

Vérification et utilisation d'un test élaboré de préselection des plantes tolérantes aux sels, à partir de la teneur en proline

W. DREIER

Section Biologie de l'Université Humboldt de Berlin,
Département de Biochimie*

Verification and Utilisation of a Preselection Test System for the Salt Tolerance of Plants Based on the Proline Content

Abstract. This paper deals with the verification of a test of crop seedlings for the determination of the salt tolerance. There is a typical concentration of NaCl in the culture medium above which an enhancement of the free proline content is induced (critical point, critical concentration). The determination of this critical concentration in 19 cultivars of crop plants has proved that plants grown in aride areas (*i.e. Hordeum, Triticum durum*) have a critical concentration that is by about 50 to 80 mmol l⁻¹ of NaCl higher than that of plants grown in more humid regions (*i.e. Triticum aestivum*). The critical concentration is not influenced by pH changes of the external solution. Calcium application leads to an enhancement of tolerance. The different increases of growth and fresh mass of salt sensitive and salt tolerant plants selected by this test system proved the aptitude of the critical concentration in culture medium for proline augmentation as a test parameter.

Dans un article précédent (DREIER 1982) on a pu mettre en évidence que la teneur en proline d'un tissu végétal peut servir d'indicateur de la concentration en sel à laquelle la plante peut résister. A une certaine concentration en sel (point critique), la teneur en proline augmente. Ce point critique est très caractéristique pour une plante donnée, dans des conditions bien déterminées, et peut varier entre deux plantes différemment tolérantes aux sels (orge: tolérant; blé: sensible). En outre ce point critique est aisé à reproduire et sert d'indicateur de la tolérance aux sels. Au cours des recherches suivantes, l'auteur examine d'une part l'influence de facteurs différents sur la concentration critique en variant les facteurs suivants: variation du pH, influence du calcium et des substances de croissance (CCC, GA₃, kinétine) et d'autre part, il tente de trouver les caractéristiques d'un échantillonnage de céréales (en particulier du blé) relativement à leur point critique, et de vérifier si ce point critique est en général valable comme indicateur, et ceci en mesurant les paramètres de la croissance en relation avec la durée est le degré de salinité.

Réçu le 18 décembre 1981; accepté le 27 mai 1982

* Adresse: 1040 Berlin, Invalidenstr. 43, R.D.A.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Matériel

Espèces et cultivars dont les caractéristiques sont données par DREIER 1982.

Culture des plantes sur sol salé

Après imbibition des graines de céréales relativement différentes par leur point critique (*Avena sativa* L. et *Triticum aestivum* L. cv. Mironovskaja, comme sensible aux sels, et *Triticum dicoccon* SCHRANK, et *Triticum durum* DESF. cv. Sakha, comme tolérantes aux sels), sont transfert sur sol salé dont la concentration en NaCl était de 0%; 0,1%; 0,2%, et 0,3% par rapport au sol sec. La capacité hydrique du sol avait une valeur de 60% et a été vérifiée chaque jour par pesée, en remplaçant l'eau transpirée par de l'eau distillée d'une quantité équivalente. Culture sur sol jusqu'à la récolte après trois semaines et détermination de la longueur de la tige, de la matière fraîche et sèche.

Influence de la valeur pH

Utilisation d'un tampon de Soerensen (33 mm conc. finale) à partir de la solution nutritive de White.

Application des substances de croissance

Nos travaux ont porté sur trois substances: Chlorure de Chlorocholine (CCC) Acide gibberellique (GA₃), Kinétine.

Le CCC (2×10^{-3} mol l⁻¹) et le GA₃ (7×10^{-4} mol l⁻¹) ont été appliqués pendant l'imbibition des graines (24 h), la kinétine (6×10^{-6} mol l⁻¹) pendant deux jours de la croissance des plantules dans la solution nutritive avant l'application des sels.

Prélèvement des échantillons

Seule la zone de la tige (5 mm au-dessus de la graine des plantules) a été utilisée (50 mg de matière fraîche).

Dosage de la proline

Voir DREIER 1982.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Influence de la valeur du pH sur la formation de proline

Les racines des plantes font varier la valeur de pH d'une substance nutritive de White (solution non tamponnée), au cours des recherches, d'une valeur de 5,4 au départ à une valeur de 6,8 après une durée de 6 jours de culture, et ceci, d'une part par absorption des ions, et d'autre part par excrétion des substances. C'est pourquoi il était nécessaire d'effectuer des recherches sur l'influence de ce changement surtout sur le point critique. La figure 1 montre (pour une solution tamponnée de Soerensen que l'influence de cette

variation du pH est négligeable car le point critique ne varie pas beaucoup, même si les valeurs maximales de la teneur en proline sont différentes ($\text{pH } 6,8 > 5,8 > 4,8$).

Quant à la teneur en ions, la tige des plantes cultivées dans une solution dont le pH était d'environ 6,8 est plus riche en sodium que celle d'une plante cultivée à un pH de 4,8, tandis que les valeurs pour le potassium se comportent inversement. Le point critique restait cependant invariable.

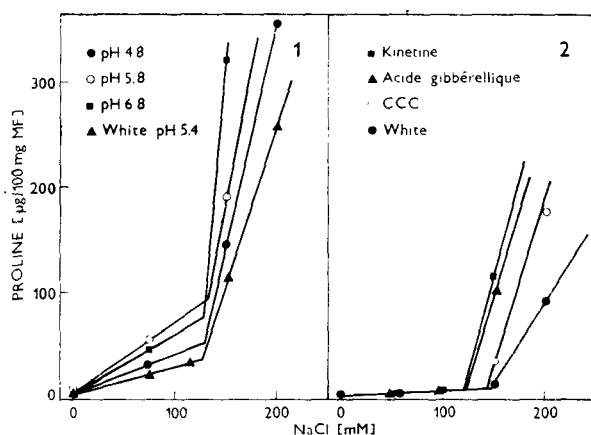


Fig. 1. L'effet de la valeur de pH sur la localisation du point critique et sur le teneur en proline (*Triticum aestivum* cv. Mironovskaja; durée d'application 5 jours; $n = 3$).

Fig. 2. L'effet des substances de croissance sur la localisation du point critique (*Triticum aestivum* cv. Mironovskaja; durée d'application 4 jours, $n = 3$).

Influence du calcium

La sélectivité de perméabilité de la membrane cytoplasmique dépend dans une large mesure de la stabilité et de l'intégrité qui est réalisée par ailleurs par le calcium (LAHAYE et EPSTEIN 1971). On peut protéger la stabilité de la membrane par une application supplémentaire de calcium (1 mM) et on peut réduire l'effet toxique des sels dans une certaine région de concentration en NaCl (HYDER et GREENWAY 1965). De même, une solution nutritive à haute concentration en sels, mais balancée, n'a aucun effet toxi-

TABLEAU 1

L'influence du calcium sur la teneur en proline de la tige. NaCl: 150 mM, durée d'incubation 2 jours; $n = 3$

	<i>Hordeum vulgare</i> alg. I		<i>Triticum aestivum</i> alg. I	
	[µg g ⁻¹ m.f.]	[%]	[µg g ⁻¹ m.f.]	[%]
eau dist./NaCl	230	100	2000	100
5 mM Ca ²⁺ /NaCl	30	13	780	40

TABLEAU 2

La croissance inhibée des tiges et des racines sous l'influence des substances de croissance après l'application de NaCl, par rapport au témoin (100%).

Triticum aestivum cv. Mironovskaja; durée de l'influence de NaCl 4 jours; $n = 3$

Culture précédente	White		CCC		GA ₃	
NaCl [mM]	150	200	150	200	150	200
tige	89%	73%	91%	74%	74%	65%
racine	74%	54%	97%	71%	71%	63%

que, même si le potentiel osmotique est très élevé (BERNSTEIN 1961, COOPER et DUMBROFF 1973).

Dans des conditions de salinité, l'influence du sodium est inhibée par le calcium et donc la teneur en proline (tableau 1).

Action des substances de croissance sur la tolérance aux sels

Les phytohormones ont une grande influence sur la régulation de perméabilité des ions, en particulier par le rapport entre les cytokinines et l'acide abscisique (ILAN 1971, MIZRAHI *et al.* 1971, HUBER 1974, VAADIA 1976). Dans une solution contenant du sodium et du potassium, l'acide abscisique supprime la sélectivité de l'absorption du potassium et la part de sodium est élevée (VAN STEVENINCK 1972). EDER et HUBER (1977) ont pu mettre

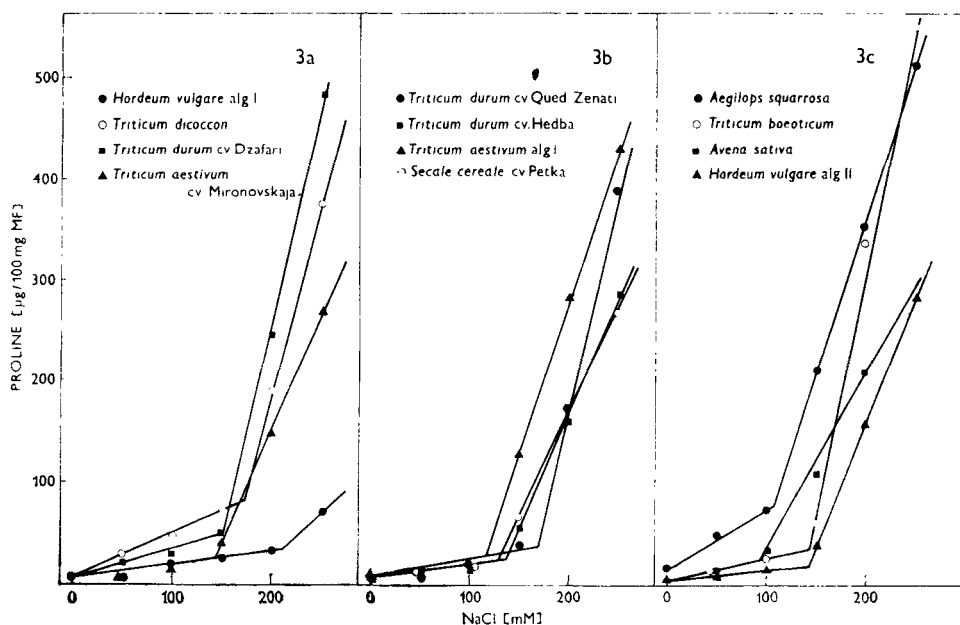


Fig. 3a, b, c. Les teneurs en proline et les localisations du point critique des différentes espèces et cultivars investiguées en dépendance de la concentration appliquée en NaCl.

TABLEAU 3

Les différentes teneurs en proline [$\mu\text{g g}^{-1}$ m.fr.] en fonction de la concentration en NaCl de la solution nutritive et le point critique des différentes espèces et cultivars investigués

Espèce, cultivar	n	Teneur en proline sans NaCl	Teneur en proline au point critique	Teneur en proline à 250 mM NaCl	Point critique [M NaCl]
		[$\mu\text{g g}^{-1}$ m.fr.]			
<i>Triticum durum</i>					
cv. Sakha	6	46	700	3050	0,180
cv. Dzafari	3	55	170	4780	0,148
cv. Hedba	6	40,5	220	2920	0,148
cv. Oued Zenati	9	26	380	3880	0,165
<i>Triticum dicoccon</i>	3	49,5	800	3850	0,175
<i>Triticum aestivum</i>					
alg. I	9	80	220	3350	0,112
cv. Hatri	9	36	440	3330	0,150
cv. Mironovskaja	9	36	190	2710	0,142
alg. II	3	27,5	230	2420	0,147
<i>Triticum spelta</i>	3	138	560	5220	0,150
<i>Triticum boeoticum</i>	3	73	240	5250	0,137
<i>Aegilops squarrosa</i>	3	105	780	5150	0,113
<i>Hordeum vulgare</i>					
alg. I	6	33	320	700	0,213
alg. II	5	19	150	2310	0,147
R.D.A.	5	18	180	1800	0,157
<i>Secale cereale</i>					
cv. Petka	5	23	190	2710	0,132
<i>Avena sativa</i>	6	72	130	2460	0,090
<i>Zea mays</i>					
alg.	5	87,7	280	1990	0,165
U.R.S.S.	3	55	350	1980	0,150

en évidence une influence de l'acide abscisique sur la teneur en proline et sur l'augmentation de la résistance aux sels. On a déjà tenté d'améliorer cette résistance par application de retardants comme le CCC *etc.* (SINGH *et al.* 1973).

La figure 2 montre que le CCC ne fait pas varier le point critique, alors que l'acide gibberellique et la kinétine font varier ce point dans le sens d'une concentration en sel supportable plus faible, c'est-à-dire dans le sens d'une diminution de la résistance. Ce comportement correspond au fait que les tissus jeunes (et très riches en kinétine) ont d'ordinaire une résistance plus faible que les tissus d'un âge moyen. L'observation suivant laquelle le CCC peut augmenter le rendement dans les conditions arides est peut-être liée aux résultats du tableau 2. Le taux de la diminution de la croissance des racines et des tiges de plantes traitées avec du CCC est plus petit que celui des plantes traitées avec de l'acide gibberellique. Par cette réaction, l'apport des éléments nutritifs (dans le cas du CCC) est plus favorable que pour les plantes traitées avec du GA₃. Conformément à la teneur en proline, la teneur en Na⁺ et K⁺ dans le cas du GA₃ est nettement supérieure à celle du témoin, tandis que la teneur des deux ions pour le cas du CCC est identique au témoin.

Utilisation du test

Vu l'importance du NaCl pour les sols arides, ce sel a été choisi dans les expériences suivantes. La détermination des points critiques comme indicateur de la résistance a toujours été réalisée par mesure de la teneur en proline des tiges des différents cultivars. Les figures 3a, 3b et 3c démontrent qu'il n'existe aucune relation entre la position du point critique et la teneur

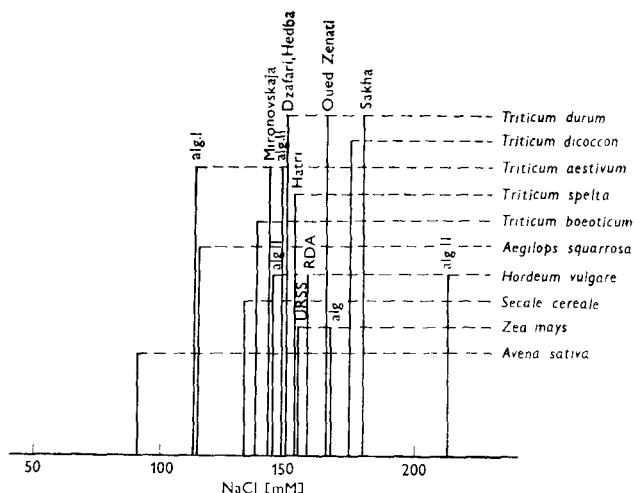


Fig. 4. Comparaison de la localisation du point critique des différentes espèces et cultivars investigués.

maximale en proline, à la concentration la plus élevée que l'on ait utilisé (voir également le tableau 3 et la figure 4).

D'une part le point critique se trouve à une concentration très haute en NaCl avec une petite teneur (orge alg. I: 213 mM, 70 μ g proline), d'autre part, pour un point critique comparable (celui du *Triticum dicoccon*), la valeur en proline est relativement élevée (385 μ g).

Aussi la concentration de départ ne correspond pas au comportement de résistance. Le tableau 3 donne les caractéristiques principales des différentes cultivars et espèces sur lesquelles ont porté les recherches. On peut voir qu'il y a une exacte relation entre l'origine des plantes bien adaptées aux conditions ambiantes et la résistance aux sels. Les cultivars de *Triticum durum* d'origine des pays arides et secs ont un point critique élevé (Algérie, Iran), tandis que les plantes d'un climat humide (R.D.A., U.R.S.S.) ont des valeurs basses.

La tâche principale consistait également en la mise en évidence d'une véritable relation entre la position du point critique et la résistance aux sels. La figure 5 donne les valeurs de la croissance (longueur et poids sec) de deux cultivars sensibles (d'après leur point critique) et de deux cultivars tolérantes aux sels. On peut remarquer qu'il existe une étroite liaison entre les deux données (point critique/taux de résistance) dans le cas d'un sol salé. Les plantes résistantes ont toujours une meilleure croissance ainsi que des poids

plus grands par plante, c'est-à-dire que le point critique est assez caractéristique pour pouvoir sélectionner les différentes cultivars relativement à leur résistance aux sels, et, pour cette raison, peut servir de véritable indicateur de la résistance des plantes aux sels.

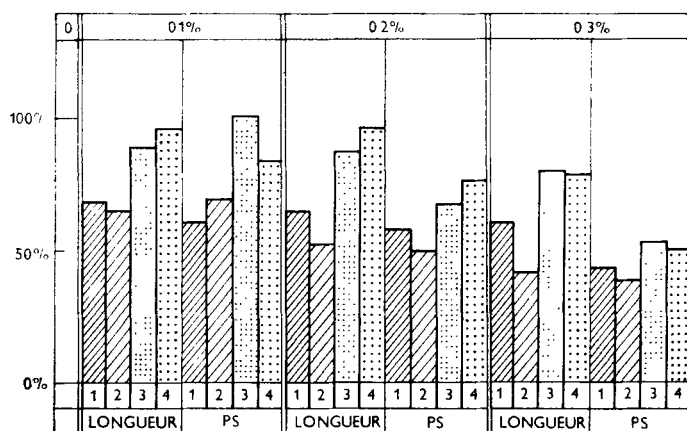


Fig. 5. L'influence de la salinité (NaCl) sur la croissance (longueur des plantes) et sur le poids sec des plantes sensibles (1: *Avena sativa*; 2: *Triticum aestivum* cv. Mironovskaja) et des plantes tolérantes aux sels (3: *Triticum dicoccon*; 4: *Triticum durum* cv. Sakha), (culture sur sol, durée: 3 semaines).

RÉFÉRENCES

- BERNSTEIN, L.: Osmotic adjustment of plant to saline media 1. Steady state. — Amer. J. Bot. **48** : 909—918, 1961.
- COOPER, A. W., DUMBROFF, E. B.: Plant adjustment to osmotic stress in balanced mineral-nutrient media. — Can. J. Bot. **51** : 763—773, 1973.
- DREIER, W.: La teneur en proline et la résistance des plantes aux sels. — Biol. Plant. **25** : 81 to 87, 1983.
- EDER, A., HUBER, W.: Zur Wirkung von Abscisinsäure und Kinetin auf biochemische Veränderungen in *Pennisetum typhoides* unter Stresswirkung. — Z. Pflanzenphysiol. **84** : 303 to 311, 1977.
- HUBER, W.: Über den Einfluss von NaCl- oder ABA-Behandlung auf den Proteinmetabolismus und einige weitere Enzyme des AS—Stoffwechsels in Keimlingen von *Pennisetum typhoides*. — Planta **121** : 225—235, 1974.
- HYDER, S. Z., GREENWAY, H.: Effects of Ca on plant sensitivity to high NaCl concentration. — Plant Soil **23** : 258—260, 1965.
- ILAN, J.: Evidence for hormonal regulation of the selectivity of ion uptake by plants. — Physiol. Plant. **25** : 230—233, 1971.
- LAHAYE, P. E., EPSTEIN, E.: Calcium and salt toleration by bean plants. — Physiol. Plant. **25** : 213—218, 1971.
- MIZRAHI, Y., BLUMENFELD, A., BITTNER, S., RICHMOND, A. E.: Abscise acid and cytokinin contents of leaves in relation to salinity and relative humidity. — Plant Physiol. **48** : 752 to 755, 1971.
- SINGH, T. N., ASPINALL, D., PALEG, L. G.: Stress metabolism IV. The influence of 2-chloroethyltrimethylammoniumchloride and gibberellic acid on the growth and proline accumulation of wheat plants during water stress. — Aust. J. biol. Sci. **26** : 77—86, 1973.
- VAADIA, Y.: Plant hormones and water stress. — Phil. Trans. roy. Soc. London **273** : 513—522, 1976.
- VAN STEVENINCK, R. F. M.: Abscise acid stimulation of ion transport and alteration in K^+/Na^+ selectivity. — Z. Pflanzenphysiol. **67** : 282—286, 1972.