

EFFET DU NaCl SUR LES PARAMETRES MORPHOLOGIQUES PHYSIOLOGIQUES ET BIOCHIMIQUES DU PISTACHIER DE L'ATLAS (*PISTACIA ATLANTICA* DESF.)

OUKARA F.Z.¹, ASSEL A.²,
BAGHLAL K.² et CHAOUIA C.²

(1) I.N.R.F., Station de
Recherche sur la Conservation
des Sols de Médéa,

Algérie. fzoukara@yahoo.fr

(2) Laboratoire de
Biotechnologie des Productions
Végétales, Faculté des Sciences
de la Nature et de Vie,
Département des
Biotechnologies, Université de
Blida1, B.P. 270, route de
Soumaa, Blida, Algérie.
Email: chercha1925@yahoo.fr

Résumé

Afin de déterminer la tolérance de pistachier de l'Atlas *Pistacia atlantica* Desf., vis-à-vis du stress salin, des concentrations en NaCl ont été utilisées pour élucider le comportement morphologique, physiologique et biochimique de cette espèce. Le stress salin appliqué a affecté tous les paramètres étudiés. Une concentration de l'ordre de 5g/l semble stimuler la croissance du végétal (longueur de la tige et racine, surface foliaire). Au de-là de cette concentration, une diminution significative est observée progressivement avec l'augmentation de la concentration en NaCl. Au niveau foliaire, l'effet du sel se traduit par une augmentation de la teneur relative en eau pour atteindre son maximum (78,89%) en présence de 5g/l de NaCl. Ce paramètre subit une baisse progressive pour arriver à 52.4% en présence de 30 g/l de NaCl. Ces résultats montrent que le pistachier de l'Atlas est une espèce à caractère halophyte facultatif. Elle se développe mieux en présence de 5g/l de NaCl et elle présente aussi des mécanismes d'adaptation morpho-physiologique et biochimiques lorsque la concentration en sel est plus élevée.

Mots clés: *Pistacia atlantica*, Stress salin, NaCl, Proline, TRE.

INTRODUCTION

En Algérie, les régions arides et semi-arides sont confrontées à plusieurs contraintes d'ordre pédologique et/ou climatique. Parmi ces contraintes, la salinisation des sols est considérée comme l'un des facteurs abiotiques majeurs qui limitent la productivité végétale et le rendement agricole [1].

Le pistachier de l'Atlas dénommé aussi Bétoum est un arbre forestier qui appartient à la famille des anacardiées. C'est un arbre bien adaptée à l'aridité et à la salinité est considéré parmi les espèces végétales les plus adaptées aux conditions pédo-climatiques les plus dures du sud Algérien. Il se trouve à l'état spontanée dans le sud algérien notamment dans les régions semi-arides à désertiques où il joue un rôle

considérable dans l'équilibre écologique. Le pistachier de l'Atlas présente une plasticité écologique très large allant des régions sub-humides jusqu'au Sahara Central Algérien [2]. Le pistachier de l'Atlas a fait objet d'étude par plusieurs auteurs. Une étude adaptative de l'espèce vis-à-vis des conditions de l'aridité croissante de l'Algérie par approche stomatique a été menée [3]. Selon les mêmes auteurs, l'adaptation de *Pistacia atlantica* Desf. ssp. *atlantica* aux milieux arides se traduit par une forte densité stomatique avec des stomates qui empruntent la deuxième voie d'évolution stomatique. Une approche morphologique a été évoquée chez certaines populations algériennes du pistachier de l'Atlas en relation avec les conditions du milieu [4].

Cette étude a montré que cette espèce possède une grande variabilité phénotypique lui permettant de résister à différentes conditions climatiques. Le comportement du pistachier de l'Atlas vis-à-vis de la salinité a été abordé, les résultats ont montré que *Pistacia atlantica* Desf. ssp. *Atlantica* tolère le stress salin (NaCl+CaCl₂) par la mise en place des mécanismes d'adaptation physiologiques et biochimiques [5]. L'objectif de ce travail est d'évaluer d'autres paramètres morpho-physiologiques et biochimiques pour l'adaptation de cette espèce vis-à-vis d'un stress salin induit par différentes concentrations en NaCl.

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1. Site expérimental

Nous avons réalisé notre travail au sein du laboratoire d'amélioration végétale du département des biotechnologies de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'université de Blida 1.

2.2. Matériel végétal

Le matériel végétal ayant fait l'objet de la présente étude concerne des graines du pistachier de l'Atlas *Pistacia atlantica* Desf., provenant de la Wilaya de Djelfa.

2.3. Conduite de l'essai

Avant le semis, les graines sont stratifiées à 4°C pendant 30 jours. Elles ont ensuite subi une scarification mécanique, une désinfection à l'hypochlorite de sodium (NaClO) à 8% pendant 5 minutes et rincées à l'eau distillée. Les graines au nombre de 25 sont mises à germer dans des boîtes de Pétri de 9 cm de diamètre contenant du coton hydrophile tapissé de papier filtre. Après germination les plantules sont repiquées individuellement dans des gobelets

en plastique, remplis d'un mélange du sol et de tourbe (2:1). Un arrosage tous les deux jours est opéré jusqu'à l'application du stress. Après un mois de repiquage, le stress salin est appliqué aux plantules par l'utilisation des concentrations suivantes:

T₀: Traitement témoin, **T₁**: 5 g/l de NaCl, **T₂**: 10g/l de NaCl, **T₃**: 15g/l de NaCl, **T₄**: 20g/l de NaCl, **T₅**: 25g/l de NaCl et **T₆**: 30g/l de NaCl.

Les plantules sont arrosées un jour sur deux à raison de 100 ml/pot, avec les solutions salines déjà préparées. Après 25 jours, les plantules sont prélevées pour effectuer les mesures et les analyses nécessaires.

2.4. Dispositif expérimental

Le dispositif expérimental adopté au cours de notre expérimentation est un bloc aléatoire complet sans contrôle d'hétérogénéité à randomisation totale. Sept traitements ont été testés (T₀, T₁, T₂, T₃, T₄, T₅, T₆). Chaque traitement a été réalisé avec trois répétitions. Les données relatives à chaque essai ont fait l'objet d'une analyse de variance à un facteur de classification à l'aide d'un logiciel SYSTAT 7.

2.5. Mesures morphologiques

2.5.1. Croissance en longueur

La croissance en longueur de la partie aérienne et racinaire est évaluée après avoir récolté les plantules. Nous avons alors séparé la partie aérienne de la partie souterraine, les racines sont lavées soigneusement avant de les sécher rapidement avec du papier filtre. La longueur de la tige et de la racine principale est mesurée à l'aide d'une règle graduée en millimètres (mm).

2.5.2. Surface foliaire

La méthode de PAUL *et al.* (1979) consiste à reproduire la surface

foliaire sur papier, ainsi la surface de la feuille qui est estimée à partir du poids de la feuille en papier par rapport au poids de 3cm² du même papier [6].

2.6. Quantification de la teneur relative en eau

La teneur relative en eau (TRE) ou relative water content (RWC) est une méthode qui exprime la quantité d'eau présente en pourcentage de la quantité mesurée à saturation. Cette méthode permet une évaluation physiologique de l'état hydrique du végétal. La teneur relative en eau (RWC) a été mesurée sur une feuille bien développée selon la méthode de BARRS et WEATHERLEY [7]. Le limbe foliaire excisé est ensuite placé dans un tube à essai contenant de l'eau distillée et placé à l'obscurité à 2°C pendant 24 heures. La pesée de la feuille après la réhydratation donne un poids de réhydratation (Pr). Le poids sec (Ps) est déterminé après passage des échantillons dans l'étuve à 80°C pendant 48 heures. La RWC est calculée à partir de l'équation suivante :

$$RWC (\%) = \frac{(Pf - Ps) / (Pr - Ps)}{100} \times 100$$

Avec :

Pf = poids frais,

Pr = poids à saturation,

Ps = poids sec

2.7. Quantification de la teneur en proline

Le principe de cette méthode est la quantification de la réaction proline ninhydrine par mesure en spectrophotomètre, la proline se couple avec la ninhydrine en formant un complexe coloré, l'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de proline dans l'échantillon [8].

La technique consiste à prendre 100 mg de matière végétale sur le tiers médian de l'avant dernière feuille. Nous ajoutons 2 ml de méthanol à 40 %. Le mélange est chauffé au bain- Marie à 85°C pendant 60 mn. Après refroidissement, 1 ml d'extrait et prélevé est additionné à un mélange d'acide acétique et de ninhydrine (1:25) et d'eau distillée, d'acide acétique et d'acide ortho-phosphorique (120:300:80). Le mélange est porté à ébullition pendant 30 minutes où la solution

vire vers le rouge. On ajoute 5 ml de toluène à la solution que l'on place dans le vortex pour agitation. Deux phases se séparent, on laisse refroidir et après avoir déshydraté la phase supérieure par l'ajout de 5 mg de sulfate de sodium (Na₂SO₄ anhydre), la densité optique (DO) est mesurée à 528 nm en utilisant le spectrophotomètre. La détermination de la teneur en proline est réalisée selon la formule :

$$\text{Proline } (\mu\text{g} / \text{g MF}) = \text{DO}_{528} \times 0,62$$

3. RÉSULTATS

3.1. Effet du NaCl sur les paramètres morphologiques

Après 25 jours d'exposition des plantules au stress, les plantules traitées par 30g/l. (T₇) ont subi un dessèchement des feuilles. Celles traitées à 25g/l. (T₆) ont manifesté l'apparition des tâches nécrosées sur les feuilles (Fig.1). A ce moment nous avons décidé d'arrêter l'expérimentation et procéder aux différentes mesures et analyses.

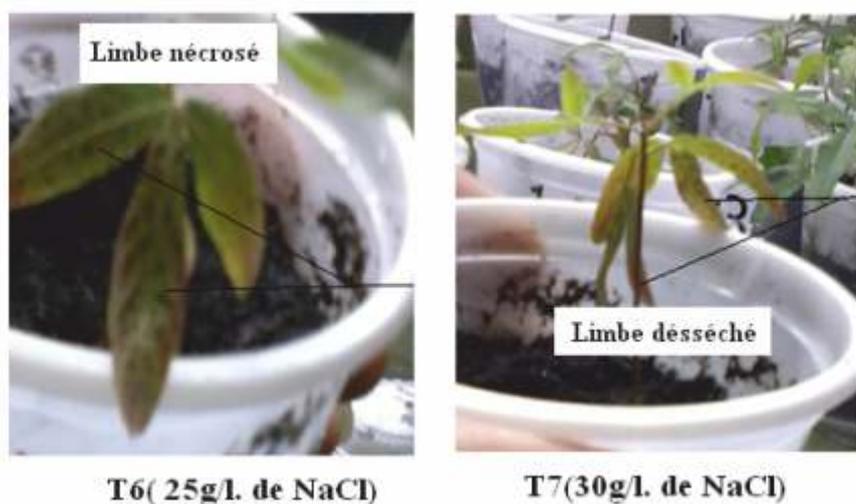


Figure 1 : Dessèchement des plantules de *Pistacia atlantica* après 25 jours de stress

3.1.1. Longueur de la tige

Les résultats obtenus montrent que

les différentes concentrations de NaCl testées ont un effet sur la

croissance en longueur des tiges chez le *Pistacia atlantica* (Fig.2).

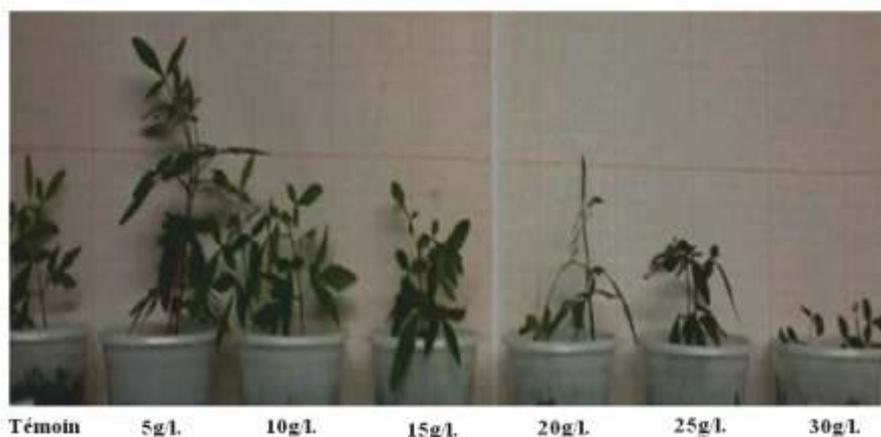


Figure 2 : Comparaison des plantules de pistachier d'Atlas en fonction des traitements.

Ces résultats sont confirmés par l'analyse de la variance à un seul critère de classification qui montre

une différence très hautement significative entre les moyennes de la longueur des tiges pour les

différents traitements : ($p < 0,000$).

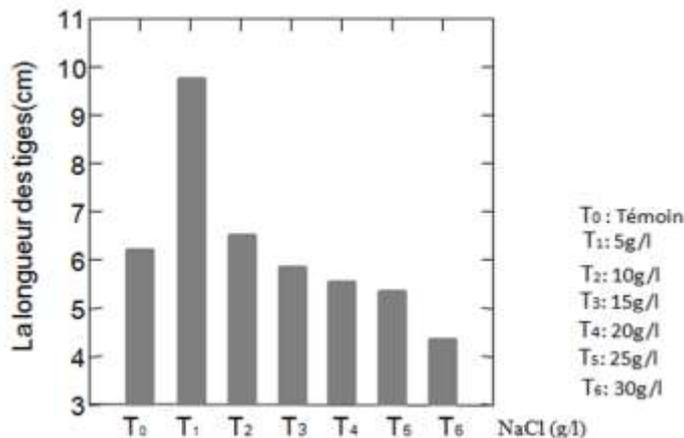


Figure 3: Longueur de la tige en fonction des traitements

Une dose de 5g/l de NaCl a induit un effet positif, en accélérant significativement la croissance des plantules. Les concentrations supérieures à 5 g/l ralentissent ce phénomène. Ces réductions se sont révélées proportionnelles aux doses de NaCl utilisées. La dose de 30g/l a provoqué une croissance en

longueur deux fois inférieure à celle enregistrée chez les plantules témoins (Fig. 3).

3.1.2. Longueur de la racine

Les résultats obtenus montrent que le stress salin induit par les différents traitements de NaCl influe aussi bien sur la croissance en

longueur que la partie souterraine (Fig.4). L'analyse de la variance à un critère de classification confirme ces résultats. Une différence significative entre les moyennes de la longueur des racines est enregistrée chez le *Pistacia atlantica* ($p \leq 0,055$).



Figure 4: Comparaison des plantules du *Pistacia atlantica* soumises au stress salin.

L'allongement le plus important de la racine est enregistré au niveau de traitement à 5g/l (T1) avec 20 cm de longueur (Fig.5). Au delà de ce

traitement nous observons une diminution progressive de la longueur de la racine des plantules stressées mais qui reste toujours

plus élevée par rapport à la longueur de la racine des plantes témoins.

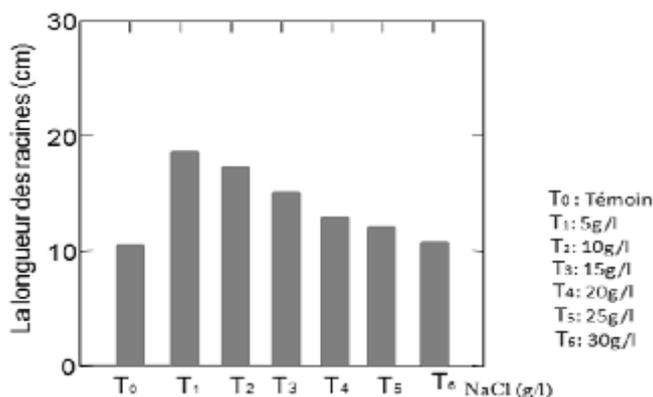


Figure 5: Longueur de la racine (cm) en fonction des traitements de NaCl

1.1.1. Variation de la surface foliaire

La figure (6) montre que chez les plantules de *Pistacia atlantica*

Desf., plus la contrainte saline devient sévère, plus la surface foliaire diminue. Par ailleurs, la valeur maximale est observée chez

les plantules arrosées avec une concentration de 5g/l de NaCl où nous notons une surface foliaire de 3,96 cm².

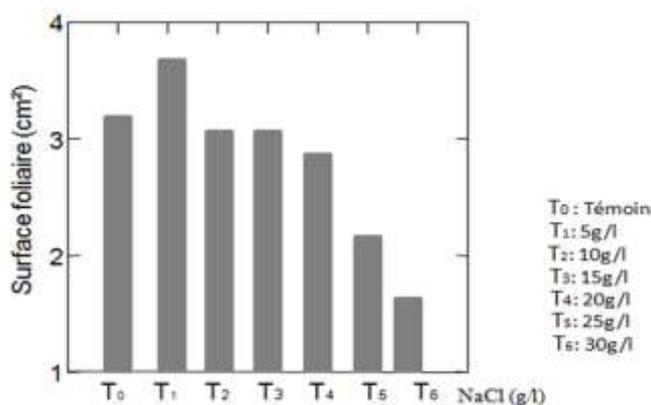


Figure 6 : Surface foliaire des plantules de *Pistacia atlantica*.

Chez les plantules traitées à 10g/l la valeur de la surface foliaire diminue progressivement pour atteindre 3,25cm². Ces valeurs continuent à chuter où nous enregistrons 3,12 et 2,78cm² pour les traitements 15 et 20g/l respectivement. Ces résultats sont confirmés par l'analyse de la variance au seuil de 5%, qui montre qu'il y'a une différence très

hautement significative entre les moyennes de la surface foliaire ($p=0,000<0.001$).

3.2. Effet du NaCl sur la teneur relative en eau (TRE)

La figure (7) montre que la teneur relative en eau (TRE) augmente par rapport au témoin. Les plantules traitées à 5g/l et 10g/l. de NaCl

enregistrent des teneurs en eau dans leurs feuilles de l'ordre de 79,89% et 68% respectivement. Au-delà, de cette concentration ce paramètre subit une baisse pour passer de 63,39% chez les plantules traitées par 15g/l à 52,4% chez les plantules traitées par 30g/l.

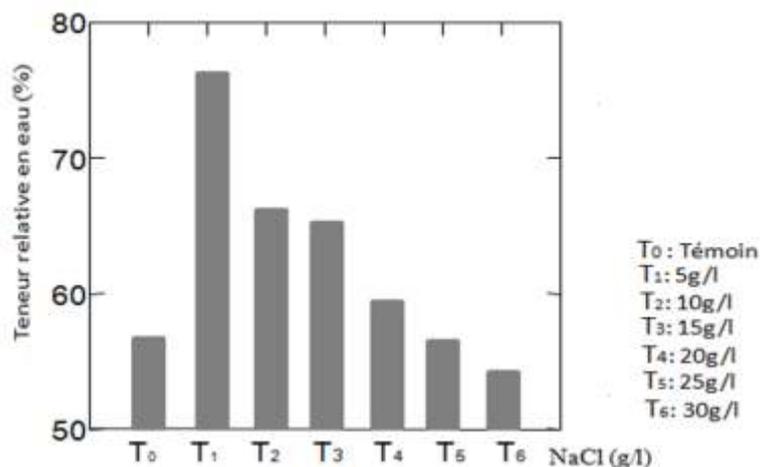


Figure 7: Teneur Relative en Eau des feuilles des plantules

L'analyse de la variance à un seul critère de classification montre une différence très hautement significative entre les moyennes de la teneur relative en eau des feuilles pour les différents traitements : ($p=0,000<0,001$).

3.3. Effet du NaCl sur la teneur en proline

Chez le *Pistacia atlantica*, La teneur en proline croit significativement avec l'augmentation de la concentration en sel avec des valeurs allant de 0,114 $\mu\text{g/g}$ MF chez les plantules témoins à 0,451

$\mu\text{g/g}$ MF chez les plantules stressées par 30g/l (Fig. 8). L'analyse de la variance montre une différence hautement significative des différentes concentrations en NaCl sur la teneur en proline ($p=0,001$).

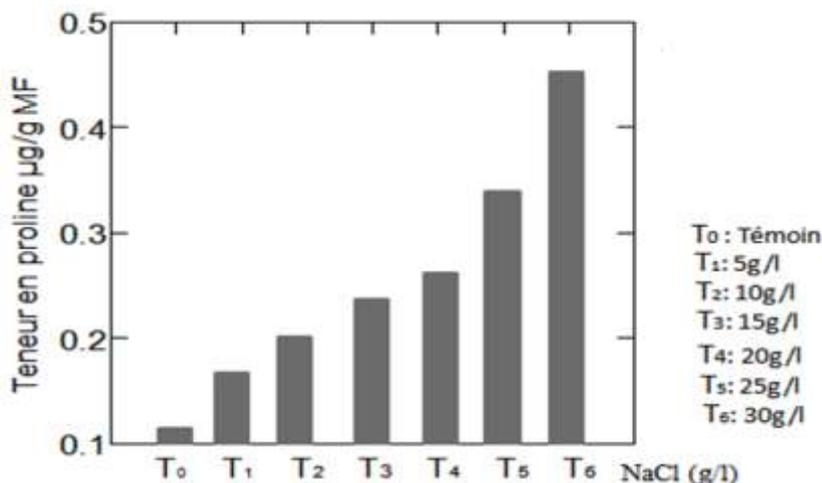


Figure 8: Teneur en proline

4-DISCUSSION

La tolérance à la salinité du pistachier de l'Atlas a été étudiée à travers leur capacité de développement en présence de NaCl. En effet, la hauteur moyenne des tiges, la longueur racinaire et la surface foliaire varient en fonction du niveau de stress salin. Les faibles concentrations de NaCl (5 et 10 g/l) induisent une augmentation significative des paramètres étudiés. L'augmentation des concentrations, en revanche, provoque des effets inverses. L'étude de la relation entre le taux de salinité et les paramètres morphologiques révèle que la partie racinaire est beaucoup plus stimulée par rapport à la partie aérienne en présence du sel.

Le développement de la partie racinaire permettrait l'extraction de l'eau des milieux salés et à la conserver, ce qui permet le maintien d'une teneur relative en eau plus élevée [9]. En revanche, des études antérieures ont montré que le stress salin induit un retard de la croissance de la tige et de la racine chez le pistachier de l'Atlas [5]. Les concentrations élevées de NaCl (supérieures à 5g/l) ont provoqué une réduction de la surface foliaire chez les plantules du pistachier de l'Atlas. Plusieurs auteurs avaient montré que les plantes soumises aux stress abiotiques (salin et hydrique) ont tendance à réduire la surface d'évaporation par la diminution de la surface foliaire. Cette diminution est une des réponses des végétaux à la déshydratation, elle contribue à la conservation des ressources en eau, ce qui permet la survie de la plante en limitant l'évaporation [10].

La réponse morphologique des plantules du pistachier de l'Atlas confirme les résultats de OUKARA et al.[11], qui ont montré qu'une

concentration de 5g/l de sel provoque une stimulation de la germination des graines chez le pistachier de l'Atlas avec des valeurs supérieures au témoin, ce qui reflète la caractéristique halophyte de l'espèce. Les plantules soumises au stress montrent une capacité de rétention d'eau très appréciable. La valeur de la teneur relative en eau augmente chez les plantules stressées par 5g/l de NaCl puis elle diminue progressivement avec l'augmentation de l'intensité de stress. Les plantules stressées par les doses inférieures à 20 g/l, maintiennent une teneur relative en eau supérieure par rapport aux plantules témoins, ce qui semble être un comportement de résistance à la salinité.

Le maintien d'une capacité de rétention d'eau élevée chez les plantules de pistachier de l'Atlas stressées est lié à un développement de la partie racinaire des plantules et une réduction de la surface d'évaporation. Ces résultats confirment ceux obtenus par KADDOUR [12] lors de l'application de stress salin chez les plantules du pistachier de l'Atlas. Il note que les concentrations croissantes de NaCl influent d'une manière positive sur l'augmentation de la teneur relative en eau (TRE) après un stress de 3 jours. Lors d'application d'un stress d'une semaine, le même auteur confirme que les différentes concentrations en sel ont provoqué une diminution de la teneur relative en eau.

La réponse biochimique analysée à travers l'accumulation de la proline montre que les plantules accumulent ce composé dans les feuilles selon l'intensité du stress. A la lumière de ces résultats, des études antérieures avaient montré que les plantules du pistachier de

l'Atlas affectées par la salinité ont tendance à accumuler la proline dans les feuilles [5]. De nombreux travaux rapportent que la proline s'accumule dans la plante lorsqu'elle se trouve en conditions défavorables [13]. La teneur en proline est considérée comme une analyse rapide et efficace pour détecter la tolérance des plantes à la salinité [14].

5-CONCLUSION

L'effet de la salinité chez *Pistacia atlantica* Desf peut se traduire par des modifications morphologiques, biochimiques et physiologiques pour augmenter l'absorption d'eau et/ou pour diminuer la transpiration et la compétition entre les organes. La concentration de 5g/l de sel provoque une stimulation de la croissance chez les plantules du pistachier de l'Atlas avec des valeurs similaires aux témoins et parfois supérieures, ce qui reflète la caractéristique halophyte de l'espèce. Une baisse de la croissance est observée dès que la concentration en sel dépasse 15 g/l, ceci nous permet de constater que l'espèce résiste jusqu'à la concentration de 15g/l. Au-delà de celle-ci le sel devient de plus en plus nocif jusqu'à atteindre la toxicité chez les plantules traitées avec 25 et 30 g/l de NaCl où des nécroses et des dessèchements sont constatés au niveau des feuilles. La réponse biochimique, évaluée à travers l'accumulation de la proline a confirmé les résultats concernant la réponse morphologique de cette espèce vis-à-vis de la salinité et a mis en évidence le caractère halophyte de l'espèce qui exprime sa capacité de synthétiser et accumuler la proline

Ces résultats ne sont pas définitifs, des travaux devraient être poursuivis ultérieurement pour les confirmer et pour approfondir la compréhension des mécanismes mis en place par l'espèce vis-à-vis de la salinité.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1- ZIDE et 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- QUEZEL .P et MEDIAL. F, 2003 : Ecologie et biogéographie des forêts du bassin méditerranéen. Elsevier, Paris. 571.
- 3- KADI-BENNANE S., AIT-SAID S. et SMAÏL-SAADOUN N., (2005): Etude adaptative de trois populations de *Pistacia atlantica* Desf. ssp. *atlantica* (Ain Oussera - Messaad - Taïssa) par le biais du complexe stomatique. Options Mediterranean's, Série A, Numéro 63. PP. 365-368.
- 4- BELHADJ S., DERRIDJ A., AUDA Y., CHARLES GERS C., et GAUQUELIN T. (2008): Analyse de la variabilité morphologique chez huit populations spontanées de *Pistacia atlantica* en Algérie. *Botany* 86. PP.520–532.
- 5- BENHASSAINI H., FETATIA., AMAR KADDOUR H. et BELKHODJAM., (2012): Effect of salt stress on growth and accumulation of proline and soluble sugars on plantlets of *Pistacia atlantica* Desf. subsp. *atlantica* used as rootstocks. *Rev. Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 16(2), pp159-165.
- 6- PAUL MH., PLANCHTON C. et ECOCHARD R. 1979. Etude des relations entre le développement foliaire, le cycle de développement et la productivité chez le soja. *Ann. amélio. Plants*, 29 : 479-492.
- 7- BARRE .et WATHERLY. ,1962- Etude particulier des facteurs hydriques basés sur l'établissement de courbe d'absorption de l'eau de disque de limbe mise en flottation. Centre d'Ecologie Fonctionnelle et évolutif (CNRS - UTR9056). PP.235-368.
- 8- TROLL, W. et LINDSLEY, J., (1955): A photometric method for the determination of proline. *J. Biol. Chem.*, 215: 655-660.
- 9- SOUALEM S., (2005): Contribution à l'étude des comportements, morphologiques, anatomiques et biochimiques d'une halophyte, *Atriplex halimus* L., stressée à la salinité. Thèse de Magister. Univ. Es-Senia. Oran, Algérie, 22-75p.
- 10- LEBONE., PELLEGRINO A., TARDIEU F. et LECOEUR J., (2004): Shoot development in grapevine is affected by the modular branching pattern of the stem and intra and inter-shoot trophic competition. *Annals of Botany*. 93: 263 -274.
- 11- OUKARAF.Z., CHAOUIA C. et ASSEL A., (2014): Effet du stress salin sur la germination des graines du pistachier de l'Atlas *Pistacia atlantica* Desf. *Agrobiologia* 5 :53-56.
- 12- KADDOUR A., (2008): Contribution à l'étude du comportement morpho physiologique et biochimique de *Pistacia atlantica* Desf. sp. *atlantica*, stressée à la salinité. Thèse. Mag. Université d'Oran. P.59.
- 13- 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.
- 14- DENDEN M., BETTAIEB T., SALHI A. et 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.