

# GERMINATION ET ACCUMULATION DES METABOLITES CHEZ LES PLANTULES DE LEGUMINEUSES CULTIVEES SOUS STRESS SALIN

V. D. TAFFOUO<sup>1</sup>, L. MEGUEKAM<sup>1</sup>, M. KENNE<sup>2</sup> E. YAYI<sup>3</sup>, A. MAGNITSOP<sup>1</sup>, A. AKOA<sup>4</sup> et A. OURRY<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Département de Biologie des Organismes Végétaux, Faculté des Sciences, Université de Douala, B. P. 24157 Douala. Cameroun. E-mail : dtaffouo@yahoo.com

<sup>2</sup> Département de Biologie des Organismes Animaux, Faculté des Sciences, Université de Douala, B. P. 24157 Douala. Cameroun.

<sup>3</sup> Département de Chimie, Faculté des Sciences et Techniques, Université d'Abomey Calavi, B. P. 01 BP. 526 Cotonou. Bénin.

<sup>4</sup> Département de Biologie et Physiologie Végétales, Faculté des Sciences, Université de Yaoundé I, B. P. 812 Yaoundé. Cameroun.

<sup>5</sup> UMR, INRA-UCBN, Ecophysiologie Végétale, Agronomie et Nutrition NCS, Institut de Biologie Fondamentale et Appliquée, Université de Caen, F-14032 Caen Cedex, France.

## RESUME

Les effets de la salinité sur le comportement physiologique des graines, feuilles et tiges de cinq légumineuses ont été évalués afin d'identifier des critères précoces de sélection des espèces végétales tolérantes au sel. Quatre niveaux de salinité (0, 50, 100 et 200 mM de NaCl) ont été testés. Au bout de 4 semaines, trois séries de 7 plantes ont été prélevées dans chaque milieu de culture en vue d'évaluer les teneurs en lipides, protéines et proline. Ainsi, l'apport de NaCl a entraîné une baisse significative des teneurs en lipides et du taux de germination chez toutes les espèces étudiées. Cependant cet effet dépressif du sel a été plus marqué chez les deux glycophytes sensibles (*Phaseolus vulgaris* et *Glycine max*) ; leur vitesse de germination étant fortement ralentie à partir de 3 g/l de NaCl avec des seuils critiques d'inhibition à la germination à 9 et 12 g/l de NaCl respectivement. Toutefois ce seuil critique a été au-delà de 21 g/l pour *Mucuna poggei* (halophyte facultative), *Phaseolus adenanthus* (halophyte) et *Vigna unguiculata* (glycophyte moyennement tolérante). L'effet dépressif du sel a été moins marqué sur la croissance en hauteur des tiges chez *P. adenanthus*, *M. poggei* et *V. unguiculata* excepté chez ces deux dernières espèces à 200 mM. L'apport de sel a entraîné une accumulation des protéines et de proline au niveau des feuilles chez *M. Poggei*, *P. adenanthus* et *V. unguiculata* comparativement à *G. max* et *P. vulgaris*. Le taux de germination et l'accumulation des protéines et proline au niveau des feuilles pourraient être utilisés comme critères précoces de sélection des légumineuses tolérantes à la salinité.

**Mots clés** : Stress salin, légumineuses, NaCl, accumulation des métabolites, Cameroun.

## ABSTRACT

### GERMINATION AND ACCUMULATION OF THE METABOLITES IN LEGUMINOUS SEEDLINGS GROWN UNDER SALT STRESS

In order to determine physiological criteria of early selection for salt tolerant leguminous plants, effects of NaCl concentrations on physiological behaviour of seeds, leaves and stems of five leguminous plants were evaluated. Plants were submitted to 4 levels of salt stress at the roots (0, 50, 100 and 200 mM of NaCl). After four weeks, lipids, proteins and proline contents were determined in each medium on 7 randomly sampled plants. Results showed that sodium chloride had an underrating effect on growth of stems and seed germination of the species studied. The germination rates of seeds of *Glycine max* and *Phaseolus vulgaris* (sensitive glycophytes) were affected from 3 g/l of NaCl, with critical thresholds at 9 and 12 g/l respectively. In contrast, critical thresholds with *Mucuna poggei* (facultative halophyte), *Vigna unguiculata* (moderately tolerant glycophyte) and *P. adenanthus* (natural halophyte) was found to be above 21 g/l. The reduction of stems growth rate were not significant in *P. adenanthus* whereas in *M. poggei* and *V. unguiculata* this inhibition was observed just when nutritive solutions were enriched with 200 mM. The lipid contents were reduced in all the species under salt stress, whereas proteins and proline contents in the leaves were substantially increased in tolerant species (*M. poggei*, *P. adenanthus*, and *V. unguiculata*). In contrast, proteins and leaf

proline contents were negatively affected by salt concentration to *G. max* and *P. vulgaris*. Seed germination, proteins and proline could be used as physiological criteria of early selection for salt tolerant leguminous plants.

**Key words :** Salt stress, leguminous plants, NaCl, metabolites accumulation, Cameroon.

## INTRODUCTION

Dans les zones semi-arides, les processus de dégradation sont l'appauvrissement des sols en éléments minéraux et la salinisation (Roose, 1994). L'extension des surfaces irriguées entraîne l'augmentation des superficies salées. La charge en sel varie de 2 à 3 g/l pour les eaux d'irrigation provenant des barrages et de 4 à 7 g/l pour les eaux des puits (Ben Naceur *et al.*, 2001). Le chlorure de sodium réduit le potentiel osmotique du milieu et limite l'absorption d'eau par les semences et des nutriments par les plantules. Les fortes doses de sel peuvent causer un déséquilibre ionique et une toxicité chez les plantes, ce qui peut affecter certains processus métaboliques vitaux (Le Dily *et al.*, 1993 ; El-Ikhlil *et al.*, 2002 ; Munns, 2002 ; Kim *et al.*, 2004 ; Taamalli *et al.*, 2004 ; Trinchant *et al.* 2004).

Au Cameroun, les zones salées se retrouvent au Nord (zone sahélienne) et le long de la côte atlantique. Dans ces zones, les rendements agricoles sont faibles à cause de la disponibilité limitée en terres arables, de la salinisation et de la surexploitation des sols (Brun, 1988). La malnutrition affecte avec acuité la population et particulièrement les enfants en âge scolaire. L'une des principales stratégies de lutte contre ce fléau est d'encourager la production locale et l'utilisation des protéines d'origine végétale. Les légumineuses constituent une source très importante de protéines et de lipides pour les populations les moins nanties qui ne peuvent pas se procurer facilement des protéines et des huiles animales (Nyabyenda, 2005). Dans les zones sahéliennes, les espèces de légumineuses cultivées sont rares et présentent de faibles rendements, à cause de la nature salée des sols et de l'ignorance des paysans qui cultivent très souvent des espèces sensibles au sel. La salinité du sol semble le facteur le plus déterminant pour l'amélioration des rendements dans ces zones marginales.

La compréhension des mécanismes physiologiques impliqués dans la tolérance au sel est une étape déterminante pour établir des critères

de tri d'espèces et des variétés intéressantes. Au Cameroun, les travaux concernant les espèces susceptibles de tolérer les variations de salinité du milieu ont été abordés : Brun (1987, 1988) a travaillé sur la croissance et la distribution ionique d'une glycophyte sensible (*Phaseolus vulgaris*) et d'une halophyte tropicale (*Canavalia obtusifolia*) ; Tsoata et Taffouo (1997) ont traité essentiellement des possibilités d'absorption du chlorure de sodium par les parties aériennes chez quatre espèces de légumineuses ; Taffouo *et al.* (2004) ont étudié la réponse au stress salin chez cinq légumineuses dont une sensible (*P. vulgaris*), deux moyennement tolérantes (*Vigna unguiculata* et *Muccuna poggei*) et une tolérante (*P. adenanthus*). La croissance pondérale des organes végétaux et le rapport de sélectivité  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  sont des paramètres très fréquemment utilisés dans la littérature pour le tri des espèces tolérantes au sel (Driouich et Rachidai, 1995a ; Driouich *et al.*, 1995b ; Ungar, 1996) cependant certaines espèces tolérantes ont montré une baisse significative de production de biomasse et une importante restriction du transport de  $\text{K}^+$  des racines vers les tissus foliaires en milieu salé (Brun, 1988 ; Ben Naceur *et al.*, 2001 ; Agong *et al.*, 2003). La recherche d'autres critères physiologiques simples et rapides pour le tri de plantes s'avère importante pour les programmes d'amélioration variétale.

L'objet de ce travail est donc de caractériser l'effet du stress salin sur cinq espèces de légumineuses, sélectionnées en fonction de leur degré de sensibilité ou de tolérance au chlorure de sodium, et de dégager certains critères physiologiques impliqués dans la tolérance à la salinité.

## MATERIEL ET METHODES

L'étude a été réalisée au Cameroun en 2005 de Mai à Décembre. Elle a porté sur cinq légumineuses, choisies par le programme national de recherche pour leur efficacité à accroître la fertilité des sols. Le classement de ces espèces, selon leur degré décroissant de

tolérance au chlorure de sodium au stade de plantule tel qu'il a été établi par Taffouo *et al.* (2004) est le suivant : *Phaseolus vulgaris* < *Glycine max* < *Vigna unguiculata* < *Mucuna pogeii* < *P. adenanthus*.

#### GERMINATION DES GRAINES

L'effet du chlorure de sodium a été testé sur le taux de germination. Pour chaque espèce, 100 graines ont été comptées et placées dans une boîte de pétri de 15 cm de diamètre. 20 ml d'eau distillée ont été ajoutés aux témoins et 20 ml de solution contenant respectivement 3, 6, 9, 12, 15, 18 et 21 g/l de NaCl ont été ajoutés aux essais. Ces concentrations ont été choisies pour pouvoir discriminer les espèces entre elles. Les graines germées sont dénombrées quotidiennement, l'émergence de la radicule étant l'indicateur de la germination (Rachidai *et al.*, 1994). Après 7 j de traitement salin, les graines n'ayant pas germé sont transférées dans de l'eau distillée pendant une semaine (Debez *et al.*, 2001).

#### DETERMINATION DES PARAMETRES ETUDIÉS

Après désinfection à l'hypochlorite de sodium (10 %) pendant 1 h et rinçage à l'eau distillée, les graines des cinq espèces étudiées ont été mises en germination dans des boîtes de pétri sur papier filtre imbibées d'eau déminéralisée à l'obscurité et à une température de 26 °C. Les téguments des graines de *M. Poggeii* et de *P. adenanthus* ont été entaillés à proximité du hile pour faciliter la germination. Suite à l'émergence de la radicule (après 3 jours), les graines germées de chaque espèce ont été réparties en 4 lots de 20 graines chacun. Elles ont été ensuite repiquées dans des bacs à réserve d'eau contenant du sable stérilisé à l'acide chlorhydrique. Les cultures ont été placées dans une chambre de culture sous un éclairage de 5000 lux pendant 12 h, une température de 26,0 ± 3,0 °C, une humidité relative comprise entre 51 et 70 %. Les plantules ont été approvisionnées en solution nutritive composée de 0,4 mN de KNO<sub>3</sub> ; 0,2 mN de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1,0 mN de Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> et 0,4 mN de MgSO<sub>4</sub> (Wacquant, 1974). Des concentrations variables de NaCl ont été ajoutées aux milieux de culture (0, 50, 100 et 200 mM) et pour éviter les variations importantes de pH, les solutions nutritives ont été aérées en permanence et

renouvelées tous les 3 jours (Taffouo *et al.*, 2004). La hauteur des tiges est exprimée selon la méthode de Driouich et Rachidai (1995a). Au bout de 4 semaines, pour chaque espèce et dans chaque milieu de culture, trois séries de 7 plantes sont prélevées au hasard dans la matinée. La première série sert au dosage des protéines suivant la technique de Bradford (1976). La seconde série permet d'évaluer les teneurs en lipides des feuilles et tiges suivant la méthode de Gharsali et Chérif (1979). Enfin la troisième série permet de quantifier la concentration de proline suivant le protocole de Bates (1973).

#### ANALYSE STATISTIQUE

Les analyses statistiques sont effectuées à l'aide du logiciel SigmaStat version 2.03. Les résultats sont donnés en terme de moyenne (± déviation standard). La comparaison simultanée de plusieurs moyennes est réalisée suivant la procédure paramétrique d'ANOVA (test F de Fisher) lorsque les conditions de normalité et d'égalité des variances sont vérifiées et les comparaisons des lots expérimentaux au lot témoin sont effectuées suivant la procédure de Dunnett.

## RESULTATS

#### GERMINATION DES GRAINES

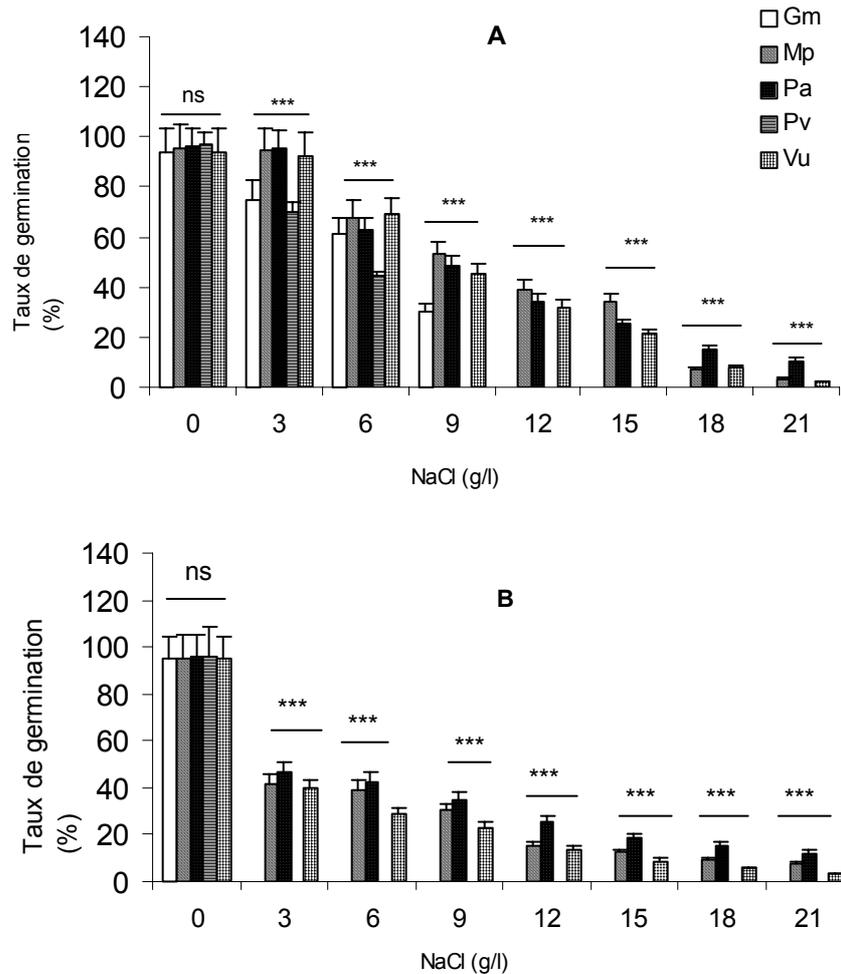
En absence de traitement salin, le taux de germination varie très peu chez toutes les espèces étudiées (Figure 1A). L'apport de NaCl dans le milieu de culture entraîne une baisse significative du taux de germination chez les cinq espèces. Cependant cet effet dépressif du sel est plus marqué chez les deux glycophytes sensibles (*Phaseolus vulgaris* et *Glycine max*) ; leur vitesse de germination étant ralentie à partir de 3 g/l de NaCl avec des seuils critiques à 9 et 12 g/l de NaCl respectivement. Par contre chez *Phaseolus adenanthus* (halophyte naturelle), *Mucuna pogeii* (halophyte facultative) et *Vigna unguiculata* (glycophyte moyennement tolérante), la vitesse de germination est ralentie à partir de 6 g/l avec des seuils critiques au-delà de 21 g/l (Figure 1A). Lorsque les graines qui n'ont pas germé en présence de sel sont transférées dans l'eau distillée, elles recouvrent largement leur aptitude à germer chez les deux

halophytes naturelles (*M. poggei* et *P. adenanthus*) et chez la glycophyte moyennement tolérante (*V. unguiculata*), mais leur taux de germination reste inférieur à celui du témoin (Figure 1B). Par contre, chez les glycophytes sensibles (*G. max* et *P. vulgaris*), elles perdent leur capacité de maintenir la viabilité des graines pour une longue période au cours

du temps d'exposition à des conditions de stress salin.

#### CROISSANCE DES JEUNES PLANTS

En milieu témoin, la hauteur moyenne des tiges varie nettement chez toutes les espèces étudiées. Elle est élevée chez *M. poggei* et faible



**Figure 1 :** Effet de NaCl sur la germination des graines chez 5 espèces de Légumineuses. A. Germination des graines en présence de NaCl. B. Germination de graines transférées dans l'eau distillée après un séjour de 7 jours à différentes concentrations de NaCl.

*Salt effects on the seed germination of five leguminous plants. A. Seed germination on saline medium. B. Germination of seeds transferred in the water distilled after stays 7 days to various concentrations of NaCl.*

Gm : *Glycine max*, Mp : *Mucuna poggei*, Pa : *Phaseolus adenanthus*, Pv : *Phaseolus vulgaris*, Vu : *Vigna unguiculata*

\* =  $P < 0,05$ ; \*\* =  $P < 0,01$ ; \*\*\* =  $P < 0,001$

Gm : *Glycine max*, Mp : *Mucuna poggei*, Pa : *Phaseolus adenanthus*, Pv : *Phaseolus vulgaris*, Vu : *Vigna unguiculata*

\* =  $P < 0,05$ ; \*\* =  $P < 0,01$ ; \*\*\* =  $P < 0,001$

chez *P. adenanthus* et *V. unguiculata* (Tableau 1). Les données obtenues à partir des solutions nutritives enrichies en sel permettent de constater que chez les glycophytes types *G. max* et *P. vulgaris*, la réduction de la hauteur des tiges est importante dès 50 mM de NaCl

tandis que chez *M. poggei* et *V. unguiculata*, cette réduction est significative à 200 mM de NaCl. Par contre, chez *P. adenanthus*, la croissance en hauteur n'est pas affectée par la variation du taux de salinité de la solution nutritive.

**Tableau 1 :** Effet de NaCl sur la hauteur des tiges chez 5 espèces de légumineuses.

*Salt effect on the height variation of five leguminous plants.*

Les résultats sont analysés à l'aide du test paramétrique d'ANOVA. Les probabilités significatives sont en gras. Pour les comparaisons analytiques, les lots expérimentaux sont comparés au lot témoin suivant la procédure de Dunnett,  $n = 7$  pour chaque espèce.

*Using fisher one way ANOVA. Pairwise comparisons to the control group were performed using Dunnett's method ;  $n = 7$  for each species. Significant probabilities are in bold*

Espèces	Salinité du milieu de culture ( mM de NaCl)				ANOVA $F_{(3, 16)}$
	0	50	100	200	
<i>Glycine max</i>	73,1 ± 5,9	48,4 ± 3,5 *	42,8 ± 3,8 *	35,0 ± 1,2*	392,30***
<i>Mucuna poggei</i>	88,4 ± 1,2	84,2 ± 1,5	80,1 ± 1,7	61,5 ± 1,2*	7,51**
<i>Phaseolus adenanthus</i>	27,2 ± 2,1	24,2 ± 2,5	21,2 ± 1,5	21,0 ± 1,8	1,94 ns
<i>P. vulgaris</i>	68,1 ± 5,1	46,5 ± 6,1*	41,4 ± 3,5*	27,7 ± 3,2*	135,92***
<i>Vigna unguiculata</i>	29,2 ± 1,0	26,5 ± 1,7	25,1 ± 2,7	15,2 ± 1,4*	5,93*

ns =  $P > 0,05$  ; \* =  $P < 0,05$  ; \*\* =  $P < 0,01$  ; \*\*\* =  $P < 0,001$

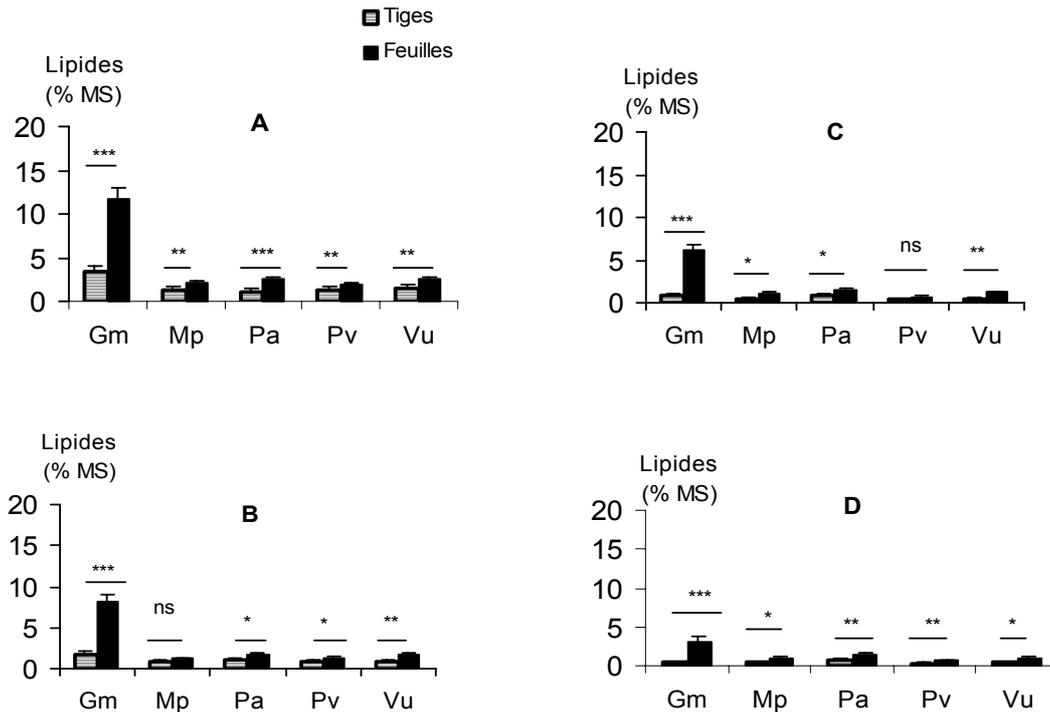
#### ACCUMULATION DES METABOLITES : LIPIDES, PROTEINES ET PROLINE

En milieu témoin, les organes de *G. max* ont des teneurs en lipides nettement supérieures (3,4 et 11,8 % MS pour les tiges et les feuilles respectivement) à ceux de *M. poggei*, *P. adenanthus*, *P. vulgaris* et *V. unguiculata* ; le taux le plus faible se retrouve dans les tiges de *P. adenanthus* (1,1 % MS) (Figure 2A). L'apport de NaCl dans le milieu de culture entraîne une baisse hautement significative des teneurs en lipides dans les feuilles et les tiges de toutes les espèces étudiées comparativement au témoin. Cette baisse est plus accentuée dans les organes de *G. max*, *M. poggei* et *P. vulgaris* (Figures 2B, 2C et 2D).

En l'absence de traitement salin, les teneurs en protéines varient nettement dans les organes des espèces étudiées (Figure 3A). Par rapport au milieu témoin, l'apport des solutions nutritives enrichies en NaCl baissent significativement les teneurs en protéines dans les tiges et les feuilles chez *G. max* et *P. vulgaris* tandis que chez *M.*

*poggei*, *V. unguiculata* et *P. adenanthus* cet apport de sel accroît de façon significative les teneurs en protéines des tiges et des feuilles excepté au niveau des tiges de deux premières espèces à 200 mM de NaCl (figure 3B, 3C et 3D).

La figure 4 montre que l'accumulation de la proline dans les feuilles fait ressortir trois types de comportement vis-à-vis de la salinité du milieu de culture. Chez *P. adenanthus*, l'apport de NaCl provoque une accumulation progressive de proline dans les feuilles au fur et à mesure que la concentration en sel du milieu augmente tandis que chez *M. poggei* et *V. unguiculata*, les teneurs en proline augmentent nettement dans les feuilles avec la salinité du milieu de culture jusqu'à 100 mM de NaCl. Au-delà de cette concentration, le taux de proline foliaire baisse de façon importante chez ces deux espèces. Par contre, chez *G. max* et *P. vulgaris*, l'apport des solutions nutritives enrichies en NaCl baisse significativement les teneurs en proline au niveau des feuilles ; Cette baisse étant plus importante à 200 mM de NaCl.



**Figure 2** : Teneur en lipides des organes en fonction du traitement salin chez 5 espèces de légumineuses.

*Salt effects on lipid content in organs of five leguminous plants.*

A : milieu témoin (0 mM de NaCl) ; B : 50 mM de NaCl ; C : 100 mM ; D : 200 mM ; n = 7 pour chaque espèce.

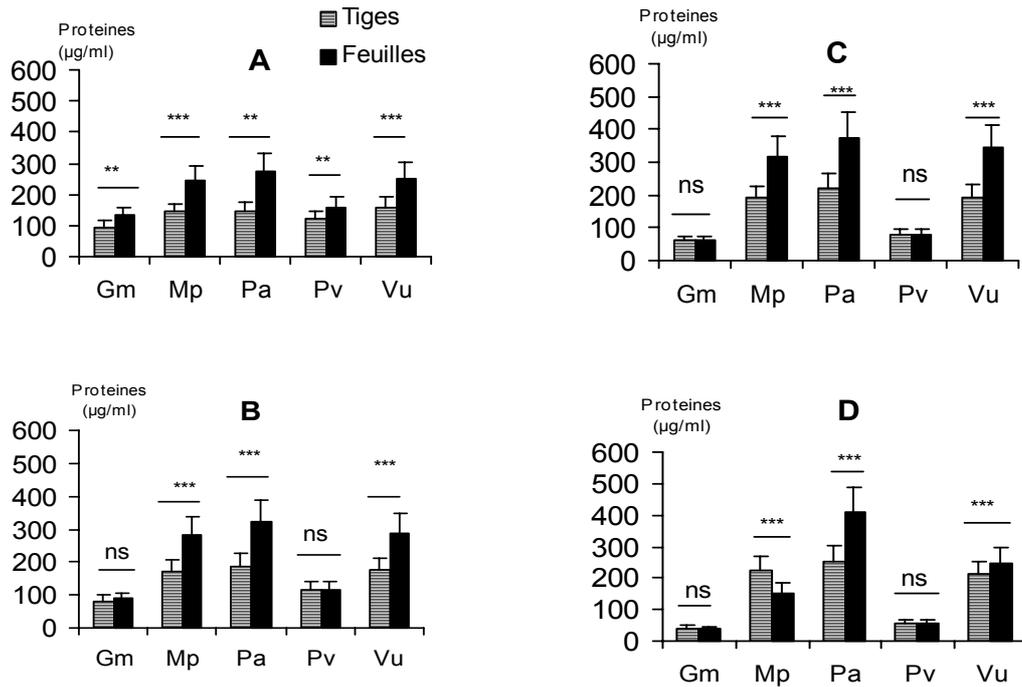
A : control medium (0 mM de NaCl) ; B : 50 mM de NaCl ; C : 100 mM ; D : 200 mM ; n = 7 for each species.

Gm : *Glycine max*, Mp : *Mucuna poggiei*, Pa : *Phaseolus adenanthus*, Pv : *Phaseolus vulgaris*, Vu : *Vigna unguiculata*

\* =  $P < 0,05$  ; \*\* =  $P < 0,01$  ; \*\*\* =  $P < 0,001$

Gm : *Glycine max*, Mp : *Mucuna poggiei*, Pa : *Phaseolus adenanthus*, Pv : *Phaseolus vulgaris*, Vu : *Vigna unguiculata*

\* =  $P < 0,05$  ; \*\* =  $P < 0,01$  ; \*\*\* =  $P < 0,001$



**Figure 3 :** Teneur en protéines des organes en fonction du traitement salin chez 5 espèces de légumineuses.

*Salt effects on proteins content in organs of five leguminous plants.*

A : milieu témoin (0 mM de NaCl) ; B : 50 mM de NaCl ; C : 100 mM ; D : 200 mM ; n = 7 pour chaque espèce.

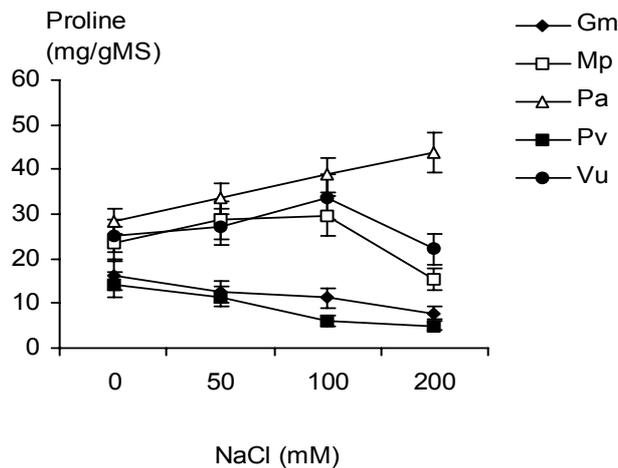
A : control medium (0 mM de NaCl) ; B : 50 mM de NaCl ; C : 100 mM ; D : 200 mM ; n = 7 for each species.

Gm : *Glycine max*, Mp : *Mucuna poggiei*, Pa : *Phaseolus adenanthus*, Pv : *Phaseolus vulgaris*, Vu : *Vigna unguiculata*

\* =  $P < 0,05$  ; \*\* =  $P < 0,01$  ; \*\*\* =  $P < 0,001$

Gm : *Glycine max*, Mp : *Mucuna poggiei*, Pa : *Phaseolus adenanthus*, Pv : *Phaseolus vulgaris*, Vu : *Vigna unguiculata*

\* =  $P < 0,05$  ; \*\* =  $P < 0,01$  ; \*\*\* =  $P < 0,001$



**Figure 4 :** Teneur en proline foliaire en fonction du traitement salin chez 5 espèces de légumineuses.

*Salt effects on proline content in leaves of five leguminous plants.*

A : milieu témoin (0 mM de NaCl) ; B : 50 mM de NaCl ; C : 100 mM ; D : 200 mM ; n = 7 pour chaque espèce.

Gm : *Glycine max*, Mp : *Mucuna poggiei*, Pa : *Phaseolus adenanthus*, Pv : *Phaseolus vulgaris*, Vu : *Vigna unguiculata*

A : control medium (0 mM de NaCl) ; B : 50 mM de NaCl ; C : 100 mM ; D : 200 mM ; n = 7 for each species.

Gm : *Glycine max*, Mp : *Mucuna poggiei*, Pa : *Phaseolus adenanthus*, Pv : *Phaseolus vulgaris*, Vu : *Vigna unguiculata*

## DISCUSSION

### GERMINATION DES GRAINES

La vitesse de germination des graines de *P. vulgaris* et *G. max* est ralentie à partir de 3 g/l de NaCl et davantage inhibée à des concentrations de 9 et 12 g/l de NaCl respectivement. Ces résultats suggèrent qu'il s'agirait d'une inhibition de nature toxique car ces deux espèces ont perdu leur capacité de maintenir la viabilité des graines pour une longue période au cours du temps d'exposition à des conditions de stress salin. L'effet inhibiteur du NaCl sur la germination de deux halophytes naturelles (*M. poggei* et *P. adenanthus*) et d'une glycophyte moyennement tolérante (*V. unguiculata*) serait essentiellement de nature osmotique, le sel empêcherait l'imbibition de la graine (Katembe *et al.*, 1998). Le pouvoir germinatif des graines de ces trois espèces n'a pas été altéré après une longue période d'exposition au sel ; dans les conditions naturelles, cette particularité s'avère d'un grand intérêt car elle permet la survie des espèces dont les habitats naturels présentent de grandes fluctuations en sel et ouvre la possibilité de constituer une banque des graines viables qui germent lorsque les conditions du milieu deviennent favorables (Debez *et al.*, 2001). De même, Keiffer et Ungar (1995), Choukr *et al.* (2003) ont montré que les graines des halophytes demeurent viables après avoir été soumises à des fortes concentrations en sel et peuvent germer lorsque le stress salin est levé, ce qui constitue une stratégie de survie en milieu salé. Les graines d'*Atriplex patula* ne germent pas en présence de NaCl à 20 g/l mais le font après transfert dans l'eau distillée (Ungar, 1996).

### CROISSANCE DES JEUNES PLANTS

Les résultats obtenus montrent une réduction importante de la hauteur des tiges durant le traitement salin dès 50 mM de NaCl chez *G. max* et *P. vulgaris* tandis que chez *M. poggei* et *V. unguiculata*, cette diminution se manifeste à 200 mM de NaCl. Ces résultats concordent avec ceux publiés par de nombreux auteurs sur la baisse de croissance en milieu salé chez les glycophytes sensibles et certaines espèces tolérantes au sel (Ben Naceur *et al.*, 2001 sur les variétés de *Triticum durum* ; Agong *et al.*, 2003 sur les génotypes de *Lycopersicon*

*esculentum*). *P. adenanthus* supporte mieux la salinité du milieu de culture car la croissance en hauteur n'est pas affectée. Des résultats similaires ont été observés chez deux génotypes de *Lycopersicon esculentum* (Siozawa et Gambaru Ne-3) ayant montré des performances élevées en milieu salin (Agong *et al.*, 2003).

### ACCCUMULATION DES METABOLITES

Durant le traitement salin, on note à partir d'une concentration de 50 mM de NaCl, une baisse significative des teneurs en lipides dans les organes de toutes les espèces étudiées comparativement au témoin. Nos résultats montrent que le chlorure de sodium influence négativement le métabolisme des lipides dans les organes végétaux. Ces résultats concordent avec ceux de Gharsali et Chérif (1979) qui ont indiqué que le pourcentage des acides gras augmente avec la croissance chez les plants de *Helianthus annuus* en milieu non salé tandis qu'en présence de NaCl, il en résulte une baisse. De même, les travaux de Müller et Stantarius (1978) révèlent que l'augmentation de la pression osmotique par le polyéthylène glycol n'entraîne pas de changement significatif dans les lipides membranaires du chloroplaste d'orge mais serait plutôt due à l'action ionique du chlorure de sodium. Dans ces conditions, cet auteur envisage un effet direct sur le système enzymatique de désaturation des lipides. Le sel provoquerait une inhibition ou le ralentissement de l'activité de cette désaturase. Taamalli *et al.* (2004) montrent que le sel, à fortes concentrations, ralentit la mobilisation des réserves lipidiques ainsi que la teneur et la composition des différentes catégories des lipides. Les résultats obtenus révèlent que les taux des lipides contenus dans les feuilles et tiges des espèces étudiées sont inférieurs à 12 %. Ces teneurs sont insatisfaisantes par rapport aux 30 et 35 % recommandés par Hector (1981).

D'après les résultats obtenus, l'apport des solutions nutritives enrichies en NaCl a amélioré significativement les teneurs en protéines (Figure 3B, 3C et 3D) et en proline (Figure 4) des organes chez *P. adenanthus*, *M. poggei*, et *V. unguiculata* excepté chez ces deux dernières espèces à 200 mM. Par contre chez *G. max* et *P. vulgaris*, on observe une baisse importante du contenu en protéines et en proline des feuilles. L'adaptation des plantes tolérantes au

stress salin est liée à la pression osmotique du suc vacuolaire élevée due à l'accumulation massive des sels minéraux ou à la synthèse importante de substances organiques (Le Dily *et al.*, 1993 ; El-Iklil *et al.*, 2002 ; Trinchant *et al.* 2004). Ces osmolytes ou solutés compatibles s'accumulent dans le cytoplasme cellulaire par des synthèses de *novo*, augmentent la pression osmotique, restaurent la turgescence et protègent les structures des macromolécules contre la dénaturation (Kim *et al.*, 2004 ; Le Rudulier, 2005). Nos résultats suggèrent que chez *P. adenanthus* l'ajustement osmotique au niveau des feuilles en milieu salé serait principalement due à la synthèse des composés tels que les protéines et les acides aminés libres en particulier la proline. Selon Niu *et al.* (1997), El-Iklil *et al.* (2002), cette accumulation des solutés au niveau des feuilles aurait pour principale fonction la protection des enzymes cytoplasmiques des effets de la déshydratation due au sel et de la présence des substances toxiques telles que le Na<sup>+</sup> d'une part et le maintien de l'intégrité des membranes cellulaires d'autre part. L'ajustement serait aussi facilité par le phénomène d'épictèse très développé dans ce groupe des végétaux et une résistance plasmique très élevée au NaCl (Heller, 1969). Nos résultats montrent également que chez *M. poggei* et *V. unguiculata*, espèces moyennement tolérantes, le seuil d'accumulation de proline est 100 mM de NaCl. Ce résultat comparé à celui obtenu chez *P. adenanthus* (espèce la plus tolérante) suggère que chez les légumineuses, l'accumulation foliaire de proline serait fonction du degré de tolérance à la salinité. Par ailleurs, la baisse significative des teneurs en protéines et proline chez les deux glycophytes sensibles montrent que chez ces espèces, l'ajustement osmotique serait dû à une accumulation importante des ions K<sup>+</sup>. le Na<sup>+</sup> étant fortement retenu au niveau des racines (Taffouo *et al.*, 2004). Cette différence nette de comportement entre espèces tolérantes et sensibles vis-à-vis de l'accumulation dans les tissus foliaires des protéines et de la proline suggère l'utilisation de ces deux composés comme indice physiologique de tolérance à la salinité chez les Légumineuses.

## CONCLUSION

Chez les glycophytes sensibles (*Phaseolus vulgaris* et *Glycine max*), le taux de germination baisse significativement à partir de 3 g/l de NaCl avec des seuils critiques d'inhibition à 9 et 12 g/l respectivement. Par contre, chez *Phaseolus adenanthus* (halophyte), *Mucuna poggei* (halophyte facultatif) et *Vigna unguiculata* (glycophyte moyennement tolérante), ce taux baisse significativement à partir de 6 g/l avec des seuils critiques d'inhibition au-delà de 21 g/l. Chez *M. poggei*, *P. adenanthus* et *V. unguiculata*, l'ajustement osmotique au niveau des feuilles est dû à la synthèse des composés tels que les protéines et les acides aminés libres en particulier la proline. L'effet dépressif du sel a été moins marqué sur la croissance en hauteur des tiges chez *P. adenanthus*, *M. poggei* et *V. unguiculata* excepté chez ces deux dernières espèces à 200 mM. La présence de sel dans le milieu de culture entraîne une baisse substantielle des teneurs en lipides des organes végétaux chez les espèces étudiés.

Le taux de germination, l'accumulation des protéines et de proline au niveau des feuilles pourraient être utilisés comme critères précoces de sélection des espèces végétales tolérantes à la salinité.

## REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient la Fondation Internationale pour la Science (FIS) et l'Agence de Coopération Internationale de Développement des Ressources Naturelles et de l'Environnement (SIDA NATUR) à travers la bourse qu'ils ont octroyée au Dr Victor Désiré TAFFOUO et qui a permis la réalisation de ces travaux.

## REFERENCES

- Agong S. G., M. Kingetsu, Y. Yoshida, S. Yazawa and M. Masuda. 2003. Response of tomato genotypes to induced salt stress. African Crop Science Journal 11 (2) : 133 - 142.

- Bates L. S. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil* 39 : 205 - 207.
- Ben Naceur M., C. Rahmoune, H. Sdiri, M. L. Meddahi et M. Selmi. 2001. Effet du stress salin sur la germination, la croissance et la production en grains de quelques variétés magrébines de blé. *Science, Changements Planétaires et Sécheresse* 12 : 167 - 174.
- Bradford M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Ann. Biochem.* 72 : 248 - 254.
- Brun A. 1987. Importance relative des différents effets de NaCl sur la croissance de deux légumineuses à graines du Cameroun : *Phaseolus vulgaris* L. (variété «Penkou») et *Canavalia obtusifolia* DC. *Ann. Fac. Sc. Biochim.* 1 : 37 - 48.
- Brun A. 1988. Effets de NaCl sur une halophyte tropicale (*Canavalia obtusifolia* DC) : croissance, distribution de Na<sup>+</sup> et K<sup>+</sup>, état hydrique. *Oecol. Plant.* 9 : 173 -186.
- Choukr R. A., A. Hamdy et F. Z. Lahmer. 2003. Germination d'*Atriplex halimus* dans des milieux salins. *Field Calibration of water uptake Function* 1 - 7.
- Debez A., W. Chaïbi et S. Bouzid. 2001. Effet de NaCl et de régulateur de croissance sur la germination d'*Atriplex halimus* L. *Cahiers Agricultures* 10 : 135 - 138.
- Driouich A. et A. Rachidai. 1995a. Etude de l'effet du stress salin sur la croissance du blé dur (*Triticum durum* Desf). *Actes Inst. Agron. Vet. Hassan II (Maroc)* 16 (1) : 33 - 40.
- Driouich A., R. Bengueddour, A. Ouassou, H. Bengueddour et M. Ouhsine. 1995b. Utilisation du rapport K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> comme critère physiologique pour une sélection précoce des variétés de blé dur (*Triticum Durum* Desf) tolérantes au traitement salin. *Actes Institut agronomique Vétérinaire Hassan II, (Maroc)* 16 (1) : 41 - 56.
- El-Ikhlil Y., K. Mohammed, M. Rachid et B. Mohammed. 2002. Effet du stress salin sur la variation de certains métabolites chez *Lycopersicon esculenta* et *Lycopersicon sheesmanii*. *Canadian Journal of Plant Science* 82 : 177 - 183.
- Gharsali M. et A. Cherif. 1979. Action du chlorure de sodium sur la croissance et la teneur en lipides de plants de tournesol (*Helianthus annuus* L.). *Physiol. vég.* 17(2) : 215 - 229.
- Hector A. 1981. Examining the nutritive value of basic foods as a tool for the study of diets in poor countries. *Food Nutr. Bull.* 3 (2) : 21 - 27.
- Heller R. 1969. *Biologie végétale II. Nutrition et Métabolisme.* Masson et Cie, Paris, 578 p.
- Katembe W. J., I. A. Ungar and J. P. Mithell. 1998. Effects of salinity on germination and seedling growth of two *Atriplex* species (Chenopodiaceae). *Ann. Bot.* 82 : 165 - 175.
- Keiffer C. H. et I. A. Ungar. 1995. Germination responses of halophyte seeds exposed to prolonged hypersaline conditions. In : M. A. Khan and J. A. Unger (Eds.). *Biology of salt tolerant plants.* Karachi : pp. 43 - 50.
- Kim T. H., B. R. Lee, W. J. Jung, K. Y. Kim, J. C. Avicé and A. Ourry. 2004. De novo protein synthesis in relation to ammonia and proline accumulation in water stress white clover. *Funct. Plant Biol.*, 31 : 847 - 855.
- Le Dily F., J. P. Billard, J. Le Saos and C. Huanlt. 1993. Effects of NaCl on chlorophyll and proline levels during growth of radish cotyledons. *Plant Physiology and Biochemistry* 31 : 303 - 310.
- Le Rudulier D. 2005. Osmoregulation in rhizobia : The key role of compatible solutes. *Grain Leg.* 42 : 18 - 19.
- Müller M. et K. Stantarius. 1978. Changes in chloroplast membrane lipids during adaptation of barley to extreme salinity. *Plant Physiol.* 62 : 326 - 329.
- Munns R. 2002. Comparative physiology of salt and Water stress. *Plant, cell and Environ.* 25 : 239 - 250.
- Nyabyenda P. 2005. Les plantes cultivées en régions tropicales d'altitude d'Afrique. Les presses agronomiques de Gembloux, 253p.
- Nui K. D., M. G. Wang and Y. F. Wang. 1997. Plant cellular Osmotica. *Acta Biotheoretica* 45 (2) : 161 - 169.
- Rachidai A., A. Driouich, A. Ouassou et I. El Hadrami. 1994. Effet du stress salin sur la germination du blé dur (*Triticum durum* Desf). *Rev. Amélior. Prod. Agr.* 6 : 209 - 228.
- Roose E. 1994. Introduction à la gestion conservatoire de l'eau, de la biomasse et de la fertilité des sols (GCES). *Bull. FAO*, 420 p.

- Taamalli W., L. Abaza, N. Ben Youssef, D. Daoud Ben Miled et M. Zarrouk. 2004. Dégradation des lipides dans les semences de tournesol (*Helianthus annuus* L.) au cours de la croissance post germinative en conditions de stress salin. *La Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse* 2 : 90 - 97.
- Taffouo V. D., M. Kenne, R. Fokam Tasse, O. Fotso Wamba, T. Fonkou, Z. Mvondo et A. Amougou. 2004. Variation de la réponse au stress salin chez cinq espèces de légumineuses. *Agronomie Africaine* 16 (1) : 33 - 44.
- Trinchant J. C., A. Bosdari, G. Spennato, G. Van de Sype and D. Le Rudulier. 2004. Proline Betaine accumulation and metabolism in alfalfa plants under sodium chloride stress. Exploring its compartmentalization in nodules. *Plant physiol.* 135 : 1583 - 1594.
- Tsoata I. et V. D. Taffouo. 1997. Absorption du sodium par les parties aériennes de quatre espèces de légumineuses. *Agronomie Africaine* 9 : 37 - 43.
- Ungar I. A. 1996. Effect of salinity on seed germination, growth and ion accumulation of *Atriplex patula* (Chenopodiaceae). *Aust. J. Bot.* 83 : 604 - 607.
- Wacquart J. P. 1974. Recherche sur les propriétés d'absorption cationique des racines. Rôle physiologique et importance écologique. Thèse de doctorat, Montpellier (France), 155 p.