

**ETUDE COMPARATIVE DES MECANISMES BIOCHIMIQUES DE  
TOLERANCE AU STRESS SALIN DE DEUX ESPECES D'ATRIPLEX:  
*Atriplex halimus* L. ET *Atriplex canescens*  
(PURCH) NUTT**

HADJADJ Soumia<sup>1\*</sup>, DJERROUDI Ouiza<sup>2</sup> et BISSATI Samia<sup>2</sup>

<sup>(1)</sup>Laboratoire de protection des écosystèmes en zones arides et semi arides  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers  
Université Kasdi Merbah-Ouargla BP 511 Ouargla 30000 Algérie

<sup>(2)</sup>Laboratoire de Bioressources Sahariennes  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers  
Université Kasdi Merbah-Ouargla BP 511 Ouargla 30000 Algérie  
Email:hadjajsoumaia@gmail.com

**Résumé-** L'effet de NaCl+CaCl<sub>2</sub> à 400 et 600 meq sur le comportement biochimique de deux espèces d'Atriplex: *Atriplex halimus* L. et *Atriplex canescens* est étudié. La proline et les sucres solubles, sont admis comme étant des marqueurs biochimiques de la résistance aux stress abiotiques, sont dosés, après une semaine de stress à partir des feuilles (apicales et basales), des tiges et des racines pour la proline et des organes aériens pour les sucres solubles sur des plantes âgées de quatre mois. Les résultats montrent la variabilité de l'accumulation de proline et des sucres solubles selon l'organe de la plante, l'espèce et l'intensité du traitement en sels. La proline s'accumule davantage dans les feuilles, notamment dans les feuilles apicales d'*Atriplex halimus* L. avec tous les traitements et les feuilles basales d'*Atriplex canescens* sous salinité modérée 400 meq par rapport aux tiges et aux racines. Sous les traitements les plus concentrés 600 meq, la proline devient importante dans les tiges. L'accumulation des sucres solubles est importante dans les feuilles chez les deux espèces pour les deux traitements.

**Mots clés:** *Atriplex*, stress salin, marqueurs biochimiques, proline, sucres solubles.

**COMPARATIVE STUDY OF THE BIOCHEMICAL MECANISMS OF TOLERANCE  
TO SALT STRESS OF TWO SPECIES OF ATRIPLEX:  
*Atriplex Halimus* L. ET *Atriplex canescens* (PURCH) NUTT**

**Abstract-** The effect of NaCl+CaCl<sub>2</sub> at 400 and 600 meq on biochemical behavior of two species of *Atriplex*: *Atriplex halimus* L. and *Atriplex canescens* is studied. The proline and the soluble sugars, are admitted like being the biochemical markers for resisting to abiotic stress, are analyzed after one week of stress from leaves (apexes and basis), stems and roots for the proline and the aerial organs for the soluble sugars of plants aged four months. Results show the variability of the accumulation of proline and the soluble sugars according to the plant organ, the species and the intensity of the salts treatment. The accumulation of the proline at the level more in leaves and especially in apexes leaves of *Atriplex halimus* L. with all the treatments and in basis leaves of *Atriplex canescens* under moderate salinity at 400 meq compared to stems and roots. Under the more extracts treatments 600 meq, proline becomes important in the stems. The accumulation of soluble sugar is important in leaves at the two species with all treatments.

**Key words:** *Atriplex*, salt stress, biochemical markers, proline, soluble sugars.

## Introduction

Dans les zones arides et semi arides, notamment dans le bassin méditerranéen, la salinisation des sols constitue l'un des facteurs abiotiques majeurs qui limitent la productivité végétale et le rendement agricole [1]. Les données actuelles se résument dans le bassin méditerranéen à 16 millions d'hectares des sols salés. L'Algérie, dont une grande partie des

régions agricoles se caractérise par un climat aride et semi aride, est touchée par le processus de salinisation des sols. Actuellement, près de 3,2 millions d'hectares affectés [2].

Parmi les actions à entreprendre en vue de valoriser et de développer ces régions, les plantations à base d'espèces végétales adaptées, capables de résister à la sécheresse et de tolérer les sels constituent une priorité [3]. L'Atriplex, plante bien adaptée à l'aridité et à la salinité, est considérée parmi les espèces végétales qui valorisent le mieux l'eau des terrains salés, grâce à sa pression osmotique vacuolaire élevée, due à de fortes concentrations en sels [4]. Elle possède par ailleurs, un système racinaire très développé fixant les couches supérieures du sol et peut être utilisée comme moyen de lutte contre la désertification [5].

Le présent travail vise l'étude de l'effet de la salinité sur le comportement biochimique de plantes juvéniles de deux espèces d'Atriplex: *Atriplex halimus* L. et *Atriplex canescens* stressées à divers niveaux de salinité à 400 et 600 meq de NaCl+CaCl<sub>2</sub>, à travers l'analyse de deux composés biochimiques : la proline et les sucres solubles, étudier les variations de ces composés au niveau de chaque organe chez ces deux espèces.

## 1.- Matériel et méthodes

### 1.1.- Matériel végétal

Le matériel végétal ayant fait l'objet de la présente étude concerne des graines d'*Atriplex halimus* L. et d'*Atriplex canescens*, provenant de la Wilaya de Djelfa.

### 1.2.- Protocole expérimental

L'essai est conduit dans des pots sous serre semi contrôlée. Avant le semis, les graines sont décortiquées, désinfectées à l'eau de javel à 5% pendant 5 minutes puis rincées à l'eau distillée stérile. Elles sont mises à germer dans des alvéoles remplies de terreau jusqu'au stade plantules. Les plantules sont repiquées individuellement dans des pots en plastique, remplis d'un mélange de sable et de terreau (2V/V). Un arrosage tous les deux jours est opéré à la solution nutritive de HOAGLAND [6] à 30% de la capacité de rétention (CR) du substrat pendant deux mois puis à 60% durant un mois jusqu'à l'application du stress.

Après 90 jours du repiquage, le stress salin est appliqué pour les plantes en les répartissant en 3 traitements :

- I : Traitement témoin (solution nutritive),
- II : Traitement 400 meq de NaCl+ CaCl<sub>2</sub> par litre de solution nutritive,
- III : Traitement 600 meq de NaCl+ CaCl<sub>2</sub> par litre de solution nutritive.

Les plantes stressées sont arrosées une fois durant une semaine aux différentes solutions salines à 60% de la CR du substrat. Après une semaine, les plantes sont prélevées, les feuilles, tiges et racines sont séparées, enveloppées dans du papier aluminium puis étuvées durant 48 heures à 80°C, les échantillons secs sont broyés et ensuite déposés dans un flacon fermé à l'aide d'un bouchon plasma et placés dans un congélateur.

La proline est extraite selon la méthode de l'Association of Official Analytical Chemists [7] modifiée par NGUYEN et PAQUIN [8]. Le dosage a fait appel au protocole de BERGMAN et LOXLEY [9].

Les sucres solubles sont extraits et dosés selon la méthode de SCHIELDS et BURNETT [10].

## 2.- Résultats et discussion

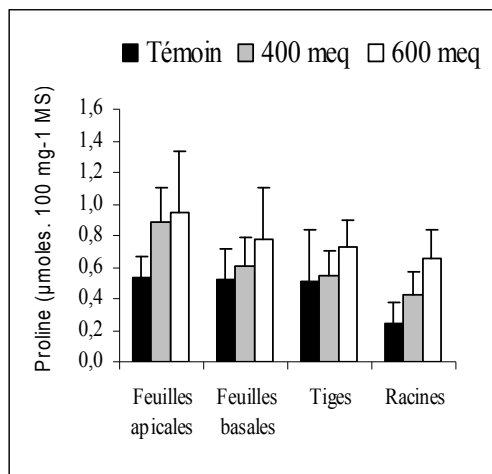
La figure 1 indique que, la proline augmente de teneur dans tous les organes de la plante en fonction de l'augmentation de la salinité. Les tissus foliaires et davantage les feuilles apicales sont plus riches en proline que les autres organes aussi bien dans les plantes témoins que celles traitées aux différentes concentrations en sels, sa teneur passe de 0,53  $\mu\text{moles.100 mg}^{-1}$  MS chez les plantes témoins à 0,89 et 0,94  $\mu\text{moles.100 mg}^{-1}$  MS respectivement dans celles des plantes stressées à 400 et 600 meq de NaCl+ CaCl<sub>2</sub>.

Nous constatons également que l'accumulation du composé azoté dans les racines est environ deux à trois fois plus élevée dans les plantes traitées à 400 meq et 600 meq de sels comparativement aux témoins 0,42 et 0,66, respectivement contre 0,25  $\mu\text{moles.100 mg}^{-1}$  MS. Par contre dans les tiges, la teneur en proline la plus élevée est enregistrée chez les plantes traitées à 600 meq. Il faut par ailleurs, souligner que la proline évolue régulièrement des racines vers les feuilles aussi bien chez les plantes témoins que celles traitées aux sels.

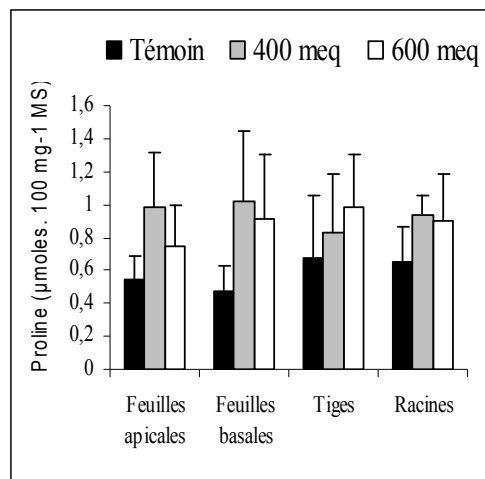
Chez les plantes d'*Atriplex canescens*, la teneur en proline évolue dans tous les organes avec la concentration en sels par rapport aux plantes témoins (fig. 2). Ce composé s'accumule beaucoup plus dans les tiges et les racines chez les plantes témoins par rapport aux feuilles apicales et basales. Les teneurs en proline fluctuent selon l'organe et le traitement salin. En effet, sous 400 meq de sels, les feuilles apicales et basales présentent des teneurs maximales 0,98 et 1,02  $\mu\text{moles.100mg}^{-1}$  MS respectivement puis les valeurs chutent au traitement à 600 meq 0,75 et 0,91  $\mu\text{moles.100mg}^{-1}$  MS pour les feuilles apicales et basales.

Dans les tiges, l'accumulation de l'acide aminé se fait lentement au fur et à mesure que la salinité augmente. Dans les racines, les teneurs en proline augmentent rapidement dans les plantes traitées à 400 meq, puis chutent légèrement dans celles traitées à 600 meq.

Les résultats de la figure 3 montrent les variations en sucres solubles analysés dans les feuilles et les tiges de plantes d'*Atriplex halimus* L. En effet, nous remarquons que les composés glucidiques se concentrent plus dans les feuilles que dans les tiges aussi bien chez les plantes témoins que celles traitées aux différentes concentrations en sels combinés. Les teneurs en sucres solubles enregistrées dans les feuilles sont plus élevées lorsque les plantes sont traitées à 600 meq par rapport à celles des témoins avec une augmentation de 39,85%. Par contre chez les plantes traitées à 400 meq, cette teneur diminue légèrement et se rapproche de celles des témoins 9,11 contre 9,91  $\mu\text{moles.100mg}^{-1}$  MS.



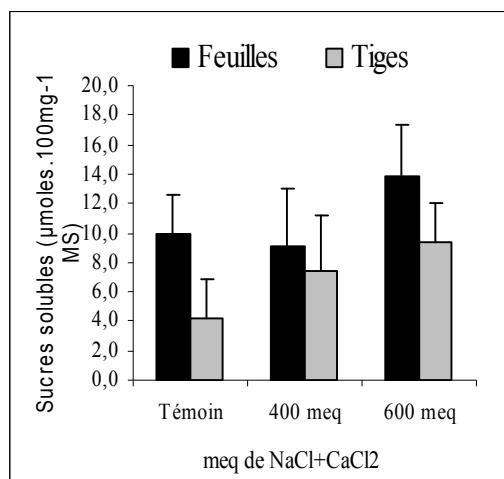
**Figure 1.-** Teneurs en proline dans les organes d'*Atriplex halimus* L.



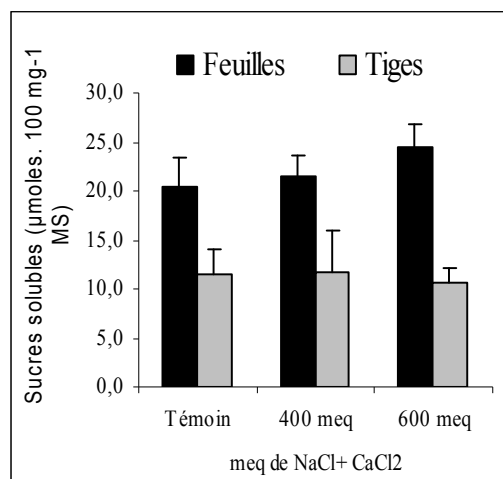
**Figure 2.-** Teneurs en proline dans les organes d'*Atriplex canescens*

Au niveau des tiges, les sucres solubles s'accumulent et évoluent progressivement avec la concentration en sels. Les teneurs passent de 4,20 chez les témoins à 7,45 et 9,31 µmoles.100 mg<sup>-1</sup> de MS respectivement chez celles traitées à 400 et 600 meq de sels.

Chez les plantes d'*Atriplex canescens* (fig. 4), les résultats montrent aussi l'évolution de la teneur en sucres solubles dans les organes avec l'augmentation de la salinité du milieu. L'accumulation des sucres solubles est beaucoup plus importante dans les feuilles que dans les tiges malgré l'absence de grandes variations dans les teneurs obtenues. En effet, les teneurs passent de 20,45 à 21,5 et 24,39 µmoles.100 mg<sup>-1</sup> MS respectivement pour les feuilles témoins et celles arrosés à 400 et 600 meq de sels.



**Figure 3.-** Teneurs en sucres solubles dans les feuilles et les tiges d'*Atriplex halimus* L.



**Figure 4.-** Teneurs en sucres solubles dans les feuilles et les tiges d'*Atriplex canescens*

Dans les tiges, les teneurs de ces composés carbonyliques sont sensiblement identiques chez les plantes témoins et celles traitées à 400 meq de sels 11,74 contre 11,53 µmoles.100 mg<sup>-1</sup> MS, puis chutent à 10,59 µmoles.100 mg<sup>-1</sup> MS, dès que les plantes reçoivent la solution à 600 meq de sels. D'une manière générale, les teneurs en sucres solubles baissent à peu près de moitié

en allant des feuilles vers les tiges aussi bien pour les témoins que pour les plantes stressées.

Le comportement biochimique de deux espèces d'*Atriplex*: *A. halimus* L. et *A. canescens* sous contrainte saline au NaCl+CaCl<sub>2</sub> à 400 et 600 meq évalué à travers le processus d'accumulation de proline et des sucres solubles, montre la variabilité de l'accumulation de ces composés organiques d'un organe à un autre de la plante, selon l'espèce et l'intensité du stress. En effet, chez les plantes d'*Atriplex halimus* L., l'accumulation de la proline se fait dans le sens racines, tiges et feuilles aussi bien chez les plantes témoins que celles stressées aux sels. Dans les tissus foliaires, l'acide aminé se concentre préférentiellement dans les feuilles apicales lorsque la salinité du milieu augmente. Au niveau des tiges, cet acide aminé augmente d'une manière lente en fonction de la concentration du milieu aux différents traitements salins. Cette accumulation progresse significativement avec la concentration en sels dans les racines.

Pour les plantes d'*Atriplex canescens*, la proline s'accumule dans les feuilles notamment dans l'étage basal sous les traitements à 400 meq. Alors que, sous stress sévère à 600 meq, cette accumulation devient importante dans les tiges. Dans les racines, les teneurs de la proline augmentent progressivement avec la concentration du milieu en sels combinés.

Les variations dans l'accumulation de la proline en fonction de l'organe et de l'intensité du stress, observées chez les deux espèces d'*Atriplex* expérimentées, traduisent dans nos conditions expérimentales une aptitude à la résistance des seuils de concentrations salins des milieux de culture. De nombreux travaux rapportent que la proline s'accumule dans la plante lorsqu'elle se trouve en conditions défavorables [11], ce qui traduit le caractère de la résistance aux stress [12]. Cette variation dans l'accumulation de la proline observée sur les plantes d'*Atriplex* expérimentées serait due à une compartimentation de l'acide aminé, d'où l'expression de sites de résistance de la plante à la contrainte saline [13]. En outre, le transport de cet acide aminé de la source (lieu de synthèse) au site de résistance apparaît comme un paramètre important dans l'acquisition de cette résistance [14]. De nombreux travaux signalent que la proline migre chez diverses plantes glycophytes vers les feuilles pour s'y localiser sous contrainte saline comme chez l'orge [15], la fève [13] et le trèfle d'Alexandrie [16]. Cependant pour d'autres espèces, la proline se localiserait dans les tiges, comme chez *Retama retam* [17] et dans les racines, chez le maïs [18]. Généralement, le rôle attribué à la proline dans la réponse des plantes aux stress, reste parfois controversé : pour QIAN et al [19], son accumulation contribue à l'acquisition de cette résistance grâce à l'ajustement osmotique dont la proline est responsable. Elle pourrait, également, intervenir dans la régulation du pH cytoplasmique [20] ou constituer une réserve de carbone et d'azote réduits, utilisés par la plante postérieurement à la période du stress [21].

Concernant les sucres solubles, d'après les résultats obtenus sur l'évolution des sucres solubles dans la partie aérienne des plantes d'*Atriplex halimus* L. et d'*Atriplex canescens*, il ressort que ces composés glucidiques ont aussi connu une augmentation de la concentration en réponse au stress salin pour les deux espèces. L'accumulation des sucres solubles se produit de manière importante dans les feuilles que dans les tiges sous les conditions normales ou sous stress salin, aussi bien chez les plantes d'*Atriplex halimus* L. que celles d'*Atriplex canescens*.

BENNABI [22] signalent une accumulation des sucres solubles au niveau des feuilles, supérieures aux tiges et aux racines, lorsque les plantes d'*Atriplex halimus* L. sont stressées à trois régimes de dilution d'eau de mer (25%, 50% et 100%). MEKLCHE et al [23] ont mis en évidence une augmentation de la teneur en sucres solubles chez six variétés de blé dur en situation de contrainte hydrique. BEN KHALED et al [16] rapportent que l'exposition des

plantules de trèfle d'Alexandrie à 2, 4, 6 et 8 g.l<sup>-1</sup> de NaCl, a induit une accumulation de sucres solubles dans les feuilles. Cette augmentation a atteint 37% à 4 g.l<sup>-1</sup> et 57% à 8 g.l<sup>-1</sup> de NaCl. Ces résultats traduisent d'une part, la variabilité du métabolisme biochimique des deux halophytes d'Atriplex ; *halimus* L. et *canescens* sous stress salin et d'autre part, expriment leur capacité à synthétiser les sucres solubles et les accumuler dans des sites différents. Les sucres solubles jouent un rôle déterminant dans l'ajustement osmotique, ainsi qu'au niveau de la stabilisation de certaines protéines. L'accumulation des sucres semble induire la gélification du contenu cellulaire en saturant le milieu intracellulaire, ce phénomène permettant d'éviter la cristallisation des molécules contenues dans la cellule, et donc limite les dommages au niveau des structures cellulaires [24].

Il semble exister une certaine proportionnalité entre les teneurs en proline accumulées et celles des sucres solubles. L'espèce *Atriplex canescens* qui accumule plus de proline est aussi celle qui connaît la plus forte accumulation des sucres solubles et vis versa. Donc, l'accroissement des teneurs en proline, sous l'effet du traitement salin, est proportionnel à l'augmentation des teneurs en glucides solubles. Ces résultats traduisent l'existence d'une connexion entre la voie de la biosynthèse de la proline et l'accumulation des sucres solubles, d'une façon générale, ils pourraient fournir les précurseurs carbonés et l'énergie chimique nécessaire à la synthèse de la proline. L' $\alpha$ -cétoglutarate, intermédiaire de la voie respiratoire lors de l'oxydation du glucose, joue un rôle particulièrement important comme accepteur de groupement aminé de la glutamine, pour la conversion en glutamate. Celui-ci est le précurseur principal de la proline lors d'une situation de stress [25].

### 3.- Conclusion

La réponse biochimique, évaluée à travers le processus d'accumulation de proline et des sucres solubles des deux espèces d'Atriplex sous stress salins, a mis en évidence le caractère halophile de ces deux espèces qui expriment leur capacité à synthétiser et accumuler de la proline et des sucres solubles. L'accumulation de ces composés organiques au niveau des organes est un phénomène lié aux régimes salins et à l'espèce. Les deux espèces étudiées ont utilisé la même stratégie de tolérance vis-à-vis du stress salin. Toutefois la différence réside au niveau des teneurs des composés de synthèse ainsi qu'au niveau des organes de compartimentation des ces marqueurs biochimiques. La variabilité inter-spécifique, révèle que les quantités accumulées semblent pouvoir être reliées au niveau de tolérance de l'espèce. Ainsi, l'*Atriplex canescens* serait plus tolérant que l'*Atriplex halimus* L.

### Références bibliographiques

- [1].- Zid E., Grignon C., 1991.- Les tests de sélection précoce pour la résistance des plantes aux stress. Cas des stress salin et hydrique. L'amélioration des plantes pour l'adaptation aux milieux arides, AUPELF-UREF, Jon Libbey Eurotext, Paris: 91-108.
- [2].- Hamdy A., 1999.- Saline irrigation and management for a sustainable use. In: Advanced Short Course on Saline Irrigation. Proceeding, Agadir: 152-227.
- [3].- Benmqhioul B., Daguin F., Aid-Harche M., 2009.- Effet du stress salin sur la germination et la croissance in vitro du pistacher (*Pistacia vera* L.). C. R. Biologies: 1-7.
- [4].- Essafi N. E., Mounsif M., Abousalim A., Bendaou M., BRHADDA N., 2007.- Effet du stress hydrique sur la valeur nutritive d'*Atriplex halimus* L. Sécheresse, 18 (2) : 123-128.

- [5].- 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.
- [6].- Hoagland D. R., Arnon D. I., 1938.- The water-culture method for growing plants without soil. *Calif. Agric. Exp. Sta. Cir.*, 347: 1-39.
- [7].- Association of official analytical chemists, 1955.- Official methods of analysis. Published by the A.O.A.C., Po. box 540, Washington.
- [8].- Nguyen S.T., Paquin R., 1971.- Méthodes d'extraction et de purification des acides aminés libres et des protéines des tissus végétaux. *Journal of Chromatography*, 61: 349-351.
- [9].- Bergman I., Loxley R., 1970.- New spectrophotometric method for the determination of proline in tissue hydrolysates. *Analytical Chemistry*, 42 (7): 702-706.
- [10].- Schields R., Burnett W., 1960.- Determination of protein bound carbohydrate in serum by a modified anthrone. *Analytical Chemistry*, 32: 885-886.
- [11].- Sivarakrishnan S., Pattel V., Flower G., Peacock J., 1988.- Proline accumulation and nitrate reductase activity in contrasting sorghum lines during mid season drought stress. *Plant Physiol*, 74: 418-426.
- [12].- Greenway H., Munns R., 1980.- Mechanisms of salt tolerance in nonhalophytes. *Annu. Rev. Plant Physiol*, 31: 149 - 190.
- [13].- Belkhodja M., Benkabilia M., 2000.- Proline reponse of faba bean (*Vicia faba* L.) under salt stress. *Egyptian Journal of Agricultural Research*, 78 (1): 185-195.
- [14].- Paquin R., 1986.- Effet de l'humidité du sol sur la teneur de la proline libre et des sucres totaux de la luzerne endurcie au froid et à la sécheresse. *Can. Journal Plant Science*, 66 : 95-101.
- [15].- Alem C., Amri A., 2005.- Importance de la stabilité des membranes cellulaires dans la tolérance à la salinité chez l'orge. *Reviews in Biology and Biotechnology*, 4 (1) : 20-31.
- [16].- Ben Khaled L., Morte Gómez A., Honrubia M., Oihabi A., 2003.- Effet du stress salin en milieu hydroponique sur le trèfle inoculé par *Rhizobium*. *Institut National de la Recherche Agronomique*, 23: 553-560.
- [17].- Ighilhariz Z., 1990.- Etude du comportement physiologique, biochimique et structurale du *Retama retam* (R'tam) vis-à-vis du chlorure de sodium. Mémoire de magister, Université Es-Senia, Oran, 120 p.
- [18].- Rodriguez H. G., Roberts J. K. M., Jordan W. R., Drew M. C., 1997.- Growth, water relations, and accumulation of organic and inorganic solutes in roots of maize seedlings during salt stress. *Plant Physiology*, 113 (3): 881-893.
- [19].- Qian Y. L., Wilhelm S. J., Marcum K. B., 2001.- Comparative responses of two Kentucky bluegrass cultivars to salinity stress. *Corp Science*, 41: 1895-1900.

- [20].- Denden M., Bettaieb T., Salhi A., Mathlouthi M., 2005.- Effet de la salinité sur la fluorescence chlorophyllienne, la teneur en proline et la production florale de trois espèces ornementales. *Tropicultura*, 23 (4) : 220-225.
- [21].- Keller F., Ludlow M. M., 1993.- Carbohydrate metabolism in drought-stressed leaves of *Pigeonpea* (*Cajanus cajan*). *Journal of Experimental Botany*, 44 (265): 1351-1359.
- [22].- Bennabi F., 2005.- Métabolisme glucidique et azote chez une halophyte (*Atriplex halimus* L.) stressée à la salinité. Mémoire de magistère en physiologie végétale, Université Es-Senia, Oran : 49-50.
- [23].- Mekliche A., Boukecha D., Hanifi-Mekliche L., 2003.- Etude de la tolérance à la sécheresse de quelques variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf.).I. effet de l'irrigation de complément sur les caractères phénologiques, morphologiques et physiologiques. *Annales de l'Institut National Agronomique, El-Harrach, Alger*, vol. 24, (1-2) : 97-110.
- [24].- Dubos C., 2001.- Réponse moléculaire de jeunes plants de pin maritime soumis à un stress hydrique en milieu hydroponique. Thèse de doctorat en biologie Forestière, Université Henri Poincaré, Nancy I: 54-55.
- [25].- Hopkins W. G., 2003.- *Physiologie végétale*. 2<sup>ème</sup> édition. De Boeck, Bruscelles: 61-476.