

## RÉPONSES MORPHO-PHYSIOLOGIQUES DES PLANTULES DE *RETAMA RAETAM* À DES NIVEAUX DE SALINITÉ EXTRÊMES

MALLEM Hamida<sup>1\*</sup>, HOUYOU Zohra<sup>1</sup> et BENRIMA Atika<sup>2</sup>

1. Université Amar Telidji, Laghouat-département d'Agronomie –laboratoire de mécanique –équipe désertification et climat-Algérie
2. Université de Blida –Département de Biotechnologies – laboratoire de recherche en Biotechnologie des productions végétales

Reçu le 13/09/2019, Révisé le 19/12/2019, Accepté le 24/12/2019

### Résumé

**Description du sujet :** L'utilisation des plantes halophytes dans la restauration des sols salins dégradés et transférer leurs gènes vers des plantes sensibles, sont des solutions efficaces face à la salinité.

**Objectifs :** Nous avons visé par cette étude à rechercher le comportement halotolérant des plantules de *Retama raetam* dans un sol sableux.

**Méthodes :** L'expérience a été conduite sous serre, 120 graines de *Retama raetam* ont été semées dans des pots (11) remplis de sable. L'irrigation a été faite avec 6 niveaux de solutions de NaCl, à savoir : 1,4 g/l, 2 g/l, 4 g/l, 6 g/l, 8 g/l et 10 g/l. Après 90 jours de culture, nous avons mesuré des paramètres morphologiques et physiologiques.

**Résultats :** Les résultats ont démontré que les milieux de 8g/l et de 10 g/l de NaCl, n'ont pas été favorables pour la plante, ils ont été létaux. La teneur en proline la plus élevée a été constatée chez le milieu 6g/l. La teneur en proline et les sucres solubles ont été positivement corrélés avec la teneur en Na<sup>+</sup>. Les deux milieux 2g/l et 4 g/l ont présenté des rapports K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> plus élevés que le reste des milieux ainsi que la hauteur des plants, le nombre des feuilles, le K<sup>+</sup>, la chlorophylle totale et la teneur en matière sèche. Par ailleurs, le milieu à 1,4g/l n'a pas été adéquat pour les plants de *Retama raetam* malgré sa faible salinité.

**Conclusions :** *Retama raetam* n'est pas une vraie halophyte, elle pourrait être une halophyte facultative ou halophyte marginale à 6 g/l.

**Mots-clés :** *Retama raetam*, salinité, halophyte, NaCl, proline, sucres solubles

## MORPHOLOGICAL AND PHYSIOLOGICAL RESPONSES OF *Retama raetam* YOUNG PLANTS AT EXTREME SALINITY LEVELS

### Abstract

**Description of the subject:** Using halophyte plants in the restoration of degraded saline soils and transfer of their genes to sensitive plants are effective solutions in front of salinity.

**Objectives:** This study aimed to investigate the halotolerant performance of *Retama raetam* plants in sandy soil.

**Methods:** The experiment was conducted under glass, 120 *Retama raetam* seeds were sown in pots (11), filled with sand. Irrigation was carried out with 6 levels of NaCl solutions, namely: 1.4 g/l, 2 g/l, 4g/l, 6 g/l, 8 g/l and 10g/l. After 90 days of growing, we have measured morphological and physiological parameters.

**Results:** The results have shown that the 8 g/l and 10 g/l NaCl mediums have been unsuitable for this plant, they have also been lethal. The highest proline content was observed in the 6g/l medium. Proline content and soluble sugars have been positively correlated with Na<sup>+</sup> content. Both 2g/l and 4 g/l mediums have shown higher K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> ratios than the other mediums and also plant height, leaf-number, K<sup>+</sup>, total chlorophyll, and dry matter content. However, the medium at 1.4g/l has not been adequate for *Retama raetam* plants despite its low salinity.

**Conclusions:** *Retama raetam* is not a true halophyte, it may be an facultative halophyte or marginal halophyte at 6 g/l.

**Keywords:** *Retama raetam*, salinity, halophyte, NaCl, proline, soluble sugars

\* Auteur correspondant: MALLEM Hamida, Email :h.mallem@lagh-univ.dz

## INTRODUCTION

Dans le monde presque 800 millions d'hectares de terres sont affectés par le sel. La salinité s'étend sur plus de 6 % de la superficie totale de la planète [1], dont 3.8 % sont situés en Afrique [2 ; 1]. En Afrique, la salinisation touche 40 millions d'hectares de terres dont 15 millions sont directement liés aux facteurs anthropiques [3]. Afin de lutter contre les effets néfastes des sels sur les plantes, une approche dite biologique est adoptée, elle consiste à sélectionner des plantes et/ou les modifier génétiquement afin qu'elles puissent s'adapter aux conditions de ces zones [4].

Les halophytes sont définis comme des plantes capables d'accomplir leur cycle biologique en présence de 200 mM de NaCl [5 ; 6]. Leur capacité antioxydante supérieure à celle des glycophytes a été suggérée pour leur conférer une plus grande capacité à tolérer des conditions environnementales extrêmes dans les écosystèmes naturels [6]. En outre, il a été également démontré que la salinité peut accroître la tolérance à la sécheresse [7] et aux métaux lourds [8].

La compréhension plus approfondie et la reproduction des bases physiologiques et biochimiques de la résistance à la sécheresse et à la salinité peuvent servir de base pour la culture des plantes appropriées dans des régions menacées par la désertification et la rareté de l'eau, par le transfert des gènes des plantes halophytes-xérophytes au lieu de ceux des glycophytes vers des plantes cultivées afin d'améliorer leur résistance au sel. Les zones arides pourraient offrir dans ce cas des opportunités économiques et écologiques concrètes [9].

Le genre *Retama* appartient à la famille des Fabaceae. Il comprend trois espèces (*Retama monosperma*, *Retama raetam* et *Retama sphaerocarpa*) avec une large répartition dans la région de la Méditerranée orientale, en Afrique du Nord et aux îles de Canaries. *Retama raetam* (Forssk.)Webb & Berthel, localement appelé "Retem", est un arbuste désertique originaire de plusieurs pays d'Afrique du Nord (Algérie, Egypte, Libye, Maroc, Tunisie), d'Asie tempérée (Israël, Jordanie, Liban, Palestine et Syrie) et d'Europe du Sud-Est (Sicile en Italie) [10]. Se sont des arbustes de 3 à 4 m de haut, qui ont un rôle écologique important dans la formation d'îles de fertilité", où la croissance de nombreuses espèces annuelles et ligneuses est favorisée [11].

Grâce à leur capacité à fixer N<sub>2</sub> en association symbiotique avec les bactéries nodulatrices des légumineuses (LNB) [12] et à son système racinaire profond, fonctionnel à plus de 20 m de profondeur permettant l'accès aux nutriments profonds et aux ressources en eau [13], le genre *Retama* pourrait être utile comme outil de restauration, fournissant des plantations à long terme sans aide artificielle et permettant la succession primaire [14]. *Retama raetam* joue un rôle important dans la protection et la stabilisation des sols contre l'érosion éolienne ou hydrique et constitue une source alimentaire importante pour des espèces animales telles que les chameaux, les chèvres et les moutons [15]. De plus, cette espèce représente une source de combustible viable pour les humains [16], elle a aussi des vertus médicinales et industrielles potentielles puisque ses racines sont utilisées pour traiter la diarrhée, ses feuilles sont utilisées pour soulager les douleurs articulaires, le mal de dos et les troubles oculaires [17]. *Retama raetam* est une légumineuse du désert, à C<sub>3</sub>, toujours verte, commune aux écosystèmes arides du bassin méditerranéen. Elle utilise un certain nombre d'adaptations anatomiques et physiologiques qui lui permettent de s'acclimater et de grandir dans divers milieux arides [18]. *R. raetam* peut représenter un aliment de substitution au fourrage conventionnel et un fourrage de substitution prometteur dans l'écosystème méditerranéen [19].

Mechergui *et al.* [20], ont étudié le comportement des populations de *Retama raetam* sous stress hydrique et salin au stade de la germination, les résultats obtenus ont révélé que cette espèce peut résister à une salinité de 15 g/l de sel au stade germination. Par ailleurs il n'existe pas des études démontrant le seuil de tolérance de *R. raetam* à la salinité, ni au stade plantule, ni au stade adulte. L'objectif de notre étude est de contribuer à une meilleure connaissance du statut halotolérant des plants de *Retama raetam*, susceptibles d'être utilisés dans la valorisation des terres salées.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

### 1. Récolte et semis des graines

Des graines de *R. raetam* ont été collectées dans la ville de Laghouat en Algérie durant le mois de juin 2016, ces graines ont été prétraitées à l'acide sulfurique pendant 6 heures et ont été mis pour germer à 25°C [21].

120 graines pré germées ont été semées dans 60 pots (11) en raison de 2 graines par pot. Le substrat utilisé a été composé de sable provenant de la même zone géographique. Les pots ont été placés dans la serre de l'Université de Laghouat sous des températures minimales et maximales moyennes de 20-25°C, une humidité relative de 40-60% et une lumière naturelle du jour. Avant le début de l'expérience de salinité, les pots ont été arrosés quotidiennement avec de l'eau distillée jusqu'à l'apparition des feuilles cotylédonaire et ce durant 20 jours.

## 2. Dispositif expérimental

Les 60 pots ont été soumis à six traitements sous différentes concentrations de NaCl : 24, 35, 70, 103, 137, 172 mM. 10 pots ont été conçus pour chaque traitement de salinité. Nous avons ajouté du NaCl à l'eau distillée pour obtenir les six solutions citées ci-dessus à savoir : 1,4, 2, 4, 6, 8 et 10 g de NaCl par litre, respectivement. Les jeunes plantes ont été arrosées régulièrement avec une dose de 25 ml de chaque solution par pot, deux fois par semaine.

## 3. Paramètres mesurés

Le suivi de l'expérience a duré 60 jours, après cette période, soit 90 jours après le semis, nous avons mesuré la hauteur (cm) des plants à l'aide d'un décimètre, et nous avons calculé le nombre de feuilles par plant, après nous avons détaché les plants des pots et nous avons effectué les analyses citées ci après.

### 3.1. Teneur en eau et en matière sèche

A l'aide d'une balance (avec une précision de 0,01 g), nous avons mesuré le poids frais de chaque plant, la partie aérienne séparée de la partie racinaire, ces deux parties ont été placées dans une étuve à 70°C et pesé après 48 heures, nous avons déterminé leur poids sec. La teneur en eau des plants de *R. raetam* a été déterminée par la méthode décrite par [22]: Teneur relative en eau (%):  $TRE (\%) = [(Poids\ frais - Poids\ sec) / Poids\ frais] \times 100$ , notant que le Taux de matière sèche a été ainsi déduit par cette formule :  $MS (\%) = 100 - TRE (\%)$

### 3.2. Teneur en Sucres solubles

Selon la méthode de Dubois *et al.* [23], 5 ml d'éthanol (80%) ont été ajoutés à 100 mg de feuilles fraîches de chaque plant et placés dans un bain-marie pendant 30 minutes à 70°C. A 1 ml de cette solution, on ajoute 1 ml de phénol (5%) et 5 ml d'acide sulfurique (96%).

Des mesures d'absorbance ont été effectuées à 640 nm.

### 3.3. Teneur en chlorophylle totale

Cinquante mg prélevés sur les tiers médians des plus jeunes feuilles, sont broyés dans de l'acétone à 80%, selon la méthode de Arnon [24] puis mesurée par spectrophotométrie à 645 et 663 nm. La teneur totale en chlorophylle a été déterminée selon l'équation :  $Chlorophylle\ totale\ (mg/g\ MF) = 20,2 \times DO\ (645\ nm) + 8,02 \times DO\ (663\ nm) V / M$ , où V désigne le volume de l'extrait total en litres et M la masse de la matière fraîche broyée en grammes.

### 3.4. Dosage de la proline

La méthode appliquée est celle de Bates *et al.* [25], qui est basé sur la réaction d'oxydation proline-ninhydrine. Pour extraire le soluté, 100 mg de matière fraîche (MF) dans 2 ml de méthanol (40%) ont été chauffés à 85°C dans un bain-marie pendant 1 h. Après refroidissement à 1 ml d'extrait, nous avons ajouté 1 ml d'acide acétique, 25 mg de ninhydrine, 1 ml de mélange (120 ml de H<sub>2</sub>O, 300 ml d'acide acétique, 80 ml d'acide orthophosphorique), puis réchauffer 30 minutes à 100°C. Après refroidissement, 5 ml de toluène ont été ajoutés à la solution et agités, la phase supérieure a été récupérée et 5 mg de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> de sodium anhydre ont été ajoutés. La densité optique (OD) a été déterminée à l'aide d'un spectrophotomètre (DO 528 nm).

### 3.5. Teneur en Sodium et en Potassium

Pour la détermination de la concentration en Na + et K +, 0,5 g de feuilles séchées de chaque plante ont été broyées et incinérées à 550 °C pendant 8 heures, suivies d'une digestion acide. Les concentrations d'ions Na et de K+ en pourcent de matière sèche ont été déterminées par spectromètre à flamme. Les racines des plantes n'ont pas été utilisées dans cette expérience en raison de la faible quantité recueillie.

## 4. Analyse statistiques des données

Les données enregistrées ont été traitées avec le test ANOVA à un seul facteur étudié, au seuil de 5%, le test Tukey a été réalisé pour déterminer les groupements statistiques. Nous avons testé la normalité le test non paramétrique de Shapiro-Wilk. La recherche des corrélations entre les paramètres morphologiques et physiologiques a été réalisée avec le test de corrélation de Pearson. Le logiciel utilisé a été le XLSTAT (Premium 2016.02.28451).

## RÉSULTATS

### 1. Réponses morphologiques

Après 90 jours d'expérience, nous avons obtenu les résultats mentionnés dans le tableau 1, les valeurs de la hauteur des plants, le nombre des feuilles par plant et le taux de la matière sèche ont été les plus élevées au niveau des plants irrigués par les solutions de NaCl : 2 g/l, 4 g/l et 6g/l avec des moyennes supérieures à (19.36 cm de hauteur, 13 feuilles par plant et 13.8 % de matière sèche). Les plus faibles moyennes ont été enregistrées chez la

solution à basse salinité (1.4 g/l) et chez les solutions salines de 8 g/l et 10 g/l avec des valeurs inférieures à (18.54 cm de hauteur, 10.42 feuilles par plant, 8.48% de matière sèche). Les valeurs de la teneur en eau ont été les plus élevées chez les plants des solutions salines 8g/l et 10g/l avec des moyennes supérieures à 92.16% et 92.75% respectivement. Les teneurs en eau les plus basses ont été enregistrées au niveau du milieu salin 4g/l avec une moyenne de 82.79 %.

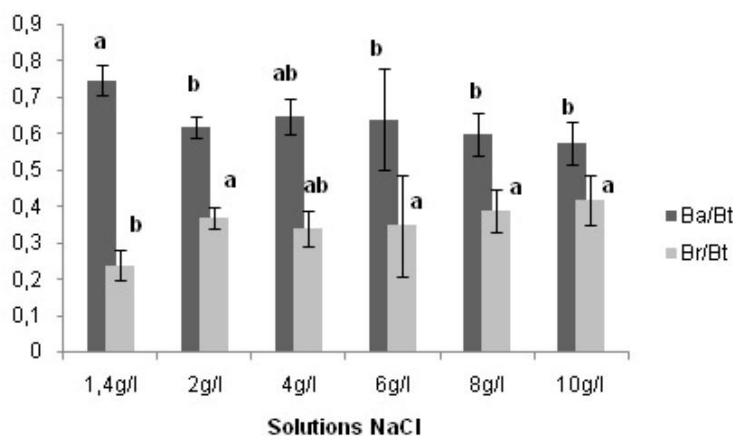
Tableau 1. Réponses morphologiques (Moyennes + déviations standards) des plants de *Retama raetam* aux différents niveaux de salinité

Solutions NaCl	N	hauteur (cm) ***	N. Feuilles **	MS% ***	TRE% ***
1,4 g/l	10	18,54 ±2,53 (cd)	12 ±1,58 (ab)	13,37 ±4,88 (b)	86,63±4,88 (b)
2 g/l	10	23,82 ±3,4 (a)	13 ±3,74 (a)	13,89 ±1,73 (b)	86,1±1,73 (b)
4 g/l	10	19,36±2,07 (bc)	11,6±0,54 (ab)	17,2 ±0,72 (a)	82,79±0,72 (c)
6 g/l	10	22,48 ±2,05 (ab)	13±2,55 (a)	13,8 ±1,11 (b)	86,19±1,11 (b)
8 g/l	10	15,3 ±1,48 (de)	9,8±1,64 (bc)	7,83 ±0,78 (c)	92,16±0,78 (a)
10 g/l	10	14,2±3,05 (e)	8±0,7 (c)	7,24 ±1,4 (c)	92,75±1,4 (a)

N: nombre d'échantillons ; MS : matière sèche; TRE: teneur relative en eau; \*\* :  $P \leq 0.01$ , \*\*\* :  $P \leq 0.001$ .

Le rapport de la biomasse aérienne sur la biomasse totale (Ba/ Bt) a été influencé par la concentration saline de 2 à 6 g/l (Fig. 1), le rapport le plus élevé a été enregistré par le milieu à faible salinité 1,4 g/l avec une valeur moyenne de 0.75, le test ANOVA a révélé une différence significative ( $P=0,03$ ). Par ailleurs

le rapport de la biomasse racinaire sur la Biomasse totale (Br /Bt) a été plus élevée chez les plants des milieux (2g/l, 4g/l, 6g/l, 8g/l, 10 g/l) et le plus bas rapport a été constaté chez le milieu 1,4 g/l avec une moyenne de 0.24, la différence a été significative ( $P=0,03$ ).



Ba :Biomasse aérienne, Bt : Biomasse totale, Br : biomasse racinaire

Figure1: Rapport de la biomasse aérienne (Ba) et la biomasse racinaire (Br) avec la biomasse totale (Bt) des plants de *Retama raetam* sous différents niveaux de salinité

**2. Réponses physiologiques**

Les plus grandes moyennes des sucres solubles et de la proline ont été observées chez les plants irrigués avec la solution NaCl de 6 g/l (Tableau 2), avec des valeurs de 0,23 mg/g MF et de 0,52 µg/g de matière fraîche (MF) respectivement, le reste des solutions de NaCl (1,4, 2, 4, 8 et 10 g/l) ont présenté des taux

variables en sucres solubles entre 0,09 et 0,14 mg/g MF, et des taux de proline variant de 0,09 à 0,19 (µg/g MF).

La chlorophylle totale a été la plus élevée chez les plants irrigués avec 4 g/l et 6 g/l avec des valeurs supérieures à 13,58 mg/g MF, la plus faible moyenne a été marquée chez le milieu à 10 g/l NaCl, avec une valeur de 8,85 mg/g MF.

Tableau 2 : Réponses physiologiques (Moyennes + déviations standards) des plants de *Retama raetam* aux différents niveaux de salinité

Solutions NaCl	N	Sucres Solubles * (mg/g MF)	Proline * (µg/g MF)	Chlorophylle totale (mg/g MF) **	Na+ (%) **	K (%) **
1,4 g/l	3	0,14±0,01 (b)	0,19±0,02 (b)	11,49±1,07(abc)	0,010 ± 0,002(b)	0,57±0,02 (d)
2 g/l	3	0,11±0,01 (b)	0,09±0,001 (b)	11,03±1,85 (bc)	0,005±0,0001(c)	0,55 ±0,01(d)
4 g/l	3	0,13±0,03 (b)	0,09±0,008 (b)	14,27±1,62 (a)	0,005 ±0,002(c)	0,71±0,02(a)
6 g/l	3	0,23±0,06 (a)	0,52±0,35 (a)	13,58±2,68 (ab)	0,026 ±0,003(a)	0,67±0,01(b)
8 g/l	3	0,09±0,05 (b)	0,17±0,1 (b)	12,52±1,04 (ab)	0,009 ±0,001(b)	0,62±0,001(c)
10 g/l	3	0,14±0,02 (b)	0,18±0,01(b)	8,85±1,07 (c)	0,009 ±0,001(b)	0,44 ±0,002(e)

N: nombre d'échantillons, MF: matière fraîche, \*  $P \leq 0.05$ , \*\* :  $P \leq 0.01$ , \*\*\* :  $P \leq 0.001$ .

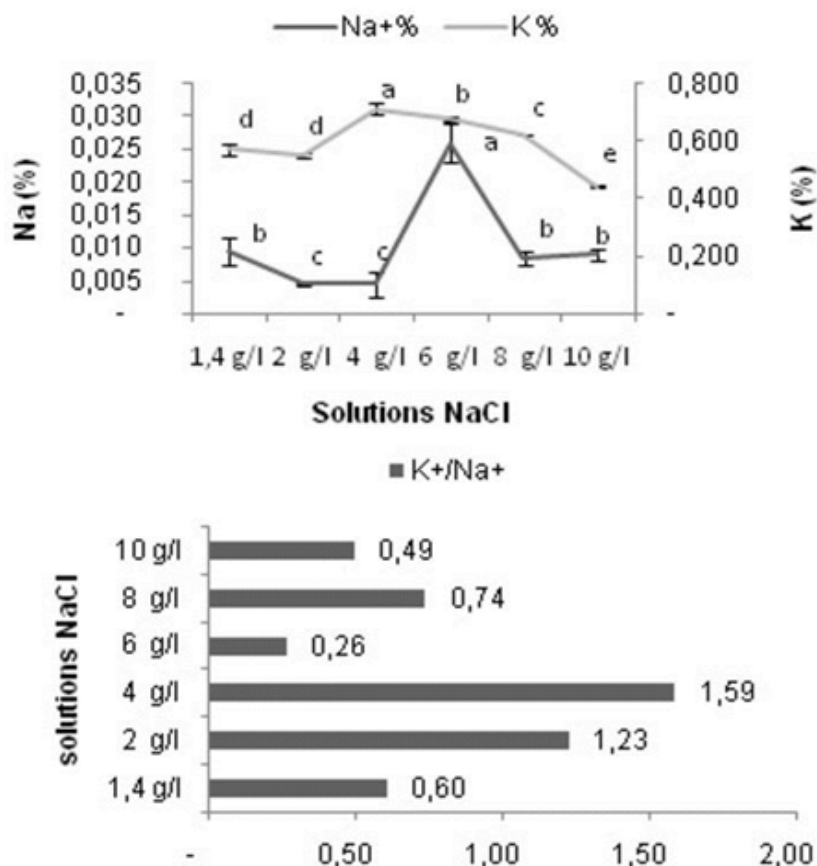


Figure 2 : Teneur en Na+ et en K+ et le rapport K+/Na+ chez les plants de *Retama raetam* traités par les solutions de NaCl

La teneur moyenne en sodium a été aussi influencée par la concentration saline de la solution NaCl, nous avons constaté que les plants irrigués avec le milieu 6 g/l ont accumulés plus de sodium que le reste des solutions avec une valeur supérieure à 0,02 % de matière sèche, les milieux de 2 g/l et 4 g/l de NaCl ont présenté les plus faibles valeurs (0,005%), par ailleurs les milieux à forte salinité 8 et 10 g/l ont présenté une moyenne de 0,009%. La teneur du potassium chez les plants de *Retama raetam* a été aussi influencée par la concentration saline, la plus faible valeur a été marquée chez les plants irrigués avec 10 g/l de NaCl avec une moyenne de 0,44%, la plus haute valeur a été marquée par le milieu à 4 g/l de NaCl avec une moyenne de 0,71% suivi du milieu à 6 g/l de NaCl (0,67%). En observant la figure 2, nous avons constaté qu'il ya eu un ajustement osmotique entre le Na<sup>+</sup> et le K<sup>+</sup> chez les plants irrigués avec 6 g/l, où le taux sodium a été le plus élevé. Les rapports K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> chez les plants des milieux (1,4 g/l, 6 g/l, 8 g/l, 10 g/l) ont été plus bas (valeurs inférieures et égales à 0,74) que ceux des milieux (2 g/l et 4 g/l) qui ont présenté des valeurs supérieures à 1,23 (Fig. 2), la plus basse valeur a été constatée chez les plants de 6 g/l avec un rapport de 0,26.

## DISCUSSION

A travers cette étude nous avons visé à étudier les réponses de l'espèce *Retama raetam* à la salinité au stade plantule, nos résultats ont pu démontrer que cette plante n'est pas une vraie halophyte, et n'est pas une glycophyte résistante, elle pourrait être une halophyte facultative.

Les résultats sur les réponses morphologiques ont démontré que les milieux de 8 g/l et de 10 g/l n'ont pas été favorables pour la croissance et le développement de cette plante, nous avons même assisté à des mortalités des plants à la fin de l'expérience. La hauteur des plants, le nombre des feuilles par plant et la biomasse sèche (MS%) ont été tous réduits. Plusieurs recherches ont montré que la croissance en hauteur [26], la production de biomasse des tiges et des racines [27] ont été négativement affectés par l'augmentation de la salinité. Chez les plantes sous stress salin, la synthèse protéique est inhibée, la décomposition des protéines est augmentée [28], l'accumulation de sel dans les tissus entraîne une réduction de la croissance [29], ce qui est conforme avec nos résultats.

De même nous avons trouvé qu'à partir de 2 g/l les valeurs de Ba/Bt ont diminué, alors que les valeurs de Br/Bt ont augmenté en comparant avec ceux du milieu 1,4 g/l. Certaines études décrites par Morais *et al.* [30] suggèrent que la salinité inhibe davantage la croissance aérienne que la croissance souterraine. Une concentration élevée de salinité inhibait la croissance des plantes, mais les parties aériennes étaient plus sensibles à l'inhibition que les parties souterraines, ce qui a entraîné une baisse de Ba/Bt chez les plantes traitées à une concentration élevée de salinité par rapport aux traitements à faible salinité. Zunzunegui *et al.* [31] ont conclu que l'expansion plus rapide du système racinaire du genre *Retama* par rapport à ses parties aériennes pourrait aider cette espèce à s'adapter à un habitat salin, il apparaît dans notre cas que *Retama raetam* s'adapte dans les milieux salin. Les teneurs élevées en eau (TRE%) chez les plants des milieux salin 8 g/l et 10 g/l est un mécanisme d'adaptation des plantes à la salinité, qui se justifie par la fermeture des stomates par la libération des osmorégulateurs tels que, la proline et les sucres solubles. La stratégie de fermeture des stomates pour éviter la perte d'eau par transpiration a pour conséquence de réduire les taux de photosynthèse [32]. Selon un autre point de vue, l'accumulation de proline n'est pas une réaction d'adaptation au stress, mais plutôt le signe d'une perturbation métabolique [33].

Le système d'osmorégulation est l'une des réponses défensives aux stress abiotiques, en particulier à la salinité et à la sécheresse [34]. Dans de nombreux cas, la proline libre s'accumule en réponse à ces conditions défavorables [28]. L'accumulation de solutés compatibles dans le cytoplasme est considérée comme un mécanisme de tolérance au sel [35], les plants stressés étaient capables de produire à la fois de la proline et de la glycine bêtaïne [34]. Dans notre étude la teneur en proline la plus élevée a été constatée dans le milieu 6 g/l ; significativement différente de tous les autres milieux ce qui indique que la plante a été soumise à des perturbations métaboliques. La teneur en proline et les sucres solubles ont été positivement et significativement corrélés avec la teneur des feuilles en Na<sup>+</sup> (Fig. 3). Cette corrélation a été expliquée par les déclarations de DeFreitas *et al.* [36] ont démontré que l'application de proline sur du sorgho traité par la salinité diminue les lésions membranaires et n'augmente pas la teneur relative en eau.

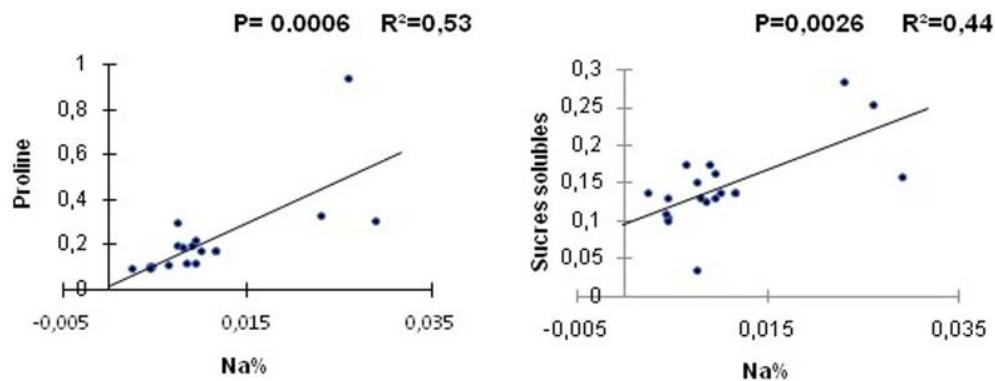


Figure 3. Régression linéaire montrant la corrélation positive du Na<sup>+</sup> avec la proline et les sucres solubles

Leurs résultats montrent clairement que le traitement à la proline entraîne des changements favorables, réduisant les dommages causés par le sel et améliorant l'acclimatation au sel.

La chlorophylle totale chez les plants de *Retama raetam* a été affectée par la salinité excessive de 10 g/l (172 mM) où elle a présenté le plus faible taux, des études similaires ont démontré la réduction de la photosynthèse sous une salinité excessive chez *Retama monosperma*, après 60 jours de stress sous 200 mM de NaCl [31]. A cet effet, Barhoumi *et al.* [37] ont décrit une désorganisation de l'ultrastructure chloroplastique d'*Aeluropus littoralis*, Qiu *et al.* [38] ont rapporté une réduction considérable du système des grana et stroma thylakoïdes et parfois même une déformation morphologique des chloroplastes dans le candélabre de *Kandelia* sous l'effet de sels, ce qui peut être liée au fait que le stress salin augmente l'accumulation de NaCl dans les chloroplastes des plantes supérieures, entraînant une augmentation du stroma causée par des dégâts aux membranes des chloroplastes. Le milieu 4g/l semble le plus favorable pour une bonne photosynthèse.

Par ailleurs, la présence de NaCl dans le milieu de culture limite l'alimentation de la plante en cations majeurs, tels que le potassium et le calcium [39]. En présence de stress salin, les plantes ont tendance à sélectionner certains ions, cette sélectivité est généralement liée aux mécanismes d'exclusion des ions Na<sup>+</sup>. Une forte sélectivité K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> a été démontrée au niveau du plasmalemme du cortex racinaire et dans le xylème des plantes les plus tolérantes

au NaCl [40]. Le maintien de ce rapport K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> élevé constitue un mécanisme aidant au bon déroulement des processus métaboliques sous stress salin [41], nos résultats ont démontré que les deux milieux 2 g/l et 4 g/L ont présenté des rapports K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> plus élevés que le reste des milieux, il apparaît donc que ces 2 milieux sont les plus favorables à la croissance et au développement des plants de *Retama raetam*, alors que le rapport le plus faible a été celui du milieu 6 g/l. La séquestration du sel dans les vacuoles cellulaires par le biais de transporteurs est un autre mécanisme clé utilisé par les halophytes pour maintenir un rapport K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> cytosolique élevé et ainsi contrôler les concentrations en sel dans le cytosol [42]. L'accumulation d'osmoprotecteurs tels que la proline, la glycine bêtaïne, les polyphénols, les sucres solubles et les ions inorganiques est un mécanisme conventionnel de défense des plantes couramment utilisé par les halophytes pour faire face au stress [43].

L'analyse en composante principale (Fig. 4) nous a donné une bonne visualisation de la relation entre les traitements salins et les variables étudiées, l'information donnée a été de 83,68%, le facteur F1 a été lié aux variables influençant les réponses morphologiques en particulier la photosynthèse (hauteur des plants, nombre des feuilles, % MS, chlorophylle, K<sup>+</sup>) et le facteur F2 a été lié aux variables expliquant des réponses physiologiques à l'effet de sel (Sucre solubles, proline, Na<sup>+</sup>). Dans cette figure il apparaît que la teneur relative faible en eau (TRE%) est la plus corrélée avec le taux élevée de NaCl chez les milieux 8 g/l et 10 g/l.

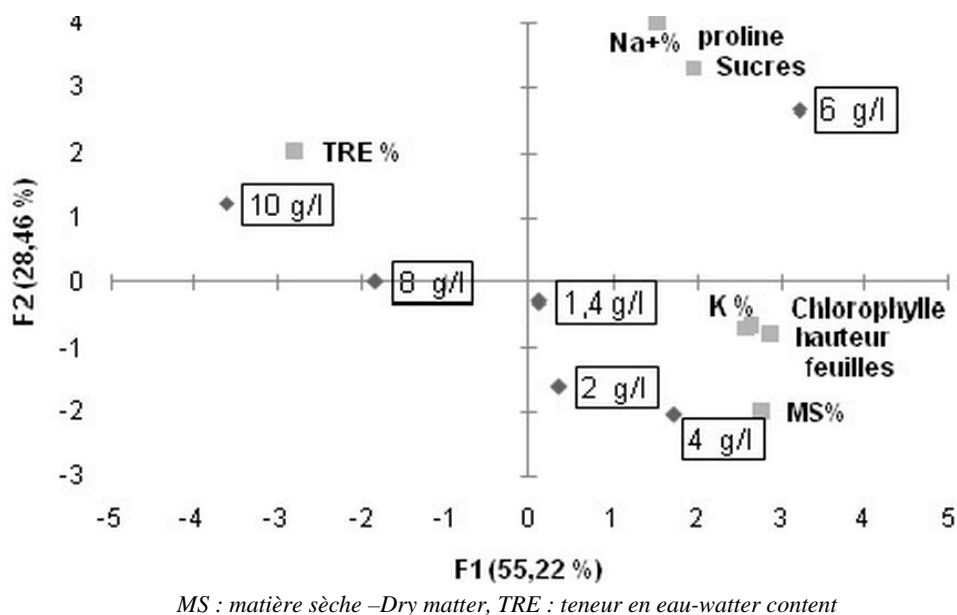


Figure 4. Deux principaux axes de l'Analyse en composante principale démontrant les réponses morpho physiologiques de *Retama raetam* aux niveaux de salinité NaCl

Les milieux les plus favorables à la croissance et au développement des plants de *Retama raetam* sont les milieux à 4g/ de NaCl suivi de celui de 2 g/l , corrélé positivement par des moyennes élevées de la hauteur des plants , le nombre des feuilles , le taux du potassium , la chlorophylle totale , et la teneur en matière sèche , tous ces résultats sont des indicateurs d'une bonne photosynthèse et une bonne activité métabolique.

Les mêmes résultats ont été trouvés dans une étude sur une espèce halophyte des forêts du Mangrove (*Bruguiera gymnorhiza*), indiquant que la surface foliaire, la masse foliaire par plante et la longévité relative des feuilles augmentent avec l'augmentation de la salinité [44]. Une autre étude a montré que le Cl<sup>-</sup> était nécessaire au bon fonctionnement du centre catalytique du PSII pour catalyser l'oxydation de l'eau en dioxygène [45], la teneur en Cl<sup>-</sup> s'est également révélée essentielle à l'activité optimale de l'oxygène au niveau de PSII [46]. Les thylakoïdes des feuilles d'*Avicennia marina* nécessitent des niveaux élevés de Cl<sup>-</sup> pour le transport photosynthétique des électrons autour de PSII [47] et sont beaucoup plus résistants au sel que les thylakoïdes des glycophytes [47 ; 48].

Il semble que le Cl<sup>-</sup> a joué aussi un rôle à expliquer la nécessité d'une salinité pour le bon fonctionnement métabolique de *Retama raetam*.

Par ailleurs, le milieu à 1,4 g/l n'a pas été adéquat pour la croissance et le développement des plants de *Retama*, malgré sa faible salinité. Notant que ce milieu n'a pas été létal pour les plants comme ceux des milieux 8 g/l et 10 g/l. Il apparaît donc que *Retama raetam* n'est pas une glycophyte ni sensible ni résistante à la salinité. Des résultats similaires ont été trouvés chez certains halophytes et ont justifié qu'une exposition prolongée à l'eau douce entraîne une taille de feuille plus petite, ce qui donne par la suite une surface photosynthétique active plus petite que celle observée pour les plantes poussant dans des environnements à salinité faible ou modérée [44].

L'adaptation des halophytes aux milieux salins peut prendre la forme d'une tolérance au sel ou d'une répulsion pour le sel. Les plantes qui évitent les effets d'une forte teneur en sel même si elles vivent dans un milieu salin peuvent être appelées halophytes facultatives plutôt que vrais halophytes, ou halophytes obligatoires. Des plantes comme l'orge (*Hordeum vulgare*) et le palmier dattier (*Phoenix dactylifera*) peuvent tolérer environ 5g/l et peuvent être considérées comme des halophytes marginales [49].



## CONCLUSION

Les plants de *Retama raetam* ont présenté un aspect Halotolérant à une dose de 6 g/l de NaCl, les doses supérieures à 8 g/l ont été létales. Le milieu non salin (1,4 g/l) a été non favorable pour la croissance et le développement des plants de retem, ces

derniers ont présenté leur optimum de croissance sous une dose de 4 g/l de NaCl. Nous avons pu conclure que *Retama raetam* n'est pas une vrais halophyte, Nous résultats ont permis de classer cette plante comme une halophyte facultative et marginale.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1]. **Manchanda G. & Garg N. (2008).** Salinity and its effects on the functional biology of legumes. *Acta Physiologiae Plantarum.* 30(5): 595-618.
- [2]. **Eynard A., Lal R. & Wiebe K. (2005).** Crop response in salt-affected soils. *Journal of Sustainable Agriculture.* 27 : 5–50.
- [3]. **CNCR (2011).** La salinisation au Sénégal: une menace pour la sécurité alimentaire. <http://www.cncr.org/spip.php?article 4031>
- [4]. **Faye E. (2003).** Réponses au stress salin de jeunes plants de *Atriplex lentiformis* S. Wats. Calif. biologiquement améliorés. DEA. UCAD. 30p
- [5]. **Jithesh MN., Prashanth SR., Sivaprakash KR. & Parida AK. (2006).** Antioxidative response mechanisms in halophytes: their role in stress defence. *Journal of Genetic.* 85: 237–254.
- [6]. **Flowers TJ. & Colmer TD. (2008).** Salinity Tolerance in Halophytes. *New Phytologist.* 179: 945-963
- [7]. **Slama I., Ghnaya T., Messedi D., Hessini K., Labidi N., Savoure A. & Abdelly C. (2007).** Effect of sodium chloride on the response of the halophyte species *Sesuvium portulacastrum* grown in mannitol-induced water stress. *J Plant Res.* 120: 291–299.
- [8]. **Zaier H., Ghnaya T., Lakhdar A., Baioui R., Ghabriche R., Mnasri M., Sghair S., Lutts S. & Abdelly C. (2010).** Comparative study of Pb phytoextraction potential in *Sesuvium portulacastrum* and *Brassica juncea*: tolerance and accumulation. *J Haz Mat.* 183 (1–3): 609–615.
- [9]. **Koyro HW., Geissler N. & Hussin S. (2009).** *Survival at extreme locations: life strategies of halophytes.* In *Salinity and Water Stress.* Springer. Dordrecht.p.167-177
- [10]. **GRIN databse (2019).** USDA. ARS. National Genetic Resources Program. Germplasm Resources Information Network-(GRIN). <http://www-ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html/taxon.pl?1440> ( 28/08/2019).
- [11]. **Pugnaire FI., Haase P., Puigdefábregas J., Cueto M., Clark SC. & Incoll LD. (1996).** Facilitation and succession under the canopy of a leguminous shrub. *Retama sphaerocarpa* in a semi-arid environment in south-east Spain. *Oikos.* 76 (3): 455-464.
- [12]. **Valladares F. , Villar-Salvador P., Domínguez S., Fernández-Pascual M., Peñuelas JL. & Pugnaire FI. (2002).** Enhancing the early performance of the leguminous shrub *Retama sphaerocarpa* (L.) Boiss.: fertilisation versus Rhizobium inoculation. *Plant and Soil.* 24 (2): 253-262.
- [13]. **Haase P., Pugnaire FI., Clark SC. & Incoll LD. (1996).** Spatial patterns in a two-tiered semi-arid shrubland in southeastern Spain. *Journal of Vegetation Science.* 7(4): 527-534.
- [14]. **Singh AN., Raghubansh AS., Singh JS. (2002).** Plantations as a tool for mine spoil restoration. *Current Science.* 82(12): 1436-1441.
- [15]. **Laudadio V., Tufarelli V., Dario M., Hammadi M., Seddik MM., Lacalandra GM. & Dario C. (2009).** Chemical and nutritional characteristics of halophytes plants used by camels in Southern Tunisia. *Tropical Animal Health and Production* 41: 209–215.
- [16]. **Cheriti A., Talhi MF., Belboukhari N., Taleb S. & Roussel C. (2009).** Removal of copper from aqueous solution by *Retama raetam* Forssk. growing in Algerian Sahara. *Desalination and Water Treatment.* 10 : 317–320.
- [17]. **Said O., Khalil K., Fulder S. & Azaizeh H. (2002).** Ethno-pharmacological survey of medicinal herbs in Israel. the Golan Heights and the West Bank region. *Journal of Ethnopharmacology* 83: 251–265.
- [18]. **Streb P., Tel-Or E. & Feierabend J. (1997).** Light stress effects and antioxidative protection in two desert plants. *Functional ecology.* 11(4): 416-424.
- [19]. **Barakat NA., Laudadio V., Cazzato E. & Tufarelli V. (2013).** Potential contribution of *Retama raetam* (Forssk.) Webb et Berthel as a forage shrub in Sinai. *Egypt. Arid Land Research and Management.* 27(3): 257-271.
- [20]. **Mechergui K., Mahmoudi H., Khouja ML. & Jaouadi W. (2017).** Factors influencing seed germination of the pastoral plant *Retama raetam* subsp. *bovei* (Fabaceae): interactive effects of fruit morphology, salinity, and osmotic stress. *BIOLOGIJA.* 63 (2): 134–151

- [21]. Bouredja N., Mehdadi Z., Bendimered FZ. & Chérifi K. (2011). Effets de quelques prétraitements physicochimiques sur la levée de l'inhibition tégumentaire des graines de *Retama monosperma* Boiss. et recherches des conditions thermiques optimales de germination. *Acta Botanica Gallica*. 158(4): 633-643.
- [22]. Garnier BY. & Laurent G. (1994). Leaf anatomy, specific mass and water content in congeneric annual and perennial grass species. *New Phytol.* 128: 725-736.
- [23]. Dubois M., Gilles KA., Hamilton JK., Rebers PA. & Smith F. (1956). Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. *Anal. Chem.* 28: 350-356.
- [24]. Arnon DI. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. polyphenoxidase in beta vulgaris. *plant physiology*. 24: 1-15.
- [25]. Bates L., Waldren R. & Teare I. (1973). Rapid Determination of Free Proline for Water-Stress Studies. *Plant and Soil.* 39: 205-207
- [26]. Maaouia-Houimli SI., Denden M., Dridi-Mouhanded B. & Mansour-gueddes S. (2011). Caractéristiques de la croissance et de la production en fruits chez trois variétés de piment (*Capsicum annum* L.) sous stress salin. *Tropicultura.* 29(2) :75-81.
- [27]. Zaman-Allah M., Sifi B., L'Taief B. & El Aouni MH. (2009). Paramètres agronomiques liés à la tolérance au sel chez le haricot (*Phaseolus vulgaris* L.)/Agronomical traits associated with salinity-tolerance in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *BASE.* 13(1) : 113-119.
- [28]. Hare PD. & Cress WA. (1997). Metabolic implications of stress-induced proline accumulation in plants. *Plant Growth Regulation.* 21: 79–102.
- [29]. Munns R. (2002). Comparative physiology of salt and water stress. *Plant. Cell and Environ.* 250: 239–250.
- [30]. Morais MC., Panuccio MR., Muscolo A. & Freitas H. (2012). Salt tolerance traits increase the invasive success of *Acacia longifolia* in Portuguese coastal dunes. *Plant Physiol Bioch.* 55: 60–65.
- [31]. Zunzunegui M., Esquivias MP., Fernández-González P., Valera-Burgos J., Díaz Barradas MC. & Gallego-Fernández JB. (2017). Morpho-physiological response of *Retama monosperma* to extreme salinity levels. *Ecohydrology.* 10(7). e1871.
- [32]. Parida AS. & Das AB. (2005). Salt tolerance and salinity effects on plants: A review. *Ecotox Environ Safe.* 60: 324–349.
- [33]. Dix PJ. & Pearce RS. (1981). Proline accumulation in NaCl-resistant and sensitive cell lines of *Nicotiana sylvestris*. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie.* 102(3): 243-248. .
- [34]. Ben Hassine A., Bouzid S. & Lutts S. (2010). Does habitat of *Atriplex halimus* L. affects plant strategy for osmotic adjustment?. *Acta physiol. Plant.* 32 : 325-331.
- [35]. Jaleel CA., Manivannan P., Kishorekumar A., Sankar B. & Panneerselvam R. (2007). Calcium chloride effects on salinity induced oxidative stress, proline metabolism and indole alkaloid accumulation in *Catharanthus roseus*. *C.R. Biol.* 330 (9): 674-683.
- [36]. De Freitas PAF., de Carvalho HH., Costa JH., de Souza Miranda R., da Cruz Saraiva KD., de Oliveira FDB. & Gomes-Filho. E. (2019). Salt acclimation in sorghum plants by exogenous proline: physiological and biochemical changes and regulation of proline metabolism. *Plant cell reports.* 38(3) : 403-416.
- [37]. Barhoumi Z., Djebali W., Smaoui A., Chaïbi W. & Abdelly C. (2007). Contribution of NaCl excretion to salt resistance of *Aeluropus litoralis* (Willd) Parl. *Journal of plant physiology.* 164 (7): 842-850.
- [38]. Qiu DL., Lin P. & Su JW. (2005). Relationship of leaf ultrastructure of mangrove *Kandelia candel* (L.) Druce to salt tolerance. *J For Sci.* 51: 476-480.
- [39]. Flowers TJ. & Yeo AR. (1986). Ion relations of plants under drought and salinity. *Functional Plant Biology.* 13(1): 75-91.
- [40]. Taleisnik E. & Grunberg K. 1994. Ion balance in tomato cultivars differing in salt tolerance. I. Sodium and potassium accumulation and fluxes under moderate salinity. *Physiologia Plantarum.* 92(3): 528-534.
- [41]. Ashraf A. & Khanum A. (1997). Relationship between ion accumulation and growth in two-spring wheat lines differing in salt tolerance at different growth stages. *J. Agron. Crop Sci.* 178: 39-51.
- [42]. Kronzucker HJ. & Britto DT. (2011). Sodium transport in plants: a critical review. *New Phytol.* 189: 54–81.
- [43]. Lokhande VH. & Suprasanna P. (2012). Prospects of halophytes in understanding and managing abiotic stress tolerance.” in *Environmental Adaptations and Stress Tolerance of Plants in the Era of Climate Change.* eds P. Ahmad and M. N. V. Prasad (New York, NY: Springer). p. 29–56.
- [44]. Wang W. & Lin P. (1999). Influence of substrate salinity on the growth of mangrove species of *Bruguiera gymnorhiza* seedling. *Nat Sci.* 2: 273–279.
- [45]. Ferreira K., Iverson TM., Maghlaoui K., Barber J. & Iwata S. (2004). Architecture of the photosynthetic oxygen-evolving center. *Science.* 303: 1831–1838
- [46]. Roose JL., Wegener KM. & Pakrasi HB. (2007). The extrinsic proteins of photosystem II. *Photosynth Res.* 92:369–387.

- [47]. **Critchley C. (1982).** Stimulation of photosynthetic electron transport in a salt tolerant plant by high chloride concentration. *Nature*. 298:483–485
- [48]. **Critchley C. (1983).** Further studies on the role of chloride in photosynthetic O<sub>2</sub> evolution in higher plants. *Biochim Biophys Acta*. 724 :1–5
- [49]. **Glenn EP., Brown JJ. & Blumwald E. (1999).** Salt tolerance and crop potential of halophytes. *Plant Sciences*. 18 (2): 227 - 255.