

# ***Analyse de la proline pour l'étude de la résistance d'une halophyte Atriplex halimus L. à la salinité***

par **Moulay BELKHODJA** et **Yasmina BIDAI**

Laboratoire de Physiologie Végétale, Faculté des Sciences, Université d'Oran -Algérie

[belkhod@yahoo.fr](mailto:belkhod@yahoo.fr)

**Résumé.**- La proline, marqueur de la résistance aux contraintes abiotiques, est étudiée dans les organes juvéniles de plantes d'*Atriplex halimus* L. stressées au 90<sup>ème</sup> jour du semis à l'eau de mer, diluée à 50% ou non, additionnée de proline exogène à 25 et 50 mM. Après une semaine de stress, la proline libre analysée dans les feuilles, les tiges et les racines varie selon l'organe, le traitement salin et la position des feuilles sur la plante. En présence d'eau de mer, diluée à 50% ou non, la proline libre s'accumule significativement dans les feuilles, augmentant avec la concentration en proline exogène du milieu. Sous le traitement eau de mer diluée à 50%, additionnée de 50 mM de proline exogène, cet acide aminé devient plus abondant dans tous les organes de la plante. Par contre, l'arrosage à l'eau de mer non diluée enrichie en proline exogène à 50 mM provoque un ralentissement de l'accumulation de la proline dans les tiges et les racines. Outre, les résultats montrent que cette accumulation évolue des feuilles situées en position basale de la plante vers celles de la partie apicale quelque soit le traitement.

**Summary.** – Proline, as a marker of resistance to the abiotic constraints, is analysed in the young organs of *Atriplex halimus* L. plants stressed at 90<sup>th</sup> days from sowing with salinity seawater, diluted at 50% or no, enriched with 25 and 50 mM of exogenous proline. At one week of stress, results indicate that the accumulation of free proline vary according to the organ, the salt treatment and the position of leaves in the plant. In fact, when plants are watered with seawater diluted at 50% or no, free proline accumulates significantly in the leaves increasing with the concentration of exogenous proline. Under seawater treatment diluted at 50% added with 50 mM of exogenous proline, free proline becomes more important in all organs of plant. On the other hand, the watering with the seawater not diluted enriched with 50 mM of exogenous proline induces a decreasing of free proline accumulation in the stems and the roots. Moreover, results show that free proline accumulates from the leaves situated down the plants towards those up them whatsoever the treatment.

**Key boards:** free proline - exogenous proline - resistance- stress - sea water salinity -young plants – halophyte - *Atriplex halimus* L.

## **INTRODUCTION**

Dans les régions arides et semi-arides, la salinité des sols est une contrainte pour le développement des plantes (Lauchli et Eptein,1990; Higazy *et al.*,1995) et une menace pour l'équilibre alimentaire (Kinet *et al.*,1998).Les données actuelles se résument dans le bassin méditerranéen à 16 millions d'hectares de sols salés dont 3.2 millions en Algérie (Hamdy, 1999). Dans ces sols, certaines espèces sont menacées de disparaître (Chamard, 1993), d'autres manifestent des mécanismes d'adaptation (Batanouny,1993) exprimés par des modifications du métabolisme cellulaire (Hare et Cress,1997). En effet, dans les milieux salés, les plantes ajustent osmotiquement (Goldhirs *et al.*,1990) leur contenu cellulaire en synthétisant des acides aminés comme la proline (Ashraf et McNeilly, 2004). L'accumulation de la proline est une des

stratégies adaptatives déclenchées par la plante face aux contraintes de l'environnement (Belkhouja et Benkhablia, 2000). Chez les halophytes, la proline est un marqueur intéressant pour évaluer leur résistance au stress salin (Heyser *et al.*, 1989). Ces plantes possèdent en effet des capacités pour maintenir un potentiel hydrique interne bas sous la contrainte saline du milieu (Pujol *et al.*, 2001) créant une pression de turgescence suffisante (Rontein *et al.*, 2002) pour leur croissance sans affecter leur métabolisme (Quian *et al.*, 2001).

Le déficit en eau important enregistré depuis longtemps et la progression de la salinité dans les régions arides exigent des stratégies écophysiologicalues pour sauvegarder et réhabiliter ces sols. L'introduction et le développement des halophytes sont une voie possible; d'ailleurs, des progrès énormes sont réalisés pour évaluer leurs potentialités (Squires et Ayoub, 1994; ElShaer et Kandil, 1998) et l'usage de l'eau hautement salés comme l'eau de mer pour l'irrigation de nombreuses espèces végétales (Harrouni, 1998; Azzi et Khan, 2000; Velarde *et al.*, 2003).

Nous proposons une analyse du comportement métabolique d'une halophyte, *Atriplex halimus* L., conduite sous irrigation à l'eau de mer. Cette espèce est retenue pour ses divers intérêts notamment dans la désalinisation (Le Houerou, 1992) et la fixation des sols (Benrebiha, 1987) et sa tolérance à la salinité (Hamdy *et al.*, 1999).

La réaction des plantes de cette espèce stressées à l'eau de mer enrichie ou non à la proline exogène est examinée d'abord à travers la cinétique d'accumulation de la proline libre dans les différents organes puis dans les feuilles selon leur position sur la plante.

## MATERIEL ET METHODES

Les semences d'*Atriplex halimus* L., récoltées de la station d'El Mesrane dans la steppe algérienne, sont décortiquées, désinfectées à l'hypochlorite de sodium à 0.5% durant quelques minutes et rincées à l'eau distillée. Elles sont semées en alvéoles remplies de terreau jusqu'au stade plantule dans une serre. Ensuite, les plantules sont repiquées dans des pots, à fond tapissé d'une couche de graviers pour assurer le drainage, remplis d'un mélange sable terreau (2V/V). Un arrosage tous les trois jours est opéré à la solution nutritive de Hoagland (1938) à 30% de la capacité de rétention du substrat. Au 90<sup>ème</sup> jour, les plantes sont stressées à l'eau de mer diluée à 50% à l'eau distillée ou non (100% d'eau de mer) à laquelle est ajoutée de la proline exogène à 25 mM et 50 mM. Les plantes témoins reçoivent de la solution nutritive de Hoagland à 60% de la capacité de rétention du substrat.

A une semaine du stress, les plantes sont prélevées, les feuilles, tiges et racines séparées, et étuvées durant 24 heures à 80°C. Ensuite, les échantillons secs sont pesés et remis dans des piluliers fermés hermétiquement. La proline est extraite selon la méthode de l'A.O.A.C. (1955) modifiée par Nguyen et Paquin (1971). Le dosage est réalisé selon la méthode de Bergman et Loxley (1970). Les teneurs sont exprimées en  $\mu\text{M}$  de proline. 100  $\text{mg}^{-1}$  de PS après lecture de la D.O à 515 nm sur un spectrophotomètre de type Turner. Les résultats obtenus sont affectés d'une analyse de la variance faisant appel au test de Student à  $P = 5\%$ .

## RESULTATS

### 1- Teneurs en proline libre des organes de la plante

#### a- sous stress à l'eau de mer diluée à 50 % et enrichie en proline exogène

La figure 1 montre que la teneur en proline libre augmente avec la salinité et la concentration en proline exogène du milieu. En effet, chez les plantes arrosées à la solution nutritive, la proline varie faiblement dans tous les organes. Dès que les plantes sont stressées à l'eau de mer diluée à 50% additionnée de 25 mM de proline exogène, cet acide aminé augmente

significativement dans les feuilles; sa teneur représente deux et demi à trois fois plus celles des tiges et des racines (0.9 contre 0.35 et 0.29  $\mu\text{M}$  de proline.  $100\text{ mg}^{-1}$  PS).

Dans le milieu salé enrichi à 50 mM de proline exogène, la proline libre s'accumule sensiblement dans les feuilles; elle augmente environ trois fois plus dans les tiges et les racines comparées au traitement précédent (1.17 contre 0.35  $\mu\text{M}$  de proline. $100\text{ mg}^{-1}$  PS pour les tiges et 0.91 contre 0.29  $\mu\text{M}$  de proline. $100\text{ mg}^{-1}$  PS pour les racines). Il faut noter que la teneur en proline des feuilles est identique à celle des tiges (1.17 pour 1.17  $\mu\text{M}$  de proline. $100\text{ mg}^{-1}$  PS) alors qu'elle est significativement élevée par rapport aux racines (1.17 contre 0.91  $\mu\text{M}$  de proline. $100\text{ mg}^{-1}$  PS).

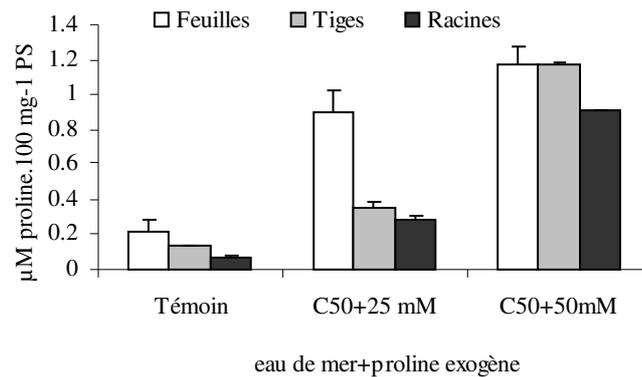


Fig.1-Teneurs en proline libre ( $\mu\text{M}$ . $100\text{ mg}^{-1}$  PS) des feuilles,tiges et racines des plantes d'*Atriplex halimus* L. âgées de 90 jours et stressées à l'eau de mer diluée à 50% enrichie à 25 (C50+25 mM) et 50 mM (C50+ 50 mM) de proline exogène.

Fig.1- Free proline amount ( $\mu\text{M}$ . $100\text{ mg}^{-1}$  DW) of the leaves ,stems and roots of *Atriplex halimus* L. plants aged 90 days, stressed by seawater diluted at 50%, added with 25 and 50 mM of exogenous proline.

### b - sous stress à l'eau de mer non diluée enrichie en proline exogène

Les plantes stressées à l'eau de mer non diluée accumulent de la proline dans les feuilles; les teneurs foliaires sous le traitement à l'eau de mer enrichie à 25 et 50 mM de proline exogène quadruplent et quintuplent par rapport aux feuilles des plantes témoins (0.88 et 1.14 contre 0.22  $\mu\text{M}$  proline. $100\text{ mg}^{-1}$  PS ) (fig.2). Il faut noter que dans le milieu additionné à 25 mM de proline exogène, la proline libre augmente des racines vers les feuilles; dans la partie

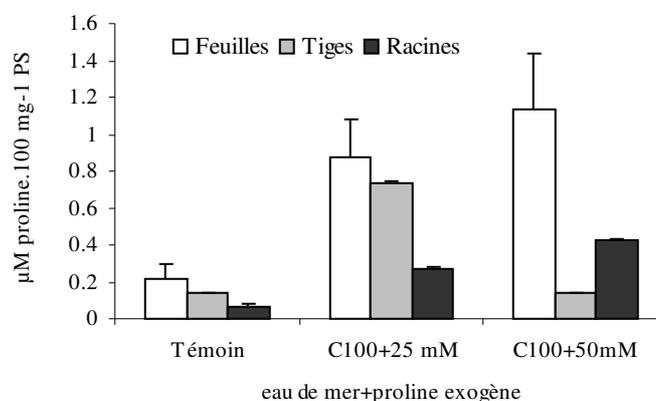


Fig.2- Teneurs en proline libre ( $\mu\text{M}$ . $100\text{ mg}^{-1}$  PS) des feuilles,tiges et racines des plantes

d'*Atriplex halimus* L. âgées de 90 jours et stressées à l'eau de mer non diluée (100%), enrichie à 25 mM (C100+25 mM) et 50 mM (C100+ 50 mM) de proline exogène.

Fig.2- Free proline amount ( $\mu\text{M} \cdot 100 \text{ mg}^{-1} \text{ DW}$ ) of the leaves, stems and roots of *Atriplex halimus* L. plants aged 90 days, stressed by seawater without dilution, added with 25 and 50 mM of exogenous proline.

aérienne (feuilles et tiges), les teneurs s'avoisinent (0.88 pour 0.74  $\mu\text{M} \cdot 100 \text{ mg}^{-1} \text{ PS}$ ) alors qu'elles sont significativement élevées comparées aux racines (0.88 contre 0.27  $\mu\text{M} \cdot 100 \text{ mg}^{-1} \text{ PS}$ ).

En revanche, le stress à l'eau de mer enrichie à 50 mM de proline exogène provoque chez les plantes une accumulation de la proline libre hautement significative dans les feuilles où le taux d'accumulation atteint environ 814% et 271% par rapport aux tiges aux racines.

## 2 - Teneurs en proline libre analysée dans les feuilles selon leur position sur la plante a – sous stress à 50% d'eau de mer enrichie en proline exogène

La cinétique d'accumulation de la proline dans les feuilles selon leur position sur la plante varie avec la concentration du milieu (fig.3). En effet, la proline augmente significativement dans les feuilles apicales des plantes arrosées à l'eau de mer diluée à 50% et additionnée de 50 mM de proline exogène comparativement au traitement à 25 mM de proline exogène (1.29 contre 0.87  $\mu\text{M} \cdot 100 \text{ mg}^{-1} \text{ PS}$ ). Par contre, le traitement salin enrichi à 50 mM de proline exogène ne produit aucun effet significatif dans les feuilles médianes et basales, même si une sensible accumulation de la proline libre est enregistrée respectivement pour les deux types de feuilles du milieu à 25 mM à celui de 50 mM de proline exogène.

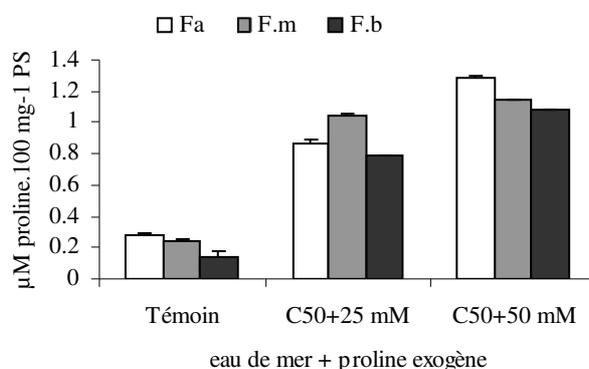


Fig.3 -Teneur en proline libre ( $\mu\text{M} \cdot 100 \text{ mg}^{-1} \text{ PS}$ ) des feuilles de plantes *d'Atriplex halimus* L. âgées de 90 jours et stressées à l'eau de mer diluée à 50% enrichie à 25 et 50 mM de proline exogène, selon leur position sur la plante.

**Fa**= feuilles en position apicales **Fm** = feuilles médianes **Fb** = feuilles basales

Fig.3- Free proline amount ( $\mu\text{M} \cdot 100 \text{ mg}^{-1} \text{ DW}$ ) of the *Atriplex halimus* L. plants leaves aged 90 days, stressed by seawater diluted at 50% added with 25 and 50 mM of exogenous proline, according to their position in the plant.

En outre, il faut remarquer que la proline s'accumule significativement dans les feuilles en position médianes de la tige par rapport à l'ensemble des feuilles (1.05 contre 0.87 et 0.79  $\mu\text{M} \cdot 100 \text{ mg}^{-1} \text{ PS}$ ) pour les plantes arrosées à l'eau de mer diluée à 50% additionnée de 25 mM

de proline exogène. Dès que les plantes reçoivent de la solution saline à 50 mM de proline exogène, l'acide aminé progresse des feuilles basales vers celles apicales où la teneur reste significativement élevée (1.29 contre 1.14 et 1.08  $\mu\text{M}\cdot 100\text{ mg}^{-1}\text{ PS}$ ).

#### a – sous stress à l'eau de mer non diluée enrichie en proline exogène

La figure 4 montre que la proline évolue en augmentant des feuilles basales vers les feuilles du haut de la plante quelle que soit la concentration en proline exogène de la solution saline. Néanmoins, la teneur en cet acide aminé varie d'un milieu à l'autre. En effet le traitement salin additionné de proline à 25 mM provoque une accumulation significative de l'acide aminé dans les feuilles apicales comparée aux feuilles médianes et basales (1.1 contre 0.85 et 0.68  $\mu\text{M}\cdot 100\text{ mg}^{-1}\text{ PS}$ ). L'addition de proline à 50 mM dans le milieu salin provoque une augmentation du composé aminé libre deux fois plus importantes dans les feuilles apicales que dans les feuilles basales (1.4 contre 0.76  $\mu\text{M}\cdot 100\text{ mg}^{-1}\text{ PS}$ ) ; tandis qu'aucune différence de teneurs n'apparaît avec les feuilles médianes (1.4 pour 1.26  $\mu\text{M}\cdot 100\text{ mg}^{-1}\text{ PS}$ ).

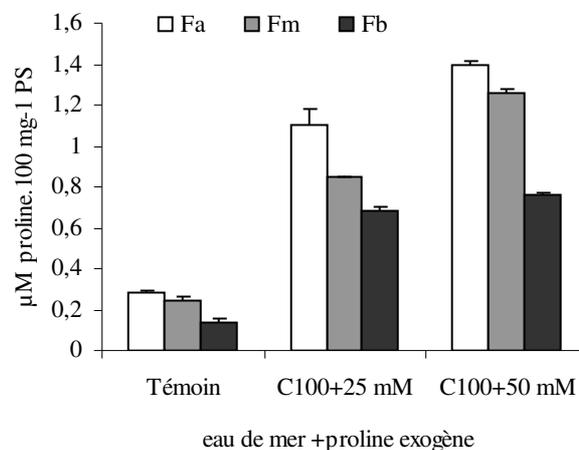


Fig.4 -Teneur en proline libre ( $\mu\text{M}\cdot 100\text{ mg}^{-1}\text{ PS}$ ) des feuilles de plantes d'*Atriplex halimus* L. âgées de 90 jours et stressées à l'eau de mer non diluée (100%) enrichie à 25 et 50 mM de proline exogène, selon leur position sur la plante.

Fig.4- Free proline amount ( $\mu\text{M}\cdot 100\text{ mg}^{-1}\text{ DW}$ ) of the *Atriplex halimus* L. plants leaves aged 90 days, stressed by seawater added with 25 and 50 mM of exogenous proline, according to their position in the plant.

## DISCUSSION

Des résultats que nous venons de décrire, il convient de retenir les points essentiels:

- les plantes expriment une aptitude à synthétiser de la proline quel que soit le traitement à la salinité; sa teneur varie selon l'organe et la salinité du milieu,
- l'accumulation de la proline libre varie dans le sens racines tiges feuilles,
- la teneur en proline libre augmente avec la concentration du milieu,
- l'apport de proline à 25 mM dans l'eau de mer diluée de moitié provoque une accumulation de la proline libre dans les feuilles; dès que la concentration en proline exogène double (50 mM) dans le milieu salin, cet acide aminé se distribue fortement dans tous les organes de la plante,
- sous le traitement à l'eau de mer non diluée en présence de 25 mM de proline exogène, la proline libre s'accumule dans les tiges et les feuilles; lorsque le milieu salin est enrichi à 50 mM

de proline exogène, cet acide aminé s'accumule significativement dans les feuilles alors qu'un ralentissement de cette accumulation se manifeste dans les tiges et les racines,

- par rapport à la position des feuilles sur la plante, la proline libre augmente des feuilles basales vers celles apicales quel que soit le traitement,

- lorsque le milieu salin à 50‰ de dilution est enrichi en proline exogène à 50 mM, la proline libre s'accumule plus dans toutes les feuilles de la plante; pour la même concentration en proline exogène dans l'eau de mer non diluée, le composé aminé libre augmente dans les feuilles médianes et apicales.

Le comportement des plantes de *Atriplex halimus* L. stressées à l'eau de mer additionnée de proline exogène montre une variabilité dans l'accumulation de la proline libre dans les différents organes. De nombreux travaux rapportent que la proline s'accumule dans la plante lorsqu'elle se trouve en conditions défavorables (Sivaramakrishnan et al.,1988) ce qui traduit le caractère de la résistance aux stress (Greenway et Munns,1980). Chez les plantes sensibles, la présence de cet acide aminé est par contre amoindrie (Chen et al.,1995). Selon Feitosa et al.(2001), Meloni et al.(2004), le rôle attribué à la proline dans la réponse des plantes aux stress reste parfois controversé ; pour Quien et al.(2001), son accumulation contribue à l'acquisition de cette résistance grâce au maintien de la turgescence cellulaire chez de nombreuses espèces, créé par l'ajustement osmotique dont la proline est responsable. Le mécanisme de l'accumulation de la proline permet de penser à la présence de sites de résistance de la plante à la contrainte. En effet, le transport de la proline de la source (lieu de synthèse) au site de la résistance est admis depuis longtemps comme un paramètre important dans l'acquisition de cette résistance (Bellinger et al.,1989). Paquin (1986) signale que la proline serait synthétisée dans les feuilles et transportée vers ces sites; d'autres rapportent que l'acide aminé migre chez diverses plantes glycophytes vers les feuilles et s'y localise chez le sorgho (Weimberg,1987), le coton (Boutelier,1986), la fève (Belkhdja et Benkabilia.,2000), le trèfle d'Alexandrie (Benkhaled et al.,2003). Nos résultats montrent que *Atriplex halimus* L. conduit sous salinité à l'eau de mer enrichie en proline exogène quelle que soit la concentration du milieu accumule la proline dans les feuilles notamment dans celles situées en position apicales de la plante. Cette compartimentation foliaire du composé aminé présume que la résistance de cette halophyte à ces niveaux de salinité de l'eau de mer est acquise dans ces organes. Ces résultats sont en accord avec de nombreux travaux sur d'autres halophytes vivant dans des milieux salins (Cress et Johnson,1987; Rhodes et Hanson,1993). En revanche, pour d'autres espèces, la proline se localiserait dans les racines chez le Retam (Ighil Hariz, 1990) et le maïs (Rodriguez et al.,1997). Nos résultats montrent aussi que l'accumulation de la proline libre a ralenti fortement dans les tiges et les racines des plantes nourries à l'eau de mer non diluée additionnée de proline exogène à 50 mM alors que le phénomène inverse se produit sous le même milieu salin enrichi à 25 mM de proline exogène. Le ralentissement de l'accumulation de la proline libre dans ces organes présume une inhibition de son précurseur (Rhodes et Handa,1989) ou une rapide activité de la proline déshydrogénase, impliquée dans la dégradation de l'acide aminé (Peng et Verma,1996) vraisemblablement liée à l'apport de la proline à ce seuil de concentration (50 mM) créant un effet antagoniste à la salinité comme le suggèrent Heyser et al.(1989a). Cette interaction proline exogène salinité fera l'objet de notre prochaine recherche.

## BIBLIOGRAPHIE

- Ashraf M. & T.McNeilly., 2004.-Salinity tolerance in Brassica oil seeds. *Reviews in Plant Sciences*,**23**,2,157-174.
- Aziz I & A.Khan., 2000.-Physiological adaptations to seawater concentration in *Avicennia marina* from Indus delta,Pakistan. *Pakistan J.of Botany*,**32**, 151-70.

- Batanouny KH.,1993.-Eco physiology of halophytes and their traditional use in the Arab world. *Advanced Course on halophyte utilisation in Agriculture*,12 Sept.,Agadir, Marocco.
- Belkhdja M. & M.Benkablia.,2000.- Proline response of faba bean (*Vicia faba* L.)under salt stress. *Egypt. J.of Agric.Res.*,**78**,(1),p.185-195.
- Bellinger Y.,A.Bensaoud & F.Larher.,1989.-Physiology breeding of winter cereals for stress environments *Colloque,N°3*, Montpellier,France.
- Benkhaled L., A.M Gomez , M.Honrubia & A.Oihabi.,2003.- Effet du stress salin en milieu hydroponique sur le trèfle inoculé par le Rhizobium. *Agronomie*,**23**, p.553-560.
- Benrebiha FZ.,1987-Contribution à l'étude de la germination de quelques espèces d'atriplex locales et introduites. *Thèse de Magister*, Univ. Annaba,119 p.
- Boutelier E.,1986.- Effet du NaCl sur la physiologie du cotonnier (*Gossypium hirsutum* L.). Son rôle dans l'acquisition de la résistance à la sécheresse.Thèse de *Doc.Univ.* Paris 6,142 p
- Chamard P.,1993.- Environnement et développement. Références particulières aux états sahéliens membres du CCILS.*Rev.Sécheresse*,**4**,p.1723-28.
- Chen H., D.Kuang & J.Wang.,1995.- Studies on selection and characterisation of a stress tolerant sugarcane cell line. *Chin.J.Biotechnol.*,**11**,2,p.93-99.
- Cress WA. & GV. Johnson.,1987.- The effect of three osmotic agents on free proline and amino acid pools in *Atriplex canescens* and *Hilaria jamesii*. *Can.J.of Botany*, **65**,(4),799-81
- El Shaer HM & HM. Kandil.,1998.- Potential of atriplex species as fodder shrubs under the arid conditions of Egypt. Sustainable halophyte utilization in the Mediterranean and subtropical dry regions. *Activity reports EUConcerted Action IC18CT 96-0055*, 63 p.
- Feitosa LC., J.Cambraia, MA.OlivoCano & HA. Ruiz.,2001.- Plant growth and solute accumulation and distribution in two sorghum genotypes under NaCl stress. *Braz.J.Plant. Physiol* , **13**,270-284.
- Goldhirs AG, B. Hankamer & SH.Lirs.,1990.- Hydroxy-proline and proline content and cell wall of Sunflower,Peanut and Cotton under salt stress.*Plant Sci.*,**69**,p.27-32.
- Greenway H. & R. Munns.,1988.- Mechanims of salt tolerance in non halophytes .*Annual Review of Plant Phyiology*,**25**,149-190.
- Hamdy A.,1999.- Saline irrigation assessment for a sustainable use. Saline irrigation. Halophyte production and utilization; *Project N°IC 18 CT 96-0055*,p.152-26.
- Hamdy A, H.Lieth, M.Todorovi & M.Maschenko.,1999.- Halophyte uses in differents climates 2. Halophyte crop development: Pilot studies.Pogress in Biometeorology. *Leiden Backhuys Publishers* Vol.**14**,144 p..
- Hare P.D & W.A Cress,1997-Metabolic implications of stress induced proline accumulation in plants. *Plant Growth Regulation*,**21**,79-102.
- Harrouni C.,1998.- Response of some halophytes to saline irrigation. Sustainable halophyte utilization in the Mediterranean and subtropical dry regions. *Activity reports EU Concerted Action IC18CT 96-0055*, 63 p.
- Heyser JW, D. DeBruin, M.Kincaid, R.Y Johnson, M.M Rodriguez & N.J Robinson.,1989.- Characterisation of L-[5-<sup>13</sup>C] -proline biosynthesis in halophytic and no halophytic suspension cultures by 13 CNMR. *J.Plant Physiol.*,**135**,459-446.
- Heyser JW, D. DeBruin, M.Kincaid, R.Y Johnson, M.M Rodriguez & N.J Robinson.,1989a.- Inhibition of NaCl-induced proline biosynthesis by exogenous proline halophytic *Distichli spicata* suspension cultures. *J.Ep.Bot.*,**40**:225-232.
- Higazy MA., MM. Shehata & AI. Allam.,1995.- Free proline relation to salinity tolerance of three sugar beet varieties. *Egypt.J.Agric.R.*,**73**,(1),p.175-189.
- Ighil Hariz Z.,1990.- Etude du comportement physiologique, biochimique et structurale du

- Retama retam* vis à vis du NaCl. Thèse de Magister, Université d'Oran Algérie, 120 p.
- Kinet M., F.Z Benrebiha, S.Bouزيد, S.Lailcahar & P.Dupuit.,1998.-Reseau Atriplex. Atelier biotechnologies et écologie pour une sécurité alimentaire accrue en régions arides et semi arides. *Cahiers Agricultures*, Vol.7,N°6,,505-509.
- Lauchli L. & E.Epstein.,1990.- Plant response to saline conditions. In Tanji KK (ed), Agricultural Salinity Assessment and Management,pp.113-137.A
- LeHouerou H.N.,1992-The role of salt bushes (*Atriplex* spp.) in arid land rehabilitation in the mediterranean basin. Review of *Agroforestry Systems*,**18**,107-148.
- Meloni DA., MR. Gulotta , CA.Martinez and MA. Oliva.,2004.- The effects of salt stress on growth, nitrate reduction and proline and glycinebetaine accumulation in *Prosopis alba*. *Braz.J.Plant.Physiol.*,Vol **16**, N°1,8p.
- Nguyen ST. & R.Paquin.,1971.- Méthodes d'extraction et de purification des acides aminés libre et des protéines des tissus végétaux. *J.Chromatography*,**61**,p.349-51.
- Paquin R.,1986.- Effet de l'humidité du sol sur la teneur en proline libre et des sucres totaux de la luzerne enduree au froid et à la sécheresse. *Can.J.Plant Science*,**66**,p.95-101.
- Peng Z.,Q.Lu and D.P Verma.,1996-Reciprocal regulation of  $\Delta 1$ -pyrroline-5-carboxylate synthetase and proline dehydrogenase genes control proline levels during and after osmotic stress in plants. *Mol.Gen.Genet.*,**253**,334-341.
- Pujol, J.A., J.F Calvo and L. Ramírez-Díaz .,2001.- Seed germination, growth and osmotic adjustment in response to nacl in a rare succulent halophyte from south eastern spain. *Journal: Wetlands*,Vol.: **21**, N° 2, pages: 256-264
- Qian YL., S.J. Wilhelm & K.B. Marcum., 2001.- Comparative Responses of Two Kentucky Bluegrass Cultivars to Salinity Stress. **Crop Science**, *41*,p.1895-1900.
- Rhodes D. & .Handa.,1989.- Amino acid metabolism in relation to osmotic adjustment in plant».Environmental stress in Plant: Biochemical and Physiological Mechanism".,NATO AI series,Vol.G19 (JH Cherry ed) pringer,Berlin,p.41-62.
- Rhodes D. & A.D Hanson.,1993.- Quaternary ammonium and tertiary sulfonium compounds in higher plants. Ann.Rev.Plant Physiol. *Plant Mol.Biol.*,**44**, p.357-384.
- Rodriguez HG, RA. Richards, WR.Jordan and MC.Drew.,1997.- Growth, water relations and accumulation of organic and inorganic solutes in roots of maize seedlings during salt stress. *Plant Physiology*,**25**,881-93.
- Rontein D,G.Bass and AD.Hanson.,2002.- Metabolic engineering of osmoprotectants accumulation in plants. *Metab.Engineer*,**4**,p.357-384.
- Sivaramakrishnan S., V.Pattel, G.Flower and LG. Paleg.,1988.- Proline accumulation and nitrate reductase activity in contrasting sorghum lines during mid season drought stress. *Plant Physiol.*,**74**,p.418-426.
- Squires VR and A. Ayoub.,1994.-Halophytes as a resource for livestock and for rehabilitation of degraded land. Kluwer Academic Publishers,*Dordrecht*,Vol **1**,TVS 32,315 p.
- Velarde M.,D.Felker and P.Degano.,2003.- Evaluation of Argentine and Peruvian *Prosopis* germplasm for growth at seaware salinities. *J.Arid Environ*,**55**:515-531.
- Weimberg R.,1987.- solutes adjustments in leave of two species of wheat at two different stages of growth in response of salinity. *Physiol.Plant*,**70**,p.381-388.