

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

CASASNI Lydia<sup>1\*</sup>, BOUABDALLAH Houssem Eddine<sup>1</sup>, BOUCHENAK Fatima<sup>1</sup> et CHAOUIA Cherifa<sup>1</sup>

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,

CaCl<sub>2</sub>) 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

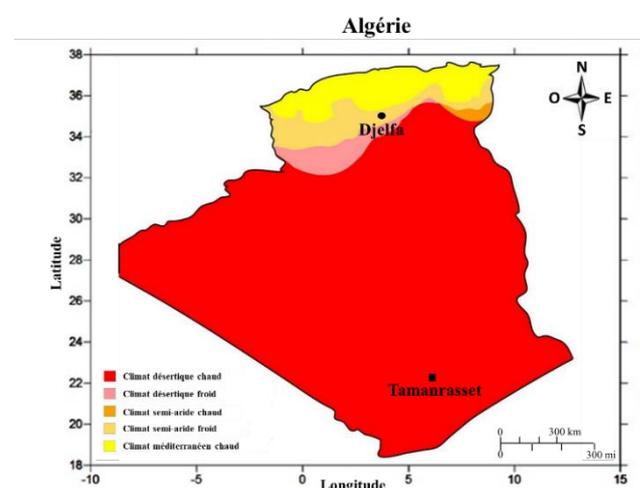


Tableau 1 : Données écologiques des deux écotypes (Djelfa et Tamanrasset) [19]

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 KNO<sub>3</sub>, 1 NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0,5 MgSO<sub>4</sub>, 5,5 Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, en (μM) 25 KCl, 10 H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, 1 MnSO<sub>4</sub>, 1 ZnSO<sub>4</sub>, 0,25 CuSO<sub>4</sub>, 10 Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub> et 50 mg l<sup>-1</sup> 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].

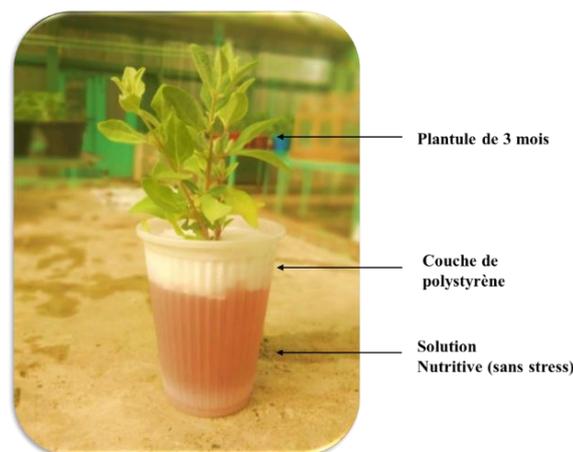


Figure 2 : Présentation du système hydroponique

### 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 (cm<sup>2</sup>), **a** : La longueur de limbe en (cm), **b** : La largeur de limbe en (cm),  $\pi$  : 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 ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) 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 ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ). 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  $\text{cm}^2$ ) comparées aux plantules de la région semi-aride (16,27 $\text{cm}^2$ ). 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  $\text{cm}^2$  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  $\text{cm}^2$ . 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  $\text{cm}^2$  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  $\text{cm}^2$  à -0,5 et -1,4 MPa. En parallèle, elles sont de 18,25 et 20,16  $\text{cm}^2$  sous stress salin (NaCl) aux memes potentiels osmotiques.

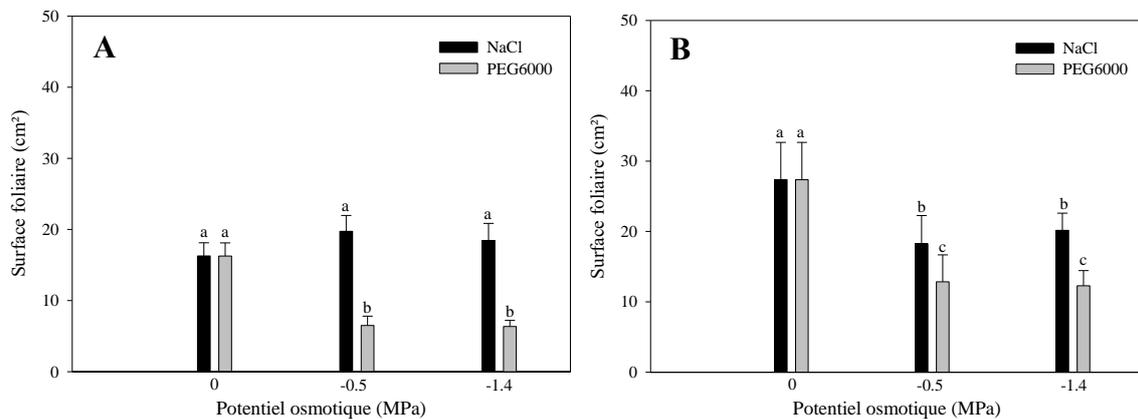


Figure 3 : Variation de la surface foliaire des plantules d'*Atriplex halimus* L. A-Djelfa, B-Tamanrasset.

### 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 ( $P_r=0,63648$ ) et saline ( $P_r=0,0593548$ ). 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).

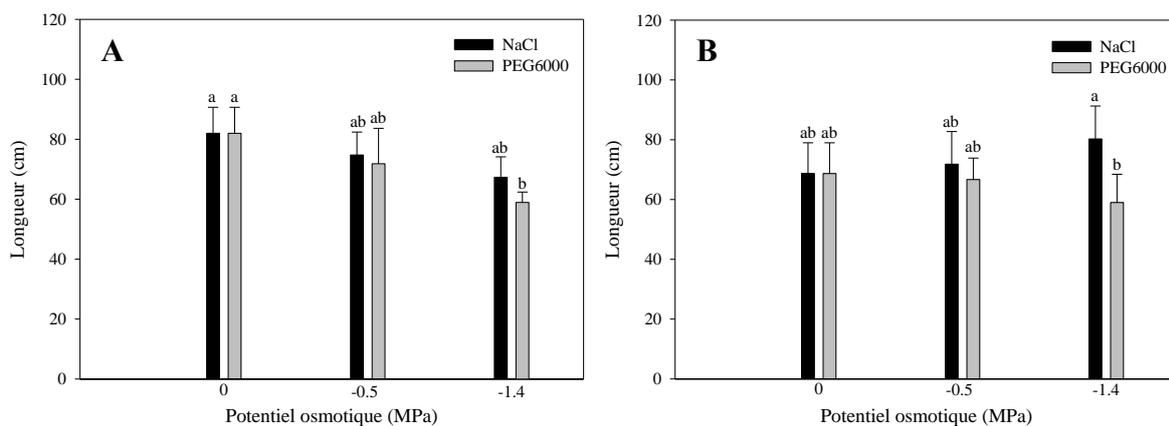


Figure 4: Variation de la longueur des plantules d'*Atriplex halimus* L. A-Djelfa, B-Tamanrasset.

### 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).

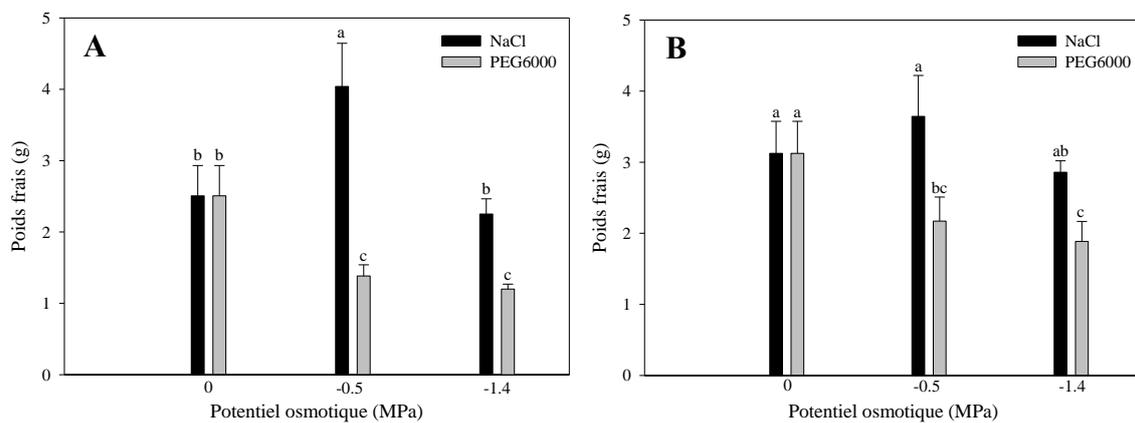


Figure 5 : Variation du poids frais des plantules d'*Atriplex halimus* L. A-Djelfa , B-Tamanrasset.

#### 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).

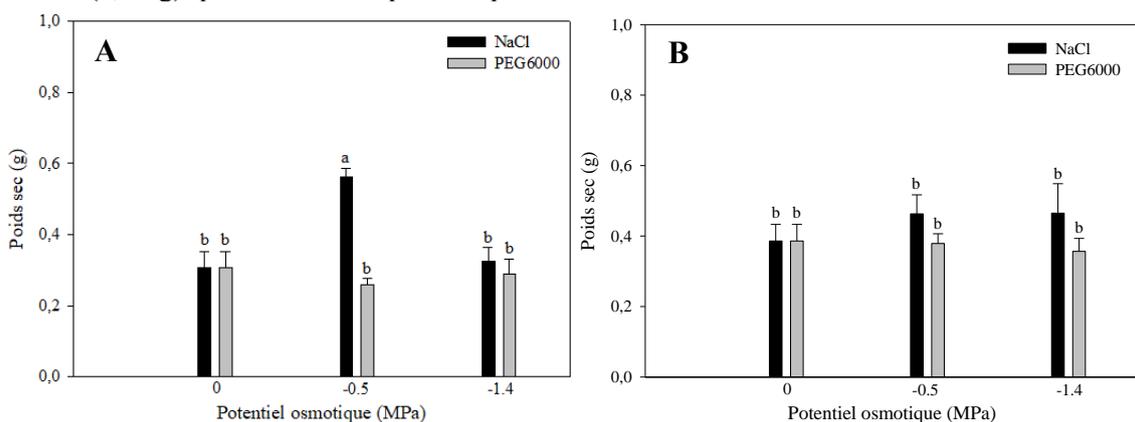


Figure 6 : Variation du poids sec des plantules d'*Atriplex halimus* L. A-Djelfa , B-Tamanrasset.

#### 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 %.

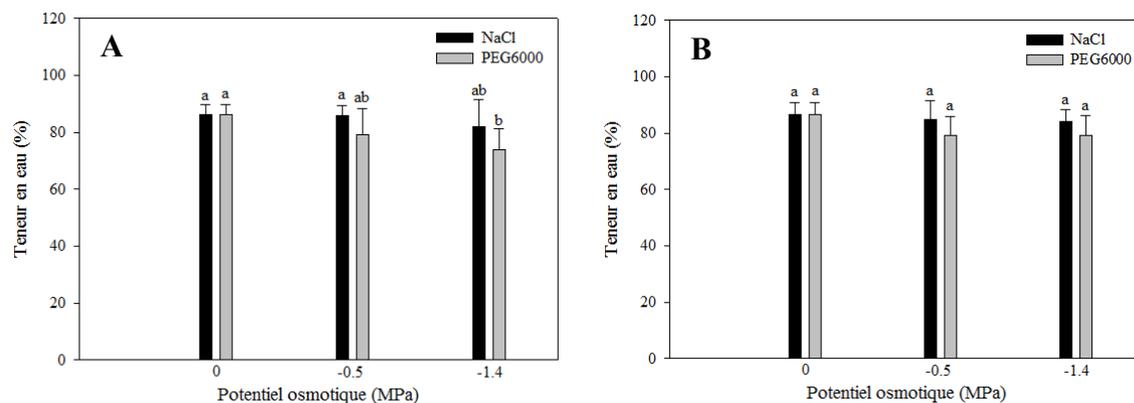


Figure 7 : Variation de la teneur en eau des plantules d'*Atriplex halimus* L. A-Djelfa , B-Tamanrasset.

### 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).

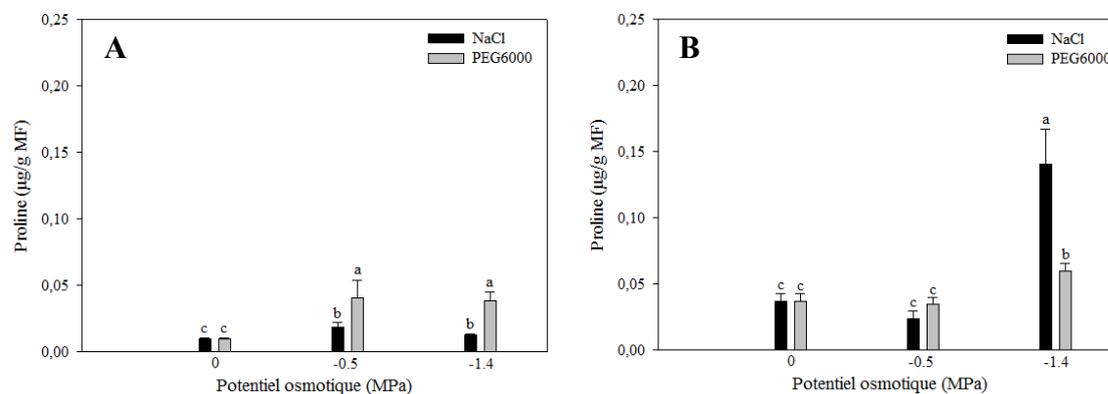


Figure 8 : Variation de la teneur en proline des plantules d'*Atriplex halimus* L. A-Djelfa , B-Tamanrasset.

### 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.

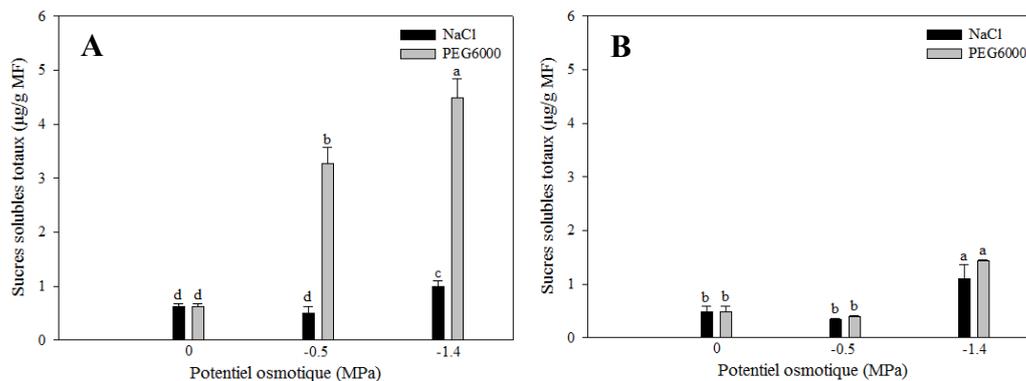


Figure 9 : Variation de la teneur en sucres solubles totaux des plantules d'*Atriplex halimus* L. A-Djelfa, B-Tamanrasset.

## 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 cm<sup>2</sup> pour les témoins à 18,25 et 20,16 cm<sup>2</sup> 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  $18^{\circ}\text{C}$ .

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., 1<sup>st</sup> 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<sup>+</sup> 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.