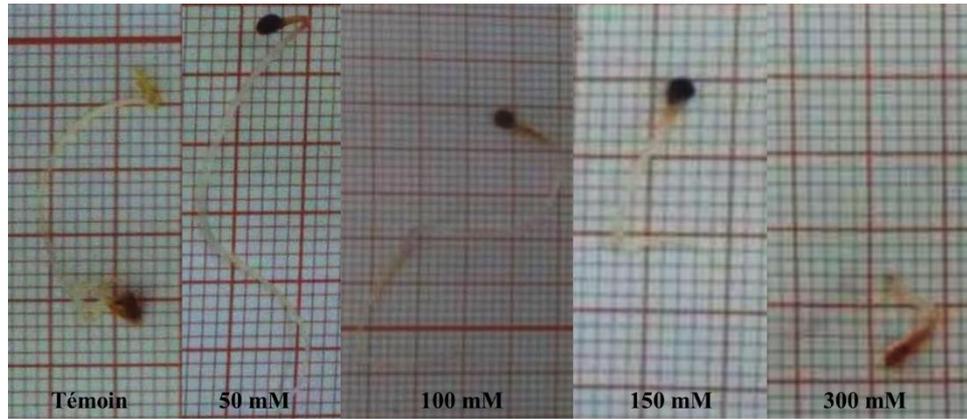
Figure 4.9: Effet des solutions de PEG sur l'Indice de tolérance.

Chaque valeur représente la moyenne de 4 répétitions de 25 graines \pm l'écart type. Les lettres indiquent que les traitements sont significativement différents à un seuil de 1 % ($P \leq 0,01$), selon le test de Tukey.

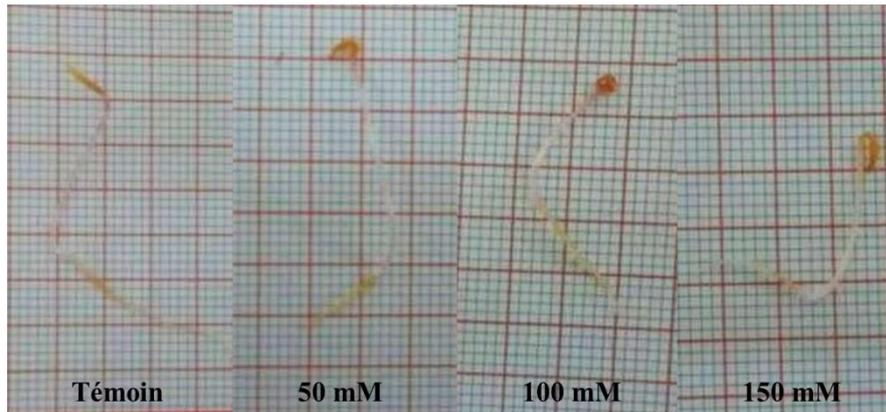
2.2.4. Longueur de la racicule

2.2.4.1. Stress salin

Face à la contrainte saline, les plantules de la localité d'El Mesrane (Djelfa) soumises à -0,2 et -0,5 MPa de NaCl montrent une longueur radiculaire plus importante avec une moyenne de 4 cm comparée aux plantules témoins qui présentent une longueur moyenne de 2,95 cm (Figure 4.10). Les plantules soumises à une dose de NaCl à -0,7 MPa montrent que la longueur de la racine diminue pour atteindre une moyenne de 2,5 cm. Une dose élevée de sel (-0,7 MPa) induit une importante diminution enregistrant des valeurs plus faibles avoisinant 0,6 cm pour les quelques jeunes plantules restantes (Figure 4.11).



Ecotype de Djelfa



Ecotype de Tamanrasset

Figure 4.10: Plantules d'*Atriplex halimus* âgées de 7 jours soumises aux solutions de NaCl.

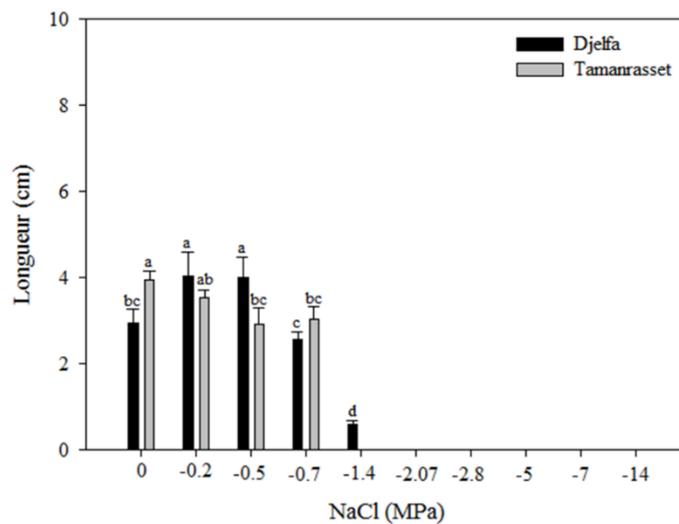


Figure 4.11: Effet des solutions de NaCl sur la longueur de la radicule. Chaque valeur représente la moyenne de 18 plantules \pm l'écart type. Les lettres indiquent que les traitements sont significativement différents à un seuil de 1 % ($P \leq 0,01$), selon le test de Tukey.

Les plantules de la localité du Hoggar soumises au stress à -0,2 MPa de NaCl ne présentent aucune différence statistique concernant la longueur en comparaison avec les témoins où nous enregistrons des valeurs moyennes de 3,5 et 4,1 cm, respectivement. Des solutions de sels plus importantes (-0,5 et -0,7 MPa) induisent une réduction de la racicule d'environ 3 cm comparé au témoin.

2.2.4.2. Stress hydrique

L'analyse de la variance a montré une différence significative entre les deux stress appliqués (Annexe 1.2). Les plantules provenant de la région de Djelfa soumises à un stress hydrique avec -0,2 et -0,5 MPa présentent respectivement une longueur racinaire moyenne de 3,45 et 3,36 cm similaire aux plantules témoins ayant une racicule atteignant une moyenne de 2,95 cm de longueur. Des concentrations en PEG6000 plus importantes allant de -0,7 à -5 MPa entraînent une stimulation de la longueur racinaire atteignant une moyenne de 4,5 cm comparées à un potentiel osmotique de -7 MPa entraînant une diminution drastique de la longueur où la mesure atteint très faible de 0,9 cm (Figure 4.12).

En ce qui concerne les graines récoltées dans la localité du Hoggar, des solutions de PEG6000 allant de -0,2 à -5 MPa stimulent l'allongement de la racicule qui peut atteindre une longueur de 6 cm en moyenne comparé aux plantules témoins ayant une racicule moyenne de 3,96 cm. Lorsque les plantules sont soumises à une concentration en PEG plus importante de -7 MPa, la longueur est de 4,03 cm et n'est statistiquement pas différente de celle des témoins (3,96 cm) (Figure 4.12).

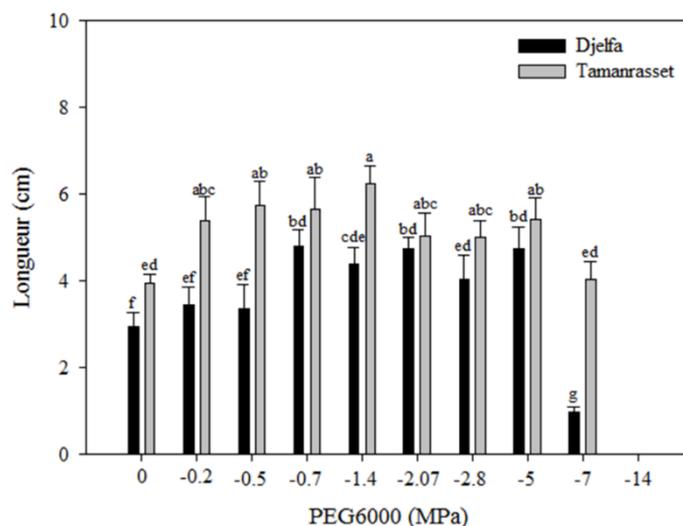


Figure 4.12: Effet des solutions de PEG sur la longueur de la racicule. Chaque valeur représente la moyenne de 18 plantules \pm l'écart type. Les lettres indiquent que les traitements sont significativement différents à un seuil de 1 % ($P \leq 0,01$), selon le test de Tukey.

2.2.5. Indice de vigueur

2.2.5.1. Stress salin

La vigueur des jeunes plantules a été évalué à la fin de l'expérience. Les jeunes plantules témoins des deux écotypes ont une vigueur statistiquement similaire avec 207,8 et 287,2 pour Djelfa et Tamanrasset, respectivement.

Des concentrations en NaCl de -0,2, -0,5 et -0,7 MPa induisent une diminution très importante de l'Indice de vigueur chez l'écotype de Tamanrasset avec des valeurs respectives de 94,5, 49,1 et 56,5 comparativement aux plantules témoins enregistrant une vigueur plus importante de 287,2 (Tableau 4.2).

Tableau 4.2: Effet des solutions de NaCl sur la vigueur des jeunes plantules.

| NaCl (MPa) | Témoin | -0,2 | -0,5 | -0,7 | -1,4 |
|--------------------|-------------|--------------|--------------|------------|-------------|
| Djelfa | 207,8±0ab | 172,1±15,6bc | 141,1±8,03cd | 89,3±2,37e | 14,04±1,63e |
| Tamanrasset | 287,2±9,56a | 94,5±12,29de | 49,1±10,99e | 56,5±11,7e | / |

Chaque valeur représente la moyenne 18 répétitions ± l'écart type. Les lettres indiquent que les traitements sont significativement différents à un seuil de 1 % ($P \leq 0,01$), selon le test de Tukey.

Les jeunes plantules de l'écotype d'El Mesrane (Djelfa) soumises au stress à -0,2 MPa de NaCl présentent une vigueur de 172,1 similaire aux témoins avec un Indice de vigueur de 207,8. La vigueur des plantules diminue avec l'augmentation des concentrations en NaCl (Tableau). L'Indice de vigueur le plus faible est de 14,04, il est observé chez les graines mises à germer dans un milieu contenant une solution saline importante de -1,4 MPa de NaCl.

2.2.5.2. Stress hydrique

Il a été observé lors de nos essais que les jeunes plantules présentent une meilleure vigueur lorsqu'elles sont soumises à la contrainte hydrique comparé à la contrainte saline.

Lorsqu'elles sont soumises à des solutions de PEG allant de -0,2 à -2,07 MPa, les jeunes plantules de la localité du Hoggar (Tamanrasset) présentent une vigueur plus important avec un Indice égal à 141,9 comparée à celles de la localité d'El Mesrane (Djelfa) avec une valeur de 99,8, à un potentiel de -2,07 MPa. Sous un stress hydrique induit avec des concentrations inférieures ou égales à -2,8 MPa, les jeunes plantules des deux écotypes présentent des Indice de vigueur similaire (Tableau 4.3).

Tableau 4.3: Effet des solutions de PEG sur la vigueur des jeunes plantules.

| PEG (MPa) | 0 | -0,2 | -0,5 | -0,7 | -1,4 |
|--------------------|-------------|---------------|---------------|---------------|--------------|
| Djelfa | 207,8±0ab | 118,3±19,31de | 149,8±14,75cd | 114,3±11,15de | 98,5±5,57ef |
| Tamanrasset | 287,2±9,56a | 162,6±29,57bc | 189,2±28,97ab | 186,6±8,20ab | 177,4±9,65ac |

| PEG (MPa) | -2,07 | -2,8 | -5 | -7 | -14 |
|--------------------|---------------|--------------|-------------|------------|-----|
| Djelfa | 99,8±4,92ef | 86,7±14,75eg | 68,3±8,20fg | 55,2±5,57g | 0h |
| Tamanrasset | 141,9±19,31cd | 98,5±5,57ef | 70,9±9,65fg | 51,2±5,57g | 0h |

Chaque valeur représente la moyenne 18 plantules ± l'écart type. Les lettres indiquent que les traitements sont significativement différents à un seuil de 1 % ($P \leq 0,01$), selon le test de Tukey.

Les jeunes plantules soumises à un stress avec la solution de PEG la plus élevée de -7 MPa enregistre des vigueurs moyennes de 51.2 et 55.2 pour Tamanrasset et Djelfa, respectivement.

2.2.6. Poids frais

2.2.6.1. Stress salin

Les résultats obtenus après 10 jours d'expérience montrent une diminution du poids frais avec l'augmentation des concentrations en NaCl allant de 7,5 mg pour les témoins jusqu'à 5,98 mg pour les jeunes plantules de la localité du Hoggar soumises à -0,7 MPa de NaCl.

En ce qui concerne les graines provenant d'El Mesrane (Djelfa), une dose modérée de NaCl (-0,2 MPa) induit une stimulation du poids frais des jeunes plantules atteignant 6,7 mg. Notons que cette stimulation décline à -0,5 et -0,7 MPa. Aucune différence statistique n'a été observée avec les plantules témoins (Figure 4.13).

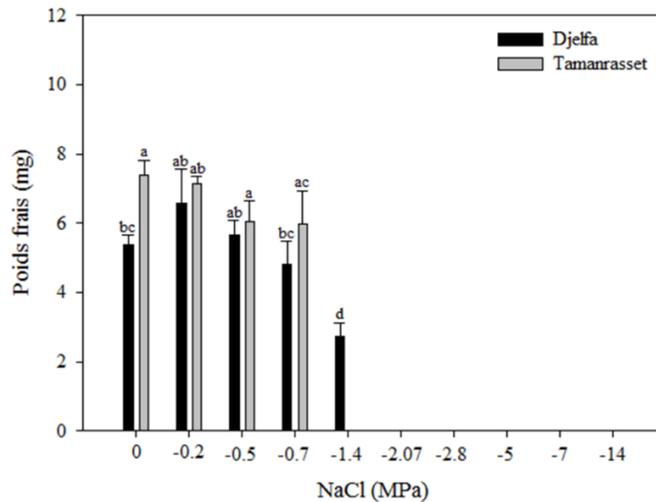


Figure 4.13: Effet des solutions de NaCl sur le poids frais.

Chaque valeur représente la moyenne de 18 plantules \pm l'écart type. Les lettres indiquent que les traitements sont significativement différents à un seuil de 1 % ($P \leq 0,01$), selon le test de Tukey.

Une dose de NaCl plus élevée atteignant -1,4 MPa entraîne une diminution du poids et enregistre en moyenne des valeurs de 2,72 mg.

2.2.6.2. Stress hydrique

Les jeunes plantules de la localité d'El Mesrane (Djelfa) soumises à des concentrations de -0,2 à -1,4 MPa ne montrent aucune différence de poids frais avec les plantules témoins où les valeurs oscillent entre 4 et 5,5 mg (Figure 4.14). Des doses plus élevées à savoir -2,07, -2.8, -5 et -7 MPa induisent une réduction du poids atteignant des valeurs respectives de 2,5, 3,4, 2,95 et 3,4 mg comparées aux témoins avec un poids moyen plus élevé de 5,38 mg.

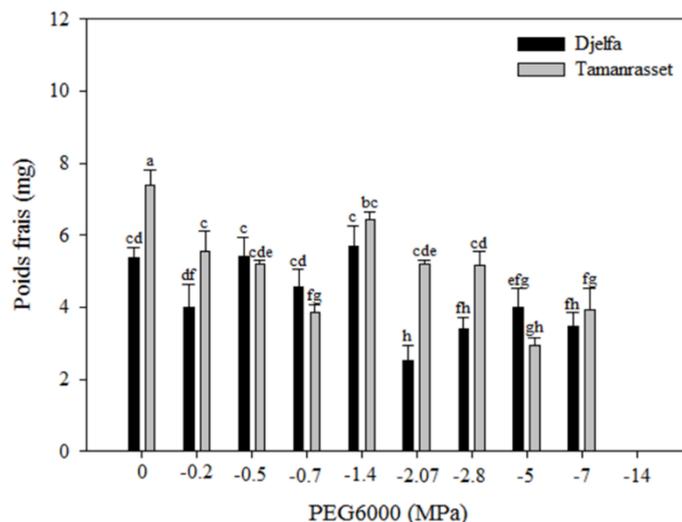


Figure 4.14: Effet des solutions de PEG sur le poids frais.

Chaque valeur représente la moyenne de 18 plantules \pm l'écart type. Les lettres indiquent que les traitements sont significativement différents à un seuil de 1 % ($P \leq 0,01$), selon le test de Tukey.

Les résultats de l'analyse de la variance pour ce paramètre n'ont montré aucune différence entre les deux écotypes étudiés (Annexe 1.2). Les jeunes plantules de la localité du Hoggar soumises aux solutions de PEG présentent un poids frais de 3,93 mg inférieur à celui des plantules témoins qui atteignent 7,4 mg. Nous pouvons déduire que le poids frais est plus affectée par la contrainte hydrique que saline.

2.2.7. Poids sec

2.2.7.1. Stress salin

L'analyse de la variance du paramètre poids sec a montré une différence hautement significative entre les deux écotypes étudiés (Annexe 1.1). Pour toutes les doses de NaCl testées, les jeunes plantules de la localité d'El Mesrane présentent un poids plus important que celles de la localité du Hoggar. Le test ANOVA ne montre aucune différence entre les traitements ($P=0,18347$). Les valeurs enregistrées oscillent entre 0,5 et 0,6 mg pour l'écotype de Djelfa et entre 0,4 et 0,5 mg pour l'écotype de Tamanrasset (Figure 4.15).

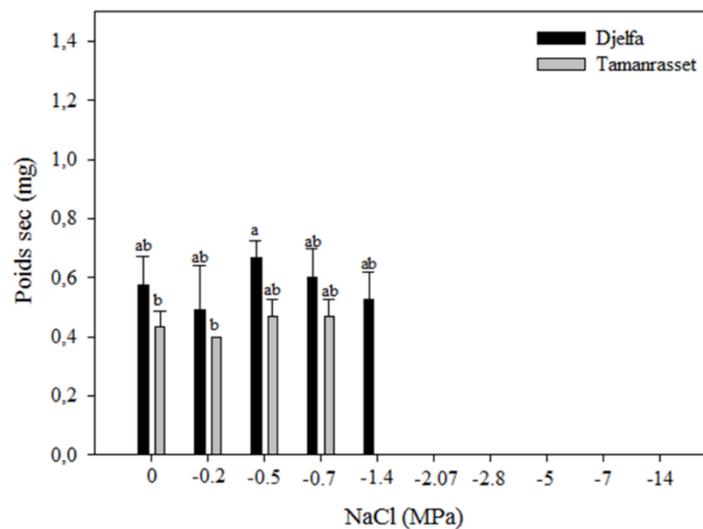


Figure 4.15: Effet des solutions de NaCl sur le poids sec.

Chaque valeur représente la moyenne de 18 plantules \pm l'écart type. Les lettres indiquent que les traitements sont significativement différents à un seuil de 1 % ($P \leq 0,01$), selon le test de Tukey.

2.2.7.2. Stress hydrique

L'évaluation du poids sec des plantules soumises au stress hydrique n'a pas montré de différence avec les résultats enregistrés sous contrainte saline aux mêmes concentrations à savoir -0,2, -0,5 et -0,7 MPa (Figure 4.16).

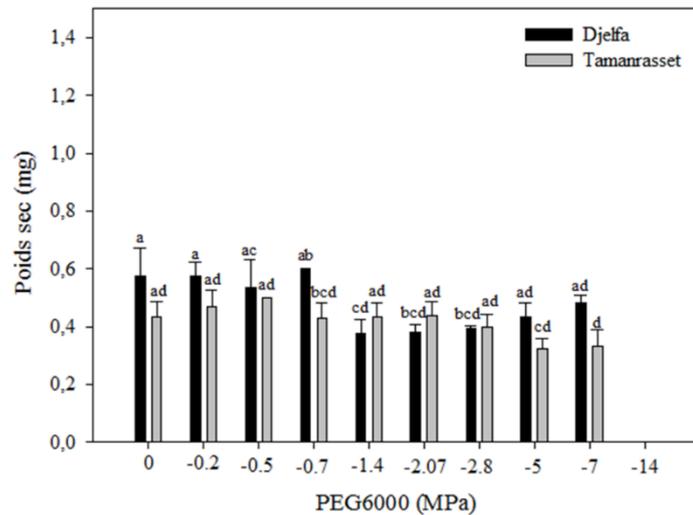


Figure 4.16: Effet des solutions de PEG sur le poids sec.

Chaque valeur représente la moyenne de 18 plantules \pm l'écart type. Les lettres indiquent que les traitements sont significativement différents à un seuil de 1 % ($P \leq 0,01$), selon le test de Tukey.

Lorsque les jeunes plantules obtenues à partir des graines récoltées dans la localité d'El Mesrane sont soumises au stress avec -0,2, -0,5 et -0,7 MPa de PEG6000, le poids sec est respectivement de 0,57, 0,53 et 0,6 mg similaire à celui des témoins qui est d'environ 0,57 mg. Des concentrations plus élevées à savoir -1,4, -2,07 et -2,8 MPa entraînent une légère diminution du poids qui atteint en moyenne 0,38 mg. Lorsque les jeunes plantules sont soumises à des doses sévères de PEG soit -5 et -7 MPa, le poids sec enregistrée est de 0,43 et 0,48 mg statistiquement équivalent à celui des témoins (0,57 mg).

Les jeunes plantules de la localité du Hoggar (Tamanrasset) soumises au stress hydrique ne présentent aucune différence statistique de poids sec avec les témoins, les valeurs oscillent entre 0,32 et 0,5 mg.

2.2.8. Teneur en eau

2.2.8.1. Stress salin

L'analyse de la teneur en eau (TE) des jeunes plantules de la provenance de Tamanrasset a montré des résultats similaires à ceux du poids frais et sec (Figure 4.17). Aucune différence statistique n'est enregistrée entre les témoins (TE=94,3%) et celles soumises au stress avec des solutions de NaCl dont la teneur en eau oscille 91 et 93 %. Les plantules issues des graines de la provenance d'El Mesrane (Djelfa), une légère stimulation de la teneur en eau est observée chez les jeunes plantules stressées avec -0,2 MPa de NaCl enregistrant une valeur d'environ 92%,

cette augmentation n'est statistiquement pas différente de celles des témoins qui enregistrent une teneur moyenne en eau de 89 %.

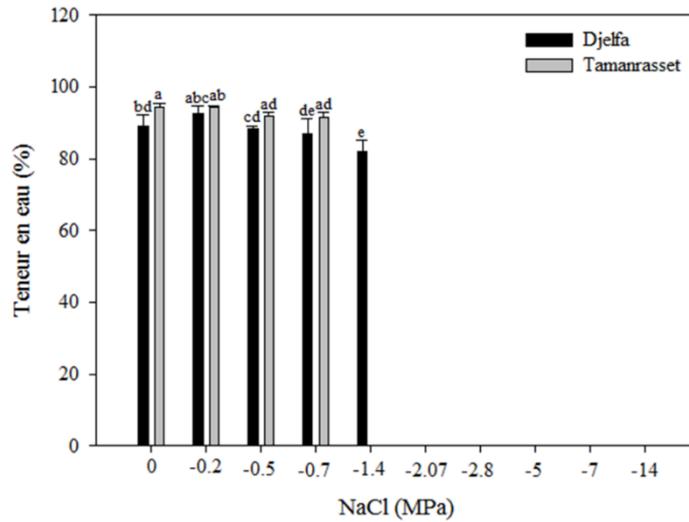


Figure 4.17: Effet des solutions de NaCl sur la teneur en eau.

Chaque valeur représente la moyenne de 18 plantules \pm l'écart type. Les lettres indiquent que les traitements sont significativement différents à un seuil de 1 % ($P \leq 0,01$), selon le test de Tukey.

2.2.8.2. Stress hydrique

Les valeurs de teneurs en eau des jeunes plantules soumises au stress salin et celles soumises à la contrainte hydrique ne présentent pas de différence considérable.

Lorsqu'elles sont traitées avec des solutions de PEG6000, la teneur en eau des jeunes plantules de l'écotype provenant de Djelfa ne présente aucune différence statistique avec les témoins, et ce quel que soit la concentration appliquée. Les teneurs oscillent entre 85 et 92% (Figure 4.18).

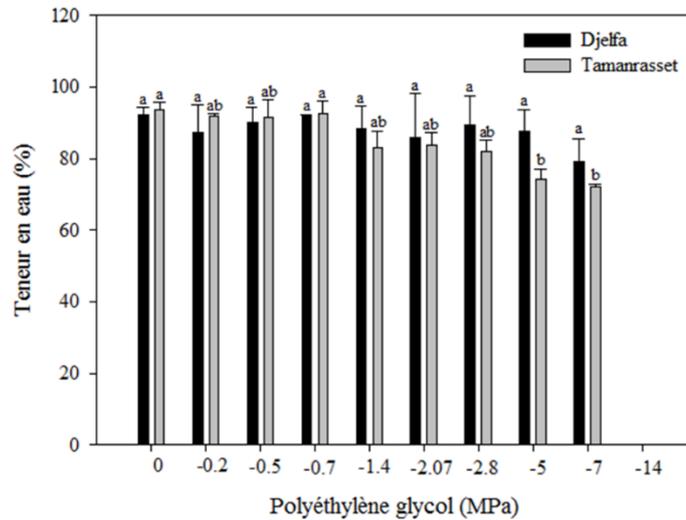


Figure 4.18: Effet des solutions de PEG sur la teneur en eau.

Chaque valeur représente la moyenne de 18 plantules \pm l'écart type. Les lettres indiquent que les traitements sont significativement différents à un seuil de 1 % ($P \leq 0,01$), selon le test de Tukey.

Pour l'écotype de Tamanrasset, les solutions de PEG6000 allant de -0,2 à -2.8 MPa n'ont aucun effet sur la teneur en eau (TE) des plantules. Comparés aux témoins (TE=94%), des concentrations plus élevées de -5 et -7 MPa conduisent à une diminution de la teneur en eau enregistrant des valeurs de 74 et 72 %, respectivement (Figure 4.18).

3. Discussion générale

La germination est un processus complexe qui commence avec l'imbibition de la graine déshydratée. L'absorption de l'eau conduit en une série de changements métaboliques qui aboutit à l'émergence de la radicule de l'embryon [203].

L'effet des écotypes sur la germination et sur les jeunes plantules d'*Atriplex halimus* a été évalué en conditions témoins sans facteurs stressants. Le taux de germination est similaire pour les deux écotypes avec 67 et 68 % de graines germées pour Djelfa et Tamanrasset, respectivement. En revanche, les jeunes plantules âgées de 7 jours et issues de la localité du Hoggar présentent une longueur radiculaire, un poids frais et une vigueur plus importante comparées aux plantules de la localité d'El Mesrane. Les résultats obtenus montrent que les graines récoltées dans la région de Tamanrasset se situant dans un étage bioclimatique aride et désertique sont des plantules plus vigoureuses et élaborent des quantités de biomasse plus importantes que celles provenant de la région de Djelfa, zone à climat semi-aride froid et où les conditions climatiques sont moins sévères. En effet, ces résultats corroborent avec des travaux menés par Ounoughi [204] sur différents écotypes d'*Atriplex halimus* à savoir Saïda à climat semi-aride et Tébessa et Laghouat dont le climat est aride à hiver froid. Les graines provenant de ces régions ont montré des taux de germination similaires chez les trois provenances avec des moyennes respectives de $5,9 \pm 3,97$ %, $6,7 \pm 5,64$ % et $7,33 \pm 5,09$ %. Des travaux similaires ont été menés sur les jeunes plantules issues de la région de Laghouat et ont montré une meilleure croissance que celles issues de Tébessa et Saïda. En effet, la longueur la plus élevée est enregistrée chez les plantules provenant de Laghouat avec 7,89 cm suivi par celles de Tébessa et Saïda avec respectivement 6,25 et 5,64 cm. Les résultats du poids frais suivent une tendance similaire avec une valeur plus importante enregistrée chez les jeunes plantules de la région de Laghouat avec une moyenne 0,2 g suivies des plantules issues des graines de la provenance de Tébessa avec 0,18 g. Le poids frais le plus faible est obtenu au niveau des plantules de la provenance de Saïda avec une moyenne de 0,15g [204].

Dans les zones où les contraintes environnementales sont prédominantes, la germination des graines est une étape primordiale mais aussi très sensible qui détermine l'établissement et la propagation des espèces [13]. Dans ces sites, la

germination est principalement influencée par les facteurs abiotiques tel que le potentiel en eau du sol et les teneurs existantes en sels.

L'exposition des graines d'*Atriplex halimus* à la contrainte saline avec du chlorure de sodium (NaCl) montre une diminution du taux de germination avec l'augmentation des teneurs en sels, et ce quel que soit l'écotype (Djelfa, Tamanrasset). Les graines peuvent germer jusqu'à une concentration -1,4 MPa soit 300 mM avec un taux de 4 %. Ces travaux corroborent avec ceux de Bouda et Haddioui [29] qui ont noté une inhibition totale de la germination des graines de deux provenances (Maroc et Etats Unis) soumises au stress à 20g/l de NaCl soit l'équivalent de 340 mM. Des graines récoltées en Tunisie ont également montré un faible taux de germination de 3% lorsqu'elles sont soumises à des solutions de NaCl à -1.5 MPa équivalent à 328 mM [95]. Cependant, les résultats obtenus sont en contradiction avec ceux de Bajji et *al.* [101] qui indiquent que les graines issues d'une zone continentale aride en Tunisie (Kairouan) continuent à germer à un stress à 450 mM de NaCl avec un taux de 8%. Nada et abdogadallah [205] ont également montré que des graines provenant d'Egypte présentent un taux de germination de 26% lorsqu'elles sont soumises à des solutions de NaCl à 400 mM. Les sels peuvent affecter la germination des graines de deux manières, en créant un potentiel osmotique externe à la graine très faible empêchant l'absorption et l'approvisionnement en eau, ou par les effets toxiques d'ions Na⁺ et Cl⁻ qui causent des lésions spécifiques à la machinerie métabolique de la graine [92] [99] [100].

Chez *Atriplex halimus* L., l'inhibition de la germination sous contrainte saline est principalement due à un effet osmotique et non pas à une toxicité ionique spécifique du NaCl [101].

La mesure de l'Indice de tolérance au stress salin a montré une différence entre les deux écotypes étudiés avec une meilleure résistance aux sels pour les graines provenant de la localité d'El Mesrane comparées à celles de la localité du Hoggar. Plusieurs chercheurs ont évalué l'effet de l'origine géographique sur la germination des graines d'*Atriplex halimus* sous contrainte saline [46] [96] [199] [206]. Des populations d'*Atriplex* provenant d'Alam (Tunisie) zone non saline se caractérisent par une différence de réponse, et sont plus sensibles à la salinité que celles issues d'Amilcar, région côtière de Tunisie où ils constatent une inhibition totale à 340 et 680 mM respectivement [96]. Les graines récoltées dans la station

d'Es Sénia à Oran (Algérie) sont plus tolérantes au chlorure de sodium comparées à celles de Djelfa [46] [199]. Les travaux de Abbad et *al.* [207] ont indiqué une meilleure tolérance aux sels des graines provenant de Sidi Bouzid (Maroc) situé au niveau du littoral et ayant des précipitations moyennes de 327 mm/an, comparées aux graines récoltées au niveau de la zone Idelssen situé dans le Sahara Marocain et caractérisée par une faible pluviométrie de 115 mm/an en moyenne.

Face à la contrainte hydrique, la germination des graines d'*Atriplex halimus* diminue avec l'augmentation des concentrations en PEG6000. Cette diminution est liée à l'effet osmotique du polyéthylène glycol qui rend l'absorption de la quantité d'eau nécessaire au déclenchement du processus de germination difficile [208]. A un potentiel de -1,4 MPa, le taux de germination des graines provenant de la localité d'El Mesrane (Djelfa) est de 33%. Ces résultats sont similaires à ceux de Shaygan et *al.* [95] ayant enregistré une germination de 31% des graines soumises à un stress à -1.5 MPa de PEG6000. Ces mêmes auteurs ont constaté que le potentiel moyen en eau pour la germination des graines d'*Atriplex halimus* est de -5,58 MPa [95]. Dans la présente étude, les graines peuvent germer dans des solutions de PEG6000 à -7 MPa avec un taux de 17 et 18 % pour Tamanrasset et Djelfa respectivement. La haute tolérance des graines d'*Atriplex halimus* L. est liée aux caractéristiques de la plupart des halophytes ayant la capacité d'accumuler diverses substances pour l'ajustement osmotique et améliore ainsi la capacité d'absorption et de la rétention de l'eau qui joue un rôle primordial dans l'adaptation des plantes à la sécheresse [1, 155]. L'espèce montre une tolérance plus importante comparée à deux espèces de la même famille *Atriplex canescens* et *Chenopodium glaucum* L. dont la germination n'est plus possible à partir de solutions PEG à -1,4 et -1,8 MPa respectivement [92] [208].

Les courbes de cinétique de germination des graines d'*Atriplex halimus* ont montré une germination plus rapide pour la localité du Hoggar (Tamanrasset) comparées aux graines germées de la localité d'El Mesrane (Djelfa), et ce quel que soit la nature du stress appliqué. Cette rapidité de germination est considérée comme une stratégie d'adaptation rencontrée chez de nombreuses espèces halophytes désertiques en particulier durant les campagnes où la pluviosité est très faible et fluctuante [208].

Au bout de 7 jours de germination sous contrainte saline et hydrique, la mesure de paramètres de croissances tel que la longueur radicaire a été évalué. Ce paramètre est un critère important pour la sélection d'espèces résistances au manque d'eau et à la salinité [1].

Sous contraintes salines, des doses modérées de -0,2 et -0,5 MPa (50 et 100 mM) de sels induisent une stimulation de la croissance en longueur des jeunes plantules de la localité d'El Mesrane de 4 cm comparativement aux plantules témoins dont la moyenne est de 2,95 cm. Ce stimulus est également observée chez des graines d'*Atriplex halimus* récoltées au Maroc dont la longueur radicaire des jeunes plantules passe de 34,4 mm pour les témoins à 51,5 et 57,6 g/l pour les plantules soumises à 5 et 10g/l de NaCl respectivement (soit 80 et 170 mM) [29]. Ces mêmes auteurs soulignent que ce phénomène serait lié à une pénétration plus aisée des ions Na⁺ et Cl⁻ dans la plante qui en abaissant le potentiel osmotique interne favorisent une entrée plus rapide de l'eau [29]. Cependant, nos résultats sont contradictoires avec ceux obtenus par Bidai [199] montrant une diminution de la longueur radicaire des graines provenant de la localité d'El Mesrane (Djelfa) et traitées avec 100 mM de NaCl dont la longueur moyenne est de 12 mm comparées aux témoins ayant enregistré 20 mm.

Les jeunes plantules de la localité du Hoggar soumises à un stress à -0,5 MPa soit 100 mM de NaCl présentent une racicule moins importante comparées aux témoins. Cette réduction est liée à une diminution de la croissance cellulaire et de l'élongation due à une difficulté des plantules à absorber les nutriments en conditions de stress [209].

Sous contrainte hydrique, la racicule des jeunes plantules d'*Atriplex* est stimulée par les concentrations en PEG6000, et ce quel que soit l'origine du matériel végétal. Les graines d'*Atriplex canescens* soumises à un stress avec -0,1 MPa de PEG présentent aussi une stimulation de 28% de la longueur radicaire comparées aux graines témoins [208].

Les résultats du poids frais n'ont relevé aucune différence entre les plantules témoins et celles subissant un stress salin avec des solutions de NaCl allant de -0,2 à -0,7 MPa (de 50 à 150 mM), et ce quel que soit l'origine du matériel végétal. Chez l'écotype de Djelfa, une dose plus élevée de -1,4 MPa (300 mM) entraîne une

diminution du poids enregistrant ainsi une valeur plus faible de 2,72 mg. Des résultats similaires ont été enregistrés chez des jeunes plantules issues de Kairouan en Tunisie (zone continentale aride) présentant un poids frais de 1,8 et 4,4 mg en réponse à un stress à 0 et -1,4 MPa de NaCl, respectivement [101].

Lorsqu'elles sont soumises à des solutions croissantes en PEG6000, les jeunes plantules issues des deux localités enregistrent une diminution de leur poids frais. Des résultats similaires ont été observés chez *Coronilla varia* de la famille des Fabacées traitées avec 15% de PEG (équivalent à -0,3 MPa) [210].

Le poids sec des jeunes plantules d'*Atriplex halimus* soumises au stress est similaire à celui des témoins, et ce quel que soit l'origine du matériel végétal ou la nature de la contrainte. Ces résultats corroborent avec ceux obtenus chez des graines provenant de la région de Kairouan (Tunisie) dont le poids sec des témoins n'est pas différent de celui des graines soumises à un stress avec -1,4 MPa de NaCl [101]. Ces travaux sont aussi en accord avec ceux de Wu et al. [210] ayant travaillé sur trois espèces de légumineuses *Medicago sativa*, *Astragalus adsurgens* et *Coronilla varia* soumises à des solutions de NaCl (50, 100 et 150 mM) et de PEG (10 et 15% équivalent à -0,15 et -0,3 MPa) et ne présentant aucune différence de poids sec avec les graines témoins. Cependant, nos résultats sont contradictoires à ceux de Bouda et Haddaoui [29] dont les recherches ont indiqué une augmentation du poids sec chez des plantules d'*Atriplex halimus* de deux provenances (Maroc et Etats-Unis) subissant un stress avec 5, 10 et 15 g/l de NaCl soit l'équivalent de 80, 170 et 256 mM.

La vigueur est un critère important qui renseigne sur la qualité des graines et qui évalue le potentiel pour une émergence rapide et uniforme des plantes [208]. Les résultats de notre étude ont montré une diminution de la vigueur des plantules soumises au stress comparativement aux témoins. Toutefois, les jeunes plantules d'*Atriplex halimus* présentent une vigueur plus importante comparée à d'autres halophytes telle que *Salsola kali* dont la vigueur des graines soumises à un stress hydrique à -1,4 MPa est de 9,84 comparée à celles issues de la localité d'El Mesrane et du Hoggar dont l'Indice de vigueur est de 98,5 et 177,4 respectivement. Aux mêmes concentrations de PEG, les deux espèces *Atriplex canescens* et *Zygophyllum fabago* ont une vigueur très faible [208].

La réponse de l'*Atriplex halimus* aux contraintes environnementales varie en fonction de la nature du stress. En effet, l'action inhibitrice du chlorure de sodium (NaCl) lors de la germination des graines et au cours des premiers stades de développement des plantules est plus sévère que celle du PEG. Ces résultats corroborent avec ceux de Shaygan et *al.* [95] ayant souligné que des graines d'*Atriplex halimus* récoltées en Tunisie étaient plus tolérantes au stress hydrique comparé au stress salin. Des données similaires ont été également obtenues chez des espèces du même genre à savoir *Atriplex prostrata*, *Atriplex patula* [211]. Contrairement aux halophytes du genre *Atriplex*, chez certaines espèces telle que *Chenopodium glaucum* L. et *Helianthus annuus* L. le PEG a un effet inhibiteur sur la germination des graines plus important que le NaCl [92] [212].

La tolérance de l'*Atriplex halimus* aux conditions rudes de l'environnement varie également selon l'écotype avec une meilleure résistance aux solutions salines pour la localité d'El Mesrane et une résistance plus importante à la contrainte hydrique pour la localité du Hoggar. Cette différence entre les deux écotypes est liée aux conditions édapho-climatiques de leurs sites d'origine. En effet, les plantes de la région de Djelfa prospèrent dans un sol très salin ayant une conductivité électrique de 17,16 dS/m, les précipitations sont plus importantes où nous avons enregistré en moyenne 267,29 mm/an au cours de la décennale. Ces plantes s'adaptent aux conditions salines élevées par rapport aux plantules de Tamanrasset où le sol est caractérisé par une salinité très faible avec une conductivité électrique de 0,00593 dS/m, dans un climat aride désertique où les précipitations totales annuelles sont en moyenne de 43 mm/an.

CHAPITRE V

EFFET DES STRESS ABIOTIQUES SUR LES PLANTULES D'*Atriplex halimus* L.

1. Matériel et méthodes

1.1. Mise en place de l'essai

Les graines d'*Atriplex halimus* L. ont été mises à germer dans des bacs remplis d'un mélange de tourbe et de sable (2/3, 1/3) au niveau de la serre. Au bout de 15 jours, les jeunes plantules au nombre de 100 ont été repiquées dans des gobelets de capacité 150 ml. L'arrosage s'est fait régulièrement avec de l'eau du robinet.

Les plantules sont soigneusement déterrées après 3 mois, les racines sont rincées à l'eau du robinet puis immergées dans une solution nutritive contenu dans des pots où elles sont fixées sur des plaques de polystyrène flottantes (Figure 5.1). La solution nutritive utilisée est une solution de Hoagland modifiée (Tableau 5.1) [213].

Tableau 5.1: Composition de la solution nutritive modifiée [213].

| Élément chimique | Formule | Concentration |
|----------------------------|--|---------------|
| Nitrate de potassium | KNO ₃ | 5 mM |
| Phosphate de mono ammonium | NH ₄ H ₂ PO ₄ | 1 mM |
| Sulfate de magnésium | MgSO ₄ | 0,5 mM |
| Nitrate de calcium | Ca (NO ₃) ₂ | 5,5 mM |
| Chlorure de potassium | KCl | 25 µM |
| Acide borique | H ₃ BO ₃ | 10 µM |
| Sulfate de manganèse (II) | MnSO ₄ | 1 µM |
| Sulfate de zinc | ZnSO ₄ | 1 µM |
| Sulfate de cuivre | CuSO ₄ | 0,25 µM |
| Molybdate de sodium | Na ₂ MoO ₄ | 10 µM |
| Fer chélate | 1-1 FeEDTA | 50 mg |

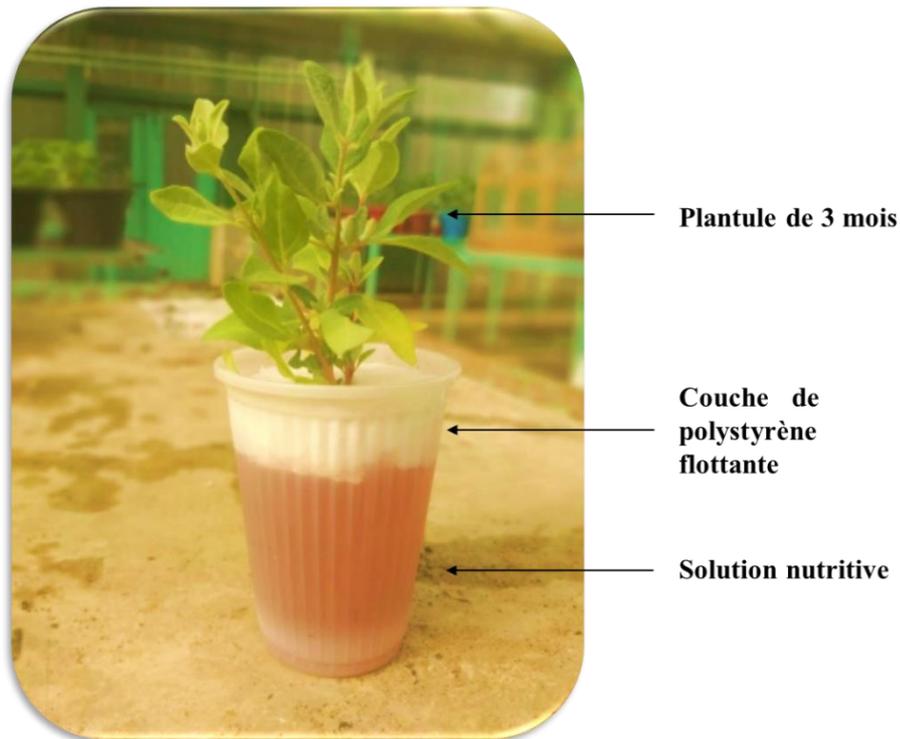


Figure 5.1: Présentation du système hydroponique.

Après 5 jours dans la solution nutritive en absence de stress, les contraintes saline et hydrique ont été induites par l'ajout à la solution nutritive de chlorure de sodium (NaCl) et de polyéthylène glycol 6000 (PEG6000), respectivement. Les stress sont appliqués sur une durée de 10 jours.

Les plantules ont été soumises aux traitements suivants :

- Témoin : SN (Solution nutritive)
- ✓ **Salin**
 - Traitement 1 : SN + 100 mM de NaCl (soit 5,84 g/l)
 - Traitement 2 : SN + 300 mM de NaCl (soit 17,52 g/l)
- ✓ **Hydrique**
 - Traitement 3 : SN + 50 g/l de PEG 6000
 - Traitement 4 : SN + 100 g/l de PEG 6000

Le dispositif expérimental adopté est un bloc aléatoire complet à randomisation totale. Les plantules sont prélevées et séparées en deux parties (aérienne et racinaire), elles sont ensuite broyées à l'aide d'azote liquide. Les poudres obtenues ont été conservées à une température de -80°C jusqu'à analyse. Chaque traitement est représenté par un pool de dix plantules.

1.2. Paramètres mesurés

1.2.1. Surface foliaire

La surface foliaire (SF) a été déterminée selon la formule décrite par [214] :

$$SF = (\pi \times a \times b) / 4$$

SF : Surface foliaire en (cm²), **a** : Longueur de limbe en (cm), **b** : Largeur de limbe en (cm), π : 3,14159.

La longueur et la largeur ont été mesurées à l'aide du logiciel (Image J) [201].

1.2.2. Nombre de feuilles

Le nombre de feuilles (NF) a été estimé par comptage de toutes les feuilles possédant un limbe d'une longueur de plus de 1 cm et ce à partir de la tige principale.

1.2.3. Hauteur des plantules

La hauteur des plantules (H) ainsi que la longueur de la partie aérienne (LA) et racinaire (LR) ont été mesurées à l'aide d'une règle graduée, les valeurs sont exprimées en cm.

1.2.4. Biomasse

Les poids frais (PF) et sec (PS) de la plantule ont été évalués à l'aide d'une balance de précision (0,01mg). Le poids sec est obtenu après passage à l'étuve à 80°C pendant 48h jusqu'au poids constant.

1.2.5. Teneur en eau

La teneur en eau des plantules a été déterminée par le calcul du poids frais (PF) de chaque échantillon. Après les avoir mis à sécher dans l'étuve à 80°C pendant 48 heures, le poids sec (PS) a été déterminé. La teneur moyenne en eau a été calculée selon la formule :

$$TE (\%) = (PF-PS) / PF * 100$$

TE : Teneur en eau , **PF**: Poids frais (g), **PS**: Poids sec (g).

1.2.6. Dosage des pigments chlorophylliens

Les teneurs en chlorophylles « a » et « b » et caroténoïdes ont été déterminées selon le protocole de Lichtenthaler [215]. L'extraction des chlorophylles est réalisée à froid à partir de 100 mg de matière fraîche foliaire. 10 ml d'acétone 95 % est ajouté et l'ensemble est conservé à 4°C pendant 48h, la lecture de l'absorbance est effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre (UVmini-1240) à des longueurs d'ondes de 470, 663 et 645 nm. L'étalonnage de l'appareil se fait avec une solution témoin d'acétone 95%. Les teneurs en pigments sont calculées à partir des équations ci-dessous et les résultats sont exprimés en mg/g de matière fraîche.

$$\begin{aligned} \text{Ca} &= 11.24 A_{663} - 2.04 A_{645} \\ \text{Cb} &= 20.13 A_{645} - 4.19 A_{663} \\ \text{Ca} + \text{b} &= 7.05 A_{663} - 18.09 A_{645} \\ \text{C} &= 1000 A_{470} - 1.90 \text{Ca} - 63.14 \text{Cb} / 214 \end{aligned}$$

Ca et Cb : Concentrations en chlorophylles « a » et « b », **C** : Concentration en caroténoïdes.

1.2.7. Dosage des ions Na⁺ et K⁺

La détermination de la teneur en potassium et en sodium se fait par minéralisation des échantillons. 50 à 100 mg de matériel sec sont pesés et placés dans une fiole jaugée de 10 ml avec 4 ml d'acide nitrique concentré et mis sur le bain de sable non chauffé pendant une nuit. Les fioles jaugées sont ensuite chauffées progressivement sur le bain de sable afin de permettre l'évaporation complète de l'acide nitrique. Les résidus sont dissous avec 2 ml d'eau régale (1,5 ml d'HCl concentré et 0,5 ml d'acide nitrique concentré), ensuite ces fioles sont placées quelques minutes sur le bain de sable jusqu'à dissolution des résidus qui sont ensuite retirées. Les fioles sont remplies avec de l'eau déminéralisée jusqu'au trait de jauge et filtrées. Le dosage est effectué par spectroscopie à absorption atomique (ICE 3300; Thermo Scientific; Waltham, MA).

1.2.8. Dosage des sucres solubles totaux

La teneur en sucres solubles a été évaluée selon le protocole de Dubois et *al.* [216]. L'extraction se fait par le mélange de 100 mg de matière fraîche et de 2 ml d'éthanol 80%, l'ensemble est mis à incuber sous obscurité pendant 48h. A l'issus de cette étape, les tubes à essai sont placés dans un bain-Marie à 70° C jusqu'à évaporation totale de l'alcool. Après refroidissement, le volume de chaque tube à essai est complété à 20 ml par l'eau distillée. Un prélèvement de 1 ml de cette

solution est mélangé avec 1 ml de phénol 5%. L'ajout de 5 ml d'acide sulfurique concentré permet l'apparition d'une solution jaune orangée à la surface. Les tubes sont passés au vortex, laissés incuber pendant 10 minutes puis placés au bain-Marie à 30° C pendant 10 à 20 minutes. La lecture de l'absorbance se fait à l'aide d'un spectrophotomètre (UVmini-1240) à une densité optique de 490 nm. La formule utilisée pour le calcul des concentrations est la suivante :

$$\text{Sucres solubles } (\mu\text{g/g MF}) = \text{D.O } 490 * 1.657$$

MF: Matière fraîche, **D.O :** Densité optique.

1.2.9. Dosage de la proline

Le dosage de la proline a été fait selon le protocole de Bates et *al.* [217] où 100 à 200 mg de matière fraîche a été prélevée et mélangée avec 10 ml d'acide sulfosalicylique et placés au bain Marie à 70°C pendant 30 minutes. Après filtration, 2 ml de surnageant est recueilli dans un tube en verre auquel est additionné 2 ml de solution de ninhydrine et 2 ml d'acide acétique concentré. Les échantillons sont mis au bain Marie pendant 1 heure à 90°C, puis dans de la glace afin de stopper la réaction. Après ajout de 2 ml de toluène et passage au vortex, la phase colorée est prélevée. La lecture des échantillons se fait au spectrophotomètre (Beckman, DU 640) à une longueur d'onde de 520 nm. Une gamme étalon est préparé à l'aide de la solution de proline et d'acide sulfosalicylique permettant la détermination des teneurs en proline.

1.2.10. Dosage de la glycine bêtaïne

Le dosage des composés d'ammonium quaternaires et de la choline est basé sur le protocole de Grieve et Grattan [218]. 250 mg de matière fraîche est mis à agiter dans 10 ml d'eau déminéralisée pendant 24h à 25°C. Les extraits sont filtrés et récupérés dans de nouveaux tubes. Deux séries de tubes sont préparées, pour la détermination des composés d'ammonium quaternaire, 250 µl de H₂SO₄ 1M est ajouté à 250 µl d'extrait. Pour la choline, 250 µl de K₃PO₄ (0.2M, pH 6.8) et 250 µl d'extrait sont additionnés. L'ensemble est mis à incuber sur de la glace pendant 1h, 200 µl de KI-I₂ est ensuite ajouté à tous les échantillons, vortexés puis mis au frigo (0 -4 °C) pour 16 heures ou plus. Les échantillons sont centrifugés à 10 000g pendant 15 minutes à 0°C. Après avoir enlevé le surnageant, les tubes sont séchés à l'air comprimé. 1,5 ml de 1,2-dichloroéthane est ajouté dans les Eppendorf qui

sont passés au vortex, la solution est transférée dans des Falcons de 15ml et mis à 4°C pendant 1h. L'opération est répétée jusqu'à dissolution complète des résidus se trouvant dans les tubes Eppendorfs. Une gamme de standard est réalisée à partir d'une solution concentrée de bétaïne anhydre et de H₂SO₄ (0,5M).

La quantification se réalise au spectromètre (Beckman DU 640) à une longueur d'onde de 395 nm. La formule utilisée pour le calcul des concentrations est la suivante :

$$C (\mu\text{g/g MF}) = C_p * 2 * 10 / M$$

C : Composés d'ammonium quaternaires,

M : Masse de la matière sèche utilisée en g,

C_p : Absorbance mesurée et dérivée de la courbe d'étalonnage.

La quantité de glycine bétaïne correspond à la différence entre les composées d'ammonium quaternaires et de choline.

1.2.11. Analyse de l'expression des gènes

1.2.11.1. Extraction de l'ARN

L'extraction de l'ARN a été faite à partir de 100 mg de racines et de feuilles fraîches broyées à l'azote liquide. A cette poudre est ajouté 1 ml de tripure (kit préparé). L'ensemble est mélangé au vortex puis incubé pendant 5 minutes à température ambiante. On ajoute 0.2 ml de chloroforme et les échantillons sont énergiquement agités pendant 15 secondes. Une incubation à température ambiante (25°C) pendant 2 à 15 minutes suivie d'une centrifugation à 12 000 g pendant 15 minutes à 4°C. La phase aqueuse est collectée et mélangée à 0.5 ml d'isopropanol et les échantillons sont encore une fois incubés pendant 5 à 10 minutes à température ambiante et centrifugés à 12 000 g pendant 10 minutes à 4°C. Le surnageant est éliminé et on ajoute 1 ml d'éthanol à 75% froid. Après lavage du culot avec de l'éthanol, les échantillons sont à nouveau centrifugés à 7500g pendant 5 minutes à 4°C, le surnageant est éliminé et le culot est séché. L'ARN est resuspendu dans de l'eau DECP (20µl), le culot est dissout puis incubé 10 à 15 minutes à 55-60°C.

L'ARN obtenu subit un traitement DNase. Pour un volume final de 50µl, 5µg d'ARN a été mélangé à 5 µl de tampon 10X et 50µl de DNase (1U/µg d'ARN) et complété avec de l'eau DEPC. Les échantillons sont incubés 1h à 37°C. L'ARN obtenue est soumise à un processus de purification. Le volume total d'ARN

obtenu après traitement DNase est mélangé à 10 µl d'acétate de sodium 3M et 200 µl d'éthanol absolu et placé à -20°C toute une nuit. Après centrifugation à 10000 rpm à 4°C pendant 30 minutes, le surnageant est éliminé et le culot est lavé à l'éthanol 75% RF (en conditions Rnase-free) glacial. Les échantillons sont centrifugés une deuxième fois à 10 000 rpm à 4°C pendant 30 minutes, le surnageant est éliminé et le culot est mis à sécher à 37°C. Les échantillons sont dilués avec 20 µl d'eau DEPC.

La qualité et la concentration d'ARN ont été vérifiées à l'aide d'un NanoDrop ND-1000 (Isogen Life Science, De Meern, Pays-Bas).

1.2.11.2. Synthèse de l'ADNc

La synthèse de l'ADN complémentaire est réalisée avec le kit GoScript™ Reverse Transcription Mix, Oligo(dT). 10 µl d'ARN total a été mélangé à 8µl de GoScript Reaction Buffer, Oligo(dT), 5µl de GoScript Enzyme Mix et complété d'eau nuclease-free jusqu'à 40µl. La réaction de retro transcription est effectuée au thermocycleur selon un cycle de 5 minutes à 25°C, 60 minutes à 42°C puis 15 minutes à 70°C. L'enzyme est inactivée par passage 1 minute à 95°C. Pour les PCR, l'ADNc obtenu a été dilué 10 fois.

1.2.11.3. PCR semi quantitative

Les gènes impliqués dans le métabolisme de la proline et de la glycine bêtaïne ont été amplifiés en Chaîne par Polymérase (PCR) en utilisant avec le mix SsoAdvanced™ Universal SYBR® Green Supermix (BioRad Laboratories). Pour chaque gène, quatre amplifications PCR indépendantes ont été réalisées.

Les produits PCR ont été séparés sur gel d'agarose 1,5 %, TAE 1x, migré pendant 30 minutes, à 100 volts et colorés avec du bromure d'éthidium (BET). Un marqueur de poids moléculaire 1Kb est utilisé. L'expression des différences est analysée à l'aide du logiciel (Image J) [201] et l'expression des valeurs relatives est comparée à un gène de référence l'Actin 1 [219].

1.3. Expression des résultats

Le traitement statistique des données est réalisé à l'aide du logiciel R studio. Les moyennes obtenues pour chacun des traitements sont comparées par une analyse de la variance (ANOVA) à deux facteurs considérant les résultats

significatifs quand $p < 0,01$. La normalité et l'homoscédasticité des données ont été testés avec le test de Shapiro et Hartley respectivement. La comparaison des moyennes est réalisée par le test de Tuckey HSD (Honest Significant Difference). Lorsque les données ne respectent pas les conditions de normalité et d'homoscédasticité, des tests non-paramètres sont réalisés. Les analyses de corrélations ont également été effectuées à l'aide du logiciel R Studio.

2. Résultats obtenus

2.1. Effet de la provenance sur les paramètres morphologiques des plantules

L'effet de la provenance a été évalué sur les plantules témoins d'*Atriplex halimus* L. L'analyse de la surface foliaire a montré une différence très hautement significative entre les deux écotypes (Tableau 5.2). Les feuilles des plantules récoltées dans la localité du Hoggar montrent une surface d'environ 29,41 cm² comparées à celles prélevées dans la localité d'El Mesrane où la surface avoisine 16,27 cm².

Tableau 5.2: Effet de la provenance sur les plantules d'*Atriplex halimus* L.

| Paramètres | SF (cm ²) | NF | L (cm) | PF (g) | PS (g) |
|-------------|-----------------------|------------|------------|-----------|-----------|
| Djelfa | 16,27±1,85 | 13±1,82 | 81,9±8,67 | 2,50±0,42 | 0,31±0,04 |
| Tamanrasset | 29,41±3,03 | 12,83±1,83 | 68,6±10,31 | 3,12±0,45 | 0,38±0,04 |
| Probabilité | <0,001 *** | 0,99996 | 0,16560 | 0,1219 | 0,3492 |

Les astéris indiquent que les traitements sont significativement différents à un seuil de 1 % ($P \leq 0,01$), selon le test de Tukey. Chaque valeur représente la moyenne 30 répétitions \pm l'écart type.

L'analyse de la variance n'a montré aucune différence entre les plantules des deux provenances (Hoggar et El Mesrane) sur les autres paramètres analysés (le nombre de feuilles, la longueur, le poids frais et sec de la plantule entière) soulignant que l'origine du matériel végétal n'a pas d'effet sur les paramètres mesurés.

2.2. Effet des stress sur les plantules

L'effet des stress hydrique et salin a été évalué au stade jeunes plantules âgées de 3 mois.

2.2.1. Surface foliaire

2.2.1.1. Stress salin

Les feuilles d'*Atriplex halimus* L. soumises à la contrainte saline sont illustrées dans la figure 5.2. Les feuilles des plantules de l'écotype de Djelfa sont moins affectées par le stress salin comparées à celles de l'écotype de Tamanrasset qui présentent un flétrissement lorsqu'elles sont traitées avec 300 mM de NaCl.



Figure 5.2: Feuilles des plantules soumises à des solutions de NaCl.

Les feuilles des plantules de la localité d'El Mesrane conduites en condition de témoin ont une surface de 16,27 cm², supérieure à celles des plantules traitées avec des solutions de NaCl à 100 et 300 mM enregistrant ainsi des valeurs nettement inférieures avec respectivement 13,5 et 10,8 cm². Les feuilles des plantules de la localité du Hoggar soumises à une contrainte saline présentent une diminution de leur surface qui est en moyenne de 18 cm² comparativement aux feuilles témoins ayant un limbe plus étalé de 29,4 cm².

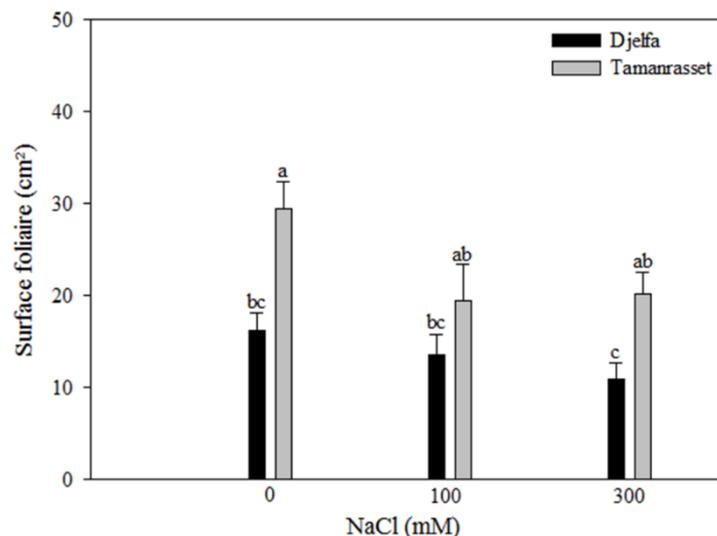


Figure 5.3: Effet des solutions de NaCl sur la surface foliaire.

Chaque valeur représente la moyenne de 30 répétitions \pm l'écart type. Les lettres indiquent que les traitements sont significativement différents à un seuil de 1 % ($P \leq 0,01$), selon le test de Tukey.

2.2.1.2. Stress hydrique

Les feuilles des plantules d'*Atriplex halimus* traitées avec des solutions de PEG de 50 et 100 g/l montrent un flétrissement et un jaunissement important comparées

aux feuilles témoins, et ce quel que soit l'écotype étudié (Djelfa, Tamanrasset) (Figure 5.4).

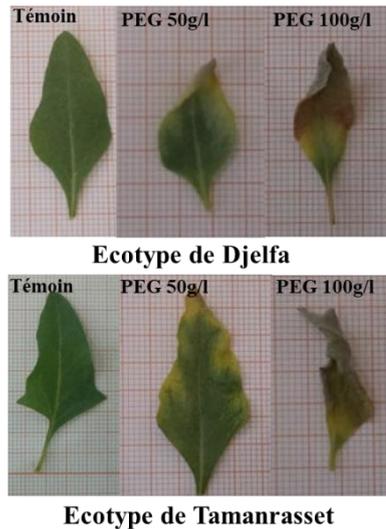


Figure 5.4: Feuilles des plantules soumises à des solutions de PEG.

Les plantules de la localité d'El Mesrane et du Hoggar traitées avec des solutions de PEG ont une surface foliaire plus rétrécie de 6 et 12 cm² comparées aux témoins où nous enregistrons 16 et 29 cm² respectivement (Figure 5.5).

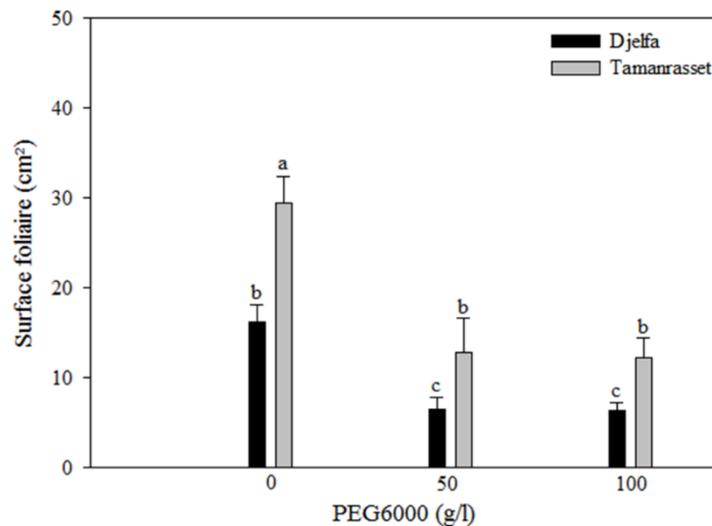


Figure 5.5: Effet des solutions de PEG sur la surface foliaire.

Chaque valeur représente la moyenne de 30 répétitions \pm l'écart type. Les lettres indiquent que les traitements sont significativement différents à un seuil de 1 % ($P \leq 0,01$), selon le test de Tukey.

La surface foliaire a été évaluée pour l'ensemble des traitements, les résultats indiquent une diminution drastique chez les plantules soumises au stress hydrique comparativement au stress salin, et ce quel que soit l'origine du matériel végétal.

2.2.2. Nombre de feuilles

2.2.2.1. Stress salin

Les résultats de l'analyse de variance ne montrent aucune différence statistique entre les écotypes et doses de sels appliquées (Annexe 1.3). Le nombre de feuilles obtenu pour les plantules témoins est similaire à celui enregistré chez les plantules soumises au stress salin, et ce quel que soit l'origine du matériel végétal (Figure 5.6).

Les plantules issues de la région de Djelfa enregistrent un nombre moyen de feuilles de 13 pour les témoins et 12 pour les feuilles traitées avec des solutions de NaCl à 100 et 300 mM. Celles de la région de Tamanrasset présentent des valeurs oscillant entre 12 et 13 feuilles (Figure 5.6).

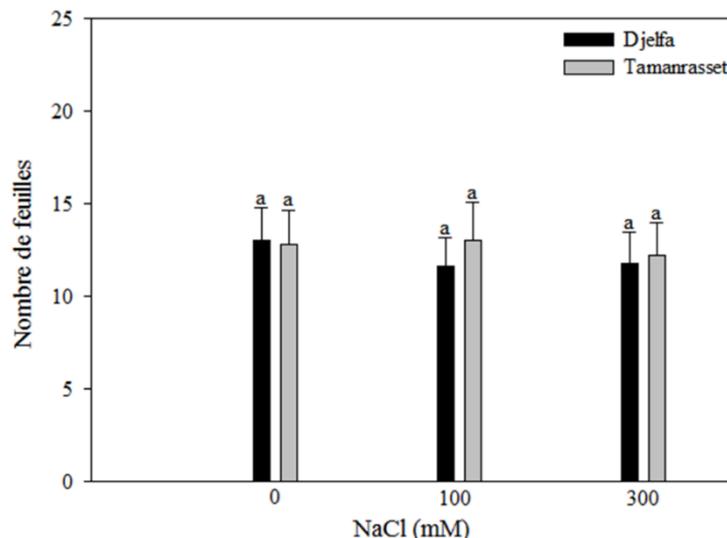


Figure 5.6: Effet des solutions de NaCl sur le nombre de feuilles.

Chaque valeur représente la moyenne 30 répétitions \pm l'écart type. Les lettres indiquent que les traitements sont significativement différents à un seuil de 1 % ($P \leq 0,01$), selon le test de Tukey.

2.2.2.2. Stress hydrique

Les plantules soumises à des solutions de polyéthylène glycol présentent une réduction du nombre de feuilles comparativement aux plantules témoins (Figure 5.7). Les résultats de l'analyse de la variance montrent des différences significatives entre les deux écotypes et les différentes doses testées (Annexe 1.4). Les plantules de la localité du Hoggar soumises à 50 g/l de PEG6000 montrent que le nombre de feuilles par plantule est en moyenne de 11, ces valeurs sont similaires à ceux des témoins présentant une moyenne 12 feuilles. Sous un stress induit par 100g/l de PEG, le nombre est réduit à environ 50 %, et nous comptons que 6 feuilles par plantule.

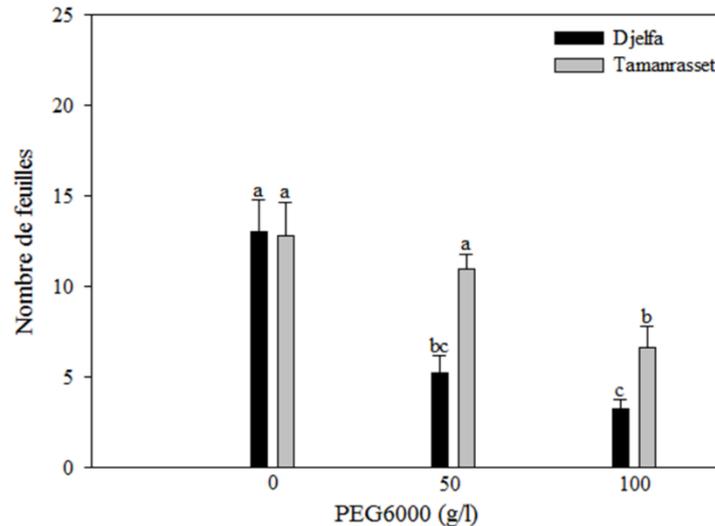


Figure 5.7: Effet des solutions de PEG sur le nombre de feuilles.

Chaque valeur représente la moyenne 30 répétitions \pm l'écart type. Les lettres indiquent que les traitements sont significativement différents à un seuil de 1 % ($P \leq 0,01$), selon le test de Tukey.

Les plantules de la localité d'El Mesrane sont très affectées par la contrainte hydrique. Une réduction importante est enregistrée chez les plantules traitées avec 50 et 100 g/l de PEG enregistrant ainsi des valeurs respectives avoisinant 5 et 3 feuilles/plantule, comparée aux témoins qui possèdent en moyenne 13.

2.2.3. Hauteur des plantules

2.2.3.1. Stress salin

Les résultats de l'analyse de la variance indiquent que la contrainte saline n'a aucun effet sur la hauteur de la plante soulignant des valeurs statistiquement similaires pour les témoins et les plantules soumises au stress (Tableau 5.3).

Tableau 5.3: Effet des solutions de NaCl sur la hauteur des plantules.

| | Plante entière | Partie aérienne | Partie racinaire |
|--------------------|-------------------|------------------|------------------|
| Djelfa | | | |
| Témoin | 81,9 \pm 8,67a | 44,6 \pm 6,01a | 40,3 \pm 3,98a |
| NaCl 100 mM | 71 \pm 10,67a | 38,3 \pm 5,24a | 33,2 \pm 5,73a |
| NaCl 300 mM | 67,3 \pm 6,80a | 33,3 \pm 3,82a | 38,2 \pm 4,5a |
| Tamanrasset | | | |
| Témoin | 68,6 \pm 10,31a | 38,8 \pm 4,70a | 34,5 \pm 5,06a |
| NaCl 100 mM | 71,8 \pm 10,91a | 38,6 \pm 3,26a | 26 \pm 1,41a |
| NaCl 300 mM | 67,7 \pm 11,31a | 38,2 \pm 4,85a | 30,1 \pm 4,90a |

Les lettres indiquent que les traitements sont significativement différents à un seuil de 1 % ($P \leq 0,01$), selon le test de Tukey. Chaque valeur représente la moyenne 30 répétitions \pm l'écart type.

La longueur de la tige diminue avec l'augmentation des concentrations en NaCl. Notons que pour les plantules de la localité d'El Mesrane (Djelfa), elle varie

de 44,6 cm pour les témoins à 33,3 cm pour celles soumises à des solutions de NaCl à 300 mM. A 100 mM, la longueur est de 38,3 cm statistiquement similaire aux témoins. Les plantules de la localité du Hoggar soumises à une contrainte saline ont une tige d'une longueur de 38 cm identique à celles des témoins. Au niveau racinaire, nous remarquons que la longueur des racines des plantules des localités d'El Mesrane et du Hoggar n'a pas été affectée par les solutions élevées de NaCl (100 et 300 mM).

2.2.3.2. Stress hydrique

Sous contrainte hydrique, la longueur de la tige est plus affectée, celle-ci est nettement inférieure chez les plantules soumises à 50 et 100 g/l de PEG comparé aux témoins, et ce quel que soit l'écotype étudié (Tableau 5.4).

La longueur des racines des plantules d'El Mesrane et du Hoggar n'a pas été affectée par les faibles concentrations en PEG (50 g/l). En revanche, une solution de 100 g/l de polyéthylène glycol 6000 entraîne une diminution de la longueur racinaire où nous enregistrons 20,3 et 29,8 cm pour les plantules de l'écotype de Tamanrasset et de Djelfa respectivement, comparés aux témoins dont les moyennes enregistrées sont nettement plus élevées avec 34,5 et 40,3 cm.

Tableau 5.4: Effet des solutions de PEG sur la hauteur des plantules.

| | Plante entière | Partie aérienne | Partie racinaire |
|--------------------|-------------------|--------------------|---------------------|
| Djelfa | | | |
| Témoin | 81,9±8,67a | 44,6±6,01a | 40,3±3,98a |
| PEG 50 g/l | 71,8±11,81a | 31±3,93b | 40±5,09a |
| PEG 100g/l | 58,9±3,47a | 31,6±1,70b | 29,8±2,16b |
| Tamanrasset | | | |
| Témoin | 68,6±10,31a | 38,8±4,70a | 34,5±5,06a |
| PEG 50 g/l | 66,6±7,20a | 33,8±4,26a | 32,5±4,43a |
| PEG 100g/l | 59±9,42a | 32,3±4,22a | 20,3±1,52c |

Les lettres indiquent que les traitements sont significativement différents à un seuil de 1 % ($P \leq 0,01$), selon le test de Tukey. Chaque valeur représente la moyenne 30 répétitions \pm l'écart type.

2.2.4. Poids frais

2.2.4.1. Stress salin

Les résultats de l'analyse ANOVA ont montré une différence statistique entre les deux écotypes et entre les deux stress appliqués (Annexe 1.5 et 1.6).

Les plantules issues de la localité d'El Mesrane à Djelfa soumises à une contrainte saline avec des solutions de NaCl à 100 mM présentent un poids frais de

4,03 g nettement plus élevé que celui des témoins qui avoisine 2,50 g. Pesées séparément, les poids des parties racinaire et aérienne enregistrent des valeurs respectives de 1,25 et 2,91 g, ils sont supérieurs à ceux des plantules témoins dont les moyennes oscillent entre 0,75 et 1,58 g. A une concentration en NaCl plus importante de 300 mM, le poids frais des plantules est similaire à celui des témoins, et ce quel que soit la partie de la plante pesée (Tableau 5.5).

Tableau 5.5: Effet des solutions de NaCl sur le poids frais.

| | Plante entière | Partie aérienne | Partie racinaire |
|--------------------|-------------------|--------------------|---------------------|
| Djelfa | | | |
| Témoin | 2,50±0,42b | 1,58±0,30a | 0,75±0,11a |
| NaCl 100 mM | 4,03±0,60a | 2,91±0,25a | 1,25±0,14a |
| NaCl 300 mM | 2,25±0,21b | 1,48±0,09a | 0,94±0,14a |
| Tamanrasset | | | |
| Témoin | 3,12±0,45a | 2,20±0,21a | 1,07±0,08a |
| NaCl 100 mM | 3,64±0,57a | 2,64±0,43a | 1,40±0,16a |
| NaCl 300 mM | 3,28±0,62a | 2,61±0,42a | 1,28±0,37a |

Les lettres indiquent que les traitements sont significativement différents à un seuil de 1 % ($P \leq 0,01$), selon le test de Tukey. Chaque valeur représente la moyenne 30 répétitions \pm l'écart type.

Le poids frais des plantules provenant de la localité du Hoggar (Tamanrasset) n'a pas été affectée par les concentrations en NaCl, que ce soit au niveau aérien ou racinaire.

2.2.4.2. Stress hydrique

Les résultats montrent qu'une importante diminution est enregistrée au niveau de la plante entière et plus particulièrement de la partie aérienne (Tableau 5.6).

Tableau 5.6: Effet des solutions de PEG sur le poids frais.

| | Plante entière | Partie aérienne | Partie racinaire |
|--------------------|-------------------|--------------------|---------------------|
| Djelfa | | | |
| Témoin | 2,50±0,42a | 1,58±0,30a | 0,75±0,11a |
| PEG 50g/l | 1,38±0,15a | 0,93±0,15b | 0,67±0,11b |
| PEG 100g/l | 1,20±0,06a | 0,56±0,07b | 0,64±0,08b |
| Tamanrasset | | | |
| Témoin | 3,12±0,45a | 2,20±0,21a | 1,07±0,08a |
| PEG 50g/l | 1,96±0,35b | 0,97±0,14b | 1,34±0,17a |
| PEG 100g/l | 1,74±0,06b | 0,72±0,12b | 0,96±0,21a |

Les lettres indiquent que les traitements sont significativement différents à un seuil de 1 % ($P \leq 0,01$), selon le test de Tukey. Chaque valeur représente la moyenne 30 répétitions \pm l'écart type.

Sous un stress induit par 100 g/l de PEG6000, le poids frais enregistré est de 0,56 et 0,72 g pour les plantules de Djelfa et de Tamanrasset, respectivement. En

conditions normales, les témoins montrent une masse fraîche moyenne de 1,58 et 2,20 g pour les plantules de la localité d'El Mesrane et du Hoggar, respectivement.

En ce qui concerne la partie racinaire, aucune différence statistique n'est constaté entre les plantules témoins et celles soumises au stress hydrique, et ce pour les deux écotypes étudiés.

Le poids frais des plantules provenant des deux localités d'El Mesrane et du Hoggar est d'autant plus impacté lorsque la contrainte est hydrique, et ce quel que soit la partie de la plante pesée.

2.2.5. Poids sec

2.2.5.1. Stress salin

L'évaluation du poids sec de la plante entière a montré une différence significative entre les deux écotypes étudiés (Tableau 5.6). Les plantules provenant de la localité d'El Mesrane soumises à 100 mM de NaCl présentent un poids légèrement élevé de 0,52 g comparativement aux plantules témoins avec 0,31 g. Ces dernières ne présentent aucune différence avec les plantules traitées avec 300 mM de NaCl (0,32g). Aux mêmes concentrations de 100 et 300 mM, les plantules de la localité du Hoggar ont un poids de 0,50 et 0,46 g respectivement. Ces valeurs ne sont statistiquement pas différentes de celles des témoins qui enregistrent un poids moyen de 0,38g.

La mesure du poids sec de la tige et des feuilles a également indiqué une différence statistique entre les plantules de l'écotype d'El Mesrane et celui du Hoggar. Les plantules de la localité d'El Mesrane traitées avec des solutions de 300 mM de NaCl ont un poids de 0,22g similaire à celui des témoins avec 0,21 g. La masse sèche des plantules soumises au stress avec 100 mM de NaCl augmente considérablement atteignant une valeur moyenne de 0,45g.

Tableau 5.7: Effet des solutions de NaCl sur le poids sec.

| | Plante entière | Partie aérienne | Partie racinaire |
|--------------------|---------------------------|----------------------------|-----------------------------|
| Djelfa | | | |
| Témoin | 0,31±0,04b | 0,21±0,02b | 0,08±0,01a |
| NaCl 100 mM | 0,52±0,08a | 0,45±0,01a | 0,11±0,01a |
| NaCl 300 mM | 0,32±0,03b | 0,22±0,03b | 0,09±0,01a |
| Tamanrasset | | | |
| Témoin | 0,38±0,04a | 0,31±0,03a | 0,09±0,01a |
| NaCl 100 mM | 0,50±0,09a | 0,48±0,06a | 0,12±0,01a |
| NaCl 300 mM | 0,46±0,08a | 0,41±0,03a | 0,07±0,01a |

Les lettres indiquent que les traitements sont significativement différents à un seuil de 1 % ($P \leq 0,01$), selon le test de Tukey. Chaque valeur représente la moyenne 30 répétitions \pm l'écart type.

Les solutions de sels à 100 et 300 mM induisent une augmentation du poids sec des plantules issues de la localité du Hoggar avec environ 0,48 et 0,41 g respectivement. Toutefois, ces valeurs ne sont statistiquement pas différentes des témoins où le poids sec moyen atteint 0,31g.

En ce qui concerne le poids sec de la partie racinaire, les résultats obtenus par l'analyse ANOVA n'ont montré aucune différence entre les deux écotypes ($p=0,18$). Le poids sec optimal est observé chez les plantules soumises à des solutions de NaCl à 100 mM avec 0,11 et 0,12 g pour l'écotype de Djelfa et de Tamanrasset respectivement. Cependant, le poids sec des plantules traitées avec des solutions de NaCl n'est statistiquement pas différent de celui des témoins, et ce quel que soit l'intensité du stress et l'origine du matériel végétal.

2.2.5.2. Stress hydrique

La mesure du poids sec de la partie aérienne et de la plante entière n'a montré aucune différence entre les plantules témoins et celles soumises à la contrainte hydrique, et ce quel que soit l'origine du matériel végétal (Tableau 5.8).

Les jeunes plantules de la localité d'El Mesrane soumises à 100 g/l montrent une augmentation du poids sec des racines avec une valeur de 0,11 g comparativement aux témoins avec 0,08 g.

Tableau 5.8: Effet des solutions de PEG sur le poids sec.

| | Plante entière | Partie aérienne | Partie racinaire |
|--------------------|-------------------|--------------------|---------------------|
| Djelfa | | | |
| Témoin | 0,31±0,04a | 0,21±0,02a | 0,08±0,01bc |
| PEG 50g/l | 0,25±0,01b | 0,16±0,03a | 0,09±0,01c |
| PEG 100g/l | 0,30±0,05b | 0,17±0,02a | 0,11±0,01ab |
| Tamanrasset | | | |
| Témoin | 0,38±0,04a | 0,31±0,03a | 0,09±0,01ab |
| PEG 50g/l | 0,41±0,07a | 0,29±0,04a | 0,12±0,02a |
| PEG 100g/l | 0,35±0,03a | 0,28±0,03a | 0,07±0,01b |

Les lettres indiquent que les traitements sont significativement différents à un seuil de 1 % ($P \leq 0,01$), selon le test de Tukey. Chaque valeur représente la moyenne 30 répétitions \pm l'écart type.

Les jeunes plantules de la localité du Hoggar quant à elles ont un poids sec plus important lorsqu'elles sont traitées avec 50 g/l de PEG, elles enregistrent des moyennes de 0,12 g. En revanche, lorsqu'elles sont soumises à une dose de PEG plus élevée (100g/l), le poids sec des racines diminue, il est de 0,07g, statistiquement similaire à celui des témoins avec 0,09g.

2.2.6. Teneur en eau

2.2.6.1. Stress salin

Les tests de l'analyse de variance n'ont montré aucunes différences significatives entre les deux écotypes étudiés soumis à la contrainte saline (Annexe 1.7).

Les plantules de la localité d'El Mesrane soumises à une contrainte saline de 100 mM de NaCl présentent une légère augmentation de la teneur en eau au niveau de la partie aérienne enregistrant ainsi une moyenne de 80 % comparée aux plantules témoins avec 73% d'humidité (Figure 5.8). Une concentration en sels élevée de 300 mM entraîne une diminution drastique de la teneur en eau qui atteint 42,9 % en comparaison avec les plantules témoins présentant une humidité plus élevée de 73%. Au niveau racinaire, la teneur en eau des plantules soumises au stress est similaire à celle des témoins avec une valeur avoisinant 92% (Figure 5.8).

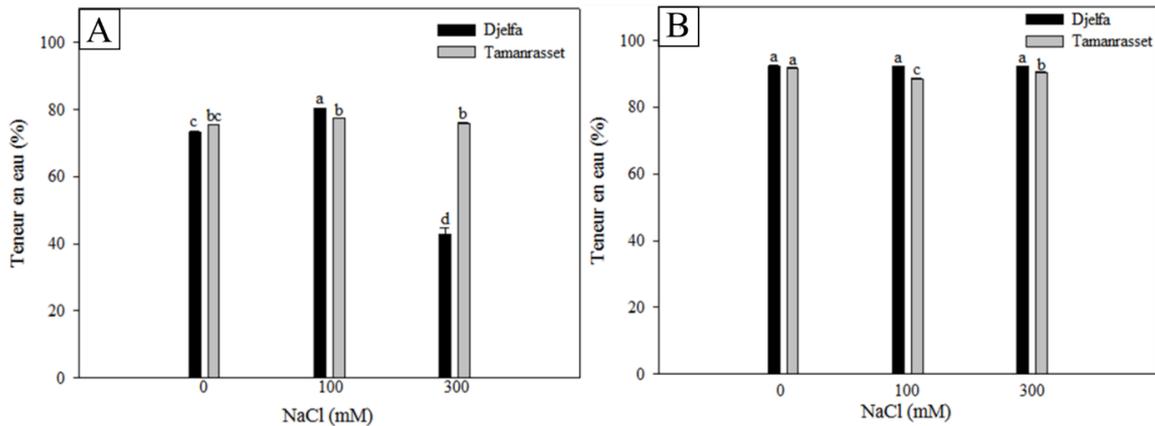


Figure 5.8 : Effet des solutions de NaCl sur la teneur en eau.

A : Partie aérienne

B : Partie racinaire

Chaque valeur représente la moyenne 30 répétitions \pm l'écart type. Les lettres indiquent que les traitements sont significativement différents à un seuil de 1 % ($P \leq 0,01$), selon le test de Tukey.

Les feuilles et la tige des plantules de la localité du Hoggar (Tamanrasset) soumises au stress salin n'enregistrent aucune différence de teneur en eau comparées aux témoins, les valeurs oscillent entre 75 et 77 %, respectivement. Au niveau des racines, la teneur en eau des plantules soumises à un stress à 100 et 300 mM de NaCl est de 88 et 90 % respectivement. Ces valeurs sont statistiquement différentes de celles enregistrées chez les plantules témoins dont le taux d'humidité est de l'ordre de 91,6 %.

2.2.6.2. Stress hydrique

Les plantules d'*Atriplex halimus* soumises à la contrainte hydrique montrent une diminution de la teneur en eau avec l'augmentation des concentrations en PEG6000, pour les deux écotypes étudiés (Figure 5.9), aucune différence statistique n'est enregistrée entre les deux écotypes étudiés (Annexe 1.8).

Au niveau de la partie aérienne, les plantules obtenues à partir des graines récoltées dans la localité d'El Mesrane soumises à un stress à 50 et 100 g/l de PEG ont des teneurs en eau respectives de 71,3 et 56,9 %, comparées aux témoins dont la moyenne est de 73,4 %. Les plantules issues de la localité du Hoggar quant à elles ont des taux d'humidité de 66, 68 et 75% lorsqu'elles sont traitées avec des solutions à 0, 50 et 100 g/l de PEG6000.

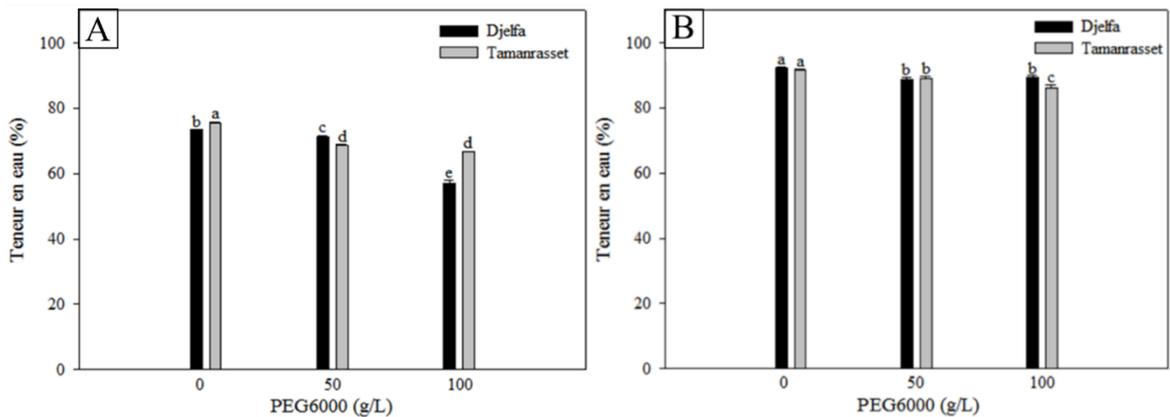


Figure 5.9: Effet des solutions de PEG sur la teneur en eau.

A : Partie aérienne

B : Partie racinaire

Chaque valeur représente la moyenne 30 répétitions \pm l'écart type. Les lettres indiquent que les traitements sont significativement différents à un seuil de 1 % ($P \leq 0,01$), selon le test de Tukey.

Pour l'ensemble des traitements, les teneurs en eau enregistrées au niveau racinaire sont plus importantes comparées à celles de la partie aérienne (Figure 5.9). Les plantules témoins issues de la région de Djelfa ont une teneur en eau de 92,2 %, celle-ci diminue et atteint 88 et 89 % lorsque les plantules sont soumises à des solutions de PEG6000 à 50 et 100 g/l. Aux mêmes concentrations, les plantules issues de la localité du Hoggar ont des teneurs respectives de 89 et 86 % comparé aux témoins ayant 91,6 %.

2.2.7. Pigments chlorophylliens

2.2.7.1. Stress salin

Les résultats de l'analyse de la variance n'ont montré aucune différence de comportement des plantules entre les deux écotypes soumis aux différentes solutions de NaCl (100 et 300 mM) concernant les teneurs en chlorophylles « a », « b » et « a+b » (Annexe 1.9).

Les jeunes plantules témoins de la localité d'El Mesrane enregistrent des teneurs en chlorophylle « a » de 1,11 mg/g statistiquement similaires à celles relevées chez les plantules soumises à 100 et 300 mM de NaCl avec des moyennes respectives de 0,91 et 0,98 mg/g. Aux mêmes concentrations (100 et 300 mM), les jeunes plantules de la localité du Hoggar présentent des taux de chlorophylle « a » de 0,94 et 1,15 mg/g respectivement, ces valeurs ne sont statistiquement pas différentes de celles enregistrées chez les plantules témoins avec 1,03 mg/g de matière fraîche (Figure 5.10).

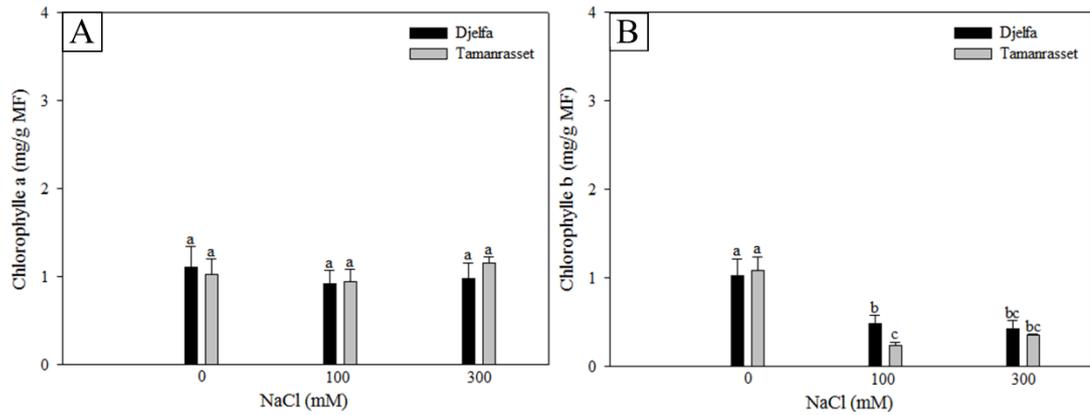


Figure 5.10: Effet des solutions de NaCl sur la teneur en chlorophylle « a » et « b »

A : Chlorophylle a

B : Chlorophylle b

Chaque valeur représente la moyenne 30 répétitions \pm l'écart type. Les lettres indiquent que les traitements sont significativement différents à un seuil de 1 % ($P \leq 0,01$), selon le test de Tukey

En ce qui concerne les teneurs en chlorophylle « b », une importante réduction est observée chez les plantules traitées avec les solutions salines (100 et 300 mM). Les plantules témoins des deux écotypes étudiés (Djelfa et Tamanrasset) enregistrent des teneurs en chlorophylle « b » équivalentes avec une moyenne de 1 mg/g comparativement aux jeunes plantules soumises au stress avec 100 et 300 mM de NaCl avec des teneurs respectives de 0,48 et 0,42 mg/g (Localité d'El Mesrane), et 0,24 et 0,35 mg/g (Localité du Hoggar).

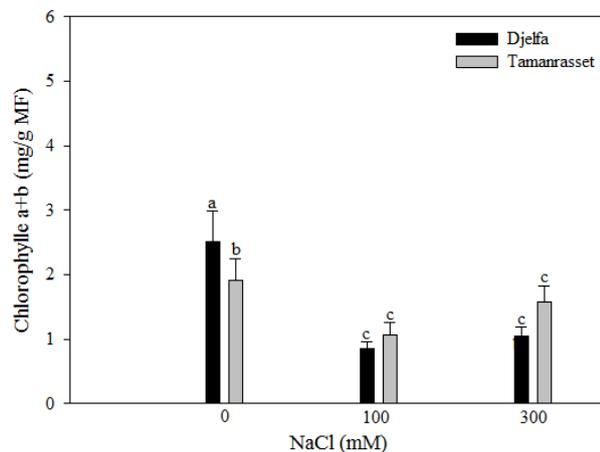


Figure 5.11: Effet des solutions de NaCl sur la teneur en chlorophylle « a+b ».

Chaque valeur représente la moyenne 30 répétitions \pm l'écart type. Les lettres indiquent que les traitements sont significativement différents à un seuil de 1 % ($P \leq 0,01$), selon le test de Tukey

Les résultats du dosage de la chlorophylle « a+b » sont analogues à ceux de la chlorophylle « b » montrant une importante diminution des teneurs chez les plantules soumises à la contrainte saline (Figure 5.11). Lorsqu'elles sont traitées

avec des solutions de NaCl, les valeurs de chlorophylle « a+b » des plantules de la localité d'El Mesrane sont de 2,5 mg/g pour les témoins nettement supérieures à celles enregistrées chez les plantules traitées avec 100 et 300 mM de NaCl où la moyenne enregistrée est de 0,85 et 1,05 mg/g respectivement. Les teneurs enregistrées chez les plantules provenant de la localité du Hoggar suivent une tendance similaire avec 1,91 mg/g pour les plantules témoins comparées à celles soumises aux doses salines de 100 et 300 mM de NaCl où on enregistre 1,06 et 1,57 mg/g respectivement.

2.2.7.2. Stress hydrique

Les résultats de l'analyse ANOVA ont montré une différence de comportement des plantules entre les deux écotypes soumis aux différentes solutions de PEG6000 (50 et 100 g/l) concernant les teneurs en chlorophylles « b » et « a+b » (Annexe 1.10).

Aucune différence significative n'est observée lorsqu'une dose modérée de 50 g/l de PEG est induite. La teneur en chlorophylle « a » des plantules soumises au stress enregistrée est alors de 1,2 mg/g en comparaison avec les témoins qui enregistrent une quantité de 1 mg/g, et ce quel que soit l'origine du matériel végétal. En revanche, les jeunes plantules soumises à des solutions de 100 g/l de PEG présentent une forte diminution de la chlorophylle « a » d'autant plus importante lorsque les plantules proviennent de la localité du Hoggar avec 0,34 mg/g comparativement à celles de la localité d'El Mesrane avec 0,72 mg/g (Figure 5.12).

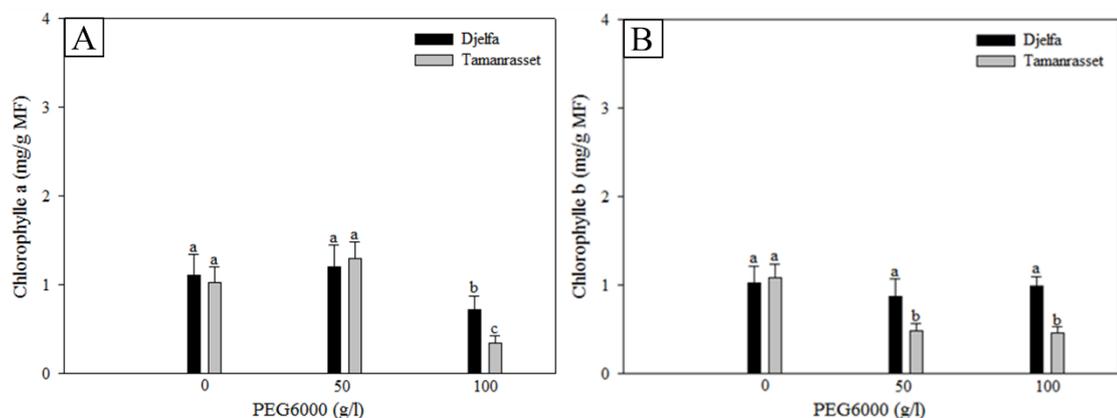


Figure 5.12: Effet des solutions de PEG sur la teneur en chlorophylle « a » et « b ».

A : Chlorophylle a

B : Chlorophylle b

Chaque valeur représente la moyenne 30 répétitions \pm l'écart type. Les lettres indiquent que les traitements sont significativement différents à un seuil de 1 % ($P \leq 0,01$), selon le test de Tukey.

Les jeunes plantules de la localité d'El Mesrane soumises à la contrainte hydrique enregistrent des valeurs de chlorophylle « b » équivalentes à celles des témoins oscillant entre 0,8 et 1 mg/g de matière fraîche (Figure 5.12). Les plantules de la région de Tamanrasset quant à elles enregistrent de faibles teneurs lorsqu'elles sont traitées avec 50 et 100 g/l de PEG où en moyenne nous avons obtenue entre 0,48 et 0,46 mg/g comparées aux plantules témoins avec environ 1 mg/g.

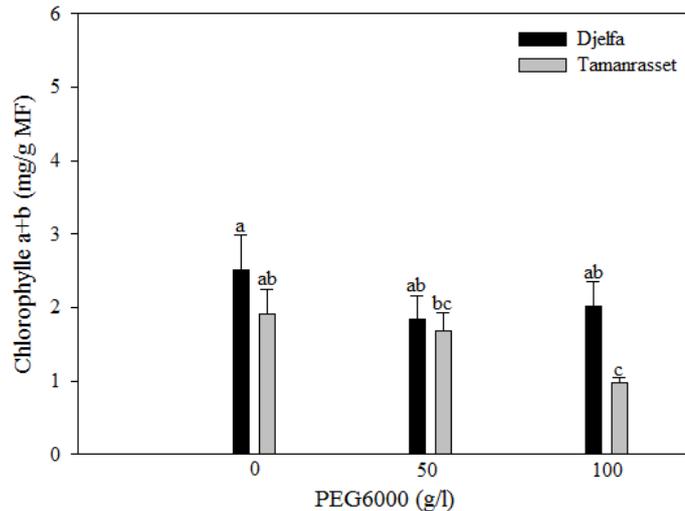


Figure 5.13: Effet des solutions de PEG sur la teneur en chlorophylle « a+b ». Chaque valeur représente la moyenne 30 répétitions \pm l'écart type. Les lettres indiquent que les traitements sont significativement différents à un seuil de 1 % ($P \leq 0,01$), selon le test de Tukey.

Les plantules de la localité d'El Mesrane soumises à 50 et 100 g/l de PEG ont des teneurs en chlorophylle « a+b » de 1,8 et 2,01 mg/g respectivement, les quantités enregistrées sont faibles comparées aux témoins avec 2,5 mg/g. Toutefois, l'analyse ANOVA a indiqué que cette différence n'est statistiquement pas significative (Figure 5.13).

Les jeunes plantules de la localité du Hoggar quant à elles, présentent une réduction de la quantité de chlorophylle « a+b » d'autant plus importante lorsqu'elles sont soumises à des solutions de 100 g/l de PEG6000, les valeurs sont en moyenne de 0,96 mg/g statistiquement différente des témoins avec 1,91 mg/g de MF.

2.2.8. Teneur en caroténoïdes

2.2.8.1. Stress salin

Les résultats du dosage des caroténoïdes ont montré des différences hautement significatives entre les doses de NaCl testées (Annexe 1.9). Cette teneur diminue chez les plantules soumises à 100 mM de NaCl enregistrant en moyenne 0,5 mg/g

comparées aux plantules témoins dont la teneur moyenne est de 0,81 et 1 mg/g respectivement pour l'écotype de Djelfa et de Tamanrasset. A une concentration plus élevée de 300 mM, la teneur en caroténoïdes est beaucoup plus affectée chez les plantules de la localité d'El Mesrane (0,15 mg/g) comparée à celles de la localité du Hoggar qui enregistre 0,52 mg/g (Figure 5.14).

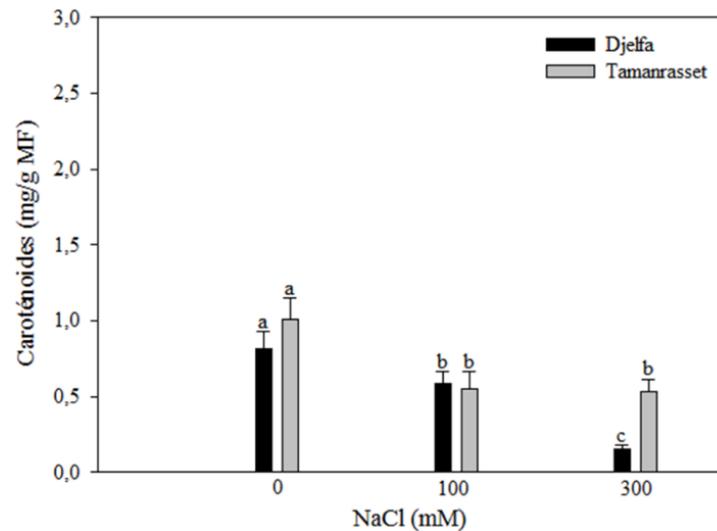


Figure 5.14: Effet des solutions de NaCl sur la teneur en caroténoïdes. Chaque valeur représente la moyenne 30 répétitions \pm l'écart type. Les lettres indiquent que les traitements sont significativement différents à un seuil de 1 % ($P \leq 0,01$), selon le test de Tukey.

2.2.8.2. Stress hydrique

Les résultats présentés dans la figure 5.15 montrent que la teneur en caroténoïdes est fortement affectée par la contrainte hydrique. L'analyse de la variance a indiqué une différence hautement significative entre les différents traitements (0, 50, 100 g/l), et ce quel que soit l'écotype étudié.

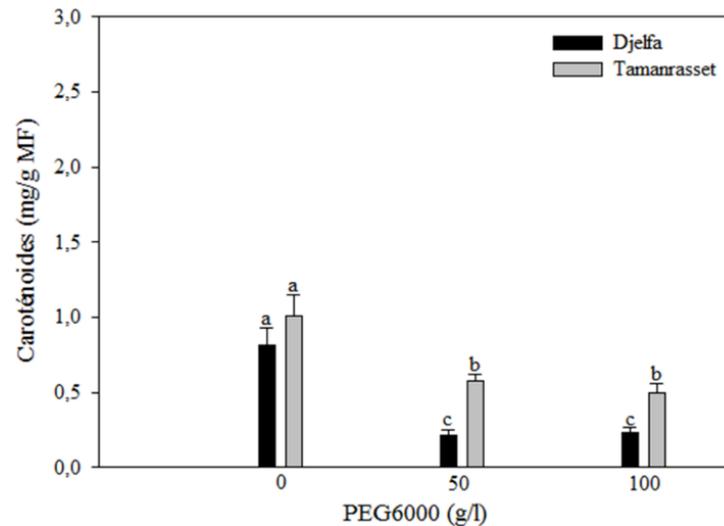


Figure 5.15: Effet des solutions de PEG sur la teneur en caroténoïdes.

Chaque valeur représente la moyenne 30 répétitions \pm l'écart type. Les lettres indiquent que les traitements sont significativement différents à un seuil de 1 % ($P \leq 0,01$), selon le test de Tukey.

Les jeunes plantules témoins provenant de la localité d'El Mesrane enregistrent une moyenne de 0,8 mg/g nettement supérieure aux teneurs relevées chez les plantules soumises au stress qui enregistrent 0,2 mg/g, et ce quel que soit l'intensité du stress appliqué (50 et 100 g/l de PEG). Les plantules de la localité du Hoggar montrent une tendance similaire avec des teneurs en caroténoïdes d'environ 1mg/g pour les plantules témoins et 0,5 mg/g pour les plantules soumises à 50 et 100 g/l de PEG

2.2.9. Teneur en ion Na^+

2.2.9.1. Stress salin

Les résultats du dosage du sodium (Na^+) dans les plantules d'*Atriplex halimus* ont montré que les teneurs varient en fonction de l'écotype (Djelfa, Tamanrasset), de la nature du stress (hydrique, salin) et de la partie de la plante étudié (aérienne, racinaire).

Les plantules d'*Atriplex halimus* présentent une accumulation des ions Na^+ avec l'augmentation des concentrations en NaCl, et ce quel que soit l'origine du matériel végétal (Figure 5.16). Les résultats de l'analyse ANOVA montrent des différences significatives entre les différentes doses testées pour les deux écotypes étudiés (Annexe 1.11).

Les plantules issues des graines de la localité d'El Mesrane (Djelfa) soumises à un stress à 100 et 300 mM de NaCl enregistrent des teneurs en sodium respectives de 447 et 1041 g/kg de matière sèche, comparé aux plantules témoins avec 61 g/kg.

La partie aérienne des plantules issues de la localité du Hoggar (Tamanrasset) présentent des quantités d'ions Na^+ de 70, 316 et 920 g/kg respectivement traitées avec des solutions à 0, 100 et 300 mM de NaCl, respectivement.

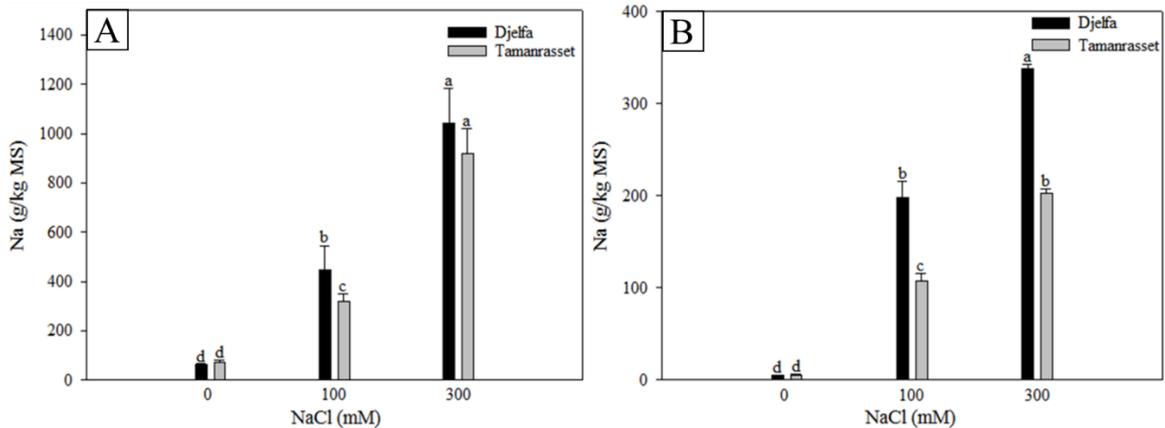


Figure 5.16 : Effet des solutions de NaCl sur la teneur sodium.

A : Partie aérienne

B : Partie racinaire

Chaque valeur représente la moyenne 30 répétitions \pm l'écart type. Les lettres indiquent que les traitements sont significativement différents à un seuil de 1 % ($P \leq 0,01$), selon le test de Tukey

La quantité de sodium relevée au niveau des racines est moins importante comparativement à la partie aérienne des plantules. La teneur en Na^+ enregistrée chez les plantules témoins est de 4,43 et 5,10 g/kg pour l'écotype de Djelfa et Tamanrasset respectivement. L'analyse de la variance a montré une différence significative entre les plantules témoins et celles traitées avec les solutions de NaCl. Lorsqu'elles sont soumises à un stress à 100 et 300 mM de NaCl, les plantules présentent des teneurs moyennes de 198 et 337 g/kg respectivement pour celles issues de la localité d'El Mesrane et 107 et 202g/kg lorsqu'elles proviennent de la localité du Hoggar.

2.2.9.2. Stress hydrique

Les plantules issues de la localité du Hoggar soumises à un stress hydrique de 50 g/l de PEG enregistrent au niveau de la partie aérienne une moyenne de 84,9 g/kg comparé aux plantules témoins avec 70,3 g/kg. En revanche, les plantules traitées avec 100 g/l PEG enregistrent des taux de sodium similaire à ceux des témoins avec une moyenne de 79 g/kg (Figure 5.17). Les plantules provenant de la localité d'El Mesrane soumises à un stress à 50 et 100 g/l de PEG enregistrent une augmentation de la teneur en Na^+ au niveau de la partie aérienne qui atteint

des valeurs respectives de 77 et 114,5 g/kg comparé aux témoins dont la moyenne est 61 g/kg.

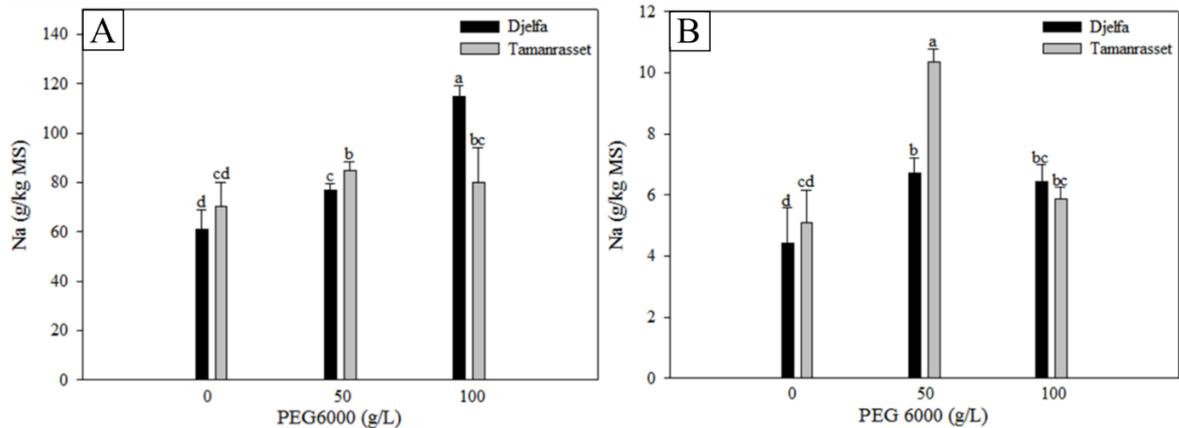


Figure 5.17 : Effet des solutions de PEG sur la teneur sodium.

A : Partie aérienne

B : Partie racinaire

Chaque valeur représente la moyenne 30 répétitions \pm l'écart type. Les lettres indiquent que les traitements sont significativement différents à un seuil de 1 % ($P \leq 0,01$), selon le test de Tukey

Au niveau des racines, les teneurs en ion Na^+ les plus élevées sont enregistrées chez les plantules soumises à un stress avec 50g/l de PEG avec des moyennes de 6,7 et 10,35 g/kg pour les plantules de l'écotype de Djelfa et de Tamanrasset respectivement. Les plantules témoins de la localité d'El Mesrane et du Hoggar accumulent des teneurs plus faibles respectives de 4,4 et 5,1 g/kg.

2.2.10. Teneur en ion K^+

2.2.10.1. Stress salin

Le dosage des ions potassium (K^+) au niveau de la partie aérienne des plantules soumises à la contrainte saline n'a montré aucune différence entre les traitements, et ce pour les deux écotypes étudiés. Les valeurs oscillent entre 360 et 420 g/kg pour les plantules de la localité d'El Mesrane et entre 414 et 561 g/kg pour les plantules de la localité du Hoggar (Tamanrasset) (Figure 5.18).

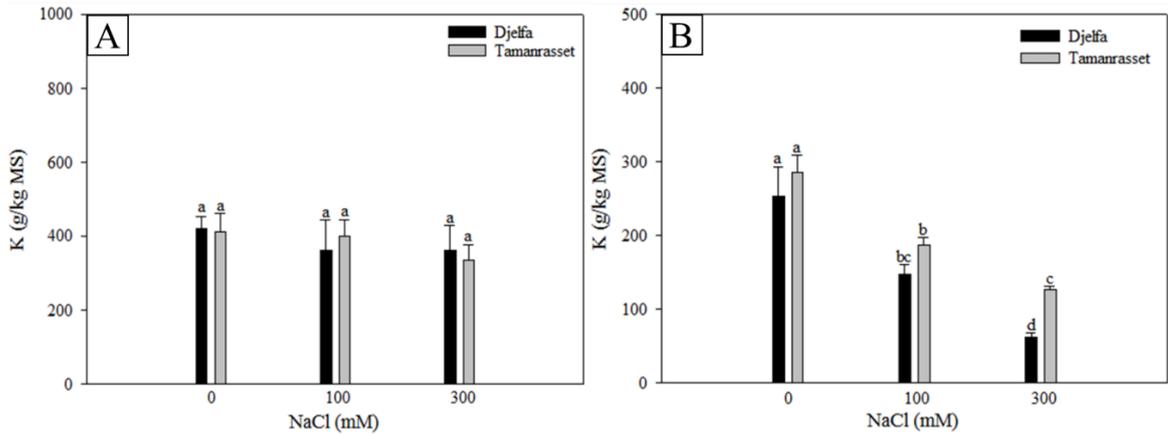


Figure 5.18 : Effet des solutions de NaCl sur la teneur en potassium.

A : Partie aérienne

B : Partie racinaire

Chaque valeur représente la moyenne 30 répétitions \pm l'écart type. Les lettres indiquent que les traitements sont significativement différents à un seuil de 1 % ($P \leq 0,01$), selon le test de Tukey

Au niveau racinaire, l'analyse ANOVA n'a montré aucune différence statistique entre les deux écotypes de Djelfa et de Tamanrasset. Les résultats indiquent une diminution de la teneur en potassium avec l'augmentation des concentrations en sels et en polyéthylène glycol. Les plantules soumises à un stress à 300 mM de NaCl enregistrent des quantités en K^+ de 62,7 et 126,9 g/kg lorsqu'elles sont issues de la localité d'El Mesrane et du Hoggar respectivement comparés aux plantules témoins où les teneurs sont plus élevées avec 253 et 285 g/kg.

2.2.10.2. Stress hydrique

Sous contrainte hydrique, les résultats du dosage des ions K^+ au niveau de la partie aérienne des plantules issues de la localité du Hoggar n'ont montré aucune différence entre les traitements, les valeurs oscillent entre 374 et 411 g/kg de matière sèche (Figure 5.19).

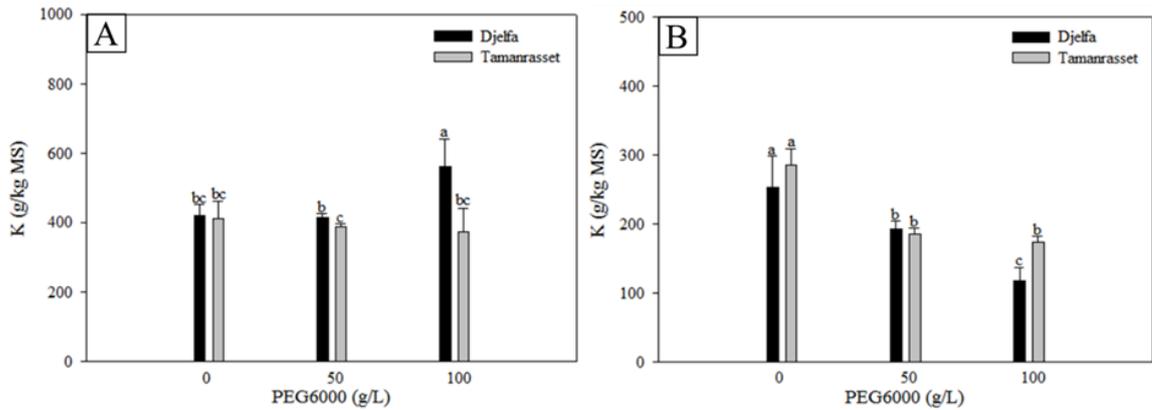


Figure 5.19 : Effet des solutions de PEG sur la teneur potassium.

A : Partie aérienne

B : Partie racinaire

Chaque valeur représente la moyenne 30 répétitions \pm l'écart type. Les lettres indiquent que les traitements sont significativement différents à un seuil de 1 % ($P \leq 0,01$), selon le test de Tukey

Les plantules obtenues à partir des graines récoltées dans la localité d'El Mesrane quant à elles ne montrent aucune différence de teneur en potassium entre les plantules témoins et les celles soumises à un stress à 50 g/l avec une moyenne de 416 g/kg. Une concentration en PEG plus élevée de 100g/l entraîne une accumulation importante des ions K^+ avec une valeur d'environ 561 g/kg de MS comparé aux plantules témoins dont la teneur avoisine 400 g/kg.

Les plantules de la localité d'El Mesrane traitées avec 0, 50 et 100 g/l de PEG enregistrent au niveau des racines des valeurs respectives de 253, 193 et 118 g/kg. Au mêmes concentrations (0, 50 et 100 g/l), les plantules de la localité du Hoggar présentent des teneurs en K^+ de 285, 184 et 173 g/kg.

2.2.11. Teneur en sucres solubles

2.2.11.1. Stress salin

Les plantules d'*Atriplex halimus* L. soumises à la contrainte hydrique et saline présentent des teneurs en sucres solubles qui varient en fonction de l'écotype étudié, de l'intensité du stress et de la partie de la plante évaluée (Figure 5.20).

Les jeunes plantules issues de la localité d'El Mesrane enregistrent une légère augmentation des teneurs en sucres solubles au niveau de la partie aérienne lorsqu'elles sont soumises à 100 mM de NaCl enregistrant ainsi une quantité de 0,49 $\mu\text{g/g}$ de matières fraiche comparativement aux plantules témoins avec 0,31 $\mu\text{g/g}$. Toutefois, cette augmentation n'est statistiquement pas différente. Une dose plus élevée en NaCl de 300 mM n'a également eu aucun impact sur les quantités de sucres solubles accumulées (0,29 $\mu\text{g/g}$). Les résultats du dosage de ces composées au niveau racinaire suivent une tendance similaire à ceux obtenues

au niveau du système aérien de la plantule. Aucune différence statistique n'est notée entre les jeunes plantules témoins et celles soumises au stress qui présentent des taux en sucres solubles variant de 0,22, 0,27 et 0,33 $\mu\text{g/g}$ sous stress respectivement induit par 300, 100 et 0 mM de NaCl (Figure 5.20).

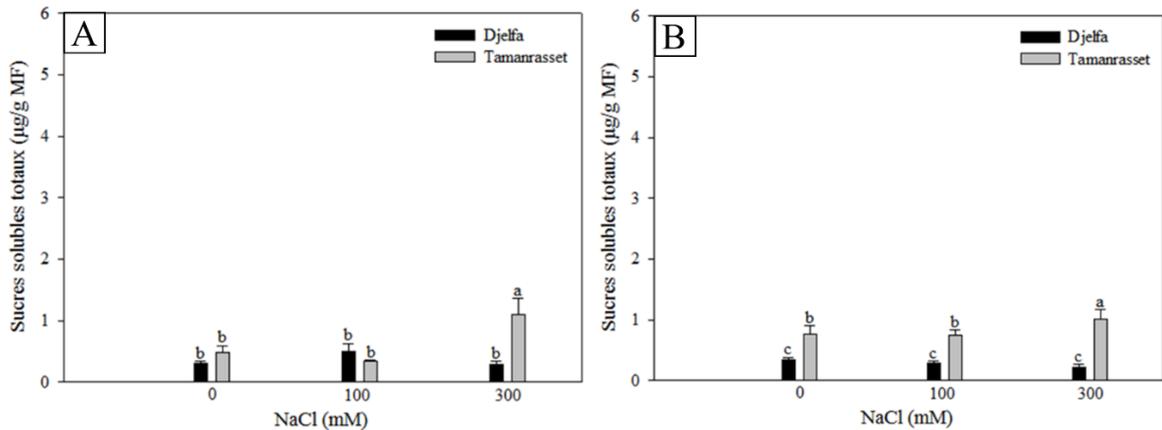


Figure 5.20: Effet des solutions de NaCl sur la teneur en sucres solubles.

A : Partie aérienne

B : Partie racinaire

Chaque valeur représente la moyenne 30 répétitions \pm l'écart type. Les lettres indiquent que les traitements sont significativement différents à un seuil de 1 % ($P \leq 0,01$), selon le test de Tukey

Le dosage des teneurs en sucres solubles chez les plantules provenant de la localité du Hoggar a montré une accumulation plus importante au niveau de la partie racinaire. Une dose modérée de sels de 100 mM induit des teneurs de 0,33 et 0,74 $\mu\text{g/g}$ au niveau de la partie aérienne et racinaire respectivement, ces valeurs sont similaires à celles enregistrées chez les plantules témoins avec 0,48 et 0,76 $\mu\text{g/g}$. Les plantules soumises à une forte dose de sels de 300 mM accumulent des concentrations élevées en sucres solubles avoisinant en moyenne 1 $\mu\text{g/g}$, et ce quel que soit la partie de la plante étudié (aérienne, racinaire).

2.2.11.2. Stress hydrique

Les plantules d'*Atriplex halimus* soumises à la contrainte hydrique montrent un comportement différent de celui observé sous stress salin. La teneur en sucres solubles au niveau de la partie aérienne des jeunes plantules provenant de la localité d'El Mesrane est très élevée avec l'augmentation des concentrations en PEG6000 (Figure 5.21). Les plantules témoins enregistrent des teneurs d'environ 0,31 $\mu\text{g/g}$ comparativement aux plantules traitées avec 50 et 100 g/l de PEG dont les valeurs atteignent 3,27 et 4,48 $\mu\text{g/g}$ respectivement. Au niveau des racines, aucune différence statistique n'est relevée entre les plantules témoins avec

0,33 $\mu\text{g/g}$ et celles soumises aux stress avec des moyennes de 0,25 et 0,35 $\mu\text{g/g}$ à 100 et 50 g/l respectivement.

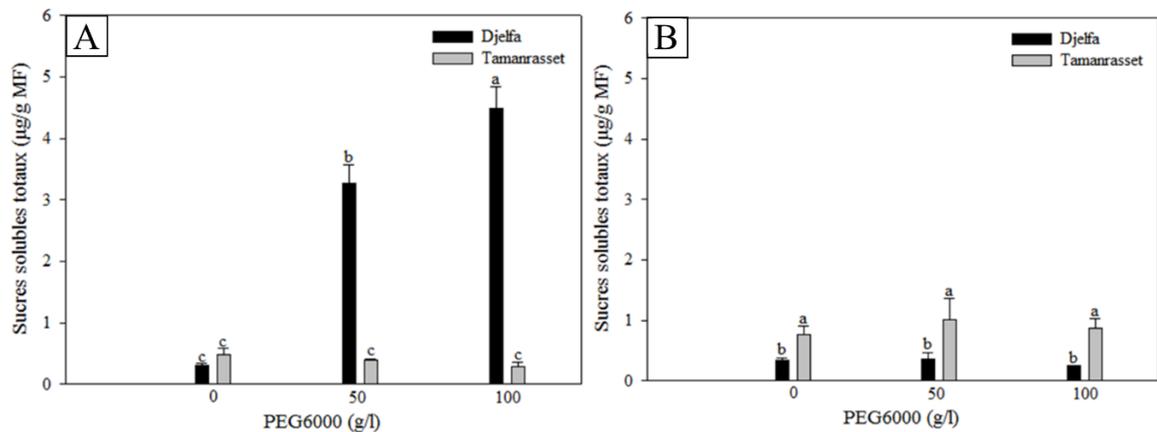


Figure 5.21 : Effet des solutions de PEG sur la teneur en sucres solubles.

A : Partie aérienne

B : Partie racinaire

Chaque valeur représente la moyenne 30 répétitions \pm l'écart type. Les lettres indiquent que les traitements sont significativement différents à un seuil de 1 % ($P \leq 0,01$), selon le test de Tukey

La teneur en sucres solubles des plantules de la région de Tamanrasset n'est pas affectée par la contrainte hydrique, aucune différence statistique n'est notée entre les plantules témoins et celles soumises au stress. Cependant, une accumulation plus importante est observée au niveau des racines lorsqu'elles sont soumises à un stress de 0, 50 et 100 g/l de PEG où nous enregistrons des valeurs respectives de 0,76, 1,01 et 0,86 $\mu\text{g/g}$ comparativement à la partie aérienne qui enregistrent des teneurs plus faibles allant de 0,48, 0,38 et 0,28 $\mu\text{g/g}$ aux mêmes concentrations testées.

2.2.12. Teneur en proline

2.2.12.1. Stress salin

Les plantules obtenues à partir des graines récoltées dans la localité d'El Mesrane (Djelfa) subissant un stress marqué avec des solutions de NaCl à 100 mM enregistrant ainsi une augmentation de la teneur en proline qui atteint une moyenne de 12,7 mg/g comparé aux plantules témoins où nous enregistrons une quantité très faible de 1,08 mg/g pour 100 mg de matière fraîche. Les plantules issues de la localité du Hoggar quant à elles, présentent un taux de proline de 5,61 mg/g soumises sous un stress à 100 mM de NaCl, statistiquement similaire à celui des témoins avec 3,39mg/g.

Un stress élevé induit par des solutions de NaCl à 300 mM entraîne une accumulation de proline au niveau de la partie aérienne des plantules des deux écotypes comparés aux témoins (Figure 5.22 A). Les jeunes plantules de la localité d'El Mesrane (Djelfa) présentent un taux de 121,8 mg/g, deux fois plus important que celui enregistré chez les plantules de la localité du Hoggar avec une moyenne de 62,6 mg/g.

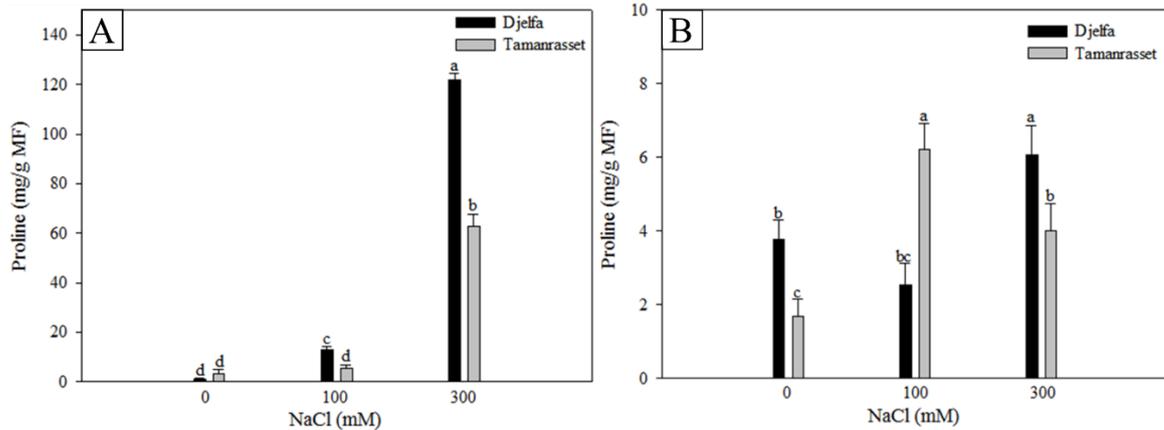


Figure 5.22: Effet des solutions de NaCl sur la teneur en proline.

A : Partie aérienne

B : Partie racinaire

Chaque valeur représente la moyenne 30 répétitions \pm l'écart type. Les lettres indiquent que les traitements sont significativement différents à un seuil de 1 % ($P \leq 0,01$), selon le test de Tukey

Les quantités de proline enregistrés au niveau du système racinaire sont moins importantes comparativement à la partie aérienne, et ce quel que soit la nature du stress (hydrique, salin) (Figure 5.22). Les plantules de la localité d'El Mesrane soumises à un stress à 100 mM de NaCl présentent une teneur en proline de 2,54 mg/g statistiquement équivalente à celle enregistrée chez les plantules témoins qui est de 3,75 mg/g. Une concentration en sels de 300 mM entraîne une synthèse plus élevée de proline avec une moyenne de 6,06 mg/g.

En ce qui concerne les plantules de la localité du Hoggar, une contrainte saline induit des quantités élevées de proline de 4,01 et 6,22 mg/g à des stress respectifs de 300 et 100 mM de NaCl comparées aux plantules témoins ayant des teneurs plus faibles avec 1,67 mg/g.

2.2.12.2. Stress hydrique

Une faible dose de 50 g/l n'a pas d'effet sur la quantité de proline accumulée chez les plantules de la localité d'El Mesrane et du Hoggar qui présentent des taux respectifs de 2,04 et 5,54 mg/g comparativement aux témoins dont les moyennes

sont de 1,07 et 3,39 mg/g. Les plantules soumises à un stress à 100 g/l de PEG6000 enregistrent une quantité élevée en proline de 10,5 et 19,1 mg/g pour les plantules de la région de Djelfa et de Tamanrasset respectivement (Figure 5.23).

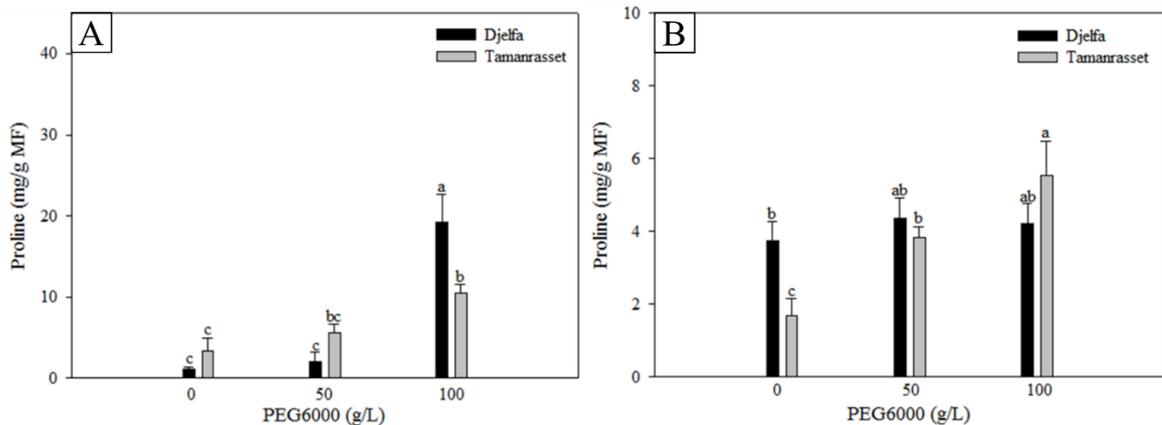


Figure 5.23: Effet des solutions de PEG sur la teneur en proline.

A : Partie aérienne

B : Partie racinaire

Chaque valeur représente la moyenne 30 répétitions \pm l'écart type. Les lettres indiquent que les traitements sont significativement différents à un seuil de 1 % ($P \leq 0,01$), selon le test de Tukey

La contrainte hydrique n'a pas d'effet sur les teneurs en proline au niveau des racines des plantules de la localité d'El Mesrane qui présentent des quantités similaires à celles des témoins avec une moyenne de 4 mg/g de MF (Figure 5.23). En revanche, les plantules de la localité du Hoggar soumises au stress à 50 et 100 g/l enregistrent des valeurs respectives de 3,81 et 5,54 mg/g comparées aux témoins ayant 1,67 mg/g de proline.

Le dosage de la proline au niveau des système aérien et racinaire des plantules d'*Atriplex halimus* a montré des différences significatives entre les écotypes (Djelfa, Tamanrasset) et les stress étudiés (hydrique, salin). Les plantules soumises à la contrainte hydrique ont montré de faibles teneurs comparées à celles enregistrées chez les plantules soumises aux sels.

2.2.13. Teneur en glycine bêtaïne

2.2.13.1. Stress salin

Les résultats ont montré que la concentration en glycine bêtaïne au niveau de la partie aérienne des plantules témoins de la localité du Hoggar est en moyenne de 191 $\mu\text{g/g}$ de matière fraîche. Des solutions de NaCl à 100 et 300 mM entraînent une diminution importante avec des quantités moyennes respectives de 55 et 90 $\mu\text{g/g}$ (Figure 5.24).

Les plantules issues de l'écotype d'El Mesrane (Djelfa) menées en conditions témoins enregistrent des teneurs en glycine bêtaïne de 124,4 $\mu\text{g/g}$. Cette valeur diminue considérablement chez les plantules soumises à un stress avec 100 mM de NaCl et atteint une moyenne de 63,5 $\mu\text{g/g}$. En revanche, une solution de sels à 300 mM de NaCl entraîne une accumulation importante de proline au niveau des feuilles avec 195 $\mu\text{g/g}$.

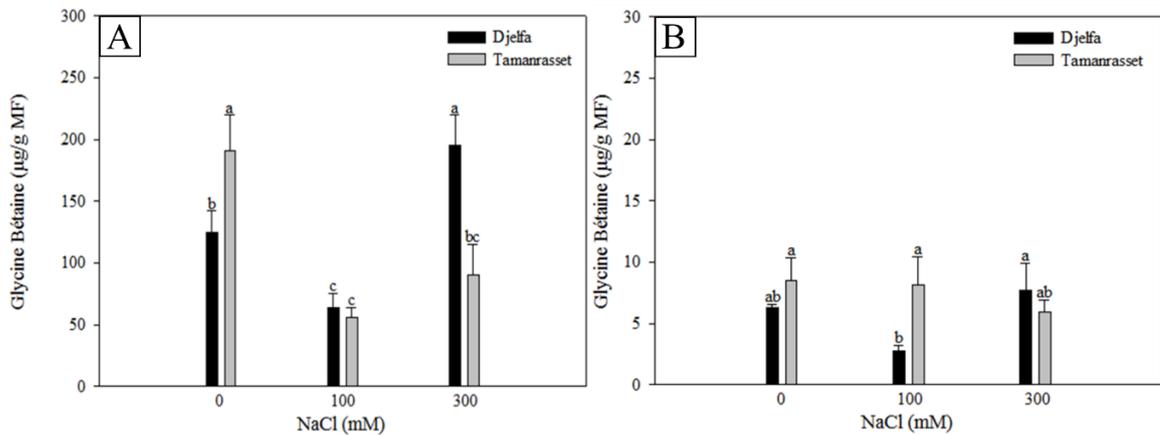


Figure 5.24 : Effet des solutions de NaCl sur la teneur en glycine bêtaïne.

A : Partie aérienne

B : Partie racinaire

Chaque valeur représente la moyenne 30 répétitions \pm l'écart type. Les lettres indiquent que les traitements sont significativement différents à un seuil de 1 % ($P \leq 0,01$), selon le test de Tukey

Les plantules provenant de la localité du Hoggar soumises au stress avec 300 mM de NaCl enregistrent une teneur en glycine bêtaïne de 5,96 $\mu\text{g/g}$, cette valeur est statistiquement similaire à celle relevée chez les plantules témoins et celles soumises 100 mM de NaCl où nous enregistrons 8 $\mu\text{g/g}$. Les résultats de l'analyse de variance n'ont montré aucune différence statistique entre les deux écotypes (Annexe 1.12). Les plantules de la localité d'El Mesrane soumises à la contrainte saline ne montrent aucune différence de teneur en glycine bêtaïne avec les plantules témoins, les valeurs sont de 2,73, 6,24 et 7,67 $\mu\text{g/g}$ pour les plantules soumises à 100, 0 et 300 mM de NaCl respectivement.

2.2.13.2. Stress hydrique

Les plantules provenant de la localité d'El Mesrane (Djelfa) traitées avec des solutions de PEG6000 à 100 g/l montrent une accumulation importante de glycine bêtaïne avec une moyenne de 218,57 $\mu\text{g/g}$ comparé aux témoins et aux plantules soumises à 50g/l de PEG dont la moyenne est de 124,4 et 130,8 $\mu\text{g/g}$ respectivement.

Les plantules issues de la localité du Hoggar enregistrent quant à elles un taux de glycine bêtaïne d'environ 156 $\mu\text{g/g}$ inférieur à celui des plantules témoins qui est de 191,2 $\mu\text{g/g}$. Toutefois, l'analyse de variance n'a montré aucune différence statistique entre les différents traitements (0, 50 et 100 g/l de PEG) (Figure 5.25).

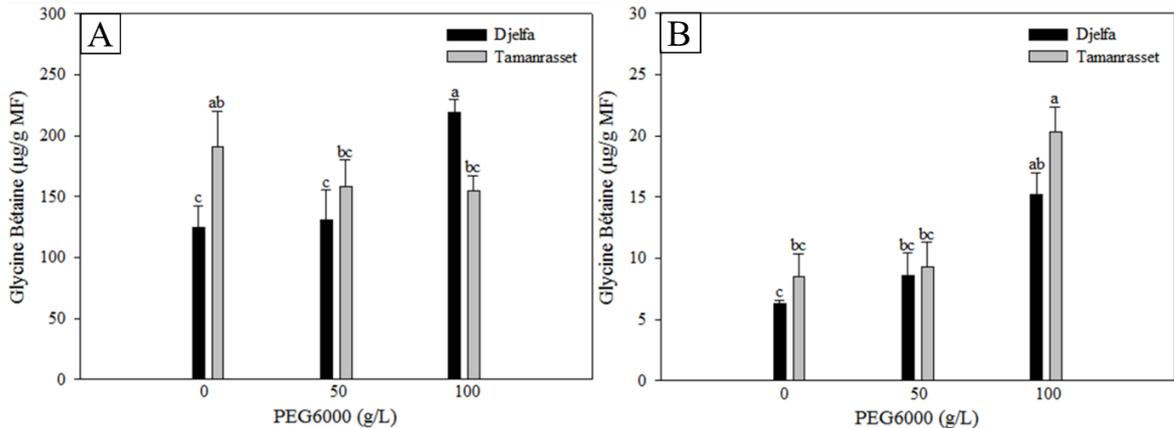


Figure 5.25 : Effet des solutions de PEG sur la teneur en glycine bêtaïne.

A : Partie aérienne

B : Partie racinaire

Chaque valeur représente la moyenne 30 répétitions \pm l'écart type. Les lettres indiquent que les traitements sont significativement différents à un seuil de 1 % ($P \leq 0,01$), selon le test de Tukey

Le test ANOVA n'a également montré aucune différence entre les deux écotypes en réponse à la contrainte hydrique (Annexe 1.13). La glycine bêtaïne est fortement accumulée avec l'augmentation des concentrations en PEG6000. Lorsqu'elles sont issues de la région de Djelfa, les plantules enregistrent des teneurs en glycine bêtaïne de 6,2, 8,5 et 15,2 $\mu\text{g/g}$ sous un stress à 0, 50 et 100 g/l de PEG respectivement.

Aux mêmes concentrations, les plantules provenant de la région de Tamanrasset présentent des quantités légèrement plus élevées avec des valeurs respectives de 8,4, 9,3 et 20,3 $\mu\text{g/g}$.

Le dosage de la glycine bêtaïne a montré des différences significatives entre les deux écotypes étudiés (Djelfa, Tamanrasset) et les stress appliqués (salin, hydrique).

Les concentrations enregistrées au niveau racinaire sont moins importantes comparativement au système aérien, et ce quel que soit la nature du stress (hydrique, salin).

2.3. Analyse de l'expression des gènes

2.3.1. Sélection des amorces pour la RT-PCR

Une recherche des couples d'amorces et des conditions d'amplifications a été réalisé pour l'ensemble des gènes impliqués dans la biosynthèse de la proline (la pyrroline-5-carboxylate synthase, la pyrroline-5-carboxylate réductase, l'ornithine δ - aminotransférase et la proline déshydrogénase) et de la glycine bêtaïne (la choline mono oxygénase et la bêtaïne aldéhyde déshydrogénase), ainsi que pour un transporteur de proline (ProT) (Tableau 5.9).

Plusieurs amorces ont été testées pour l'ornithine δ - aminotransférase et la proline déshydrogénase, aucune n'a permis d'amplifier les deux gènes. Les amorces pour la choline mono oxygénase, la bêtaïne aldéhyde déshydrogénase ont été dessinées à partir des séquences codantes des gènes de l'*Atriplex nummularia*, *A. canescens* respectivement. Les amorces pour les gènes P5CR et P5CS et ProT ont été obtenues par alignement des gènes avec ceux d'autres espèces de la famille des Amarantacées (Annexe 2).

Tableau 5.9: Amorces et conditions d'amplifications utilisées pour l'analyse de l'expression des gènes par RT-PCR semi-quantitative chez *Atriplex halimus* L.

| Nom du gène | Nom de l'amorce | Séquence (5'-3') | T (°C) | No. de cycles |
|---------------|-----------------|-------------------------|--------|---------------|
| Actin1 | <i>Actin1-F</i> | TTTCGGTGGACAATTGATGGACC | 55 | 33 |
| | <i>Actin1-R</i> | CAGCAGCATGAAGATCAAGGTCG | | |
| BADH | <i>BADH-F</i> | GCGTTTTCTGGACAAATGGT | 55 | 32A-35S |
| | <i>BADH-R</i> | ATGACAGGGCCAAACACTTC | | |
| CMO | <i>CMO-F</i> | TTAAGGCCCATGCTTTTGAC | 55 | 35A-39S |
| | <i>CMO-R</i> | GTTTGCATTTCTTGGTGCT | | |
| P5CS | <i>P5CS-F</i> | CTGATTTGCTCAAGCTTGAT | 55 | 37 |
| | <i>P5CS-R</i> | TATGTGCACTTCCATGTTGA | | |
| P5CR | <i>P5CR-F</i> | TATTTTCTCTGTAAAACCTC | 50 | 38 |
| | <i>P5CR-R</i> | AGCAACTCCTCCATCAGCCA | | |
| ProT | <i>ProT-F</i> | GCTGCTACTGKAATTTCTCT | 55 | 40 |
| | <i>ProT-R</i> | CCATCTTTAAGTGAAAGAGC | | |

F : Forward (sens), R : Reverse (anti-sens), T : Température, No. : Nombre, A : Partie aérienne, S : Partie racinaire.

2.3.2. Expression des gènes entrant dans le métabolisme de la proline

2.3.2.1. Expression du gène pyrroline-5-carboxylate synthase

L'analyse du niveau d'expression du gène codant la pyrroline-5-carboxylate synthase (P5CS) a montré que ce dernier ne sait pas exprimé au niveau des racines des plantules d'*Atriplex halimus*, que ce soit pour les témoins où celles soumises au stress (salin et hydrique).

Au niveau du système aérien, les plantules provenant de la localité d'El Mesrane soumises aux contraintes saline et hydrique présentent une augmentation significative de l'expression du gène P5CS avec l'augmentation de l'intensité du stress. Celle-ci est d'autant plus importante lorsque les plantules sont soumises aux solutions de chlorure de sodium élevées (100 et 300 mM) comparées aux solutions de PEG6000 dont les concentrations sont de 50 et 100 g/l (Figure 5.26).

Les plantules de la localité du Hoggar soumises à la contrainte saline montrent des niveaux d'expression du gène P5CS similaires à ceux enregistrés chez les plantules témoins, et ce quel que soit la concentration (100, 300 mM). En revanche, une concentration de PEG de 100 g/l entraîne une augmentation de l'expression du gène comparé aux plantules témoins et à celles traitées avec 50 g/l de PEG.

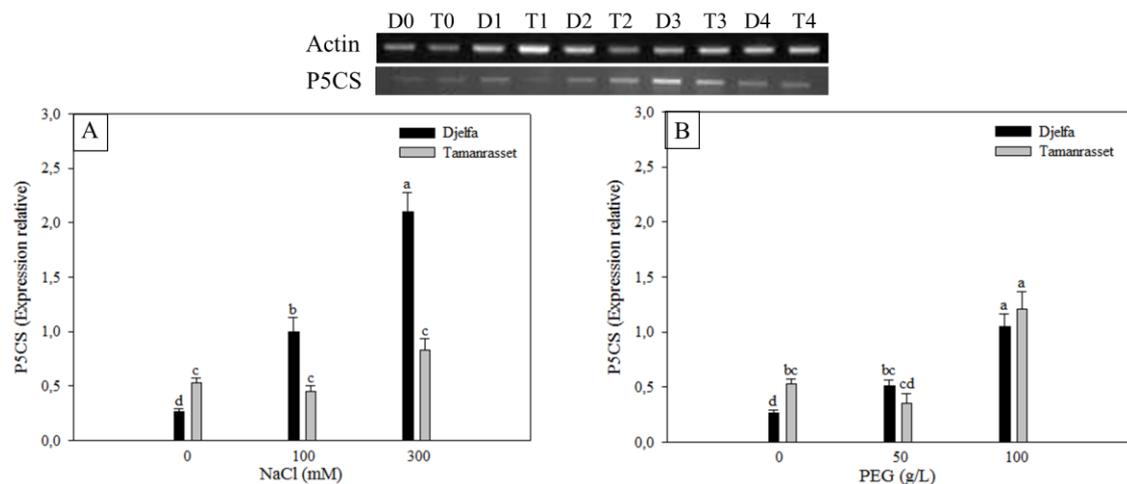


Figure 5.26: Effet des solutions de NaCl et de PEG sur l'expression du gène P5CS

Chaque valeur représente la moyenne 30 répétitions \pm l'écart type. Les lettres indiquent que les traitements sont significativement différents à un seuil de 1 % ($P \leq 0,01$), selon le test de Tukey.

A : Effet des solutions NaCl
B : Effet des solutions PEG6000
D : Djelfa, T : Tamanrasset

2.3.2.2. Expression du gène pyrroline-5-carboxylate réductase

Les plantules d'*Atriplex halimus* issues de la localité d'El Mesrane soumises à un stress salin et hydrique montrent qu'une augmentation des concentrations en NaCl et en PEG 6000 entraînent une augmentation du niveau d'expression du gène codant pour la pyrrolyne-5-carboxylate réductase (P5CR) dans la partie aérienne en comparaison aux racines où une diminution de l'expression est enregistrée (Figure 5.27). L'analyse de la variance a montré une différence significative entre les deux écotypes étudiés (Annexe 1.14).

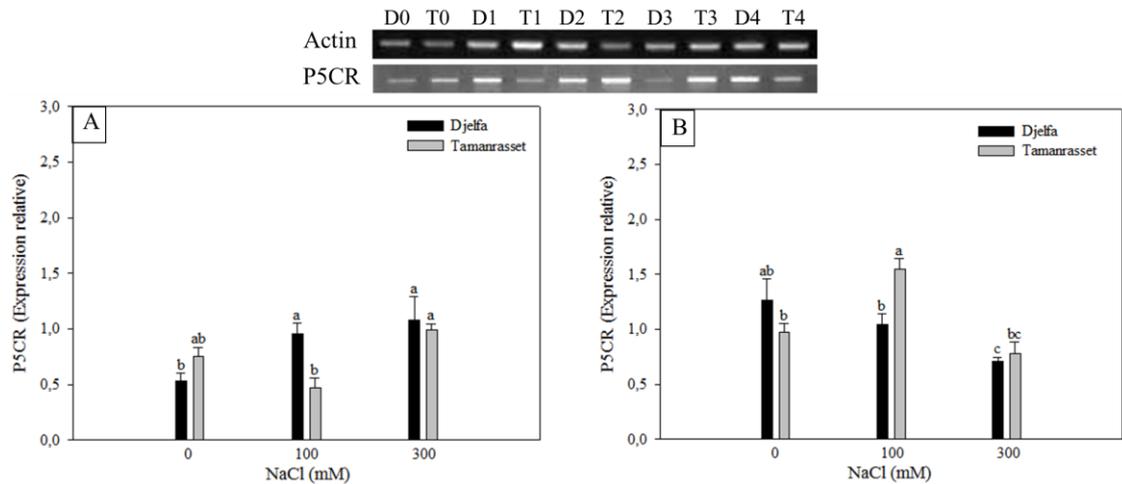


Figure 5.27: Effet des solutions de NaCl sur l'expression du gène P5CR.

Chaque valeur représente la moyenne 30 répétitions \pm l'écart type. Les lettres indiquent que les traitements sont significativement différents à un seuil de 1 % ($P \leq 0,01$), selon le test de Tukey.

A : Partie aérienne, B : Partie racinaire

D : Djelfa, T : Tamanrasset

Pour les plantules de la localité du Hoggar, le niveau d'expression du gène P5CR n'est pas affecté par la contrainte saline et hydrique dans la partie aérienne, et ce quel que soit l'intensité du stress appliqué. Au niveau des racines, un stress hydrique induit avec 50 et 100g/l ainsi qu'un stress salin induit avec 300 mM de NaCl n'ont pas d'impact sur l'expression du gène P5CR qui présente un niveau d'expression similaire à celui des témoins. Néanmoins notons qu'une dose modérée de sels de 100 mM augmente l'expression du gène comparée aux plantules témoins (Figure 5.28).

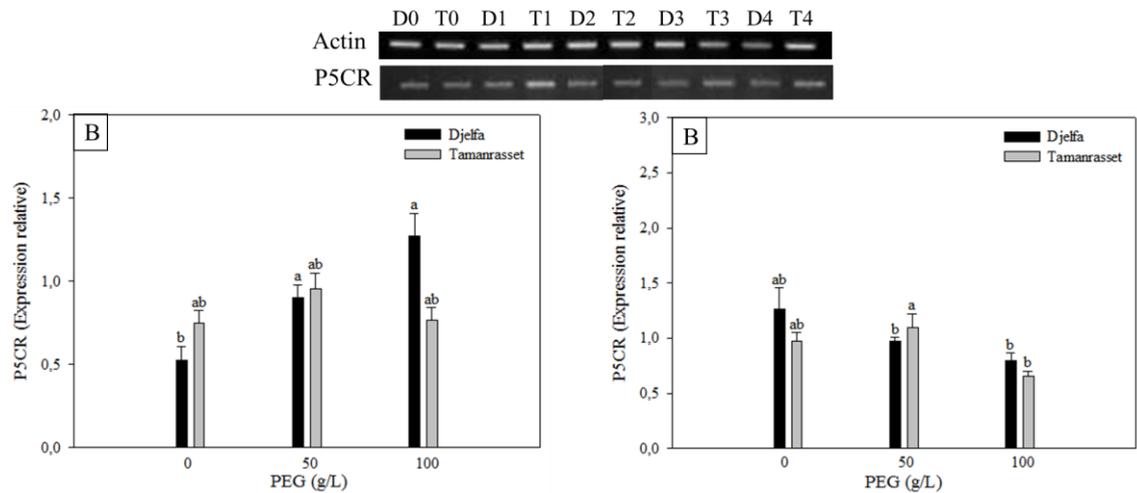


Figure 5.28: Effet des solutions de PEG sur l'expression du gène P5CR.

Chaque valeur représente la moyenne 30 répétitions \pm l'écart type. Les lettres indiquent que les traitements sont significativement différents à un seuil de 1 % ($P \leq 0,01$), selon le test de Tukey.

A : Partie aérienne, B : Partie racinaire

D : Djelfa, T : Tamanrasset

2.3.3. Expression des gènes entrant dans le métabolisme de la glycine bêtaïne

2.3.3.1. Expression du gène choline mono oxygénase

Les résultats d'analyse du niveau d'expression du gène codant pour la choline mono oxygénase (CMO) ont montré des différences significatives entre les deux écotypes étudiés, les deux stress appliqués et les parties des plantules testées (aérienne et souterraine) (Annexe 1.15).

L'expression du gène CMO au niveau aérien augmente avec l'augmentation des concentrations en NaCl (constatation enregistrée sur les plantules provenant de la localité d'El Mesrane). Quant aux plantules issues de la localité du Hoggar et exposées à des solutions de NaCl à 100 mM, une diminution de l'expression de la CMO est observée comparé aux témoins. Toutefois, les résultats de l'ANOVA n'ont montré aucune différence statistique entre les traitements testées (Figure 5.29).

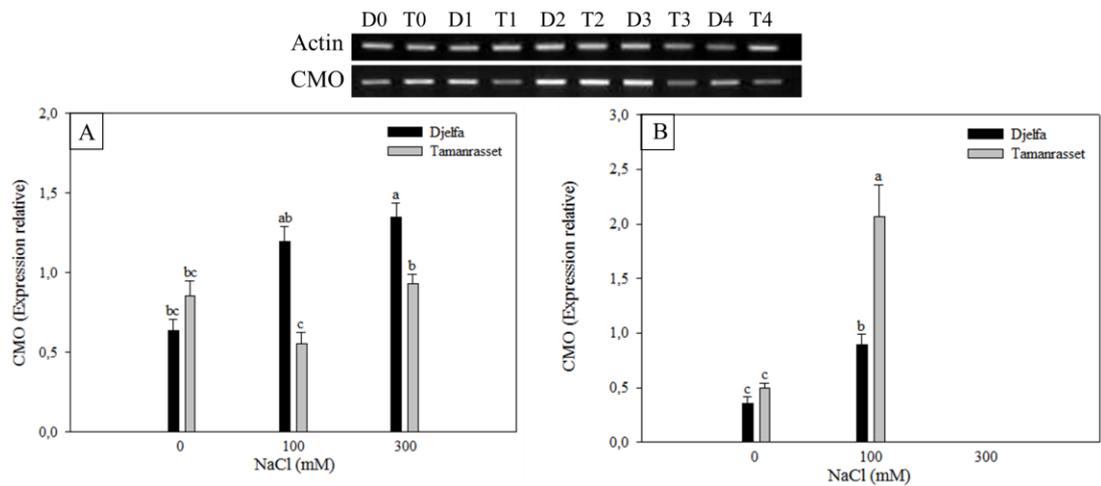


Figure 5.29: Effet des solutions de NaCl sur l'expression du gène CMO.

Chaque valeur représente la moyenne 30 répétitions \pm l'écart type. Les lettres indiquent que les traitements sont significativement différents à un seuil de 1 % ($P \leq 0,01$), selon le test de Tukey.

A : Partie aérienne, B : Partie racinaire

D : Djelfa, T : Tamanrasset

Au niveau racinaire, une concentration en NaCl modérée de 100 mM entraîne une forte expression du gène CMO comparé aux témoins chez les deux écotypes étudiés. L'expression est d'autant plus importante lorsque les plantules proviennent de la localité du Hoggar à Tamanrasset (Figure 5.30). Notons qu'à des solutions de NaCl à 300 mM, le gène CMO n'est pas exprimé chez les plantules des deux écotypes.

L'expression du gène codant pour la CMO augmente avec l'augmentation de l'intensité du stress hydrique chez les plantules de la localité d'El Mesrane, au niveau aérien et racinaire. Notons que le niveau d'expression le plus élevée est enregistré dans les racines des plantules soumises à 100 g/l de PEG6000.

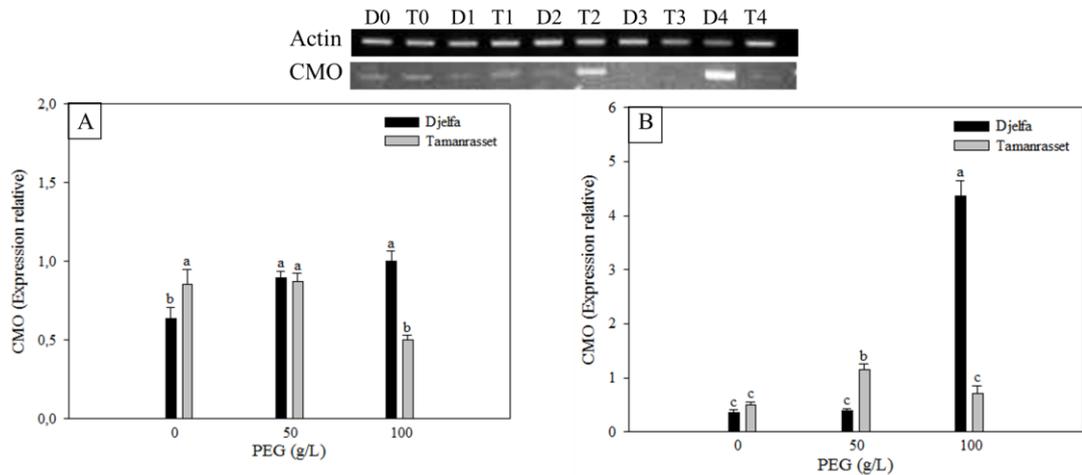


Figure 5.30: Effet des solutions de PEG sur l'expression du gène CMO. Chaque valeur représente la moyenne 30 répétitions \pm l'écart type. Les lettres indiquent que les traitements sont significativement différents à un seuil de 1 % ($P \leq 0,01$), selon le test de Tukey.

A : Partie aérienne, B : Partie racinaire
D : Djelfa, T : Tamanrasset

Les plantules de la localité du Hoggar soumises à une solution de PEG de 50 g/l présentent un niveau d'expression du gène CMO similaire à celui des témoins, au niveau du système aérien. En revanche, des concentrations en PEG de 100 g/l entraînent une diminution de l'expression de la CMO comparé aux témoins. Une légère augmentation de l'expression du gène chez les plantules soumises à des solutions de stress modérées de 50 g/l de PEG est observée au niveau des racines comparées aux plantules témoins.

2.3.3.2. Expression du gène bêtaïne aldéhyde déshydrogénase

Les plantules d'*Atriplex halimus* L. provenant de la localité d'El Mesrane soumises à une contrainte saline montrent une importante expression du gène bêtaïne aldéhyde déshydrogénase (BADH) au niveau racinaire et aérien comparées aux plantules témoins. Notons que le niveau d'expression le plus élevé est observé à 100 mM de NaCl qu'à 300 mM (Figure 5.31).

Quant aux plantules de la localité du Hoggar, nous constatons que le gène codant pour la BADH n'est exprimé qu'à des concentrations en NaCl élevées équivalentes à 300 mM au niveau aérien comparé au système racinaire où il est exprimé chez les plantules traitées avec des solutions salines modérées de 100 mM. L'expression est nulle lorsque les racines des plantules sont soumises à 300 mM de NaCl.

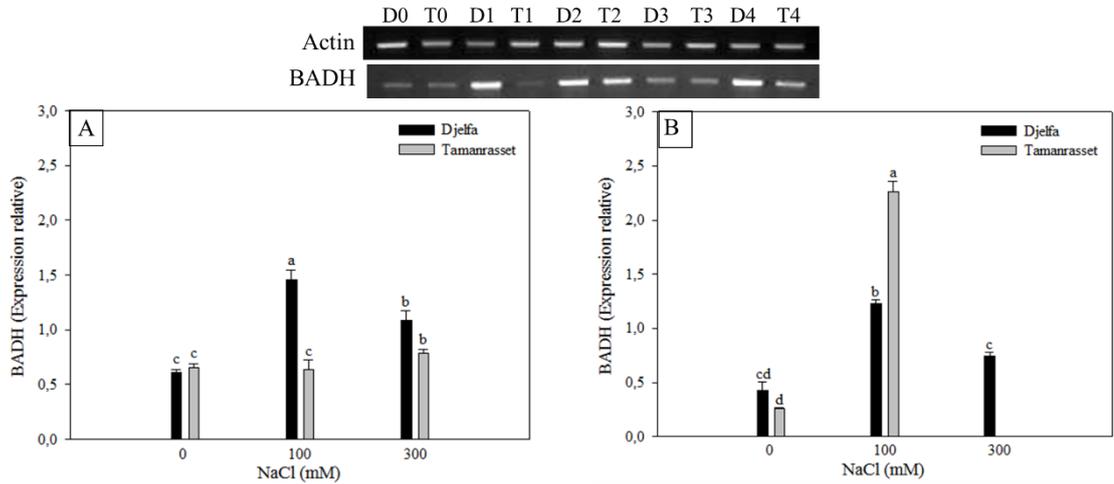


Figure 5.31: Effet des solutions de NaCl sur l’expression du gène BADH.

Chaque valeur représente la moyenne 30 répétitions ± l’écart type. Les lettres indiquent que les traitements sont significativement différents à un seuil de 1 % ($P \leq 0,01$), selon le test de Tukey.

A : Partie aérienne, B : Partie racinaire
D : Djelfa, T : Tamanrasset

L’expression du gène codant pour la bêtaïne aldéhyde déshydrogénase (BADH) chez les plantules de la localité d’El Mesrane soumises à la contrainte hydrique suit une tendance similaire au niveau aérien et racinaire, le niveau d’expression du gène augmente avec l’augmentation de l’intensité du stress (Figure 5.32).

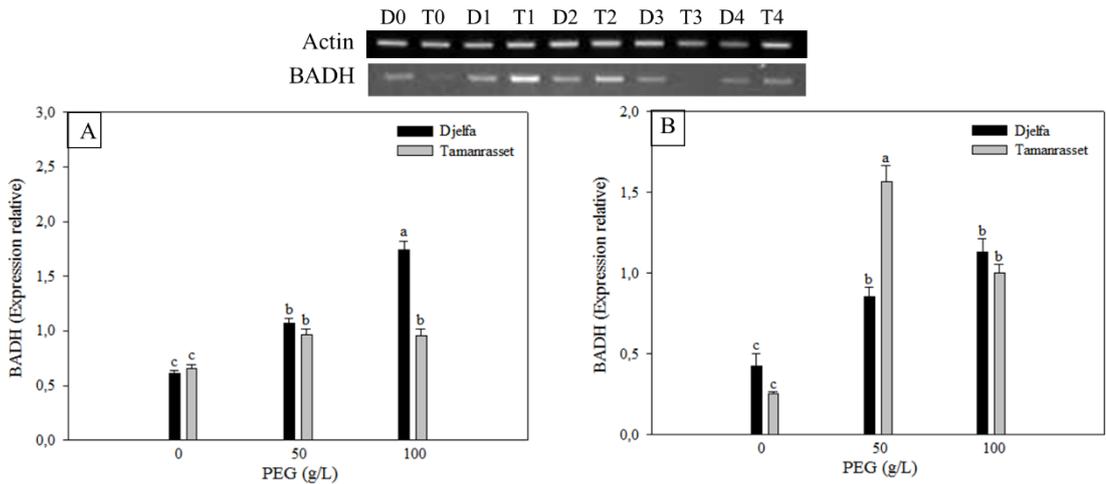


Figure 5.32: Effet des solutions de PEG sur l’expression du gène BADH.

Chaque valeur représente la moyenne 30 répétitions ± l’écart type. Les lettres indiquent que les traitements sont significativement différents à un seuil de 1 % ($P \leq 0,01$), selon le test de Tukey.

A : Partie aérienne, B : Partie racinaire
D : Djelfa, T : Tamanrasset

Les plantules de la localité du Hoggar quant à elles présentent une surexpression du gène chez les plantules soumises au stress (50 et 100 g/l de PEG) comparées

aux plantules témoins. Notons que le niveau d'expression le plus élevé est enregistré au niveau des racines des plantules soumises à 50 g/l de PEG.

2.3.4. Expression du gène transporteur de proline

L'évaluation de l'expression du gène codant pour un transporteur de proline (ProT) chez les plantules d'*Atriplex halimus* a montré une tendance similaire sous stress hydrique et salin.

Au niveau des feuilles et de la tige, le gène ProT n'est pas exprimé chez les plantes témoins et celles soumises à des solutions modérées de NaCl (100 mM) et de PEG6000 (50g/l). En revanche, l'application d'un stress plus important de 300 mM de NaCl et 100 g/l de PEG entraînent un niveau d'expression élevé du gène d'autant plus élevée lorsque les plantules sont issues de la localité d'El Mesrane à Djelfa (Figure 5.33).

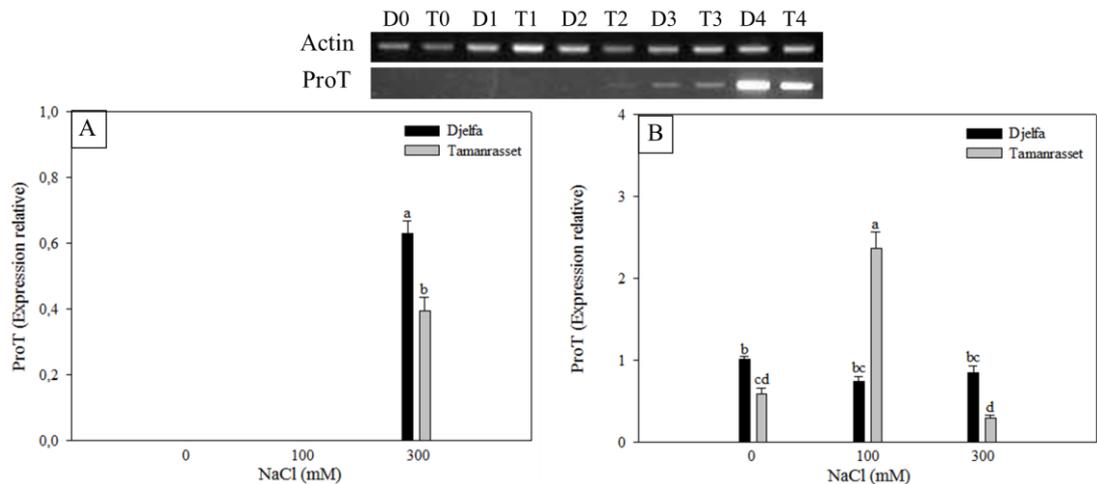


Figure 5.33: Effet des solutions de NaCl sur l'expression du gène ProT.

Chaque valeur représente la moyenne 30 répétitions \pm l'écart type. Les lettres indiquent que les traitements sont significativement différents à un seuil de 1 % ($P \leq 0,01$), selon le test de Tukey.

A : Partie aérienne, B : Partie racinaire

D : Djelfa, T : Tamanrasset

Au niveau des racines, le niveau d'expression du gène ProT chez les plantules témoins provenant de la localité d'El Mesrane est similaire à celui relevé chez les plantules soumises à un stress salin (100 et 300 mM) et hydrique (50 et 100 g/l). Les résultats du test ANOVA ont montré une différence significative entre les deux écotypes étudiés. L'expression du gène ProT chez les plantules provenant de la localité du Hoggar est significativement plus importante lorsque celles-ci sont soumises à un stress avec 100 mM de NaCl comparées aux plantules témoins (Figure 5.34).

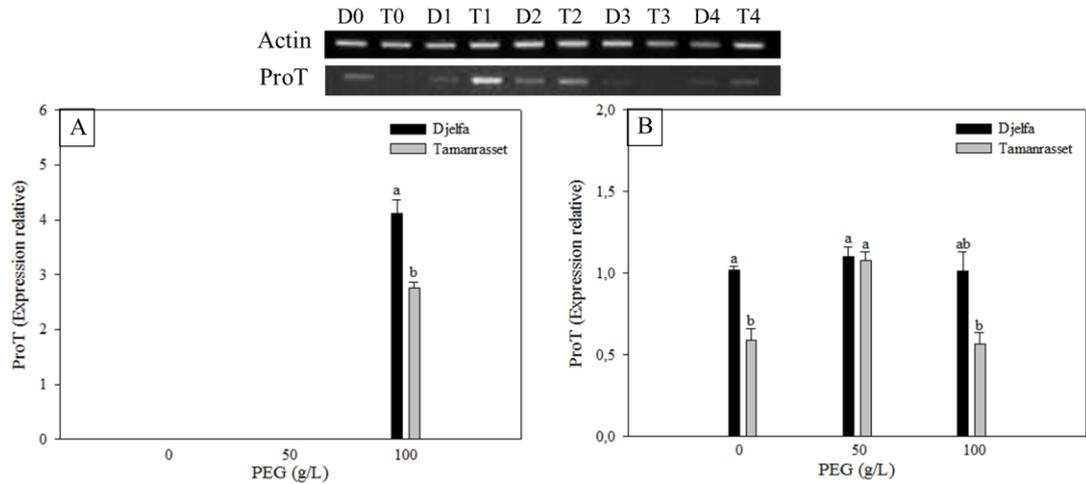


Figure 5.34: Effet des solutions de PEG sur l’expression du gène ProT. Chaque valeur représente la moyenne 30 répétitions \pm l’écart type. Les lettres indiquent que les traitements sont significativement différents à un seuil de 1 % ($P \leq 0,01$), selon le test de Tukey. A : Partie aérienne, B : Partie racinaire D : Djelfa, T : Tamanrasset

Les plantules soumises à une dose de sels plus élevée de 300 mM montrent une légère diminution du niveau d’expression du gène, celle-ci n’est statistiquement pas différente des témoins.

2.3.5. Corrélations entre les paramètres

2.3.5.1 Teneur en proline et expression des gènes P5CS et P5CR

En établissant une relation entre la teneur en proline et les gènes impliqués dans le métabolisme de la molécule, une corrélation positive est observée entre ces différents paramètres évalués au niveau aérien chez les plantules des deux écotypes (Djelfa, Tamanrasset), et ce quel que soit la nature du stress (Figure 5.35 et 5.36).

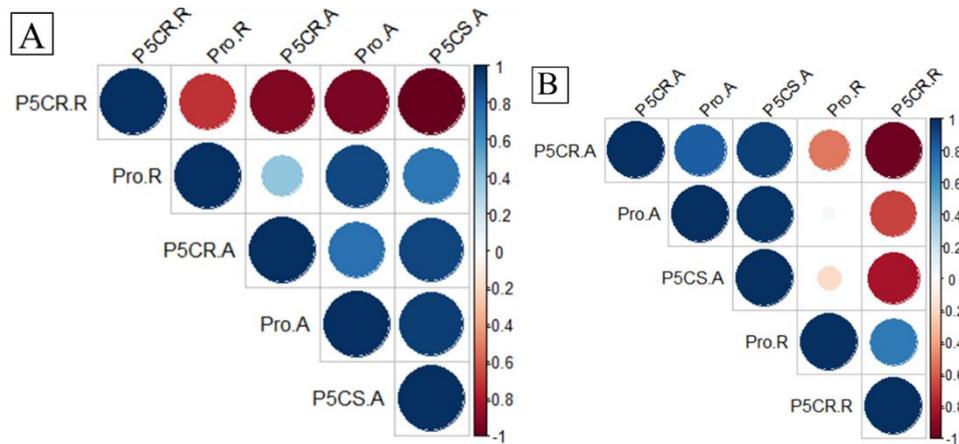


Figure 5.35: Matrice de corrélation entre l’expression des gènes P5CS et P5CR et la teneur en proline chez les plantules soumises au stress salin. A : Ecotype de Djelfa B : Ecotype de Tamanrasset

On observe également une corrélation négative entre le niveau d'expression racinaire du gène P5CR et les autres paramètres évalués au niveau aérien à savoir l'expression des gènes P5CS et P5CR ainsi que le taux de proline enregistrée.

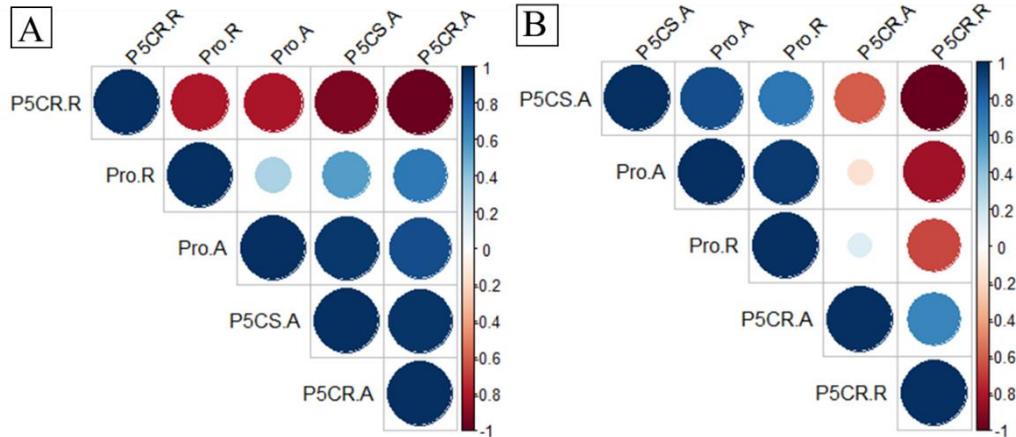


Figure 5.36: Matrice de corrélation entre l'expression des gènes P5CS et P5CR et la teneur en proline chez les plantules soumises au stress hydrique.

A : Ecotype de Djelfa

B : Ecotype de Tamanrasset

2.3.5.2. Teneur en glycine bêtaïne et expression des gènes CMO et BADH

La matrice de corrélation présentée dans la figure 5.37A montre la relation entre les différents paramètres évalués chez les plantules de la localité d'El Mesrane soumises au stress salin, on observe une corrélation négative entre le niveau d'expression du gène CMO dans les racines et la teneur en glycine bêtaïne enregistrée dans les deux parties de la plante (aérienne et racinaire). Notons que cette corrélation n'est pas observée chez les plantules de la localité du Hoggar. Pour ces dernières, on enregistre une corrélation positive entre les deux gènes (CMO et BADH) dans les racines et une corrélation négative entre l'expression de la BADH dans la partie aérienne et le taux de glycine bêtaïne racinaire (Figure 5.37B).

L'expression du gène codant pour la CMO dans les feuilles est corrélée négativement avec les niveaux d'expression de la BADH et de la CMO enregistré dans les racines (Figure 5.37B).

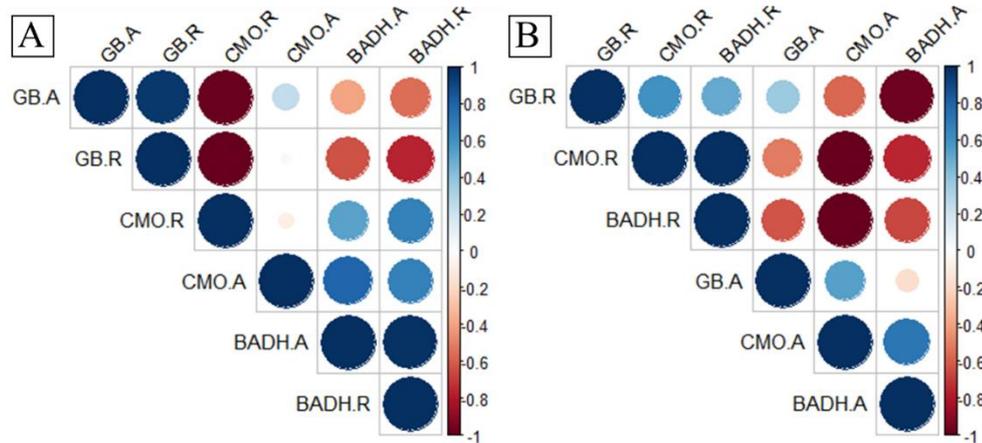


Figure 5.37: Matrice de corrélation entre l’expression des gènes CMO et BADH et la teneur en glycine bêtaïne chez les plantules soumises au stress salin.
 A : Ecotype de Djelfa
 B : Ecotype de Tamanrasset

La matrice de corrélation présentée dans la figure 5.38A montrent des corrélations positives entre l’ensemble des paramètres évalués au niveau des plantules de la localité d’El Mesrane soumises à la contrainte hydrique (Djelfa). L’évaluation de ces mêmes paramètres chez les plantules de la localité du Hoggar (Tamanrasset) indique une corrélation négative au niveau aérien entre le taux de glycine bêtaïne et le niveau d’expression de la BADH, et au niveau racinaire entre l’expression du gène CMO et l’accumulation de la glycine bêtaïne (Figure 5.38B).

Une corrélation positive élevée est observée entre le niveau d’expression du gène BADH au niveau racinaire et aérien et l’expression de la CMO dans les racines.

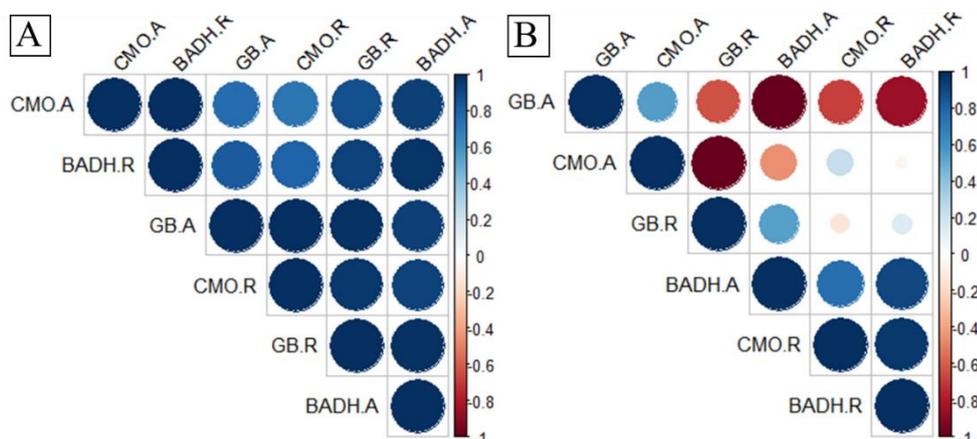


Figure 5.38: Matrice de corrélation entre l’expression des gènes CMO et BADH et la teneur en glycine bêtaïne chez les plantules soumises au stress hydrique.
 A : Ecotype de Djelfa
 B : Ecotype de Tamanrasset

L'expression des gènes codant pour la CMO et la BADH chez les plantules d'*Atriplex halimus* varie en fonction de l'écotype étudié (Djelfa, Tamanrasset), de la nature du stress (hydrique, salin), de la concentration appliquée (100 et 300 mM de NaCl, 50 et 100 g/l de PEG) et de la partie de la plante évaluée (aérienne, racinaire).

2.3.5.3. Teneur en proline et en glycine bêtaïne et expression du gène ProT

La matrice de corrélation présentée dans la figure 5.39 montre que chez les plantules de la localité d'El Mesrane, une corrélation positive est observée entre l'expression du gène codant pour le transporteur de proline dans les feuilles et les concentrations en proline et glycine bêtaïne enregistrées dans les différentes parties de la plante (aérienne, racinaire) (Figure 5.39A).

En ce qui concerne les plantules de la localité du Hoggar, l'expression du gène ProT dans les feuilles est positivement corrélée avec la concentration de la proline foliaire et négativement corrélée avec celle de la glycine bêtaïne racinaire (Figure 5.39B).

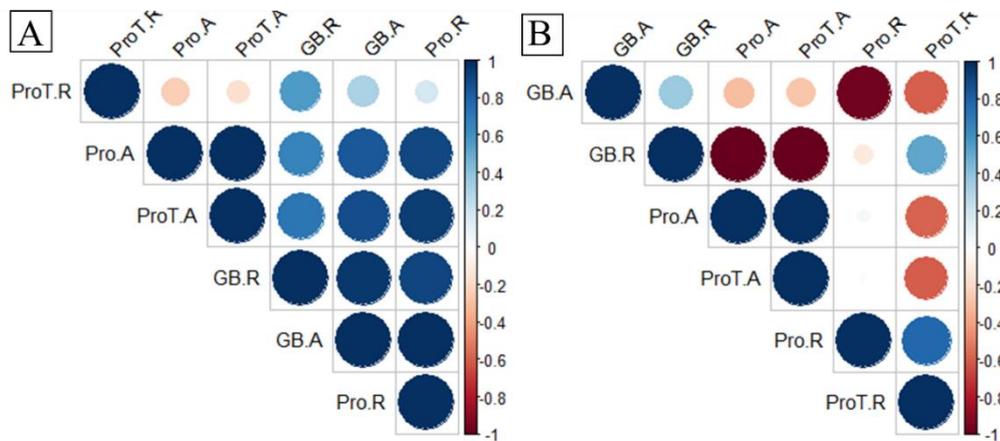


Figure 5.39: Matrice de corrélation entre l'expression du gène ProT et la teneur en proline et en glycine bêtaïne chez les plantules soumises au stress salin.

A : Ecotype de Djelfa
B : Ecotype de Tamanrasset

Chez les plantules issues de la région de Djelfa soumises aux solutions de PEG6000, l'expression du gène ProT est positivement corrélée avec la teneur en glycine bêtaïne aérienne et racinaire et avec le taux de proline au niveau des feuilles (Figure 5.40A).

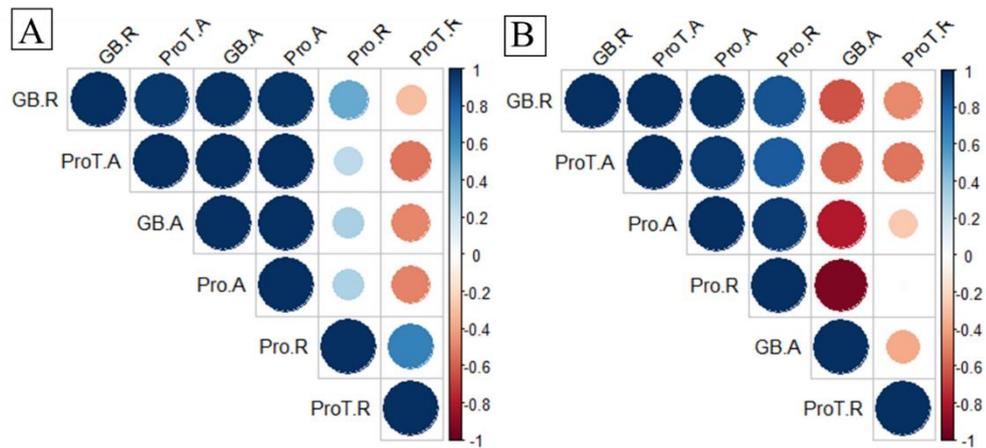


Figure 5.40: Matrice de corrélation entre l'expression du gène ProT et la teneur en proline et en glycine bêtaïne chez les plantules soumises au stress hydrique.

A : Ecotype de Djelfa

B : Ecotype de Tamanrasset

En ce qui concerne les plantules de la région de Tamanrasset, le niveau d'expression du gène codant pour la proT est positivement corrélé avec les teneurs en proline enregistrées dans les deux parties de la plante (supérieure, inférieure), ainsi qu'avec la concentration en glycine bêtaïne accumulée au niveau des racines.

3. Discussion générale

En situation de stress, les changements au niveau morphologique sont très souvent les premiers symptômes apparents chez les plantes. Ces modifications peuvent se traduire par une inhibition de la croissance, une réduction de la hauteur, une diminution de la taille et du rythme d'apparition des feuilles [220] [221] [222].

3.1. Surface et nombre de feuilles

Le nombre de feuilles des plantules soumises au stress est similaire aux témoins, et ce quel que soit l'écotype étudié. Ces résultats sont en accord avec ceux observés chez des plantules d'*Atriplex halimus* L. provenant de la région située en Egypte caractérisée par un climat désertique chaud. En effet, les plantules soumises au stress avec des solutions de NaCl à 50, 200 et 500 mM enregistrent des valeurs respectives de 81, 79 et 70 feuilles comparées aux témoins où ils enregistrent en moyenne 69 feuilles [223]. En revanche, ces mêmes auteurs ont noté une stimulation de la surface foliaire chez les plantules traitées avec des solutions de NaCl à 50 et 200 mM avec des moyennes respectives de 7,2 et 6,9 cm² comparées aux feuilles témoins dont la surface est plus faible atteignant 4,4 cm² [223]. Contrairement à nos travaux qui montrent que les feuilles des plantules d'*Atriplex halimus* L. soumises à la contrainte saline présentent une légère diminution de leur surface comparée aux témoins mais ne révèlent aucun effet significatif.

Face à un stress hydrique, une réduction du nombre et de la surface des feuilles est enregistrée chez les plantules soumises au stress comparées aux témoins. Ces résultats sont en accord avec ceux de Essafi et *al.* [224] qui ont souligné une diminution d'environ 17,6 % du nombre de feuilles et 18,2 % de la surface totale chez les plantules de 5 génotypes d'*Atriplex* issues des localités du Maroc et de la Tunisie lorsqu'elles sont soumises à un arrosage réduit à 50% de la capacité au champ comparé aux plantules témoins arrosées à 100% de la capacité au champ. Une réduction du nombre et de la surface des feuilles n'est nécessairement pas synonyme de dégâts, c'est une réponse morphologique typique qui permet à la plante de limiter la surface transpirante en réduisant la zone d'ouverture de l'ostiole des stomates, et de ce fait minimiser la perte d'eau [102]. Les résultats de notre étude ont montré une réduction plus importante lorsque les plantules sont issues de la localité d'El Mesrane présentant des valeurs de 3 et 5 feuilles chez les plantules soumises respectivement à des solutions de PEG6000 à 100 et 50 g/l comparées

aux témoins enregistrant un nombre moyen de 13 feuilles par plantule. Ces données sont contradictoires à ceux de Hassine et *al.* [213] ayant constaté une diminution similaire chez les plantules provenant de Monastir zone semi-aride et de Kairouane zone continentale aride (Tunisie) comparativement aux plantules témoins.

3.2. Hauteur des plantules

Les plantules d'*Atriplex halimus* ne montrent aucune différence de hauteur comparées aux témoins, et ce quel que soit l'origine du matériel végétal, la nature et l'intensité du stress appliqué. Ces résultats sont en accord avec ceux de Essafi et *al.* [224] ayant observé une hauteur similaire chez les plantes témoins dont l'arrosage est à 100% de la capacité au champ et celles dont l'apport d'eau est réduit à 75%. Néanmoins, une réduction de l'arrosage à 50% de la capacité au champ entraîne une diminution d'environ 27.8% de la hauteur de la plante [224]. Kachout et *al.* [225] n'ont également enregistré aucune différence entre les plantules témoins d'*Atriplex hortensis* et celles traitées avec 5, 10 et 15 g/l de NaCl soit l'équivalent de 80, 170 et 256 mM. En revanche, les plantules d'*Atriplex nummularia* soumises à des concentrations de NaCl allant de 150 à 600 mM montrent une diminution de la hauteur comparativement aux témoins [226].

Les plantules issues de la localité du Hoggar (Tamanrasset) soumises au stress salin ont montré une longueur de la tige similaire à celles des témoins, et ce quel que soit l'intensité de la contrainte appliquée. Ces résultats concordent avec ceux de Khedr et *al.* [223] n'ayant observé aucune différence de la longueur de la partie aérienne entre les plantes témoins et celles soumises au stress à différentes concentrations notamment celles de 50, 200 et 500 mM de NaCl.

Les résultats obtenus durant notre expérimentation soulignent une différence de comportement entre les plantules des deux localités d'El Mesrane (Djelfa) et du Hoggar (Tamanrasset). Les plantules provenant de la localité d'El Mesrane soumises à une contrainte saline avec 300 mM de NaCl présentent une diminution de la longueur de la tige avec une moyenne de 33,3 cm comparées aux plantules témoins enregistrant une longueur moyenne de 44,63 cm. Par ailleurs, Des études menées sur d'autres espèces notamment deux cultivars de riz de la famille des Poacées ont indiqué que la longueur de la tige est affectée de la même manière chez les plantules issues du site de Dingjin (cultivar tolérant aux sels) et celles issues du site de Kumnam (cultivar sensible aux sels) [227].

Lorsqu'elles sont soumises à un stress hydrique, la longueur de la tige des plantules issues de la localité du Hoggar (Tamanrasset) n'est pas affectée. Toutefois, la hauteur de la partie aérienne diminue de manière drastique chez les plantules issues de la localité d'El Mesrane (Hoggar) et soumises au stress comparées aux témoins. La longueur de la racine des plantules provenant des deux régions de Tamanrasset et de Djelfa est affectée par de fortes doses de PEG6000 (100g/l) enregistrant des valeurs respectives de 20,3 et 29,8 cm comparées aux témoins dont la longueur racinaire est de 34,5 et 40,3 cm respectivement. Ces résultats ne sont pas en accord avec ceux obtenus par Essafi et *al.* [224] sur la même espèce où ils ont constaté une stimulation de la longueur des racines des plantules soumises à un arrosage réduit à 50% de la capacité au champ comparativement aux témoins arrosés à 100% de la capacité au champ.

Dans la littérature, l'augmentation du rapport « racine/tige » est souvent reportée soulignant que la croissance des parties aériennes est plus affectée que celle des parties racinaires [228]. Chez les halophytes, la croissance racinaire n'est généralement pas affectée par la présence du sel [1]. En effet, nos résultats ont montré que les solutions de NaCl n'ont pas d'impact sur la longueur des racines, et ce quel que soit l'intensité du stress appliqué.

3.3. Poids frais et sec

Le poids frais et sec des plantes comptent parmi les critères les plus déterminants dans la réponse aux stress salin [225]. Pour ce paramètre, nos résultats ont montré une différence significative entre les deux écotypes étudiés. Les plantules de la localité d'El Mesrane présentent une stimulation des poids frais et sec à 100 mM de NaCl au niveau aérien et racinaire, cette stimulation disparaît à une concentration plus élevée (300 mM). L'effet stimulant observé chez les plantules de la région de Djelfa n'est pas relevé chez celles de la région de Tamanrasset. Les solutions de NaCl à 100 et 300 mM n'ont aucun effet sur la production de masses fraîche et sèche des plantules de la localité du Hoggar à Tamanrasset comparées aux témoins, et ce au niveau de toute la plante (aérien et racinaire). En revanche, Cette différence entre les deux écotypes d'*Atriplex halimus* L. est liée aux conditions édaphiques de leurs sites d'origine. En effet, les plantes de la région de Djelfa prospèrent dans un sol très salin où la conductivité électrique est de 17,16 dS/m. Elles s'adaptent aux conditions salines élevées par rapport aux plantules de

Tamanrasset où le sol est caractérisé par une salinité très faible à nulle avec une conductivité électrique de 0,00593 dS/m. Les travaux de Hassine et *al.* [22], soulignent également une différence de réponse entre une population issue d'un site salin dont le poids sec est stimulé sous 40 et 160 mM de NaCl, et une population provenant d'un site semi-aride non salin dont la croissance est stimulée à 40 mM mais diminue considérablement à partir de 160 mM de NaCl.

Cette stimulation de la croissance observée chez les plantules d'*Atriplex halimus* a été largement répertoriée dans la littérature. Khedr et *al.* [223] ont trouvé que les plantes traitées avec des solutions de 50 et 200 mM de NaCl ont une croissance plus élevée que les témoins. Nemat Alla et *al.* [230] ont noté une stimulation de la masse fraîche et sèche chez les plantules soumises durant 30 jours à des solutions de NaCl à 50 mM comparées aux témoins. Parallèlement des concentrations plus élevées soit 300 et 550 mM n'ont aucun effet sur la croissance de la tige. Bouchenak [196] a également souligné une augmentation de la production de la matière sèche chez *Atriplex halimus* soumise à 150 mM de NaCl. Chez les plantes halophytes, la stimulation de la croissance par de faibles dose de sels est une réponse typique [220] [231]. Elle est aussi observée chez des plantules d'*Atriplex nummularia* traitées avec des solutions de NaCl à 300 mM, la croissance diminue à des concentrations en sels plus élevées [232].

Plusieurs hypothèses ont été émises pour expliquer la stimulation de la croissance d'*Atriplex halimus* à de faibles concentrations en sels. En effet, Martinez et *al.* [233] associent la stimulation de la croissance à 50 mM de NaCl au fait que l'ion Na⁺ jouerait un rôle dans l'amélioration du processus photosynthétique ainsi que la synthèse et/ou le transport des sucres solubles. Boughalleb et *al.* [234] notent que ce phénomène est lié à une amélioration de la conductance stomatique, de la transpiration et de l'assimilation du CO₂ à des concentrations en NaCl inférieures à 300 mM. Khedr et *al.* [223] quant à eux émettent la possibilité que l'accumulation de l'ion Na⁺ au niveau de la vacuole augmente le volume de la cellule et la surface photo assimilatrice des feuilles entraînant la stimulation de la croissance. Sadder et *al.* [219] ont montré que les plantes exposées aux sels présentaient une expression accrue de gènes spécifiques qui contrôlent de la synthèse de l'acide acétohydroxy reductoisomerase (EC 1.1.1.86), la réactivité précoce des protéines de déshydratation et ER-luminal protéine. Leur expression était beaucoup plus élevée

à 150 mM qu'à 300 mM NaCl, indiquant leur spécificité dans la stimulation de la croissance à de faibles doses de sels.

Lorsqu'elles sont soumises à une contrainte hydrique, le poids frais des parties aériennes des plantules des deux écotypes étudiés diminue considérablement. Ces résultats sont similaires à ceux d'Alla et *al.* [230] ayant noté une diminution du poids frais chez les plantules soumises à 10 jours sans arrosage. D'après Zhu [235], la réduction de la partie aérienne est une stratégie adaptative utilisée par les plantes en réponse aux contraintes abiotiques notamment hydrique et qui leur permet d'assurer leur survie. Le poids sec de la tige diminue également chez des plantules soumises à un stress hydrique induit par une privation d'eau [20]. Au niveau racinaires, la contrainte hydrique n'a aucun effet sur la production de la biomasse fraîche et sèche chez les deux écotypes étudiés.

3.4. Teneur en Na⁺

L'évaluation des teneurs en éléments minéraux Na⁺ dans les feuilles et les racines des plantules d'*Atriplex halimus* a montré une augmentation significative de cet élément minéral avec les concentrations élevées induisant le stress. Ces résultats sont similaires à ceux de Khedr et *al.* [223], Alla et *al.* [23] et Nada et Abogadallah [205].

Khedr et *al.* [223] ont noté qu'après 10 jours de traitement, une augmentation de la teneur en sodium foliaire de 47 et 80% à des solutions salines (NaCl) respectives de 50 et 200 mM comparées aux témoins. Les plantules d'*Atriplex halimus* provenant de la région de Baltim en Egypte présentent un taux élevé en sodium 0,8 et 6 fois plus important que les témoins lorsque le stress salin est induit à 50 et 300 mM, respectivement. Nada et Abogadallah [205] ont enregistré pour les témoins un contenu en sodium d'une valeur de 335,6 mmol/g de matière fraîche et plus importante avec 617,9 mmol/g pour les plantules soumises à 250 mM de NaCl. L'une des stratégies d'adaptation utilisée par les plantes halophytes est la compartimentation de l'ion Na⁺ au niveau de la vacuole à l'aide d'un transport intracellulaire efficace, ceci permet de limiter leurs effets toxiques et protéger les enzymes présents dans le cytosol, améliore le statut hydrique des feuilles, participe à l'ajustement osmotique et a des conséquences positives sur les processus métaboliques et osmotiques [139] [141] [223] [236]

Cependant, la présence de l'ion Na⁺ à de fortes concentrations est toxique pour la plante, le sodium entraîne une diminution de la croissance et interfère avec

l'absorption d'autres ions. Certaines espèces d'halophytes limitent le taux d'accumulation du Na^+ par excrétion à travers des trichomes situés au niveau de la surface de la feuille afin de limiter l'excès d'ions toxiques des tissus photosynthétiquement actifs [108].

Il est intéressant de souligner qu'à des solutions de NaCl modérées, l'accumulation de l'ion Na^+ est toujours plus élevée dans les régions les moins arides à forte salinité. Les résultats de notre étude ont montré qu'un stress salin modéré induit avec 100 mM de NaCl entraîne une accumulation plus importante de l'ion Na^+ chez les plantules de l'écotype d'El Mesrane comparé à celui du Hoggar. Soualem et al. [237] ont reporté une quantité d'ions Na^+ plus élevée chez les plantules de l'écotype d'Oran (zone côtière) comparé à celui de Djelfa (zone semi-aride) pour tous les traitements. Des concentrations en NaCl à 40 et 160 mM entraînent une accumulation plus importante chez les plantes d'*Atriplex halimus* issues de la région de Monastir (site côtier en Tunisie) comparée aux plantes provenant de la région de Sbikha (Site aride en Tunisie) [22]. Bouchenak [196] a également enregistré une accumulation de Na^+ plus élevée chez les plantes de la population de Laghouat (région aride) comparées à celles de Djelfa (région semi-aride), exposées à 600 mM de NaCl.

Martinez et al. [233] ont relevé que la concentration en Na^+ est toujours plus élevée au niveau aérien comparée au système racinaire, en effet selon le même auteur plus de 65 % du contenu total en Na^+ de la plante est présent dans les parties aériennes. Ces résultats coïncident avec les teneurs en Na^+ observées chez *Atriplex halimus* dans le cadre de notre recherche où le contenu en ions Na^+ enregistré dans les parties aériennes est trois fois plus important que celui des parties racinaires et ce quel que soit le traitement appliqué (témoins, 100 et 300 mM) ou l'écotype étudié (Djelfa, Tamanrasset).

Face à une contrainte hydrique, on observe une augmentation du taux de Na^+ comparativement aux témoins chez les plantules provenant de la localité d'El Mesrane à Djelfa au niveau aérien et racinaire. Cette variation n'est pas retrouvée chez les plantules de la localité du Hoggar dont la teneur en Na^+ chez les plantules soumises au stress est similaire à celle des témoins. Martinez et al. [233], Khedr et al. [223] et Alla et al. [23] ont observé une augmentation du contenu en Na^+ chez les plantules traitées avec 15 % de PEG. Le sodium pourrait avoir un rôle positif

dans le processus osmotique de la plante et dans la tolérance d'*Atriplex halimus* au stress hydrique [213] [233] [236]. Contrairement aux résultats de notre étude qui indique un comportement différent entre les plantules des deux écotypes étudiés, l'augmentation des concentrations de l'ion Na^+ chez deux populations d'*Atriplex* de Monastir et Kairouan (Tunisie) est similaire [213].

3.5. Teneur en K^+

Chez les plantules des deux écotypes d'El Mesrane et du Hoggar, la teneur en potassium aérienne est similaire à celle enregistrée chez les témoins. Toutefois, une réduction du contenu en K^+ est observée au niveau des racines. Ces résultats ne corroborent pas avec ceux de Nada et Abogadallah [205] ayant enregistré une diminution de la concentration foliaire en ion K^+ avec l'augmentation des concentrations en NaCl . Les travaux de Bouchenak [196] ont également relevé une diminution des teneurs en K^+ foliaire et racinaire avec l'augmentation des concentrations en NaCl . Soualem et *al.* [237] ont relevé un comportement différent pour des plantes de deux origines soumises au stress salin, avec une diminution de la concentration en K^+ foliaire pour celles provenant de Djelfa (zone semi-aride) et une augmentation de l'ion K^+ pour les plantes provenant d'Oran (zone côtière).

Quant aux plantules soumises à la contrainte hydrique, une diminution du taux d'accumulation du K^+ est constaté dans les racines et ce pour les deux écotypes étudiés.

Au niveau des feuilles et de la tige, aucune différence entre les plantules de la localité du Hoggar n'est notée comparé au témoins mais une accumulation de cet ion est observé chez les plantules de la localité d'El Mesrane. Ces résultats corroborent ceux de Bouchenak et *al.* [21] ayant enregistré une concentration moins importante en K^+ chez les plantules de Laghouat comparé à celles de Djelfa. En revanche, ces résultats ne sont pas en accord avec ceux de Hassine et *al.* [22] ayant enregistré une diminution du taux de K^+ chez les plantules provenant d'une zone saline Sbikha (Tunisie).

3.6. Teneur en pigments chlorophylliens

Chez les plantules d'*Atriplex halimus*, la chlorophylle « a » n'est pas affectée par les solutions de NaCl chez les deux écotypes étudiés. Ces résultats sont similaires à ceux de Brinis et Belkhodja [65] ayant travaillé sur des plantes provenant de la région de Tébessa où aucune différence de chlorophylle « a » n'est enregistrée entre les témoins et les plantules soumises à des solutions de NaCl à 6g/l (102 mM).

En revanche, les travaux de Kachout et *al.* [225] sont contradictoires à nos résultats, en effet les auteurs ont noté une diminution du contenu en chlorophylle « a » chez les plantes soumises à 5, 10 et 15 g/l de NaCl (équivalents à 80, 170 et 256 mM) comparées aux témoins. Sadder et *al.* [219] ont évalué la teneur en chlorophylle « a » chez des plantes d'*Atriplex halimus* provenant de la province d'El-Jouf en Arabie saoudite, une diminution de 60 % du contenu en chlorophylle « a » est enregistré chez les plantules soumises au stress salin avec 300 et 600 mM de NaCl comparé aux témoins.

La photosynthèse est un paramètre physiologique fortement impacté par les conditions de stress [102] [222]. Suite à l'évaluation des teneurs en pigments chlorophylliens chez les plantules d'*Atriplex halimus* soumises au stress salin, les résultats obtenus ont montré une diminution importante de la chlorophylle « b », et ce quel que soit l'intensité du stress appliquée ou l'origine du matériel végétal. Ces résultats sont similaires à ceux de Kachout et *al.* [225] ayant enregistré une diminution de 20% chez les plantules soumises à 5 g/l de NaCl (équivalent à 80 mM) comparées aux témoins. Toutefois, Sadder et *al.* [219] n'ont observé aucune variation dans le contenu en chlorophylle « b » chez les plantules soumises à 150 et 300 mM de NaCl.

Nos travaux réalisés ont également montré une diminution du contenu en chlorophylle « a+b » chez les plantules traitées avec des solutions de NaCl comparativement aux témoins. Ces résultats sont en contradictions avec ceux de Bouchoukh [238] ayant relevé le plus haut niveau de chlorophylles « a+b » chez les plantules soumises à 12 g/l de NaCl soit l'équivalent de 205 mM.

Un stress hydrique induit avec des solutions de PEG6000 à 50 g/l n'a aucun effet sur la teneur en chlorophylle « a » chez les plantules des deux écotypes. A une concentration plus élevée de 100g/l, une diminution de la chlorophylle « a » est notée de manière plus prononcée chez les plantules de la localité du Hoggar comparée à celles de la localité d'El Mesrane. La contrainte hydrique n'a aucun effet sur les teneurs en chlorophylle « b » et « a+b » des plantules de la localité d'El Mesrane à Djelfa. Par contre, une diminution importante est observée chez les plantules de la localité du Hoggar à Tamanrasset comparativement aux plantules témoins. Cette diminution est liée à une stratégie d'adaptation mise en place par les plantules et qui se traduit par une fermeture des stomates dans le but de limiter la

perte d'eau, ce phénomène entraîne une réduction de la pénétration du CO₂ qui perturbe les teneurs en pigments chlorophylliens [118] [122] [146].

3.7. Teneur en caroténoïdes

Une réduction du taux de caroténoïdes est observée lorsque les plantules sont soumises à une contrainte saline et hydrique, cette réduction est d'autant plus importante lorsque les plantules proviennent de la localité d'El Mesrane à Djelfa. Des résultats similaires ont été enregistré par Sadder et *al.* [219] avec une diminution du contenu en caroténoïdes chez les plantules soumises à des solutions de NaCl à 150 et 300 mM. La teneur en caroténoïdes des plantes d'*Atriplex halimus* provenant de la région de Bembla en Tunisie soumises à un stress avec 200 et 400 mM de NaCl est similaire à celle enregistrée chez les témoins. Un stress plus sévère de 800 mM entraîne une diminution de 7,1 % de la teneur en caroténoïdes comparé aux plantules témoins [234].

3.8. Teneur en sucres solubles

L'accumulation de sucres solubles en réponse aux stress abiotiques a été largement rapportée [111] [156] [160]. Les sucres ont un rôle primordial dans la cellule comme ressource métabolique et constituant structurale. Ils agissent comme molécules de signalisation régulant divers processus associés à la croissance et au développement de la plante [156].

Notre étude indique que face à la contrainte saline, les teneurs en sucres solubles au niveau des parties racinaire et aérienne des plantules provenant de la région de Djelfa sont similaires à celles enregistrées chez les témoins. Ces résultats sont en accord avec ceux enregistrés chez les plantules provenant de la région de Kairouan en Tunisie caractérisée par un climat continental aride lorsqu'elles sont soumises à 50, 450 et 600 mM de NaCl [148] [233].

Les plantules issues de la région de Tamanrasset présentent une accumulation importante des sucres solubles d'environ 1 µg/g lorsqu'elles sont traitées avec des solutions de NaCl à 300 mM comparées aux plantules provenant de la région de Djelfa enregistrant de faibles taux de sucres solubles de 0,29 µg/g. Chez les halophytes, les sucres solubles contribuent significativement à la tolérance des plantes aux fortes salinités [142] [239].

Ces osmolytes permettent de maintenir la pression de turgescence des cellules et l'abaissement du potentiel osmotique [156].

Les résultats obtenus durant notre étude soulignent une synthèse plus importante de sucres solubles chez les plantules provenant de régions à aridité élevée. Les travaux de Soualem et *al.* [237] ont en effet indiqué une augmentation du contenu en sucres solubles chez les plantules soumises à 300 mM de NaCl comparées aux témoins, elle est d'autant plus élevée lorsque les plantules sont issues de Djelfa (164%) comparativement à celles de la région d'Oran (4%). En revanche, une comparaison entre les plantules d'*Atriplex halimus* provenant de Djelfa et de Laghouat soumises à des solutions de NaCl à 300 et 600 mM accumulent des concentrations similaires et élevées en sucres solubles de 52 et 61 $\mu\text{moles/g}$ de poids frais respectivement [196].

Face à une contrainte hydrique, les plantules provenant de la localité d'El Mesrane à Djelfa enregistrent une accumulation très importante de sucres solubles totaux au niveau aérien. Lorsqu'elles sont exposées à des solutions de PEG6000 à 15%, des plantules d'*Atriplex halimus* provenant de la région de Kairoun en Tunisie (zone continentale aride) présentent également une augmentation des teneurs en sucres solubles au niveau des feuilles [233].

Chez les plantules de la localité du Hoggar, les solutions de PEG6000 n'ont aucun effet sur les teneurs en sucres solubles qui enregistrent des valeurs similaires aux témoins. Dans l'étude menée par Alla et *al.* [23] sur des plantes issues d'une région désertique en Egypte, un stress induit par 3 et 6 jours d'arrêt d'arrosage n'a aucun impact sur le contenu en sucres solubles qui est similaire à celui enregistré chez les témoins. Selon Martinez et *al.* [233], les sucres solubles joueraient un rôle majeur dans l'ajustement osmotique en conditions de stress hydrique et salin. Toutefois, les travaux menés par Alla et *al.* [23] sur l'effet des solutions de NaCl et de PEG sur le contenu en sucres solubles suggéreraient que les concentrations de sucres, y compris le saccharose ont été trop faible pour contribuer de manière significative à l'ajustement osmotique, ils pourraient donc agir comme osmoprotecteurs.

Les résultats de notre étude soulignent un comportement différent entre les plantules de la localité d'El Mesrane et celles du Hoggar. Ces résultats sont contradictoires avec ceux de Hassine et *al.* [213] ayant montré une augmentation du contenu en sucres solubles après 2 jours de traitement avec 15% de PEG et

aucune différence entre deux populations d'*Atriplex halimus* de la région de Monastir (zone semi-aride) et de Kairouan (zone continentale aride) situées en Tunisie. Lorsque la contrainte hydrique est induite par un arrêt d'arrosage, aucune différence n'est notée entre les différentes populations d'*Atriplex halimus*. Martinez et al. [20] ont observé une augmentation des taux de sucres solubles après 22 jours d'arrêt d'arrosage similaire chez les plantes d'*Atriplex halimus* provenant de la région de Kairouan (zone non salée en Tunisie) et de Tensift (site salé en Maroc). Bouchenak et al. [21] ont noté une augmentation du taux de sucres solubles totaux de 30 à 45 moles/g chez les plantules soumises à un arrêt d'arrosage durant 14 jours, de manière similaire pour les deux populations issues de Djelfa et de Laghouat. Cette accumulation de solutés est provoquée par la plante qui développe des stratégies d'adaptation pour survivre aux conditions rudes.

3.9. Teneur en proline

Avec les sucres solubles, la proline et la glycine bêtaïne comptent parmi les osmolytes les plus couramment accumulés chez les amarantacées [142]. Ces molécules sont des composés qui possèdent une haute solubilité et sont capables d'assumer de nombreuses fonctions, elles ne sont pas toxiques et n'interfèrent pas avec les réactions métaboliques de la cellule même à haute concentration [139].

La proline augmente de façon importante chez plusieurs espèces halophytes sous contrainte abiotique [155] [226] [240]. Cette molécule a divers rôles dans la tolérance au stress, elle agit en tant que soluté organique dans l'ajustement osmotique, la protection des protéines et membranes [155]. En conditions osmotiques, la proline protège les fonctions cellulaires par piégeage des espèces réactives à l'oxygène [166] [181] [241]. En situation de stress, la proline agit en tant qu'osmolyte compatible et contribue au stockage de l'azote et du carbone, stabilisateur de pH et permet de maintenir l'équilibre redox de la cellule [172] [241].

De nombreux travaux réalisés sur l'*Atriplex halimus* montrent une forte augmentation de la concentration en proline soumises à de solutions élevées en sels [21] [148] [219] [233] [238].

Ces résultats coïncident avec les teneurs en proline foliaire observées chez *Atriplex halimus* dans le cadre de ce travail puisque pour les deux écotypes (Djelfa, Tamanrasset) une augmentation significative de ce paramètre a été mis en

évidence sous un stress induit avec des solutions de NaCl à 300 mM. L'accumulation de la proline est d'autant plus importante chez les plantules provenant de la localité d'El Mesrane à Djelfa comparées à celles enregistrées chez les plantules de la localité du Hoggar à Tamanrasset. La mesure de la conductivité électrique (CE) des sols des deux localités a montré que les plantes de l'écotype de Djelfa vivent dans un environnement salin comparé aux plantes de l'écotype de Tamanrasset dont la salinité est quasiment nulle. Ces résultats sont en accord avec ceux de Bouchenak et *al.* (2012) [21] ayant relevé une concentration élevée de proline chez les plantules de la population de Laghouat (CE= 8,2 dS/m) comparée à la population de plantules de Djelfa (CE= 3,32 dS/m).

Au niveau racinaire, les travaux de Bouchenak [196] ont montré que les teneurs en proline sont inférieures aux valeurs enregistrées dans la partie aérienne. Cet acide aminé est accumulé en faibles quantités en présence de fortes concentrations en sels. En effet, des résultats similaires ont été notés dans notre étude chez les plantules des deux écotypes étudiés.

Face à la contrainte hydrique, l'augmentation des concentrations en PEG6000 entraînent une accumulation de la proline au niveau aérien d'autant plus importante lorsque les plantules proviennent de la localité d'El Mesrane. Ces résultats corroborent avec ceux de Bouchenak et *al.* [21] ayant enregistré une concentration plus importante chez les plantules de Djelfa comparées à celles de Laghouat (25,1 et 21,9 mole/g de MF, respectivement).

Hassine et *al.* [213] ont relevé une accumulation plus élevée de proline chez les plantes de la population de Kairouan (région aride) comparé à celles de Monastir (zone semi-aride). Lorsque des plantules d'*Atriplex halimus* de deux régions en Tunisie à savoir Tensift zone aride saline et Kairouan zone aride non saline sont soumises à une contrainte hydrique induite par un arrêt d'arrosage, la capacité à accumuler de la proline n'est pas différente [20].

3.10. Teneur en glycine bêtaïne

Alors que l'accumulation de proline est une réponse omniprésente dans le règne végétal, la glycine bêtaïne est observée chez un nombre limité d'espèces végétales. Dans le cadre de ce travail, l'augmentation des concentrations en NaCl entraînent une diminution des taux de glycine bêtaïne dans les feuilles et tiges des plantules provenant de la localité du Hoggar. Martinez et *al.* [233] ont observé que de faibles

concentrations en NaCl n'affectent pas la concentration en glycine bêtaïne foliaire. L'accumulation de cette dernière est très importante chez les plantules provenant de la localité d'El Mesrane comparée aux plantules de la localité du Hoggar à Tamanrasset, région à aridité élevée. Ces résultats sont en accord avec ceux de Hassine et *al.* [22] ayant souligné qu'à des concentrations élevées en NaCl, les plantes de la région de Monastir (un site côtier en Tunisie) accumulent au niveau des feuilles des teneurs en glycine bêtaïne plus importante que les plantes de Sbikha (Site aride). Bouchenak et *al.* [21] ont également indiqué que face à un stress salin les plantules provenant de la région de Laghouat accumulent de manière plus élevée les composés ammoniums quaternaires comparés aux plantules de la région de Djelfa. L'ensemble des résultats soulignent une tendance similaire à celle observée pour la proline, la quantité de glycine bêtaïne accumulée est liée à l'origine du matériel végétal avec une accumulation plus élevée pour les plantes provenant de site à salinité élevée. La forte accumulation de la glycine bêtaïne dans les chloroplastes jouent un rôle dans le maintien de l'activité du photosystème II [22]. La molécule a rôle dans l'ajustement osmotique et dans la capacité à éliminer les espèces réactives de l'oxygène (ROS) [242].

La comparaison de la teneur en glycine bêtaïne chez les plantules soumises à la contrainte hydrique avec les témoins a souligné une diminution du contenu chez les plantules provenant de la région de Tamanrasset et une augmentation de celui-ci chez les plantules issues de la région de Djelfa. La réponse des plantules de la localité d'El Mesrane est similaire à celles observé chez des plantules d'*Atriplex halimus* provenant de la région de Kairoun en Tunisie qui enregistrent une augmentation du contenu en glycine bêtaïne chez les plantules traitées avec 15 % de PEG [233]. Nous soulignons une différence de comportement entre les deux écotypes étudiés, ces résultats sont similaires à ceux de Martinez et *al.* [20] et Hassine et *al.* [213]. Les résultats obtenus par Martinez et *al.* [20] indiquent que les plantes provenant de Tensift (site salin au Maroc) présentent une quantité de glycine bêtaïne supérieure à celle enregistré chez les plantes de Kairouan (zone non saline en Tunisie). Hassine et *al.* [213] ont enregistré une accumulation de glycine bêtaïne plus importante chez les plantes de la région de Monastir que celles de Kairouan. En revanche, Bouchenak et *al.* [21] ont montré que l'accumulation de la glycine bêtaïne chez les plantules provenant de Djelfa et de Laghouat suit une tendance similaire.

3.11. Analyse de l'expression des gènes

La voie principale de biosynthèse de la proline est celle du glutamate qui fait appel à deux enzymes, la pyrroline-5-carboxylate synthase (P5CS) et la pyrroline-5-carboxylate réductase (P5CR). La P5CS réduit le glutamate semi aldéhyde qui est spontanément converti en pyrroline-5-carboxylate, ce dernier est transformé en proline par le P5CR [156] [166]. Dans notre étude, les solutions de NaCl (100 et 300 mM) et de PEG (50 et 100 g/l) entraînent une augmentation considérable du niveau d'expression des gènes codant pour la P5CS et la P5CR dans les feuilles des plantules, celui-ci est positivement corrélé avec la concentration en proline accumulée. Ces résultats sont similaires à ceux observés par Silva-Ortega et al. [243] chez le figuier de barbarie où des concentrations en NaCl allant de 75 à 350 mM stimule l'expression de P5CS qui contribue à une accumulation considérable de proline. Chaitanya et al. [244] ont également enregistré une augmentation significative de l'expression des gènes P5CS et P5CR dans les feuilles des plantes de *Morus alba* ayant été soumises à un stress hydrique par arrêt d'arrosage jusqu'à ce que le potentiel en eau des feuilles atteigne des valeurs de -0,75, -1,5 et -2,25 MPa [244].

Les deux enzymes (P5CS et P5CR) ont un rôle majeur dans la synthèse de la proline et de ce fait dans la tolérance des plantes aux contraintes de stress. En effet, de nombreuses études menées sur des plantes transgéniques soumises aux stress salin et hydrique ont indiqué de multiples améliorations au niveau morphologique, physiologique et biochimique [245] [246] [247] [248]. La surexpression du gène P5CS chez le tabac transgénique a entraîné une importante synthèse de proline qui a permis une meilleure tolérance des plantules aux stress salin (250, 300 et 400 mM de NaCl) et hydrique (10 jours sans irrigation) [248]. Les travaux de Simon-Sarkadi et al. [245] ont montré une meilleure tolérance au stress hydrique des plantes de soja transgénique (gène P5CR d'*Arabidopsis thaliana*). Chez les plantes de canne à sucre transgénique soumises à 9 jours sans irrigation, la surexpression du gène P5CS (obtenu à partir de *Vigna aconitifolia* L.) entraîne une réduction du stress oxydative. Comparé aux témoins non transgéniques, les plantes transgéniques présentent une efficacité photochimique du PSII 65 % plus élevée, une peroxydation des lipides et de la chlorophylle moins importante et une augmentation de la production de biomasse [246]. Des plantes transgéniques de blé transformé à partir du gène P5CS de *Vigna aconitifolia* soumises à 15 jours sans

arrosage sont plus tolérantes aux stress hydrique accompagné d'une réduction du stress oxydatif [247].

Chez les plantes supérieures, la glycine bêtaïne est synthétisée à partir de choline via l'action de deux enzymes, la choline mono oxygénase (CMO) et la bêtaïne aldéhyde déshydrogénase (BADH). La choline est converti par la CMO en bêtaïne aldéhyde, qui est transformé en glycine bêtaïne par la BADH [155] [178].

Notre étude a montré une forte corrélation entre le niveau d'expression des gènes (BADH, CMO) et l'augmentation de la teneur en glycine bêtaïne chez les plantules des localités d'El Mesrane soumises aux contraintes (hydrique, saline). Plusieurs travaux ont montré que la surexpression des deux gènes est directement liée à la forte tolérance des plantes [249] [250] [251] [252] [253]. L'introduction du gène BADH cloné à partir d'*Atriplex hortensis* dans un cultivar de tomate sensible aux sels a indiqué une tolérance aux sels des plantes transgéniques capables de croître normalement à des concentrations en sel supérieure à 120 mM [249]. Chez des plantes de carotte sensibles au sel, une surexpression d'un plaste BADH entraîne une production élevée de glycine bêtaïne chez les carottes sauvages et une importante tolérance au sel (jusqu'à 400 mM de NaCl), comparé aux carottes sauvages qui ont montré une réduction sévère de leur croissance à 200 mM de NaCl [250]. La surexpression du gène BADH augmentent la tolérance à la salinité des plantes transgéniques d'*Arabidopsis*, du Tabac et du riz en augmentant le niveau de glycine bêtaïne [251]. Des plantes de patate douce transgéniques exprimant le gène BADH montrent une tolérance au sel [253]. Des plantes de coton transgénique obtenu par introduction du gène CMO cloné à partir d'*Atriplex hortensis* accumulent une quantité de Glycine bêtaïne 131% plus importante que des lignées non transgéniques à des solutions de NaCl à 150 mM. Cette teneur élevée en glycine bêtaïne permet aux plantes transgéniques une meilleure tolérance au stress salin qui se traduit par une diminution du potentiel osmotique et du stress oxydative, l'accumulation de MDA, la protection de la membrane cellulaire et une capacité photosynthétique élevée [252].

Le transport de la proline est une composante importante de la tolérance au stress [165]. Dans la présente étude, l'expression du gène codant pour le transporteur de proline (ProT) au niveau de la partie aérienne des plantules

soumises au stress (hydrique, salin) est positivement corrélée avec l'augmentation des teneurs en proline foliaire. En parallèle, nous avons observé au niveau des racines des deux écotypes (Djelfa et Tamanrasset) que le gène P5CS ne s'était pas exprimé. L'expression de la P5CR quant à elle est négativement corrélée aux différents paramètres évalués au niveau aérien à savoir la concentration en proline et l'expression des deux gènes P5CS et P5CR. Les résultats suggèrent que la proline n'est donc pas synthétisée dans les racines des plantules. Toutefois, le dosage de cet osmolyte dans cette même partie de la plante indique une légère accumulation de celui-ci.

L'ensemble de nos résultats suggèrent que ProT jouerait un rôle important dans le transport de la proline de la partie aérienne vers la partie racinaire des plantules d'*Atriplex halimus*. Des résultats similaires ont été observés chez *Hordeum vulgare* où un clonage du gène codant pour la proline transporter (HvProT) a été réalisé à partir des racines de l'orge soumis au stress salin afin de caractériser et de déterminer les fonctions de ce gène chez cette espèce [169]. Ces mêmes auteurs suggèrent que HvProT pourrait jouer un rôle important dans le transport de la proline vers les extrémités racinaires en situation de stress salin [169].

Plusieurs travaux ont montré que le transporteur de proline est également capable d'assurer le transport de la glycine bêtaïne [254] [255]. Notre étude a montré une corrélation positive entre le niveau d'expression du gène ProT et l'augmentation de la concentration en glycine bêtaïne dans la partie aérienne des plantules. Comme pour la proline, on enregistre une accumulation de la glycine bêtaïne en petite quantité dans les racines. Notons que celle-ci est habituellement synthétisée au niveau des chloroplastes. Nos résultats suggèrent donc que le transporteur de proline est également responsable du transport de la glycine bêtaïne des feuilles vers les racines.

CONCLUSION GENERALE

Les stress abiotiques notamment hydrique et salin constituent un facteur limitant pour le bon développement et la croissance de la plante, et ce tout au long de son cycle phénologique. Pour faire face aux multiples contraintes, il est primordial d'étudier, de tester et d'avoir des espèces végétales performantes, tolérantes ayant la capacité de s'adapter à la sécheresse et à la salinité.

Notre travail de recherche a permis de mettre en évidence les mécanismes de tolérance aux contraintes hydrique et saline mis en jeu par une espèce halophyte autochtone l'*Atriplex halimus* L., aux premiers stades de développement de la plante et à un stade plus avancé où les plantules sont âgées de 3 mois.

Les résultats obtenus dans notre étude ont consolidé ceux relatés dans la littérature et qui soulignent la forte adaptation de l'*A. halimus* aux stress abiotiques notamment hydrique et salin. Les graines de cette espèce présentent une meilleure tolérance au stress hydrique comparé au stress salin. En effet, celles-ci germent jusqu'à des concentrations en polyéthylène glycol de -7 MPa tandis que la germination est nulle à une solution de chlorure de sodium supérieure à -1.4 MPa.

Les sites de récolte des graines des deux écotypes étudiés se distinguent par leur climat et la nature du sol sur lequel prospèrent les plantes. La région de Djelfa se caractérise par un climat semi-aride et un sol à salinité élevée comparée à la région de Tamanrasset où le sol n'est pas salin mais où les conditions climatiques sont rudes avec de très faibles précipitations et des températures élevées. Cette différence influence le comportement de l'espèce vis-à-vis des solutions de stress et se traduit par une meilleure tolérance des graines et des jeunes plantules issues de la localité d'El Mesrane (Djelfa) aux solutions de NaCl et une résistance plus importante de celles provenant de la localité du Hoggar aux solutions de PEG.

Dans la deuxième partie de notre travail nous avons soumis des plantules âgées 3 mois aux solutions de NaCl (100 et 300 mM) et de PEG6000 (50 et 100 g/l). Contrairement aux résultats obtenues sur les graines, les plantules sont plus affectées par la contrainte hydrique que par le stress salin. Toutefois, une variabilité

de comportement entre les deux écotypes Djelfa et Tamanrasset est également observée. De faibles doses de sels (100 mM) stimulent la croissance des plantules provenant de la localité d'El Mesrane (Djelfa). Cet effet stimulant n'est pas enregistré chez les plantules de la localité du Hoggar (Tamanrasset).

Sur le plan biochimique, les stress hydrique et salin entraînent une production de sucres solubles, de proline et de glycine bêtaïne. Leur accumulation est fonction de l'écotype étudié, de la nature du stress appliqué et de l'intensité de la contrainte.

Les sucres solubles sont accumulés en très faible quantité comparés aux autres osmolytes (proline et glycine bêtaïne). Leur concentration augmente chez les plantules d'*A. halimus* issues de la localité du Hoggar et soumises à des solutions de NaCl de 300 mM comparativement à celles de la localité d'El Mesrane qui n'en produisent pas sous stress salin. Cette tendance s'inverse lorsque les plantules sont exposées à la contrainte hydrique où l'on observe une production élevée de sucres chez les plantules de l'écotype de Djelfa et aucune accumulation chez les plantules de l'écotype de Tamanrasset.

Les plantules de l'écotype de Djelfa traitées avec des solutions de stress élevées de 300 mM de NaCl et 100 g/l de PEG produisent des quantités considérables de glycine bêtaïne. Aux mêmes concentrations, on enregistre chez les plantules de l'écotype de Tamanrasset une diminution de la concentration de cette molécule comparativement aux plantules témoins.

La proline est très fortement accumulée sous stress salin. Les concentrations sont d'autant plus importantes chez les plantules provenant de la localité d'El Mesrane (Djelfa) comparées à celles issues de la localité du Hoggar (Tamanrasset). Nos résultats suggèrent que la proline joue un rôle clé dans la tolérance de l'espèce au stress abiotique notamment dans l'ajustement osmotique.

Dans le dernier volet de ce travail nous avons évalué le niveau d'expression de gènes impliqués dans le métabolisme de la proline et de la glycine bêtaïne. L'accumulation de la proline au niveau des feuilles de l'*Atriplex halimus* est fortement corrélée à l'expression des gènes codant pour la P5CS et la P5CR suggérant que la voie principale de biosynthèse de la molécule chez l'espèce durant un stress est celle du glutamate. La production de la glycine bêtaïne chez les plantules de la localité d'El Mesrane est également corrélée avec le niveau

d'expression des gènes codant pour la CMO et la BADH. Cette corrélation n'est pas relevée chez les plantules de la localité du Hoggar. Le gène codant pour le transporteur de proline est positivement corrélé aux teneurs en proline et glycine bêtaïne enregistrées indiquant qu'il pourrait jouer un rôle important dans le transport de ces molécules au niveau de la plante, pour ce gène une meilleure affinité pour la proline est observée.

A partir de nos résultats nous supposons que les plantules provenant de la localité d'El Mesrane (Djelfa) nécessitent l'action conjointe des deux molécules (proline et glycine bêtaïne) dans le processus de tolérance aux stress. Les plantules de la localité du Hoggar (Tamanrasset) s'adaptent et développent des stratégies en synthétisant la proline.

Notre travail de recherche a permis une meilleure compréhension des mécanismes d'adaptation mis en jeu par les deux écotypes d'*Atriplex halimus* L. (Djelfa, Tamanrasset) aux stress hydrique et salin. La haute tolérance aux contraintes et la variabilité de réponse observée entre les écotypes suggérerait que cette espèce pourrait jouer un rôle important dans les programmes de réhabilitation des zones arides et semi-arides où la salinité et la sécheresse sont les caractéristiques prédominantes de l'environnement.

Nous nous sommes également intéressés à un volet peu connu jusque-là et qui nous a permis d'élargir nos connaissances sur l'impact des stress abiotiques (hydrique salin) sur l'expression des gènes impliqués dans le métabolisme de la proline et de la glycine bêtaïne. Cette étude est une étape importante vers la création de variétés tolérantes pouvant faire face aux stress environnementaux. Toutefois, de nombreuses réponses restent incomplètes et à approfondir. Il serait donc intéressant :

- D'approfondir les travaux réalisés sur l'impact des contraintes (hydrique, saline) sur le métabolisme de la proline et de la glycine bêtaïne par l'évaluation de l'activité enzymatique des gènes (P5CS, P5CR, CMO, BADH et ProT).
- D'étudier d'autres mécanismes de tolérance et de stratégies adaptatives des plantules face aux stress hydrique et salin notamment les systèmes antioxydants enzymatiques et non enzymatiques.

- D'évaluer l'adaptation de cette espèce sous d'autres conditions expérimentales en tenant compte des facteurs externes et de la durée du stress afin de mieux valoriser la réponse de la plante.
- De suivre la réponse adaptative de l'*Atriplex halimus* L. à l'effet simultané des deux stress hydrique et salin.
- D'étudier l'adaptation d'autres espèces autochtones afin d'enrichir la biodiversité dans les régions arides et semi-arides.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Hasanuzzaman, M., Nahar, K., Öztürk, M. (Eds.), "Ecophysiology, Abiotic Stress Responses and Utilization of Halophytes", Springer, (2019).
2. Ivushkin, K., Bartholomeus, H., Bregt, A. K., Pulatov, A., Kempen, B., De Sousa, L., "Global mapping of soil salinity change. Remote sensing of environment", V.231, (2019), 111260p.
3. FAO, ITPS, "Status of the world's soil resources (SWSR)–main report. Food and agriculture organization of the United Nations and intergovernmental technical panel on soils", Rome, Italy, V.650, (2015).
4. Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), "Arbres, forêts et utilisation des terres dans les zones arides Première évaluation mondiale", Rome: FAO (Edit), (2017), 44p.
5. Davi, H., "Impact des changements climatiques sur les écosystèmes forestiers de la région méditerranéenne", Innovations Agronomiques, (2015), V. 47, 1-16.
6. De l'environnement, E. T., P. R. O. J. E. T. MATE-PNUD-FEM. "Etude diagnostique sur la Biodiversité & les changements climatiques en Algérie", (2015).
7. Hussain, S., Shaukat, M., Ashraf, M., Zhu, C., Jin, Q., Zhang, J., "Salinity stress in arid and semi-arid climates: Effects and management in field crops". Climate change and agriculture, V.13, (2019).
8. Food and Agriculture Organization of the United Nations, "The state of the world's land and water resources for food and agriculture: Managing systems at risk", Earthscan, (2011).
9. Santos, J., Al-Azzawi, M., Aronson, J., Flowers, T.J., eHALOPH a Database of Salt-Tolerant Plants: Helping put Halophytes to Work, Plant & Cell Physiology, V.57, n°1, (2016), 1-10.
10. Kadereit, G., Mavrodiev, E.V., Zacharias, E.H., Sukhorukov, A. P., "Molecular phylogeny of Atripliceae (Chenopodiaceae): Implications for systematics, biogeography, flower and fruit evolution, and the origin of C4 photosynthesis", *Amer. J. Bot.* V.97, n° 10, (2010), 1664-1687.
11. Nikalje, G. C., Bhaskar, S. D., Yadav, K., Penna, S., "Halophytes: Prospective plants for future", In Ecophysiology, abiotic stress responses and utilization of halophytes, Springer, Singapore, (2019), 221-234.
12. Flowers, T. J., Colmer, T. D., "Salinity tolerance in halophytes. New Phytologist", V.179, n° 4, (2008), 945-963.

13. Tug, G. N., Yaprak, A. E., "An overview of the germination behavior of halophytes and their role in food security". *Ecophysiology, Abiotic Stress Responses and Utilization of Halophytes*, (2019), 39-61.
14. Rajalakshmi, S., Parida, A., "Halophytes as a source of genes for abiotic stress tolerance", *Journal of plant biochemistry and biotechnology*, V.21, n°1, (2012), 63-67.
15. Amghar, F., Forey, E., Margerie, P., Langlois, E., Brouri, L., Kadi-Hanifi, H., "Grazing exclosure and plantation: a synchronic study of two restoration techniques improving plant community and soil properties in arid degraded steppes (Algeria)", *Revue d'Écologie*, V.67, (2012), 257– 269.
16. Nedjimi, B., "Effects of salinity on growth, membrane permeability and root hydraulic conductivity in three saltbush species", *Biochemical Systematics and Ecology*, V.52, (2014), 4-13.
17. Yahiaoui, F. Z., Labani, A., Terras, M., Boudjemaa, M., Haddouche, M. I., Adda-Hanifi, N. N., Anteur, D., "Etude de l'impact de l'introduction de trois espèces d'*Atriplex halimus*, *Atriplex canescens* et *Atriplex nummularia* sur les paramètres physico-chimique du sol en zone steppique; cas de la région de (Sud Ouest Algérien) ", *MEDITERRANEA SERIE DE ESTUDIOS BIOLÓGICOS*, (2014), 186-203.
18. Benrebiha, F. Z., "Contribution à l'étude de la germination de quelques espèces d'*Atriplex* locales et introduites", *Mémoire de magister en sciences agronomiques*, Institut National agronomique, El-Harrach, Alger, (1987), 5-20.
19. Ortiz-Dorda, J., Martinez-Mora, C., Correal, E., Simon, B., Cenis, J.L., "Genetic structure of *Atriplex halimus* populations in the Mediterranean Basin", *Ann. Bot.*, V. 95, (2005), 827-834.
20. Martinez, J. P., Lutts, S., Schanck, A., Bajji, M., Kinet, J. M., "Is osmotic adjustment required for water stress resistance in the Mediterranean shrub *Atriplex halimus* L?", *Journal of plant physiology*, V. 161, n° 9, (2004), 1041-1051.
21. Bouchenak, F., Henri, P., Benrebiha, F. Z., Rey, P., "Differential responses to salinity of two *Atriplex halimus* populations in relation to organic solutes and antioxidant systems involving thiol reductases", *Journal of Plant Physiology*, V.169, n°15, (2012), 1445-1453.
22. Hassine, A., Ghanem, M. E., Bouzid, S., Lutts, S., "Abscisic acid has contrasting effects on salt excretion and polyamine concentrations of an inland and a coastal population of the Mediterranean xero-halophyte species *Atriplex halimus*", *Annals of botany*, V.104, n°5, (2009), 925-936.

23. Alla, M. M. N., Khedr, A. H. A., Serag, M. M., Abu-Alnaga, A. Z., Nada, R. M., "Regulation of metabolomics in *Atriplex halimus* growth under salt and drought stress", *Plant Growth Regulation*, V. 67, n°3, (2012), 281-304.
24. Walker, D. J., Lutts, S., "The tolerance of *Atriplex halimus* L. to environmental stresses", *Emirates Journal of Food and Agriculture*, (2014), 1081-1090.
25. The Plant List, (2013), Version 1.1. [site Web], <http://www.theplantlist.org/> (consulté le 1 janvier).
26. Hakeem, K.R., Ahmad, P., Ozturk, M., Crop improvement: new approaches and modern techniques, Springer Science & Business Media, (2013).
27. Djerroudi, Z., Morpho-Physiologique d'une, O. C., "Halophyte, *Atriplex*, aux Conditions Arides ", (Doctorat Université d'Oran, Oran, Algeria), (2017).
28. Attia-Ismail, S. A., "Halophytes as forages. New Perspectives in Forage Crops", Loiola Edvan, R., Rocha Bezerra, L., Eds, (2018), 69-87.
29. Bouda, S., Haddioui, A., "Effet du stress salin sur la germination de quelques espèces du genre *Atriplex*", *Revue Nature et Technologie*, V.3, n°2, (2011), 72-79.
30. Kaci, S., Bissati, S., Djerroudi, O., "EFFECT OF SALT STRESS ON THE MINERAL RESPONSE OF *Atriplex canescens* (PURSH) NUTT", *Revue des bio ressources*, V.2, n°2, (2012), 11p.
31. Piovan, M. J., Zapperi, G. M., Pratolongo, P. D., "Seed germination of *Atriplex undulata* under saline and alkaline conditions", *Seed Science and Technology*, V.42, n°2, (2014), 286-292.
32. El Shaer, H. M., & Attia-Ismail, S. A., "Halophytic and salt tolerant feedstuffs in the Mediterranean basin and Arab region: an overview". *Halophytic and Salt-Tolerant Feedstuffs: Impacts on Nutrition, Physiology and Reproduction of Livestock*, (2015).
33. Lefèvre, I., Marchal, G., Meerts, P., Corréal, E., Lutts, S., "Chloride salinity reduces cadmium accumulation by the Mediterranean halophyte species *Atriplex halimus* L.", *Environmental and Experimental Botany*, V.65, n°1, (2009), 142-152.
34. Glenn, E. P., Nelson, S. G., Ambrose, B., Martinez, R., Soliz, D., Pabendinskas, V., Hultine, K., "Comparison of salinity tolerance of three *Atriplex* spp. in well-watered and drying soils", *Environmental and Experimental Botany*, V. 83, (2012), 62-72.
35. Eissa, M. A., "Impact of compost on metals phytostabilization potential of two halophytes species", *International journal of phytoremediation*, V.17, n°7, (2015), 662-668.

36. Akgün, B., Yazar, E., Kocacinar, F., "Photosynthetic responses of *Amygdalus arabica* Olivier and *Atriplex canescens* (Pursh) Nutt to drought stress under field conditions", *Siberian Journal of Forest Science*, V.6, (2018), 103-111.
37. Mâalem, S., "étude de l'impact des interactions entre le phosphore et le chlorure de sodium sur trois espèces végétales halophytes du genre *Atriplex* (*A. Halimus* *A. Nummularia* *A. canescens*)". Thèse Doctorat, Université Baji Mokhtar, Annaba, (2011), 100p.
38. INRAA., "Algérie. Deuxième rapport national sur l'état des ressources phytogénétiques: organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture", (2006).
39. Walker, D. J., Lutts, S., Sánchez-García, M., Correal, E., "Atriplex halimus L.: Its biology and uses", *Journal of Arid Environments*, V.100, (2014), 111-121.
40. Benabadji, N., Bouazza, M., Merzouk, M., Ghezlaoui, S.M.B.E., "Aspects phytoécologiques des *Atriplex* au Nord de Tlemcen (Oranie, Algérie)", *Rev. Sci et Tech*, n° 22, (2004), 62-79.
41. Fried, G., "Focus sur une espèce : *Atriplex halimus* L. (Amaranthaceae)", *Journal de Botanique de la Société Botanique de France*, V.72, (2015), 69-71.
42. Mesnoua, M., "Caractérisation enzymatique d'*Atriplex halimus* soumis aux stress des métaux lourds: cas du cuivre", (Doctoral dissertation, Université de Mostaganem-Abdelhamid Ibn Badis), (2010).
43. Mifsud, S., "Atriplex halimus profile created on Nov-07", Retrieved from MaltaWildPlants.com, (2021).
44. Le Houérou, H. N., "Utilization of fodder trees and shrubs in the arid and semiarid zones of West Asia and North Africa", *Arid Soil Research and Rehabilitation*, V.14, n° 2, (2000), 101-135.
45. Dutuit, P., Pourrat, Y., Dodeman, V. L., "Stratégie d'implantation d'un système d'espèces adaptées aux conditions d'aridité du pourtour méditerranéen. L'amélioration des plantes pour l'adaptation aux milieux arides", John Libbey Eurotext, (1991).
46. Belkhodja, M., Bidai, Y., "La réponse des graines d'*Atriplex halimus* L. à la salinité au stade de la germination", *Science et changements planétaires/Sécheresse*, V.15, n°4, (2004), 331-335.
47. Meyer, C., ed. sc., *Dictionnaire des Sciences Animales*, [On line]. Montpellier, France, Cirad, [11/12/2020]., (2020).
48. Talamali, A., Dutuit, P., Le Thomas, A., Gorenflot, R., "Polygamie chez *Atriplex halimus* L. (Chenopodiaceae)", *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences-Series III-Sciences de la Vie*, V.324, n°2, (2001), 107-113.

49. Oliet pala, J.M., Prada saez, M.A., 2012. *Atriplex halimus* L., "Producción y Manejo de Semillas y Plantas Forestales. Tomo I. Organismo Autónomo de Parques Nacionales", Serie Forestal, (2012), 1018 p.
50. Angiosperm Phylogeny Group., "An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III", *Botanical Journal of the Linnean Society*, V.16, n°2, (2009), 105-121.
51. Chehma, A., Djebar, M. R., "Les espèces médicinales spontanées du Sahara septentrional algérien: distribution spatio-temporelle et étude ethnobotanique", *Synthèse: Revue des Sciences et de la Technologie*, 17, (2008), 36-45.
52. Rachid, A., Rabah, D., Farid, L., Zohra, S. F., Houcine, B., Nacéra, B., "Ethnopharmacological survey of medicinal plants used in the traditional treatment of diabetes mellitus in the North Western and South Western Algeria", *Journal of Medicinal Plants Research*, V.6, n°10, (2012), 2041-2050.
53. Rahman, S. M. A., Abd-Ellatif, S. A., Deraz, S. F., Khalil, A. A., "Antibacterial activity of some wild medicinal plants collected from western Mediterranean coast, Egypt: Natural alternatives for infectious disease treatment", *African Journal of Biotechnology*, V.10, n°52, (2011), 10733-10743.
54. Abu-Zanat, M. W., Ruyle, G. B., Abdel-Hamid, N. F. (2004), "Increasing range production from fodder shrubs in low rainfall areas", *Journal of Arid Environments*, V. 59, n°2, (2004), 205-216.
55. Walker, M., Cross, H., Smith, S., Young, C., Aicardi, J., Appleton, R., Wiesmann, U., "Nonconvulsive status epilepticus: Epilepsy Research Foundation workshop reports", *Epileptic Disorders*, V.7, n°3, (2005), 253-296.
56. Bankaji, I., Sleimi, N., "Polymorphisme biochimique chez quelques halophytes autochtones du nord tunisien", *Revue d'écologie*, (2012).
57. Boutekrabt, A., Fatarna, L. "Comportement germinatif des graines d'*Atriplex halimus* L. stressées par les métaux Cd, Zn et Pb", *Revue des Régions Arides*, n°35, (2013), 191-199.
58. Taïbi, K., Abderrahim, L. A., Helal, F., Hadji, K., "Ethnopharmacological study of herbal remedies used for the management of thyroid disorders in Algeria", *Saudi Pharmaceutical Journal*, V.29, n°1, (2021), 43-52.
59. Bouzid, A., Benabdeli, K., "Contribution élémentaire à l'étude de l'impact de l'*Atriplex halimus* sur les caractéristiques physico-chimiques et biologiques du sol en Algérie occidentale", *Ecologia Mediterranea*, V.37, n°1, (2011), 33-43.

60. Boukerker, H., Salemkour, N., Nouasria, D., Benyakhlef, B., Nacereddine, S., Chalabi, K., Belhamra, M., "La végétation steppique au profit de la phytothérapie dans la région d'El Bayadh", *Journal Algérien des Régions Arides (JARA)*, N°13 (2016), 1p.
61. Adamou-djerbaoui, M., Labdelli, F., Djelaila, Y., Oulbachir, K., Adamou, M. S., Denys, C., "Inventaire des rongeurs dans la région de Tiaret (Algérie) ", *dynamics*, (2008), 2011-2013.
62. Boudjelal, A., Henchiri, C., Sari, M., Sarri, D., Hendel, N., Benkhaled, A., Ruberto, G., "Herbalists and wild medicinal plants in M'Sila (North Algeria): An ethnopharmacology survey", *Journal of ethnopharmacology*, V.148, n°2, (2013), 395-402.
63. Baaziz, N., Mayache, B., Saheb, M., Bensaci, E., Ounissi, M., Metallaoui, S., Houhamdi, M., "Statut phénologique et reproduction des peuplements d'oiseaux d'eau dans l'éco-complexe de zones humides de Sétif (Hauts plateaux, Est de l'Algérie) ", *Bulletin de l'Institut Scientifique de Rabat*, V.32, n° 2, (2011), 77-87.
64. Chenchouni, H., "Place des argiles dans la caractérisation écopédologique du Chott de Djendli (Batna, Algérie) et mise en évidence de la relation salinité-répartition des halophytes", In *Proceedings of the 3rd Maghrebin Symposium on Clays 'SM*, V.3, (2009), 23-25.
65. Brinis, A., Belkhodja, M., "Effet de la salinité sur quelques traits physiologiques et biochimiques chez *Atriplex halimus* L. ", *Synthèse: Revue des Sciences et de la Technologie*, V.31, (2015), 42-51.
66. Chikhi, I., Allali, H., Dib, M. E. A., Medjdoub, H., Tabti, B., "Antidiabetic activity of aqueous leaf extract of *Atriplex halimus* L. (Chenopodiaceae) in streptozotocin-induced diabetic rats", *Asian Pacific journal of tropical disease*, V.4, n° 3, (2014), 181-184.
67. Casasni, L., Bouabdalah, H.E, Bouchenak, F., Chaouia, C., "Etude de la tolérance aux stress hydrique et salin de deux écotypes d'*Atriplex halimus* L.", *Agrobiologia*, V.10, n°2, (2020), 2118-2128.
68. Le Houérou, H.H., "The role of saltbushes (*Atriplex* spp.) in arid land rehabilitation in the Mediterranean Basin: a review", *Agrofor. Sys.* , V.18, (1992), 107-148.
69. Nedjimi, B., "Seasonal variation in productivity, water relations and ion contents of *Atriplex halimus* spp. *schweinfurthii* grown in Chott Zehrez wetland, Algeria", *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, V.11, n°1, (2012), 43-49.
70. Aouissat, M., Walker, D. J., Belkhodja, M., Fares, S., Corral, E., "Freezing tolerance in Algerian populations of *Atriplex halimus* and *Atriplex canescens*", *Spanish Journal of Agricultural Research*, V.7, n°3, (2009), 672-679.

71. Julve, Ph., "Baseflor. Index botanique, écologique et chorologique de la flore de France", <https://www.tela-botanica.org/projets/phytosociologie>, (2021).
72. Yabrir, B., Touati, M., Adli, B., Bezini, E., Ghafoul, M., Khalifa, S., Guit, B., "Therapeutic use of spontaneous medicinal flora from an extreme environment (dune cordon) in Djelfa region, Algeria", *J Pharm Pharmacogn Res*, V.5, (2018), 358-373.
73. Alvarez, S., Mendez, P., Díaz, C., Briggs, H., Fresno, M., "Forage from the Canary Isles (Spain) adapted to arid lands", *Journal of Animal and Veterinary Advances*, V.7, n°3, (2008), 359-363.
74. Mulas, M., Mulas, G., "Potentialités d'utilisation stratégique des plantes des genres *Atriplex* et *Opuntia* dans la lutte contre la désertification", Short and Medium-Term Priority Environmental Action Programme (SMAP), Université des études de SASSAR, (2004).
75. El Shaer, H. M., "Halophytes and salt-tolerant plants as potential forage for ruminants in the Near East region", *Small Ruminant Research*, V.91, n°1, (2010), 3-12.
76. Najar, T., Hélali, S., Nasr, H., "Valorisation des plantes tolérantes à la salinité par les petits ruminants", *Mutations des systèmes d*, (2011), 73-77.
77. He, X., Mouratov, S., Steinbeger, Y., "Spatial distribution and colonization of arbuscular mycorrhizal fungi under the canopies of desert halophytes", *Arid Land Res. Manag.*, V.16, (2002), 149-160.
78. Pen-Mouratov, S., Rakhimbaev, M., Steinberger, Y., "Seasonal and spatial variation in nematode communities in a Negev desert ecosystem", *Journal of Nematology*, V.35, n°2, (2003), 157.
79. Rodriguez-Zaragoza, S., Mayzlish, E., Steinberger, Y., "Vertical distribution of the free-living amoeba population in soil under desert shrubs in the Negev Desert, Israel", *Applied and environmental microbiology*, V.71, n°4, (2005), 2053-2060.
80. Barness, G., Zaragoza, S. R., Shmueli, I., Steinberger, Y., "Vertical distribution of a soil microbial community as affected by plant ecophysiological adaptation in a desert system", *Microbial ecology*, V.57, n°1, (2009), 36-49.
81. Díaz, O., Tapia, Y., Pastene, R., "Fitoacumulacion de arsénico en plantas terrestres del desierto de Chile", *Cuaderno de Pesquisa*, V.30, (2018), 55-65.
82. Abu-Zanat, M. M. W., Al-Ghaithi, A. K., Akash, M. W., "Effect of Planting *Atriplex* seedlings in micro-catchments on attributes of natural vegetation in arid rangelands", *Journal of Arid Environments*, V.180, (2020), 104199p.

83. Sharma, A., Devi, A., Garg, C., Kumari, A., Mann, A., Kumar, A., "Behavior of Halophytes and Their Tolerance Mechanism Under Different Abiotic Stresses" In *Ecophysiology, Abiotic Stress Responses and Utilization of Halophytes*, Springer, Singapore, (2019), 25-38.
84. Cramer, G. R., Urano, K., Delrot, S., Pezzotti, M., Shinozaki, K., "Effects of abiotic stress on plants: a systems biology perspective", *BMC plant biology*, V.11, n°1, (2011), 1-14.
85. Dubois, O., "The state of the world's land and water resources for food and agriculture: managing systems at risk", Earthscan, (2011).
86. Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), "Soils Challenge Badge", Suède: Sida (Edit), (2015), 124p.
87. Taghadosi, M. M., Hasanlou, M., "Trend analysis of soil salinity in different land cover types using landsat time series data (case study bakhtegan salt)", *International Archives of the Photogrammetry, Remote Sensing & Spatial Information Sciences*, (2017), 42p.
88. Lokhande, V. H., Suprasanna, P., "Prospects of halophytes in understanding and managing abiotic stress tolerance", In *Environmental adaptations and stress tolerance of plants in the era of climate change*, Springer, New York, NY, (2012), 22-56.
89. Kbaier Ben Ismail, D., Lazure, P., Puillat, I., "Analyse statistique et spectrale de la température, salinité et turbidité du système MAREL, Instrumentation haute fréquence pour l'observation et la surveillance de l'environnement marin ", (2014).
90. Javid, M., Nicolas, M., Ford, R., "Current knowledge in physiological and genetic mechanisms underpinning tolerances to alkaline and saline subsoil constraints of broad acre cropping in dryland regions", *Abiotic stress in plants-mechanisms and adaptations*, (2011), 193-214.
91. Jaleel, C. A., Llorente, B. E., "Drought stress in plants: A review on water relations", *Biosci. Res*, V.6, (2009), 20-27.
92. Duan, D., Liu, X., Khan, M. A., Gul, B., "Effects of salt and water stress on the germination of *Chenopodium glaucum* L.", *seed. Pak. J. Bot*, V.36, n°4, (2004), 793-800.
93. Abdelly C, Öztürk M, Ashraf M, Grignon C (eds), "Biosaline Agriculture and High Salinity Tolerance", Birkhauser Verlag-AG (Springer Science), Basel, (2008), 367p.
94. Boulghalagh, J., Berrichi, A., El Halouani, H., Boukroute, A., "Effet des stress salin et hydrique sur la germination des graines du jjoba (*Simmondsia*

- chinensis [link] schneider) “, Recueil des résumés, Le Premier Congrès National sur l'Amélioration de Production Agricole, Settat, Maroc, (2006), 24p.
95. Shaygan, M., Baumgartl, T., Arnold, S., “Germination of *Atriplex halimus* seeds under salinity and water stress”, *Ecological Engineering*, V.102, (2017) 636-640.
 96. Debez, A., Chaibi, W., Bouzid, S., “Effet du NaCl et de régulateurs de croissance sur la germination d'*Atriplex halimus* L. ”, *Cahiers Agricultures*, V.10, n°2, (2001), 135-138.
 97. Karmous, C., “Contribution à l'étude des mécanismes de tolérance à la salinité au stade juvénile chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.) : aspects physiologique, biochimique et moléculaire”, Thèse de Doctorat en Agronomie et Science de la Production Végétale, INAT, Tunis, (2007), 211p.
 98. Khan, M. A., Gul, B., “Halophyte seed germination”, In *Ecophysiology of high salinity tolerant plants*, Springer, Dordrecht, (2006), 11-30.
 99. Khajeh-Hosseini, M., Powell, A. A., Bingham, I. J., “The interaction between salinity stress and seed vigour during germination of soyabean seeds”, *Seed Science and technology*, V.31, n°3, (2003), 715-725.
 100. Tilaki, G. A. D., Behtari, B., Behtari, B., “Effect of salt and water stress on the germination of alfalfa (*Medicago sativa* L.) seed”, *Povolzhskiy Journal of Ecology*, V.2, (2009), 158-164.
 101. Bajji, M., Kinet, J. M., Lutts, S., “Osmotic and ionic effects of NaCl on germination, early seedling growth, and ion content of *Atriplex halimus* (Chenopodiaceae)”, *Canadian journal of botany*, V.80, n°3, (2002), 297-304.
 102. Munns, R., Tester, M., “Mechanisms of salinity tolerance”, *Annu. Rev. Plant Biol.*, V.59, (2008), 651-681.
 103. Carillo, P., Annunziata, M. G., Pontecorvo, G., Fuggi, A., “Salinity stress and salt tolerance”, *Abiotic stress in plants—Mechanisms and adaptations*, V.1,(2011), 21-38.
 104. Munns, R., “Comparative physiology of salt and water stress”, *Plant, cell & environment*, V.25, n°2, (2002), 239-250.
 105. Flowers, T. J., “Improving crop salt tolerance”, *Journal of Experimental botany*, V.55, n° 396, (2004), 307-319.

106. Cramer, G. R., Nowak, R. S., "Supplemental manganese improves the relative growth, net assimilation and photosynthetic rates of salt-stressed barley", *Physiologia Plantarum*, V.84, n° 4, (1992), 600-605.
107. Hasegawa, P. M., Bressan, R. A., Zhu, J. K., Bohnert, H. J., "Plant cellular and molecular responses to high salinity", *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, V.51, (2000), 463-499.
108. Parida, A. K., Das, A. B., "Salt tolerance and salinity effects on plants: A review", *Ecotoxicology and Environmental Safety*, V.60, n° 3, (2005), 324-349.
109. Shanker, A., Venkateswarlu, B., (ed.)," Abiotic stress in plants: mechanisms and adaptations", BoD–Books on Demand, (2011).
110. Mohammadian, R., Moghaddam, M., Rahmian, H., Sadeghian, S. Y., "Effect of early season drought stress on growth characteristics of sugar beet genotypes", *Turkish journal of agriculture and forestry*, V.29, n°5, (2005), 357-368.
111. Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., Basra, S.M.A., "Plant drought stress: effects, mechanisms and management", *Agronomy for Sustainable Development*, V.29, (2009), 185-212
112. Zhang, W., Qin, C., Zhao, J. and Wang, X.," Phospholipase D α 1-derived phosphatidic acid interacts with ABI1 phosphatase 2C and regulates abscisic acid signalin", *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, V.10, n°25, (2004), 9508-9513.
113. Wullschleger, S. D., Yin, T. M., DiFazio, S. P., Tschaplinski, T. J., Gunter, L. E., Davis, M. F., Tuskan, G. A., "Phenotypic variation in growth and biomass distribution for two advanced-generation pedigrees of hybrid poplar", *Canadian Journal of Forest Research*, V.35, n°8, (2005), 1779-1789.
114. Specht, J. E., Chase, K., Macrander, M., Graef, G. L., Chung, J., Markwell, J. P., Lark, K. G.," Soybean response to water: a QTL analysis of drought tolerance", *Crop science*, V.41, n° 2, (2001), 493-509.
115. Petropoulos, S. A., Daferera, D., Polissiou, M. G., Passam, H. C., "The effect of water deficit stress on the growth, yield and composition of essential oils of parsley", *Scientia Horticulturae*, V.115, n° 4, (2008), 393-397.
116. Wu, Q. S., Xia, R. X., & Zou, Y. N., "Improved soil structure and citrus growth after inoculation with three arbuscular mycorrhizal fungi under

- drought stress”, *European journal of soil biology*, V.44, n° 1, (2008), 122-128.
117. Tourneux, C., Peltier, G., “Effect of water deficit on photosynthetic oxygen exchange measured using $^{18}\text{O}_2$ and mass spectrometry in *Solanum tuberosum* L.”, leaf discs. *Planta*, V.195, n°4, (1995), 570-577.
 118. Orcutt, D. M., Nilsen, E. T., “Physiology of plants under stress: Soil and biotic factors”, John Wiley & Sons, V.2, (2000).
 119. Anjum, F., Yaseen, M., Rasul, E., Wahid, A., Anjum, S., “Water stress in barley (*Hordeum vulgare* L.). II. Effect on chemical composition and chlorophyll contents”, *Pak. J. Agric. Sci*, V.40, (2003), 45-49.
 120. Foyer, C. H., Noctor, G., “Redox sensing and signalling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria”, *Physiologia plantarum*, V.119, n° 3, (2003), 355-364.
 121. Chinnusamy, V., Gong, Z., Zhu, J. K., “Abscisic acid-mediated epigenetic processes in plant development and stress responses”, *Journal of integrative plant biology*, V.50, n° 10, (2008), 1187-1195.
 122. Hasanuzzaman, M., Hossain, M. A., da Silva, J. A. T., Fujita, M., “Plant response and tolerance to abiotic oxidative stress: antioxidant defense is a key factor”, In *Crop stress and its management: perspectives and strategies*, Springer, Dordrecht (2012), 261-315.
 123. Kusaka, M., Ohta, M., Fujimura, T., “Contribution of inorganic components to osmotic adjustment and leaf folding for drought tolerance in pearl millet”, *Physiologia Plantarum*, V.125, n° 4, (2005), 474-489.
 124. Xiong, L., Zhu, J. K. “Molecular and genetic aspects of plant responses to osmotic stress”, *Plant, cell & environment*, V.25, n°2, 1(2002), 31-139.
 125. Horie, T., Schroeder, J. I., “Sodium transporters in plants. Diverse genes and physiological functions”, *Plant Physiology*, V.136, n° 1, (2004), 2457-2462.
 126. Priault, P., Tcherkez, G., Cornic, G., De Paepe, R., Naik, R., Ghashghaie, J., Streb, P., “The lack of mitochondrial complex I in a CMSII mutant of *Nicotiana sylvestris* increases photorespiration through an increased internal resistance to CO_2 diffusion”, *Journal of Experimental Botany*, V.57, n° 12, (2006) 3195-3207.
 127. Priault, P., Vidal, G., De Paepe, R., Ribas-Carbo, M., “Leaf age-related changes in respiratory pathways are dependent on complex I activity in

- Nicotiana sylvestris*", *Physiologia Plantarum*, V.129, n° 1, (2007), 152-162.
128. Munn-Bosch, S., Penuelas, J., "Photo-and antioxidative protection during summer leaf senescence in *Pistacia lentiscus* L. grown under mediterranean field conditions", *Annals of Botany*, V.92, n° 3, (2003), 385-391.
 129. Sairam, R. K., Srivastava, G. C., Agarwal, S., Meena, R. C., "Differences in antioxidant activity in response to salinity stress in tolerant and susceptible wheat genotypes", *Biologia Plantarum*, V.49, n° 1, (2005), 85p.
 130. Miller, G. A. D., Suzuki, N., Ciftci-Yilmaz, S. U. L. T. A. N., Mittler, R. O. N., "Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses", *Plant, cell & environment*, V.33, n°4, (2010), 453-467.
 131. Mignolet-Spruyt, L., Xu, E., Idänheimo, N., Hoerberichts, F. A., Mühlenbock, P., Brosché, M., Kangasjärvi, J., "Spreading the news: subcellular and organellar reactive oxygen species production and signalling", *Journal of experimental botany*, V.67, n° 13, (2016), 3831-3844.
 132. Rasheed, A., Rasool, S. G., Gul, B., Khan, M. A., Hameed, A., "Reactive oxygen species production and scavenging during seed germination of halophytes", In *Ecophysiology, Abiotic Stress Responses and Utilization of Halophytes*, Springer, Singapore, (2019), 63-81.
 133. Gutteridge, J. M., & Halliwell, B. (2000). Free radicals and antioxidants in the year 2000: a historical look to the future. *Annals of the New York Academy of sciences*, 899(1), 136-147.
 134. Mittler, R., Vanderauwera, S., Suzuki, N., Miller, G., Tognetti, V.B., "ROS signaling: the new wave?", *Trends Plant Sci*, V.16, n°6, (2011), 300–309.
 135. Del Río, L. A., "ROS and RNS in plant physiology: an overview", *Journal of Experimental Botany*, V. 66, n°10, (2015), 2827-2837.
 136. Mittler, R., "ROS are good", *Trends Plant Sci*, V.22, n°1, (2017), 11–19.
 137. Choudhury, F. K., Rivero, R. M., Blumwald, E., Mittler, R., "Reactive oxygen species, abiotic stress and stress combination", *The Plant Journal*, V.90, n° 5, (2017), 856-867.
 138. Flowers, T. J., Colmer, T. D. "Plant salt tolerance: adaptations in halophytes", *Annals of botany*, V.115, n° 3, (2015), 327-331.

139. Devi, S., Kumar, A., Arya, S. S., Kumari, A., Kumar, N., Chand, G., Goyal, V., "Economic utilization and potential of halophytes", *Ecophysiology, abiotic stress responses and utilization of halophytes*, (2019), 195-220.
140. Bennett, S.J., Barrett-Lennard, E.G., Colmer, T.D., "Salinity and waterlogging as constraints to salt land pasture production: a review", *Agric Ecosyst Environ*, V. 129, (2009), 349–360.
141. Konnerup, D., Moir-Barnetson, L., Pedersen, O., Veneklaas, E.J., Colmer, T.D., "Contrasting submergence tolerance in two species of stem-succulent halophytes is not determined by differences in stem internal oxygen dynamics", *Ann Bot.*, V.115, (2015), 409–418.
142. Slama, I., Abdelly, C., Bouchereau, A., Flowers, T., Savouré, A., "Diversity, distribution and roles of osmoprotective compounds accumulated in halophytes under abiotic stress", *Ann Bot.*, V.115, (2015), 433–447.
143. Rodríguez-Rosales, M. P., Gálvez, F. J., Huertas, R., Aranda, M. N., Baghour, M., Cagnac, O., Venema, K., "Plant NHX cation/proton antiporters", *Plant signaling & behavior*, V.4, n°4, (2009), 265-276.
144. Leidi, E. O., Barragán, V., Rubio, L., El-Hamdaoui, A., Ruiz, M. T., Cubero, B., Pardo, J. M., " The AtNHX1 exchanger mediates potassium compartmentation in vacuoles of transgenic tomato", *The Plant Journal*, V.61, n°3, (2010), 495-506.
145. Pasapula, V., Shen, G., Kuppu, S., Paez-Valencia, J., Mendoza, M., Hou, P., Payton, P.," Expression of an Arabidopsis vacuolar H⁺-pyrophosphatase gene (AVP1) in cotton improves drought-and salt tolerance and increases fibre yield in the field conditions", *Plant biotechnology journal*,V. 9, n°1, (2011), 88-99.
146. De Leonardis, M., Petrarulo, M., De Vita, P., M. Mastrangelo, M., " Genetic and Molecular Aspects of Plant Response to Drought in Annual Crop Species", (2012), 31p.
147. Kadi, Z., "Selection de l'orge (*Hordeum vulgare* L.) pour la tolerance aux stress abiotiques ", Thèse de Doctorat en Science, Département d'Écologie et Biologie végétale, Université Sétif, (2012), 126 p.
148. Bajji, M., Kinet, J. M., Lutts, S., "Salt stress effects on roots and leaves of *Atriplex halimus* L. and their corresponding callus cultures", *Plant science*, V.137, n°2, (1198), 131-142.

149. Lakhdar, M., Louhichi, B., "Effet du stress hydrique sur quelques mécanismes physiologiques et biochimiques d'adaptation chez huit géotypes de blé dur (*Triticum Durum* DESF) ", *Synthèse*, V.16, n°1,(2010), 27-37.
150. Sharp, R. E., & LeNoble, M. E. (2002). ABA, ethylene and the control of shoot and root growth under water stress. *Journal of experimental botany*, 53(366), 33-37.
151. Djibril, S., Mohamed, O. K., Diaga, D., Diégane, D., Abaye, B. F., Maurice, S., Alain, B., "Growth and development of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) seedlings under drought and salinity stresses", *African Journal of Biotechnology*, V.4, n°9, (2005).
152. Manivannan, P., Jaleel, C. A., Sankar, B., Kishorekumar, A., Somasundaram, R., Lakshmanan, G. A. Panneerselvam, R., "Growth, biochemical modifications and proline metabolism in *Helianthus annuus* L. as induced by drought stress", *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, V.59, n° 2, (2007), 141-149.
153. Bresson, J., "Interaction plante-microorganismes: Implication de la rhizobactérie *Phyllobacterium brassicacearum* dans les réponses d'*Arabidopsis thaliana* au stress hydrique ", (Doctoral dissertation, Université Montpellier II-Sciences et Techniques du Languedoc), (2013).
154. Yancey, P. H., "Organic osmolytes as compatible, metabolic and counteracting cytoprotectants in high osmolarity and other stresses", *Journal of experimental biology*, V.208, n°15, (2005), 2819-2830.
155. Ashraf, M. F. M. R., Foolad, M. R., "Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance", *Environmental and experimental botany*, V.59, n° 2, (2007), 206-216.
156. Lokhande, V.H., Nikam, T.D., Patade, V.Y., Ahire, M.L., Suprasanna, P., "Effects of optimal and supraoptimal salinity stress on antioxidative defence, osmolytes and in vitro growth responses in *Sesuvium portulacastrum* L.", *Plant Cell Tiss Org Cult*, V.104, (2011), 41–49.
157. Fernandez, O., Be´thencourt, L., Quero, A., Sangwan, R.S., Cle´ment, C., "Trehalose and plant stress responses: friend or foe? ", *Trends in Plant Science*, V. 15, (2010), 409–417.
158. Noiraud, N., Maurousset, L., Lemoine, R., "Transport of polyols in higher plants", *Plant Physiol Biochem* , V.39, (2001), 717–728.

159. Gupta, A. K., Kaur, N., "Sugar signalling and gene expression in relation to carbohydrate metabolism under abiotic stresses in plants", *Journal of biosciences*, V.30, n°5, (2005), 761-776.
160. Farissi, M., Faghire, M., Bargaz, A., Bouizgaren, A., Makoudi, B., Ghoulam, C., " Growth, nutrients concentrations, and enzymes involved in plants nutrition of alfalfa populations under saline conditions", *Journal of Agricultural Science and Technology*, V.16,n° 2, (2014), 301-314.
161. Yuanyuan, M., Yali, Z., Jiang, L., Hongbo, S., "Roles of plant soluble sugars and their responses to plant cold stress", *African Journal of Biotechnology*, V.8, n° 10, (2009).
162. Richter, S., "Comparaison du comportement hydrique et de la capacité photosynthétique du maïs et du tournesol en conditions de contrainte hydrique. Conclusions sur l'efficience de l'eau", *Agronomie*, V.17, (1993), 17-24.
163. Suprasanna, P., Nikalje, G. C., Rai, A. N., "Osmolyte accumulation and implications in plant abiotic stress tolerance", In *Osmolytes and plants acclimation to changing environment: Emerging omics technologies*, Springer, New Delhi, (2016), 1-12.
164. Shen,B.,Jensen,R.G.,Bonhert,H.J., "Increased resistance to oxydative stress in transgenic plant by targeting mannitol biosynthesis to chloroplast", *Plant Physiol*, V.113, (1997),1177-1183.
165. Kavi kishor, P. B., Sreenivasulu, N., "Is proline accumulation per se correlated with stress tolerance or is proline homeostasis a more critical issue?", *Plant, cell & environment*, V.37, n°2, (2014), 300-311.
166. Szabados, L., Savouré, A., "Proline: a multifunctional amino acid ", *Trends in plant science*, V.15, n° 2,(2010), 89-97.
167. Servet, C., Ghelis, T., Richard, L., Zilberstein, A., Savoure, A.,"Proline dehydrogenase: a key enzyme in controlling cellular homeostasis", *Front Biosci*, V.17, n° 1, (2012), 607-620.
168. Verbruggen, N., Hermans, C., "Proline accumulation in plants: a review", *Amino acids*, V.35, n° 4, (2008), 753-759.
169. Ueda, A., Shi, W., Sanmiya, K., Shono, M., Takabe, T.," Functional analysis of salt-inducible proline transporter of barley roots", *Plant and Cell Physiology*, V. 42, n° 11, (2001), 1282-1289.
170. Grallath, S., Weimar, T., Meyer, A., Gumy, C., Suter-Grotemeyer, M., Neuhaus, J. M., Rentsch, D., "The AtProT family. Compatible solute

- transporters with similar substrate specificity but differential expression patterns”, *Plant Physiology*, V.137, n°1, (2005), 117-126.
171. Srinivas, V., Balasubramanian, D., "Proline is a protein-compatible hydrotrope", *Langmuir*, V.11, no7, (1995), 2830-2833.
 172. Hare, P. D., Cress, W. A., "Metabolic implications of stress-induced proline accumulation in plants", *Plant growth regulation*, V.21, n°2, (1997), 79-102.
 173. Slama, I., Ghnaya, T., Savouré, A., Abdelly, C., "Combined effects of long-term salinity and soil drying on growth, water relations, nutrient status and proline accumulation of *Sesuvium portulacastrum*", *Comptes rendus biologies*, V.331, n°6, (2008), 442-451.
 174. Chinnusamy, V., Jagendorf, A., Zhu, J. K., "Understanding and improving salt tolerance in plants", *Crop science*, V.45, n° 2, (2005), 437-448.
 175. Liang, X., Zhang, L., Natarajan, S. K., Becker, D. F., "Proline mechanisms of stress survival", *Antioxidants & redox signaling*, V.19, n°9, (2013), 998-1011.
 176. Matysik, J., Alia, Bhalu, B., Mohanty, P., "Molecular mechanisms of quenching of reactive oxygen species by proline under stress in plants", *Current Science*, (2002), 525-532.
 177. Ashraf, M. P. J. C., Harris, P. J. C., "Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants", *Plant science*, V.166, n° 1, (2004), 3-16.
 178. Iqbal, N., Nazar, R., Khan, N. A. (Eds.), "Osmolytes and plants acclimation to changing environment: emerging omics technologies", Springer (2015).
 179. Robinson, S. P., Jones, G. P., "Accumulation of glycinebetaine in chloroplasts provides osmotic adjustment during salt stress", *Functional Plant Biology*, V.13, n° 5, (1986), 659-668.
 180. Subbarao, G. V., Wheeler, R. M., Levine, L. H., Stutte, G. W., "Glycine betaine accumulation, ionic and water relations of red-beet at contrasting levels of sodium supply", *Journal of Plant Physiology*, V.158, n° 6, (2001), 767-776.
 181. Chen, T. H., Murata, N., "Glycinebetaine: an effective protectant against abiotic stress in plants", *Trends in plant science*, V.13, n° 9, (2008), 499-505.

182. Chen, T. H., Murata, N., "Glycinebetaine protects plants against abiotic stress: mechanisms and biotechnological applications.", *Plant, cell & environment*, V. 34, n° 1, (2011), 1-20.
183. Kathuria, H., Giri, J., Nataraja, K. N., Murata, N., Udayakumar, M., Tyagi, A. K., "Glycinebetaine-induced water-stress tolerance in codA-expressing transgenic indica rice is associated with up-regulation of several stress responsive genes", *Plant biotechnology journal*, V.7, n° 6, (2009), 512-526.
184. Czarnocka, W., Karpiński, S., "Friend or foe? Reactive oxygen species production, scavenging and signaling in plant response to environmental stresses", *Free Radical Biology and Medicine*, V.122, (2018), 4-20.
185. Jithesh, M. N., Prashanth, S. R., Sivaprakash, K. R., Parida, A. K., "Antioxidative response mechanisms in halophytes: their role in stress defence", *Journal of Genetics*, V.85, n° 3, (2006), 237.
186. Sharma, P., Jha, A. B., Dubey, R. S., Pessarakli, M., "Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions", *Journal of botany*, (2012).
187. Das, K., Roychoudhury, A., "Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants", *Frontiers in environmental science*, V.2, (2014), 53p.
188. Asada, K., "Ascorbate peroxidase – a hydrogen peroxide-scavenging enzyme in plants", *Physiologia Plantarum*, V.85, (1992), 235–241.
189. Kudoyarova, G., Veselova, S., Hartung, W., Farhutdinov, R., Veselov, D., Sharipova, G., "Involvement of root ABA and hydraulic conductivity in the control of water relations in wheat plants exposed to increased evaporative demand", *Planta*, V.233, n°1, (2011), 87-94.
190. Ton, J., Flors, V., Mauch-Mani, B., "The multifaceted role of ABA in disease resistance", *Trends in plant science*, V.14, n° 6, (2009), 310-317.
191. Beck, H.E., Zimmermann, N.E., McVicar, T.R., Vergopolan, N., Berg, A.; Wood, E.F., "Present and future Köppen-Geiger climate classification maps at 1-km resolution", *Scientific Data*, V.5, (2018).
192. Tutiempo Network, S.L., "Organisation météorologique mondiale", en ligne: <https://www.calidadaire.net/nigeria.html> (consulté le 01 mai 2020).
193. Kaira, Y.P., Maynard, D.G., "Method manual for analysis forest soils and plants analysis", Inf.Rep.NOR-X-319, Forestry, Canada.Edmonton AB-Canada, (1991).

194. Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec, "Détermination de la conductivité : méthode électrométrique", Québec, (2015).
195. AFNOR, "Qualité des sols. Méthodes d'analyses", Recueil de normes françaises, (1987), 135p.
196. Bouchenak F., "Stratégies adaptatives au stress hydrique et salin d'une halophyte spontanée *Atriplex halimus* L. : Approches physiologiques et biochimiques", Thèse de doctorat d'état en sciences agronomiques, université de Saad Dahlab de Blida 1, Blida, (2014), 173p.
197. Michel, B. E., Kaufmann, M. R., "The osmotic potential of polyethylene glycol 6000", *Plant physiology*, V.5, (1973), 914-916.
198. Luo, Y., Liang, J., Zeng, G., Chen, M., Mo, D., Li, G., Zhang, D., "Seed germination test for toxicity evaluation of compost: Its roles, problems and prospects", *Waste Management*, V.71, (2017), 109-114.
199. Bidai, Y., "Caractérisation biochimique des marqueurs physiologiques et métaboliques de la résistance au stress salin chez l'halophile : *Atriplex halimus* L.", Doctorat en sciences biologiques, (Doctoral dissertation, Université de Mascara), (2017).
200. Thabet, S.G., Moursi, Y.S., Karam, M.A., Graner, A., Alqudah, A.M., "Genetic basis of drought tolerance during seed germination in barley", *PLoS ONE*, V.13, (2018).
201. Rasband, W.S., "ImageJ, U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA", <https://imagej.nih.gov/ij/>, (1997-2018).
202. Das, M., Sharma, M., Sivan, P., "Seed Germination and Seedling Vigor Index in *Bixa orellana* and *Clitoria ternatea*", *Int. J. Pure App. Biosci.*, V. 5, (2017),15-19.
203. Holdsworth, M., L., Bentsink, Soppe, W., "Molecular networks regulating *Arabidopsis* seed maturation, afterripening, dormancy and germination", *New Phytologist*, V.179, (2008), 33-54.
204. Ounoughi, M., "Effet de la salinite sur la germination et la croissance de l'*atriplex halimus* de defferentes provenances (djelfa; tébessa et oran) ", (Doctoral dissertation, Blida), (2005).
205. Nada, R. M., Abogadallah, G. M., "Developmental acquisition of salt tolerance in the halophyte *Atriplex halimus* L. is related to differential

- regulation of salt inducible genes”, *Plant growth regulation*, V.75, n°1, (2015), 165-178.
206. Abbad, A., El Hadrami, A., Benchaabane, A.,” Germination responses of the Mediterranean saltbush (*Atriplex halimus* L.) to NaCl treatment”, *Journal of Agronomy*, (2004).
 207. Abbad, A., Cherkaoui, M., Wahid, N., El Hadrami, A., Benchaabane, A., ”Variabilités phénotypique et génétique de trois populations naturelles d'*Atriplex halimus*”, *Comptes Rendus Biologies*, V.327, n°4, (2004), 371-380.
 208. Reza Yousefi, A., Rashidi, S., Moradi, P., Mastinu, A., “Germination and seedling growth responses of *Zygophyllum fabago*, *Salsola kali* L. and *Atriplex canescens* to PEG-induced drought stress”, *Environments*, V.7, n°12, (2020), 107p.
 209. Razmjoo, K., Heydarizadeh, P., Sabzalian, M. R.,” Effect of salinity and drought stresses on growth parameters and essential oil content of *Matricaria chamomile*”, *Int. J. Agric. Biol.*, V.10, n°4, (2008), 451-454.
 210. Wu, C., Wang, Q., Xie, B., Wang, Z., Cui, J., Hu, T.,” Effects of drought and salt stress on seed germination of three leguminous species”, *African Journal of Biotechnology*, V.10, n°78, (2011), 17954-17961.
 211. Katemb, W.J., ungar, I.A., Mitchel, J.P., “Effect of salinity on germination and seedling growth of two *Atriplex* species”, *Annals of Botany*, V.82, (1998), 167-175.
 212. Luan, Z., Xiao, M., Zhou, D., Zhang, H., Tian, Y., Wu, Y., Song, Y.”Effects of salinity, temperature, and polyethylene glycol on the seed germination of sunflower (*Helianthus annuus* L.)”, *The Scientific World Journal*, (2014).
 213. Hassine, A. B., Lutts, S., “Differential responses of saltbush *Atriplex halimus* L. exposed to salinity and water stress in relation to senescing hormones abscisic acid and ethylene”, *Journal of Plant Physiology*, V.167, n°17, (2010), 1448-1456.
 214. Bezzala, A., “Essai d'introduction de l'arganier dans la zone de M'doukel et évaluation de quelques paramètres de résistance à la sécheresse”, *Magister en Sciences Agronomiques, Université El Hadj Lakhdar, Batna*, (2005), 152p.
 215. Lichtenthaler, H. K., “Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes”, *Methods in enzymology*, V.148, (1987), 350-382.

216. Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Pebers, P.A., Smith, F., "Colorimetric method for determination of sugars and related substances", *Anal. Chem.*, 28, (1956), 350-356.
217. Bates, L. S., Waldren, R. P., Teare, I. D., "Rapid determination of free proline for water-stress studies", *Plant and soil*, V.39, n°1, (1973), 205-207.
218. Grieve, C. M., Grattan, S. R., "Rapid assay for determination of water soluble quaternary ammonium compounds", *Plant and soil*, V.70, n°2, (1983), 303-307.
219. Sadler, M. T., Al-Doss, A. A., "Characterization of dehydrin AhDHN from Mediterranean saltbush (*Atriplex halimus*)", *Turkish Journal of Biology*, V.38, n° 4, (2014), 469-477.
220. Ruan, C. J., da Silva, J. A. T., Mopper, S., Qin, P., Lutts, S., "Halophyte improvement for a salinized world", *Critical Reviews in Plant Sciences*, V.29, n°6, (2010) 329-359.
221. Rivero, R.M., Mestre, T.C., Mittler, R., Rubio, F., Garcia-Sanchez, F., Martinez, V., "The combined effect of salinity and heat reveals a specific physiological, biochemical and molecular response in tomato plants", *Plant, Cell & Environment*, V.37, (2014), 1059–1073.
222. Fahad, S., Bajwa, A. A., Nazir, U., Anjum, S. A., Farooq, A., Zohaib, A., Huang, J., "Crop production under drought and heat stress: plant responses and management options. *Frontiers in plant science*, V.8, (2017), 1147p.
223. Khedr, A. H. A., Serag, M. S., Nemat-Alla, M. M., El-Naga, A. Z. A., Nada, R. M., Quick, W. P., Abogadallah, G. M., "Growth stimulation and inhibition by salt in relation to Na⁺ manipulating genes in xero-halophyte *Atriplex halimus* L.", *Acta Physiologiae Plantarum*, V.33, n°5, (2011), 1769-1784.
224. Essafi, N. E., Mounsif, M., Abousalim, A., Bendaou, M., Rachidai, A., Gaboune, F., "Impact of water stress on the fodder value of *Atriplex halimus* L.", *New Zealand Journal of Agricultural Research*, V.49, n°3, (2006), 321-329.
225. Kachout, S., Mansoura, A. B., Jaffel, K., Leclerc, J. C., Rejeb, M. N., Ouerghi, Z., "The effect of salinity on the growth of the halophyte *Atriplex hortensis*(Chenopodiaceae)", *Applied Ecology and Environmental Research*, V.7, n°4, (2009), 319-332.

226. Oliveira, L. F. G. D., Reis, F. D. O., Fagundes, J. L., Gagliardi, P. R., Oliveira, L. F. M., "Ecophysiological and biochemical responses of saltbush subjected to salinity", *Pesquisa Agropecuária Tropical*, V.46, (2016), 116-122.
227. Sohn, Y. G., Lee, B. H., Kang, K. Y., Lee, J. J., "Effects of NaCl stress on germination, antioxidant responses, and proline content in two rice cultivars", *Journal of Plant Biology*, V.48, n°2, (2015), 201-208.
228. Albacete, A., Ghanem, M.E., Martínez-Andújar, C., Acosta, M., Sánchez-Bravo, J., Martínez, V., Lutts, S., Dodd, I.C., Pérez-Alfocea, F., "Hormonal changes in relation to biomass partitioning and shoot growth impairment in salinized tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants", *J Exp Bot*, V.59, (2008), 4119–4131.
229. Munns, R., "Genes and salt tolerance: bringing them together", *New phytologist*, V.167, n°3, (2005), 645-663.
230. Alla, M. M. N., Khedr, A. H. A., Serag, M. M., Abu-Alnaga, A. Z., Nada, R. M., "Regulation of metabolomics in *Atriplex halimus* growth under salt and drought stress", *Plant Growth Regulation*, V.67, n°3, (2012), 281-304.
231. Lutts, S., Lefèvre, I., "How can we take advantage of halophyte properties to cope with heavy metal toxicity in salt-affected areas?", *Annals of botany*, V.115, n°3, (2015), 509-528.
232. De Araújo, S. A., Silveira, J. A., Almeida, T. D., Rocha, I., Morais, D. L., Viégas, R. A., "Salinity tolerance of halophyte *Atriplex nummularia* L. grown under increasing NaCl levels", *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, V.10, (2006), 848-854.
233. Martinez, J. P., Kinet, J. M., Bajji, M., Lutts, S., "NaCl alleviates polyethylene glycol-induced water stress in the halophyte species *Atriplex halimus* L.", *Journal of Experimental Botany*, V.56, n°419, (2005), 2421-2431.
234. Boughalleb, F., Denden, M., Tiba, B. B., "Photosystem II photochemistry and physiological parameters of three fodder shrubs, *Nitraria retusa*, *Atriplex halimus* and *Medicago arborea* under salt stress", *Acta Physiologiae Plantarum*, V.31, n° 3, (2009), 463-476.
235. Zhu, J.K., "Salt and drought stress signal transduction in plants", *Ann. Rev. Plant Biol.*, V.53, (2002), 247–273.
236. Debez, A., Chaibi, W., Bouzid, S., "Physiological responses and structural modifications in *Atriplex halimus* L. plants exposed to salinity", In *Cash crop halophytes: recent studies*, Springer, Dordrecht, (2003), 19-30.

237. Soualem, S., Adda, A., Belkhodja, M., Merah, O., "Calcium supply reduced effect of salinity on growth in the Mediterranean shrub (*Atriplex halimus* L.)", *Life Science Journal*, V.11, n°2, (2014), 278-284.
238. Bouchoukh, I., "Comportement écophysiological de deux chénopodiacées des genres *Atriplex* et *Spinacia* soumises au stress salin", (Doctoral dissertation, Constantine: Université Mentouri Constantine), (2010).
239. Parida, A., Das, A. B., Das, P., "NaCl stress causes changes in photosynthetic pigments, proteins, and other metabolic components in the leaves of a true mangrove, *Bruguiera parviflora*, in hydroponic cultures", *Journal of Plant Biology*, V.45, n°1, (2002), 28-36.
240. Pardo-Domènech, L. L., Tifrea, A., Grigore, M. N., Boscaiu, M., Vicente, O., "Proline and glycine betaine accumulation in two succulent halophytes under natural and experimental conditions", *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, V.150, n° 5, (2016), 904-915.
241. Rai, A. N., Penna, S., "Molecular evolution of plant P5CS gene involved in proline biosynthesis", *Molecular biology reports*, V.40, n° 11, (2013), 6429-6435.
242. Bose, J., Rodrigo-Moreno, A., Shabala, S., "ROS homeostasis in halophytes in the context of salinity stress tolerance", *Journal of experimental botany*, V.65, n°5, (2014), 1241-1257.
243. Silva-Ortega, C. O., Ochoa-Alfaro, A. E., Reyes-Agüero, J. A., Aguado-Santacruz, G. A., Jiménez-Bremont, J. F., "Salt stress increases the expression of p5cs gene and induces proline accumulation in cactus pear", *Plant physiology and biochemistry*, V.46, n°1, (2008), 82-92.
244. Chaitanya, K. V., Rasineni, G. K., Reddy, A. R., "Biochemical responses to drought stress in mulberry (*Morus alba* L.): evaluation of proline, glycine betaine and abscisic acid accumulation in five cultivars", *Acta Physiologiae Plantarum*, V.31, n°3, (2009), 437-443.
245. Simon-Sarkadi, L., Kocsy, G., Várhegyi, Á., Galiba, G., De Ronde, J. A., "Stress-induced changes in the free amino acid composition in transgenic soybean plants having increased proline content", *Biologia plantarum*, V.50, n°4, (2006) 793-796.
246. Molinari, H. B. C., Marur, C. J., Daros, E., De Campos, M. K. F., De Carvalho, J. F. R. P., Filho, J. C. B., Vieira, L. G. E., "Evaluation of the

- stress-inducible production of proline in transgenic sugarcane (*Saccharum* spp.): osmotic adjustment, chlorophyll fluorescence and oxidative stress”, *Physiologia Plantarum*, V.130, n°2, (2007), 218-229.
- 247 Vendruscolo, E. C. G., Schuster, I., Pileggi, M., Scapim, C. A., Molinari, H. B. C., Marur, C. J., Vieira, L. G. E., “Stress-induced synthesis of proline confers tolerance to water deficit in transgenic wheat”, *Journal of plant physiology*, V.164, n°10, (2007), 1367-1376.
- 248 Stein, H., Honig, A., Miller, G., Erster, O., Eilenberg, H., Csonka, L. N., Zilberstein, A., “Elevation of free proline and proline-rich protein levels by simultaneous manipulations of proline biosynthesis and degradation in plants”, *Plant science*, V.181, n°2, (2011), 140-150.
- 249 Jia, G. X., Zhu, Z. Q., Chang, F. Q., Li, Y. X., “Transformation of tomato with the BADH gene from *Atriplex* improves salt tolerance”, *Plant Cell Reports*, 21, n°2, (2002), 141-146.
- 250 Kumar, S., Dhingra, A., Daniell, H., “Plastid-expressed betaine aldehyde dehydrogenase gene in carrot cultured cells, roots, and leaves confers enhanced salt tolerance”, *Plant Physiology*, V.136, n° 1, (2004), 2843-2854.
- 251 Fitzgerald, T. L., Waters, D. L., Henry, R. J., “Betaine aldehyde dehydrogenase in plants”, *Plant biology*, V.11, n° 2, (2009) 119-130.
- 252 Zhang, H., Dong, H., Li, W., Sun, Y., Chen, S., Kong, X., “Increased glycine betaine synthesis and salinity tolerance in AhCMO transgenic cotton lines”, *Molecular Breeding*, V.23, n° 2, (2009), 289-298.
- 253 Fan, W., Zhang, M., Zhang, H., Zhang, P., “Improved tolerance to various abiotic stresses in transgenic sweet potato (*Ipomoea batatas*) expressing spinach betaine aldehyde dehydrogenase”, *PloS one*, V.7, n° 5, (2012).
- 254 Fujiwara, T., Mitsuya, S., Miyake, H., Hattori, T., Takabe, T., “Characterization of a novel glycinebetaine/proline transporter gene expressed in the mestome sheath and lateral root cap cells in barley”, *Planta*, 232, n° 1, (2010), 133-143.
- 255 Mansour, M. M. F., Ali, E. F., “Evaluation of proline functions in saline conditions”, *Phytochemistry*, V.140, (2017), 52-68.

ANNEXE (1)

ANALYSES DE LA VARIANCE

Tableau 1: Paramètres de germination : stress salin

| | G | ITS | L | IV | PF | PS | TE |
|---------------------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|---------------|------------------|
| Ecotypes | 7,793e-11 *** | 6,373e-11 *** | 0,08014 | 5,054e-09 *** | 8,378e-05 *** | 0,00147 ** | 6,957e-05 *** |
| Stress | < 2,2e-16 *** | 5,026e-13 *** | 2,409e-14 *** | < 2,2e-16 *** | 2,122e-10 *** | 0,18347 | 1,933e-07 *** |
| Interaction (Stress, Ecotypes) | 7,767e-07 *** | 0,002341 ** | 4,502e-06 *** | < 2,2e-16 *** | 0,09377 | 0,64379 | 0,4098 |

Codes significatives: 0 '***' 0,001 '**' 0,01 '*' 0,05 ',' 0,1 ' ' 1

Tableau 2: Paramètres de germination : stress hydrique

| Paramètres | G | ITS | L | IV | PF | PS | TE |
|---------------------------------------|-------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|--------------|
| Ecotypes | 2,017e-13 *** | 7,479e-12 *** | < 2,2e-16 *** | 3,34e-13 *** | 0,1996 | 0,003014 ** | 0,72057 |
| Stress | < 2,2e-16 * ** | < 2,2e-16 *** | < 2,2e-16 *** | < 2,2e-16 *** | 4,284e-15 *** | 3,884e-07 *** | 0,01379 * |
| Interaction (Stress, Ecotypes) | 1,076e-10 *** | 7,773e-09 *** | 1,332e-09 *** | 1,01e-09 *** | 4,175e-06 *** | 6,785e-14 *** | 0,02362 * |

Codes significatives: 0 '***' 0,001 '**' 0,01 '*' 0,05 ',' 0,1 ' ' 1

Tableau 3: Nombre de feuilles, surface foliaire et hauteur de la plante : stress salin

| | NF | SF | H | LA | LR |
|---------------------------------------|-----------------|-----------|----------|--------------|------------------|
| Ecotypes | 2,07e-05 *** | 0,3240 | 0,3098 | 0,71619 | 0,0045441 ** |
| Stress | 0,002002 ** | 0,5809 | 0,2152 | 0,03180 * | 0,0005541 *** |
| Interaction (Stress, Ecotypes) | 0,210917 | 0,6215 | 0,1829 | 0,05555 | 0,5075819 |

Codes significatives: 0 '***' 0,001 '**' 0,01 '*' 0,05 ',' 0,1 ' ' 1

Tableau 4: Nombre de feuilles, surface foliaire et hauteur de la plante : stress hydrique

| | NF | SF | H | LA | LR |
|---------------------------------------|------------------|------------------|-----------------|------------------|-----------------|
| Ecotypes | 1,812e-06 *** | 8,496e-09 *** | 0,078719 | 0,96703 | 0,001164 ** |
| Stress | 2,288e-09 *** | 3,345e-10 *** | 0,000611 *** | 5,614e-05 *** | 1,35e-05 *** |
| Interaction (Stress, Ecotypes) | 0,0007965 *** | 0,007606 ** | 0,212059 | 0,08142 , | 0,679673 |

Codes significatives: 0 '***' 0,001 '**' 0,01 '*' 0,05 ',' 0,1 ' ' 1

Tableau 5: Poids frais et sec : stress salin

| | PF plante entière | PF partie aérienne | PF partie racinaire | PS plante entière | PS partie aérienne | PS Partie racinaire |
|---|-------------------------|--------------------------|---------------------------|-------------------------|--------------------------|---------------------------|
| Ecotypes | 0,066453 | 4,457e-06 *** | 0,01087 * | 0,5428210 | 0,044415 * | 0,1800 |
| Stress | 0,003896 ** | 0,2478 | 0,05286 | 0,0001501 *** | 0,002896 ** | 0,1487 |
| Interaction (Stress, Ecotypes) | 0,049071 * | 0,3637 | 0,06654 | 0,0215019 * | 0,022640 * | 0,1444 |

Codes significatives: 0 **** 0,001 *** 0,01 ** 0,05 ' ' 0,1 ' ' 1

Tableau 6: Poids frais et sec : stress hydrique

| | PF plante entière | PF partie aérienne | PF partie racinaire | PS plante entière | PS partie aérienne | PS Partie racinaire |
|---|-------------------------|--------------------------|---------------------------|-------------------------|--------------------------|---------------------------|
| Ecotypes | 2,224e-05 *** | 0,03949 * | 1,832e-06 *** | 4,667e-05 *** | 2,412e-08 *** | 0,55581 |
| Stress | 1,561e-07 *** | 2,099e-08 *** | 0,05569 | 0,8676 | 0,1652 | 0,05071 |
| Interaction (Stress, Ecotypes) | 0,9768 | 0,27781 | 0,07076 | 0,1088 | 0,7805 | 6,146e-05 *** |

Codes significatives: 0 **** 0,001 *** 0,01 ** 0,05 ' ' 0,1 ' ' 1

Tableau 7: Teneur en eau : stress salin

| | TE plante entière | TE partie aérienne | TE partie racinaire |
|---|-------------------------|--------------------------|---------------------------|
| Ecotypes | 0,8270 | 0,8655 | 0,7733 |
| Stress | 0,8744 | 0,2253 | 0,7189 |
| Interaction (Stress, Ecotypes) | 0,9154 | 0,8810 | 0,9613 |

Codes significatives: 0 **** 0,001 *** 0,01 ** 0,05 ' ' 0,1 ' ' 1

Tableau 8: Teneur en eau : stress hydrique

| | TE plante entière | TE partie aérienne | TE partie racinaire |
|---|-------------------------|--------------------------|---------------------------|
| Ecotypes | 0,2174871 | 0,27907 | 0,947057 |
| Stress | 0,0002815 *** | 0,03101 * | 0,003121 ** |
| Interaction (Stress, Ecotypes) | 0,8023087 | 0,47320 | 0,959562 |

Codes significatives: 0 **** 0,001 *** 0,01 ** 0,05 ' ' 0,1 ' ' 1

Tableau 9: Pigments chlorophylliens et caroténoïdes : stress salin

| | Chlorophylle « a » | Chlorophylle « b » | Chlorophylle « a+b » | Caroténoïdes |
|---|-----------------------|-----------------------|-------------------------|------------------|
| Ecotypes | 0,7490 | 0,86477 | 0,900317 | 0,005387 ** |
| Stress | 0,1855 | 5,913e-13 *** | 4,953e-11 *** | 1,865e-07 *** |
| Interaction (Stress, Ecotypes) | 0,1873 | 0,08323 , | 0,004286 ** | 0,007871 ** |

Codes significatives: 0 '****' 0,001 '***' 0,01 '**' 0,05 ',' 0,1 ' ' 1

Tableau 10: Pigments chlorophylliens et caroténoïdes: stress hydrique

| | Chlorophylle « a » | Chlorophylle « b » | Chlorophylle « a+b » | Caroténoïdes |
|---|-----------------------|-----------------------|-------------------------|------------------|
| Ecotypes | 0,87631 | 0,009644 ** | 0,0005252 *** | 6,684e-05 *** |
| Stress | 8,972e-08 *** | 3,67e-05 *** | 0,0015203 ** | 5,134e-08 *** |
| Interaction (Stress, Ecotypes) | 0,02313 * | 0,002000 ** | 0,1118706 | 0,2644 |

Codes significatives: 0 '****' 0,001 '***' 0,01 '**' 0,05 ',' 0,1 ' ' 1

Tableau 11: Sodium et potassium

| | Na ⁺ P, aérienne | Na ⁺ P, racinaire | K ⁺ P, aérienne | K ⁺ P, racinaire |
|---|--------------------------------|---------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|
| Ecotypes | 0,58 | < 2,2e-16 *** | 0,07 | 1,220e-06 *** |
| Stress | 0,001 *** | < 2,2e-16 *** | 0,01 ** | 2,548e-16 *** |
| Interaction (Stress, Ecotypes) | 0,493 | < 2,2e-16 *** | 0,597 | 0,006688 ** |

Codes significatives: 0 '****' 0,001 '***' 0,01 '**' 0,05 ',' 0,1 ' ' 1

Tableau 12: Sucres solubles, proline et glycine bêtaïne : stress salin

| | Sucres solubles P, aérienne | Sucres solubles P, racinaire | Proline P, aérienne | Proline P, racinaire | Glycine bêtaïne P, aérienne | Glycine bêtaïne P, racinaire |
|---|-----------------------------------|------------------------------------|------------------------|-------------------------|-----------------------------------|---------------------------------------|
| Ecotypes | 0,0002718 *** | 3,27e-11 *** | 1,306e-07 *** | 5,191e-10 *** | 0,1452 | 0,018504 * |
| Stress | 0,0014065 ** | 0,040257 * | 8,106e-06 *** | 2,748e-16 *** | 5,733e-06 *** | 0,132463 |
| Interaction (Stress, Ecotypes) | 4,256e-05 *** | 0,005378 ** | 4,083e-05 *** | 1,428e-10 *** | 4,649e-05 *** | 0,005979 ** |

Codes significatives: 0 '****' 0,001 '***' 0,01 '**' 0,05 ',' 0,1 ' ' 1

Tableau 13: Sucres solubles, proline et glycine bêtaïne : stress hydrique

| | Sucres solubles P, aérienne | Sucres solubles P, racinaire | Proline P, aérienne | Proline P, racinaire | Glycine bêtaïne P, aérienne | Glycine bêtaïne P, racinaire |
|---|--------------------------------|---------------------------------|------------------------|-------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|
| Ecotypes | 7,268e-13 *** | 1,919e-07 *** | 0,05306 | 0,450746 | 0,3253966 | 0,05306 |
| Stress | 1,938e-11 *** | 0,2676 | 4,114e-05 *** | 3,696e-06 *** | 0,0125772 * | 4,114e-05 *** |
| Interaction (Stress, Ecotypes) | 4,391e-11 *** | 0,3361 | 0,37165 | 0,002733 ** | 0,0004168 *** | 0,37165 |

Codes significatives: 0 '***' 0,001 '**' 0,01 '*' 0,05 ',' 0,1 ' ' 1

Tableau 14: P5CS, P5CR et ProT

| | P5CS partie aérienne | P5CR partie aérienne | P5CR partie racinaire | ProT partie aérienne | ProT partie racinaire |
|---|----------------------------|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|-----------------------------|
| Ecotypes | 4,185e-05 *** | 0,0006453 *** | 0,0004651 *** | 1,e-04 *** | 1,066e-06 *** |
| Stress | 4,132e-12 *** | 0,1118 | 3,218e-06 *** | 7e -01 *** | 8,876e-09 *** |
| Interaction (Stress, Ecotypes) | 3,91e-10 *** | 3,06e-07 *** | 7,43e-12 *** | 2e -005 *** | 3,708e-05 *** |

Codes significatives: 0 '***' 0,001 '**' 0,01 '*' 0,05 ',' 0,1 ' ' 1

Tableau 15: CMO et BADH

| | CMO partie aérienne | CMO partie racinaire | BADH partie racinaire | BADH partie aérienne |
|---|---------------------------|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|
| Ecotypes | 0,1442 | 0,7373 | 1,538e-09 *** | 1,826e-11 *** |
| Stress | 0,0009373 *** | < 2,2e-16 *** | 6,343e-09 *** | 8,47e-07 *** |
| Interaction (Stress, Ecotypes) | 0,002175 ** | < 2,2e-16 *** | 0,0004284 *** | 3,899e-07 *** |

Codes significatives: 0 '***' 0,001 '**' 0,01 '*' 0,05 ',' 0,1 ' ' 1

ANNEXE (2)

ALIGNEMENTS

```

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
1685      1695      1705      1715      1725      1735
P5CS ADNc
XM_021989924.1 TTGGTCTGGT CACCACGAGA GAGGAGATTC CTGATTGGCT CAAGCTTGAT GACGTCATTG
XM_010693221.1 TTGGTCTAGT CACCACAAGA GAGGAGATAC CTGATTGGCT CAAGCTTGAT GACGTCATTG
XM_021901565.1 TTGGTCTAGT TACCACGAGA GAGGAGATTC CTGATTGGCT CAAGCTTGAT GACGTCATTG
XM_021901565.1 TTGGTCTAGT CACCACGAGA GAGGAGATTC CTGATTGGCT CAAGCTTGAT GACGTCATTG
Clustal Co
*****

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
1745      1755      1765      1775      1785      1795
P5CS ADNc
XM_021989924.1 ATCTTGTCAT TCCAAGGGGA AGCAATATAA ACTTGTTTCT CAGATTAAGG AGTCCACAAA
XM_010693221.1 ATCTTGTCAT ACCAAGAGGC AGCAATA--A ACTTGTTTCT CAGATTAAGG AGTCCACAAA
XM_021901565.1 ATCTTGTCAT TCCAAGAGGC AGCAATA--A ACTTGTTTCT CAGATTAAGG AGTCCACAAA
XM_021901565.1 ATCTTGTCAT TCCAAGAGGC AGCAATA--A ACTTGTTTCT CAGATTAAGG AGTCCACAAA
Clustal Co
*** *

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
1805      1815      1825      1835      1845      1855
P5CS ADNc
XM_021989924.1 AATTCCTGTG CTTGGACATG CAGATGGAAT TTGTCATGTG TATGTTGATA AGTCTGCCAA
XM_010693221.1 AATTCCTGTG CTTGGACATG CCGACGGAAT TTGTCATGTG TATGTTGATA AATCTGCCAA
XM_021901565.1 AATTCCTGTG CTTGGGACATG CTGATGGAAT TTGTCATGTG TATGTTGATA AATCTGCCAA
XM_021901565.1 AATTCCTGTG CTTGGGACATG CTGATGGAAT TTGTCATGTG TATGTTGATA AATCTGCCAA
Clustal Co
*****

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
1865      1875      1885      1895      1905      1915
P5CS ADNc
XM_021989924.1 TATGGATATG GCAAAGCGTG TTGTTTTGGA TGCAAAAGATG GACTATCCAG CTGCATGCAA
XM_010693221.1 TATGGATATG GCGAAGCAGA TTGTTTTGGA TGCAAAAGATG GACTATCCAG CTGCATGCAA
XM_021901565.1 TATGGATATG GCAAAGCGTG TTGTTTTGGA TGCAAAAGATG GACTATCCAG CTGCATGCAA
XM_021901565.1 TATGGATATG GCAAAGCGTG TTGTTTTGGA TGCAAAAGATG GACTATCCAG CTGCATGCAA
Clustal Co
*****

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
1925      1935      1945      1955      1965      1975
P5CS ADNc
XM_021989924.1 TGCAATGGAA AACTGCTTG TACATCAGGA TCTGCTACAG AATGGAGGCT TGAACGAGCT
XM_010693221.1 TGCAATGGAA ACGCTGCTTG TACATAAAGA TCTGCTACAG AATGGAGGCT TGATGCGCT
XM_021901565.1 TGCAATGGAA ACGCTGCTTG TACATAAAGA TCTGCTACAG AATGGAGGCT TAGAGGAGCT
XM_021901565.1 TGCAATGGAA ACGCTGCTTG TACATAAAGA TCTGCTACAG AATGGAGGCT TGAACGAGCT
Clustal Co
*** *

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
1985      1995      2005      2015      2025      2035
P5CS ADNc
XM_021989924.1 TGTTCGTGAT CTTAGATCCG AAGGTGTTGA TTTGTTTGGG GGACCAAGAA TCAGTGCCCT
XM_010693221.1 TGTTCGTGAT CTTAGATCTG AAGGTGTTGA TTTGTTTGGT GGACCAAGAA CCAGTGCCCT
XM_021901565.1 TGTTCGTGAT CTTAGATCCG AAGGTGTTGA TTTGTTTGGT GGACCAAGAA TCAGTGCCCT
XM_021901565.1 TGTTCGTGAT CTTAGATCCG AAGGTGTTGA TTTGTTTGGT GGACCAAGAA TCAGTGCCCT
Clustal Co
*** *

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
2045      2055      2065      2075      2085      2095
P5CS ADNc
XM_021989924.1 GCAGGAGCTG AATATTCAG CAACAAAAC ATTCCATAAG GAGTACAATA CTCCTGCTTG
XM_010693221.1 GCAGGAGCTG AATATTCAG CAACAAAAC ATTCCATAAG GAGTACAATA CACTTGCTTG
XM_021901565.1 GCAGGAGCTG AATATTCAG CAACAAAAC ATTCCATAAG GAGTACAATA CACTTGCTTG
XM_021901565.1 GCAGGAGCTG AATATTCAG CAACAAAAC ATTCCATAAG GAGTACAATA CACTTGCTTG
Clustal Co
*** *

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
2105      2115      2125      2135      2145      2155
P5CS ADNc
XM_021989924.1 TACAGTAGAA ATAGTGGATA ATGTTTCTG TGCCATTGAA CATATTAATC AACATGNAAG
XM_010693221.1 TACAGTAGAA ATAGTGGATA ATGTTTCTG TGCCATTGAA CATATTAATC AACATGNAAG
XM_021901565.1 TACAGTAGAA ATAGTGGATA ATGTTTCTG TGCCATTGAA CATATTAATC AACATGNAAG
XM_021901565.1 TACAGTAGAA ATAGTGGATA ATGTTTCTG TGCCATTGAA CATATTAATC AACATGNAAG
Clustal Co
*** *

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
2165      2175      2185      2195      2205      2215
P5CS ADNc
XM_021989924.1 TGACACATAA GATTGCATCG TAGCAGAAGA CGAGAAAGTT GCTGAAGTAT TCCTGAAGCA
XM_010693221.1 TGACACATAA GATTGTGTTG TAGCAGAAGA TGAAAAAGTT GCTGAAGTAT TCCTGCAGCA
XM_021901565.1 TGACACATACC GATTGCATTG TAGCAGAAGA TCAGAAAGTT GCGGAAGCTT TTTTGCAGAA
XM_021901565.1 TGACACATACC GATTGCATTG TAGCAGAAGA TCAGAAAGTT GCGGAAGCTT TTTTGCAGAA
Clustal Co
*****

```

Figure 1: Alignement de la séquence ADNc de P5CS (pyrroline-5-carboxylate synthase) obtenue à l'aide du logiciel BioEdit et utilisée pour dessiner les amorces, Numéros d'accès des séquences dans la banque de données génétiques: XM_021989924,1 (*Spinacia oleracea*), XM_021901565,1 (*Chenopodium quinoa*), XM_021901565,1 (*Chenopodium quinoa*), XM_010693221,1 (*Beta vulgaris*),

```

      ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
      365      375      385      395      405      415
P5CR ADNc -----T ATTTTCTCTG TAAAACTCA AATTGTCAAG
XM_021983061.1 CACCAGGTTG TTGAAGAATG TGACGTGGTT ATTTTCTCTG TAAAACTCA AATTGTCAAG
XM_021891297.1 CGCCAGGTTG TTGAAGAATG TGACGTGGTT ATTTTCTCTG TAAAACTCA AATTGTCAAG
XM_021888891.1 CACCAGGTTG TTGAAGAATG TGACGTGGTT ATTTTCTCTG TAAAACTCA AATTGTCAAG
XM_010674674.2 GTCCAGGTTG TTGAAGATTG TGACGTGATT ATTTTCTCTG TAAAACTCA AATTGTCAAA
Clustal Co          * ***** *****

      ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
      425      435      445      455      465      475
P5CR ADNc
XM_021983061.1 GATGTGGTGT TACAGTTGAG ACCAAAGCTT ACTGAGAAGC AGCTGTTAGT ATCAGTGGTT
XM_021891297.1 GATGTGGTGT TACGGTTGAA ACCAAAGCTT TCAGAGAAGC AGCTGTTAGT ATCAGTGGTT
XM_021888891.1 GATGTGGTGT TACAGTTGAG ACCAAAGCTT ACAGAGAAGC AGCTGTTAGT ATCAGTGGTT
XM_010674674.2 GATGTGGTGT TACAGTTGAG ACCAAAGCTT ACAGAGAAGC AGCTGTTAGT ATCAGTGGTT
Clustal Co          ***** * **** * **** * * ***** **

      ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
      485      495      505      515      525      535
P5CR ADNc
XM_021983061.1 GCTGGAACCA AATTGAAGGA TTTACAGGAA TGGGCTGGAC AGAGTCGTTT TATTAGGGTA
XM_021891297.1 GCTGGAACAA AATTGAAGGA TTTACAGGAA TGGGCCGGAC AAAGCCGTTT TATTAGGGTA
XM_021888891.1 GCTGGAACAA AATTGAAGGA TTTACAGGAA TGGGCTGGAC AGAGCCGTTT TATTAGGGTA
XM_010674674.2 CGGGGAACAA AACTGAAGGA CTTACAGGAA TGGGCTGGGC AAAGCCGTTT TATTAGGGTG
Clustal Co          ** ***** ***** ** * ** *****

      ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
      545      555      565      575      585      595
P5CR ADNc
XM_021983061.1 ATGCCTAATA CTCCTGCTGC TGTGGAAATG GCTGCATCAG TGATAAGTTT GGGAGGGACA
XM_021891297.1 ATGCCTAATA CTCCTGCTGC CGTTGGAATG GCAGCATCAG TGATAAGTTT GGGAGGGACA
XM_021888891.1 ATGCCTAATA CTCCTGCTGC TGTGGAAATG GCAGCATCAG TGATAAGTTT GGGAGGGACA
XM_010674674.2 ATGCCTAATA CTCCTGCTGC TGTGGAGTGC GCCGCATCAG TGATAAGTTT GGGAGGGACA
Clustal Co          ***** ***** ** * ** *****

      ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
      665      675      685      695      705      715
P5CR ADNc
XM_021983061.1 AGAGCTAATG AAAAATTGTT TGATGCAATT ACCGGCTCA GTGGAAGTGG GCCAGCATAT
XM_021891297.1 AGAGCCAATG AAAAATTGTT TGATGCAATT ACTGGCTCAA GTGGAAGTGG GCCAGCATAT
XM_021888891.1 AGAGCTAATG AAAAATTGTT TGATGCAATT ACTGGCTCAA GTGGAAGTGG GCCAGCATAT
XM_010674674.2 AGAGCCAATG AAAAATTGTT TGACGCAATT ACTGGCTCAA GTGGAAGTGG GCCAGCATAT
Clustal Co          ***** * * *****

      ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
      725      735      745      755      765      775
P5CR ADNc
XM_021983061.1 ATATTCTTGG CTATTGAAGC CTTGGCTGATG -----
XM_021891297.1 ATATTCTTGG CCATTGAAGC ATTGGCTGAT GGAGGAGTTG CTGCAGGTCT GCCACGAGAA
XM_021888891.1 ATATTCTTGG CTATTGAAGC CTTGGCTGAT GGAGGAGTTG CTGCAGGTCT GCCACGAGAA
XM_010674674.2 ATATTCTTGG CCATAGAAGC CTTGGCTGAT GGAGGAGTTG CTGCAGGTCT ACCACGAGAA
Clustal Co          ***** ** * * *****

      ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
      785      795      805      815      825      835
P5CR ADNc
XM_021983061.1 CTTGCCAAGG GTTTAGCTGC TCAAACCTGTT CTCGGAGCAG CATCCATGGC TGTAAACAGT
XM_021891297.1 CTTGCTAAGG GTTTAGCTGC TCAAACCTGTT CTCGGAGCAG CATCCATGGC TGTAAACAGT
XM_021888891.1 CTTGCCAAGG GTTTAGCTGC TCAAACCTGTT CTCGGAGCAG CATCCATGGC TGTAAACAGT
XM_010674674.2 CTTGCCAAGG GTTTAGCTGC TCAAACCTGTT CTTGGAGCAG CATCCATGGC TGTAAATAGT
Clustal Co

```

Figure 2: Alignement de la séquence ADNc de P5CR (pyrroline-5-carboxylate réductase) obtenue à l'aide du logiciel BioEdit et utilisée pour dessiner les amorces, Numéros d'accès des séquences dans la banque de données génétiques : XM_021983061,1 (*Spinacia oleracea*), XM_021891297,1 (*Chenopodium quinoa*), XM_021888891,1 (*Chenopodium quinoa*), XM_010674674,2 (*Beta vulgaris*),

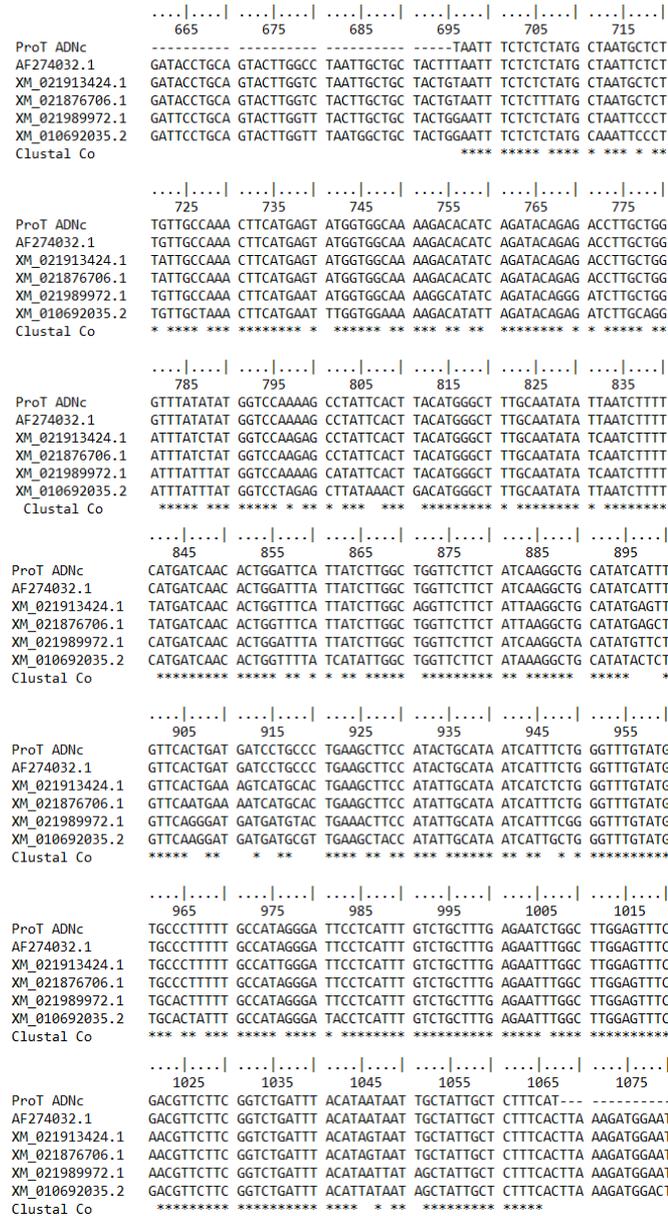


Figure 3: Aligement de la séquence ADNc de ProT (transporteur de proline) obtenue à l'aide du logiciel BioEdit et utilisée pour dessiner les amorces, Numéros d'accès des séquences dans la banque de données génétiques : AF274032,1 (*Atriplex hortensis*) XM_021989972,1 (*Spinacia oleracea*), XM_021913424,1 (*Chenopodium quinoa*), XM_021901565,1 (*Chenopodium quinoa*), XM_010693221,1 (*Beta vulgaris*),

ÉTUDE DE LA TOLÉRANCE AUX STRESS HYDRIQUE ET SALIN DE DEUX ÉCOTYPES D'*ATRIPLEX HALIMUS* L.

CASASNI Lydia^{1*}, BOUABDALLAH Houssem Eddine¹, BOUCHENAK Fatima¹ et CHAOUIA Cherifa¹

1. Université Blida 1, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Département des Biotechnologies, Laboratoire de Biotechnologie des Productions Végétales, B.P.270, route de Soumaa, Blida, Algérie

Reçu le 08/10/2020, Révisé le 30/12/2020, Accepté le 31/12/2020

Résumé

Description du sujet : *Atriplex halimus* L. est une espèce halophyte qui constitue un fourrage de qualité et un moyen efficace pour pallier aux contraintes climatiques et édaphiques dans les régions arides et semi-arides d'Algérie.

Objectifs : Etude des contraintes saline et hydrique sur les plantules de deux écotypes d'*Atriplex halimus* L. pour l'utilisation de cette espèce dans la restauration et la préservation des zones aride et semi-arides.

Méthodes : L'expérimentation a été conduite sous serre, les plantules âgées de 3 mois ont été obtenues à partir de graines issues de deux régions d'Algérie (Djelfa et Tamanrasset). Les contraintes hydriques et saline ont été induites par l'ajout à la solution nutritive de NaCl et de PEG6000 à des potentiels osmotiques de -0,5 et -1,4 MPa. Après 10 jours, des paramètres morphologiques, physiologiques et biochimiques ont été mesurés.

Résultats : L'application de solutions croissantes de PEG6000 aux plantules d'*Atriplex halimus* L. induit une diminution de la surface foliaire et du poids frais, une dose élevée de polyéthylène glycol (-1,4MPa) provoque une diminution de la longueur des plantules, aucune modification du poids sec n'est enregistrée. Sous stress salin, les plantules de la provenance de Tamanrasset présentent une diminution de leur surface foliaire mais aucune modification de la longueur et du poids frais et sec comparativement aux plantules témoins. En ce qui concerne les plantules de Djelfa, le stress salin n'a aucun effet sur la surface foliaire et la longueur. Une dose modérée de NaCl (-0,5MPa) stimule le poids frais et sec des plantules. Une accumulation importante de proline et de sucres solubles est enregistrée chez les plantules d'*Atriplex halimus* L. stressées avec des solutions de NaCl et de PEG6000 à -1,4 MPa.

Conclusion : Les résultats ont confirmé la forte tolérance au manque d'eau et à la salinité des plantules d'*Atriplex halimus* L. La comparaison de deux régions issues d'étages bioclimatiques différents (semi-aride et désertique) a montré une importante variabilité entre les écotypes avec une meilleure tolérance au stress hydrique pour la provenance de la localité du Hoggar de Tamanrasset et une tolérance plus importante des plantules de la localité d'El Mesrane de Djelfa sous stress salin.

Mots clés: *Atriplex halimus*, Halophyte, NaCl, PEG6000, Ecotypes, Tolérance

STUDY OF THE TOLERANCE TO WATER AND SALT STRESS OF TWO ECOTYPES OF *ATRIPLEX HALIMUS* L.

Abstract

Description of the subject: *Atriplex halimus* L. is a halophyte species which constitutes a quality fodder and an effective means to overcome climatic and edaphic constraints in arid and semi-arid regions of Algeria.

Objective: Study of the salt and water constraints on plants of two *Atriplex halimus* L. ecotypes for the use of this species in the restoration and preservation of arid and semi-arid zones.

Methods: The experiment was carried out in a greenhouse, the 3 month old seedlings were obtained from seeds from two regions of Algeria, Djelfa and Tamanrasset. The water and salt constraints were induced by the addition of NaCl and PEG to the nutrient solution at osmotic potentials of -0.5 and -1.4 MPa. After 10 days, the morphological, physiological and biochemical parameters were measured.

Results : The application of increasing solutions of PEG6000 to *Atriplex halimus* L. seedlings induces a decrease in leaf area and fresh weight, a high dose of PEG (-1.4MPa) causes a reduction in the length of the seedlings, no modification of the dry weight is recorded. Under saline stress, the seedlings from Tamanrasset show a decrease in their leaf area but no change in length and in fresh and dry weight compared to control seedlings. For Djelfa seedlings, salt stress has no effect on leaf area and length. A moderate dose of NaCl (-0.5MPa) stimulates the fresh and dry weight of the seedlings. A significant accumulation of proline and soluble sugars was recorded in *Atriplex halimus* L. seedlings stressed with NaCl and PEG6000 solutions at -1.4 MPa.

Conclusion: Our results confirmed the strong tolerance to water stress and salinity of *Atriplex halimus* L. seedlings. The comparison of two regions from two different bioclimatic classes showed an important variability between the ecotypes with a better tolerance to water stress for the origin of the locality of Hoggar in Tamanrasset and a greater tolerance of seedlings from the locality of El Mesrane in Djelfa under saline stress.

Keywords: *Atriplex halimus*, Halophyte, NaCl, PEG6000, Ecotypes, Tolerance

* Auteur correspondant: Casasni Lydia, E-mail: casasn_lydia@yahoo.fr

INTRODUCTION

Les zones arides et semi-arides occupent plus d'un tiers de la surface terrestre et englobent 44% des systèmes de production agricole du monde, elles ont un rôle majeur dans la sécurité alimentaire et nutritionnelle de la population [1; 2]. Malgré leur importance, ces régions sont parmi les écosystèmes les plus fragiles du monde, elles se définissent par des sécheresses récurrentes, une importante salinité du sol et une surexploitation croissante des ressources [3 ; 4]. Les terres arides sont de plus en plus menacées par des contraintes climatiques qui mènent à la désertification, la déforestation et à la dégradation des terres [1 ; 3]. La salinité et le manque d'eau peuvent avoir un effet négatif sur la croissance, le développement et le rendement de plusieurs cultures [4]. De nombreuses méthodes visant à lutter contre ces phénomènes reposent sur des programmes de reboisement qui mettent en jeu des arbustes tolérants pouvant se développer et produire de la biomasse dans des conditions d'aridité élevée [3 ; 5]. Le genre *Atriplex* renferme les plantes xéro-halophytes, caractérisées par une grande tolérance au manque d'eau et à la salinité des sols [5]. En conditions stressantes, ces plantes développent des stratégies d'adaptations leurs permettant de faire face aux contraintes environnementales [5 ;6]. L'espèce *Atriplex halimus* L. appelée aussi pourpier de mer, est l'une des plus répandue dans le monde [7]. C'est un arbuste originaire d'Afrique du nord que l'on retrouve de manière abondante dans les zones arides et salines [8]. L'importance de cette espèce dans les environnements arides est liée à sa capacité à croître dans des sols pauvres et très salés, ayant un impact positif sur leurs fertilité et permet de lutter contre l'érosion et la désertification [5 ; 8]. L'*Atriplex halimus* L. est également utilisée en médecine traditionnelle et dans l'alimentation des populations locales et constitue un fourrage de qualité pour le bétail surtout en période de disette [9 ; 10]. De nombreux travaux ont contribué à l'étude des mécanismes mis en jeu par *Atriplex halimus* L. dans la tolérance aux contraintes environnementales, et ce à plusieurs stades de développement de la plante [8]. En Algérie, l'ensemble des analyses ont été réalisées sur des graines provenant de la région de Tébessa, Oran, Laghouat et dans la plupart des cas de la région de Djelfa [11 ;12 ;13]. Plusieurs auteurs ont évalué l'impact de la salinité sur la croissance des plantules d'*Atriplex halimus* L. en utilisant des sels de nature différentes (NaCl,

CaCl₂) et à des concentrations très élevées allant jusqu'à 800 mM [13 ;14]. La contrainte hydrique a été induite par une absence d'irrigation au cours d'une durée déterminée ou par le biais de solutions de polyéthylène glycol [15 ;16 ;17 ;18]. La présente étude vise à évaluer les réponses morphologiques, physiologiques et biochimiques des plantules de deux écotypes d'*Atriplex halimus* L. Les graines ont été récoltées de deux stations à étages bioclimatiques différents, l'une d'El Mesrane (région semi-aride de Djelfa) et l'autre du Hoggar (région aride à désertique de Tamanrasset), pour cette dernière aucun essai n'a été réalisé et publié. Les stress salin et hydrique ont été induits par des solutions croissantes de chlorure de sodium (NaCl) et de polyéthylène glycol (PEG), respectivement. Les mêmes concentrations ont été choisies pour les deux stress. La présente étude permet de comparer les différents mécanismes mis en jeu par la plante selon l'origine du matériel végétal et la nature du stress.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Origine du matériel végétal

Les fruits d'*Atriplex halimus* L. proviennent de deux régions d'Algérie. Le premier lot a été récolté en 2017 par le Haut-commissariat au développement de la steppe de Djelfa dans la région d'El Mesrane. Le deuxième lot a été récolté en 2018 dans la région du Hoggar à Tamanrasset. La localisation géographique et les données écologiques des deux provenances sont indiquées dans la Figure 1 et dans le tableau 1, les classes climatiques sont représentées selon la nouvelle classification de Köppen-Geiger [19].

Figure 1: Carte géographique indiquant les sites d'origine du matériel végétal

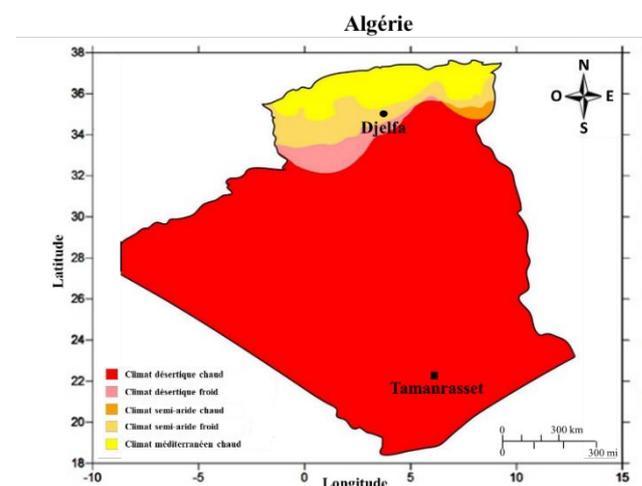


Tableau 1 : Données écologiques des deux écotypes (Djelfa et Tamanrasset) [19]

| Région | Localité | Coordonnées géographiques | Altitude | Étage bioclimatique | P (mm) | T(°C) |
|-------------|------------|--------------------------------|----------|---------------------|---------------|-------|
| Djelfa | El Mesrane | 34° 40' 00" N, 3° 15' 00" E | 1150 | Semi-aride | 240 ≤ T < 480 | < 18 |
| Tamanrasset | Hoggar | 22° 47' 13" N, 5° 31' 38" E | 1400 | Désertique | < 250 | ≥ 18 |

P : Précipitations annuelles moyennes, T : Température annuelle moyenne de l'air

2. Mise en place de l'essai

2.1. Conditions de cultures des plantules

Les fruits d'*Atriplex halimus* L. ont été décortiqués manuellement, les graines ont été mises à germer dans des bacs remplis d'un mélange de tourbe et de sable (2/3, 1/3). Après 15 jours, les jeunes plantules sont transplantées dans des pots de 150 ml de capacité. Les plantules âgées de trois mois sont transférées dans des réservoirs où elles sont fixées sur des plaques de polystyrène flottantes (Fig. 2), dans une solution de Hoagland modifiée contenant les éléments chimiques suivant : (en mM) 5 KNO₃, 1 NH₄H₂PO₄, 0,5 MgSO₄, 5,5 Ca(NO₃)₂, en (μM) 25 KCl, 10 H₃BO₃, 1 MnSO₄, 1 ZnSO₄, 0,25 CuSO₄, 10 Na₂MoO₄ et 50 mg l⁻¹ FeEDTA [20].

Après 5 jours en solution nutritive en absence de stress, les contraintes saline et hydrique sont induites durant 10 jours, par l'ajout à la solution nutritive de chlorure de sodium (NaCl) et de polyéthylène glycol 6000 (PEG), respectivement. En plus des plantules témoins (0 MPa), deux traitements salins ont été appliqués avec des solutions à -0,5 et -1,4 MPa correspondants à 100 et 300 mM, respectivement. Les quantités de NaCl utilisées ont été calculées à l'aide de la loi de Van't Hoff. Afin de comparer l'effet des deux stress abiotiques, le stress hydrique est appliqué aux mêmes potentiels osmotiques que ceux utilisés pour la contrainte saline, les quantités de PEG6000 sont calculées à partir de la formule de Michel et Kaufmann [21].

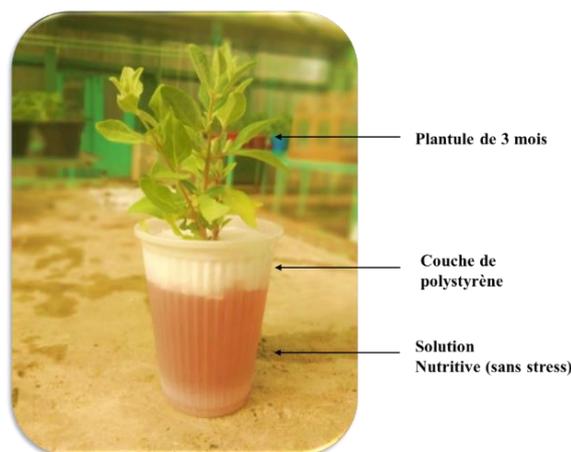


Figure 2 : Présentation du système hydroponique

2.2. Paramètres mesurés

-*Surface foliaire* : la (SF) a été déterminée selon la formule décrite par Bezzala [22]. $SF = (\pi \times a \times b)/4$, avec : **SF** : Surface foliaire en (cm²), **a** : La longueur de limbe en (cm), **b** : La largeur de limbe en (cm), π : 3,14159. La longueur et la largeur ont été mesurées à l'aide du logiciel Image J [23].

-*Poids frais et sec*: le (PF) et (PS) de la plante entière ont été mesurés à l'aide d'une balance de précision (0.01mg). Le poids sec est obtenu après passage à l'étuve à 80°C pendant 48h jusqu'au poids constant.

-*Longueur* : la (L) de la plante entière (en cm) est mesurée à l'aide d'une règle graduée.

-*Teneur en eau* : la (TE) de la plante est déterminée par le calcul du poids frais (PF) de chaque échantillon. Après séchage dans l'étuve à 80°C pendant 48 heures, le poids sec (PS) a été déterminé. La teneur moyenne en eau a été calculée par la formule suivante : $TE (\%) = (PF - PS) / PF \times 100$

-*Dosage des sucres solubles totaux* : la teneur en sucres solubles totaux a été déterminée selon le protocole de Dubois et al. [24]. L'extraction se fait par le mélange de 100 mg de matière fraîche et de 2 ml d'éthanol 80%, l'ensemble est

mis à incuber sous obscurité pendant 48h. A l'issus de cette étape, les tubes à essai sont placés dans un bain-marie à 70° jusqu'à évaporation totale de l'alcool. Après refroidissement, le volume de chaque tube à essai est complété à 20 ml, 1 ml de cette solution est prélevé et mélangé avec 1 ml de phénol 5%. L'ajout de 5 ml d'acide sulfurique concentré permet l'apparition d'une solution jaune orangé à la surface. Les tubes sont vortexés, laissés incuber pendant 10 min puis placés au bain-marie à 30° pendant 10 à 20 min. La lecture de l'absorbance se fait à l'aide d'un spectrophotomètre (UVmini-1240) à une densité optique de 490 nm. Pour les calculs des concentrations, la formule utilisée est la suivante : Sucres solubles ($\mu\text{g/g MF}$) = D.O $490 \times 1,657$. D.O : Densité optique

-Dosage de la proline : La proline est dosée selon la technique et méthode utilisée par Troll et lindsay, [25], améliorée par Lahrer et Magne cité par Leport [26]. Dans un tube à essai, 2 ml de Méthanol à 40% sont ajoutés à 100 mg de matière fraîche végétale ; Après ébullition au bain-marie à 85°C pendant 60 min, 1 ml de solution d'extraction est prélevé et mélangé à 1 ml d'acide acétique. Dans chaque tube, 1 ml de mélange (120 ml d'eau distillée et 300 ml d'acide acétique et 80 ml d'acide ortho phosphorique (H_3PO_4) et 25mg de ninhydrine) est ajouté. Le tout est porté à ébullition au bain marie durant 30 min (100°C). La couleur de la solution vire vers le rouge. Après refroidissement des solutions, 5ml de toluène sont ajoutés. Après agitation au vortex, la phase supérieure est prélevée et mélangée à 5 mg du sulfate de sodium oxydé (Na_2SO_4). Après 48h, la densité optique des échantillons est lue à l'aide d'un spectrophotomètre (UVmini-1240) à une longueur d'onde de 528nm. La teneur en proline est calculée selon l'équation : Proline ($\mu\text{g /g MF}$) = DO 528 $\times 0,62$. D.O : Densité optique

3. Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été effectuées avec le logiciel R Studio considérant les résultats significatifs quand $p < 0,01$. La normalité et l'homoscédasticité des données ont été testés avec le test de Shapiro et Hartley, respectivement.

Les différences pour les divers paramètres ont été analysées en utilisant une ANOVA (analyse de variance) à deux facteurs et le test de Tuckey HSD (Honest Significant Difference) pour la comparaison des moyennes. Lorsque les données ne respectent pas les conditions de normalité et d'homoscédasticité, des tests non-paramètres sont réalisés. Pour chaque traitement, douze plantules ont été analysées.

RÉSULTATS

1. Effet des stress hydrique et salin sur la surface foliaire des plantules

Sous stress abiotiques, l'analyse de variance a montré que la surface foliaire des plantules des deux écotypes est significativement différente, que ce soit sous stress salin ($\text{Pr}=1,815\text{e-}05$) ou stress hydrique ($\text{Pr}=3,415\text{e-}06$). Les feuilles des plantules témoins de la région la plus aride, Tamanrasset, ont une surface plus importante (27,36 cm^2) comparées aux plantules de la région semi-aride (16,27 cm^2). Sous contrainte saline, les feuilles des plantules issues des graines de la région de Djelfa présentent une légère augmentation de la surface avec 19,74 et 18,44 cm^2 pour les solutions à -0,5 et -1,4 MPa, respectivement (Fig. 3A). Toutefois, cette augmentation n'est pas statistiquement différente des feuilles témoins qui ont une surface de 16.27 cm^2 . A des potentiels osmotiques similaires, les solutions de PEG6000 (stress hydrique) induisent une diminution très importante de la surface foliaire qui est d'environ 6,5 et 6,35 cm^2 à -0,5 et -1,4 MPa, respectivement (Fig. 3A). Pour les plantules de la région désertique, Tamanrasset, les stress testés induisent une diminution importante de la surface foliaire (Fig. 3B). Cette diminution est d'autant plus importante lorsque les plantules sont soumises à des solutions de PEG6000, les surfaces sont d'environ 12,85 et 12,28 cm^2 à -0,5 et -1,4 MPa. En parallèle, elles sont de 18,25 et 20,16 cm^2 sous stress salin (NaCl) aux memes potentiels osmotiques.

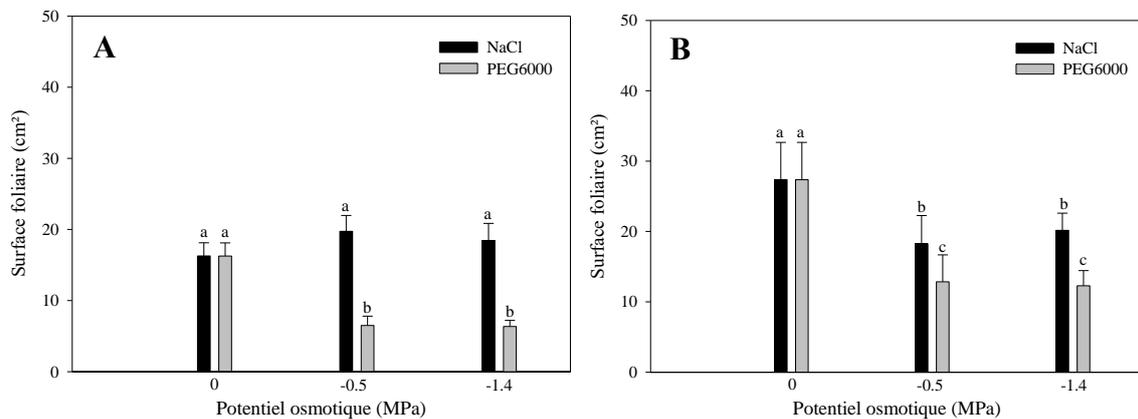


Figure 3 : Variation de la surface foliaire des plantules d'*Atriplex halimus* L. A-Djelfa, B-Tamanrasset.

2. Effet des stress hydrique et salin sur la longueur des plantules

L'application des stress hydrique et salin aux plantules d'*Atriplex halimus* L. induit une réponse similaire chez les deux écotypes. L'analyse de la variance n'a montré aucune différence significative entre les deux populations sous contrainte hydrique ($Pr=0,63648$) et saline ($Pr=0,0593548$). Les résultats montrent que des solutions de NaCl et de PEG6000 à un potentiel osmotique modéré de -0,5 MPa n'ont pas d'effet significatif sur la

longueur des plantules, et ce quel que soit la provenance des graines (Fig. 4). Une solution saline plus élevée à -1,4 MPa n'a également aucun effet sur la longueur des plantules comparativement aux témoins. A un même potentiel osmotique, des solutions de PEG6000 ont un impact négatif sur la longueur qui se traduit par une diminution d'environ 14 et 28 % comparés aux témoins pour Tamanrasset et Djelfa, respectivement (Fig. 4).

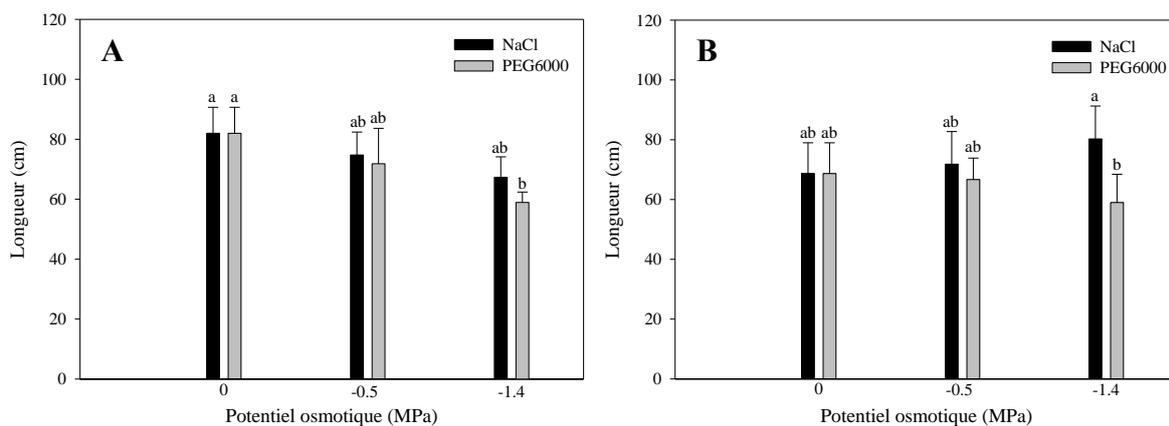


Figure 4: Variation de la longueur des plantules d'*Atriplex halimus* L. A-Djelfa, B-Tamanrasset.

3. Effet des stress hydrique et salin sur le poids frais des plantules

Sous contrainte saline, les plantules obtenues à partir des graines de Tamanrasset ne présentent aucune différence de poids frais avec les plantules témoins enregistrant des valeurs avoisinant 3,12 ; 3,64 et 2,98g respectivement pour les plantules témoins et celles stressées avec des solutions à -0,5 et -1,4 MPa de NaCl (Fig. 5B). Aux mêmes concentrations, la contrainte hydrique provoque une diminution importante du poids frais qui atteint 2,17 et 1,88 g à des solutions de -0,5 et -1,4 MPa, respectivement (Fig. 5B). Pour l'écotype de

Djelfa, la contrainte hydrique a également eu un impact important sur le poids frais des plantules, elle passe de 2,5 g pour les témoins à 1,38 et 1,2 g pour les plantules stressées à -0,5 et -1,4 MPa, respectivement (Fig. 5A). Sous stress salin, le poids frais des plantules de l'écotype le moins aride est fortement stimulé par une solution saline modérée à -0,5 MPa (4,04 g). A une dose plus élevée (-1,4 MPa), les plantules ont un poids frais de 2,25g similaire à celui des plantules témoins (Fig. 5A).

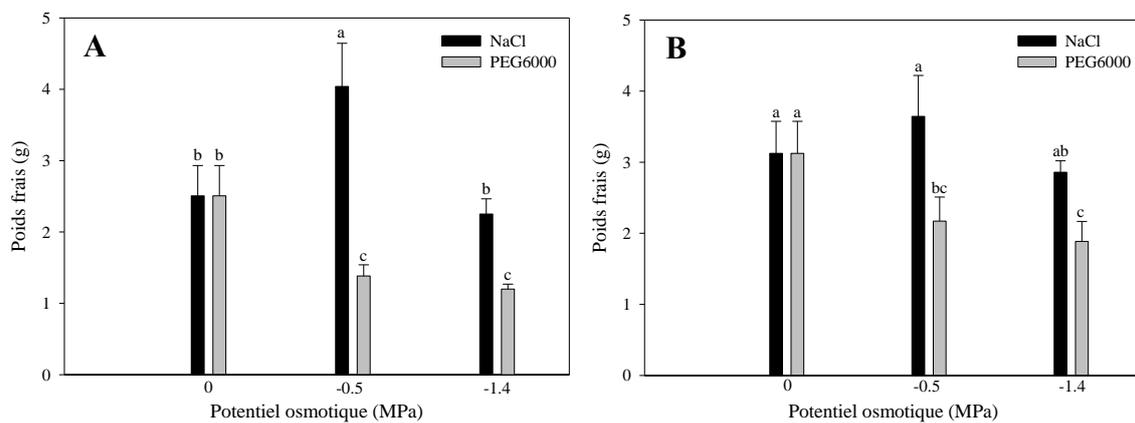


Figure 5 : Variation du poids frais des plantules d'*Atriplex halimus* L. A-Djelfa , B-Tamanrasset.

4. Effet des stress hydrique et salin sur le poids sec des plantules

Les résultats indiquent que les solutions de PEG6000 n'ont aucun effet sur le poids sec des plantules des deux écotypes d'*Atriplex halimus* L., et ce quel que soit la dose appliquée (Fig. 6). Les plantules de l'écotype désertique soumises à des solutions salines à -0,5 et -1,4 MPa présentent une légère augmentation de leurs poids sec (0,46 g) qui n'est statistiquement pas

différente comparée au poids sec des témoins (0,38 g) (Fig. 6B). Concernant l'écotype de Djelfa, une faible dose de sel (-0,5 MPa) stimule considérablement le poids sec des plantules qui atteint environ 0,56 g. Les plantules soumises à une dose de sel plus élevée (-1,4 MPa) ne présentent aucune différence de poids sec (0,32g) comparé aux plantules témoins (0,30g) (Fig. 6A).

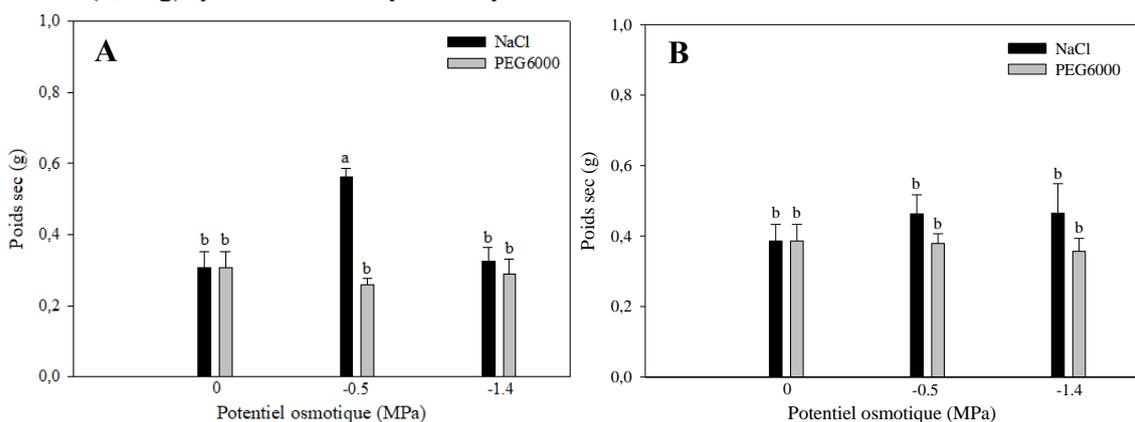


Figure 6 : Variation du poids sec des plantules d'*Atriplex halimus* L. A-Djelfa , B-Tamanrasset.

5. Effet des stress hydrique et salin sur la teneur en eau des plantules

Sous contrainte saline, la teneur en eau des plantules stressées ne présente aucune différence statistique avec celle des plantules témoins, et ce quel que soit l'origine du matériel végétal (Fig. 7A et B). Les plantules obtenues des graines issues de la localité du Hoggar soumises à des solutions de PEG6000 présentent une teneur en eau de 79,19 et 79 % à des potentiels osmotiques de -0,5 et -1,4 MPa, respectivement. Les plantules témoins présentent une teneur en eau plus importante de 85,65 % qui n'est statistiquement pas différente des plantules stressées (Fig. 7B).

Pour les plantules de la localité d'El Mesrane, la teneur en eau diminue avec l'augmentation des concentrations en PEG6000 où nous enregistrons une valeur de 79.32 % à un potentiel de -0,5 MPa (Fig.7A). Aucune différence n'est observée en comparaison avec les plantules témoins qui montrent une teneur en eau presque similaire de 86.2 %. A un potentiel osmotique plus important (-1.4 MPa), les solutions de PEG6000 provoquent une diminution significative de la teneur en eau atteignant 73,76 %.

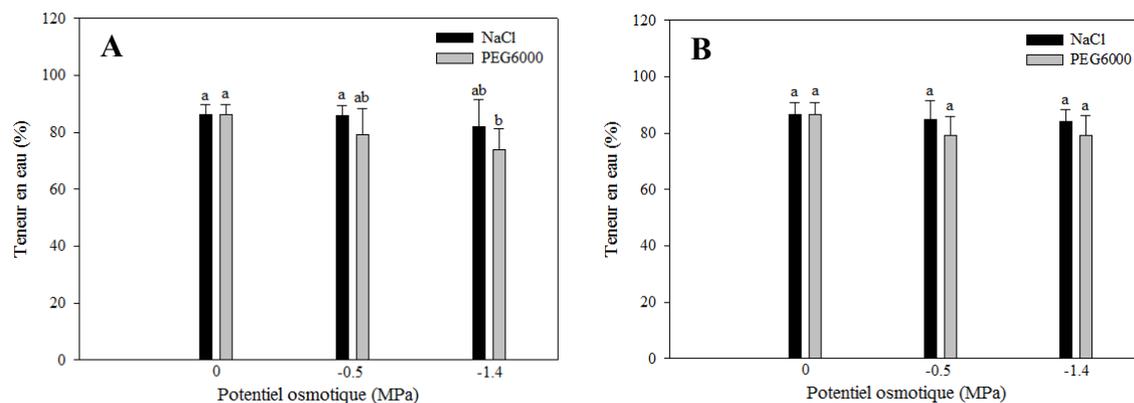


Figure 7 : Variation de la teneur en eau des plantules d'*Atriplex halimus* L. A-Djelfa , B-Tamanrasset.

6. Effet des stress hydrique et salin sur la teneur en proline des plantules

es feuilles des plantules témoins de la région la plus aride (Tamanrasset) produisent une quantité de proline plus importante (0,037 $\mu\text{g/g}$ MF) comparée aux plantules de la région semi-aride (0,0095 $\mu\text{g/g}$ MF). Une faible dose de sel (100 mM équivalente à -0,5 MPa) n'a aucun effet sur l'accumulation de la proline chez les plantules de la région désertique, et ce quel que soit la nature du stress appliqué (Fig. 8B). Des solutions stressantes à un potentiel osmotique plus important (-1,4MPa) provoquent une accumulation de proline plus importante sous

stress salin (0,14 $\mu\text{g/g}$ MF) comparée à la deuxième contrainte abiotique étudiée (0,059 $\mu\text{g/g}$ MF) (Fig. 8B). Les plantules issues de graines de la région de Djelfa stressées avec des solutions de NaCl à -0,5 et -1,4 MPa accumulent une quantité considérable de proline enregistrant des valeurs de 0,018 et 0,012 $\mu\text{g/g}$ MF, respectivement. L'application de solutions de PEG6000 aux mêmes potentiels osmotiques induit une accumulation plus importante de proline avec 0,04 et 0,038 $\mu\text{g/g}$ MF à -0,5 et -1.4 MPa, respectivement (Fig. 8A).

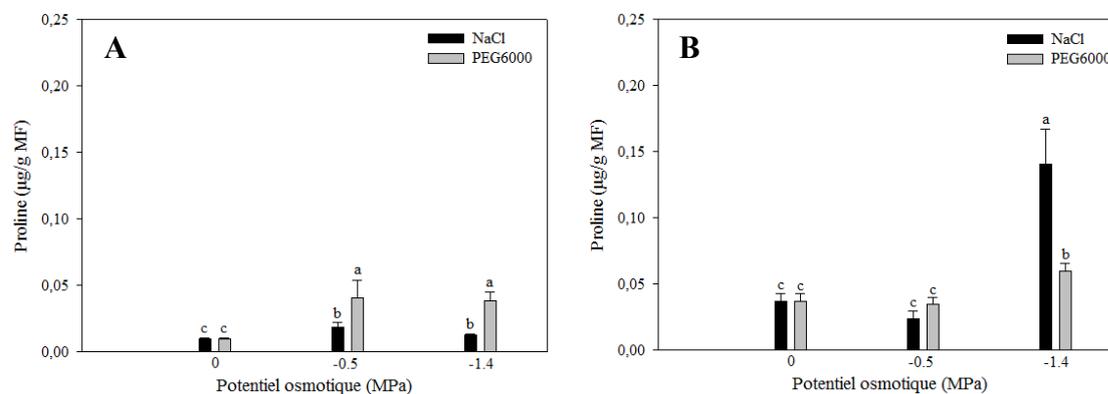


Figure 8 : Variation de la teneur en proline des plantules d'*Atriplex halimus* L. A-Djelfa , B-Tamanrasset.

7. Effet des stress hydrique et salin sur la teneur en sucres solubles totaux des plantules

Le dosage des sucres solubles totaux chez les feuilles des plantules témoins a indiqué une accumulation plus importante chez la localité d'El Mesrane de la région de Djelfa (0,61 $\mu\text{g/g}$ MF) comparée à la localité du Hoggar de la région de Tamanrasset (0,48 $\mu\text{g/g}$ MF). Sous contrainte saline, les plantules stressées avec une faible dose de sel à -0,5 MPa ne présentent aucune différence statistique comparées aux plantules témoins et enregistrent des valeurs de 0,33 et 0,49 $\mu\text{g/g}$ MF pour Tamanrasset et Djelfa, respectivement. Une dose de sel plus

élevée (-1,4 MPa soit 300 mM) induit une accumulation de sucres solubles au niveau des feuilles avec 0,99 et 1,10 $\mu\text{g/g}$ MF pour les plantules d'El Mesrane et du Hoggar, respectivement (Fig. 9A et B).

Les plantules obtenues à partir des graines de la région la plus aride, Tamanrasset, stressées avec des solutions de PEG6000 à -0,5 MPa accumulent une quantité de sucres solubles (0,38 $\mu\text{g/g}$ MF) similaire à celles des plantules témoins (0,48 $\mu\text{g/g}$ MF). Une accumulation plus importante est observée chez les plantules

stressées avec une solution élevée de PEG6000 (-1,4 MPa) enregistrant une valeur de 1.42 $\mu\text{g/g}$ MF (Fig. 9B). L'application du stress hydrique aux plantules de la région semi-aride induit une accumulation des sucres solubles totaux avec

l'augmentation des concentrations en PEG6000 (Fig. 9A). Les feuilles stressées en sucres oscillent de 3,27 à 4,48 $\mu\text{g/g}$ MF à -0,5 et -1,4 MPa de PEG6000, respectivement.

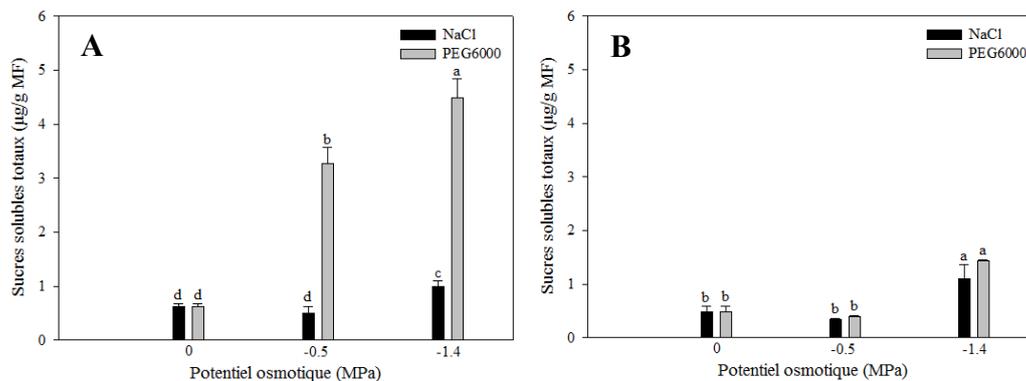


Figure 9 : Variation de la teneur en sucres solubles totaux des plantules d'*Atriplex halimus* L. A-Djelfa, B-Tamanrasset.

DISCUSSION

Les températures élevées et le manque d'eau conduisent à une accumulation importante de sels à la surface du sol [27]. La sécheresse et la salinité sont des contraintes abiotiques pouvant avoir un effet néfaste sur les plantes en limitant leur croissance, leur développement et même leurs chances de survie [28].

Dans la présente étude, les résultats indiquent que la réponse des plantules d'*Atriplex halimus* L. à la contrainte saline varie en fonction des doses appliquées et de l'écotype étudié. Face aux concentrations croissantes en NaCl, les plantules de la provenance de Djelfa stressées avec -0,5 et -1,4 MPa ne présentent aucune différence de longueur, de surface foliaire et de teneur en eau avec les plantules témoins (Fig. 3A, 4A et 7A). Ces résultats sont similaires à ceux trouvés par Bouchenak [18]. Les résultats de la biomasse ont montré qu'une faible dose de NaCl (-0,5 MPa équivalente à 100 mM de NaCl) augmente le poids frais et sec des plantules (Fig. 5A et 6A). Ces résultats ont été confirmés par plusieurs auteurs, qui ont observé que des teneurs en NaCl allant de 40 à 200 mM améliorent considérablement la croissance des plantules d'*Atriplex halimus* L. [13 ;14 ;16 ;17 ; 29 ; 30]. Une concentration plus élevée de sel (-1,4 MPa soit 300 mM) n'a pas d'impact négatif sur la biomasse des plantules (Fig. 5A et 6A), ces résultats sont confirmés par Nemat Alla et al. [30]. Chez les plantules de la localité d'El Mesrane, la contrainte saline induit une accumulation importante de proline et de sucres solubles,

et ce quel que soit l'intensité du stress testé à partir de 100 jusqu'à 300 mM (Fig. 8A et 9A). Ces travaux corroborent avec ceux de Bouchenak [18] ayant également travaillé sur des plantules issues de la région de Djelfa. La proline et les sucres solubles entrent dans le mécanisme de tolérance aux sels, elles agissent en tant que solutés organiques dans l'ajustement osmotique [31 ; 32]. Concernant les plantules provenant de Tamanrasset (zone aride à désertique), la longueur et la teneur en eau n'ont pas été affectées par les solutions de NaCl (Fig. 4B et 7B). En revanche, la surface foliaire diminue significativement et passe de 27,36 cm² pour les témoins à 18,25 et 20,16 cm² pour les plantules stressées avec des solutions de sels à -0,5 et -1,4 MPa, respectivement. L'effet stimulant rencontré chez l'écotype de Djelfa et induit par des teneurs en NaCl avoisinant -0,5 MPa n'est pas retrouvé chez les plantules de la région désertique, notamment la localité du Hoggar de la région de Tamanrasset où la masse fraîche et sèche des plantules stressées est similaire à celles des plantules témoins (Fig. 5B et 6B). Les résultats de l'analyse biochimique ont montré que des solutions salines élevées (300 mM) induisent une accumulation importante de proline et de sucres solubles, ce dernier atteint un taux de 1.1008 $\mu\text{g/g}$ MF (Fig. 8B). L'ensemble des résultats montrent que la tolérance aux sels est plus importante pour les zones où le climat est moins aride comparées aux régions où l'aridité est plus prononcée. Lorsqu'elles sont soumises à de faibles concentrations salines,

les plantules obtenues à partir des graines récoltées dans la région de Djelfa présentent une meilleure tolérance et une importante stimulation de la croissance. En revanche, bien que les plantules de la région désertique se développent aisément à $-0,5$ MPa de NaCl, l'effet stimulant n'est pas observé. Cette différence de comportement a été également observé par plusieurs auteurs ayant travaillé sur deux écotypes différents, une teneur en NaCl de 160 mM diminue la croissance chez les plantules provenant de la région aride comparé à celles provenant de la zone côtière [16]. Nos résultats ont également montré une accumulation importante d'osmoprotecteurs chez les plantules stressées avec des solutions salines élevées ($-1,4$ MPa équivalente à 300 mM), cette accumulation est d'autant plus importante lorsque les graines sont issues de la région désertique (Tamanrasset) (Fig. 8 et 9). La présente étude a également permis de comparer les effets des solutions de PEG6000 sur les plantules d'*Atriplex halimus* L. à des potentiels osmotiques similaires aux solutions de NaCl. Les plantules soumises au stress hydrique présentent une diminution importante de leur surface d'environ 55 et 61 % par rapport aux témoins pour Tamanrasset et Djelfa, respectivement. Cette diminution a également été notée chez Essafi et al. [33], c'est une réponse morphologique typique qui permet à la plante la limitation de la transpiration en réduisant la zone d'ouverture de l'ostiole des stomates. Une faible concentration de PEG6000 à savoir $-0,5$ MPa n'a pas d'effet sur la longueur des plantules d'*Atriplex halimus* L. Un potentiel osmotique plus élevé ($-1,4$ MPa) provoque une diminution significative de la longueur d'environ 14 et 28 % pour Tamanrasset et Djelfa, respectivement (Fig. 4). Ces résultats sont confirmés par plusieurs auteurs [15 ; 33]. Une réduction importante du poids frais (PF) est observée avec l'augmentation des concentrations en PEG6000 (Fig.5). Cette diminution du PF est plus importante pour les plantules de Djelfa avec 52 % contre 40 % pour Tamanrasset à $-1,4$ MPa de PEG6000. Concernant la masse sèche, aucune différence n'est notée entre les plantules stressées et les témoins, et ce quel que soit l'écotype étudié (Fig. 6). Ces résultats sont similaires à ceux de Ben Hassine et al. [17] et contradictoires à ceux de Martinez et al. [34] et Khedr et al. [29], ces derniers ont noté une diminution importante de la matière sèche des plantules soumises à 15% de PEG.

Les résultats de la teneur en eau ont montré que les plantules de la localité du Hoggar ne sont pas affectées par les solutions croissantes de PEG6000 (Fig.7B) alors que celles de la localité d'El Mesrane enregistre une diminution importante de la teneur en eau qui passe de $86,2$ % pour les plantules stressées avec $-1,4$ MPa de PEG6000 à $73,7\%$ pour les plantules témoins. Plusieurs auteurs ont également observé une diminution de la teneur relative en eau des plantes d'*Atriplex halimus* L. stressées avec 15 et 20 % de PEG [12 ;15 ;34]. L'analyse de paramètres biochimiques a montré une accumulation importante de proline et de sucres solubles sous contrainte hydrique chez les plantules issues des graines de Djelfa, et ce quel que soit l'intensité du stress appliqué (Fig. 8 et 9). Des niveaux élevés d'accumulation d'osmolytes dans les cellules végétales ont été corrélés à une meilleure tolérance aux stress abiotiques notamment la contrainte hydrique, et ce grâce à l'élimination des radicaux libres et à la protection des enzymes [36]. A un potentiel osmotique de $-1,4$, les solutions de PEG6000 induisent une synthèse de proline plus importante chez les plantules de Tamanrasset ($0,05$ $\mu\text{g/g}$ MF) comparée à celles de Djelfa ($0,038$ $\mu\text{g/g}$ MF), ces résultats sont similaires à ceux de Martinez et al. [34] et Ben hassine et al. [16], qui soulignent une quantité plus importante de proline chez les écotypes provenant des régions arides. La contrainte hydrique induit également une accumulation de sucres solubles chez les plantules d'*Atriplex halimus* L. soumises à des solutions de $-1,4$ MPa de PEG6000, avec des teneurs plus élevées chez les plantules de la localité d'El Mesrane ($4,48$ $\mu\text{g/g}$ MF) en comparaison avec celles de la localité du Hoggar ($1,42$ $\mu\text{g/g}$ MF). Des résultats similaires ont été observés par Martinez et al. [15], qui ont noté une forte augmentation de sucres solubles chez l'écotype de Tensift (zone côtière du Maroc) comparativement à l'écotype de Kairouan (une région plus aride de Tunisie). Durant notre expérimentation nous avons enregistré une tolérance plus importante pour les plantules de la région de Tamanrasset aux solutions de PEG6000 comparées aux plantules de la région de Djelfa. Cette différence entre les deux écotypes d'*Atriplex halimus* L. est liée aux conditions climatiques de leurs sites natifs (Tableau 1). En effet, les plantes de la région de Tamanrasset prospèrent sous un climat désertique où les précipitations moyennes annuelles sont inférieures à 250 mm/an et la température moyenne est supérieure à 18°C .

Elles s'adaptent aux conditions difficiles avec un manque d'eau très marqué par rapport aux plantules de Djelfa, région semi-aride, où la température est habituellement inférieure à 18°C et les précipitations oscillent aux environs de 480 mm/an et plus selon les campagnes [19]. Ces résultats corroborent ceux de Ben Hassine et al. [16], qui ont noté un effet négatif des solutions de PEG6000 sur la croissance des plantules plus important chez les plantules de la région côtière que chez les plantules de la région aride.

CONCLUSION

Nos résultats ont confirmé la haute tolérance à la salinité et au manque d'eau d'*Atriplex halimus* L. Les plantules soumises à des concentrations similaires de NaCl et de PEG6000 ont montré une meilleure tolérance à la contrainte saline. L'étude de deux écotypes issus d'étages bioclimatiques différents a indiqué que les plantules obtenues à partir de graines provenant de la région désertique (Tamanrasset) présentent une meilleure tolérance au stress hydrique. Les plantules de la région à climat semi-aride se développent de manière optimale sous contrainte saline. Comparativement aux plantules de Tamanrasset, de faibles doses de sels stimulent la croissance des plantules de Djelfa. L'analyse de paramètres biochimiques tel que la proline et les sucres solubles a montré que l'accumulation de ces composés diffère selon l'écotype étudié et le stress appliqué. Sous stress salin, la proline est fortement synthétisée par les plantules de la localité du Hoggar, tandis que sous stress hydrique la molécule est accumulée de manière importante chez les plantules de la localité d'El Mesrane. Les sucres solubles sont également accumulés en grande quantité par les plantules de Djelfa sous contrainte hydrique. En revanche, l'accumulation de cette molécule chez les plantules de Tamanrasset est similaire sous stress salin et hydrique. La riche diversité entre les écotypes et leur haute tolérance aux contraintes abiotiques suggérerait que les plantules d'*Atriplex halimus* L. pourraient jouer un rôle important dans les programmes de restauration des zones arides et semi-arides. Toutefois, il serait intéressant d'étudier d'autres mécanismes de tolérance et de stratégies adaptatives des plantules face aux stress hydrique et salin notamment les systèmes antioxydants enzymatiques et non enzymatiques afin d'avoir une connaissance plus approfondie sur les possibilités de création des parcs à bois de cette espèce prometteuse et

autochtone pour le repeuplement des étendues sur exploitées par le bétail et ainsi réduire l'avancée du désert.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1]. **Division environnement et climat du IFDA. (2016).** *L'avantage des terres arides Protéger l'environnement, autonomiser les populations.* Italie : Fond International pour le Développement de l'Agriculture (Edit), pp.40.
- [2]. **Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO). (2017).** *Arbres, forêts et utilisation des terres dans les zones arides Première évaluation mondiale.* Rome : FAO (Edit), pp. 44.
- [3]. **Malagnoux, M.; Sène, E.H.; Atzmon, N. (2007).** Les forêts, les arbres et l'eau dans les terres arides : un équilibre précaire. *Unasyva*, 229 (58) : 24-29.
- [4]. **Hussain, S., Shaukat, M., Ashraf, M., Zhu, C., Jin, Q., Zhang, J. (2019).** Salinity Stress in Arid and Semi Arid Climates: Effects and Management in Field Crops, in: *Climate Change and Agriculture.* IntechOpen., Hussain, S.(Eds.), pp. 1-26.
- [5]. **Mulas, M., Mulas G. (2004).** Potentialité d'utilisation stratégique des plantes des genres *Atriplex* et *Opuntia* dans la lutte contre la désertification". Short and Medium, Term Priority Environmental Action Programme (SMAP) (p.91).
- [6]. **Hu, Y., Schmidhalter, U. (2004).** Limitation of salt stress to plant growth, in: *Plant Toxicology.* Marcel Dekker, New York, Hock, B., Elstner, E.F. (eds.), pp. 191-224.
- [7]. **Le Houérou H.N. (2000).** Utilisation of fodder trees and shrubs (trubs) in the arid and semi arid zones of western Asia and northern Africa (WANA): History and perspective. *A review Arid Soil Res. Rehab*, 14: 1-37.
- [8]. **Walker, D. J.; Lutts, S. (2014).** The tolerance of *Atriplex halimus* L. to environmental stresses. *Emirates Journal of Food and Agriculture.* 26: 1081-1090.
<https://doi.org/10.9755/ejfa.v26i12.19116>.
- [9]. **Chikhi, I.; Allali, H.; Dib, M.E.A.; Medjdoub, H.; Tabti, B. (2014).** Antidiabetic activity of aqueous leaf extract of *Atriplex halimus* L. (Chenopodiaceae) in streptozotocin induced diabetic rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease.* 4: 181-184.
- [10]. **Fried, G. (2015).** Focus sur une espèce : *Atriplex halimus* L. (Amaranthaceae). *Journal de Botanique de la Société Botanique de France.* 72: 69-71.
- [11]. **Belkhodja, M.; Bidai, Y. (2004).** Réponse des graines d'*Atriplex halimus* L. à la salinité au stade de la germination. *Sécheresse.* 15(4) :331-335.
- [12]. **Bouchenak, F. ; Henri, P. ; Benrebaha, F.Z. ; Rey, P. (2012).** Differential responses to salinity of two *Atriplex halimus* populations in relation to organic solutes and antioxidant systems involving thiol reductases. *Journal of Plant Physiology,* 169: 1445-1453.
- [13]. **Brinis, A.; Belkhodja, M. (2015).** Effet de la salinité sur quelques traits physiologiques et biochimiques chez *Atriplex halimus* L. *Rev. Sci. Technol.*, 31: 42-51.
- [14]. **Boughalleb, F.; Denden, M.; Ben Tiba, B. (2009).** Photosystem II photochemistry and physiological parameters of three fodder shrubs, *Nitraria retusa*, *Atriplex halimus* and *Medicago arborea* under salt stress. *Acta Physiol Plant.*, 31: 463-476.

- [15]. **Martinez, J.P.; Lutts, S.; Schanck, A. ; Bajji, M. ; Kinet, J.M. (2004).** Is osmotic adjustment required for water stress resistance in the Mediterranean shrub *Atriplex halimus* L.?. *Journal of Plant Physiology*, 161: 1041-1051.
- [16]. **Ben hassine, A.; Ghanem, M.E.; Bouzid, S.; Lutts, S. (2008).** An inland and coastal population of the Mediterranean xero-halophyte species *Atriplex halimus* L. differ in their ability to accumulate proline and glycine betaine in response to salinity and water stress. *Journal of Experimental Botany*, 59: 1315-1326.
- [17]. **Ben Hassine, A.; Ghanem, M. E.; Bouzid, S.; Lutts, S. (2009).** Abscisic acid has contrasting effects on salt excretion and polyamine concentrations of an inland and a coastal population of the Mediterranean xero-halophyte species *Atriplex halimus*. *Annals of botany*, 104: 925-936.
- [18]. **Bouchenak F., (2014).** Stratégies adaptatives au stress hydrique et salin d'une halophyte spontanée *Atriplex halimus* L.: Approches physiologiques et biochimiques. Thèse de doctorat d'état en sciences agronomiques, université de Saad Dahlab de Blida 1, Blida. p. 173.
- [19]. **Beck, H.E.; Zimmermann, N.E.; McVicar, T.R.; Vergopolan, N.; Berg, A.; Wood, E.F. (2018).** Present and future Köppen-Geiger climate classification maps at 1-km resolution. *Scientific Data*. 5. <http://dx.doi.org/10.1038/sdata.2018.214>
- [20]. **Ben Hassine, A.; Bouzid, S.; Lutts, S. (2010).** Does habitat of *Atriplex halimus* L. affect plant strategy for osmotic adjustment? . *Acta Physiol Plant*. 33: 325-331.
- [21]. **Michel, B. E.; Kaufmann, M. R. (1973).** The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. *Plant physiology*. 5 : 914-916. <https://doi.org/10.1104/pp.51.5.914>.
- [22]. **Bezzala A., (2005).** Essai d'introduction d'el'arganiser (*Argania spinosa* (L.) Skeels) dans la zone de M'doukel et évaluation de quelques paramètres de résistance à la sécheresse. Thèse de Magistère en sciences agronomiques, Université El Hadj Lakhdar, Batna. P. 143.
- [23]. **Rasband, W.S.** ImageJ, U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, <https://imagej.nih.gov/ij/>, 1997-2018.
- [24]. **Dubois, M.; Gilles, K.A.; Hamilton, J.K.; Pebers, P.A.; Smith, F. (1956).** Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.*, 28: 350-356.
- [25]. **Troll, W.; Lindsley, J. (1955).** A photometric method for the determination of proline. *J. Biol. Chem.*, 215: 655-660.
- [26]. **Leport L. (1992).** Accumulation de proline associée aux contraintes environnementales et à la floraison chez le colza (*Brassica napus* L). Thèse D'état, Rennes, France. 156 p.
- [27]. **Legros J-P. Salinisation des terres dans le monde.** In: Académie des sciences et des lettres de Montpellier France 2009; 4069 (pp.257-269).
- [28]. **Sharma, A., Pooja, Devi, A., Garg, C., Kumari, A., Mann, A., Kumar, A. (2019).** Behavior of Halophytes and Their Tolerance Mechanism Under Different Abiotic Stresses, in: *Ecophysiology, Abiotic Stress Responses and Utilization of Halophytes*. E-Publishing., 1st ed. Singapore, Hasanuzzaman, M., Nahar, K., Ozturk, M. (Eds), pp. 25-36.
- [29]. **Khedr, A. H. A.; Serag, M.S.; Nemat-Alla, M.M.; Abo El-Naga, A.Z.;Nada, R.M.; Quick, W.P.; Abogadallah, G.M. (2011).** Growth stimulation and inhibition by salt in relation to Na⁺ manipulating genes in xero-halophyte *Atriplex halimus* L. *Acta Physiol. Plant.*, 33:1769-1784.
- [30]. **Nemat Alla, M. M.; Khedr, A.H. A.; Serag, M. M.; Abu-Alnaga, A. Z.; Nada, R. M. (2012).** Regulation of metabolomics in *Atriplex halimus* growth under salt and drought stress. *Plant Growth Regul.*, 67:281-304.
- [31]. **Munns, R. (2002).** Comparative physiology of salt and water stress. *Plant. Cell. Environ.*, 25:239–250.
- [32]. **Slama, I.; Abdelly, C.; Bouchereau, A.; Flowers, T.; Savouré, A. (2015).** Diversity, distribution and roles of osmoprotective compounds accumulated in halophytes under abiotic stress. *Ann. Bot.*, 115:433–447.
- [33]. **Essafi, N.E.; Mounsiif, M.; Abousalim, A.; Bendaou, M.; Rachidai, A.; Gaboune, F. (2006).** Impact of water stress on the fodder value of *Atriplex halimus* L. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 49: 321-329
- [34]. **Martinez, J.P. ; Kinet, J.M. ; Bajji, M. ; Lutts, S. (2005).** NaCl alleviates polyethylene glycol-induced water stress in the halophyte species *Atriplex halimus* L. *Journal of Experimental Botany*, 56: 2421–2431.
- [35]. **Szabados, L.; Kovacs, H.; Zilberstein, A.; Bouchereau, A. (2011).** Plants in extreme environments: importance of protective compounds in stress tolerance. *Advances in Botanical Research*, 57: 105–150.