

Les plantes face au stress salin

Aurélie Levigneron, Félicie Lopez, Gérard Vansuyt,
Pierre Berthomieu, Pierre Fourcroy, Francine Casse-Delbart

Depuis le début du XX^e siècle, la superficie des terres agricoles touchées par la salinité, c'est-à-dire une teneur excessive en sels minéraux, notamment NaCl, ne cesse d'augmenter. Aujourd'hui, 25 % environ des terres irriguées sont confrontées à ce problème, qui touche plus particulièrement les zones arides et semi-arides, telles que les régions tropicales et méditerranéennes. La salinisation des sols de ces régions souvent fertiles n'est pas seulement liée aux conditions climatiques, mais également à l'activité de l'homme qui, pour des raisons économiques, a développé une agriculture intensive souvent mal contrôlée. Le fort ensoleillement et la faible pluviométrie ont obligé les agriculteurs à irriguer en quantité importante et, souvent, avec une eau saumâtre. Les sels se sont accumulés au cours des ans à la surface des sols sans pouvoir être lessivés par les rares eaux de pluie, rendant ainsi peu à peu les terres impropres à la culture. Par exemple, dans la vallée de l'Euphrate (Syrie) où la culture du cotonnier a été introduite dans les années 50, les mauvaises conditions d'irrigation ont provoqué la salinisation de la moitié des terres cultivées, soit au total 100 000 hectares [1]. Des régions de culture intensive sont devenues, en quelques décennies, des zones sensibles. En effet, la présence de sels dans un sol, en affectant les mécanismes physiologiques de la plante, est

un facteur limitatif majeur de la productivité agricole.

Seules les plantes dites halophytes (*αλλας* = sel), telle la salicorne, s'épanouissent sur un sol riche en sels. La majorité des plantes cultivées appartiennent à des espèces sensibles, à divers degrés, à la salinité et ont, dans ces conditions, des rendements très faibles. La germination des graines est le premier stade physiologique affecté par la salinité. À titre d'exemples : le taux de germination du cotonnier chute de 70 % en présence de 12 grammes par litre de chlorure de sodium (NaCl) et la germination des tubercules de pomme de terre peut être retardée de 3 à 7 jours selon le degré de salinité du sol [2]. La croissance et la fructification sont également affectées, aussi bien au niveau quantitatif que qualitatif. Ainsi les *Medicago*, plantes fourragères telle la luzerne, ont une productivité mesurée en biomasse qui peut être réduite de 40 % en présence d'une concentration en sel de 12 grammes par litre. En fait, chez les légumineuses, le stress salin perturbe non seulement la croissance du végétal mais également la fixation de l'azote en affectant les bactéries symbiotiques des nodules. Le rendement des céréales telles que le riz, le blé et l'orge, base de l'alimentation des pays en développement, est également affecté par la salinité [3]. Le soja, utilisé à la fois pour son huile et pour ses tourteaux, est particulièrement sensible : son rendement en grains diminue de 50 % en présence de seulement 0,6 gramme par litre de NaCl [4]. De même, la teneur en huile des graines d'arachide est réduite de 12 à 25 % selon l'intensité du stress salin [5]. La salinité influence également la croissance et la qualité des fruits [6] dont l'aspect (fruits plus petits et nécro-

sés) et la qualité organoleptique sont modifiés, et dont la valeur marchande devient médiocre.

Sachant que le rendement est contrôlé par l'interaction entre le potentiel génétique d'une plante et son environnement agropédoclimatique, deux solutions semblent se dessiner pour limiter le problème de la salinité. D'une part, on peut agir sur le sol lui-même, en modifiant sa texture par des amendements calcaires [5], en améliorant les techniques culturales, notamment par des campagnes de fertilisation adéquates [7] ou en désalinisant les eaux d'irrigation. Ceci demande des investissements importants que la plupart des pays ne peuvent prendre en charge. D'autre part, on peut chercher à créer des variétés capables de minimiser les effets défavorables de la salinité sur leur développement et leur rendement. De nombreux efforts sont réalisés en ce sens depuis les années 70, mais les progrès accomplis par les méthodes classiques de sélection sont lents du fait de la diversité et de la complexité des mécanismes impliqués dans la tolérance d'un végétal à la salinité. Ainsi, pour le riz, l'Irsaton (*International Rice Salinity and Alkalinity Tolerance Observational Nursery*) n'a pas répertorié plus d'une quinzaine de variétés tolérantes à la salinité en dix ans [8].

Il est aujourd'hui généralement admis que l'élucidation des mécanismes physiologiques, biochimiques et moléculaires de la tolérance au stress salin des plantes cultivées, ainsi que l'utilisation de marqueurs moléculaires, pourront faciliter la création de variétés plus tolérantes. C'est le point des connaissances actuelles dans ce domaine que nous allons présenter. Après avoir décrit les effets de la salinité sur les plantes et comment le sel y est accumulé, nous évoquerons les méca-

A. Levigneron, F. Lopez, G. Vansuyt, P. Berthomieu, P. Fourcroy, F. Casse-Delbart : Biochimie et Physiologie végétales, Cnrs-Ura 573, Université Montpellier II, Inra, EnsaM, Place Viala, 34060 Montpellier cedex 1, France.

Tirés à part : A. Levigneron

nismes mis en jeu en réponse au stress salin et dont on peut penser qu'ils jouent un rôle dans la tolérance. Nous décrivons ensuite les types de recherches menés dans ce domaine aux niveaux moléculaire et génétique. Ces travaux, complémentaires, devraient permettre de mieux comprendre les réactions des végétaux soumis à un environnement riche en sel et de déterminer celles qui peuvent concourir à les rendre tolérants.

Les effets de la salinité sur les végétaux

La quantité de sels dans le sol que les plantes peuvent supporter sans grand dommage pour leur culture varie avec les familles, les genres et les espèces, mais aussi les variétés considérées. C'est pourquoi il n'est pas possible de définir, dans l'absolu, le seuil de salinité à partir duquel les cultures subissent un stress salin.

Les conséquences d'un stress salin peuvent résulter de trois types d'effets que le sel provoque chez les plantes :

– le stress hydrique : une forte concentration saline dans le sol est tout d'abord perçue par la plante comme une forte diminution de la disponibilité en eau. Cela nécessite un ajustement osmotique adapté, afin que le potentiel hydrique cellulaire demeure inférieur à celui du milieu extracellulaire et à celui du sol. Ce phénomène assure, d'une part, la

poursuite de l'absorption de l'eau du sol et, d'autre part, la rétention de l'eau intracellulaire et le maintien de la turgescence. Lorsque l'ajustement osmotique n'est pas suffisant, l'eau a tendance à quitter les cellules, ce qui provoque un déficit hydrique et la perte de la turgescence ;

– le stress ionique : en dépit d'un ajustement osmotique correct, la toxicité ionique survient lorsque l'accumulation de sels dans les tissus perturbe l'activité métabolique ;

– le stress nutritionnel : des concentrations salines trop fortes dans le milieu provoquent une altération de la nutrition minérale. En particulier, vis-à-vis des transporteurs ioniques cellulaires, le sodium entre en compétition avec le potassium et le calcium, et le chlorure avec le nitrate, le phosphate et le sulfate. Ainsi, il est possible de mettre en évidence l'influence du sel sur des activités métaboliques de la plante aussi nombreuses et importantes que l'absorption d'eau et de nutriments, l'ajustement osmotique, la synthèse de protéines et d'acides nucléiques, l'accumulation de solutés organiques, ainsi que sur la balance hormonale, les taux de respiration, la photosynthèse et leurs interactions avec la microflore du sol [9]. La photosynthèse étant réduite chez les plantes cultivées en milieu salin, on a tout d'abord pensé que cet effet dépressif serait à l'origine de la diminution de croissance. Toutefois, comme la croissance diminue plus tôt que la photosynthèse et, à long terme, décline davantage que cette dernière, on considère que l'assimilation de carbone par les plantes serait

affectée par la salinité à cause d'une réduction de l'indice foliaire plutôt que du taux de photosynthèse [10].

Le sel peut également provoquer la modification du nombre de stomates, du nombre et du diamètre des vaisseaux du xylème chez les halophytes, ou accélérer le cycle biologique avec changement de la voie métabolique de fixation du carbone chez *Mesembryanthemum crystallinum*. De telles modifications de structures anatomiques ou de voies métaboliques peuvent permettre de faire face à la diminution de la disponibilité en eau du milieu, qui constitue une des composantes majeures du stress salin. Parmi les nombreux éléments de réponse des plantes cultivées en milieu salin, il est difficile de déceler ceux qui sont réellement en relation avec la capacité de résistance au stress salin, et des études physiologiques, moléculaires et génétiques sont conduites pour chercher à mieux définir les différentes fonctions mises en jeu, leur importance relative et leur contribution réelle à la tolérance au sel.

Comment le sel est-il accumulé par les plantes ?

Une plante cultivée sur un sol riche en sel doit faire face à la pénétration du sel dans ses tissus. Ce dernier est rejeté ou accumulé par les différents organes, tissus, cellules et compartiments cellulaires.

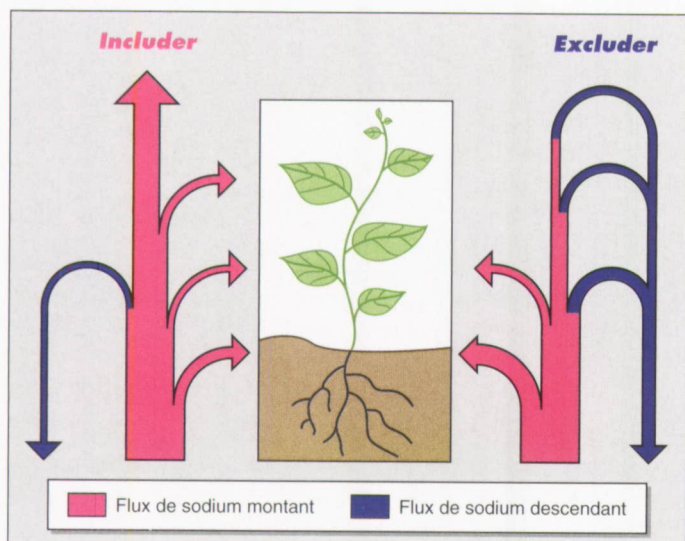


Figure 1. Schématisation du bilan de la circulation du sodium dans les plantes de type *includeur* ou *exclueur*.

Chez les plantes de type *includeur*, les flux de sodium sont essentiellement ascendants (en rose) et le sel est accumulé dans les parties aériennes. Chez celles de type *exclueur*, la plus grande partie du sodium véhiculé vers les feuilles est réexporté vers les racines via le phloème (en bleu). Les intensités relatives des flux sont symbolisées par la largeur des traits.

Figure 1. Diagrammatic representation of sodium movement in «includeur» and «exclueur» type plants.

In «includeur» type plants, sodium fluxes are mainly upward (in pink) and salt is accumulated in aerial parts of the plant. In «exclueur» type plants, most of the sodium directed to the leaves is re-exported to the roots via the phloem (in blue). Relative intensities of the salt fluxes are symbolised by arrow width.

À l'échelle de la plante entière, les ions chlorure et sodium entrent par les racines, sont véhiculés par la sève xylémique jusqu'aux tiges et aux feuilles. Là, ils sont soit stockés (plantes de type *includer**), soit au contraire très peu retenus et revéhiculés par la sève phloémique jusqu'aux racines (plantes de type *excluder**) (figure 1). Les mécanismes de répartition du sel dans les tissus végétaux sont cependant très peu connus. Il semblerait que les ions chlorure et sodium pénètrent dans les cellules de la racine, puis circulent à travers le cortex racinaire jusqu'à la stèle (voie symplasmique) où ils sont sécrétés dans le xylème comme les autres ions minéraux. À l'échelle de la cellule, on considère que le chlorure et le sodium pénètrent par des transporteurs ou canaux ioniques peu spécifiques.

La saturation de l'espace intercellulaire (ou apoplaste) des parties aériennes par le sel apporté par le xylème est le facteur déterminant de la nécrose et de la mort cellulaire. Le sel concentré dans ce compartiment provoque une sortie d'eau intracellulaire qui conduit à une déshydratation rapide des cellules. Deux types de comportements ont pour effet d'éviter la saturation en sel de l'apoplaste.

Dans le premier type, *includer*, le sel montant est piégé et accumulé dans les cellules des parties aériennes, plus particulièrement dans leur vacuole. Les mécanismes impliqués dans le transport du sodium au travers de la membrane vacuolaire, le tonoplaste, ne sont pas encore complètement élucidés. Cependant, l'hypothèse la plus communément admise est que l'entrée du sodium se faisant contre son gradient électrochimique, l'énergie nécessaire au transport de cet ion serait fournie par le gradient de protons engendré par la pompe à protons du tonoplaste. La vacuole se chargerait ainsi en sodium grâce à l'action d'un antiport sodium-proton Na^+/H^+ , lequel serait entretenu par le fonctionnement accéléré des pompes à protons. L'existence d'un système d'échange Na^+/H^+ est largement admise. L'activité d'un tel antiport a été mise en évidence par divers auteurs chez des halophytes telles que *Atriplex nummularia*, *Beta vulgaris*, *Dunaliella salina* et *Plantago maritima*, ainsi que chez des glycophytes comme l'orge et le coton. Un gène codant pour un antiport

* Les auteurs préfèrent, pour ces deux termes, utiliser les mots anglais, car les équivalents français ne sont pas satisfaisants.

Summary

Plants facing salt stress

A. Levigneron, F. Lopez, G. Vansuyt, P. Berthomieu, P. Fourcroy, F. Casse-Delbart

Progressive salinisation of soils is a major limiting factor for plant productivity, particularly in tropical or Mediterranean areas. Unlike salt tolerant halophytes, the majority of agronomically useful species belong to the glycophytes group, whose growth is limited in salt-containing soils. The quantity of soil salt a plant can tolerate varies according to the family, genus, species, and even variety. Physiological, biochemical, molecular and genetic studies will be required before we can determine cultivation practices allowing salt-tolerant varieties to be developed.

Since salt stress is simultaneously hydric, ionic and nutritional, estimating its consequences is always difficult. The effects of salinity on plant development and yield are numerous and hard to organise hierarchically. Chloride and sodium ions enter the plants through the roots and are driven via the xylem to the stems and leaves. There, they are either stored (includer type plants), or poorly retained and pass into the phloem returning to the roots (excluder type) (figure 1). Salt saturation of intercellular spaces in above-ground parts causes necrosis and cellular death. Within cells, ions accumulate in the vacuole, while the cytoplasmic osmotic potential is adjusted with organic soluble compatible compounds such as amino compounds (essentially proline and betaines), sugars and polyols (figures 2 and 3). Isolating messenger RNA or proteins has allowed a certain number of genes to be identified whose expression is either induced or enhanced by salt (figures 4 and 5). Studies have suggested functions for some of them but, more often, they remain to be demonstrated. Furthermore, it is not known whether they are directly involved in tolerance, or simply correlated with the reaction of the stressed plant, without playing any direct role.

None of the components of the salt stress response studied to date can be used by itself as a basis for resistance in the field. It is, therefore, difficult to devise selection programmes for salt tolerant varieties. Genetic methods must be developed. Firstly, suitable screening must be chosen in order to identify mutants affected in a single function involved in tolerance. Analysing the mutants and studying the corresponding genes will provide markers and allow the best criteria for the selection of tolerant varieties to be established. Finally, since we now know how to introduce genes into most cultivated plant species, identified genes with roles critical for tolerance can quickly be put to use, opening a wide field of applications for this fundamental research.

Cahiers Agricultures 1995 ; 4 : 263-73.

Na^+/H^+ a été cloné et séquencé chez la levure *Schizosaccharomyces pombe* ; cette protéine présente des séquences homologues avec les antiports Na^+/H^+ isolés chez l'homme et les bactéries. Pour l'instant, aucun antiport de ce type n'a encore été isolé chez les végétaux.

Dans le second type, *excluder*, le sel véhiculé jusqu'aux feuilles, faute d'y être piégé, est réexporté vers les racines par le phloème. Dans ce cas, ce sont les cellules racinaires qui assurent la protection des parties aériennes, en limitant la quantité de sodium transportée par le xylème

Halophytes et glycophytes

La plupart des espèces d'intérêt agronomique sont rangées dans le groupe des glycophytes, plantes dites sensibles au sel parce que leur croissance est diminuée en présence de sel dans le sol. À l'inverse, un certain nombre de plantes dites halophytes sont naturellement tolérantes au sel et poussent aussi bien, voire mieux, dans un environnement salin qu'en condition « normale ». Il n'y a pas de distinction précise entre les concentrations de sel tolérées par les plantes de l'un ou l'autre groupe, bien qu'une frontière arbitraire de concentration externe en NaCl de l'ordre de 6g/l soit souvent citée. On s'est beaucoup penché sur la physiologie des halophytes afin de comprendre les caractères qui en font des plantes résistantes au sel, dans l'espoir de pouvoir introduire de tels caractères chez des espèces cultivées. Malgré la multitude de travaux qui les concerne, il demeure toujours aussi difficile de définir les halophytes par un comportement physiologique précis, vraisemblablement parce qu'un tel comportement n'est ni simple ni unique. Flowers définit les halophytes comme « *des plantes d'environnement salin dont le rapport K/Na tend à être plus bas, et la concentration ionique globale plus élevée que chez les glycophytes, plantes d'environnement "doux" ou non salin, qui ont normalement un rapport K/Na élevé dans leurs feuilles* » [22].

Halophytes and glycophytes

et/ou en l'excrétant dans le milieu extérieur.

D'un point de vue général, les systèmes cellulaires responsables du transport d'ions chez les végétaux sont encore peu caractérisés aux niveaux génétique ou moléculaire. C'est pourquoi les mécanismes qui conditionnent la circulation et la répartition du NaCl à l'échelle de la plante entière ou à l'échelle moléculaire sont encore peu élucidés [10].

Le classement des plantes en halophytes et glycophytes (encadré 1), bien que suffisant pour une description de la flore d'écosystèmes, n'est pas adéquat pour la description des données physiologiques de la tolérance au sel. Il est admis que c'est la performance à stocker le sel dans les parties aériennes qui est déterminante dans le niveau de tolérance au sel des espèces. Cette donnée n'est cependant plus valable lorsqu'on compare la tolérance entre variétés au sein d'une même espèce. Dans ce cas, un gain de tolérance est observé chez les plantes qui expriment une meilleure capacité à remettre en circulation le sodium, ce qui protège les parties aériennes de l'envahissement salin. En fait, même si cette dernière stratégie intervient relativement peu dans le degré de tolérance des espèces, elle peut expliquer les différences entre plusieurs génotypes d'une même espèce. On

comprend qu'une recirculation performante puisse permettre aux plantes de gagner un temps précieux avant la nécrose des feuilles envahies, avec la mise en place de nouvelles feuilles. La dynamique de croissance et de développement propre à un génotype constitue un élément important dans la détermination de sa tolérance au sel. En effet, une plante peut être relativement insensible à l'effet du sel si la durée de vie de ses feuilles est inférieure au temps qu'il faut pour que les feuilles envahies par le sel atteignent le stade final de la nécrose.

Au niveau intracellulaire, il est couramment admis que les ions impliqués dans l'ajustement osmotique sont largement circonscrits à la vacuole, tandis que le potentiel osmotique du cytoplasme est ajusté avec des solutés organiques dits compatibles. Les ions toxiques Na⁺ et Cl⁻ semblent être exclus des sites sensibles de la cellule et compartimentés dans la vacuole, qui peut représenter jusqu'à 90 % du volume cellulaire, et où ils sont utilisés comme osmoticums. Cette accumulation d'ions dans la vacuole permet à la fois d'ajuster son potentiel osmotique et de détoxifier le cytoplasme où s'effectuent la plupart des processus du métabolisme cellulaire. La relative halotolérance de certaines espèces comme l'orge, la tomate ou encore le tabac semble être liée à leur

capacité à stocker les ions Na⁺ et Cl⁻ dans la vacuole. Les limites des techniques analytiques font que les détails de la compartimentation ne sont pas encore connus de façon probante.

La réponse au stress osmotique

Une augmentation brutale de la salinité du sol se traduit par une réduction immédiate de la croissance foliaire. Celle-ci est associée à une baisse de la turgescence, elle-même liée à la diminution du gradient de potentiel hydrique entre les tissus de la plante et le milieu. Les halophytes et quelques glycophytes tolérantes réalisent l'ajustement osmotique en concentrant les sels dans leurs tissus. Mais les quantités qu'il est nécessaire d'accumuler deviennent rapidement toxiques pour les glycophytes sensibles. Dès lors, une des stratégies d'adaptation consiste à synthétiser des osmoprotecteurs, principalement des composés aminés et des sucres.

Les molécules aminées

Elles furent les premières étudiées chez les végétaux dans les années 60 ; parmi celles-ci, la proline et les bétaïnes attirèrent plus particulièrement l'attention.

• La proline

Les teneurs en cet acide aminé à l'état libre s'accroissent rapidement chez de nombreuses mono ou dicotylédones soumises à un stress salin. Cette augmentation de la quantité de proline cytoplasmique est consécutive à la stimulation de sa synthèse, résultant d'une élévation des quantités de messagers codant pour l'enzyme qui convertit le glutamate semi-aldéhyde en proline. Toutefois, il semble que la stimulation de la synthèse de proline soit parallèle à une activation globale d'une voie métabolique partant du glutamate semi-aldéhyde et conduisant à la proline, mais aussi aux polyamines, *via* l'ornithine et l'arginine. Ces polyamines (ex : putrescine), dont la synthèse interagit avec le cycle de la S-Adénosyl méthionine et de l'éthylène, s'accumulent également lors d'un stress salin (figure 2).

• Les bétaines

Ces composés, qui ont la particularité d'être méthylés, sont issus soit de la choline (glycine-bétaïne, choline-O-sulfate), soit d'acides aminés (proline-bétaïne, β-alanine-bétaïne...). Leur existence est décrite chez les bactéries, les champignons et les végétaux. La betterave est à l'origine du nom bétaine car elle en contient des quantités importantes. D'autres plantes cultivées accumulent aussi ces composés lorsqu'elles sont soumises à un stress salin ; c'est le cas de l'épinard, du tournesol, du blé et du maïs.

On a montré, chez l'épinard, que l'élévation des teneurs en glycine-bétaïne est liée à l'augmentation de la synthèse des précurseurs de la choline. Ainsi, l'augmentation de l'activité bétaine aldéhyde déshydrogénase, observée au cours d'un traitement salin, peut être dépendante de l'activation globale de toute une voie métabolique (figure 3).

En cas de stress salin, on considère que l'intensification du métabolisme de la choline peut participer au maintien des flux transmembranaires, grâce à un renouvellement plus intense de la phosphatidylcholine, choline phosphorylée qui est la composante majeure de la structure des membranes cellulaires.

Les sucres et leurs dérivés, les polyols

La synthèse des sucres et des polyols est stimulée par un stress salin chez les procaryotes et les eucaryotes. Des jeunes plants de pois chiche, *Cicer arietinum*, cultivés en présence de chlorure de sodium, présentent de fortes quantités de saccharose et d'un sucre-alcool, le pinitol. Ce phénomène se produit également chez *Leucaena leucocephala* et *Sesbania bispinosa*. Les nombreux cas où sont décelées des accumulations de sucres ou de leurs dérivés alcools (mannitol, sorbitol, pinitol, cyclitol, cicérol...) s'accompagnent aussi de l'augmentation d'un des composés aminés précités (proline ou glycine-bétaïne).

D'autres études font état d'augmentations de teneurs en acides organiques (malate, citrate, oxalate...), parallèlement ou non à celles des sucres-alcool ou des composés aminés déjà cités. Chez le plantain, ce phénomène est consécutif à la stimulation de l'activité de β-carboxylation (cycle ATC, figure 2).

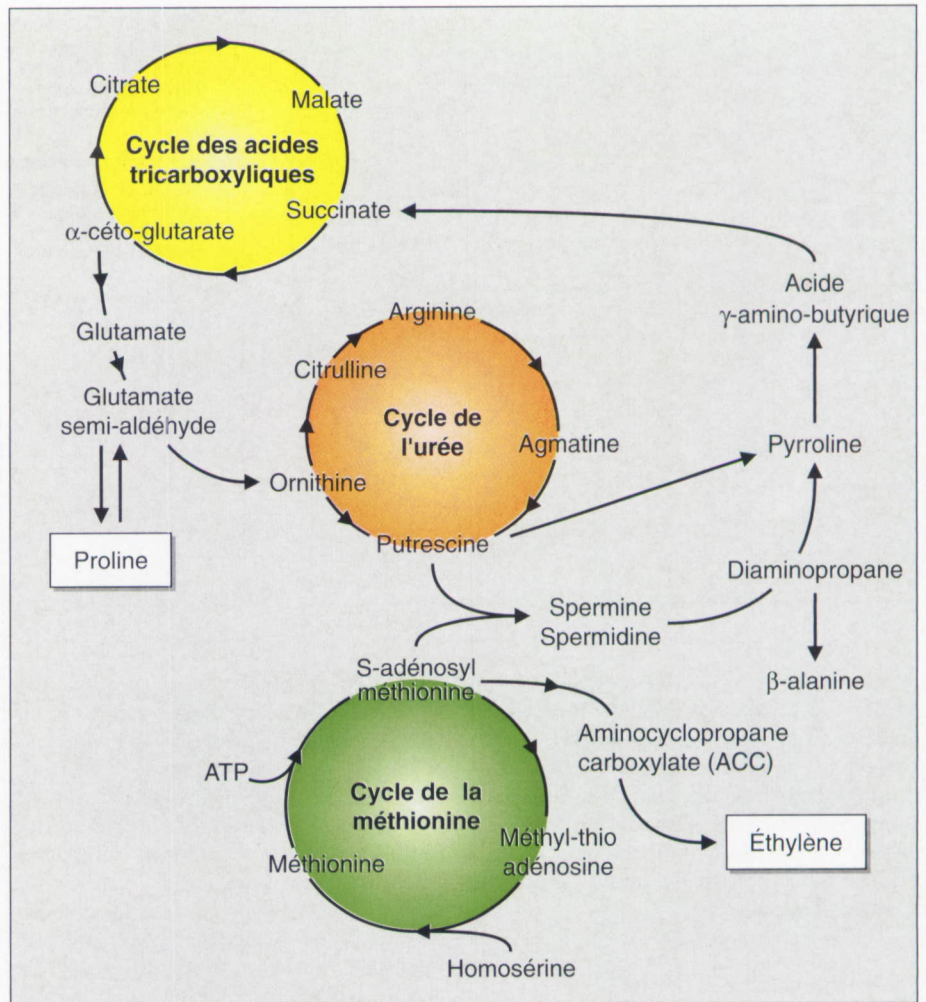


Figure 2. Relations métaboliques entre les acides tricarboxyliques, l'urée et la méthionine. La néo-synthèse ou l'accumulation de certains composés (proline, éthylène, polyamines) ou d'enzymes impliqués dans ces cycles métaboliques (S-Adénosyl méthionine synthétase, ACC carboxylase) a été observée dans les plantes soumises à une contrainte saline.

Figure 2. Metabolic relations between tricarboxylic acids, urea and methionine. Compounds (like proline, ethylene or polyamines) or enzymes involved in metabolic cycles (such as S-adenosyl methionine synthetase or ACC carboxylase) were shown to be accumulated or neosynthesized in salt-stressed plants.

L'apport de ces composés osmoprotecteurs dans le milieu ne modifie pas le comportement des plantes soumises à un stress salin. Pour estimer leur impact réel sur la tolérance, il faudrait pouvoir modifier leur concentration endogène, donc leur métabolisme. À cet égard, les travaux menés sur les molécules osmoprotectrices ont ouvert la voie à l'amélioration de la tolérance des plantes au stress salin *via* le génie génétique. Des tabacs exprimant un gène bactérien codant pour la mannitol 1-phosphatase

déshydrogénase synthétisent davantage de mannitol et manifestent une certaine tolérance à la salinité [11]. Un gène de *Mesembryanthemum crystallinum* responsable de la synthèse d'un sucre-alcool cyclique [12], des gènes codant pour la bétaine aldéhyde déshydrogénase d'épinard et de canne à sucre [13] et un gène du colibacille codant pour le même enzyme [14] ont été introduits dans le tabac. Les produits attendus sont effectivement accumulés dans les tabacs transgéniques, mais le comportement de ces

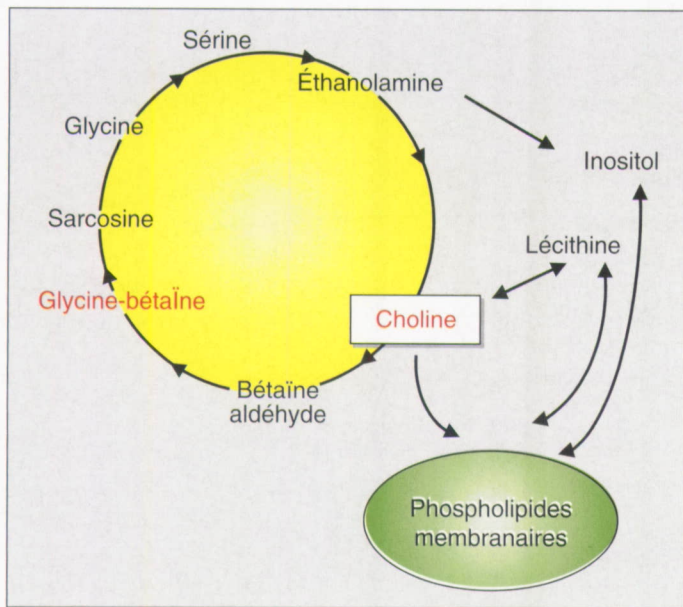


Figure 3. Synthèse de la glycine-bétaïne et des phospholipides membranaires à partir de la choline.

Figure 3. Synthesis of glycine betaine and membrane phospholipids from choline.

derniers vis-à-vis d'un stress salin n'a pas encore été décrit. Ce type de recherche ouvre des perspectives intéressantes. Pour notre part, nous envisageons la production de glycine-bétaïne dans des luzernes transgéniques, en collaboration avec le groupe du professeur Le Rudulier, qui, à Nice, étudie la synthèse de ce composé dans les *Rhizobium*.

Les approches moléculaires des effets de la salinité

En cas de perturbation du fonctionnement cellulaire, et c'est précisément ce qui se produit lors d'un stress, il est logique de s'attendre à des modifications (induction ou répression) de l'expression d'un ensemble de gènes. Lorsqu'on recherche des gènes dont l'expression est induite, réprimée ou modulée dans une situation physiologique particulière, deux types d'approches sont généralement mises en œuvre (figure 4). La première consiste à repérer les protéines (produits finaux de l'expression des gènes) dont la teneur est modifiée par le traitement imposé ; la seconde méthode identifie les modifications d'expression de gènes à un niveau situé plus en amont, à savoir celui

des ARN messagers. Quoique ces deux approches complémentaires soient orientées vers le même but, elles diffèrent sensiblement dans leurs limites respectives. *Grosso modo*, on peut dire que l'approche « protéine » permet d'identifier des modifications de l'expression de gènes à quelque niveau qu'interviennent les régulations, mais qu'elle est limitée par les étapes de détection et de microséquençage. Quant à l'approche « ARN », elle ne repère que les régulations prétraductionnelles, mais on peut porter à son crédit sa grande sensibilité (détection d'ARNm peu abondants).

L'utilisation de ces différentes approches a permis d'inventorier un certain nombre de gènes induits, ou de protéines synthétisées, en réponse à un stress salin. À partir de la séquence d'un gène ou d'un ARNm, on peut déduire celle de la protéine correspondante. La comparaison des séquences de ces protéines avec celles disponibles dans les banques de données peut permettre de les identifier ou, plus généralement, de suggérer leur fonction. Il s'agit ensuite, par un travail de biochimie, de vérifier la fonction supposée.

Un certain nombre de protéines ont été isolées chez des plantes soumises à un stress salin. L'une des premières, isolée chez le tabac ou la tomate cultivés en présence de chlorure de sodium, est l'osmotine qui apparaît en cas de réajustement osmotique ; elle peut s'accumuler en quantité très importante jusqu'à représenter 10 % des protéines totales. Cette protéine présente des homologues de séquence avec la thaumatine, une protéine accumu-

lée dans les tissus végétaux attaqués par des agents pathogènes ; elle possède également des homologues avec un inhibiteur de la trypsine de maïs. Dans notre laboratoire, une autre protéine présentant des homologues avec un inhibiteur de la trypsine (de soja) a été trouvée chez le radis cultivé pendant plusieurs semaines en présence de NaCl [15] (figure 5). Il reste cependant à montrer si ces protéines homologues à des inhibiteurs de trypsine ont bien des activités anti-protéases et, dans l'affirmative, à trouver quelles protéases elles inactivent.

La synthèse de molécules osmoprotectrices étant une nécessité pour les plantes accumulant le NaCl, il n'est pas surprenant que des enzymes appartenant aux voies de synthèse de ces molécules aient été identifiées dans des plantes soumises à une contrainte saline. Il s'agit de la bêtaïne aldéhyde déshydrogénase (synthèse de glycine bêtaïne) chez la betterave et de l'inositol O-méthyltransférase (synthèse du pinitol) chez *Mesembryanthemum*.

La perception du stress salin met en action des mécanismes de transmission de signaux liés à la mise en place des modalités de tolérance/résistance. Récemment, on a montré qu'un traitement de plantes ou de levures avec du chlorure de sodium induisait l'expression de gènes codant pour des protéines kinases et phosphatases, protéines que l'on sait impliquées dans la transmission des signaux cellulaires *via* le système calmoduline. Là encore, il reste à trouver quelles protéines sont phosphorylées ou déphosphorylées par ces kinases et phosphatases. L'accumulation de protéines riches en proline ou en hydroxyproline, ayant peut-être un rôle de renforcement des parois cellulaires, a également été observée en condition de stress salin.

En utilisant la levure *Saccharomyces cerevisiae* comme modèle, le groupe de Ramón Serrano à Séville a isolé plusieurs gènes dont l'expression confère une résistance accrue au sel. Ainsi, le gène HAL1 pourrait moduler le transport de potassium [16] et le gène HAL2, qui serait une biphosphate nucléotidase impliquée dans l'activation du sulfate, intervient dans la synthèse de la méthionine [17]. Un gène codant pour une autre enzyme appartenant à la voie de biosynthèse de la méthionine, la S-adénosylméthionine synthétase, a été isolé par criblage différentiel d'une banque de gènes exprimés dans des tomates soumises à un stress salin. Par ailleurs, deux peroxydases, dont on connaît le rôle dans la défense contre le stress oxydatif, ont également

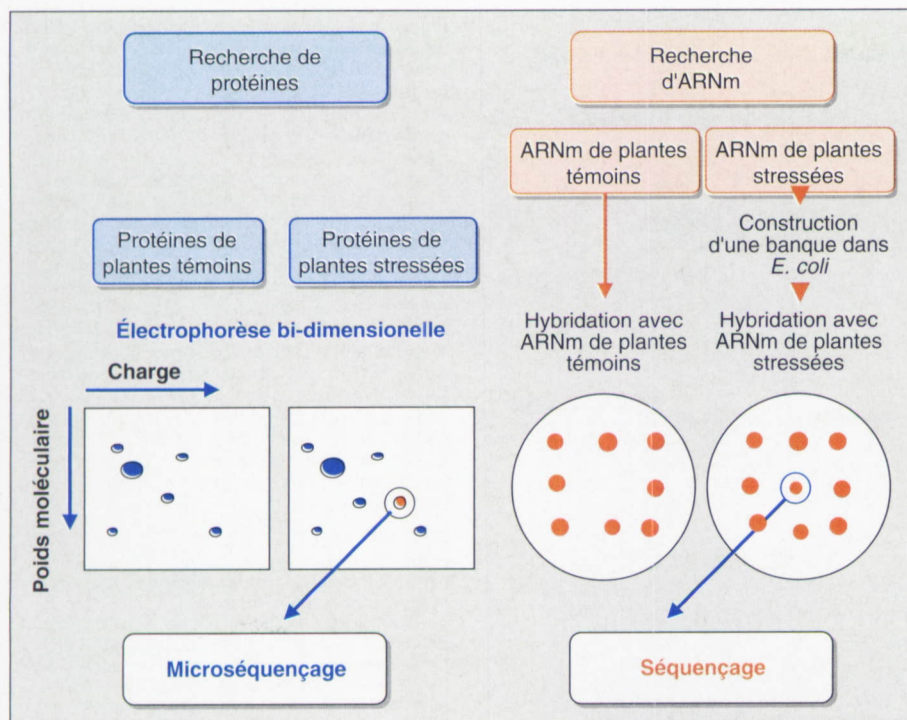


Figure 4. Approches « protéine » et « ARNm » dans l'étude des effets du stress salin chez les plantes.

Le principe des approches « protéine » et « ARNm » repose sur un tri différentiel des produits de gènes. Dans le cas de l'approche « protéine » (à gauche), on compare le contenu en protéines des plantes témoins, ou soumises à un traitement salin, par électrophorèse bi-dimensionnelle, une technique qui sépare les macromolécules à la fois en fonction de leur taille et de leur charge. Les protéines qui n'apparaissent que dans les plantes stressées (ou qui s'y accumulent fortement) peuvent être repérées, récupérées et soumises au microséquençage. En ce qui concerne l'approche « ARNm » (à droite), on constitue d'abord une « banque » dans la bactérie *Escherichia coli*, de telle sorte que chaque colonie bactérienne (clone) ne contienne qu'une seule copie d'ARNm. Par la méthode d'hybridation moléculaire, on peut alors distinguer les ARNm qui ne sont présents que dans les plantes stressées (ou qui y sont plus abondants). Les clones contenant ces copies d'ARNm peuvent être alors récupérés, en particulier pour les soumettre au séquençage.

Figure 4. The «protein» and «mRNA» methods in studying the effects of salt stress in plants.

The basic principle of both is a differential screening of gene products. In the «protein» method, the proteins from control or salinised plants are separated according to size and charge by two-dimensional electrophoresis. Comparing protein patterns allows those appearing specifically (or which are more abundant) in salt-stressed plants to be identified by microsequencing. In the «mRNA» method, a «library» is built in *Escherichia coli*, such that one bacterial colony (clone) contains only one mRNA copy. Then, using the molecular hybridisation technique, the mRNA which is present (or more abundant) only in salt-stressed plants can be identified. Clones containing these mRNA copies are then isolated and sequenced.

été identifiées dans des plantes exposées à la salinité : il s'agit de l'ascorbate peroxydase chez le radis et de la glutathion peroxydase chez le citron.

La diversité de nature des protéines mises en évidence jusqu'à présent ne permet guère d'avoir une vision bien claire des mécanismes moléculaires fondamentaux dont la mise en place est nécessaire pour permettre aux plantes de se développer en milieu salin. Les résultats acquis sont souvent fragmentaires mais les efforts des nombreux laboratoires engagés actuellement dans cette direction permettent d'espérer des progrès importants à moyen terme.

Les approches génétiques

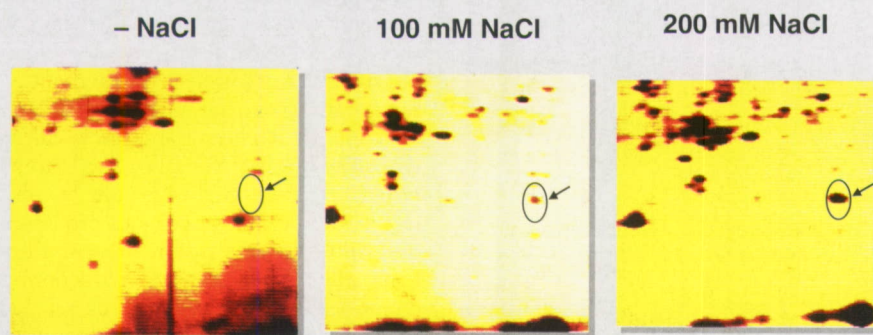
À la panoplie des études de physiologie, biochimie ou biologie moléculaire sur la réponse des plantes au stress salin, viennent s'ajouter les approches génétiques. La réponse au stress salin est multiforme et la tolérance des plantes est nécessairement un caractère multigénique. Aucun des éléments de réponse à l'application d'un stress salin étudiés à ce jour ne peut actuellement servir à lui seul de base de sélection pour la résistance au champ. Il

est donc très délicat d'essayer de mettre en place des schémas de sélection de variétés végétales tolérantes au sel. La pratique actuelle, en particulier dans les sociétés de production de semences, consiste à améliorer le rendement de façon intrinsèque, c'est-à-dire sans s'occuper de la performance de la culture en condition de stress salin. Sur la tomate par exemple, on choisit pour la culture sur sol salé des variétés qui produisent des fruits de fort calibre en condition habituelle ; de la sorte, la réduction de croissance due à la présence de sel dans le sol permet malgré tout d'obtenir des fruits d'un calibre suffisant pour présenter un intérêt commercial. Cette pratique a été validée par un travail de modélisation, réalisé à partir de données expérimentales de rendement de variétés de différentes céréales cultivées sur sol salé. On conclut que le rendement d'une variété dont la productivité a été préalablement améliorée en culture sur sol salé est inférieur à celui d'une variété dont la productivité a été préalablement améliorée dans des conditions normales [18]. Dans ce contexte, on comprend pourquoi seulement quelques dizaines de lignées caractérisées comme tolérantes au sel, toutes espèces cultivées confondues de par le monde, ont été inscrites au catalogue des variétés nouvelles.

Le faible investissement et le manque de résultats pour obtenir des lignées tolérantes au sel sont la conséquence de deux phénomènes. D'une part, le sélectionneur dispose de peu d'index fiables pour évaluer la tolérance au sel d'une lignée en dehors de l'essai au champ. D'autre part, la conduite d'expérimentations en champ est rendue extrêmement délicate par la très grande hétérogénéité des sols salés et par les interactions fortes entre salinité et autres facteurs environnementaux.

Pour contourner cette difficulté, les spécialistes s'accordent pour dire qu'il devient nécessaire de disposer de marqueurs fiables, physiologiques ou génétiques, qui permettent de caractériser des comportements de tolérance. Or, cet objectif n'a pas encore été atteint faute de connaître les principaux mécanismes physiologiques qui déterminent la tolérance au sel. Il faut distinguer ici les mécanismes qui déterminent effectivement la tolérance de ceux qui accompagnent ou sont la conséquence du stress salin. Un certain nombre de travaux ont certes eu pour objet de comparer différentes espèces ou variétés en essayant de

Accumulation de la protéine P22 dans les feuilles de radis



Accumulation des ARNm codant pour la protéine P22

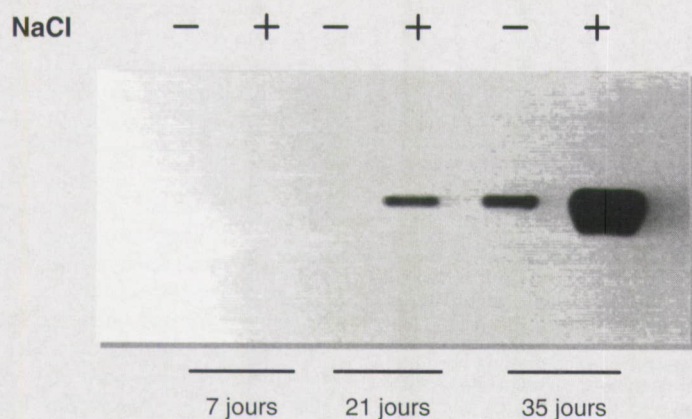


Figure 5. Accumulation de la protéine P22 et de son ARNm dans les feuilles de radis cultivés en présence de chlorure de sodium. La protéine P22 n'est pas détectée chez les plantes témoins (-NaCl) après analyse par électrophorèse bidimensionnelle. Elle s'accumule lorsque les plantes sont cultivées pendant une assez longue période (3 semaines) en présence de 100 mM NaCl (5,8 g/l) et s'accumule davantage lorsque la concentration est de 200 mM NaCl (11,6 g/l). L'analyse de la séquence de la protéine a permis d'en déduire la séquence de l'ARNm et d'en synthétiser des copies par la méthode d'amplification de gènes (PCR). Ces copies d'ARNm ont été alors utilisées comme sondes pour détecter, par hybridation moléculaire, l'ARNm codant pour la protéine P22. Cet ARN, qui n'est pas détecté avant 21 jours de culture en présence de NaCl (5,8 g/l), s'accumule ensuite de façon nettement plus importante dans les plantes soumises au traitement salin.

Figure 5. Accumulation of the P22 protein and its mRNA in the leaves of radishes grown in the presence of sodium chloride. Two-dimensional electrophoresis does not detect the P22 protein in control plants (-NaCl). It accumulates in plants grown for a long period (3 weeks) in the presence of 100 mM NaCl (5.8 g/l) and even more when the concentration is raised to 200 mM NaCl (11.6 g/l). The mRNA sequence was deduced from the protein sequence, and copies of the mRNA were obtained by the gene amplification method (PCR). The mRNA copies were then used as a probe to detect the mRNA coding for the P22 protein by molecular hybridisation. The mRNA, which is not detected before 21 days of plant exposure to 100 mM NaCl (5.8 g/l), subsequently accumulates in salinised plants to a much greater extent.

corrélent leur tolérance au sel avec un certain nombre de comportements pour l'un ou l'autre des traits physiologiques qui sont classiquement associés au stress salin. Ces études ont permis d'établir des corrélations générales entre tolérance au sel et comportement des plantes (caractère *include* ou *exclude*, capacité à maintenir une forte teneur en potassium dans les cellules, fluorescence chlorophyllienne). Les règles ainsi établies souffrent cependant un certain nombre d'exceptions. Si de telles informations donnent des grilles générales de compréhension du phénomène de tolérance au sel, elles ne sont cependant pas suffisantes pour élaborer des schémas de sélection, en particulier parce que les comparaisons qui permettent de les établir sont réalisées sur des plantes trop différentes d'un point de vue génétique : il n'est ainsi pas possible d'étudier un facteur pris isolé-

ment puisque de nombreux autres facteurs sont différents dans les lignées que l'on compare.

Étude de mutants

Le seul moyen d'étudier un seul facteur de tolérance au sel ou de réponse au stress salin, « toutes choses égales par ailleurs », est de disposer ou de construire des lignées quasi-isogéniques, c'est-à-dire deux génotypes qui ne diffèrent que pour le seul facteur étudié. On ne peut disposer de telles lignées par hasard, et les construire représente un travail très important. Une autre stratégie consiste à identifier des mutants par une approche de génétique classique. Peu de laboratoires se sont lancés dans ce type d'approche, probablement parce que c'est un travail à long terme et que les résultats n'en sont pas assurés au départ.

Il est cependant possible d'identifier des facteurs de tolérance monogéniques. Ainsi, la tolérance au sel de certains cultivars de soja est due à la capacité à limiter la quantité d'ions chlorure exportée des racines vers les parties aériennes. Or ce caractère *exclude* est transmissible aux lignées sensibles au sel comme monogénique et dominant [19]. Dans d'autres domaines, l'obtention et la caractérisation de mutants ont permis des progrès décisifs dans la compréhension de phénomènes comme l'embryogenèse, l'ontogenèse florale, la nutrition azotée ou la réponse aux hormones par exemple. La méthode utilisée pour identifier des mutants consiste à préparer un crible de sélection auquel on va soumettre des plantes mutagenisées. On peut ici citer l'exemple de deux cribles qui ont été couronnés de succès :
- dans le cas de l'étude de l'ontogenèse

florale, un simple crible visuel a permis de repérer, au sein d'une très grande population, des individus qui possédaient des fleurs anormales : fleurs sans pétales, fleurs possédant des sépales à la place des pétales, fleurs sans étamines, etc. ;

– dans le cas de la résistance au stress salin, il a été possible de sélectionner des plantes capables de germer sur un milieu contenant une dose toxique de sel.

On pourrait bien entendu utiliser ce genre de crible pour analyser et caractériser de nombreuses variétés et génotypes, mais on se retrouve alors dans les cas cités ci-dessus d'approches qui ne permettent pas d'aboutir à une connaissance fine d'un phénomène. La spécificité de l'approche génétique de sélection de mutants réside dans l'utilisation du crible pour analyser des individus issus d'un même génotype, au départ le plus homogène possible. On induit ensuite la variabilité indispensable en mutagénisant des graines du génotype choisi (encadré 2). Chaque graine soumise à la mutagenèse subit des altérations de son patrimoine génétique de façon aléatoire en un nombre limité de sites (ou *loci*) différents dispersés dans le génome. Deux graines différentes accumulent des mutations différentes, si bien que la probabilité que deux graines aient subi la même mutation est extrêmement faible. Il en résulte que tous les individus mutés sont différents. Ces différences entre deux individus sont toutefois minimales, puisque chaque individu ne subit de mutations que dans un petit nombre de gènes (parmi les trente mille à quarante mille gènes que compte une plante). Après mutagenèse, les caractéristiques du génotype de départ ne sont pas significativement modifiées dans la population mutagénisée, mais chaque individu de la population possède quelques caractères propres qui le distinguent du reste de la population d'un point de vue génétique, sans correspondre en général à un phénotype visible. Ainsi, un mutant capable de pousser sur un milieu contenant une dose toxique de sel aura un comportement indiscernable de celui du reste de la population lorsqu'il sera cultivé en conditions normales.

Un crible de sélection de mutants a donc pour objet d'identifier les individus qui manifestent un comportement très différent du comportement moyen de la population mutagénisée pour un critère de sélection donné. Lors d'une mutagenèse bien conduite, la population mutagénisée compte environ un individu sur

Encadré 2

Méthodes de mutagénisation

Des graines peuvent être mutagénisées par des agents chimiques (éthyl méthyl sulfonate ou EMS), physiques (irradiation aux ultraviolets ou aux rayons gamma), ou par insertion d'ADN dans leur génome. Ces méthodes se différencient, en particulier par la nature des mutations qu'elles induisent au niveau de l'ADN cible. L'EMS induit des mutations ponctuelles : remplacement d'une base (unité élémentaire d'information génétique) par une autre base ; cette modification peut en particulier aboutir au changement d'un acide aminé par un autre dans la protéine codée par la séquence mutée. Les irradiations ultraviolettes ou gamma induisent des délétions (perte de matériel génétique) de quelques centaines de bases maximum, ce qui correspond à des fragments de longueur inférieure à celle d'un gène. La principale méthode de mutagenèse par insertion d'ADN dans le génome des dicotylées est réalisée à l'aide du système de transfert d'ADN induit par *Agrobacterium tumefaciens*. Cette bactérie a la propriété de transférer une partie de son matériel génétique à des plantes : elle est à l'origine de maladies comme la galle du collet qui touche beaucoup les vergers. Son système de transfert de gènes a été exploité pour construire des plantes transgéniques. L'ADN bactérien transféré (ADN-T) s'insère dans le génome de la plante de façon aléatoire. Cette insertion crée une mutation : si elle a lieu dans un gène, ce gène est alors inactivé et la fonction correspondante est perdue. L'intérêt de cette méthode de mutagénisation est que la mutation est directement identifiable, puisque marquée (ou étiquetée) par la présence de l'ADN inséré, ADN connu de l'expérimentateur et donc facilement repérable. On appelle cette méthode de mutagenèse « l'étiquetage de gènes ».

Mutagenesis methods

dix mille qui possède une mutation dans un gène dont l'expression a une influence sur le caractère étudié et que l'on peut donc révéler par le crible. En conséquence, la probabilité d'obtenir un mutant simultanément affecté dans deux gènes différents dont les expressions ont une influence sur le même caractère étudié est pratiquement nulle. C'est là que réside l'intérêt principal de la mise en évidence de mutants : on étudie l'effet de la perturbation d'une seule fonction, les autres restant inchangées en principe. Dans ce type d'approche, l'étape la plus délicate se situe dans le choix du crible de sélection et dans la pertinence de ce choix. D'une part, on n'est pas sûr que le critère choisi pour la sélection permette effectivement d'obtenir des mutants. D'autre part, dans les cas où le crible est complexe, il arrive souvent que certains des mutants obtenus n'aient pas de rapport direct avec le phénomène que l'on veut observer. D'un point de vue technique, l'étape de sélection des mutants proprement dite est assez longue et la pertinence du crible choisi n'est donc évaluable qu'après plusieurs années. Ceci

explique en partie pourquoi de nombreux laboratoires hésitent à se lancer dans de telles démarches. Ensuite, se pose la question de caractériser le mutant, d'étudier la fonction altérée chez cet individu et sa descendance, et de préciser le rôle de cette fonction particulière dans le phénomène étudié, en l'occurrence la tolérance au sel. La démarche présentée ci-dessus paraît indispensable pour bien comprendre l'enchaînement des réponses au stress salin. La lourdeur de la procédure d'obtention et, surtout, d'analyse des mutants suggère qu'il est opportun de travailler sur des plantes modèles. Les éléments qui interviennent dans la réponse au stress salin semblent en effet similaires chez toutes les plantes ; c'est plutôt l'efficacité et la capacité à valoriser ces potentialités qui différencient les espèces ou les variétés du point de vue de la tolérance. Les premiers travaux sur le stress salin entrepris dans cette voie ont été réalisés chez la plante modèle *Arabidopsis thaliana* [20]. Cet exemple illustre bien la puissance et les limites d'un crible de sélection. Alors que *A. thaliana* est normalement incapable de germer sur des

milieux contenant 10 grammes par litre de chlorure de sodium, trois mutants monogéniques récessifs capables de germer sur un milieu contenant 13 grammes par litre de NaCl ont pu être obtenus. Les premières caractérisations de ces mutants montrent que leur tolérance au sel est due à une modification de la perméabilité ionique membranaire lors de l'imbibition des graines. Un tel travail montre qu'il est possible d'identifier des fonctions jouant un rôle dans la réponse au stress salin, dont on peut attendre des retombées concernant l'étude de la germination et de la levée sur sol salin. Cependant, contrairement à ce qu'espéraient les chercheurs concernés, ces mutants ne furent pas plus tolérants au sel que les plantes normales lors du développement végétatif.

L'obtention de mutants affectés dans la réponse et la tolérance au stress salin a pour premier objectif de comprendre les mécanismes de tolérance. Cette connaissance devrait ensuite permettre d'identifier des marqueurs moléculaires, génétiques ou physiologiques utilisables dans des programmes de sélection classiques. Par ailleurs, le développement des outils moléculaires permet d'identifier de plus en plus rapidement les gènes affectés chez un mutant. Cet accès aux gènes majeurs de réponse au stress fournira de nouveaux outils pour la construction de plantes transgéniques, solution permettant d'adapter les cultures au stress salin.

Recherche de QTL

Une autre stratégie est développée pour disposer de marqueurs génétiques de comportements de tolérance. Cette stratégie est fondamentalement différente de la précédente, au sens où elle n'a pas pour objectif de comprendre les mécanismes de tolérance, mais a un parti pris plus pragmatique. Ce qui intéresse *in fine* le producteur, c'est de disposer de variétés qui donnent un rendement satisfaisant d'un point de vue économique lorsqu'elles sont cultivées sur terrain salé. L'objectif est donc d'identifier des *loci* génétiques correspondant à ce caractère puis de les combiner pour sélectionner des lignées améliorées. Ce travail n'est pas simple, car le rendement est sous la dépendance de nombreux facteurs génétiques, favorables et défavorables. De ce fait, c'est un caractère faiblement héritable. Dans le cas de cultures soumises à une contrainte saline, la difficulté supplémentaire consiste à identifier des composantes du rendement spécifiques à

la réponse au stress. Dans des situations aussi complexes, on ne peut travailler qu'avec des caractères quantitatifs. Les *loci* génétiques correspondant à ces caractères sont appelés QTL pour *quantitative trait loci*. Ce qui est vrai pour le rendement l'est aussi pour d'autres critères d'intérêt agronomique comme la stabilité du rendement ou la qualité du produit de culture réalisée en contrainte saline. Il faut, dans ces cas-là, utiliser un critère quantitatif corrélé au (ou représentant le) critère d'intérêt agronomique.

Identifier des QTL revient à mettre en évidence des marqueurs moléculaires liés au caractère mesuré. Deux approches sont alors possibles pour obtenir de tels marqueurs. Une première approche systématique consiste à utiliser des sondes « anonymes », en grand nombre, de manière à couvrir la totalité du génome de façon la plus dense possible. L'emploi de techniques d'amplification d'ADN permet de réaliser une analyse avec très peu d'ADN ; il est donc possible d'effectuer de l'ordre de la dizaine de milliers d'analyses à partir de l'ADN d'une seule plante. Cette stratégie reste toutefois très longue, fastidieuse et coûteuse. Une alternative consiste à tester un nombre nécessairement plus limité de sondes bien choisies. Ces sondes sont en général des séquences correspondant à des gènes dont il a été montré qu'ils jouent un rôle dans la tolérance au sel (cf. § : Les approches moléculaires de la salinité) et que l'on appelle « gènes candidats ». Cette approche semble plus raisonnée mais elle reste très aléatoire, d'une part, parce que trop peu de gènes candidats ont été identifiés et, d'autre part, parce que la connaissance des mécanismes de tolérance est trop limitée.

Récemment, six marqueurs ont pu être associés à des QTL gouvernant le calibre ou le nombre de fruits chez la tomate cultivée sur sol salé [21]. Sur les trois marqueurs associés à la masse des fruits, deux avaient déjà été identifiés dans une précédente étude menée pour analyser des plantes cultivées dans des conditions normales. Le troisième, qui avait aussi été considéré dans cette première étude, n'avait alors pas été associé à ce caractère. Ce résultat suggère donc qu'il existe un QTL spécifiquement associé à la taille du fruit lors de la contrainte saline. Ces données sont encore très préliminaires mais elles laissent espérer une possibilité de sélection raisonnée de lignées tolérantes au sel. Il reste à identifier un plus grand nombre de QTL associés au

rendement ou à d'autres caractères d'intérêt agronomique. Mais avant de réellement utiliser des marqueurs en sélection, il faut garder à l'esprit que les QTL ne sont pas nécessairement indépendants entre eux et qu'ils peuvent avoir des effets antagonistes lorsqu'ils sont combinés. Dans certains génotypes, ils peuvent aussi interagir avec des caractères totalement étrangers à la tolérance au sel, ce qui peut limiter leur utilisation. Nous sommes loin d'avoir des preuves manifestes de la validité de cette stratégie.

Conclusion

La salinisation des sols est un problème écologique majeur que doit affronter un nombre croissant de régions du globe. Étant donné l'enjeu économique des recherches sur le stress salin, il peut apparaître décevant de ne disposer à l'heure actuelle, concernant la réponse des plantes au sel, que d'une description incomplète des effets sur la physiologie et d'un catalogue partiel des activités cellulaires induites et des métabolites accumulés. D'autant que, pour nombre d'entre eux, on ignore encore s'ils sont directement liés à un mécanisme de tolérance ou seulement corrélés à cette réaction sans y participer. En outre, les études ayant été réalisées sur différentes espèces, il n'est pas possible d'en déduire une éventuelle universalité.

Outre l'amélioration des connaissances des mécanismes moléculaires et cellulaires, les données acquises ouvrent déjà des pistes qu'il convient de poursuivre. Les retombées que l'on est en droit d'attendre de ces recherches se situent à plusieurs niveaux. Tout d'abord, une meilleure compréhension de la réponse au stress salin pourrait conduire à proposer des pratiques culturales permettant de limiter les effets de ce stress. En laboratoire, on a montré que l'apport de calcium dans le milieu de culture limitait les effets du stress salin. Ce constat a été transposé au champ et c'est maintenant une pratique courante que de chauler les champs salinisés. Ensuite, la mise en évidence de processus clés de la tolérance au sel pourrait permettre d'obtenir des marqueurs pertinents, physiologiques ou génétiques, utilisables dans des programmes de sélection de variétés tolérantes au sel. Enfin, la possibilité qu'ont désormais les chercheurs de pouvoir introduire des gènes dans la plupart des espèces cultivées ouvre

un large champ d'application aux travaux fondamentaux présentés ci-dessus. L'enjeu est tel que des laboratoires de plus en plus nombreux s'y consacrent, et on peut espérer que, dans un avenir à proche ou à moyen terme, on disposera des connaissances qui, seules, pourront permettre d'envisager l'obtention des variétés tolérantes grâce à une sélection sur des critères réellement pertinents, ou grâce à l'introduction de gènes appropriés ■

Références

1. Abo El Enein RA. Salinity in irrigated and rainfed areas of west Asia and north Africa. In : *Icardia-Inia symposium: improvement and management of winter cereals under temperature, drought and salinity stresses*. Cordoue : Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, 1991 : 33-48.
2. Levy D, Fogelman E, Ytzhak Y. Influence of water and soil salinity on emergence and early development of potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivars and effect of physiological age of seed tubers. *Potato Res* 1993 ; 36 : 335-40.
3. Epstein E, Norlyn JD, Rush DW, et al. Saline culture of crops: a genetic approach. *Science* 1980 ; 210 : 399-404.
4. Beecher HG. Effects of saline irrigation water on soybean yield and soil salinity in the Murrumbidgee valley. *Aust J Exp Agric* 1993 ; 33 : 85-91.
5. Heuer B, Schaffer A, Meiri A, et al. Saline water irrigation and gypsum amendment effects on the quality of peanuts seeds. *Eur J Agronomy* 1994 ; 3 : 169-74.
6. Mizrahi Y, Pasternak D. Effect of salinity on quality of various agricultural crops. *Plant Soil* 1985 ; 89 : 301-7.
7. Feigin A. Fertilization management of crops irrigated with saline water. *Plant Soil* 1985 ; 89 : 285-99.
8. Akbar M. Varietal improvement for salt tolerance in rice. In : *Icardia-Inia symposium: improvement and management of winter cereals under temperature, drought and salinity stresses*. Cordoue : Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, 1991 : 337-49.
9. Alam SM. Nutrient uptake by plants under stress conditions. In : Pessaraki M, ed. *Handbook of plant and crop stress*. New York : Marcel Dekker, Inc, 1994 : 227-46.
10. Munns R. Physiological processes limiting plant growth in saline soil: some dogmas and hypotheses. *Plant Cell Environ* 1993 ; 16 : 15-24.
11. Tarczynski MC, Jensen RG, Bohnert HJ. Stress protection of transgenic tobacco by production of the osmolyte mannitol. *Science* 1993 ; 259 : 508-10.
12. Vernon D, Tarczynski MC, Jensen RG, Bohnert HJ. Cyclitol production in transgenic tobacco. *Plant J* 1993 ; 4 : 199-205.
13. Rathinasabapathi B, McCue KF, Gage DA, Hanson AD. Metabolic engineering of glycine betaine synthesis: plant betaine aldehyde dehydrogenases lacking typical transit peptides are targeted to tobacco chloroplasts where they confer betaine aldehyde resistance. *Planta* 1994 ; 193 : 155-62.
14. Holmström KO, Welin B, Mandal A, et al. Production of the *Escherichia coli* betaine-aldehyde dehydrogenase, an enzyme required for the synthesis of the osmoprotectant glycine betaine, in transgenic plants. *Plant J* 1994 ; 6 : 749-56.
15. Lopez F, Vansuyt G, Fourcroy P, Casse-Delbart F. Accumulation of a 22 kDa protein and its mRNA in the leaves of *Raphanus sativus* in response to salt stress or water deficit. *Physiol Plant* 1995 ; 91 : 605-14.
16. Gaxiola R, de Larrinoa IF, Villalba JM, Serrano R. A novel and conserved salt-induced protein is an important determinant of salt tolerance in yeast. *EMBO J* 1992 ; 11 : 3157-64.
17. Murguía JR, Bellés JM, Serrano R. A salt sensitive 3'(2'),5'-biphosphate nucleotidase involved in sulfate activation. *Science* 1995 ; 267 : 232-4.
18. Richards RA. Should selection for yield in saline regions be made on saline or non-saline soils? *Euphytica* 1983 ; 32 : 431-8.
19. Abel GH. Inheritance of the capacity for chloride inclusion and chloride exclusion by soybeans. *Crop Sci* 1969 ; 9 : 697-8.
20. Saleki R, Young PG, Lefebvre DD. Mutants of *Arabidopsis thaliana* capable of germination under saline conditions. *Plant Physiol* 1993 ; 101 : 839-45.
21. Bretó MP, Asíns MJ, Carbonell EA. Salt tolerance in *Lycopersicon* species. III. Detection of quantitative trait loci by means of molecular markers. *Theor Appl Genet* 1994 ; 88 : 395-401.
22. Flowers TJ, Läuchli A. Sodium versus potassium: substitution and compartmentation. In : Läuchli A, Pirson A, eds. *Inorganic plant nutrition*. Berlin : Springer, 1983 : 651-81.

Résumé

La salinisation progressive des sols est un facteur limitatif majeur de la productivité agricole, en particulier dans les régions tropicales et méditerranéennes. À l'inverse des halophytes naturellement tolérantes aux sels (NaCl étant en général majoritaire), la plupart des espèces d'intérêt agronomique sont rangées dans le groupe des glycophytes, dont la croissance est diminuée en présence de sel. La quantité de sels dans le sol que les plantes peuvent supporter varie avec les familles, les genres et les espèces, mais aussi les variétés considérées. Pour parvenir à définir des pratiques culturales permettant de surmonter un stress salin et pour créer des variétés tolérantes au sel, des études physiologiques, biochimiques, moléculaires et génétiques sont nécessaires.

Il s'avère difficile d'estimer les conséquences d'un stress salin, car il recouvre à la fois des stress hydrique, ionique et nutritionnel. Ainsi, les impacts de la salinité sur le développement et le rendement de la plante sont aussi nombreux que difficiles à hiérarchiser. Les ions chlorure et sodium entrent dans les plantes par les racines et sont véhiculés par le xylème jusqu'aux tiges et aux feuilles. Là, ils sont soit stockés (plantes de type *include*), soit peu retenus et évacués par le phloème jusqu'aux racines (plantes de type *exclure*). La saturation de l'espace intercellulaire des parties aériennes des végétaux par le sel est responsable de la nécrose et de la mort cellulaire. À l'intérieur des cellules, les ions sont accumulés dans la vacuole, tandis que le potentiel

osmotique du cytoplasme est ajusté avec des solutés organiques dits compatibles : composés aminés (essentiellement proline et bétaïnes), sucres et polyols. L'isolement d'ARN messagers ou de protéines a permis d'identifier un certain nombre de gènes dont l'expression est induite ou augmentée par la présence de sel dans le milieu. Leur étude suggère des fonctions qui restent le plus souvent à démontrer et dont on ignore encore si elles sont directement impliquées dans la tolérance ou seulement corrélées à la réaction de la plante au stress salin, sans y jouer de rôle causal.

Aucun des éléments de réponse à l'application d'un stress salin étudiés à ce jour ne pouvant à lui seul servir de base de sélection pour la résistance au champ, il est difficile d'établir des schémas de sélection de variétés tolérantes au sel, d'où la nécessité de développer des approches génétiques. Il s'agit tout d'abord de choisir un crible pertinent de sélection afin d'identifier des mutants affectés dans une seule fonction participant à la tolérance au sel. L'analyse de ces mutants et l'étude des gènes correspondants pourront, d'une part, fournir des marqueurs et, d'autre part, permettre de définir des critères corrects pour la sélection de variétés tolérantes. Enfin, l'identification de gènes à rôle déterminant dans la tolérance est d'autant plus cruciale maintenant que l'on sait introduire des gènes dans la plupart des espèces cultivées, ce qui ouvre un large champ d'application aux travaux fondamentaux en la matière.