

POLYMORPHISME BIOCHIMIQUE CHEZ QUELQUES HALOPHYTES
AUTOCHTONES DU NORD TUNISIENInsaf BANKAJI¹ & Noomene SLEIMI¹

SUMMARY. — *Chemical polymorphism of some North Tunisian autochthonous halophytes.* — The study aims to explore and analyse osmoticums synthesized by four perennial halophytic Chenopodiaceae : *Salicornia arabica*, *Atriplex portulacoides*, *Atriplex halimus* and *Suaeda fruticosa* from Menzel Jemil, Soliman and Gammarth regions which belong to sub-humid and semi-arid bioclimatic zones. A sampling of aerial vegetative organs of these four halophytes has been made. Analyses focused on reducing sugars, starch, total proteins, soluble proteins and total lipids. *Atriplex portulacoides* harvested from Menzel Jemil station accumulates large amounts of starch, indicating a high photosynthetic activity. This could suggest that this species avoids drought and high salinity by an acceleration of its growth cycle and reproductive systems. *Suaeda fruticosa* is characterized by the highest levels in soluble sugars. This would mean that it is capable of synthesizing carbohydrate osmoticums for its osmotic adjustment. *Atriplex* sp. and *Suaeda fruticosa* have the highest levels of soluble protein indicating the possible intervention of amino acids in the regulation of intracellular osmotic pressure. This behavior was essentially observed at Soliman sampling site characterized by an upper semi-arid bioclimate and saline soils.

RÉSUMÉ. — L'étude a pour objet l'exploration puis l'analyse des osmoticums synthétisés par quatre Chenopodiaceae pérennes halophytes : *Salicornia arabica*, *Atriplex portulacoides*, *Atriplex halimus* et *Suaeda fruticosa* dans les régions de Menzel Jemil, Soliman et Gammarth appartenant aux étages bioclimatiques subhumides et semi-arides. Un échantillonnage des organes végétatifs aériens de ces quatre halophytes a été effectué. Les analyses ont porté sur les sucres réducteurs, l'amidon, les protéines totales, les protéines solubles et les lipides totaux. *Atriplex portulacoides*, récolté à la station de Menzel Jemil, accumule d'importantes quantités d'amidon, traduisant une forte activité photosynthétique. Ceci laisse suggérer que cette espèce évite la période de sécheresse et de forte salinité par une accélération de son cycle végétatif et reproducteur. *Suaeda fruticosa* se caractérise par les teneurs les plus élevées en sucres solubles. Ceci signifierait qu'elle est capable de synthétiser des osmoticums glucidiques pour son ajustement osmotique en condition de stress. *Atriplex* sp. et *Suaeda fruticosa* présentent les teneurs les plus élevées en protéines solubles, traduisant probablement une intervention des acides aminés dans la régulation de la pression osmotique intracellulaire. Ces comportements ont été observés, essentiellement, au niveau du site d'échantillonnage de la région de Soliman, caractérisé par un bioclimat semi-aride supérieur et des sols salés.

Les halophytes, plantes natives des écosystèmes salins, présentent des intérêts économiques (alimentation humaine, fourragers), écologiques (fixation des sols et des dunes et aménagement des parcs) et médicinaux (source importante des substances bioactives). À titre d'exemple, les huiles des chénopodes sont utilisées en industrie pharmaceutique contre les ténias, les ascariides lombricoïdes et les ankylostomes (Quinlan *et al.*, 2002). De même, Bnouham *et al.*, (2002) ont mis en évidence les propriétés antidiabétiques hypoglycémiques de *Chenopodium ambrosioides*.

¹ Laboratoire d'écophysiologie végétale, Faculté des sciences de Bizerte, 7021 Jarzouna, Bizerte. Tunisie. E-mails : insafbanc@yahoo.fr ; Noomene.Sleimi@fsb.rnu.tn

Ces plantes peuvent être soumises, dans leur biotope naturel, à divers stress environnementaux tels que la sécheresse et/ou la salinité (Ksouri *et al.*, 2010). En réponse à ces stress, les halophytes accumulent plusieurs solutés organiques tels que les sucres (Walker *et al.*, 2008), la proline (Li *et al.*, 2010), la glycine bêtaïne (Hessine *et al.*, 2009), etc. Ces osmotocums contribuent d'une part à l'équilibre osmotique (Sairam & Tyagi, 2004) et d'autre part présentent des valeurs nutritives importantes. En effet, les feuilles d'*Aster tripolium* peuvent être consommées comme salade ou légume (Güth, 2001). Selon Shay (1990), 100 espèces peuvent faire partie de la ration alimentaire de l'homme. Par exemple, les graines de *Crithmum maritimum* constituent une source importante de lipides avec 41 % de la MS (Zarrouk *et al.*, 2003) et celles de *Salicornia bigelovii* contiennent 35 % de protéines (Glenn *et al.*, 1998). Ces espèces se rencontrent sur une grande superficie du territoire tunisien, environ 15 000 ha de terres incultes. D'autre part, leurs cultures ne nécessitent aucun investissement puisqu'elles sont natives de ces milieux d'où l'intérêt accordé à leur exploration et leur exploitation.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

MATÉRIELS

L'étude a porté sur quatre halophytes autochtones appartenant à la famille des *Chenopodiaceae* : *Salicornia arabica*, *Atriplex halimus*, *Atriplex portulacoides* et *Suaeda fruticosa*. Ces halophytes sont très répandus en Tunisie, du nord au sud, présentent plusieurs intérêts fourragers et constituent une source de composés bioactifs. La récolte du matériel végétal, en pleine croissance végétative, a été effectuée durant le mois de juillet 2009 dans des stations subhumides et semi-arides du Nord Tunisien (Menzel Jemil, Gammarrh et Soliman). La figure 1 indique la localisation et les coordonnées géographiques des stations d'échantillonnage. Une dizaine de rameaux feuillés ont été prélevés sur dix individus par espèce et par station. L'aire d'échantillonnage est délimitée à 20 m² par espèce et par station. Après deux semaines de dessiccation à 60 °C, les échantillons végétaux (parties aériennes) ont été réduits en poudre fine à l'aide d'un broyeur à lame.

MÉTHODES D'ANALYSE

Sucres solubles et amidon

Les sucres solubles et l'amidon ont été extraits comme décrit par Savouré (1980), la poudre végétale est malaxée dans 10 ml d'éthanol à 80 %. Le mélange est chauffé dans un bain-marie à 70 °C pendant 30 mn. Après refroidissement et centrifugation, le surnageant est recueilli et le culot subit une seconde extraction comme décrit ci-dessus. Les deux surnageants sont mélangés et constituent ainsi l'extrait total renfermant les sucres solubles. L'extraction de l'amidon a été effectuée sur le culot récupéré du dosage des sucres solubles après rinçage à l'éthanol 80 %. 1,5 ml d'acide perchlorique à 35 % est additionné à ce culot, puis on agite l'homogénéat dans un bain de glace, ensuite on centrifuge et le surnageant est récupéré. Une deuxième opération de solubilisation en milieu acide est réalisée et on récupère le deuxième surnageant. L'ensemble des deux surnageants est ajusté à 5 ml avec de l'eau distillée. L'addition de 5 ml d'une solution d'anthrone sulfurique à 2,5 ml de l'extrait développe une coloration verte permettant le dosage des sucres solubles ou de l'amidon par spectrophotométrie à 640 nm. Les gammes-étalons des sucres solubles et de l'amidon sont établies avec du glucose pur dilué respectivement dans l'éthanol à 80 % et l'acide perchlorique à 21 %.

Protéines totales et solubles

L'estimation des quantités de protéines totales est réalisée par le dosage de l'azote total selon la méthode de Kjeldahl (AOAC, 1975). La matière végétale sèche, réduite en poudre, a été minéralisée dans 5 ml d'acide sulfurique concentré en présence d'un catalyseur au sélénium, puis le minéralisat est distillé puis titré par une solution d'acide sulfurique. L'évaluation de la valeur protéinique a été estimée en multipliant le taux de l'azote total par le facteur 6,25 (Lessire *et al.*, 2005). Ce facteur tient compte essentiellement de l'azote amidé dosé sous forme d'ammoniac et néglige la faible fraction de l'azote non protéique (Mosse, 1990).

Les protéines solubles sont extraites selon la méthode de Leita *et al.* (1991). La matière végétale sèche est malaxée dans un mortier et homogénéisée dans un tampon phosphate de potassium à raison de 1 ml de tampon par 100 mg de matière sèche. L'homogénéat est centrifugé à 10 000 tr/mn, ensuite le surnageant contenant les protéines solubles est récupéré et enfin les protéines solubles sont dosées selon la méthode de Bradford (1976). À 2,5 ml de réactif de bleu de Coomassie G-250, on ajoute une aliquote de 20 µl d'extrait protéique. On laisse la coloration se développer au moins 5 mn pour lire l'absorbance à 595 nm. La gamme-étalon est réalisée avec des concentrations de BSA « Bovine Serum Albumine ».

Etat de dégradation des terres

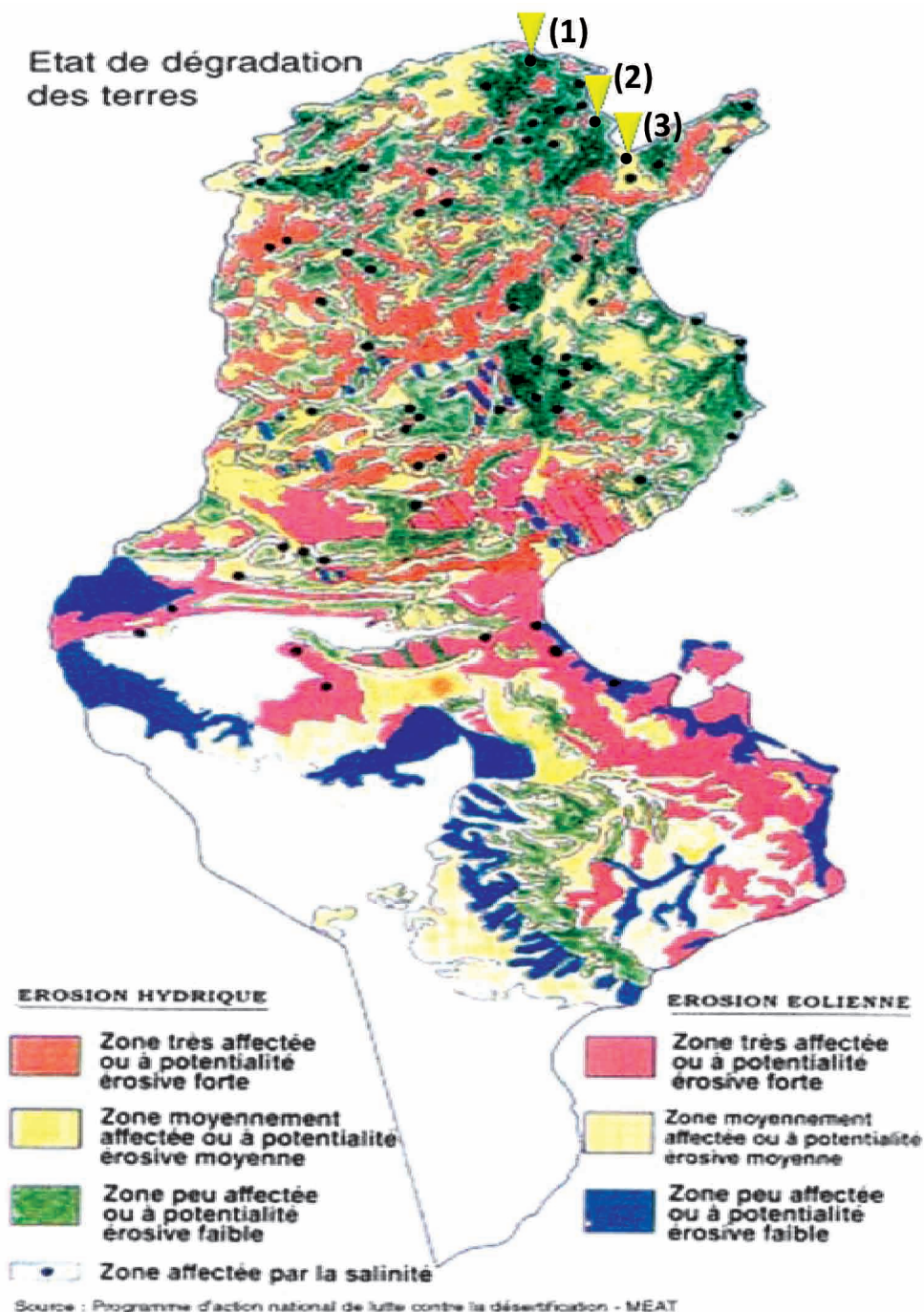


Figure 1. — Localisation et coordonnées géographiques des sites d'échantillonnage tunisiens : (1) Menzel Jemil (N : 37°13'00.27" , E : 9°56'16.40"), (2) Gammarth (N : 36°54'02.16" ; E : 10°17'11.21") et (3) Soliman (N : 36°44'07.19" ; E : 10°28'23.03").

Extraction et quantification des lipides

La technique utilisée est une adaptation du protocole de Folch *et al.* (1957). L'extraction a été réalisée sur la matière sèche broyée avec 1000 µl de chloroforme/méthanol (2/1 V). Le mélange est placé 10 mn à 4 °C puis centrifugé, le surnageant est recueilli et le culot est extrait une seconde fois. Les deux extraits sont alors réunis puis additionnés de 400 µl de NaCl à 7,5 %. L'échantillon est centrifugé de nouveau et la phase inférieure qui contient les lipides est conservée dans un tube taré puis on lui ajoute 1000 µl de chloroforme/méthanol. L'homogénat est centrifugé dans les mêmes conditions que précédemment et la phase chloroformique récupérée est évaporée. L'extrait concentré des lipides est pesé à l'état sec.

ANALYSE STATISTIQUE

L'analyse de variance (ANOVA 1) permet de déterminer si un facteur donné, tel que le taxon, a un effet significatif sur la production de solutés organiques. Pour la comparaison des moyennes, on a utilisé le test HSD de Tukey qui donne les différences significatives de ces données à $p < 0,05$.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

TENEUR EN SUCRES SOLUBLES ET EN AMIDON

Suaeda fruticosa et *Atriplex halimus* récoltées à Soliman présentent les plus fortes teneurs en sucres solubles (Fig. 2). Cependant, les espèces de la station de Gammarth en accumulent peu. D'ailleurs, les valeurs enregistrées pour cette station sont approximativement la moitié de celles de la station de Soliman. En ce qui concerne la variabilité interspécifique (Fig. 2), nos mesures ont montré que *Suaeda fruticosa* est capable d'accumuler de fortes quantités de sucres solubles (50 mg/g MS) comparativement à *Atriplex halimus* (28,3 mg/g MS) au niveau de la station de Soliman. L'analyse par le test ANOVA 1 a montré des différences hautement significatives à $p < 0,005$. L'accumulation des glucides, au niveau des vacuoles des cellules, constitue une réponse de quelques espèces végétales aux stress environnementaux. Les sucres solubles occupent une place distincte parmi les composés compatibles susceptibles de s'accumuler en réponse au stress salin (Oliveira *et al.*, 2009) ou en condition de déficit hydrique (Silva *et al.*, 2010). D'ailleurs, nos résultats montrent que les teneurs les plus élevées en sucres solubles se rencontrent chez les *Chenopodiaceae* issues de la région de Soliman, le site le plus salé et le plus sec ($CE = 19,6 \text{ mS.cm}^{-1}$; Tab. I et II). Cette accumulation peut être attribuée à une hydrolyse de l'amidon (Zhang & Archbold, 1993) et/ou à l'inhibition de certaines voies métaboliques de synthèse (Imamul Huq, 1984). Outre leur rôle osmotique, les sucres solubles seraient impliqués dans le maintien de l'intégrité des structures membranaires, chloroplastiques et mitochondriales en particulier (Hoekstra *et al.*, 1991). Ce critère d'accumulation des sucres solubles en conditions de stress salin ou hydrique peut être aussi utilisé pour la sélection des variétés tolérantes aux conditions extrêmes du milieu (Adjahossou, 1991).

TABLEAU I

PH et Conductivité électrique (CE) du sol des trois sites d'échantillonnages

Paramètres	Menzel Jemil	Gammarth	Soliman
pH	7,84	7,9	8,2
CE (mS.cm^{-1})	15,47	2,9	19,6

TABLEAU II

Bioclimat des stations étudiées

	Menzel Jemil	Gammarth	Soliman
Quotient Pluiothermique d'Emberger Q_2	96,3	63,8	57,4
Bioclimat	Subhumide	Semi-aride supérieur	Semi-aride supérieur
Variante hivernale	Hiver chaud	Hiver chaud	Hiver doux

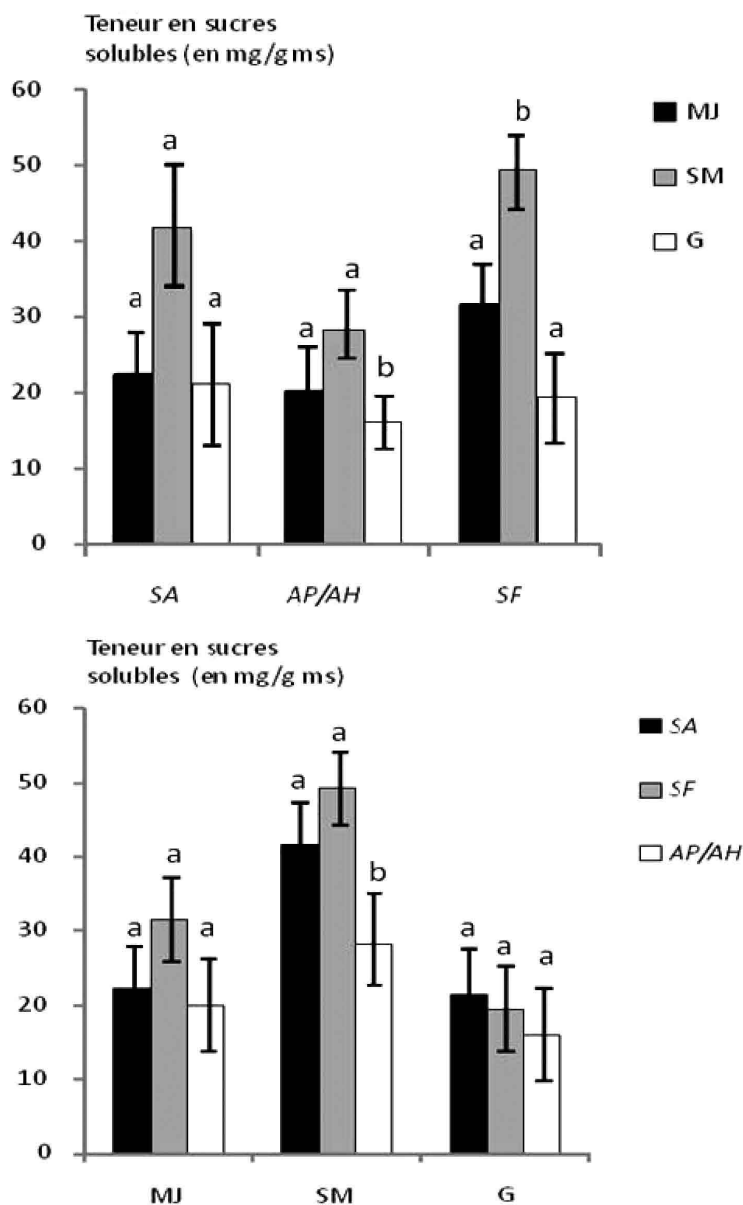


Figure 2. — Teneurs en sucres solubles des parties aériennes chez *Salicornia*, *Suaeda* et *Atriplex* récoltées dans différentes stations. Les lettres MJ, SM, G, SA, SF, AP et AH désignent respectivement Menzel Jemil, Soliman, Gammarth, *Salicornia arabica*, *Suaeda fruticosa*, *Atriplex portulacoides* et *Atriplex halimus*. Valeurs moyennes de 10 répétitions par espèce et par station. Intervalles de sécurité au seuil de 95 %. Les barres marquées par les lettres différentes sont significativement différentes ($p < 0,05$) selon le test HSD de Tukey.

L'étude des teneurs en amidon de différentes espèces en fonction des stations (Fig. 3) montre des variations hautement significatives ($p < 0,005$) enregistrées principalement chez *Atriplex portulacoides* récolté à Menzel Jemil qui se distingue par ses teneurs élevées en amidon (41,2 mg/g MS). Nos résultats concordent avec ceux d'Oliveira *et al.* (2009) qui ont montré aussi une augmentation des réserves glucidiques permettant aux végétaux de faire face

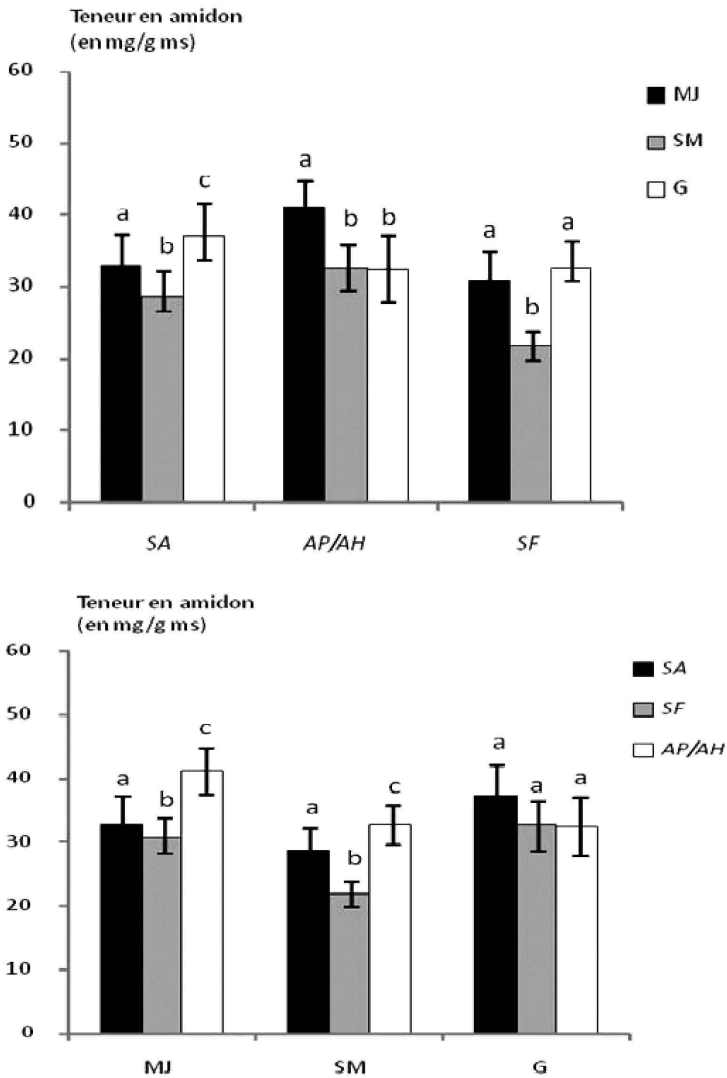


Figure 3. — Teneurs en amidon des parties aériennes chez *Salicornia*, *Suaeda* et *Atriplex* récoltées dans différentes stations. Cf. Fig. 2. Valeurs moyennes de 10 répétitions par espèce et par station. Intervalles de sécurité au seuil de 95 %. Les barres marquées par les lettres différentes sont significativement différentes ($p < 0,05$) selon le test HSD de Tukey.

au stress de l'environnement en assurant une forte activité photosynthétique, afin d'éviter la période de sécheresse et de forte salinité, par une accélération du cycle végétatif et reproducteur. D'autre part, on note des différences hautement significatives entre les trois variétés récoltées à Menzel Jemil et à Soliman (Fig. 3), les deux stations les plus salées (Tab. I). Ceci laisse suggérer que les variétés se comportent différemment en conditions de stress salin.

TENEUR EN PROTÉINES TOTALES ET SOLUBLES

Les teneurs en protéines totales chez *Suaeda fruticosa* et *Salicornia arabica* issues de Menzel Jemil et de Gammarth sont plus élevées que celles d'*Atriplex* (Fig. 4). De même, ces deux espèces, *Suaeda* et *Salicornia*, présentent une légère variation de leur statut protidique

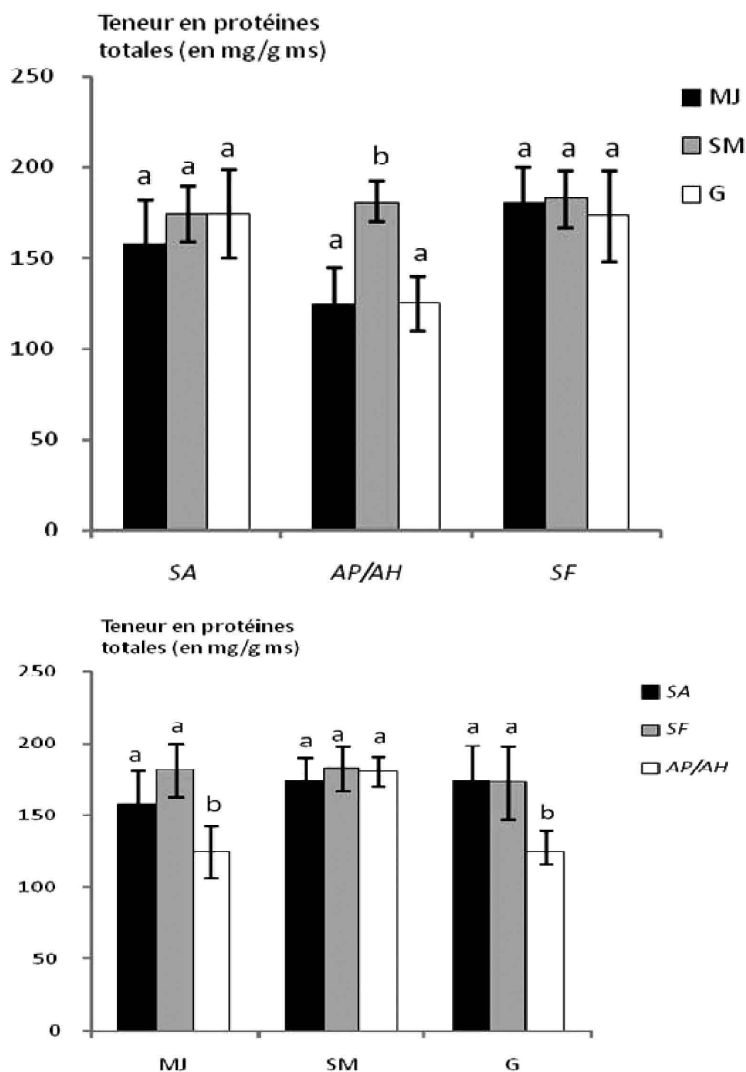


Figure 4. — Teneurs en protéines totales des parties aériennes chez *Salicornia*, *Suaeda* et *Atriplex* récoltées dans différentes stations. Cf. Fig. 2. Valeurs moyennes de 10 répétitions par espèce et par station. Intervalles de sécurité au seuil de 95 %. Les barres marquées par les lettres différentes sont significativement différentes ($p < 0,05$) selon le test HSD de Tukey.

en fonction des stations de prélèvement (Fig. 4). Ces teneurs en protéines totales, comprises entre 15 et 20 %, ont été signalées aussi par Glenn & O'Leary (1984). L'analyse statistique des données ne révèle pas de variabilité interspécifique entre *Suaeda fruticosa* et *Salicornia arabica* pour le critère accumulation de protéines totales. Cependant, une variation hautement significative ($p < 0,005$) a été observée chez *Atriplex halimus*. En effet, l'écotype issu de Soliman accumule plus de protéines totales que celui issu de Gammarth et de Menzel Jemil. Très souvent, l'application d'une dose excessive de NaCl au niveau de la solution d'irrigation s'accompagne d'une altération du métabolisme azoté et par la suite d'une modification quantitative et/ou qualitative de la synthèse protéique (Majoul *et al.*, 2000). Cependant, Sleimi & Abdelly (2003) ont montré que les teneurs en azote peuvent atteindre 4,2 % de la MS chez *Suaeda fruticosa* en condition de culture sur eau de mer diluée à 50 % et enrichie en nutriments.

Atriplex halimus de la station Soliman se distingue par une grande synthèse de protéines solubles, de l'ordre de 5 mg/g MS, suivie de *Suaeda fruticosa* de la station de Menzel Jemil (Fig. 5). Les différences sont hautement significatives ($p = 0,0001$).

Ces résultats suggèrent qu'*Atriplex halimus* et *Suaeda fruticosa* sont capables de synthétiser des acides aminés pour tolérer, essentiellement, le stress salin subi au niveau des deux stations d'échantillonnage, Soliman et Menzel Jemil (Tab. I). D'ailleurs, Ashraf & McNeilly (2004) signalent que les plantes ajustent osmotiquement leur contenu cellulaire en synthétisant des acides aminés comme la proline en condition de culture sur milieu salé. À titre d'exemple, les teneurs en proline au niveau des racines de *Pancreaticum maritimum* L. sont de 40 $\mu\text{M/g}$ de MF en présence de 300 mM de NaCl (Khedr *et al.*, 2003). Les *Chenopodiaceae* halophytes peuvent produire aussi la glycine bêtaïne en réponse au stress hydrique et salin (Hessine *et al.*, 2009). En effet, chez *Suaeda fruticosa*, la teneur en glycine bêtaïne augmente significativement de 0,6 à 1,2 mM/g de MS lorsque la salinité de milieu passe de 0 à 600 mM de NaCl (Khan *et al.*, 1998).

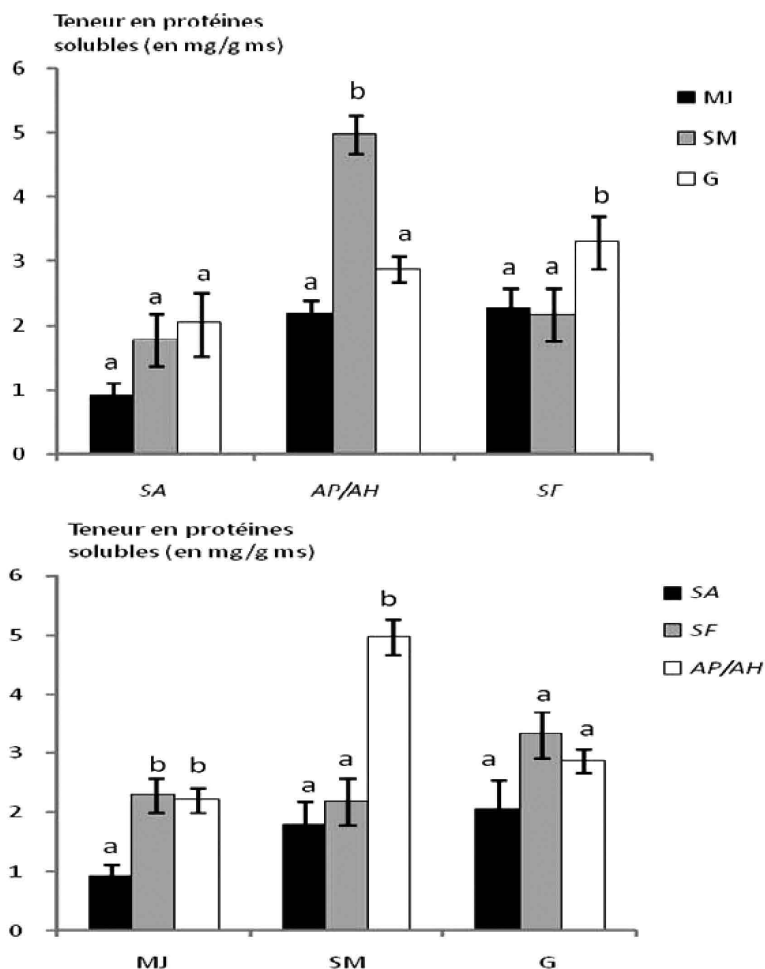


Figure 5. — Teneurs en protéines solubles des parties aériennes chez *Salicornia*, *Suaeda* et *Atriplex* récoltées dans différentes stations. Cf. Fig. 2. Valeurs moyennes de 10 répétitions par espèce et par station. Intervalles de sécurité au seuil de 95 %. Les barres marquées par les lettres différentes sont significativement différentes ($p < 0,05$) selon le test HSD de Tukey.

TENEUR EN LIPIDES

Nos résultats montrent que la teneur en lipides est presque inchangée entre les différentes espèces en fonction des stations d'échantillonnage (Fig. 6). L'analyse par le test ANOVA1 confirme bien nos résultats ($p < 0,05$). Ces résultats sont confirmés par des études conduites sur l'halophyte *Spartina pattens* dont les classes majeures lipidiques de la membrane restent stables à différentes doses de NaCl passant de 0 à 340 mM (Wu *et al.*, 2005). De même, Ben Hamed *et al.* (2005) ont montré que le traitement salin n'induit pas de changement significatif dans la composition en acide gras de la membrane chez *Crithmum maritimum*. Par contre, Elkahoui *et al.* (2004) ont montré que les contraintes environnementales, particulièrement la salinité et la sécheresse, modifient le métabolisme lipidique des végétaux. Ces modifications sont souvent corrélées avec l'aptitude des plantes à tolérer le sel.

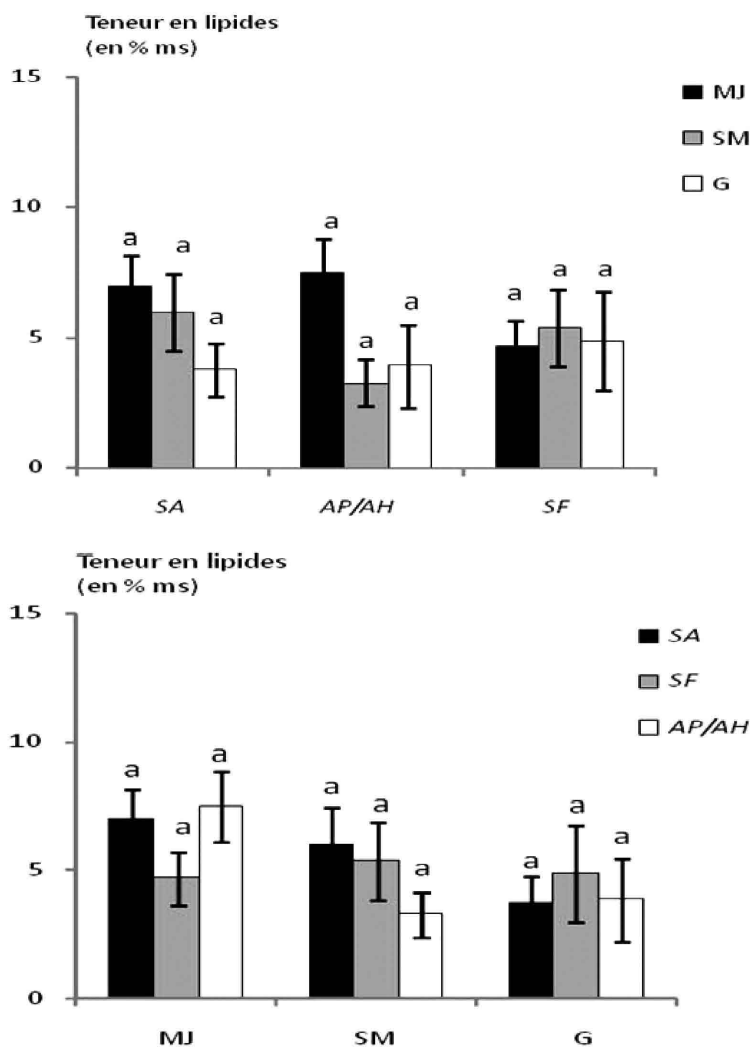


Figure 6. — Teneurs en lipides des parties aériennes chez *Salicornia*, *Suaeda* et *Atriplex* récoltées dans différentes stations. Cf. Fig. 2. Valeurs moyennes de 10 répétitions par espèce et par station. Intervalles de sécurité au seuil de 95 %. Les barres marquées par la même lettre ne sont pas différentes significativement ($p < 0,05$) selon le test HSD de Tukey.

CONCLUSION

La région de Soliman présente le climat le plus sec des trois sites d'échantillonnage avec un quotient pluviothermique d'Emberger (Q_2) égal à 57,4 et un hiver doux. D'autre part, le sol de cette station est considéré le plus salé par rapport aux trois autres avec une CE égale à $19,6 \text{ mS.cm}^{-1}$. Ceci explique le fait que les plantes récoltées à la station de Soliman présentent les plus fortes teneurs en sucres et protéines solubles. Nos résultats ont montré que *Suaeda fruticosa* et *Atriplex halimus* se distinguent par la synthèse d'osmoticums organiques, en réponse aux stress environnementaux, pour assurer la régulation de la pression osmotique intracellulaire.

La variabilité intraspécifique est hautement significative chez *Atriplex halimus* pour les variables sucres solubles, protéines totales et protéines solubles. Elle est hautement significative pour les variables sucres solubles, amidon et protéines solubles chez *Suaeda fruticosa*. Cependant, *Salicornia arabica* ne montre pas de variabilité intraspécifique significative entre les plantes récoltées de différents sites.

RÉFÉRENCES

- ADJAHOSSOU, D.F. (1991). — Les glucides de réserve et la tolérance à la sécheresse chez le palmier à huile. Pp 117-129 in : A. Riedacker, E. Dreyer, C. Pafadnam, H. Joly & G. Bory (eds). *Physiologie des arbres et arbustes en zones arides et semi arides*. John Libbey Eurotext, Groupe d'Étude de l'Arbre, Paris.
- AOAC, ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURE CHEMISTS (1975). — *Official methods of analysis*. 12th ed., Washington DC, USA.
- ASHRAF, M. & MC NEILLY, T. (2004). — Salinity tolerance in *Brassica* oil seeds. *Plant Sci.*, 23 : 157-174.
- BEN HAMED, K., BEN YOUSSEF, N., RANIERIC, A., ZARROUK, M. & ABDELLELY, C. (2005). — Changes in content and fatty acid profiles of total lipids and sulfolipids in the halophyte *Crithmum maritimum* under salt stress. *Plant Physiol.*, 162 : 599-602.
- BNOUHAM, M., MEKFI, H., LEGSSYER, A. & ZIYYAT, A. (2002). — Medicinal plants used in the treatment of diabetes in Morocco. *Int. J. Diabetes & Metabolism*, 10 : 33-50.
- BRADFORD, M.M. (1976). — A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analyt. Biochem.*, 72 : 248-254.
- ELKAOUI, S., SMAOUL, A., ZARROUK, M., GHRIR, R. & LIMAM, F. (2004). — Salt-induced lipid changes in *Catharanthus roseus* cultured cell suspensions. *Phytochemistry*, 65 : 1911-1917.
- FOLCH, J., LEES, M. & SLOANE STANLEY, G.H. (1957). — A simple method for the isolation and purification of total lipid from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, 226 : 497-509.
- GLENN, E.P. & O'LEARY, J.W. 1984. — Relationship between salt accumulation and water content of dicotyledonous halophytes. *Plant Cell Environ.*, 7 : 253-261.
- GLENN, E.P., BROWN, J. & O'LEARY, J.W. (1998). — Irrigating crops with seawater. *Sci. Am.*, 279 : 56-61.
- GÜTH, M. (2001). — *Halophyte uses in different climates III. Computer-aided analysis of socio-economic aspects of the sustainable utilization of halophytes*. Progress in Biometeorology, 15. Backhuys Publishers, Leiden, Netherlands.
- HESSINE, K., MARTINEZ, J.P., GANDOUR, M., ALBOUCHI, A., SOLTANI, A. & ABDELLELY, C. (2009). — Effect of water stress on growth, osmotic adjustment, cell wall elasticity and water-use efficiency in *Spartina alterniflora*. *Environ. Exp. Bot.*, 67 : 312-319.
- HOEKSTRA, F.A., CROWE, J.W. & CROWE, L.M. (1991). — Effect of sucrose on phase behaviour of membranes in intact pollen of *Typha latifolia* L. as measured with Fourier transform infrared spectroscopy. *Plant Physiol.*, 97 : 1073-1079.
- IMAMUL HUQ, S.M. (1984). — *Comparaison de la résistance au stress salin de Vigna sinensis L. et de Phaseolus aureus Roxb.* Thèse de Docteur Ingénieur, Université de Nancy I., France.
- KHAN, M.A., UNGAR, I.A., SHOWALTER, A.M. & DEWALD, H.D. (1998). — NaCl-induced accumulation of glycinebetaine in four subtropical halophytes from Pakistan. *Physiol. Plant*, 102 : 487-492.
- KHEDR, A.H.A., ABBAS, M.A., ABDEL WAHID, A.A., QUICK, W.P. & ABOGADALLAH, G.M. (2003). — Proline induces the expression of salt-stress-responsive proteins and may improve the adaptation of *Pancreatium maritimum* L. to salt stress. *J. Exp. Bot.*, 54 : 2553-2562.
- KSOURI, R., MEGDICHE, W., HANS-WERNER, K. & ABDELLELY, C. (2010). — Responses of halophytes to environmental stresses with special emphasis to salinity. *Adv. Bot. Res.*, 53 : 117-145.
- LEITA, L., CONTIN, M. & MAGGIONI, A. (1991). — Distribution of cadmium and induced Cd-binding proteins in root stems and leaves of *Phaseolus vulgaris*. *Plant Sci.*, 77 : 139-147.

- LESSIRE, M., HALLOUIS, J.M., CHAGNEAU, A.M., BESNARD, J., TRAVEL, A., BOUVAREL, I., CRÉPON, K., DUC, G. & DULIEU, P. (2005). — Influence de la teneur en vicine et convicine de la fève sur les performances de production de la poule pondeuse et la qualité de l'œuf. *Sixièmes Journées de la Recherche Avicole, St Malo*, 6 : 174-178.
- LI, R., SHI, F. & FUKUDA, K. (2010). — Interactive effects of various salt and alkali stresses on growth, organic solutes and cation accumulation in a halophyte *Spartina alterniflora* (Poaceae). *Envir. & Exper. Bot.*, 68 : 66-74.
- MAJOUL, T., CHAHED, K., ZAMITI, E., OUELHAZI, L. & GHRIR, R. (2000). — Analysis by two-dimensional electrophoresis of the effect of salt stress on the polypeptide patterns in roots of a salt-tolerant and salt-sensitive cultivar of wheat. *Electrophoresis*, 21 : 2562-2565.
- MOSSE, J. (1990). — Nitrogen to protein conversion factors for ten cereals and six legumes or oil seeds. A reappraisal of its definition and determination. Variation according to species and to seed protein content. *J. Agric. Food Chem.*, 38 : 18-24.
- OLIVEIRA, H., BARROS, A.S., DELGADILLO, I., COIMBRA, M.A. & SANTOS, C. (2009). — Effects of fungus inoculation and salt stress on physiology and biochemistry of *in vitro* grapevines : Emphasis on sugar composition changes by FT-IR analyses. *Envir. & Exper. Bot.*, 65 : 1-10.
- QUINLAN, M.B., QUINLAN, R.J. & NOLAN, J.M. (2002). — Ethnopharmacology and herbal treatments of intestinal worms in Dominica, West Indies. *J. Ethnopharmacol.*, 80 : 75-83.
- SAIRAM, R.K. & TYAGI, A. (2004). — Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. *Curr. Sci.*, 86 : 407-421.
- SAVOURÉ, B. (1980). — *Manipulations pratiques en physiologie végétale*. Masson, Paris.
- SHAY, E.G. (1990). — *Saline agriculture. Salt tolerant plant for developing countries*. Report of a panel of the board on science and technology for international development office of International Affairs National Research. National Academy Press, Washington, D.C.
- SILVA, E.N., SILVA, S.L.F., VIÉGAS, R.A. & SILVEIRA, J.A.G. (2010). — The role of organic and inorganic solutes in the osmotic adjustment of drought-stressed *Jatropha curcas* plants. *Envir. & Exper. Bot.*, 69 : 279-285.
- SLEIMI, N. & ABDELLELY, C. (2003). — Salt tolerance strategy of two fodder halophytes species : *Spartina alterniflora* and *Suaeda fruticosa*. Pp 79-85 in : H. Lieth & M. Mochtchenko (eds). *Cash crop halophytes: Recent studies*. Kluwer Academic Publishers, Netherland.
- WALKER, D.J., ROMERO, P., DE HOYOS, A. & CORREAL, E. (2008). — Seasonal changes in cold tolerance, water relations and accumulation of cations and compatible solutes in *Atriplex halimus* L. *Envir. & Exper. Bot.*, 64 : 217-224.
- WU, J., SELISKAR, D.M. & GALLAGHER, J.L. (2005). — The response of plasma membrane lipid composition in Callus of the halophyte *Spartina patens* (Poaceae) to salinity stress. *Am. J. Bot.*, 92 : 852-858.
- ZARROUK, M., EL ALMI, H., BEN YOUSSEF, N., SLEIMI, N., BEN MILED, D. & ABDELLELY, C. (2003). — Lipid composition of local halophytes seeds : *Cakile maritima*, *Zygophyllum album* and *Crithmum maritimum*. Pp 121-124 in : H. Lieth & M. Mochtchenko (eds). *Cash crop halophytes: Recent studies*. Kluwer Academic Publishers, Netherland.
- ZHANG, B. & ARCHBOLD, D.D. (1993). — Solute accumulation in leaves of *Fragaria chiloensis* and *Fragaria virginiana* selection responds to water deficit stress. *J. Am. Soci. Hortic. Sci.*, 118 : 280-285.

