

Université catholique de Louvain  
École de biologie  
Université de Namur  
Département de biologie



---

# Exploration de la résistance à la salinité chez deux variétés graines d'*Amaranthus cruentus*

Anthony Cardoso de Lima

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme  
de Master en Biologie des Organismes et Ecologie

Promoteur : Muriel Quinet (GRPV)  
Co-promoteur : Adrien Luyckx (GRPV)

Année académique 2022-2023

## Remerciements

Je remercie du fond du cœur Muriel Quinet et Adrien Luyckx de m'avoir permis d'effectuer mon mémoire avec eux. Leur disponibilité, leurs conseils avisés et surtout leur sympathie ont contribué à fournir un cadre de travail parfait dans cette tâche fastidieuse qu'est la réalisation d'un mémoire. Je remercie aussi sincèrement tous les autres membres du Groupe de recherche en physiologie végétale (GRPV) pour leur aide et leur gentillesse.

## Résumé

La salinité des sols est un problème majeur dans le monde et notamment dans les régions arides et semi-arides. Ceci est d'autant plus vrai dans le contexte climatique actuel et à venir où il est attendu que ces problèmes augmentent. Les plantes peuvent être affectées à plusieurs niveaux via les 2 composantes du stress salin. La composante osmotique liée à l'accumulation d'ions salins dans la solution du sol entravant ainsi le prélèvement en eau et la composante ionique liée à l'accumulation des ions salins dans les plantes causant ainsi des dégâts internes. Le milieu agricole et donc la sécurité alimentaire sont évidemment touchés par cette problématique. C'est pourquoi les plantes ayant la capacité de tolérer la salinité représentent un intérêt certain pour la recherche. Ces plantes peuvent recourir à plusieurs stratégies de tolérance comme l'exclusion des ions salins hors des cellules et de l'organisme, la séquestration des ions dans les vacuoles, l'utilisation d'antioxydants et l'ajustement osmotique.

*A.cruentus* est une espèce cultivée principalement en Afrique, en Asie et en Amérique du Sud pour la consommation de leurs feuilles ou de leurs graines selon le cultivar. Ces plantes annuelles ont une qualité nutritive certaine et présentent une tolérance à différents stress abiotiques comme les hautes températures, la sécheresse et la salinité. Elles représentent donc une potentielle source alternative de nourriture dans le contexte actuel et futur.

Dans cette étude, 2 cultivars d'*A.cruentus* ont été soumis à 75 mM de NaCl pendant 5 mois en serres. Des mesures de croissance, de floraison, de physiologie et de biochimie ont été réalisées afin d'en apprendre plus sur leur capacité de tolérance et de comparer les 2 cultivars entre eux. Globalement, le cultivar Don Leon est plus tolérant à la salinité que le cultivar Montana 5 dont la croissance a été nettement réduite par la salinité. Cette différence de tolérance semble plutôt liée à la capacité de Don Leon d'améliorer son efficacité d'utilisation en eau. Le rendement en graine est cependant très nettement affecté chez les 2 cultivars bien que ce soit plus prononcé pour Montana 5. Ceci suggère que les feuilles sont plus intéressantes d'un point de vue consommation que les graines. Les 2 cultivars ont accumulé du sodium dans leurs tiges et leurs feuilles mais cela ne les a pas empêché d'accumuler du potassium en dépit de leur similarité chimique ce qui traduit le recours à un système de transport hautement spécifique et efficace. Cette large accumulation de sodium en lien avec la capacité de tolérance suggère qu'*A.cruentus* a recours majoritairement à l'accumulation de sodium pour son ajustement osmotique. Proline, glycine bêtaïne et sucres solubles semblent aussi impliqués bien que légèrement dans l'ajustement osmotique. Les teneurs en calcium, fer, cuivre et zinc n'ont pas été très impactées. La salinité a induit l'accumulation de magnésium dans les feuilles des 2 cultivars. Il semble que le magnésium puisse jouer un rôle dans la tolérance à la salinité. Le cultivar Montana 5, bien qu'étant le cultivar sensible, a tout de même réalisé son cycle de vie complet ce qui témoigne une fois de plus de la capacité de tolérance à la salinité d'*A.cruentus* et justifie leur intérêt d'étude dans cette problématique.

# Abstract

Soil salinity is a major problem worldwide, particularly in arid and semi-arid regions. This is especially true in the current and future climate context where these problems are expected to increase. Plants can be affected at several levels via the two components of salt stress. The osmotic component linked to the accumulation of saline ions in the soil solution, thus hindering water abstraction, and the ionic component linked to the accumulation of saline ions in the plants, thus causing internal damage. The agricultural environment and thus food security are obviously affected by this problem. This is why plants with the ability to tolerate salinity are of great interest for research. These plants can use several tolerance strategies such as exclusion of salt ions from the cells and the organism, sequestration of ions in vacuoles, use of antioxidants and osmotic adjustment.

*Amaranthus cruentus* is a species cultivated mainly in Africa, Asia and South America for the consumption of their leaves or seeds depending on the cultivar. These annual plants have a certain nutritional quality and are tolerant to various abiotic stresses such as high temperatures, drought and salinity. They therefore represent a potential alternative food source in the present and future context.

In this study, 2 cultivars of *A. cruentus* were subjected to 75 mM NaCl for 5 months in greenhouses. Growth, flowering, physiological and biochemical measurements were performed to learn more about their tolerance capacity and to compare the two cultivars with each other. Overall, the cultivar Don Leon is more tolerant to salinity than the cultivar Montana 5, whose growth was significantly reduced by salinity. This difference in tolerance seems to be more related to the ability of Don Leon to improve its water use efficiency. However, seed yields were clearly affected in both cultivars, although this was more pronounced in Montana 5. This suggests that the leaves are more interesting from a consumption point of view than the seeds. Both cultivars accumulated sodium in their stems and leaves, but this did not prevent them from accumulating potassium despite their chemical similarity, reflecting the use of a highly specific and efficient transport system. This large accumulation of sodium in relation to tolerance capacity suggests that *A. cruentus* relies predominantly on sodium accumulation for osmotic adjustment. Proline, glycine betaine and soluble sugars also appear to be involved, albeit slightly, in osmotic adjustment. Calcium, iron, copper and zinc contents were not much affected. Salinity induced magnesium accumulation in the leaves of both cultivars. It seems that magnesium may play a role in salinity tolerance. The cultivar Montana 5, although being the sensitive cultivar, has nevertheless completed its life cycle, which once again demonstrates the salinity tolerance capacity of *A. cruentus* and justifies their interest in this study.

# Table des matières

Remerciements .....	2
Résumé .....	3
Abstract .....	4
Introduction .....	7
1. Contexte climatique .....	7
2. La salinité du sol .....	8
2.1. Impacts de la salinité du sol sur les plantes .....	10
2.2. Méthodes pour remédier à la salinité .....	13
2.3. Stratégies de résistance à la salinité .....	15
3. Les amarantes.....	19
3.1. Présentation .....	19
3.2. Intérêts d'étude des amarantes graines .....	20
3.3. Description d' <i>A.cruentus</i> .....	22
4. Présentation et objectifs de l'étude .....	24
Matériel et méthodes.....	25
1. Matériel végétal et conditions de croissance.....	25
2. Mesures de croissance .....	26
3. Mesures physiologiques .....	26
4. Récoltes .....	27
5. Minéralisation.....	27
6. Mesures biochimiques .....	28
7. Traitements statistiques.....	30
Résultats .....	31
1. Morphologie .....	31
1.1. Impact de la salinité sur la hauteur et le nombre de feuille de 2 variétés d' <i>A.cruentus</i> .....	31
2. Production de biomasse.....	32
2.1. Impact du stress salin sur la production de biomasse de 2 variétés d' <i>A.cruentus</i> à 50 jours post-semis .....	32
2.2. Impact du stress salin sur la hauteur, le nombre de feuille et la teneur en eau de 2 variétés d' <i>A.cruentus</i> à 50 jours post-semis .....	33
3. Phase reproductive.....	34
4. Physiologie.....	35
4.1. Impact du stress salin sur le contenu en chlorophylle, en azote et sur la température foliaire de 2 variétés d' <i>A.cruentus</i> à 42 et 77 jours post-semis.....	35
4.2. Impact de la salinité sur l'activité photosynthétique nette de 2 variétés d' <i>A.cruentus</i> .....	36

4.3. Impact de la salinité sur le taux de transpiration de 2 variétés d' <i>A.cruentus</i> .....	37
4.4. Impact de la salinité sur le taux de transport d'électrons de 2 variétés d' <i>A.cruentus</i> .....	37
4.5. Impact de la salinité sur le rendement quantique du photosystème II de 2 variétés d' <i>A.cruentus</i> .....	38
4.6. Impact de la salinité sur l'efficacité d'utilisation en eau (WUE) de 2 variétés d' <i>A.cruentus</i> .	39
5. Dosage des minéraux .....	40
5.1. Impact de la salinité sur la teneur en sodium de 2 variétés d' <i>A.cruentus</i> .....	40
5.2. Impact de la salinité sur la teneur en potassium de 2 variétés d' <i>A.cruentus</i> .....	41
5.3. Impact de la salinité sur le ratio sodium/potassium de 2 variétés d' <i>A.cruentus</i> .....	42
5.4. Impact du stress salin sur la teneur en calcium, en cuivre, en magnésium, en fer et en zinc de 2 variétés d' <i>A.cruentus</i> .....	43
6. Biochimie .....	45
6.1. Impact du stress salin sur la teneur en proline de 2 variétés d' <i>A.cruentus</i> .....	45
Discussion .....	46
1. Impact de la salinité sur la croissance et la phase reproductive.....	46
2. Impact de la salinité sur la teneur en éléments minéraux.....	48
3. Implication du sodium, de la proline, glycine bêtaïne et des sucres solubles totaux dans l'ajustement osmotique .....	51
Conclusion .....	54
Bibliographie.....	55
Annexes .....	62

# Introduction

## 1. Contexte climatique

L'humain, de par ses activités, modifie son environnement et ce depuis des milliers d'années. Cette influence s'est considérablement accrue depuis la révolution industrielle au 19ème siècle jusqu'à engendrer de véritables perturbations environnementales.

La déforestation et l'utilisation des combustibles fossiles (dans les activités industrielles, agricoles, etc.) ont mené à une large augmentation de la quantité de gaz atmosphérique comme le dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>), le protoxyde d'azote (N<sub>2</sub>O) et le méthane (CH<sub>4</sub>). Par exemple, la quantité de CO<sub>2</sub> est passée de 280ppm avant la révolution industrielle à près de 415ppm cette année [1] [2]. Il est d'ailleurs estimé que cette quantité devrait augmenter jusqu'à près de 800ppm d'ici la fin du siècle [3]. Ces gaz ont la particularité de piéger la chaleur rayonnante de la Terre. Cet effet est appelé effet de serre et cause un réchauffement global des températures dans le monde. D'ici la fin du siècle, l'augmentation des températures pourraient aller jusqu'à +4,8°C par rapport à la période préindustrielle selon le scénario le plus pessimiste du GIEC [1] [4] [5].

L'augmentation des quantités de gaz à effet de serre et de températures globales ne sont pas les seules perturbations induites par l'humain, d'autres perturbations sont à l'œuvre comme l'acidification des océans, l'augmentation des périodes sécheresse, l'augmentation de la fréquence d'évènements extrêmes, etc. Globalement, ces perturbations ne sont pas équivalentes à travers le monde, certaines régions sont et seront plus affectées que d'autres. C'est le cas des régions arides notamment [1] [3] [4].

Ces nombreuses perturbations affectent la production agricole mondiale et représentent ainsi un danger pour la sécurité alimentaire. Il est globalement attendu et parfois déjà observé que les changements climatiques affectent négativement le rendement des principales cultures (blé, riz, maïs et soja) à travers le monde [1] [3]. Les changements climatiques et leurs impacts sur la production agricole représentent un véritable challenge pour la société, d'autant plus que la population mondiale est en nette croissance. Il est d'ailleurs estimé que la population sera constituée d'environ 9 milliards de personnes d'ici 2050, induisant ainsi une augmentation de la demande en nourriture [3]. Le monde fait donc face à un véritable défi.

Une autre perturbation engendrée par l'humain est la salinisation des sols. C'est cette perturbation qui est au centre de ce travail.

## 2. La salinité du sol

La salinité du sol correspond à la concentration des sels solubles dans l'eau du sol. Plusieurs ions sont concernés, les principaux étant  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$  et  $\text{NO}_3^-$ . La salinité du sol peut être mesurée et exprimée via la concentration des différents sels solubles mais aussi en terme de conductivité électrique [6]. Il est donc important de souligner ici que les problèmes de salinité ne sont pas uniquement dus aux ions chlorures et sodiums.

D'ailleurs, en fonction des caractéristiques et de la nature du sol affecté, celui-ci peut être catégorisé selon deux grands types, les sols salins et les sols sodiques [7]. Cette catégorisation n'est pas mutuellement exclusive, un sol peut être salin et sodique en même temps. Les sols salins sont caractérisés par une conductivité électrique supérieure à  $4 \text{ dS m}^{-1}$ . Cette conductivité électrique étant mesurée sur un extrait de pâte saturée. Les sels solubles de ce type de sol correspondent principalement à du  $\text{NaCl}$  et contiennent parfois des doses non négligeables de  $\text{CO}_3^{2-}$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  et  $\text{Mg}^{2+}$ . Les sols sodiques quant à eux contiennent des sels de  $\text{Na}^+$  capables d'hydrolyse alcaline, tel que  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . On comprend ici qu'un sol sodique n'est pas forcément salin et qu'un sol salin n'est pas forcément sodique. [6] [7]. Une différence majeure entre ces deux types de sols se trouve au niveau de leur pH. Les sols sodiques présentent un pH généralement supérieur à 8,5 tandis que les sols salins ont un pH inférieur à 8,5 [8].

Le phénomène de salinisation du sol n'est évidemment pas un phénomène nouveau dans la mesure où cela peut être issu de processus naturels. La salinisation issue de ces processus naturels est dite primaire [6] [8]. Plusieurs processus en sont à l'origine comme l'altération des roches (pouvant être causée par des variations de température, l'activité de lichens, etc.) libérant ainsi des sels solubles, dépôt de sels océaniques via les vents ou la pluie et l'élévation capillaire d'eaux souterraines [7] [8] [9] [10]. Il est projeté que la salinisation primaire va augmenter à l'avenir étant donné le contexte climatique, par exemple, la montée du niveau des océans exposera plus les sols côtiers aux sels [11]. Bien sûr, les activités humaines engendrent aussi de la salinisation des sols. La salinisation issue des activités anthropiques est ainsi appelée salinité secondaire. De nombreux processus en sont à l'origine comme le retrait de la couverture végétale (empêchant ainsi l'activité d'absorption des minéraux du sol), le rejet d'effluents industriels, l'utilisation excessive de fertilisants et l'irrigation mal contrôlée [6] [8].

Ce dernier processus, l'irrigation, est la cause anthropique majeure de l'augmentation des problèmes liés à la salinisation des sols. Cette méthode d'agriculture s'est fortement développée ces dernières années dans le but de faire face aux défis hydriques dans les régions arides et semi-arides mais aussi de faire face au challenge à venir de nourrir une population mondiale en nette augmentation (rappelons qu'il est estimé que la population mondiale sera constituée d'environ 9 milliard d'individus d'ici 2050) [12]. L'irrigation permet l'augmentation de la production agricole dans ces régions où la disponibilité en eau est faible (l'évapotranspiration excède la quantité de précipitation) et ne parvient pas à faire face aux besoins hydriques des plantes [11]. Néanmoins, une mauvaise pratique de cette méthode ne permet pas un bon lessivage des sels solubles à proximité des racines et induit ainsi des problèmes de salinisation [13] [14]. La gestion de l'eau est au cœur du problème. L'utilisation d'eau de mauvaise qualité issue par exemple de couches souterraines ou un mauvais système de drainage mènent à l'accumulation de sels solubles dans la zone racinaires des plantes qui en absorbent une quantité non négligeable [6] [15] [16]. Une meilleure pratique de l'irrigation, avec utilisation d'eau douce de bonne qualité, permettrait d'éviter dans une certaine mesure les problèmes de salinité. Cependant, d'après certains auteurs, même l'utilisation d'eau douce de bonne qualité ne serait pas suffisante sur une longue période. En effet, l'utilisation de la même eau au fur et à mesure du temps mènera progressivement à l'accumulation de sels dans le sol [6] [7]. De ce fait, il est essentiel d'élaborer un programme de gestion des cultures irriguées afin d'éviter ces problèmes.

Globalement, les activités humaines perturbent la balance hydrologique du sol entre eau fournie pour les plantes et eau transpirée par celles-ci [7].

La salinité représente un problème non négligeable dans le monde comme en témoignent ces chiffres [7] [11] [17]. La salinisation touche 954 millions d'hectares de terres cultivées, ce qui représente 7 % de la surface totale des terres émergées et 15% des surfaces cultivées. Les surfaces irriguées sont particulièrement touchées (20% d'entre elles). Près d'un milliard de personnes répartis dans une centaine de pays en souffrent.

Notons que ces valeurs sont en proie à une augmentation étant donné les changements climatiques en cours, l'augmentation des températures globales, la perturbation du régime des précipitations, l'augmentation des événements extrêmes (inondations, sécheresses) et ajouté à cela, l'impact direct des activités humaines. Par exemple, l'élévation du niveau des eaux marines pourrait accélérer l'intrusion d'eau salée dans les sols fertiles. Le régime des précipitations sera aussi nettement perturbé, une claire diminution dans les régions arides et semi-arides est prédite ce qui posera évidemment problème étant donné que l'activité agricole

dans ces régions repose essentiellement sur l'utilisation des eaux de surface et souterraines. Il faut donc s'attendre à l'avenir à ce que les problèmes liés à la salinité du sol prennent une large place dans le monde [18] [19] [20].

## 2.1. Impacts de la salinité du sol sur les plantes

La salinisation du sol entraîne un stress salin chez les plantes. Ce stress est complexe puisqu'il découle de l'interaction entre les processus de morphogénèse, physiologiques et biochimiques au sein des plantes. Il suit une cinétique pouvant être divisée en deux parties, la composante osmotique (étant la première à se manifester) et la composante ionique [16]. La composante osmotique correspond au fait que la salinité du sol compromet la capacité de la plante à y prélever de l'eau en raison de la baisse de potentiel hydrique de la solution du sol ce qui induit aussi un déséquilibre nutritif tandis que la composante ionique est directement liée à la toxicité des ions impliqués dans la salinité s'accumulant dans la plante avec le temps [7] [16].

En quantité faible ou exposition courte, la plante soumise au stress salin doit prélever l'eau du sol tout en s'assurant d'exclure les sels solubles (généralement les ions sodium et chlorures). Cette exclusion peut commencer à se faire directement au niveau de l'épiderme racinaire [21].

Le déséquilibre nutritif induit par la salinité est issu d'une part par la diminution de prise d'eau par la plante mais aussi par des effets de compétition entre ions. Il a été observé que les ions sodiums sont antagonistes à l'absorption de potassium par les plantes car leur rayon ionique est similaire [7]. En effet, les canaux à potassium ne sont pas complètement sélectifs tout comme certaines aquaporines (PIP) [22] [23]. Il est donc fréquent d'observer une carence en potassium lors de stress salin. Cet effet de compétition est aussi observé avec le phosphore et le calcium [7].

L'accumulation de sels dans la plante cause de nombreuses perturbations qui mènent à la formation d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) [24]. Comme leur nom l'indique, ces espèces sont très réactives et peuvent interagir avec de nombreux constituants cellulaires comme des protéines et les membranes. Les ROS peuvent aussi agir comme signaux (bien qu'en conditions normales, ils sont en quantité trop faible pour causer des dégâts) et sont des produits inévitables du métabolisme aérobie. Ces espèces sont donc importantes mais toxiques en grande quantité et peuvent causer des dégâts aux différents compartiments de la plante [25].

Le stress salin, à travers ses deux composantes, induit de nombreuses perturbations chez la plante et ce à différents niveaux, aussi bien morphologiques que biochimiques.

### 2.1.1. Croissance

Tous les stades de vie de la plante peuvent être affectés et ce, avant même le début de la croissance. La germination est une étape absolument cruciale du cycle de vie des plantes puisqu'elle détermine la vie de chaque individu et leur rendement plus tard. La salinité affecte la germination à différents niveaux. En premier lieu, elle entrave la phase d'imbibition en eau des graines en raison du potentiel osmotique bas du substrat. Lié à la composante osmotique, un déséquilibre en minéraux est aussi induit en raison de l'effet compétitif entre les ions de sels et les ions nutritifs (potassium, phosphore, etc.). De plus, les ions de sels solubles ont un effet toxique perturbant le métabolisme des protéines et des acides nucléiques. Tout cela affecte négativement cette étape cruciale et diminue considérablement le pourcentage de germination des plantes [7] [26].

Ensuite, la croissance de la plante est aussi affectée (figure 1). La salinité est globalement caractérisée par une concentration accrue en sels solubles, ceci induit une diminution du potentiel hydrique du substrat et entrave la capacité de la plante à prélever de l'eau (phase osmotique). La pression de turgescence est ainsi réduite ce qui limite la croissance. De plus, l'accumulation des ions de sels solubles (sodiums et chlorures par exemple) suite à l'exposition prolongée au stress perturbe les propriétés des parois et l'activité enzymatique inhibant encore plus la croissance (phase ionique) [7] [16] [27]. Ces ions entrant dans la plante peuvent être stockés dans les vacuoles des vieilles feuilles. Toutefois, en trop grande quantité, la compartimentalisation n'est plus possible et mène à la sénescence de ces feuilles ce qui réduit la surface foliaire photosynthétique contribuant aussi à la réduction de croissance [28].

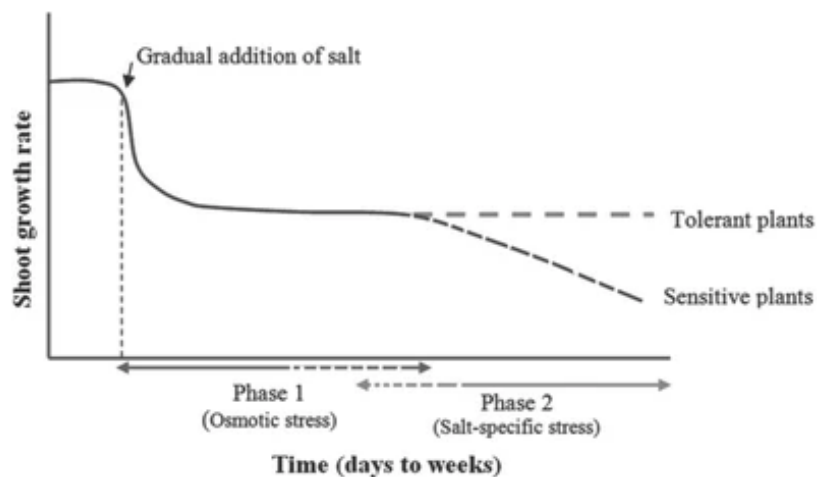


Figure 1. Graphe illustrant l'impact de la salinité sur la croissance des tiges en lien avec la cinétique à 2 phases du stress salin. En abscisse, les 2 phases du stress salin et en ordonnée, le taux de croissance de la tige. Le graphe met en évidence la diminution de croissance de la tige avec l'ajout graduel de sel [7].

### 2.1.2. Physiologie

La salinité impacte également la physiologie des plantes. L'activité photosynthétique est aussi affectée négativement étant donné que la salinité diminue la croissance (et donc la surface foliaire) et l'ouverture des stomates ce qui limite la fixation de CO<sub>2</sub> [7] [16]. Notons que la déshydratation des membranes cellulaires amoindrit leur perméabilité au CO<sub>2</sub>. Ajouté à cela, le stress salin provoque une diminution de la teneur en chlorophylle étant donné la haute réactivité des ROS (ils provoquent par exemple des dégâts aux membranes des chloroplastes). Cela perturbe l'activité des photosystèmes et contribue encore plus à la diminution de l'activité photosynthétique [7]. Rappelons que les principaux sites de production des ROS sont situés dans les compartiments cellulaires à haute activité oxydante comme les mitochondries, les peroxysomes et les chloroplastes [29]. Le stress salin perturbe l'équilibre entre formation de ROS (lors de la photosynthèse, mais aussi de la respiration par exemple) et l'activité antioxydante [8]. L'activité photosynthétique est donc particulièrement sensible au stress salin.

Les relations hydriques au sein de la plante sont aussi perturbées. En effet, la salinité du sol diminue la disponibilité de l'eau et donc entrave le prélèvement d'eau par les racines, d'autant plus que l'entrée progressive d'ions dans les racines diminue leur potentiel osmotique [7]. Le continuum entre prélèvement d'eau du sol par les racines et transpiration par les feuilles est nettement affecté. La perte d'eau par transpiration n'est plus suffisamment compensée par le prélèvement d'eau ce qui mène progressivement à la déshydratation [30]. Une conséquence majeure de cela est la fermeture des stomates ce qui induit, en plus des impacts photosynthétiques, l'augmentation de la température des feuilles [31]. Notons tout de même que la diminution de l'ouverture des stomates peut être un mécanisme de tolérance dans la mesure où cela diminue le flux hydrique ce qui permet une économie d'eau et diminue l'exposition aux ions salins qui sont toxiques [32].

Le stress salin induit aussi des dommages physiologiques directement via les ions salins et leur toxicité. Tout d'abord, ces ions entravent la nutrition minérale. Par exemple, les ions sodiums ont un fort effet inhibiteur sur le prélèvement de potassium [7]. Ceci s'explique par la similarité dans leur structure chimique ainsi que par le fait que les plantes disposent d'un système à faible affinité pour le prélèvement et le transport de potassium (ainsi que d'un

système à forte affinité) [22] [33]. Etant proche chimiquement du potassium, le sodium est alors absorbé et transporté à la place du potassium ce qui induit une carence en potassium et les impacts associés comme la réduction de croissance, la perturbation de l'activité de certaines enzymes, etc [33] [34].

### *2.1.3. Phase reproductive*

La salinité du sol impacte aussi la phase reproductive des plantes. L'inhibition de la floraison est due à plusieurs facteurs liés au stress salin, la déficience en potassium et phosphore (rappelons que le stress salin induit un déséquilibre en nutriments), l'accumulation d'ions toxiques, le faible approvisionnement en carbone (en raison de la diminution de l'activité photosynthétique et de la croissance foliaire) [35]. Tous ces facteurs peuvent affecter la phase reproductive de différentes manières, diminution du nombre d'inflorescences, diminution du nombre de grains de pollen et de leur viabilité, avortement des fleurs, avortement des ovaires, diminution de croissance des parties florales. La floraison peut aussi être retardée [35] [36]. Il est important de préciser que ces impacts peuvent varier d'une espèce à l'autre, par exemple le temps floraison peut être accéléré plutôt que d'être retardé. Dans ce cas, le stress salin (tout comme d'autres stress) peut agir comme un activateur de floraison [37].

Tous ces impacts cumulés affectent irrémédiablement le rendement des plantes ce qui représente un véritable problème pour l'agriculture et l'approvisionnement en nourriture de la société.

## **2.2. Méthodes pour remédier à la salinité**

Plusieurs moyens existent afin de remédier au problème de salinité du sol. Tout une série de moyens physiques sont parfois mis en œuvre comme le « scrapping » (grattage en français) qui consiste tout simplement à retirer la couche supérieure (surface) du substrat. La couche inférieure dont la teneur en sels solubles est moins importante est par la suite utilisée pour la culture. L'inconvénient de cette méthode est qu'elle ne fonctionne qu'à court terme étant donné que le sel s'accumule à nouveau, le problème n'est jamais totalement réglé et les coûts sont conséquents. La méthode du « flushing » (rinçage) consiste à rincer la surface du sol avec de l'eau afin là aussi de procéder au retrait de la couche supérieure du sol concentrée en sel. L'utilisation de cette méthode aussi n'est pas judicieuse à long terme étant sa faible efficacité au fur et à mesure du temps. Une dernière méthode physique est le « leaching » (lessivage). Celle-ci vise à provoquer le lessivage des sels solubles en appliquant de l'eau sur le substrat.

Le lessivage est relativement efficace mais la quantité d'eau nécessaire varie en fonction des caractéristiques du sol [8] [38] [39].

Le recours aux produits chimiques est aussi possible. Des produits à base de gypse ont à plusieurs reprises été testés. Il s'avère que le gypse est relativement efficace pour alléger le sol en sodium et représente donc une solution possible pour traiter les sols sodiques. Néanmoins, l'utilisation de produits chimiques requièrent une caractérisation précise du substrat afin de savoir précisément quelle quantité et quel produit employer [8] [40] [41] [42].

Comme vu précédemment, remédier à la salinité du sol est une action difficile à effectuer. Ce n'est d'ailleurs pas toujours possible et trop coûteux. C'est pourquoi, depuis des années, l'utilisation et le développement de plantes tolérantes au sel a été mise en œuvre. Plusieurs de ces espèces ou cultivars sont ainsi cultivées et présentent un bon rendement. Le principal avantage du recours aux plantes tolérantes à la salinité est le fait qu'avec ce matériel, le besoin de traiter le substrat est moindre [8]. Il est évidemment toujours important d'éviter la salinisation des sols.

## 2.3. Stratégies de résistance à la salinité

Au cours de l'évolution, certaines plantes ont développé des mécanismes de résistance face aux différents stress abiotiques y compris face au stress salin.

### 2.3.1. Exclusion d'ions

Dans un premier temps, la plante peut user de mécanismes d'exclusion des ions toxiques. Ces mécanismes prennent place directement au niveau de l'extrémité des racines où l'absorption se produit. Les recherches ont mis en lumière un locus nommé *SOS1* (*SALT OVERLY SENSITIVE*) codant pour des antiports  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  situés au niveau de la membrane plasmique. *SOS1* est exprimé au niveau de plusieurs régions (organes et tissus) de la plante [43]. Des études ont révélé que ces transporteurs étaient particulièrement présents dans les cellules épidermiques de l'apex des racines (afin d'assurer une protection des cellules méristématiques) et dans les cellules parenchymateuses aux abords du xylème. Il semblerait donc que le système *SOS1* (en interaction avec *SOS2* et *SOS3* comme régulateurs de l'activité de *SOS1*) soit impliqué dans l'exclusion des ions sodiums vers le sol au niveau de la plante entière. Le rôle exact du système *SOS1* est assez complexe dans la mesure où des études révèlent qu'il n'agirait pas uniquement dans l'exclusion mais aussi dans le chargement du sodium vers le xylème pour stimuler le transport et la séquestration dans les feuilles [16] [44]. D'autres protéines sont impliquées dans l'exclusion des ions sodiums. Ce sont les transporteurs *HKT* (*HIGH-AFFINITY K<sup>+</sup> TRANSPORTER*), ceux-ci sont impliqués dans le retrait d'ions sodium du xylème afin de protéger les parties aériennes de la toxicité [45] [46].

Les études s'intéressant aux ions chlorure sont bien moins nombreuses que celles sur le sodium. Néanmoins, une famille de canaux appelée *SLAC* (*SLOW ANION CHANNELS*) serait impliquée dans l'exclusion d'ions chlorures [47].

### 2.3.2. Séquestration vacuolaire

Un des objectifs majeurs de la plante est d'éviter que les ions toxiques ne s'accumulent dans le cytosol où ils pourraient causer de nombreux dommages [16]. Pour ce faire, il existe un système de séquestration des ions sodium dans la vacuole des cellules. Celui-ci fait intervenir des antiports  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  de la famille *NHX* («  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  antiporter ») au niveau du tonoplaste [48] [49]. Néanmoins, ce système est complexe et il semblerait que ces transporteurs ne soient pas les seuls impliqués dans la séquestration des ions sodiums au sein de la vacuole. De plus, des études récentes ont montré que les transporteurs *NHX* présentent une grande affinité pour le

potassium, supérieure à celle pour le sodium [50]. D'ailleurs, les NHX jouent un rôle important dans l'homéostasie du potassium. Ceci suggère qu'il doit y avoir d'autres intervenants et mécanismes en jeu [48] [50].

Concernant les ions chlorure, plusieurs familles de canaux et transporteurs ont été identifiés comme les canaux à Cl<sup>-</sup> de la famille CLC et les transporteurs de malate activé par l'aluminium de la famille ALMT [51]. Les CLC ont été localisés dans différentes membranes dont plusieurs au niveau du tonoplaste chez *Arabidopsis thaliana*. Ces canaux seraient impliqués dans la séquestration vacuolaire. Une étude sur *A.thaliana* a d'ailleurs montré qu'une surexpression d'un gène codant pour des canaux CLC du tonoplaste induit une plus grande accumulation d'ions chlorure dans la vacuole [52]. Des résultats similaires ont été obtenus sur d'autres espèces.

### 2.3.3. L'ajustement osmotique

Pour rappel, le stress salin peut être divisé en deux composantes cinétiques, la composante osmotique et la composante ionique. La composante osmotique est liée à un faible potentiel osmotique de la solution du sol en raison de la concentration en sels solubles. Ceci entrave l'absorption d'eau par la plante. Certaines plantes ont la capacité de remédier à ce problème en faisant ce qui s'appelle un ajustement osmotique [7] [8]. L'ajustement osmotique d'une plante consiste à ce que celle-ci accumule des composés appelés osmolytes dans le cytoplasme cellulaire afin de diminuer son potentiel osmotique et ainsi assurer son approvisionnement en eau [16]. En fait, il existe deux grandes stratégies d'ajustement osmotique (figure 2), l'accumulation d'ions inorganiques ou la synthèse de composés organiques [7] [8].

Les osmolytes organiques (tout comme les ions impliqués dans l'ajustement osmotique) ont pour but premier de maintenir la pression de turgescence afin de maintenir le prélèvement de l'eau du sol. La particularité de ces molécules est qu'elles ne perturbent pas le métabolisme cellulaire. De plus, des études ont révélé que les osmolytes organiques exerçaient même une action envers les radicaux libres (rappelons que la perturbation du métabolisme engendrée par le stress salin mène à la formation de ROS) [53]. Il s'avère qui plus est qu'elles peuvent avoir une activité de stabilisation de membranes et protéines ou stimuler les protéines chaperonnes exerçant ce rôle [8] [54]. Plusieurs molécules peuvent exercer ce rôle osmoprotecteur.

La proline, un acide aminé, est l'une de ces molécules. En plus de son rôle dans l'ajustement osmotique, cet acide aminé peut exercer toute une série de rôles comme protéger l'intégrité de protéines stimulant ainsi l'activité enzymatique, l'activité antioxydante, le maintien des ratios

NADP<sup>+</sup>/NADPH pour le métabolisme (le bon niveau de ce ratio maintien entre autres l'activité antioxydante pour faire face aux stress), etc. La production est souvent amplifiée lorsque la plante subit un stress. Lorsque le stress est terminé, la proline joue encore un rôle bénéfique dans la mesure où sa dégradation fournit des agents réducteurs important pour l'activité de respiration (phosphorylation oxydative) et donc l'obtention d'énergie [55]. La biosynthèse de la proline est issue de l'acide glutamique et nécessite l'activité de plusieurs enzymes [56]. L'augmentation de la teneur en proline dans le cytosol cellulaire lors d'un stress est un processus très fréquent chez les plantes et peut faire intervenir deux voies métaboliques, une dépendante de l'acide abscissique (celui-ci stimule l'expression d'un gène codant pour une des enzymes de synthèse) et une autre indépendante de cette hormone. D'ailleurs, cette augmentation est corrélée avec la résistance au stress. Les plantes tolérantes au stress présentent généralement une concentration plus élevée en proline que les plantes sensibles [8] [57].

La glycine bêtaïne est une autre molécule à rôle d'osmoprotecteur [8]. Cette molécule est synthétisée à partir de choline qui est convertie en bêtaïne aldéhyde avant d'être transformée en glycine bêtaïne (via catalyse enzymatique). D'autres voies de synthèse existent mais la voie de la choline est commune à toutes les espèces pouvant accumuler de la glycine bêtaïne [55]. En effet, au contraire de la proline, toutes les plantes ne produisent pas de glycine bêtaïne. Plusieurs familles en produisent comme les *Amaranthaceae*, les *Poaceae* et les *Malvaceae* par exemple [55]. La concentration de ce métabolite augmente en cas de stress et particulièrement encore chez les plantes résistantes. Tout comme la proline, la glycine bêtaïne est impliquée dans l'ajustement osmotique, l'activité antioxydante et le maintien de l'intégrité des membranes et des protéines [58]. De plus, elle est impliquée dans l'homéostasie du phosphate [59]. Cette molécule présente de nombreuses actions bénéfiques mais n'est pas présente chez toutes les plantes (contrairement à la proline) [8] [55].

D'autres types de composés peuvent être utilisés par les plantes en guise d'osmoprotection comme des polyamines, des sucres et des protéines [60]. Notons tout de même que ce système de synthèse de composés organiques pour l'ajustement osmotique (et autres actions citées précédemment) est coûteux par rapport à l'utilisation d'éléments minéraux et que son efficacité dépend des conditions environnementales et de l'espèce affectée.

Les plantes peuvent effectuer l'ajustement osmotique par accumulation d'ions inorganiques [16]. Ce système se base généralement sur l'accumulation d'ions potassium étant donné que celui-ci est très abondant chez les plantes et non toxique. Cependant, en stress salin, l'absorption de potassium par la plante est entravée à cause de la présence des ions sodiums et de l'effet de

compétition entre ces deux éléments (de par la similarité de leur rayon ionique). Dans ce cas, l'utilisation directement des ions sodiums et chlorures pour l'ajustement osmotique est observée chez certaines plantes résistantes [61]. Ce système fait appel aux différents canaux et transporteurs dont nous avons discuté plus tôt (et certainement d'autres intervenants non connus). L'usage de ces ions pour cette action implique que la plante possède une régulation complexe étant donné qu'ils sont tout de même toxiques. Cette régulation doit assurer le transport et la coordination notamment avec le système de séquestration vacuolaire [16] [18].

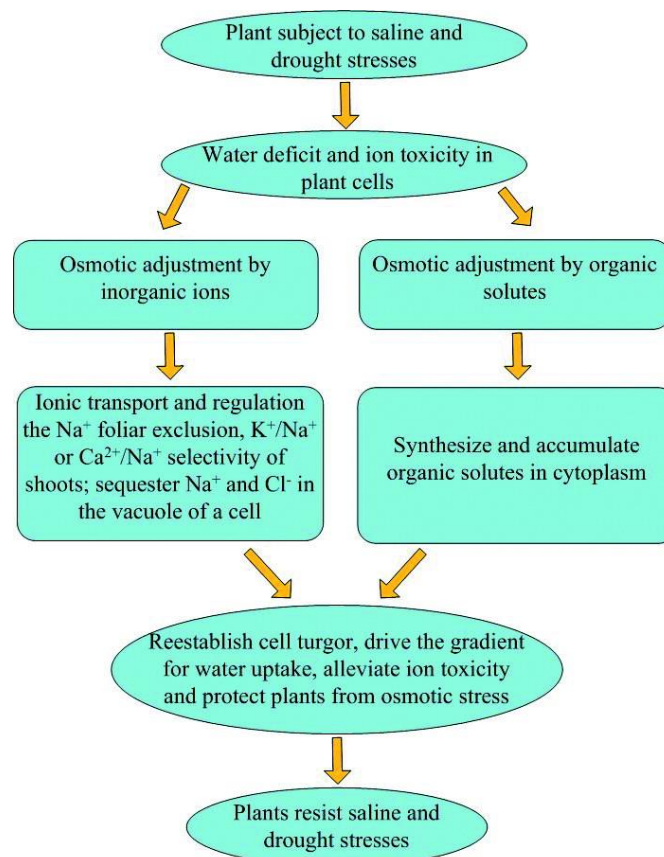


Figure 2. Stratégies d'ajustement osmotique. La figure illustre les 2 principales stratégies d'ajustement osmotique [61].

#### 2.3.4. Les antioxydants

Comme nous l'avons vu précédemment, le stress salin, par l'intermédiaire de ses deux composantes, induit la formation de ROS. Ces molécules sont importantes dans la signalisation de la plante mais sont dangereuses par nature en raison de leur haute réactivité [62]. Ces espèces réactives doivent être neutralisées par des molécules antioxydantes. Pour ce faire, les plantes ont développé un véritable système antioxydant mettant en œuvre différents composés comme des pigments (caroténoïdes, bétalaïnes), le glutathion, de l'ascorbate et diverses enzymes

comme la superoxyde dismutase et des catalases [63]. Ce système est en activité chez de nombreuses plantes mais peut être dépassé lorsque le stress induit une trop grande formation de ROS. Une corrélation entre la stimulation de l'activité antioxydante et la tolérance au stress salin est fréquemment observée chez plusieurs espèces [8] [64].

### 3. Les amarantes

#### 3.1. Présentation

*Amaranthus* est un genre de plantes herbacées de l'ordre des *Caryophyllaceae* et de la famille des *Amaranthaceae* comprenant environ 70 espèces communément appelées amarantes. Ces dicotylées, la plupart du temps monoïques (bien que certaines soient dioïques) et annuelles, peuvent être classées en deux groupes selon leur consommation. Les amarantes feuilles sont cultivées essentiellement en vue de la consommation des feuilles riches en protéines et autres nutriments. Les trois espèces majeures d'amarante feuilles sont *A.tricolor*, *A.blitum* et *A.cruentus* parmi de nombreuses autres. La culture et la consommation des amarantes feuilles ont lieu principalement en Afrique. Les amarantes graines, quant à elles, sont cultivées pour leurs graines riches aussi en protéines et nutriments. Elles sont considérées comme des pseudo céréales étant donné que leurs graines sont consommées à la manière des céréales. Néanmoins, ce ne sont pas des céréales, ce sont bien des plantes dicotylées et non des graminées. Trois espèces majeures sont concernées, *A.cruentus*, *A.caudatus* et *A.hypochondriacus*, toutes originaires d'Amérique Centrale et du Sud. Les amarantes graines sont principalement cultivées en Amérique (Sud et Nord) et en Asie (notamment en Chine). Les amarantes, de par leurs inflorescences parfois très colorées, peuvent aussi être utilisées en ornementation. Notons que l'espèce *A.cruentus* (qui est au centre de ce travail) peut faire l'objet des deux usages de consommation (selon la variété) [65]. Dans le cadre de ce travail, nous nous intéressons à des variétés d'amarante graines.

La culture des amarantes graines est très ancienne étant donné qu'elle était déjà pratiquée par les civilisations précolombiennes comme les Mayas, les Aztèques et les Incas. Les graines d'amarantes représentaient un élément central de l'alimentation et de la culture de ces civilisations. Cependant, cette culture a nettement diminué suite à la colonisation du continent américain par les européens. En effet, ils amenèrent avec eux les cultures d'Europe au détriment de certaines cultures du nouveau monde dont les amarantes. De plus, la culture des amarantes était associée aux cultes religieux des civilisations autochtones qui ont été prohibés par les européens à leur arrivée afin d'imposer le christianisme. La culture des amarantes a ensuite été

dispersée à travers le monde mais globalement, elle s'est cantonnée à une pratique à petite échelle durant les siècles suivant jusqu'à récemment où un regain d'intérêt s'est produit en raison de plusieurs caractéristiques intéressantes de ces plantes [65] [66].

### 3.2. Intérêts d'étude des amarantes graines

Depuis quelques années, les amarantes graines sont au centre de l'intérêt de nombreux agriculteurs et chercheurs. Ceci peut s'expliquer par plusieurs raisons. Tout d'abord ce sont des plantes se développant rapidement et produisant beaucoup de graines [65] [66]. Cette croissance rapide est à attribuer au métabolisme de photosynthèse en C<sub>4</sub> des amarantes. La photosynthèse en C<sub>4</sub>, via la fixation du CO<sub>2</sub> par le phosphoénolpyruvate, permet d'assurer un bon rendement photosynthétique (une bonne production de biomasse). Rappelons que la Rubisco, l'enzyme fixatrice de CO<sub>2</sub> présente chez les plantes, ayant pour fonction de fixer uniquement du CO<sub>2</sub>, fixe parfois de l'O<sub>2</sub> étant donné l'affinité qu'a la Rubisco pour ce gaz et l'abondance d'O<sub>2</sub> dans l'atmosphère. La fixation d'O<sub>2</sub> réduit le rendement photosynthétique étant donné que c'est un cycle de photorespiration qui sera effectué au lieu du cycle de Calvin. Les plantes en C<sub>4</sub> n'ont donc pas ce problème et peuvent allouer plus d'énergie dans leur croissance [67]. Notons que cette efficacité photosynthétique supérieure par rapport au métabolisme de photosynthèse en C<sub>3</sub> dépend des facteurs environnementaux et notamment la température [67] [68].

La qualité nutritionnelle des graines d'amarantes est aussi très intéressante (tableau 1). Plusieurs études se sont intéressées au contenu nutritionnel des graines d'amarantes tout en les comparant à d'autres espèces cultivées. Le contenu protéique des graines d'amarantes est riche, il représente entre 13 et 21% de la masse sèche. En comparaison, le contenu protéique des grains de riz représente près de 7%, celui du maïs près de 10% et celui du blé environ 13% [69]. En plus de la plus grande richesse en protéines par rapport aux céréales classiques, la qualité des protéines est aussi supérieure. Le contenu protéique est essentiellement composé de globulines et d'albumines et non de prolamines contrairement à la plupart des principales espèces cultivées. Les protéines prolamines sont une source de gluten ce qui est problématique pour les personnes y étant intolérantes. Les graines d'amarantes représentent donc ici une source de nourriture sans gluten [70]. Les globulines et albumines contiennent moins d'acide glutamique et de proline que les prolamines et plus de lysine ce qui fournit un contenu très équilibré en acides aminés essentiels aux graines sachant que les espèces classiques comme le riz, le maïs et le blé présentent un contenu faible en lysine [69]. Le contenu en matières grasses est aussi riche, nettement plus riche que le riz et le blé par exemple. Et de qualité avec une large

proportion en acide linoléique étant une source d'oméga-6 [71]. Rappelons que les oméga-6, en équilibre avec les oméga-3 ayant une action antagoniste, sont important pour la santé humaine notamment dans la prévention de maladies dégénératives comme les cancers, les maladies cardiovasculaires, auto-immunes, etc [72] [73]. D'autres composés importants sont présents comme le squalène étant un puissant antioxydant, des saponines, des tannins, des phénols, des tocophérols, des tocotriénols, des flavonoïdes ayant des actions antiinflammatoires et anticancéreuses [71]. Enfin, les graines d'amarantes présentent un contenu riche en calcium, magnésium et fer ce qui est une fois de plus intéressant pour les personnes intolérantes au gluten étant donné que les produits sans gluten sont généralement pauvres en ces nutriments [70].

**Tableau 1. Qualité nutritionnelle des 3 espèces à graines d'amarante en comparaison avec des céréales classiques**

Components	<i>A.cruentus</i>	<i>A.hypochondriacus</i>	<i>A.caudatus</i>	Rice	Wheat	Maize
Proximate composition (% dry weight basis)						
Crude protein	13.80–21.50	15.00–16.60	13.10–21.00	6.80	13.20	10.00
Crude fat	5.60–8.10	6.10–7.30	5.80–10.90	1.00	2.70	5.20
Crude fibre	3.10–4.20	4.90–5.00	2.70–4.90	4.10	12.20	9.30
Carbohydrate	63.10–70.00	67.90–70.00	63.70–76.50	78.20	65.70	72.80
Amino acids (% of total protein)						
Tryptophan	0.90	1.80	1.40	1.00	1.20	0.60
Methionine	4.60	1.60	4.20	3.00	3.50	3.20
Threonine	3.90	3.30	3.40	3.70	2.70	4.00
Isoleucine	4.00	2.70	3.60	4.50	4.10	4.60
Valine	4.50	3.90	4.20	6.70	4.30	5.10
Lysine	6.10	5.90	5.20	3.80	2.60	1.90
Phenylalanine	8.50	8.52	6.00	9.10	8.10	10.60
Leucine	6.10	4.20	5.10	8.20	6.30	13.00

Ce tableau illustre le contenu en protéines, lipides, fibres, sucres et acides aminés de 3 espèces d'amarantes, du riz, du blé et du maïs [69].

De plus, les amarantes graines présentent une certaine tolérance à différents stress abiotiques comme la sécheresse, la salinité du sol et les hautes températures [74] [75] [76]. Cette capacité de tolérance serait due à la grande efficacité d'utilisation de l'eau (WUE : Water Use Efficiency) des amarantes graines liée à leur métabolisme en C<sub>4</sub> et à leur capacité de développement d'un grand système racinaire afin de contrecarrer la diminution de disponibilité de l'eau du sol [74] [77] [78]. En outre, à travers leur histoire, les amarantes ont été cultivées

dans une large gamme d'environnements différents conférant de ce fait une grande adaptabilité [77].

Les amarantes graines représentent une véritable potentielle source alternative de nourriture étant donné le contexte climatique actuel et la situation agricole mondiale. Aujourd'hui, la majeure partie de l'alimentation végétale mondiale repose sur seulement quelques espèces [4]. Il y a un besoin de diversifier les cultures afin d'atténuer l'impact des variations environnementales. En effet, plus d'espèces différentes cultivées permettrait de diminuer le risque d'effondrement total de l'approvisionnement en nourriture de la population et serait qui plus est, une sécurité économique pour les agriculteurs dont la source de revenus reposerait sur un plus grand nombre d'espèces. Cela permettrait aussi de complexifier les agroécosystèmes et donc d'améliorer leur réponse aux stress. La diversification des cultures prodiguerait d'autres bienfaits comme l'amélioration des propriétés du sol via la stimulation de l'activité microbienne ou le renforcement de la structure par exemple [79]. Les amarantes sont des candidates idéales dans cette optique.

### 3.3. Description d'*A. cruentus*

*A. cruentus* est une herbacée annuelle dont le cycle de vie dure environ 5 mois. Le système racinaire est pivotant, c'est-à-dire composé d'une grande racine centrale principale. Les tiges sont épaisses, droites, ramifiées et peuvent monter jusqu'à deux mètres. Les feuilles sont simple, spiralées et de forme ovale à rhombique. Ces plantes sont monoïques, les fleurs sont donc unisexuées et rassemblées en inflorescences terminales et axillaires avec une grande variabilité de couleur selon les variétés (figure 3). Les inflorescences inférieures forment des épis tandis que les inflorescences supérieures forment des panicules. Les fleurs sont constituées de 5 tépales lancéolés de 2-3 mm, cinq étamines ou trois stigmates et sont accompagnées de bractées aussi longue que les tépales. Les fruits sont ovoïdes avec l'apex large, mesurent entre 2 et 2,5 mm et sont déhiscents. Les graines, de couleur variable aussi, sont lenticulaires et ne mesurent pas plus de 2 mm [65] [80].



Figure 3. Différents morphotypes d'*A. cruentus* [65].

## 4. Présentation et objectifs de l'étude

L'objectif de cette étude est de déterminer les mécanismes physiologiques impliqués dans la tolérance à la salinité chez *A.cruentus*. Plus précisément, l'étude se concentre sur 2 variétés. Rappelons que ces plantes présentent un intérêt nutritionnel et une certaine résistance à différents stress abiotiques. Dans notre contexte environnementale actuel, ces plantes représentent une potentielle source alternative de nourriture. Leur étude est donc d'un intérêt certain.

Les deux variétés, Don Leon et Montana 5, ont été sélectionnées suite à un screening de dix variétés dont le but était de déterminer leur niveau de tolérance au stress salin. Don Leon a été identifiée comme tolérante à la salinité et Montana 5 comme sensible à la salinité. Les individus ont été cultivés sous 75 mM de NaCl. Ce travail présente plusieurs objectifs spécifiques comme comparer la résistance au niveau croissance et reproduction, observer l'impact sur la nutrition minérale et l'impact sur l'ajustement osmotique. L'étude vise à confirmer le caractère sensible et tolérant des 2 variétés et à comparer leurs mécanismes de tolérance. Pour ce faire, plusieurs paramètres ont été mesurés comme la hauteur des individus, le nombre de feuille, le contenu en azote et en chlorophylle, la température des feuilles, le taux de photosynthèse nette, le WUE, la teneur en sodium, en potassium, en calcium, etc. Des paramètres biochimiques ont aussi été mesurés par la suite comme la teneur en proline, en glycine bêtaïne et en sucres solubles.

# Matériel et méthodes

## 1. Matériel végétal et conditions de croissance

L'étude s'est intéressée à l'impact de la salinité du sol sur deux variétés de graines d'*A. cruentus*. La variété Montana 5 est considérée comme sensible à la salinité tandis que la variété Don Leon est tolérante. Les graines ont été obtenues à la banque de gènes de Prague « Plant Crop Research Institute » (n° d'accès Montana 5 : 01Z5200032 ; n° d'accès Don Leon : 01Z5200166).

Les semis ont été réalisés le 3 février 2022 dans des bacs communs avec un mélange de terreau et de sable (en proportion 2/3 : 1/3 en volume respectivement) et recouverts d'une vitre jusqu'à germination. Après retrait de la vitre, les semis ont été arrosés avec de l'eau de pluie régulièrement. Une partie des plantules ont ensuite été transférées le 16 février dans des pots individuels de 0,18 L contenant un mélange de perlite-vermiculite (en proportion 50 ; 50). Quelques jours après le repiquage et à fréquence de 2-3 fois par semaine, la moitié des individus ont été soumis à une dose de 75 mM de NaCl avec de la solution nutritive Hoagland (cfr. Annexe A) tandis que les plantes contrôles sont simplement arrosées avec de la solution nutritive Hoagland. Le 3 mars, les plantes ont été transférées dans des pots individuels de 2,5 L avec de la perlite-vermiculite (en proportion 50 : 50) et disposées en split plot (figure 4). Le split plot consiste à disposer les individus dans des blocs contenant des sous blocs auxquels on applique de manière homogène l'un ou l'autre traitement, ces blocs étant répliqués dans l'espace. Au sein des sous blocs, les individus sont disposés en différentes combinaisons alternants les variétés afin d'assurer une dispersion parfaitement homogène et donc d'éviter au maximum un éventuel effet lié à l'hétérogénéité de l'environnement. Les plantes ont été exposées à la salinité en serres dans des conditions environnementales semis contrôlées [photopériode 16 h d<sup>-1</sup>, température 24°C et 22°C le jour et la nuit respectivement, humidité relative de 65%, intensité lumineuse minimale de 120 μmoles/m<sup>2</sup>s maintenue grâce à un éclairage supplémentaire (Lumigrow Pro 650 W). Au total, 108 individus ont été étudiés, 54 par traitement, 18 par bloc de réplicats. La récolte finale a eu lieu après 5 mois d'expérience.

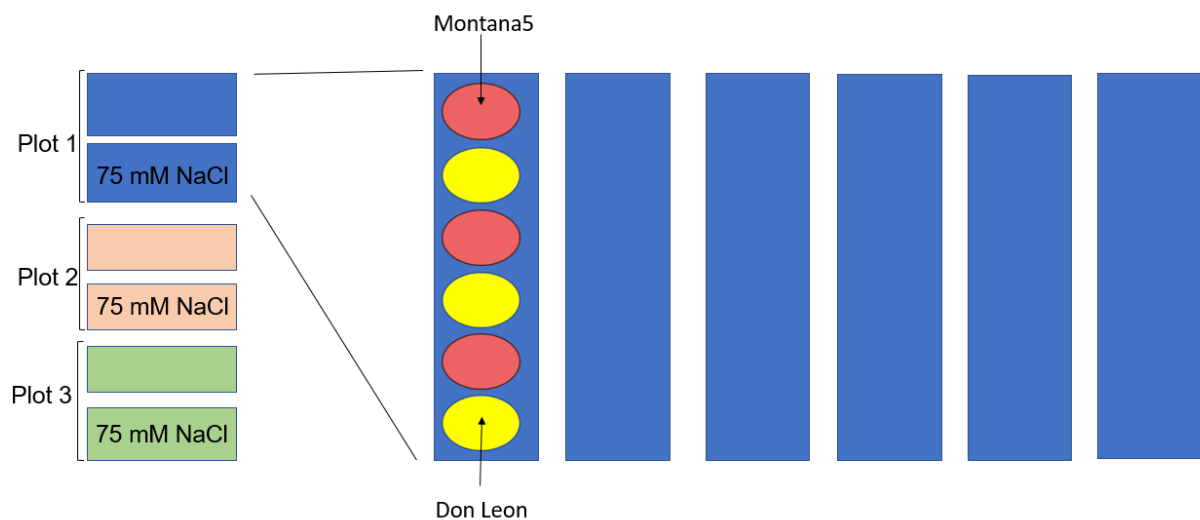


Figure 4. Schéma illustratif du split plot. On y voit les trois plot (représentés par 3 couleurs, bleu, rouge et vert) chacun divisés en deux blocs chacun, un contrôle et un salin. Chaque bloc contient six bacs avec six individus (2 couleurs de cercle pour illustrer les 2 variétés par bac).

## 2. Mesures de croissance

A partir du 25 février (22 jours post-semis) et ce chaque semaine pendant dix semaines, des mesures de croissance ont été effectuées sur 10 individus : la hauteur des plantes et nombre de feuilles. La hauteur des individus a été prise de l'insertion des cotylédons jusqu'à l'extrémité de la feuille la plus jeune. Concernant le nombre de feuille, les cotylédons n'ont pas été pris en compte. Au cours de l'expérience, de nombreuses feuilles sont tombées. Dès lors, avant chaque comptage des feuilles, une faible force a été exercée sur les feuilles basales afin de s'assurer de ne pas compter des feuilles sénescentes sur le point de tomber.

Quelques paramètres de la phase reproductive ont été mesurés comme la date de floraison chez toutes les plantes mesurée à partir de l'apparition de la première inflorescence.

## 3. Mesures physiologiques

Des mesures physiologiques ont été prises le 17 mars (42 jours post-semis) et le 21 avril (77 jours post-semis) à l'aide de deux machines, le PNA ( Plant Nutritional Analyzer, Panmex inc.) et l'IRGA (iFL Integrated Fluorometer Gas Exchange System, ADC Bioscientific Inc). Le PNA permet de mesurer instantanément le contenu en chlorophylle (en unité SPAD), le contenu en azote (en mg/g) et la température (en °C) de la feuille. Les mesures au PNA ont été réalisées

une fois 42 jours après semis ( $n = 9$ ) et une seconde fois 77 jours après semis ( $n = 4-6$ ). Chacun de ces individus a été mesuré 3 fois sur une feuille jeune et suffisamment développée afin de s'assurer de la cohérence de la mesure. Les mesures d'IRGA ont été effectuées en suivant les conditions ambiantes de température, d'humidité relative et de concentration en  $\text{CO}_2$ . Les courbes de réponse à la lumière se sont effectuées en 15 étapes de 3 minutes en allant de  $0 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  à  $1875 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  par augmentation de  $125 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ . Avant chaque augmentation d'intensité lumineuse, l'IRGA a enregistré le taux de photosynthèse nette et de transpiration, la conductance stomatique et le rendement quantique du photosystème II. L'IRGA permet donc de mesurer de nombreux paramètres comme le rendement quantique du photosystème II, le taux de transport d'électrons, le taux de photosynthèse nette et le WUE (« Water Use Efficiency»). Les mesures d'IRGA ont été réalisées sur 8 individus ( $n = 2$ ) et chacun de ces individus a été mesuré 1 fois sur une feuille jeune et développée.

#### 4. Récoltes

Deux récoltes ont été effectuées. La première récolte a eu lieu à 50 jours post-semis. La deuxième récolte a eu lieu au fur et à mesure de la maturation des graines dans le courant du mois de juin/juillet. Pour chaque individu, les différentes organes (tiges, feuilles et racines) de la plante ont été séparées. La masse fraîche de chaque partie (hormis la partie racinaire) a été mesurée (tout comme la hauteur et le nombre de feuille) directement avant la mise en étuve pour le séchage à  $70^\circ\text{C}$  pendant 48-72h et pesée de la masse sèche. Pour d'autres plantes, quatre feuilles jeunes mais bien développées ont été séparées du reste de la partie foliaire, congelées dans de l'azote liquide puis stockées à  $-80^\circ\text{C}$  pour les analyses biochimiques. Avec la masse fraîche et la masse sèche, la teneur en eau des plantes a été calculée via la formule suivante :  $((\text{masse fraîche} - \text{masse sèche}) / \text{masse fraîche}) * 100$ . Lors de la deuxième récolte, la masse de graine par plante a été mesurée.

#### 5. Minéralisation

Le dosage des différents minéraux a été réalisé dans les graines, les feuilles et les tiges. Pour chaque échantillon ( $n = 6$  pour les feuilles et tiges.  $N = 5$  pour les graines), entre 50 et 100 mg de masse sèche a été prélevé. Cette matière a été dissoute dans 4 mL d'acide nitrique concentré (68%) en 2 étapes : une nuit à température ambiante, puis quelques heures d'évaporation sur un bain de sable chauffant. Après dissolution complète et évaporation de l'acide, 2 mL d'eau régale

(mélange d'acide chlorhydrique concentré (37%) et d'acide nitrique concentré (68%) en proportion 75% : 25% respectivement) a été ajoutée pour resolubiliser les minéraux (chauffage au bain de sable pendant quelques minutes). Après resolubilisation complète, de l'eau déminéralisée a été ajoutée pour porter le volume total à 10 mL et les solutions ont été filtrées.

Pour chaque échantillon, 3 solutions diluées (10x, 100x et 1000x) sont préparées avec ajout de chlorure de lanthane de telle sorte à obtenir une concentration finale de 1% (m/v). Le dosage est ensuite effectué par spectrométrie à absorption atomique (ICE 3300, Thermo Scientific, Waltham, MA, USA). Au niveau des graines et des feuilles, 7 éléments chimiques ont été dosés : sodium, potassium, calcium, magnésium, fer, zinc et cuivre. Seuls le sodium et le potassium ont été dosés au niveau des tiges. Les teneurs sont exprimées en mg/g de masse sèche.

## 6. Mesures biochimiques

### ➤ Dosage des sucres solubles :

Le dosage des sucres solubles (24 échantillons, n = 6)) s'est fait à partir d'environ 250 mg de matière foliaire fraîche broyée à l'azote liquide. L'extraction s'est effectuée par ajout de 4 mL d'éthanol 80% et centrifugation (10 minutes, 4°C et 10 000g). Après 5 minutes d'incubation sur la glace, une partie du surnageant a été prélevé et ajoutée à 1mL solution d'une solution d'anthrone (cette solution a été préparé par mélange de 12,5 mL d'eau déminéralisée, de 250 mL d'acide sulfurique et de 500 mg d'anthrone pour un volume de 250 mL).

Les standards ont été préparé à partir de D-glucose et d'éthanol 80% (les concentrations ont été calculées sur base d'une droite de calibration allant de 0 à 400 mg/L de D-glucose) et mis aussi au contact d'1 mL de la solution d'anthrone.

Les échantillons et les standards ont ensuite été lus par spectromètre UV (UV1800, Shimadzu, 's-Hertogenbosh, The Netherlands) à 625 nm. Certains échantillons ont préalablement été dilués. La droite de calibration a été obtenue avec un R<sup>2</sup> de 0,988.

L'absorbance lue par le spectromètre a été ensuite transformée en concentration via la droite de calibration. La concentration lue a ensuite été exprimée en mg/g de matière fraîche.

➤ **Dosage de la proline :**

Le dosage de la proline (24 échantillons, n = 6) s'est fait à partir de matière foliaire fraîche selon la méthode de Bates et al. (1973) [81]. La proline a été extraite dans 100-200 mg de matière fraîche avec 10 mL d'acide sulfosalicylique (3% m/v). Les tubes ont été incubés à 70°C pendant 30', puis filtrés sur papier Whatman. 2 mL du surnageant est prélevé et mélangé avec 2 mL d'une solution de ninhydrine (mélange de 2,5g de ninhydrine, 60 mL d'acide acétique glacial et 40 mL d'acide phosphorique 6 M) et 2 mL d'acide acétique glacial.

Les standards ont été préparé à partir de proline et d'acide sulfosalicylique (les concentrations ont été calculées sur base d'une droite de calibration allant de 0 à 40 µmol/L de L-proline). 2 mL de la solution de ninhydrine et 2 mL d'acide acétique sont aussi ajoutés aux standards.

Les échantillons et les standards ont par la suite été incubés au bain-marie à 90°C pendant 1 heure puis mis dans de la glace. 2 mL de toluène a été ajouté et la phase colorée obtenue après homogénéisation a été lue au spectromètre UV à 520 nm. La droite de calibration a été obtenue avec un R<sup>2</sup> de 0,989.

L'absorbance lue par le spectromètre a été ensuite transformée en concentration via la droite de calibration. La concentration a été ensuite exprimée en µmol/g de matière fraîche.

➤ **Dosage de la glycine bêtaïne :**

Le dosage de la glycine bêtaïne (24 échantillons, n = 6) s'est effectué sur base de matière foliaire sèche selon la méthode de Grieve et Grattan (1983) [82]. Environ 150 mg de matière a été pesée, mélangée avec 5 mL d'eau déminéralisée et mis à agiter pendant 24 heures à température ambiante avant d'être filtrés. 0,25 mL d'extrait est ensuite mis au contact de 0,25 mL d'acide sulfurique 2N et d'un mélange de iodure de potassium (50g avec 25 mL d'eau déminéralisée) et diiode (3,925 g) dans cet ordre avant d'être mis au frais pendant 16 heures. Après centrifugation (10 000 rpm, 15 minutes à 0°C), le surnageant des échantillons a été enlevé afin de garder uniquement le résidu sec. 1,5 mL de 1,2-dichloroéthane a ensuite été ajouté 3 fois (attendre 1 heure entre chaque ajout) pour extraire le composé. 4,5 mL de solution concentré ont ainsi été obtenu

De la bétaine a été utilisée pour la droite de calibration (0-250  $\mu\text{g/mL}$ ), avec le même protocole que pour les échantillons. Les échantillons et les standards ont été lus au spectromètre UV à 365 nm. La droite de calibration a été obtenue avec un  $R^2$  de 0,979.

L'absorbance lue par le spectromètre a été ensuite transformée en concentration via la droite de calibration. La concentration a été ensuite exprimée en mg/g de matière sèche.

## 7. Traitements statistiques

Pour chaque paramètre, les conditions d'applications nécessaires à la réalisation d'un modèle linéaire ont été vérifiées. La normalité des données a été estimée via le test de Shapiro tandis que l'homogénéité des variances a été vérifiée par le test de Levene. Une ANOVA 2 avec les variables « Variétés » (V) et « Traitement » (T) comme variables explicatives a ensuite été réalisée lorsque les conditions d'application étaient respectées suivi de comparaisons multiples avec la méthode de Tukey. Dans le cas contraire, un test non-paramétrique de Kruskal Wallis a été privilégié afin d'assurer la solidité des analyses suivi d'une comparaison multiple via la méthode de Wilcoxon. Chaque test de comparaison multiple est représenté dans les figures ou les tableaux par des lettres signifiant la différence ou non entre groupes. Dans les deux cas, la variable « Plot » a été introduite en tant que facteur aléatoire afin de prendre en compte un potentiel effet dû à l'hétérogénéité des conditions environnementales de la serre. Toutes les analyses ont été réalisées avec le logiciel R version 4.1.3.

# Résultats

## 1. Morphologie

### 1.1. Impact de la salinité sur la hauteur et le nombre de feuille de 2 variétés d'*A. cruentus*

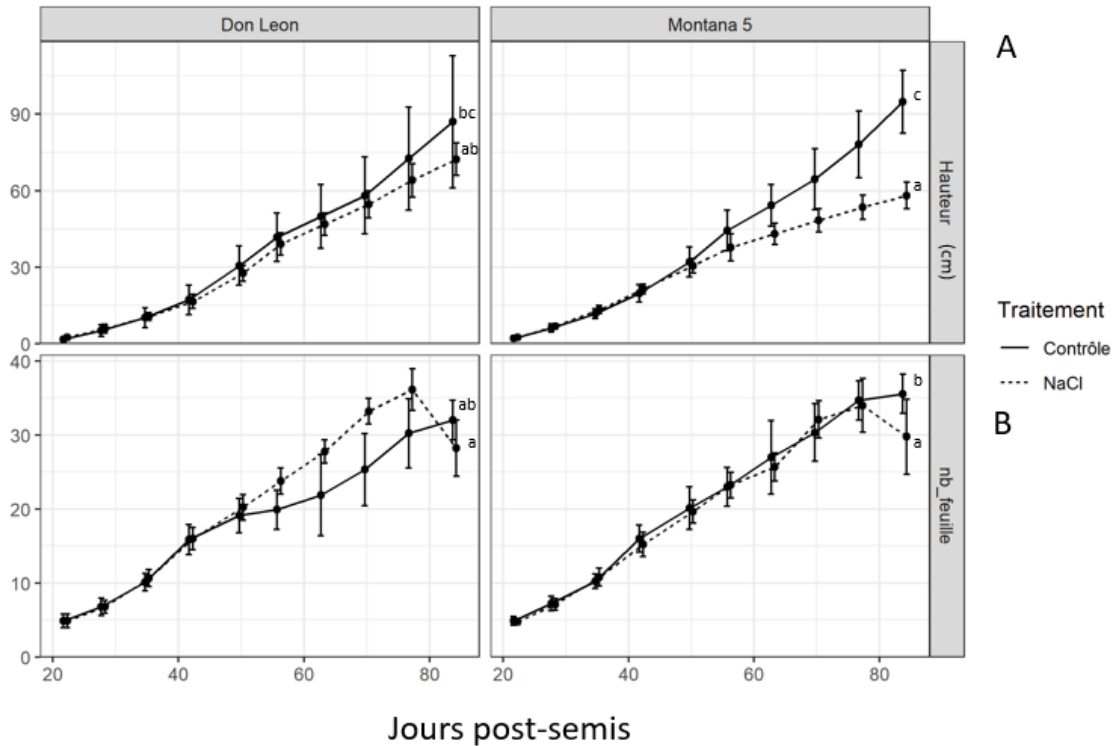


Figure 5. Impact de la salinité (75 mM NaCl) sur l'évolution de (A) la hauteur des plantes et (B) le nombre de feuilles par plante (n = 10) chez deux variétés d'*Amaranthus cruentus* (Don Leon et Montana 5). Les valeurs suivies par une même lettre ne sont significativement différentes pour un même paramètre à un seuil 5%. Les barres d'erreurs sont des écart-types.

Au fil des semaines, la salinité a induit une diminution de la hauteur des plantes chez les 2 variétés (figure 5), surtout chez Montana 5 où elle s'est manifestée aux alentours du 50<sup>ème</sup> jours post-semis. La différence de hauteur entre traitements à 84 jours post-semis (cfr. Annexe B) était significative chez Montana 5 au contraire des Don Leon comme le montre l'interaction significative entre les facteurs variétés et traitement (p-valeur = 0,0184).

Comme l'illustre la figure 5, le nombre de feuille varie très peu chez Montana 5 au contraire des Don Leon où on voit une diminution entre les jours 50 et 70. Néanmoins à 84 jours post-

semis, la salinité a induit une diminution significative du nombre de feuille chez Montana 5 ( $p = 0,0113$ ) mais pas chez Don Leon ( $p = 0,153$ ).

## 2. Production de biomasse

### 2.1. Impact du stress salin sur la production de biomasse de 2 variétés d'*A.cruentus* à 50 jours post-semis

Tableau 2. Impact de la salinité (0 vs. 75 mM NaCl) sur la production de biomasse de deux variétés d'*Amaranthus cruentus* 50 jours post-semis

NaCl	Montana 5		Don Leon		F			P		
	0 mM	75 mM	0 mM	75 mM	T	V	T V	T	V	T V
Masse sèche totale (g)	3,12 ± 1,06 b	1,70 ± 0,57 a	2,03 ± 1,12 ab	1,07 ± 0,52 a	17,58	5,15	0,29	0,15	0,03	0,59
Masse sèche feuilles (g)	2,16 ± 0,75 b	1,18 ± 0,44 ab	1,39 ± 0,78 ab	0,79 ± 0,41 a	0,070	4,76	0,36	0,79	0,04	0,56
Masse sèche tiges (g)	0,96 ± 0,32 b	0,52 ± 0,14 ab	0,63 ± 0,35 ab	0,28 ± 0,11 a	0,35	6,42	0,09	0,56	0,02	0,76

Les valeurs suivies par une même lettre ne sont significativement différentes pour un même paramètre à un seuil 5%. T : traitement, V : variété et T|V : interaction. F : valeur de Fisher et P : p-valeur.

De façon générale, la production totale de matière sèche était plus importante chez la variété Montana 5 que chez Don Leon en condition témoin (tableau 2). La salinité a diminué la croissance des plantes mais la différence de poids sec entre plantes stressées et témoins n'était significative que chez la variété Montana 5. C'est essentiellement le poids sec des tiges qui a diminué avec la salinité, le poids sec des feuilles n'étant pas affecté.

## 2.2. Impact du stress salin sur la hauteur, le nombre de feuille et la teneur en eau de 2 variétés d'*A. cruentus* à 50 jours post-semis

Tableau 3. Impact de la salinité (0 vs. 75 mM NaCl) sur la hauteur, le nombre de feuille et la teneur en eau de deux variétés d'*Amaranthus cruentus* 50 jours post-semis

	Montana 5		Don Leon		F			P		
NaCl	0 mM	75 mM	0 mM	75 mM	T	V	T V	T	V	T V
Hauteur (cm)	34,23 ± 2,47 b	30,57 ± 4,92 ab	32,92 ± 8,27 ab	24,58 ± 2,84 a	2,03	3,65	1,02	0,17	0,07	0,33
Nombre de feuille	17,67 ± 2,50 a	15,50 ± 2,81 a	16,80 ± 2,17 a	15,67 ± 3,50 a	2,69	0,04	0,16	0,12	0,84	0,69
Teneur en eau totale (%)	90,48 ± 1,51 ab	90,21 ± 0,68 a	92,12 ± 1,05 b	90,03 ± 0,51 a	1,25	3,26	5,92	0,46	0,09	0,03
Teneur en eau dans la feuilles (%)	87,33 ± 1,61 ab	86,89 ± 0,99 a	89,10 ± 1,36 b	86,86 ± 0,68 a	4,15	2,48	3,10	0,29	0,14	0,1
Teneur en eau dans les tiges (%)	93,88 ± 1,18 ab	93,70 ± 0,55 a	95,09 ± 0,70 b	93,94 ± 0,44 ab	0,50	7,01	3,52	0,61	0,02	0,08

Les valeurs suivies par une même lettre ne sont significativement différentes pour un même paramètre à un seuil 5%. T : traitement, V :variété et T|V :interaction. F :valeur de Fisher et P :p-valeur.

A ce stade de la culture (50 jours post-semis), la salinité n'a pas affecté la taille des plantes ni le nombre de feuille peu importe la variété (tableau 3). La teneur en eau n'a pas varié avec la salinité chez Montana 5 contrairement à Don Leon. En effet, une diminution significative a été induite par le stress salin (tableau 3). Néanmoins, cette diminution ne correspondait qu'à une variation de 2% en teneur en eau.

### 3. Phase reproductive

Aucun retard de floraison n'a été induit par la salinité que ce soit entre les traitements ( $p = 0,92$ ) ou entre les variétés ( $p = 0,08$ ). Concernant la production en graine, l'analyse des résultats a clairement mis en évidence un effet du traitement ( $p$ -valeur  $< 0,001$ ) et de l'interaction entre traitement et variétés ( $p$ -valeur  $= 0,0489$ ). Globalement, la salinité a induit une nette réduction en production de graine chez les 2 variétés (figure 6). A noter que cette tendance était moindre pour la variété Don Leon étant donné que sa production en graine est réduite d'un facteur 3 tandis que Montana 5 a subi une réduction d'un facteur 10 (cfr. Annexe C).

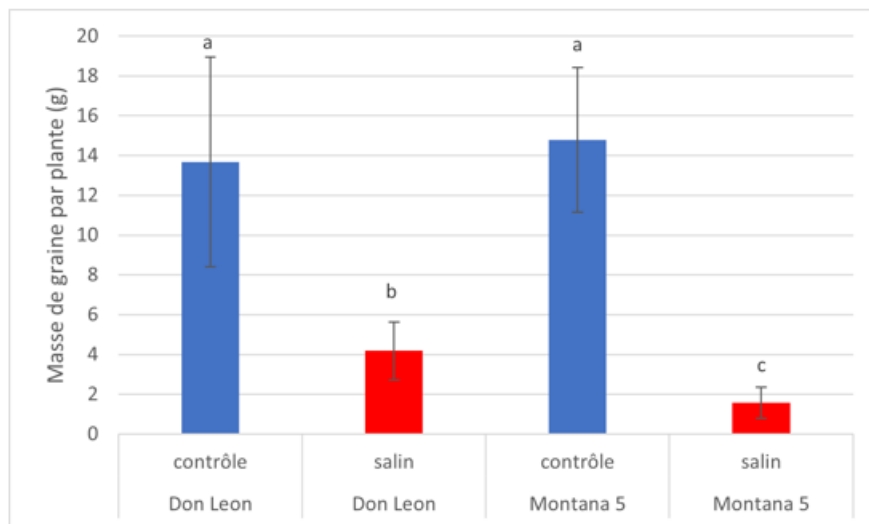


Figure 6. Impact de la salinité (75 mM NaCl) sur la production en graine chez deux variétés d'*Amaranthus cruentus* (Don Leon et Montana 5). Les valeurs suivies par une même lettre ne sont significativement différentes pour un même paramètre à un seuil 5%. Les barres d'erreurs sont des écart-types.

## 4. Physiologie

### 4.1. Impact du stress salin sur le contenu en chlorophylle, en azote et sur la température foliaire de 2 variétés d'*A. cruentus* à 42 et 77 jours post-semis

Tableau 4. Impact de la salinité (0 vs. 75 mM NaCl) sur le contenu en chlorophylle (CHL), le contenu en azote (N) et la température foliaire (T°) chez deux variétés d'*Amaranthus cruentus* à 42 et 77 jours post-semi

	Montana 5		Don Leon		F			P		
	0 mM	75 mM	0 mM	75 mM	T	V	T V	T	V	T V
CHL en mars (spad)	38,27 ± 1,99 bc	40,84 ± 2,37 c	34,96 ± 3,43 a	36,60 ± 2,01 ab	7,26	20,55	0,31	0,12	<10 <sup>-5</sup>	0,58
CHL en avril (spad)	39,23 ± 5,62 a	42,30 ± 3,87 a	42,20 ± 3,39 a	42,56 ± 2,73 a	0,79	0,49	1,53	0,39	0,49	0,24
N en mars (mg/g)	14,77 ± 0,63 bc	15,51 ± 0,76 c	13,69 ± 1,08 a	14,16 ± 0,74 ab	3,62	21,49	0,28	0,19	<10 <sup>-3</sup>	0,60
N en avril (mg/g)	55,57 ± 7,58 a	59,7 ± 5,18 a	59,47 ± 4,59 a	60,1 ± 3,66 a	0,87	0,48	1,45	0,37	0,49	0,25
T° foliaire en mars (°C)	26,81 ± 0,74 a	26,97 ± 0,25 a	26,72 ± 1,07 a	26,78 ± 0,81 a	0,89	0,42	0,05	0,44	0,52	0,82
T° foliaire en avril (°C)	29,22 ± 0,27 a	29,2 ± 0,35 a	29,35 ± 0,5 a	27,68 ± 2,32 a	2,21	2,08	2,54	0,15	0,17	0,13

Les valeurs suivies par une même lettre ne sont significativement différentes pour un même paramètre à un seuil 5%. T : traitement, V : variété et T|V : interaction. F : valeur de Fisher et P : p-valeur.

L'analyse du contenu en chlorophylle met en évidence un effet significatif de la variété (p-valeur < 10<sup>-5</sup>) à 42 jours post-semis (mars). La variété Montana 5 possédait un contenu en chlorophylle plus élevé que Don Leon peu importe le traitement (tableau 4). La salinité en revanche n'a induit aucun changement. Un mois plus tard, plus aucunes différences significatives n'ont été observées peu importe le traitement et la variété.

La salinité n'a induit aucun effet significatif aussi bien chez Montana 5 que Don Leon (tableau 4). Nous avons tout de même remarqué quelques différences. Le contenu en azote des

Montana 5 à 42 jours post-semi, à traitement équivalent, était plus élevé que Don Leon. Soulignons aussi la grande augmentation du contenu entre les 2 prises de mesures.

Concernant la température foliaire, aucun effet significatif n'a été observé que ce soit lors de la première prise de mesure ou lors de la deuxième prise de mesure (tableau 4).

#### 4.2. Impact de la salinité sur l'activité photosynthétique nette de 2 variétés d'*A. cruentus*

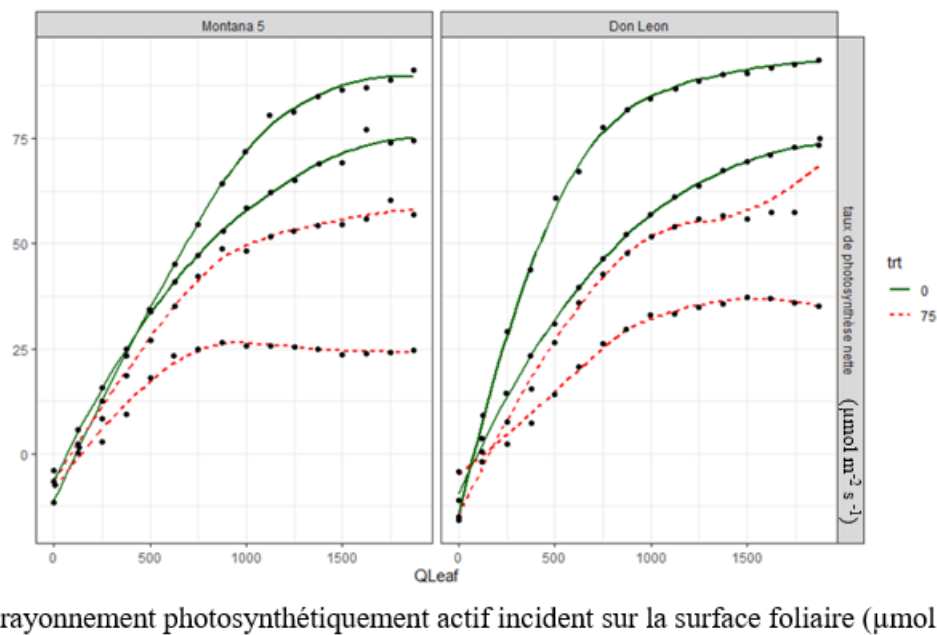


Figure 7. Impact de la salinité (75 mM NaCl) sur l'activité photosynthétique nette chez deux variétés d'*Amaranthus cruentus* (Don Leon et Montana 5).

Le taux de photosynthèse nette a été réduit par la salinité chez les 2 variétés (figure 7).

#### 4.3. Impact de la salinité sur le taux de transpiration de 2 variétés d'*A. cruentus*

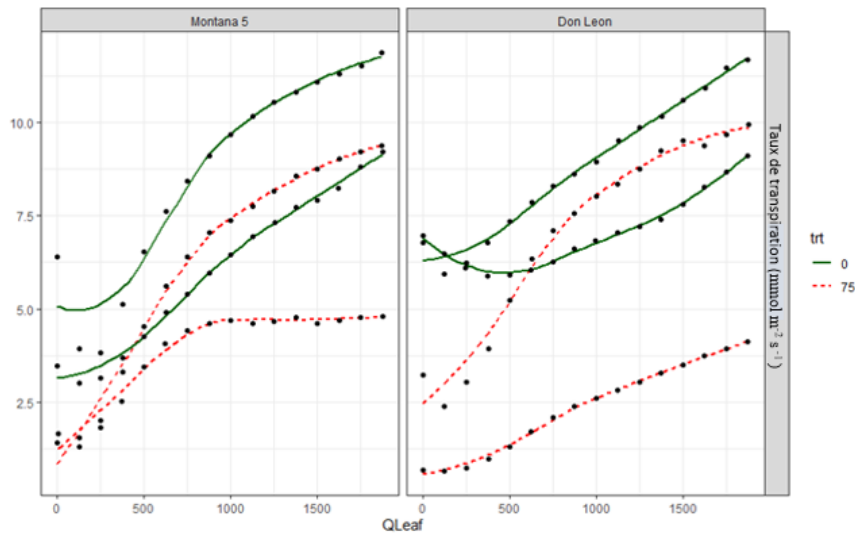


Figure 8. Impact de la salinité (75 mM NaCl) sur le taux de transpiration chez deux variétés d'*Amaranthus cruentus* (Don Leon et Montana 5).

L'impact de la salinité sur le taux de transpiration n'est pas clair car cela ne semble pas impacter une moitié des plantes tandis que l'autre moitié présente une diminution (figure 8). Remarquons la forte réduction de transpiration chez une partie des Don Leon sous salinité.

#### 4.4. Impact de la salinité sur le taux de transport d'électrons de 2 variétés d'*A. cruentus*

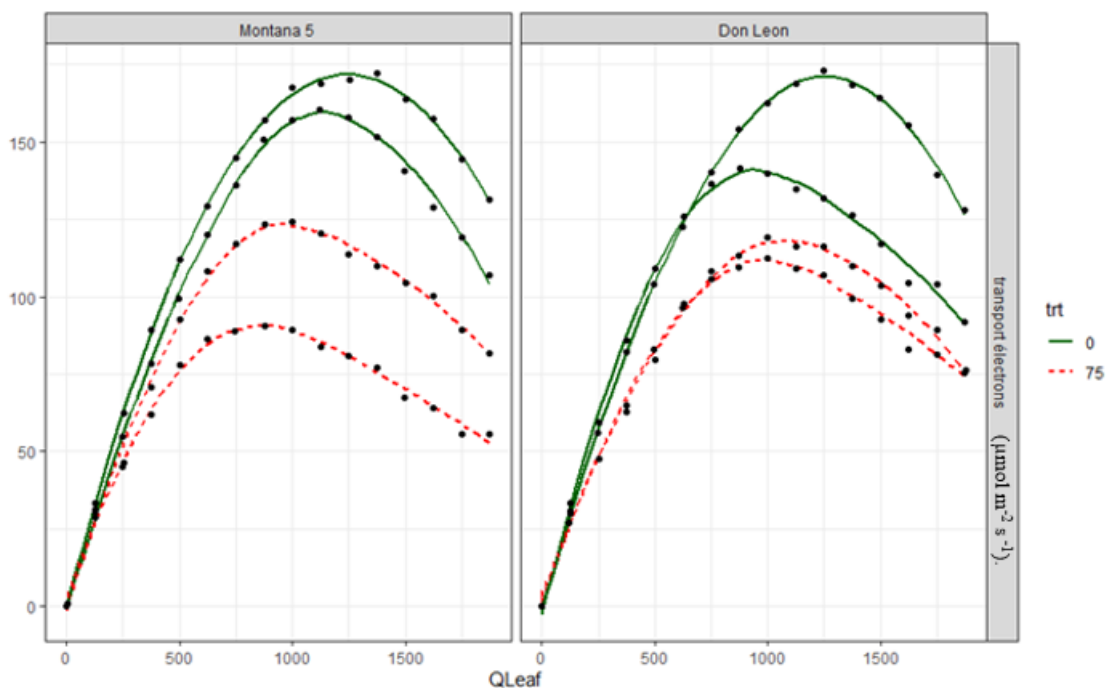


Figure 9. Impact de la salinité (75 mM NaCl) sur le taux de transport d'électrons chez deux variétés d'*Amaranthus cruentus* (Don Leon et Montana 5).

De manière générale, le taux de transport d'électrons a été réduit chez les 2 variétés (figure 9). Cette tendance était toutefois moindre pour la variété Don Leon.

#### 4.5. Impact de la salinité sur le rendement quantique du photosystème II de 2 variétés d'*A. cruentus*

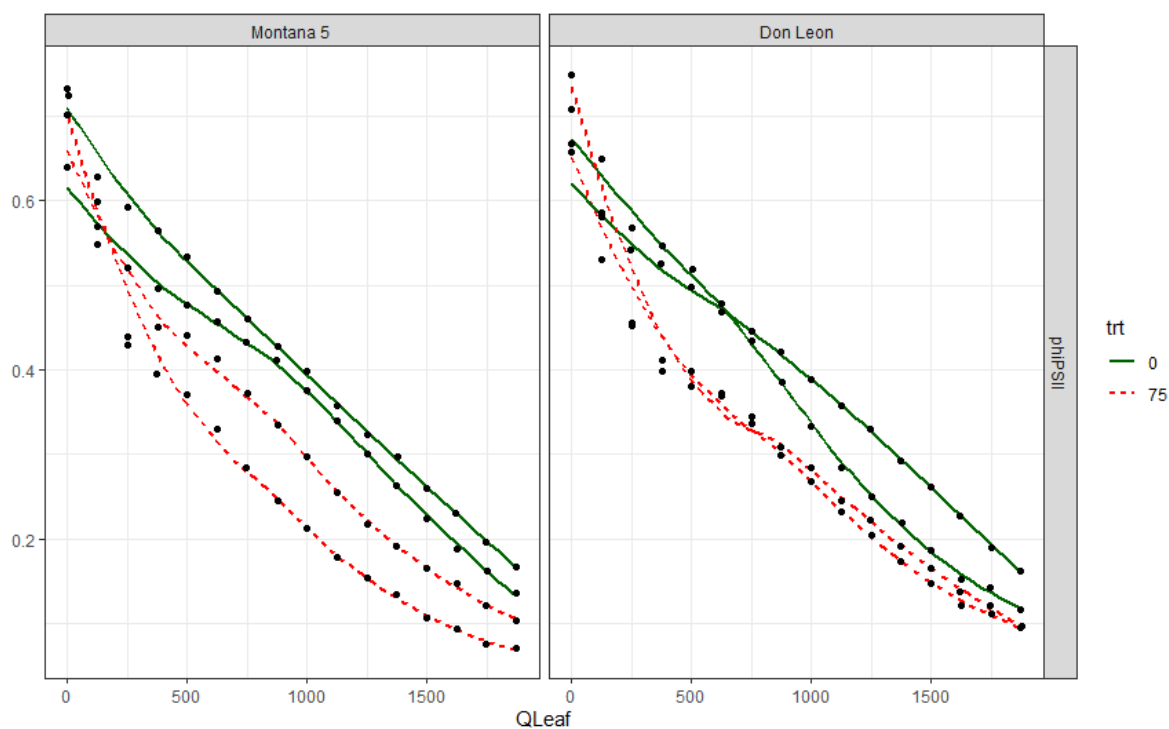


Figure 10. Impact de la salinité (75 mM NaCl) sur le rendement quantique du photosystème II chez deux variétés d'*Amaranthus cruentus* (Don Leon et Montana 5).

Globalement, le rendement quantique effectif du photosystème II a diminué avec la salinité (figure 10).

#### 4.6. Impact de la salinité sur l'efficacité d'utilisation en eau (WUE) de 2 variétés d'*A. cruentus*

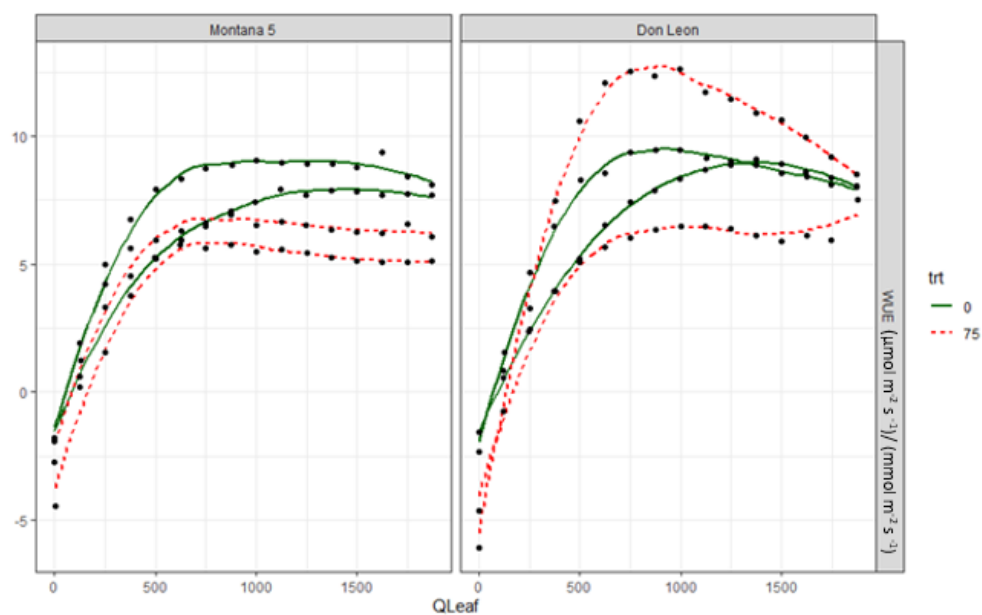


Figure 11. Impact de la salinité (75 mM NaCl) sur l'efficacité d'utilisation en eau chez deux variétés d'*Amaranthus cruentus* (Don Leon et Montana 5).

L'efficacité d'utilisation en eau a légèrement été impactée par la salinité pour la variété Montana 5 (figure 11). La tendance est moins nette pour Don Leon mais il semble que cette variété ai été bien moins affectée par la salinité à ce niveau.

## 5. Dosage des minéraux

### 5.1. Impact de la salinité sur la teneur en sodium de 2 variétés d'*A. cruentus*

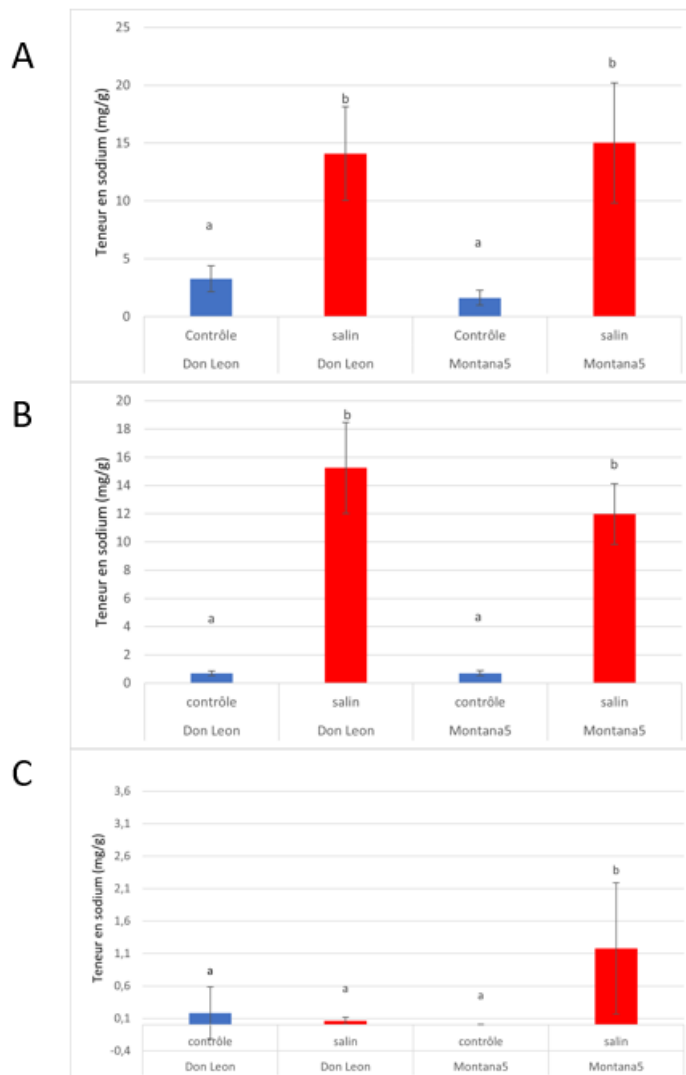


Figure 12. Impact de la salinité (75 mM NaCl) sur la teneur en sodium dans les feuilles (A), les tiges (B) et les graines (C) chez deux variétés d'*Amaranthus cruentus* (Don Leon et Montana 5). Les valeurs suivies par une même lettre ne sont significativement différentes pour un même paramètre à un seuil 5%. Les barres d'erreurs sont des écart-types.

Au niveau des feuilles et des tiges les analyses ont révélé un effet significatif du traitement ( $p=0.013$  et  $p=0.0064$ , respectivement). En conditions salines, du sodium s'est accumulé chez les 2 variétés (figure 12 A et B),.

Au niveau des graines, un effet significatif a été observé pour le traitement ( $p$ -valeur = 0,046) et l'interaction traitement|variété ( $p$ -valeur = 0,017). Concrètement, la salinité a induit une accumulation de sodium chez Montana 5 mais pas chez Don Leon (figure 12 C). Les quantités de sodium dans les graines étaient bien moindres (de 10 à 200 fois moins) que dans les feuilles et les tiges (cfr. Annexe D).

## 5.2. Impact de la salinité sur la teneur en potassium de 2 variétés d'*A. cruentus*

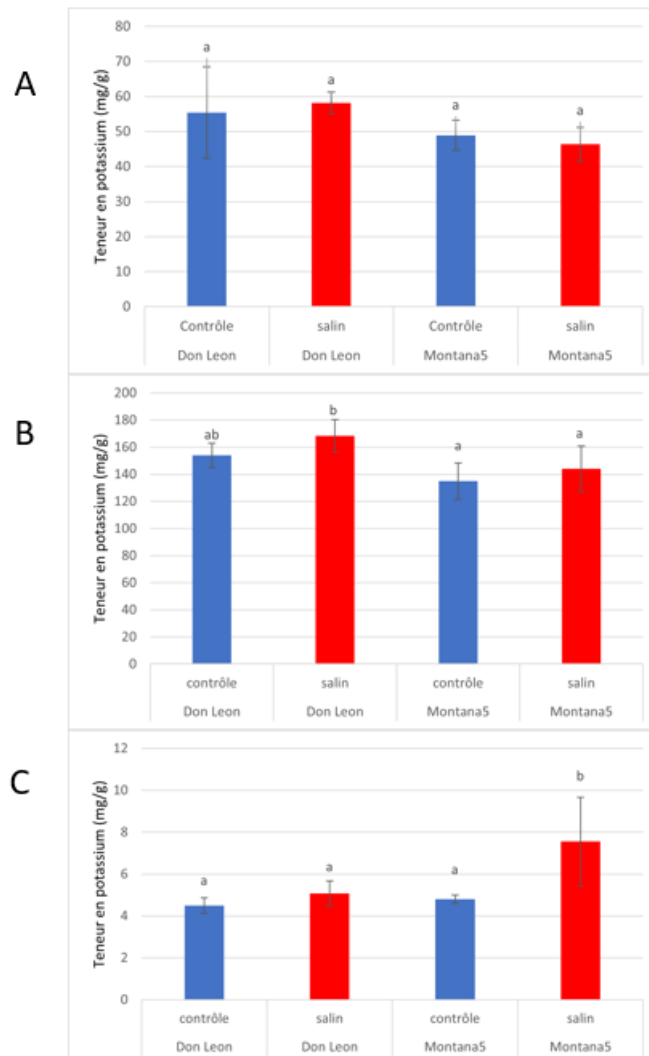


Figure 13. Impact de la salinité (75 mM NaCl) sur la teneur en potassium dans les feuilles (A), les tiges (B) et les graines (C) chez deux variétés d'*Amaranthus cruentus* (Don Leon et Montana 5). Les valeurs suivies par une même lettre ne sont significativement différentes pour un même paramètre à un seuil 5%. Les barres d'erreurs sont des écart-types.

Au niveau des feuilles et des tiges, la salinité n'a pas induit de différences significatives de teneur en potassium chez aucune des 2 variétés (figure 13 A et B).

Une autre tendance a été observée dans les graines (figure 13 C). En effet, une accumulation de potassium a été induite par la salinité mais chez Montana 5 cette fois. De manière générale, il y a bien moins de potassium dans les graines que dans les feuilles et les tiges qui en contiennent 10 et 30 fois plus environ respectivement (cfr. Annexe D). Les tiges sont les organes contenant le plus de potassium.

### 5.3. Impact de la salinité sur le ratio sodium/potassium de 2 variétés d'*A. cruentus*

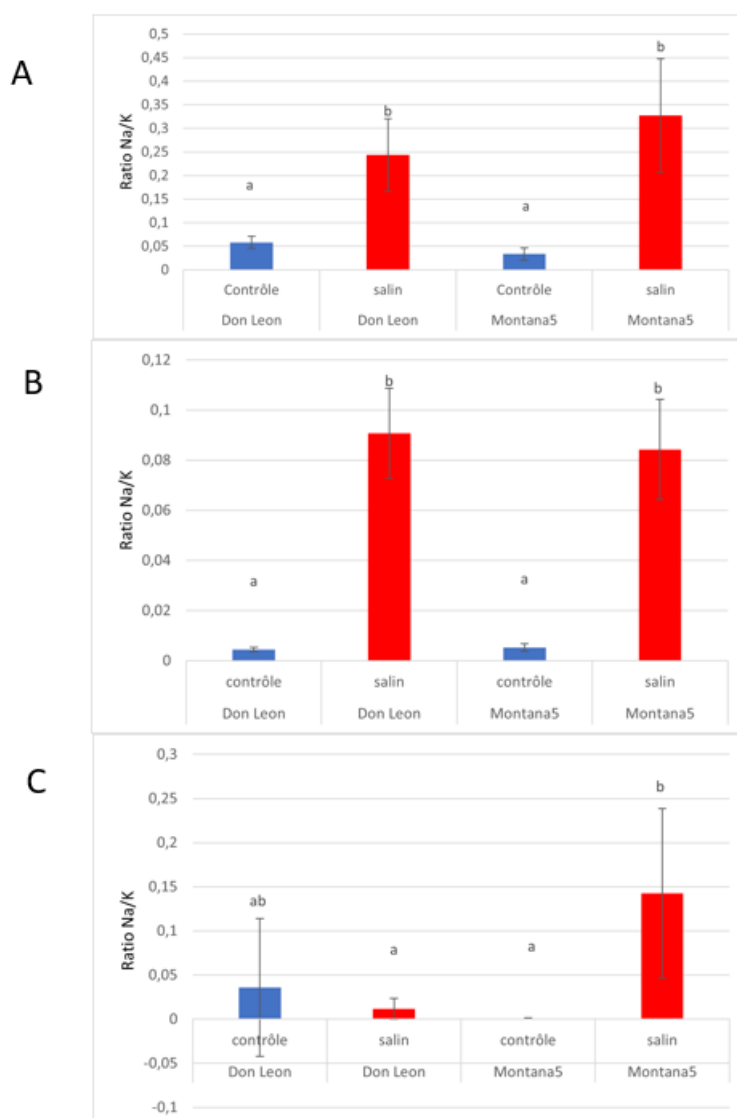


Figure 14. Impact de la salinité (75 mM NaCl) sur le ratio sodium/potassium dans les feuilles (A), les tiges (B) et les graines (C) chez deux variétés d'*Amaranthus cruentus* (Don Leon et Montana 5). Les valeurs suivies par une même lettre ne sont significativement différentes pour un même paramètre à un seuil 5%. Les barres d'erreurs sont des écart-types.

Au niveau des feuilles et des tiges, tout comme pour le sodium, seul un effet significatif du traitement a été observé sur le ratio sodium/potassium (p-valeur feuille = 0,00728. P-valeur tige = 0,0107). La salinité a induit une forte augmentation du ratio sodium/potassium aussi bien chez Montana 5 que chez Don Leon (figure 14 A et B). Cette augmentation est plus élevée chez Montana 5 dans les feuilles tandis que ça l'est chez Don Leon dans les tiges (cfr. Annexe D).

Au niveau des graines, seule l'interaction entre traitement et variété a été significative (p-valeur = 0,00811). La variété Montana 5 a subi une nette hausse du ratio sodium/potassium contrairement à Don Leon (figure 14 C).

#### 5.4. Impact du stress salin sur la teneur en calcium, en cuivre, en magnésium, en fer et en zinc de 2 variétés d'*A.cruentus*

Tableau 5. Impact de la salinité (0 vs. 75 mM NaCl) sur la teneur en calcium, en cuivre, en magnésium, en fer et en zinc chez deux variétés d'*Amaranthus cruentus* dans les feuilles et les graines

NaCl	Montana 5		Don Leon		F			P		
	0 mM	75 mM	0 mM	75 mM	T	V	T V	T	V	T V
Ca feuilles (mg/g)	10,01 ± 3,81 a	10,34 ± 0,58 a	11,91 ± 1,55 a	8,53 ± 1,30 a	1,79	0,01	20,53	0,31	0,95	0,03
Ca graines (mg/g)	0,03 ± 0,04 a	0 ± 0 a	0,04 ± 0,06 a	3.10 <sup>-3</sup> ± 0,01 a	5,22	0,09	0,02	0,10	0,77	0,89
Cu feuilles (mg/g)	0,03 ± 0,01 a	0,02 ± 4.10 <sup>-3</sup> a	0,02 ± 3.10 <sup>-3</sup> a	0,02 ± 3.10 <sup>-3</sup> a	0,01	0,54	1,43	0,93	0,47	0,25
Cu graines (mg/g)	0,02 ± 3.10 <sup>-3</sup> a	0,01 ± 3.10 <sup>-3</sup> b	0,02 ± 2.10 <sup>-3</sup> a	0,01 ± 2.10 <sup>-3</sup> b	34,97	0,08	1,01	<10 <sup>-3</sup>	0,78	0,33
Mg feuilles (mg/g)	10,75 ± 1,52 a	20,97 ± 2,46 c	12,10 ± 1,70 a	18,01 ± 0,83 b	228,20	1,27	9,24	4.10 <sup>-3</sup>	0,27	7.10 <sup>-3</sup>
Mg graines (mg/g)	2,81 ± 0,06 b	2,71 ± 0,21 b	2,64 ± 0,04 ab	2,44 ± 0,11 a	3,94	15,26	0,81	0,06	10 <sup>-3</sup>	0,38
Fe feuilles (mg/g)	0,11 ± 0,06 a	0,09 ± 0,03 a	0,06 ± 0,01 a	0,06 ± 0,01 a	0,51	9,09	0,22	0,55	8.10 <sup>-3</sup>	0,65
Fe graines (mg/g)	0,11 ± 0,06 a	0,06 ± 0,01 a	0,06 ± 0,02 a	0,06 ± 0,02 a	2,33	2,38	3,15	0,14	0,14	0,09
Zn feuilles (mg/g)	3.10 <sup>-3</sup> ± 0,01 a	0,01 ± 0,02 a	0 ± 0 a	0,01 ± 0,02 a	0,64	0,03	1,21	0,51	0,86	0,29

Zn graines (mg/g)	0,02 ± 0,05 a	0,04 ± 0,03 a	0 ± 0 a	0,02 ± 0,03 a	2,15	2,50	0	0,16	0,13	0,99
-------------------------	------------------	------------------	------------	------------------	------	------	---	------	------	------

Les valeurs suivies par une même lettre ne sont significativement différentes pour un même paramètre à un seuil 5%. T : traitement, V : variété et T|V : interaction. F : valeur de Fisher et P : p-valeur.

La salinité n'a induit aucune variation de teneur en calcium, en fer et en zinc aussi bien dans les feuilles que dans les graines (tableau 5). Ce fut aussi le cas pour le cuivre dans les feuilles (tableau 5). Dans les graines en revanche, la teneur en cuivre a nettement diminuée avec la salinité.

Au niveau des feuilles, la salinité a induit une nette augmentation de la teneur en magnésium chez les 2 variétés mais cette hausse était plus élevée pour Montana5 (tableau 5). Ce n'était pas le cas dans les graines où aucune différence ne fut observées hormis une teneur plus élevée chez Montana 5 par rapport à Don Leon sous salinité.

## 6. Biochimie

### 6.1. Impact du stress salin sur la teneur en proline de 2 variétés d'*A. cruentus*

Tableau 6. Impact de la salinité (0 vs. 75 mM NaCl) sur la teneur en proline, en glycine bétaine et en sucres solubles chez deux variétés d'*Amaranthus cruentus*

	Montana 5		Don Leon		F			P		
NaCl	0 mM	75 mM	0 mM	75 mM	T	V	T V	T	V	T V
Teneur en proline $\mu\text{mol/g}$	0,017 $\pm$ 0,017 a	0,035 $\pm$ 0,012 a	0,019 $\pm$ 0,016 a	0,025 $\pm$ 0,008 a	1,83	0,45	1,61	0,31	0,51	0,22
Teneur en glycine bétaine (mg/g)	4,050 $\pm$ 1,231 a	5,112 $\pm$ 2,354 a	3,685 $\pm$ 1,385 a	4,509 $\pm$ 3,651 a	1,36	0,42	0,03	0,36	0,53	0,88
Teneur en sucres solubles totaux (mg/g)	3,615 $\pm$ 0,575 a	4,158 $\pm$ 0,929 a	3,721 $\pm$ 0,879 a	4,003 $\pm$ 0,493 a	0,72	0,01	0,21	0,49	0,94	0,66

Les valeurs suivies par une même lettre ne sont significativement différentes pour un même paramètre à un seuil 5%. T : traitement, V : variété et T|V : interaction. F : valeur de Fisher et P : p-valeur.

La salinité n'a induit aucunes différences de teneur en proline ni en glycine bétaine ni en sucres solubles totaux et ce chez les 2 variétés (tableau 6). Notons tout de même qu'il y a peu de proline par rapport à la glycine bétaine.

# Discussion

## 1. Impact de la salinité sur la croissance et la phase reproductive

Les résultats mettent clairement en évidence que la variété Montana 5 est nettement plus impactée négativement par la salinité que Don Leon. En effet, on remarque que la croissance de Montana 5 était réduite au niveau de 2 paramètres indicateurs : la hauteur des plantes à partir du 56<sup>ème</sup> jour post-semis et la production de masse sèche totale. Le nombre de feuilles aussi chez Montana 5 était réduit contrairement à Don Leon.

Comme expliqué dans l'introduction, la croissance est souvent impactée négativement par la salinité chez différentes espèces ; cela est dû aux 2 composantes liées à la salinité, la réduction du prélèvement en eau (composante osmotique) et la toxicité des ions (composante ionique) [7] [83] [84] [85] .

Plusieurs facteurs peuvent expliquer la diminution de croissance des Montana 5. Tout d'abord, la réduction de l'activité photosynthétique nette. Cela est valable aussi pour le rendement quantique du PSII et le taux de transport d'électrons. La réduction de ces paramètres a été observée à lumière saturante (courbes de réponse). De plus, le nombre de feuilles des Montana 5 en conditions salines a aussi baissé, cela implique une réduction d'activité photosynthétique impactant forcément la croissance [28]. Soulignons néanmoins que la baisse du nombre de feuilles et la perturbation de l'activité photosynthétique se renforcent mutuellement . Il a été fréquemment observé que le taux de photosynthèse nette était réduit par la salinité chez des amarantes comme ce fut le cas dans cette expérience [86] [87]. Nous avons remarqué que le taux de photosynthèse nette a été aussi impacté négativement chez Don Leon. Pourtant, cette variété n'a pas présenté de réduction de croissance tel qu'observée chez Montana 5. Il est important dans ce cas de considérer le Water Use Efficiency (WUE) étant le ratio du taux de photosynthèse nette sur le taux de transpiration. La tendance n'est pas claire mais il semble que le WUE des Don Leon était moins impacté que celui des Montana 5. Il était même en augmentation chez certains individus, ce qui est fréquemment observé en cas de stress. Un moyen d'augmenter le WUE chez les plantes est de réduire la surface foliaire spécifique (étant le ratio de la surface foliaire sur la masse foliaire sèche) [78] [88]. Globalement, un WUE plus élevé sans modification du taux de photosynthèse nette implique une diminution du taux de transpiration. Une fois de plus la tendance n'est pas nette mais l'analyse qualitative de la transpiration a révélé que c'était le cas (notons que la salinité a induit une réduction de 2% de

la teneur en eau chez Don Leon). Il semblerait donc que la variété Don Leon parvienne à réduire son taux de transpiration tout en maintenant une bonne croissance (une réduction de transpiration est aussi en partie observée chez Montana 5 mais en moindre mesure). Plusieurs stratégies afin d'effectuer cela et ainsi de limiter les pertes en eau sont plausibles comme réduire la surface foliaire, la densité stomatique et la conductance stomatique [78] [89]. Il serait donc intéressant à l'avenir de se pencher sur ces paramètres.

Chez les 2 variétés étudiées, la date de floraison n'a pas du tout été impactée par la salinité. Cependant, il est important de mentionner qu'un retard clair de floraison de 5 à 15 jours selon les cultivars a déjà été observée dans une expérience précédente (**Adrien Luyckx : communication personnelle**). Cette précédente expérience ne s'est pas déroulée exactement à la même période (avril-septembre) que la présente (février-juillet). De plus, les conditions en serres sont seulement semi-contrôlées, la salinité n'est donc probablement pas le seul facteur déterminant. En effet, la luminosité par exemple est difficilement contrôlable et peut influencer la phénologie de reproduction. Il semblerait donc que la phénologie de ces plantes soit complexe à comprendre. La date de floraison peut être dépendante de plusieurs facteurs différents comme la composante génétique endogène, la photopériode, la température, l'état nutritionnel, etc. [36]. Evidemment, le stress salin peut induire un véritable impact sur la date de floraison, il peut la retarder comme l'accélérer dépendant de l'espèce considérée [37] [90] [91]. Cette expérience ne permet pas d'en apprendre plus à ce sujet mais met en évidence la potentielle complexité de ce paramètre.

La production de graines a été largement réduite par la salinité chez les 2 variétés. Cette diminution était nettement moindre chez Don Leon. La phase reproductive des plantes est parfois sensible à la salinité et peut se manifester de différentes manières, retard de floraison, avortement de fleurs, réduction du nombre et de la viabilité des grain de pollen [35]. Cela dépend une fois de plus de l'espèce considérée car il a été montré chez certaines espèces comme *Sorghum bicolor* que la phase reproductive était moins sensible que la phase végétative [92] [93] [94]. Néanmoins, il est clair ici que ces 2 variétés d'*A.cruentus* étaient fortement affectées dans leur production de graine par le sel. Le rendement en graines a été réduit d'un facteur 10 en conditions salines chez Montana 5 et d'un facteur 3 chez Don Leon. Ces 2 variétés ne différaient pas dans leur rendement en graines en conditions contrôles mais il est clair que Don Leon, bien que nettement affectée aussi, a produit plus de graines en conditions salines que Montana 5. Tout comme pour la production de biomasse végétative, la salinité a plus affecté Montana 5 que Don Leon au niveau de la phase reproductive.

L'analyse de ces différents paramètres morphologiques et reproductifs illustre clairement que Don Leon est une variété plus tolérante à la salinité que Montana 5. Soulignons tout de même qu'aucune plante du cultivar Montana 5 n'est morte durant l'expérience et qu'elles sont parvenues à boucler leur cycle de vie ce qui témoigne d'une certaine tolérance. Ceci confirme l'intérêt d'étude d'*A. cruentus* dans un contexte de salinité des sols tout comme ce fut déjà établi [75]. Il est intéressant de souligner le fait que la masse sèche foliaire n'a pas été impactée par la salinité même chez Montana 5 bien que sa masse sèche totale le soit. Les résultats suggèrent que la culture d'amarantes pour la production de feuilles est tout à fait possible sur un sol modérément salin, tandis que la production de graines est compromise.

Globalement, nous pouvons conclure que *A. cruentus* possède une tolérance certaine lors de sa phase végétative, bien que variable selon la variété, envers la salinité. Ceci peut s'expliquer par leur capacité à profiter du sodium via leur métabolisme en C<sub>4</sub> comme cela sera expliqué plus loin.

## 2. Impact de la salinité sur la teneur en éléments minéraux

Nous avons constaté que Don Leon et Montana 5 accumulaient une grande quantité de sodium au niveau de leurs tiges et de leurs feuilles. Cette tendance peut être problématique pour les différents effets négatifs qui ont été détaillés dans l'introduction mais peut aussi être un moyen de tolérance à la salinité dans le cadre de l'ajustement osmotique (discuté plus tard). Il semble que Montana 5 accumule plus de sodium au niveau de ses feuilles par rapport aux tiges contrairement à Don Leon qui en accumule en quantités égales. Les chloroplastes sont particulièrement affectés par le stress salin suite à la production d'espèces hautement réactives de l'oxygène (ROS) causant divers dégâts [95]. Les feuilles représentent donc des parties sensibles au stress salin étant donné les réactions d'oxydoréduction liées à la photosynthèse s'y produisant. La capacité de limiter l'accumulation de sodium dans les feuilles est un moyen de tolérance au stress salin comme l'ont montré des études. C'est le cas par exemple d'une étude ayant comparé l'accumulation de sodium dans les feuilles de génotypes tolérants et sensibles chez 3 espèces de blé (*Triticum aestivum*, *T. turgidum* et *T. tauschii*) [96]. Il a globalement été observé que les génotypes tolérants accumulaient moins de sodium que les génotypes sensibles. Insistons ici sur le fait que Montana 5 n'accumulait pas plus de sodium dans ses feuilles que Don Leon mais la teneur en sodium dans les feuilles chez Montana 5 était supérieure à la teneur dans les tiges. Ce n'est pas le cas de Don Leon qui en accumulait autant dans les feuilles que

dans les tiges. La variété Don Leon dispose probablement d'un système de transporteurs plus performant pour limiter la quantité de sodium dans les feuilles tout en permettant une activité efficace de séquestration vacuolaire. Rappelons que les plantes doivent éviter l'accumulation de sodium dans le cytoplasme [16]. Pour ce faire, elles ont recours à tout un arsenal de transporteurs afin d'exclure les ions sodium des cellules et d'en séquestrer dans les vacuoles [97] [98]. Plusieurs familles de transporteurs sont impliquées comme SOS, HKT et NHX [44] [46] [48] [49]. Une bonne coordination de ces transporteurs stimule la tolérance à la salinité [16] [99]. Au niveau des graines, Montana 5 accumulait du sodium avec la salinité contrairement à Don Leon. Ceci peut être problématique car la salinité et les ions sodium peuvent entraver nettement la germination de différentes manières comme vu dans l'introduction [7]. Il semblerait donc que Don Leon parvienne à empêcher l'accumulation de sodium dans ses graines probablement afin de protéger la génération suivante comme cela a été observé avec d'autres ions toxiques [100] [101]. Il est important de soulever le potentiel problème que peut représenter l'accumulation de sodium et de manière plus globale de NaCl dans les feuilles et les graines d'un point de vue nutritionnel. Il est évidemment connu depuis longtemps désormais les impacts négatifs que peut avoir l'excès de sodium et sel sur la santé humaine comme l'hypertension, l'obésité et les maladies cardiovasculaires [102]. La quantité de sodium quotidienne recommandée avoisine 2,3 g [103]. Sachant qu'en conditions salines on retrouve environ 15 mg de sodium par gramme de masse sèche foliaire chez les 2 variétés, il suffirait de 153,33 g de masse sèche pour déjà atteindre le seuil de 2,3 g de sodium. Cela semble peu mais nous parlons bien en masse sèche et non en masse fraîche. En moyenne, la masse fraîche foliaire en conditions salines est 7 fois supérieure à la masse sèche ce qui signifie qu'atteindre le seuil quotidien recommandé de sodium nécessiterait la consommation de plus de 1000 g de masse fraîche foliaire. La consommation de feuilles d'amarante ne représente donc pas, à 75 mM de NaCl dans le substrat, un problème au niveau de la nutrition en sodium. Ce n'est pas le cas non plus pour les graines étant donné qu'on y trouve encore moins de sodium que dans les feuilles.

Le potassium est un élément important à considérer dans le cadre du stress salin. En effet, c'est un nutriment essentiel pour les plantes de par ses importants rôles comme l'osmorégulation, l'équilibre des charges, son implication dans le chargement de sucres dans le phloème, la synthèse de protéines et autres métabolites, l'ouverture et la fermeture des stomates, etc [104] [105]. Une corrélation négative est fréquemment observée entre la teneur en sodium et la teneur en potassium en condition de stress salin [7]. Ce n'est pas le cas dans cette étude

où aucune variation n'a été observée ni dans les feuilles et ni dans les tiges. Lié à cela, le ratio sodium/potassium a suivi la même tendance que la teneur en sodium ce qui illustre bien qu'il n'y a pas de corrélation négative entre la teneur en sodium et en potassium. Ceci pourrait expliquer la tolérance de *A.cruentus* car le potassium est impliqué dans la résistance aux stress biotiques et abiotiques [104]. En effet, plusieurs études ont mis en évidence qu'une bonne rétention du potassium dans les tissus étaient associées à une tolérance au stress salin [106] [107]. Le potassium, via ses nombreux rôles, peut contrebalancer les effets négatifs du sodium [98]. Dans cette optique, il serait donc important de s'intéresser plus en détails à cet élément et à ses nombreux systèmes de transport spécifiques ou non. Au sein des plantes, il existe en effet une multitude de systèmes de transport du potassium comme les transporteurs NHX, HKT, KT, les canaux TPK, GORK, NSCC, etc. Ces systèmes diffèrent dans leur affinité, leur activité, leur régulation et leur localisation [108] [109] [110]. Montana 5 accumule du potassium dans ses graines en condition saline, cependant, elle a accumulé du sodium aussi. Le ratio sodium/potassium est donc tout de même supérieur comparé à Don Leon, suggérant une cause de sa plus grande sensibilité.

Aussi bien chez Montana 5 que chez Don Leon, la teneur en magnésium a subi une forte augmentation avec la salinité au niveau des feuilles. Cette tendance a été observée dans 2 expériences similaires précédentes (**Adrien Luyckx. Communication personnelle**). Il y a peu d'informations sur cette tendance mais une étude sur *Oryza sativa* a mis en évidence le potentiel rôle du magnésium dans la tolérance au sel [111]. Le magnésium régulerait l'activité d'un transporteur impliqué dans l'exclusion de sodium au niveau des racines ce qui limiterait l'accumulation dans les tiges et les feuilles. Bien sûr il s'agit ici d'une espèce très différente de *A.cruentus* mais il serait judicieux de s'intéresser à cet aspect étant donné qu'une accumulation de magnésium dans les feuilles a été systématiquement induite par le sel. Montana 5 et Don Leon présentant une certaine tolérance à la salinité, il se peut que le magnésium y joue un rôle en plus de ses fonctions classiques comme être un constituant des chlorophylles et réguler l'activité de certaines enzymes [112]. Il semblerait cependant que le magnésium ne soit pas forcément impliqué dans la tolérance au stress salin chez toutes les plantes, ce n'est par exemple pas le cas pour *Helianthus annuus* [112]. Dans cette optique, il serait cohérent de s'intéresser plus en détails au transport du magnésium dans la plante via les transporteurs MGT par exemple (« Magnesium Transport ») [113].

La teneur en calcium n'a pas varié que ce soit dans les feuilles ou les tiges ce qui a un intérêt très probable dans la tolérance à la salinité étant donné l'importance du calcium dans la réponse

aux stress. Le calcium est un nutriment important étant donné ses fonctions, son rôle structurel dans les parois et les membranes et dans le maintien de l'équilibre électrique dans les vacuoles [114]. De plus, il joue un rôle de messenger secondaire dont la concentration peut varier selon différents stimuli comme la lumière, la température, la sécheresse, la salinité, les pathogènes, etc [115]. Le calcium possède donc un rôle particulier dans le cas du stress salin étant donné son implication dans l'enclenchement des mécanismes de réponse [116]. Le calcium est par exemple impliqué dans l'activation de SOS3 qui va lui-même, en interaction avec SOS2, stimuler SOS1 dont on connaît les fonctions discutées dans l'introduction [116]. En cas de stress salin, une diminution de la teneur en calcium a été fréquemment observée [117]. Ce n'est pas le cas dans ce travail comme ce ne fut pas le cas dans une étude précédente sur *A. cruentus* [75]. Étant donné la complexité de la signalisation du calcium, il est à mon sens essentiel de s'intéresser spécifiquement au niveau cytosolique car c'est à ce niveau que se produisent les variations en concentration [116]. De plus, lors de stress, la concentration cytosolique en calcium ne varie pas par réduction ou augmentation de la quantité absolue dans les plantes mais par modification de la distribution via les nombreuses sources de calcium existantes dans les cellules comme les parois, les membranes, les vacuoles, les mitochondries et autres organites [116] [118]. L'emploi d'une méthode permettant de mesurer des teneurs au sein des cellules comme la spectrométrie de masse à plasma à couplage inductif peut être intéressante [119]. Notons que plus est que le calcium n'est pas distribué de manière égale entre les tissus des plantes car son transport peut être très dépendant de la transpiration et que celle-ci varie selon les organes (par exemple, la transpiration est plus faible dans les jeunes feuilles que dans les feuilles matures [114]).

Les teneurs en fer, cuivre et zinc ne semblent pas varier hormis une légère diminution en cuivre dans les graines ce qui est intéressant étant donné que ce sont des micronutriments importants pour la santé humaine [120].

### 3. Implication du sodium, de la proline, glycine bêtaïne et des sucres solubles totaux dans l'ajustement osmotique

Il est important de faire un rappel sur le sodium. Il a de nombreux effets néfastes quand il est présent en trop grande quantité dans la plante (discuté dans l'introduction) mais il s'avère que c'est un élément qui peut avoir un véritable rôle positif autant chez les plantes glycophytes qu'halophytes [34]. C'est le cas notamment en conditions déficientes en potassium [121] [122].

De par sa similarité avec le potassium, il peut exercer les fonctions non spécifiques du potassium comme l'osmorégulation. Cette fonction consiste simplement à l'accumulation de cations potassium afin de réduire le potentiel osmotique du compartiment [123]. On parle de non-spécificité dans la mesure où la fonction requiert un cation monovalent et non un cation potassium forcément [124]. Etant proches chimiquement du potassium, les ions sodium peuvent ainsi assurer cette fonction.

Néanmoins, malgré ces quelques bénéfices du sodium, cet élément n'est pas considéré comme un nutriment essentiel mais plutôt comme un nutriment fonctionnel [122]. Rappelons qu'un élément est considéré comme essentiel lorsqu'il remplit plusieurs critères : éléments nécessaires pour la réalisation du cycle de vie, ses actions sont spécifiques et ne peuvent être remplacées par un autre élément et ses effets sur l'organisme doivent être directs [124] [125].

Le sodium ne remplit pas ces critères pour une raison majeure, il est essentiel pour le cycle de vie d'un nombre seulement limité d'espèces. En effet, seulement quelques groupes de plantes sont affectées positivement par le sodium [124]. C'est le cas de certains groupes de plantes en C<sub>4</sub>. Chez certaines de ces plantes, la présence de sodium est importante pour la régénération de phosphoénolpyruvate, la synthèse de chlorophylle, l'activité du photosystème II, etc. C'est par exemple le cas pour les *Amaranthaceae* comme *Amaranthus.tricolor* et *Kochia childsii* (de la sous-famille des *Chenopodiaceae*) [126] [127] et les *Poaceae* comme *Panicum coloratum* [128]. Cependant, même parmi les plantes à métabolisme en C<sub>4</sub>, le sodium n'est pas forcément bénéfique. C'est le cas pour le maïs (*Zea mays*) et le sorgho *Sorghum bicolor*) [129].

Comme nous l'avons vu précédemment, le sodium peut exercer un rôle d'osmorégulateur. En effet, les ions sodium peuvent être impliqués dans l'ajustement osmotique des plantes pour faire face aux perturbations [61]. D'ailleurs, l'utilisation exclusive de molécules organiques pour effectuer l'ajustement osmotique nécessite un coût plus élevé que le recours à des ions [21]. Certaines plantes ont donc largement recours à l'accumulation d'ions inorganiques pour l'ajustement osmotique tel que le sodium comme par exemple *Populus euphratica* et *Cynara cardunculus* [130] [131]. C'est vraisemblablement le cas d'*A.cruentus* étant donné la forte accumulation de sodium dans les tiges et les feuilles associé à leur tolérance. Mentionnons tout de même qu'il aurait été intéressant d'étudier si il y a bien une modification du potentiel osmotique afin de confirmer l'ajustement osmotique. De plus, peu de différences de teneur en proline, glycine bêtaïne et sucres solubles ont été observées entre traitements ce qui traduit le peu d'investissement dans ces molécules. Néanmoins, il est important de souligner que bien que cela ne soit pas statistiquement montré, il y a une tendance à la hausse pour toutes ces

molécules avec la salinité ce qui suggère tout de même un léger recours à ces composés. L'utilisation de plusieurs solutés afin d'effectuer l'ajustement osmotique n'est pas surprenant car cela est fréquemment observé et la contribution de chaque soluté varie en fonction de l'espèce et la concentration en sel [21]. On comprend donc que ces 2 variétés d'*A.cruentus* utilisent plusieurs moyens pour effectuer l'ajustement osmotique et essentiellement l'accumulation d'ions sodium. Notons que d'autres solutés sont probablement impliqués dans l'ajustement osmotique comme les ions chlorures qui n'ont pas été dosés dans cette étude et les ions potassium dont la teneur n'a pas été réduite [132]. Il est possible aussi que d'autres molécules organiques connues ou non soient impliqués.

## Conclusion

Ce travail met en évidence l'intérêt d'*A. cruentus* dans la problématique de la salinité des sols étant donné sa capacité de tolérance. Cette capacité varie en fonction du cultivar, il est clair que Don Leon présente une plus grande tolérance que Montana 5 ce qui peut s'expliquer par la capacité à améliorer son efficacité d'utilisation en eau (WUE). Néanmoins, malgré sa sensibilité par rapport à Don Leon, la variété Montana 5 est capable de réaliser son cycle de vie ce qui témoigne tout de même d'une certaine tolérance. Globalement, la stratégie d'ajustement osmotique effectuée par *A. cruentus* repose essentiellement sur l'accumulation d'ions sodium. Notons que cette accumulation ne semble pas entraver drastiquement l'approvisionnement en autres minéraux ce qui traduit l'intérêt nutritionnel de ces plantes et l'importance d'étudier leurs systèmes de transport. Fait intéressant, le magnésium semble jouer un rôle dans la capacité de tolérance à la salinité d'*A. cruentus*. Cependant, la phase reproductive est très nettement impactée par la salinité contrairement à la phase végétative. Ceci met en évidence l'intérêt de la consommation des feuilles plutôt que des graines en conditions de salinité. Dans le contexte climatique actuel, *A. cruentus* représente bien une source alternative de nourriture.

# Bibliographie

1. Shivanna K R. (2020). The Sixth Mass Extinction Crisis and its Impact on Biodiversity and Human Welfare. *Resonance*, 25, 93-109. <https://doi.org/10.1007/s12045-019-0924-z>
2. Skripnuk D F., Samylovskaya E A. (2018). Human Activity and the Global Temperature of the Planet. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 180, 012021. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/180/1/012021>
3. Raza A., Razzaq A., Mehmood S S., Zou X., Zhang X., Lv Y., Xu J. (2019). Impact of Climate Change on Crops Adaptation and Strategies to Tackle Its Outcome: A Review. *Plants*, 8, 34. <https://doi.org/10.3390/plants8020034>
4. Wheeler T., Von Braun J. (2013). Climate Change Impacts on Global Food Security. *Science*, 341, 508-513. <https://doi.org/10.1126/science.1239402>
5. Climate change 2022. Impacts, Adaptation and Vulnerability. (2022). Intergovernmental panel on climate change.
6. Shahid A., Zaman M., Heng L. Introduction to Soil Salinity, Sodicity and Diagnostics Techniques. *In* Guideline for Salinity Assessment, Mitigation and Adaptation Using Nuclear and Related Techniques, 2018, Springer International Publishing, Cham. 1-42. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-96190-3\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-319-96190-3_1)
7. Parihar P., Singh S., Singh R., Singh VP., Prasad S M. (2015). Effect of salinity stress on plants and its tolerance strategies: a review. *Environmental Science and Pollution Research*, 22, 4056-4075. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3739-1>
8. Parvaiz A., Azooz M M., Prasad M N V. *Ecophysiology and Responses of Plants under Salt Stress*. Springer Nature, 2013.
9. Deprez M., De Kock T., De Schutter G., Cnudde V. (2020). A review on freeze-thaw action and weathering of rocks. *Earth-Science Reviews*, 203, 103143. <https://doi.org/10.1016/j.earscirev.2020.103143>
10. Chen J., Blume H-P., Beyer L. (2000). Weathering of rocks induced by lichen colonization — a review. *CATENA*, 39, 121-146. [https://doi.org/10.1016/S0341-8162\(99\)00085-5](https://doi.org/10.1016/S0341-8162(99)00085-5)
11. Shahid S., Zaman M., Heng L. Soil Salinity: Historical Perspectives and a World Overview of the Problem. *In* Guideline for Salinity Assessment, Mitigation and Adaptation Using Nuclear and Related Techniques, 2018, Springer International Publishing, Cham, 43-53. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-96190-3\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-319-96190-3_2)
12. Singh A. (2021). Soil salinization management for sustainable development: A review. *Journal of Environmental Management*, 277, 111383. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.111383>
13. Wichelns D. (2014). Investing in small, private irrigation to increase production and enhance livelihoods. *Agricultural Water Management*, 131, 163-166. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2013.09.003>
14. FAO. L'eau, l'agriculture et l'alimentation. Consulté le 27 avril 2022. <https://www.fao.org/3/y4683f/y4683f07.htm>
15. Shrivastava P., Kumar R. (2015). Soil salinity: A serious environmental issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 22, 123-131. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2014.12.001>
16. Zhao C., Zhang H., Song C., Zhu J-K., Shabala S. (2020). Mechanisms of Plant Responses and Adaptation to Soil Salinity. *The Innovation*, 1, 100017. <https://doi.org/10.1016/j.xinn.2020.100017>
17. Okur B., Orçen S., Prasad M N., Pietrzykowski M., Chapter 12 - Soil salinization and climate change. *In* Climate Change and Soil Interactions, 2020, Elsevier, 331-350.
18. Mukhopadhyay R., Sarkar B., Jat Hanuman S., Sharma Parbodh., Bolan Nanthi S. (2021). Soil salinity under climate change: Challenges for sustainable agriculture and food security. *Journal of Environmental Management*, 280, 111736. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.111736>
19. Corwin D. (2021). Climate change impacts on soil salinity in agricultural areas. *European Journal of Soil Science*, 72, 842-862. <https://doi.org/10.1111/ejss.13010>
20. Eswar D., Karuppusamy R., Chellamuthu S. (2021). Drivers of soil salinity and their correlation with climate change. *Current Opinion in Environmental Sustainability*, 50, 310-318. <https://doi.org/10.1016/j.cosust.2020.10.015>
21. Munns R., Passioura J B., Colmer T D., Byrt C S. (2020). Osmotic adjustment and energy limitations to plant growth in saline soil. *New Phytologist*, 225, 1091-1096. <https://doi.org/10.1111/nph.15862>
22. Rubio F., Nieves-Cordon M., Horie T., Shabala S. (2020). Doing 'business as usual' comes with a cost: evaluating energy cost of maintaining plant intracellular K<sup>+</sup> homeostasis under saline conditions. *New Phytologist*, 225, 1097-1104. <https://doi.org/10.1111/nph.15852>

23. Byrt C S., Zhao M., Kourghi M., Bose J., Henderson S W. (2017). Non-selective cation channel activity of aquaporin AtPIP2;1 regulated by Ca<sup>2+</sup> and PH. *Plant, Cell & Environment*, 40, 802-815. <https://doi.org/10.1111/pce.12832>
24. Sevengor S., Yasar F., Kusvuran S., Ellialtioglu S. (2011). *African Journal of Agricultural Research*, 6, 4920-4924.
25. Mittler R. (2017). ROS Are Good. *Trends in Plant Science*, 22, 11-19. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.08.002>
26. Othman Y., Al-Karaki G., Al-Tawaha A-R., Al-Horani A. (2006). Variation in Germination and Ion Uptake in Barley Genotypes under Salinity Conditions. *World Journal of Agricultural Sciences*, 2, 11-15.
27. Zeng W-Z., Xu C., Wu J-W., Huang J-S., Zhao Q., Wu M-S. (2014). Impacts of Salinity and Nitrogen on the Photosynthetic Rate and Growth of Sunflowers (*Helianthus annuus L.*). *Pedosphere*, 24, 635-644. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(14\)60049-7](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(14)60049-7)
28. Munns R. (2002). FWUE. *Plant, Cell & Environment*, 25, 239-250. <https://doi.org/10.1046/j.0016-8025.2001.00808.x>
29. Stepien P., Klobus G. (2005). Antioxidant defense in the leaves of C3 and C4 plants under salinity stress. *Physiologia Plantarum*, 125, 31-40. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2005.00534.x>
30. Acosta-Motos J R., Ortuño M F., Bernal-Vicente A., Diaz-Vivancos P., Sanchez-Blanco M J., Hernandez J A. (2017). Plant Responses to Salt Stress: Adaptive Mechanisms. *Agronomy*, 7, 18. <https://doi.org/10.3390/agronomy7010018>
31. Reynolds-Henne C E., Langenegger A., Mani J., Schenk N., Zumsteg A., Feller U. (2010). Interactions between temperature, drought and stomatal opening in legumes. *Environmental and Experimental Botany*, 68, 37-43. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2009.11.002>
32. Kerstiens G., Tych W., Robinson M F., Mansfield T A. (2002). Sodium-related partial stomatal closure and salt tolerance of *Aster tripolium*. *New Phytologist*, 153, 509-515. <https://doi.org/10.1046/j.0028-646X.2001.00330.x>
33. Zhu J K. (2007). *Plant Salt Stress*. Wiley, eIS.
34. Kronzucker H J., Coskun D., Schulze L M., Wong J R., Britto D T. (2013). Sodium as nutrient and toxicant. *Plant and Soil*, 369, 1-23. <https://doi.org/10.1007/s11104-013-1801-2>
35. Ghanem M E., Van Elteren J., Albacete A., Quinet M., Martínez-Andújar C. (2009). Impact of salinity on early reproductive physiology of tomato (*Solanum lycopersicum*) in relation to a heterogeneous distribution of toxic ions in flower organs. *Functional Plant Biology*, 36, 125. <https://doi.org/10.1071/FP08256>
36. Cho L H., Yoon J., An G. (2017). The control of flowering time by environmental factors. *The Plant Journal*, 90, 708-719. <https://doi.org/10.1111/tpj.13461>
37. Takeno K. (2016). Stress-induced flowering: the third category of flowering response. *Journal of Experimental Botany*, 67, 4925-4934. <https://doi.org/10.1093/jxb/erw272>
38. Qadir M., Qureshi R H., Ahmad N. (1998). Horizontal flushing: a promising ameliorative technology for hard saline-sodic and sodic soils. *Soil and Tillage Research*, 45, 119-131. [https://doi.org/10.1016/S0933-3630\(96\)00130-4](https://doi.org/10.1016/S0933-3630(96)00130-4)
39. Burt C M., Isbell B. (2005). LEACHING OF ACCUMULATED SOIL SALINITY UNDER DRIP IRRIGATION. *Transactions of the ASAE*, 48, 2115-2121. <https://doi.org/10.13031/2013.20097>
40. Bello S K., Alayafi A H., Al-Solaimani S G., Abo-Elyousr K A. (2021). Mitigating Soil Salinity Stress with Gypsum and Bio-Organic Amendments: A Review. *Agronomy*, 11, 1735. <https://doi.org/10.3390/agronomy11091735>
41. Zhang W., Zhao Y., Wang S., Li Y., Zhuo Y., Liu J. (2021). Soil salinity and sodicity changes after a one-time application of flue gas desulphurization gypsum to paddy fields. *Land Degradation & Development*, 32, 4193-4202. <https://doi.org/10.1002/ldr.4025>
42. Stamford N P., Figueiredo M V B., Junior S., Freitas A D S., Santos C E., Junior M A L. (2015). Effect of gypsum and sulfur with *Acidithiobacillus* on soil salinity alleviation and on cowpea biomass and nutrient status as affected by PK rock biofertilizer. *Scientia Horticulturae*, 192, 287-292. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.06.008>
43. Katiyar-Agarwal S., Zhu J., Kim K. (2006). The plasma membrane Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> antiporter SOS1 interacts with RCD1 and functions in oxidative stress tolerance in Arabidopsis | PNAS. *Biological Sciences*, 103, 18816-18821. <https://doi.org/10.1073/pnas.0604711103>
44. Shi H., Quintero F J., Pardo J M., Zhu J-K. (2002). The Putative Plasma Membrane Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> Antiporter SOS1 Controls Long-Distance Na<sup>+</sup> Transport in Plants. *The Plant Cell*, 14, 465-477. <https://doi.org/10.1105/tpc.010371>

45. Ali A., Maggio A., Bressan R A., Yun D-J. (2019). Role and Functional Differences of HKT1-Type Transporters in Plants under Salt Stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 20, 1059. <https://doi.org/10.3390/ijms20051059>
46. Hamamoto S., Horie T., Hauser F., Deinlein U., Schroeder J., Uozumi N. (2015). HKT transporters mediate salt stress resistance in plants: from structure and function to the field. *Current Opinion in Biotechnology*, 32, 113-120. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2014.11.025>
47. Liu X., Mak M., Babla M., Wang F., Chen G. (2014). Linking stomatal traits and expression of slow anion channel genes HvSLAH1 and HvSLAC1 with grain yield for increasing salinity tolerance in barley. *Frontiers in Plant Science*, 5.
48. Bassil E., Blumwald E. (2014). The ins and outs of intracellular ion homeostasis: NHX-type cation/H<sup>+</sup> transporters. *Current Opinion in Plant Biology*, 22, 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2014.08.002>
49. Rodríguez-Rosales M P., Gálvez F J., Huertas R., Aranda M N., Baghour M., Cagnac O., Venema K. (2009). Plant NHX cation/proton antiporters. *Plant Signaling & Behavior*, 4, 265-276. <https://doi.org/10.4161/psb.4.4.7919>
50. Bassil E., Tajima H., Liang Y-C., Ohto M-A., Ushijima K. (2011). The *Arabidopsis* Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> Antiporters NHX1 and NHX2 Control Vacuolar pH and K<sup>+</sup> Homeostasis to Regulate Growth, Flower Development, and Reproduction. *The Plant Cell*, 23, 3482-3497. <https://doi.org/10.1105/tpc.111.089581>
51. Wu H., Li Z. (2019). The Importance of Cl<sup>-</sup> Exclusion and Vacuolar Cl<sup>-</sup> Sequestration: Revisiting the Role of Cl<sup>-</sup> Transport in Plant Salt Tolerance. *Frontiers in Plant Science*, 10.
52. Nguyen C T., Agorio A., Jossier M., Depré S., Thomine S., Filleur S. (2016). Characterization of the Chloride Channel-Like, AtCLCg, Involved in Chloride Tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Plant and Cell Physiology*, 57, 764-775. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcv169>
53. Ejaz S., Fahad S., Anjum M A., Nawaz A., Naz . (2020). Role of Osmolytes in the Mechanisms of Antioxidant Defense of Plants. *In Sustainable Agriculture Reviews*, 39, 95-117. Springer International Publishing, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-38881-2\\_4](https://doi.org/10.1007/978-3-030-38881-2_4)
54. Diamant S., Eliahu N., Rosenthal D., Goloubinoff P. (2001). Chemical Chaperones Regulate Molecular Chaperones in Vitro and in Cells under Combined Salt and Heat Stresses. *Journal of Biological Chemistry*, 276, 39586-39591. <https://doi.org/10.1074/jbc.M103081200>
55. Ashraf M., Foolad M R. (2007). Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany*, 59, 206-216. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2005.12.006>
56. Verbruggen N., Hermans C. (2008). Proline accumulation in plants: a review. *Amino Acids*, 35, 753-759. <https://doi.org/10.1007/s00726-008-0061-6>
57. Hare P D., Cress W A. (1997). Metabolic implications of stress-induced proline accumulation in plants. *Plant Growth Regulation*, 21, 79-102. <https://doi.org/10.1023/A:1005703923347>
58. Annunziata M G., Ciarmiello L., Woodrow P., Dell'Aversana E., Carillo P. (2019). Spatial and Temporal Profile of Glycine Betaine Accumulation in Plants Under Abiotic Stresses. *Frontiers in Plant Science*, 10.
59. Li D., Zhang T., Wang M., Liu Y., Brestic M., Chen T H H., Yang X. (2019). Genetic Engineering of the Biosynthesis of Glycine Betaine Modulates Phosphate Homeostasis by Regulating Phosphate Acquisition in Tomato. *Frontiers in Plant Science*, 9.
60. Sharma A., Shahzad B., Kumar V., Kohli S K., Sidhu G P S. (2019). Phytohormones Regulate Accumulation of Osmolytes Under Abiotic Stress. *Biomolecules*, 9, 285. <https://doi.org/10.3390/biom9070285>
61. Chen H., Jiang J-G. (2010). Osmotic adjustment and plant adaptation to environmental changes related to drought and salinity. *Environmental Reviews*, 18, 309-319.
62. Ahmad P., Sarwat M., Sharma S. (2008). Reactive oxygen species, antioxidants and signaling in plants. *Journal of Plant Biology*, 51, 167-173. <https://doi.org/10.1007/BF03030694>
63. Hernandez J A., Jimenez A., Mullineaux P., Sevilla F. (2000). Tolerance of pea (*Pisum sativum L.*) to long-term salt stress is associated with induction of antioxidant defences. *Plant, Cell & Environment*, 23, 853-862. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2000.00602.x>
64. Rasool S., Hameed A., Azooz M., Muneeb U., Siddiqi T., Ahmad P. (2013). Salt Stress: Causes, Types and Responses of Plants. *In Ecophysiology and Responses of Plants under Salt Stress*, 1-24.
65. Das S. (2016). *Amaranthus: A Promising Crop of Future*. Springer Singapore, Singapore.
66. Villarreal M., Iturriaga L B., Kristbergsson K., Oliveira J. (2016). Amaranth: An Andean Crop with History, Its Feeding Reassessment in America. *In Traditional Foods: General and Consumer Aspects*, 217-232. Springer US, Boston.

67. Sage R F. (2004). The evolution of C4 photosynthesis. *New Phytologist*, 161, 341-370. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2004.00974.x>
68. Sharkey T D., Zhang R. (2010). High Temperature Effects on Electron and Proton Circuits of Photosynthesis. *Journal of Integrative Plant Biology*, 52, 712-722. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2010.00975.x>
69. Joshi D C., Sood S., Hosahatti R., Kant L., Pattanayak A. (2018). From zero to hero: the past, present and future of grain amaranth breeding. *Theoretical and Applied Genetics*, 131, 1807-1823. <https://doi.org/10.1007/s00122-018-3138-y>
70. Alvarez-Jubete L., Arendt E K., Gallagher E. (2010). Nutritive value of pseudocereals and their increasing use as functional gluten-free ingredients. *Trends in Food Science & Technology*, 21, 106-113. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2009.10.014>
71. Caselato-Sousa V M., Amaya-Farfan J. (2012). State of Knowledge on Amaranth Grain: A Comprehensive Review. *Journal of Food Science*, 77, 93-104. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2012.02645.x>
72. Elhardallou S., Elawad A., Khairi N., Gobouri A., Dhahawi H. (2014). A Review on Omega-3 and Omega-6 Essential Fatty Acids: Uses, Benefits and their Availability in Pumpkins (*Cucurbita maxima*) Seed and Desert Dates (*Balanites aegyptiaca*) Seed Kernel Oils. *Pakistan journal of biological sciences : PJBS*, 17, 1195-1208. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2014.1195.1208>
73. Candela C G., Lopez L M B., Kohen V L. (2011). Importance of a balanced omega 6/omega 3 ratio for the maintenance of health nutritional recommendations. *NUTRICION HOSPITALARIA*, 26, 323-329. <https://doi.org/10.3305/nh.2011.26.2.5117>
74. Délano-Frier J P., Avilés-Arnaut H., Casique-Arroyo G., Castrillón-Arbeláez P. (2011). Transcriptomic analysis of grain amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) using 454 pyrosequencing: comparison with *A. tuberculatus*, expression profiling in stems and in response to biotic and abiotic stress. *BMC Genomics*, 12, 363. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-12-363>
75. Luyckx A., Beghin C., Quinet M., Achadé B., Prodjinoto H., Gandonou C B., Lutts S. (2021). Salinity differently affects antioxidant content and amino acid profile in two cultivars of *Amaranthus cruentus* differing in salinity tolerance. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101, 6211-6219. <https://doi.org/10.1002/jsfa.11272>
76. Palmeros-Suárez P A., Massange-Sánchez J A., Sánchez-Segura L., Martínez-Gallardo N A., Espitia Rangel E., Gómez-Leyva J F., Délano-Frier J P. (2017). AhDGR2, an amaranth abiotic stress-induced DUF642 protein gene, modifies cell wall structure and composition and causes salt and ABA hypersensitivity in transgenic *Arabidopsis*. *Planta*, 245, 623-640. <https://doi.org/10.1007/s00425-016-2635-y>
77. Huerta-Ocampo J A., Barrera-Pacheco A., Mendoza-Hernández C S., Espitia-Rangel E., Mock H P., Barba de la Rosa A P. (2014). Salt Stress-Induced Alterations in the Root Proteome of *Amaranthus cruentus* L.. *Journal of Proteome Research*, 13, 3607-3627. <https://doi.org/10.1021/pr500153m>
78. Omant E N., Hammes P S., Robbertse P J. (2006). Differences in salinity tolerance for growth and water-use efficiency in some amaranth (*Amaranthus.spp.*) genotypes. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 34, 11-22. <https://doi.org/10.1080/01140671.2006.9514382>
79. Ljaz M., Nawaz A., Ui-Allah S., Rizwan M S., Ullah A. (2019). Crop Diversification and Food Security. In *Agronomic Crops: Volume 1: Production Technologies*, 607-621. Springer, Singapore. [https://doi.org/10.1007/978-981-32-9151-5\\_26](https://doi.org/10.1007/978-981-32-9151-5_26)
80. Wolosik K., Markowska A. (2019). *Amaranthus Cruentus* Taxonomy, Botanical Description, and Review of its Seed Chemical Composition. *Natural Product Communications*, 14. <https://doi.org/10.1177/1934578X19844141>
81. Bates L S., Waldren R P., Teare I D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39, 205-207. <https://doi.org/10.1007/BF00018060>
82. Grieve C M., Grattan S R. (1983). Rapid assay for determination of water soluble quaternary ammonium compounds. *Plant and Soil*, 70, 303-307. <https://doi.org/10.1007/BF02374789>
83. Safdar H., Amin A., Shafiq Y., Ali A., Yasin R., Sarwar M I. (2019). A review : Impact of salinity on plant growth. *Nature and Science*, 1, 34-40. <https://doi.org/10.7537/marsnsj170119.06>
84. Romero-Aranda R., Soria T., Cuartero J. (2001). Tomato plant-water uptake and plant-water relationships under saline growth conditions. *Plant Science*, 160, 265-272. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(00\)00388-5](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(00)00388-5)
85. Ghoulam C., Foursy A., Fares K. (2002). Effects of salt stress on growth, inorganic ions and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in five sugar beet cultivars. *Environmental and Experimental Botany*, 47, 39-50. [https://doi.org/10.1016/S0098-8472\(01\)00109-5](https://doi.org/10.1016/S0098-8472(01)00109-5)
86. Bernard-Gand C., Prodjinoto H., Ahissou Zankla Z., Dossou Wouyou A., Lutts S. (2018). Effects of salinity stress on growth in relation to gas exchanges parameters and water status in amaranth

- (*Amaranthus cruentus*). International Journal of Plant Physiology and Biochemistry, 10, 19-27. <https://doi.org/10.5897/IJPPB2018.0280>
87. Ornami E N., Hammes P S. (2006). Ameliorative effects of calcium on growth and mineral uptake of salt-stressed amaranth. South African Journal of Plant and Soil, 23, 197-202. <https://doi.org/10.1080/02571862.2006.10634754>
  88. Liu F., Stützel H. (2004). Biomass partitioning, specific leaf area, and water use efficiency of vegetable amaranth (*Amaranthus spp.*) in response to drought stress. Scientia Horticulturae, 102, 15-27. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2003.11.014>
  89. Hasanuzzaman M., Shabala L., Zhou M., Brodribb T J., Corkrey R., Shabala S. (2018). Factors determining stomatal and non-stomatal (residual) transpiration and their contribution towards salinity tolerance in contrasting barley genotypes. Environmental and Experimental Botany, 153, 10-20. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2018.05.002>
  90. Stanton M L., Roy B A., Thiede D A. (2000). Evolution in Stressful Environments. I. Phenotypic Variability, Phenotypic Selection, and Response to Selection in Five Distinct Environmental Stresses. Evolution, 54, 93-111. <https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2000.tb00011.x>
  91. Park H J., Gámez-Arjona F., Lindahl M., Aman R., Villalta I. (2022). S -acylated and nucleus-localized SALT OVERLY SENSITIVE3/CALCINEURIN B-LIKE4 stabilizes GIGANTEA to regulate *Arabidopsis* flowering time under salt stress. The Plant Cell, 1-20 <https://doi.org/10.1093/plcell/koac289>
  92. Maas E V., Poss J A., Hoffman G J. (1986). Salinity sensitivity of sorghum at three growth stages. Irrigation Science, 7, 1-11. <https://doi.org/10.1007/BF00255690>
  93. Maas E V., Poss J A. (1989). Salt sensitivity of wheat at various growth stages. Irrigation Science, 10, 29-40. <https://doi.org/10.1007/BF00266155>
  94. Arzani A. (2008). Improving salinity tolerance in crop plants: a biotechnological view. In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant, 44, 373-383. <https://doi.org/10.1007/s11627-008-9157-7>
  95. Yildiz M., Poyraz M., Çavdar A., Özgen Y., Beyaz R. (2020). Plant Responses to Salt Stress. In Plant Breeding – Current and Future Views. IntechOpen.
  96. Schachtman D P., Munns R. (1992). Sodium Accumulation in Leaves of *Triticum* Species That Differ in Salt Tolerance. Functional Plant Biology, 19, 331-340. <https://doi.org/10.1071/pp9920331>
  97. Schroeder J I., Delhaize E., Frommer W B., Guerinot M L., Harrison M J. (2013). Using membrane transporters to improve crops for sustainable food production. Nature, 497, 60-66. <https://doi.org/10.1038/nature11909>
  98. Deinlein U., Stephan A B., Horie T., Luo W., Xu G., Schroeder J I. (2014). Plant salt-tolerance mechanisms. Trends in Plant Science, 19, 371-379. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2014.02.001>
  99. Han Y., Yin S., Huang L. (2015). Towards plant salinity tolerance-implications from ion transporters and biochemical regulation. Plant Growth Regulation, 76, 13-23. <https://doi.org/10.1007/s10725-014-9997-6>
  100. Han R., Quinet M., André E., Van Elteren J T., Destrebecq F. (2013). Accumulation and distribution of Zn in the shoots and reproductive structures of the halophyte plant species *Kosteletzkya virginica* as a function of salinity. Planta, 238, 441-457. <https://doi.org/10.1007/s00425-013-1903-3>
  101. Bigot S., Pongrac P., Sala M., Van Elteren J T., Martinez J P., Lutts S., Quinet M. (2022). The Halophyte Species *Solanum chilense* Dun. Maintains Its Reproduction despite Sodium Accumulation in Its Floral Organs. Plants, 11, 672. <https://doi.org/10.3390/plants11050672>
  102. Doyle M E., Glass K A. (2010). Sodium Reduction and Its Effect on Food Safety, Food Quality, and Human Health. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 9, 44-56. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2009.00096.x>
  103. Gupta D., Georgiopoulou V V., Kalogeropoulos A P., Dunbar S B., Reilly C M. (2012). Dietary Sodium Intake in Heart Failure. Circulation, 126, 479-485. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.111.062430>
  104. Wang M., Zheng Q., Shen Q., Guo S. (2013). The Critical Role of Potassium in Plant Stress Response. International Journal of Molecular Sciences, 14, 7370-7390. <https://doi.org/10.3390/ijms14047370>
  105. Verma P., Yadav A N., Khannam K S., Saxena A K., Suman A. (2017). Potassium-Solubilizing Microbes: Diversity, Distribution, and Role in Plant Growth Promotion. In Microorganisms for

- Green Revolution: Volume 1: Microbes for Sustainable Crop Production, 125-149. Springer, Singapore.
106. Wu H., Shabala L., Barry K., Zhou M., Shabala S. (2013). Ability of leaf mesophyll to retain potassium correlates with salinity tolerance in wheat and barley. *Physiologia Plantarum*, 149, 515-527. <https://doi.org/10.1111/ppl.12056>
  107. Wang N., Qi H., Su G., Yang J., Zhou H. (2016). Genotypic variations in ion homeostasis, photochemical efficiency and antioxidant capacity adjustment to salinity in cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Soil Science and Plant Nutrition*, 62, 240-246. <https://doi.org/10.1080/00380768.2016.1172022>
  108. Dreyer I., Uozumi N. (2011). Potassium channels in plant cells. *The FEBS Journal*, 278, 4293-4303. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2011.08371.x>
  109. Wu H., Zhang X., Giraldo J P., Shabala S. (2018). It is not all about sodium: revealing tissue specificity and signalling roles of potassium in plant responses to salt stress. *Plant and Soil*, 431, 1-17. <https://doi.org/10.1007/s11104-018-3770-y>
  110. Wang Y., Wu W H. (2013). Potassium Transport and Signaling in Higher Plants. *Annual Review of Plant Biology*, 64, 451-476. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050312-120153>
  111. Chen Z C., Yamaji N., Horie T., Che J., Li J., An G., Ma J F. (2017). A Magnesium Transporter OsMGT1 Plays a Critical Role in Salt Tolerance in Rice. *Plant Physiology*, 174, 1837-1849. <https://doi.org/10.1104/pp.17.00532>
  112. Rivelli A R., De Maria S., Pizza S. (2010). Growth and physiological response of hydroponically-grown sunflower as affected by salinity and magnesium levels. *Journal of Plant Nutrition*, 33, 1307-1323. <https://doi.org/10.1080/01904167.2010.484092>
  113. Kobayashi N I., Tanoi K. (2015). Critical Issues in the Study of Magnesium Transport Systems and Magnesium Deficiency Symptoms in Plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 16, 23076-23093. <https://doi.org/10.3390/ijms160923076>
  114. White P J., Broadley M R. (2003). Calcium in Plants. *Annals of Botany*, 92, 487-511. <https://doi.org/10.1093/aob/mcg164>
  115. Tuteja N., Mahajan S. (2007). Calcium Signaling Network in Plants. *Plant Signaling & Behavior*, 2, 79-85. <https://doi.org/10.4161/psb.2.2.4176>
  116. Kader M A., Lindberg S. (2010). Cytosolic calcium and pH signaling in plants under salinity stress. *Plant Signaling & Behavior*, 5, 233-238. <https://doi.org/10.4161/psb.5.3.10740>
  117. Shannon M C., Grieve C M. (1998). Tolerance of vegetable crops to salinity. *Scientia Horticulturae*, 78, 5-38. [https://doi.org/10.1016/S0304-4238\(98\)00189-7](https://doi.org/10.1016/S0304-4238(98)00189-7)
  118. Dayod M., Tyerman S D., Leigh R A., Gilliam M. (2010). Calcium storage in plants and the implications for calcium biofortification. *Protoplasma*, 247, 215-231. <https://doi.org/10.1007/s00709-010-0182-0>
  119. Birsin M., Adak M. Inal A., Aksu A., Gunes A. (2010). Mineral element distribution and accumulation patterns within two barley cultivars. *Journal of Plant Nutrition*, 33, 267-284. <https://doi.org/10.1080/01904160903435391>
  120. Imtiaz M., Rashid A., Khan P., Memon M., Aslam M. (2010). The role of micronutrients in crop production and human health. *Pakistan Journal of Botany*, 42, 2565-2578.
  121. Wakeel A., Steffens D., Schubert S. (2010). Potassium substitution by sodium in sugar beet (*Beta vulgaris*) nutrition on K-fixing soils. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 173, 127-134. <https://doi.org/10.1002/jpln.200900270>
  122. Maathuis F. (2014). Sodium in plants: perception, signalling, and regulation of sodium fluxes. *Journal of Experimental Botany*, 65, 849-858. <https://doi.org/10.1093/jxb/ert326>
  123. Sigel A., Sigel H., Sigel R., Al-Burki F. (2016). *The Alkali Metal Ions: Their Role for Life. Metal Ions in Life Sciences*, 16. Springer International Publishing, Cham
  124. Subbarao G V., Ito O., Berry W L., Wheeler R M. (2003). Sodium—A Functional Plant Nutrient. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 22, 391-416. <https://doi.org/10.1080/07352680390243495>
  125. Brown P H., Zhao F J., Dobermann A. (2022). What is a plant nutrient? Changing definitions to advance science and innovation in plant nutrition. *Plant and Soil*, 476, 11-23. <https://doi.org/10.1007/s11104-021-05171-w>
  126. Murata S., Kobayashi M., Match T., Sekiya J. (1993). Sodium Stimulates Regeneration of Phosphoenolpyruvate in Mesophyll Chloroplasts of *Amaranthus tricolor*. *Plant and Cell Physiology*, 33, 1247-1250. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a078381>

127. Johnston M., Grof C P L., Brownell P F. (1988). The Effect of Sodium Nutrition on the Pool Sizes of Intermediates of the C Photosynthetic Pathway. *Functional Plant Biology*, 15, 749-760. <https://doi.org/10.1071/pp9880749>
128. Ando T., Oguchi Y. (1990). A possible role of sodium in chlorophyll biosynthesis of sodium-requiring C<sub>4</sub>-plants. *Transactions 14th International Congress of Soil Science, Kyoto, Japan, August 1990, Volume IV*, 152-157.
129. Ohnishi J I., Flügge U I., Heldt H W., Kanai R. (1990). Involvement of Na<sup>+</sup> in Active Uptake of Pyruvate in Mesophyll Chloroplasts of Some C<sub>4</sub> Plants: Na<sup>+</sup>/Pyruvate Cotransport. *Plant Physiology*, 94, 950-959.
130. Ottow E A., Brinker M., Teichmann T., Fritz E., Kaiser W. (2005). *Populus euphratica* Displays Apoplastic Sodium Accumulation, Osmotic Adjustment by Decreases in Calcium and Soluble Carbohydrates, and Develops Leaf Succulence under Salt Stress. *Plant Physiology*, 139, 1762-1772. <https://doi.org/10.1104/pp.105.069971>
131. Benlloch-Gonzalez M., Fournier J M., Ramos J., Benlloch M. (2005). Strategies underlying salt tolerance in halophytes are present in *Cynara cardunculus*. *Plant Science*, 168, 653-659. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2004.09.035>
132. Shabala S., Shabala L. (2011). Ion transport and osmotic adjustment in plants and bacteria. *BioMolecular Concepts*, 2, 407-419. <https://doi.org/10.1515/BMC.2011.032>

# Annexes

## A. Composition de la solution d'Hoagland

Hoagland (6/0,5)		diluée 200 fois		
	Produit	Concentration (g/L)	ds 52 L H2O d	Numéro
Solution A1	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	8	260 mL	A61
	Ca(NO <sub>3</sub> ).4H <sub>2</sub> O	82,6		A63
	KNO <sub>3</sub>	35,7		A62
Solution B	KNO <sub>3</sub>	5	260 mL	A62
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	27,4		A69
	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	24,6		A335
	MnSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	0,053		A402/A17 ?
	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0,14		A18
	CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	0,015		A27
	(NH <sub>4</sub> )Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> .4H <sub>2</sub> O	0,008		A5
	ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,06		A2
Solution de fer	Fe EDDHA	1,87	260 mL	A478

## B. Impact de la salinité (0 vs. 75 mM NaCl) sur la hauteur et le nombre de feuilles chez deux variétés d'*Amaranthus cruentus* à 84 jours post-semis

	Montana 5		Don Leon		F			P		
	0 mM	75 mM	0 mM	75 mM	T	V	T V	T	V	T V
Hauteur (cm)	94,79 ± 12,4 c	58,08 ± 5,21 a	87,03 ± 25,9 bc	72,3 ± 6,32 ab	16,6	0,542	6,26	0,055	0,467	0,018
Nombre de feuille	35,56 ± 2,65 b	29,78 ± 5,07 a	32 ± 2,69 ab	28,22 ± 3,8 a	8,32	5,12	0,78	0,102	0,032	0,38

Les valeurs suivies par une même lettre ne sont significativement différentes pour un même paramètre à un seuil 5%. T : traitement, V : variété et T|V : interaction. F : valeur de Fisher et P : p-valeur.

C. Impact de la salinité (0 vs. 75 mM NaCl) sur la date de floraison et la production en graine de deux variétés d'*Amaranthus cruentus*

	Montana 5		Don Leon		F			P		
NaCl	0 mM	75 mM	0 mM	75 mM	T	V	T V	T	V	T V
Date de floraison (jours post-semis)	71,3 ± 4,65 a	71,9 ± 3,04 a	74,5 ± 7,42 a	73,3 ± 5,49 a	0,01	3,16	0,42	0,92	0,08	0,52
Production en graine par plante (g)	14,8 ± 3,63 a	1,57 ± 0,78 c	13,7 ± 5,27 a	4,18 ± 1,45 b	15,01	1,46	4,12	<0,001	0,24	0,049

Les valeurs suivies par une même lettre ne sont significativement différentes pour un même paramètre à un seuil 5%. T : traitement, V : variété et T|V : interaction. F : valeur de Fisher et P : p-valeur.

D. Teneur en sodium, potassium et ratio sodium/potassium dans les feuilles, les tiges et les graines chez 2 variétés d'*A. cruentus*

	Montana 5		Don Leon		F			P		
NaCl	0 mM	75 mM	0 mM	75 mM	T	V	T V	T	V	T V
Na feuilles (mg/g)	1,63 ± 0,65 a	15,02 ± 5,18 b	3,27 ± 1,13 a	14,08 ± 4,05 b	75,3	0,064	0,861	0,013	0,80	0,37
Na tiges (mg/g)	0,70 ± 0,17 a	11,97 ± 2,14 b	0,68 ± 0,17 a	15,24 ± 3,22 b	9867,2	3,89	3,46	0,006	0,067	0,08
Na graines (mg/g)	0,004 ± 0,008 a	1,18 ± 1,01 b	0,18 ± 0,4 a	0,063 ± 0,055 a	4,70	3,71	7,01	0,046	0,072	0,02
K feuilles (mg/g)	48,9 ± 4,30 a	46,3 ± 4,83 a	55,4 ± 13,1 a	58,2 ± 3,10 a	0,002	8,22	0,689	0,972	0,011	0,42

K tiges (mg/g)	134,9 ± 13,5 a	144 ± 16,7 a	153,9 ± 9,1 ab	168,3 ± 12,1 b	3,25	14,7	0,133	0,322	0,002	0,72
K graines (mg/g)	4,8 ± 0,2 a	7,6 ± 2,1 b	4,5 ± 0,37 a	5,01 ± 0,6 a	7,02 5	7,69	4,73	0,016	0,014	0,04 5
Na/K feuilles	0,034 ± 0,01 a	0,33 ± 0,12 b	0,058 ± 0,02 a	0,24 ± 0,08 b	135, 8	0,905	3,10	0,007	0,36	0,09
Na/K tiges	0,005 ± 0,001 a	0,084 ± 0,02 b	0,004 ± 0,0009 a	0,091 ± 0,018 b	3532	0,245	0,347	0,011	0,628	0,56
Na/K graines	0,0007 ± 0,001 a	0,142 ± 0,094 b	0,036 ± 0,078 ab	0,011 ± 0,009 a	2,92	3,05	9,13	0,104	0,099	0,00 8

Les valeurs suivies par une même lettre ne sont significativement différentes pour un même paramètre à un seuil 5%. T : traitement, V : variété et T|V : interaction. F : valeur de Fisher et P : p-valeur.