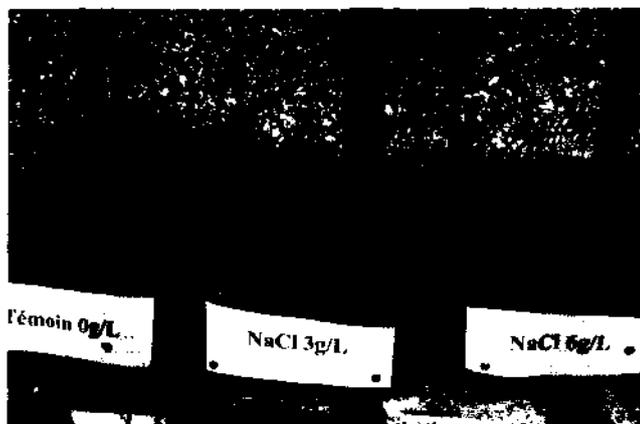


13186

REPUBLIQUE DU SENEGAL
UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR



FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES
DEPARTEMENT DE CHIMIE



MEMOIRE EN VUE

De l'obtention du

DIPLOME D'ETUDES APPROFONDIES (DEA) EN CHIMIE ET BIOCHIMIE DES
PRODUITS NATURELS

Thème :

Etude des réponses physiologique et métabolique de dix variétés de riz (*Oryza sativa* L.) aux premiers stades de développement *vis-à-vis* du stress salin.

Présenté par :

Soukeina Mint El Moukhtar
Maîtrise en biologie animale

Soutenu le 24 / 17 / 2010

Devant le Jury composé de :

M. Abdoulaye SAMB	Président
M. Emmanuel TINE	Examineur
Mme DOUP	Examineur
M. Ali O. BOUKHARY	Directeur de Mémoire

13186

DEDICACES

Je dédie ce modeste travail :

- *A mon père Emed o. elymbtaleb et ma chère mère Nasserha ALLAH Mint Ahmed Vall qu'ils m'ont éclairé le chemin de la vie par leur grand soutien et leur encouragement, par leur dévouement exemplaire et l'énorme sacrifice qu'elle m'a consenti durant mes études et qui ont toujours aimé me voir réussir.*

- *A ma sœur et à mes frères ainsi qu'à toute ma famille*

- *Et à tous mes proches.*

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé au laboratoire de Biotechnologie à la Faculté des Sciences et Techniques de l'Université de Nouakchott.

C'est avec un grand plaisir que j'exprime mes remerciements les plus vifs et les plus sincères à Monsieur Ali OULD MOHAMED SALEM O. BOUKHARY, Maître de Conférences à la Faculté des Sciences et Techniques de l'Université de Nouakchott et responsable du Laboratoire de Biotechnologies, qui m'a fait un grand honneur de m'accepter dans son Laboratoire, et me faire profiter de son encadrement. Par ses qualités humaines indéniables, la rigueur de son esprit scientifique et son sens aigu de la critique, il a contribué pour beaucoup à ma formation scientifique et à l'aboutissement de ce travail.

Je tiens également à remercier Monsieur le Professeur Taleb Khyar O. Djeh responsable de l'équipe d'écophysiologie au sein du laboratoire qui m'a assisté pendant toutes mes manipulations ainsi que pendant la rédaction du manuscrit.

Je tiens également à remercier vivement Monsieur le Professeur Abdoulaye SAMB responsable du DEA de Chimie et Biochimie des produits naturels qui a accepté de co-encadrer ce travail. Qu'il trouve ici le témoignage de ma profonde gratitude, pour les judicieux conseils et l'aide toujours renouvelée qu'il m'a prodigués durant l'élaboration de ce mémoire.

C'est un grand honneur pour moi que Messieurs les Professeurs Emmanuel TINE , Mme DIOUP aient accepté de siéger dans le jury de ce mémoire.

Je remercie toute la direction du Centre National de Recherche Agronomique et de développement Agricole (CNRADA) pour m'avoir fourni les semences de riz objet de cette étude.

Je tiens aussi à remercier le professeur Ahmed O. Ismail O. BOUMEDIANA pour son soutien. Enfin, j'adresse mes remerciements à tous mes collègues membres du Laboratoire de Biotechnologie : MINT Lekwery, MINT Mohamed Lemine, Mohamed vall et Mohamed salem pour leur soutien et leur sympathie.

Je remercie toutes les personnes qui m'ont aidé de près ou de loin.

TABLE DE MATIERES

Introduction.....	1
--------------------------	----------

Chapitre I : Synthèse bibliographique

1. le Riz.....	3
1.1. Origine botanique du riz.....	3
1.2. Description botanique sommaire du riz.....	4
1.3. Importance économique et nutritive du riz	5
1.3.1. Importance économique.....	5
1.3.2. Importance nutritive.....	5
2. La Salinité.....	6
2.1. Définition.....	6
2.2. Effets de la salinité	6
2.3. Effets sur la croissance chez les végétaux	6
2.4. Effet de la salinité sur la germination.....	7
2.5. Effet de la salinité sur les pigments chlorophylliens.....	8
2.6. Effets de la salinité sur la teneur en glucides.....	8
2.7. Effet de la salinité sur la teneur en protéines.....	9
2.8. Effet de la salinité sur la teneur en proline.....	9

Chapitre II – Matériel et Méthodes

1. Matériel végétal :.....	11
2. Substrat de culture	11
3. Solutions d'irrigation	12
4. Effet de la salinité sur la germination	12
5. Réponse biochimique et physiologique de jeunes plants de riz vis-à-vis du stress salin.....	13
5.1. Conduite des cultures.....	13
5.2. Les paramètres étudiés	14
5.2.1. Teneur en pigments chlorophylliens	14
5.2.2. Teneur en protéines foliaires.....	14
5.2.3. Teneur en proline	15

5.2.4. Extraction et dosage des sucres totaux foliaires	15
5.2.5. Electrophorèse des protéines foliaires	16
5.2.5.1. Extraction des protéines foliaires.....	16

Chapitre III – Résultats et discussio

1. Pourcentage de germination	17
2. Teneur en pigments chlorophylliens	19
4. Teneur en protéines	21
5. Teneur en proline.....	22
6. Teneur en glucides.....	24
7. Electrophorèse des protéines foliaires	25
Conclusion.....	27
References bibliographiques.....	28

Annexes

.Introduction

Le riz (*Oryza sativa* L.) est la culture céréalière la plus importante dans le monde en développement et il constitue la denrée alimentaire de base de plus de la moitié de la population du globe (Juliano, 1994). En Asie et en Afrique, le riz constitue la principale source de calories pour les populations rurales et urbaines (Sasaki & Burr, 2000).

Les plants de riz sont exposés non seulement aux ravageurs et aux maladies qui ont évolué en même temps que lui durant son long passé de plante cultivée, mais également aux caprices des conditions climatiques et de sol.

En conséquence, le comportement des plantes se trouve en permanence sous l'effet de stress de type osmotique (Munns *et al.*, 2006), ionique (Vera-Estrella, 2005), hydrique (Trinchant *et al.*, 2004) et salin (Bartels & Sunkar, 2005).

Le stress salin est un problème majeur pour la croissance et le développement des plantes. Ce phénomène sans cesse accru dans le monde, peut constituer à long terme un danger pour la sécurité alimentaire mondiale.

La salinisation remarquée dans les écosystèmes arides et semi arides résulte généralement d'une forte évaporation d'eau à partir du sol (Munns *et al.*, 2006) et d'une irrégulière et insuffisante pluviométrie (Mezni *et al.* 2002). De plus, cette salinisation peut provenir d'une irrigation le plus souvent mal contrôlée (Bennaceur *et al.*, 2001). Les surfaces perdues à cause de la salinité des sols varient autour de 20 millions d'hectares dans le Monde (Cheverry, 1995).

En Mauritanie, la sécheresse des années 1970, en faisant périlcliter l'agriculture traditionnelle, a favorisé l'émergence d'une agriculture irriguée avec un accent particulier sur la riziculture dans les régions du Brakna, du Guidhimagha, du Gorgol et du Trarza (Samba, 2003). La production de riz est estimée à 70 000 tonnes de paddy, ce qui représente près du tiers de la consommation nationale de riz (Danecette, 1999)

Cependant, la dégradation des terres par l'engorgement et la salinisation présente un défi que la Mauritanie devra relever au plus tôt, du fait que la salinisation du sol conduit à la désertification de terres irriguées. En effet, après une ou deux années de culture, il est classique de constater que des parcelles sont abandonnées par les paysans en raison de la

présence d'efflorescences salines (Barbiero, 1999). Un exemple vivant parmi d'autres, a été signalé dans le rapport annuel de l'ADRAO (1999) citant que le barrage de « Foum Gleita » dans le Sud Mauritanien a été abandonné par les agriculteurs, dix ans après sa construction en raison des problèmes de salinité.

Il est possible de surmonter ces problèmes si l'on tient compte de deux stratégies complémentaires : appliquer des techniques culturales permettant de réduire la salinité des sols (Bennes, 2003) et sélectionner les variétés ou les espèces capables de minimiser les effets dépressifs de la salinité sur les rendements. La sélection du matériel végétal tolérant au sel est tributaire d'une connaissance approfondie des mécanismes physiologique, métabolique et génétique de tolérance à la salinité.

L'objectif de ce travail est d'explorer l'effet de la salinité sur le comportement de dix variétés de riz cultivées en Mauritanie sur la base de quelques paramètres physiologiques et métaboliques.

Notre travail sera donc réparti en trois chapitres :

Dans un premier chapitre, nous donnons une analyse bibliographique des connaissances acquises sur le riz, sa culture, son importance, ainsi que sur le problème de la salinité.

Le deuxième chapitre présente le matériel et les méthodes utilisés.

Dans un troisième chapitre, nous présenterons et discuterons les résultats obtenus.

Nous terminerons par une conclusion générale.

combinant les qualités des deux espèces sont diffusées sous le nom de « Nerica » (Anonymes, 2008).

1.2. Description botanique sommaire du riz

Le riz est une herbacée annuelle, graminée et autogame qui croit plus facilement sous les climats tropicaux, possédant un système racinaire abondant à la surface (Figure 1.)

Cette plante émet de nombreuses tiges à partir du sol et peut mesurer de 0,6 à 6 m. Ces dernières se terminent en une panicule ramifiée longue de 20 à 30 cm. Chaque panicule est composée de 50 à 300 fleurs monoïques ou "épillets", à partir desquels les grains se formeront. Le fruit obtenu est un "caryopse".

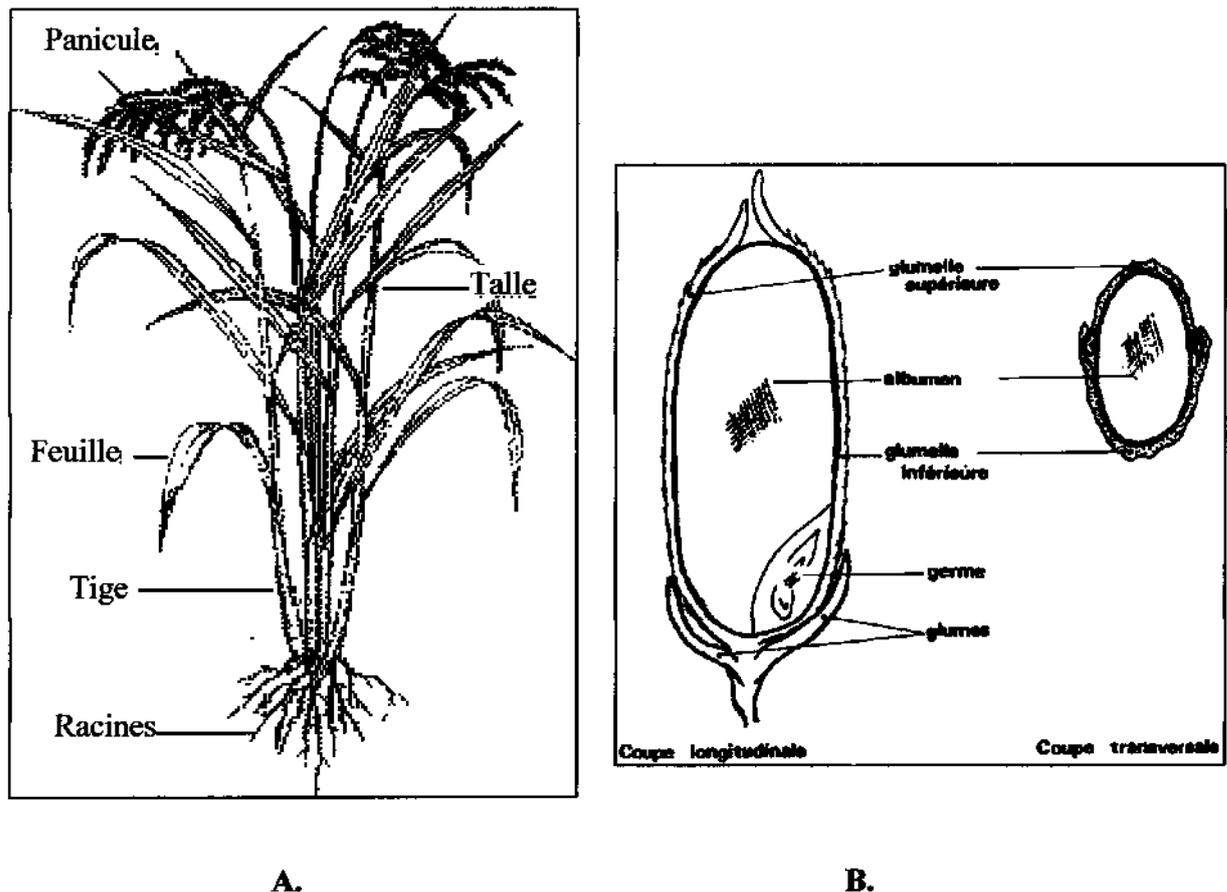


Figure 1. A. Plant de riz. B. coupes longitudinale et transversale dans un grain de riz.

1.3. Importance économique et nutritive du riz

1.3.1. Importance économique

Les rendements varient selon les conditions de culture de 1 à 10 tonnes/hectare en culture avec submersion et de 1 à 5 tonnes/hectare en riziculture pluviale. La production mondiale étant de 550 millions de tonnes de paddy, le rendement moyen est de l'ordre de 3.5 tonnes/hectare (Marchand, 1997). général

La plus grande partie du riz récolté est consommée localement. Les échanges commerciaux internationaux portent sur moins de 5% de la production. Les principaux pays exportateurs sont la Thaïlande et les Etats-Unis. Les pays importateurs sont situés surtout en Afrique subsaharienne et au Moyen-Orient.

1.3.2. Importance nutritive

Le riz constitue l'aliment de base pour plusieurs populations à travers le Monde. Il est cultivé aussi comme matière première pour la fabrication de l'amidon pharmaceutique et des vitamines.

La valeur alimentaire du riz en alimentation humaine est présentée au tableau 1

Tableau 1. Composition nutritionnelle du riz (en grammes pour 100 gr)

Composition	Paddy	Riz décortiqué
Eau	13	12
Glucides	73,1	75,5
Lipides	2,1	1,3
Protéines	8,2	10
Matières minérales	3,6	1,2
Vitamines :		
B ₁	0,3-0,5	0,04-0,09
B ₂	0,1	0,03
B ₆	0,3-0,6	0,2

Source : Vierling, 2003

La valeur énergétique varie peu entre le riz décortiqué et le riz blanchi. Elle se situe autour de 350- 360 calories pour 100g.

2. La salinité

2.1. Définition

La salinité peut être définie comme une accumulation excessive de sels dans les sols ou dans les eaux à un seuil pouvant avoir un impact sur les activités humaines et naturelles (plantes, animaux, écosystèmes aquatiques, approvisionnement en eau, agriculture, ...). On distingue deux types de salinité, une salinité primaire où l'augmentation de sels est uniquement due à des processus naturels et une salinité secondaire ou induite où les augmentations ont eu lieu en raison des changements des pratiques d'utilisation des terres par les activités humaines.

2.2. Effets de la salinité

Les sols salés couvrent de grandes superficies dans le Monde, leur distribution se superpose presque entièrement à celle des régions semi-arides et côtières. 400 à 900 millions d'hectares irrigables dans le Monde sont affectés par le problème de la salinité dont 230 millions. Dans les régions arides et semi-arides de la Méditerranée, la salinité est un problème majeur entraînant des pertes importantes dans l'agriculture irriguée (Chvery, 1995).

En Mauritanie comme en Afrique, de nombreux facteurs sont favorables à la salinisation des sols. Les eaux d'irrigation sont souvent de qualité médiocre, le climat est fortement évaporant, les irrigations ne sont pas contrôlées... etc.

2.3. Effets sur la croissance chez les végétaux

Plusieurs auteurs ont rapporté que la salinité excessive affecte la rhizosphère et limite la répartition des plantes dans leurs habitats naturels. Par ailleurs, le fort éclaircissement et les rares pluies dans les régions semi-arides et arides accentuent la salinisation des périmètres irrigués et les rendent impropres aux cultures. De ce fait, la salinité influence plusieurs aspects de la croissance y compris la floraison, la pollinisation, le développement du fruit, la quantité et la qualité des rendements.

La réponse à la salinité se manifeste généralement chez les glycophytes par un effet dépressif sur la croissance et le développement. Bounaqa (1998) a rapporté que la réduction de la croissance des organes aériens sous l'effet du sel se traduit par une réduction de la surface foliaire causée par un ralentissement des divisions cellulaires et une diminution de l'extension foliaire. Dans le même ordre d'idées, Dali et al. (1996) ont également montré que la présence de sels dans la solution nutritive affecte considérablement le niveau foliaire et la biomasse; ce qui se manifeste par une réduction de la surface foliaire, une chute des feuilles et une diminution des poids frais et sec des feuilles. Ben Khaled et al. (2003) chez des plantules de trèfle (*Trifolium alexandrinum* L.) ont mentionné que la croissance n'a été affectée qu'à partir de 4 g/L de NaCl, alors que la croissance pondérale de la partie aérienne a été réduite de 20% à 4 g/L et de 44% à 6 g/L.

Bouaouina et al. (2000) en travaillant sur le blé dur (*Triticum turgidum* L.) ont constaté que le NaCl d'un côté diminue la croissance de la plante entière, retarde l'émergence des nouvelles feuilles et limite l'accumulation de K^+ et Ca^{2+} dans ces organes et que, d'un autre côté, le Na^+ suit un gradient décroissant des feuilles âgées vers les feuilles jeunes.

2.4. Effet sur la germination

Le stress salin peut avoir un impact sur la mobilisation des éléments minéraux de la graine vers les jeunes plantules mais ces effets n'ont pas de conséquence à court terme sur les processus de croissance (Bajji et al ; 2002).

Cependant, Bouzouba et al. (2003) ont signalé que chez l'arganier (*Argania spinosa*), la germination est affectée à partir de 100mM de NaCl. Alors que, Rejilli et al. (2006) ont remarqué que la présence de sel dans le milieu de culture réduit différemment la capacité germinative chez deux populations de lotier (*Lotus creticus* L.).

Chez les céréales, la résistance ou même la tolérance à l'aridité et à la présence de sels, tel le chlorure de sodium, sont des qualités largement recherchées, afin d'élargir la culture aux régions difficiles. Chez ce groupe de plantes, l'effet dépressif des sels se manifeste à partir d'un seuil critique de concentration caractéristique de l'espèce ou de la variété (Kingsbury et al. ; 1984). M'Barek et al. (2001), ont signalé que le sel a un effet

dépressif sur le taux de germination, la croissance biologique chez plusieurs variétés de blé.

Par ailleurs, il est conseillé après avoir initié la germination des graines du riz d'exonder les parcelles tout en faisant très attention à la salinité car ce stade de la culture y est très sensible.

2.5. Effet sur les pigments chlorophylliens

D'une manière générale, le sel induit des modifications quantitatives et qualitatives sur la synthèse des protéines. Le plus souvent, en cas de stress salin, les plantes montrent des signes de stress par la production d'anthocyanes ou la destruction des chlorophylles.

Des résultats rapportés par Seeman et Critchley (1985) ont souligné une diminution de la concentration des chlorophylles foliaires et une baisse de l'activité de la ribulose 1,5 biphosphate carboxylase/oxygénase (rubisco) chez l'haricot irrigué par une solution enrichie en NaCl. De même, Shaheena et *al.* (2005) ont noté une diminution des concentrations des chlorophylles au niveau des feuilles de moutarde cultivée sous condition de stress salin. Dans le même ordre d'idées, El Housseine et *al.* (1998) ont obtenu une diminution de pigments chlorophylliens suite à un stress salin chez trois variétés de blé et que cette diminution est levée à quelques heures après la levée du stress imposé.

2.6. Effets sur la teneur en glucides

La variabilité des teneurs en carbohydrates reflète la capacité des plantes à s'adapter à diverses conditions écologiques comme les divers stress (Mehouachi, 1993).

Chez la plupart des plantes supérieures, les premiers produits de la photosynthèse sont le saccharose et l'amidon ; ces deux glucides sont généralement stockés au niveau foliaire pendant la journée, chez d'autres espèces les alditols (sorbitol) aussi sont synthétisés et stockés avec ces deux derniers sucres (Annick et *al.* 1992).

Par ailleurs, il a été signalé qu'une synthèse des sucres (saccharose) et des polyols a été stimulée par stress salin chez de jeunes plants de pois chiche cultivés en présence de

NaCl. Karmous et *al.* (2005) ont rapporté que l'accumulation de glucose au niveau foliaire chez le blé dur évoque une aptitude à réaliser une osmorégulation chez la plante dans les conditions de stress salin.

2.7. Effets sur la teneur en protéines

Les protéines qui s'accumulent dans les plantes dans des conditions de stress salin peuvent fournir une forme de stockage de l'azote qui est sera utilisé plus tard (Singh et al. 1987) et peuvent également jouer un rôle dans l'ajustement osmotique. Elles peuvent être soit synthétisées de novo en réponse au stress salin soit présentes de façon constitutive à de faibles concentrations (Pareek-Singla & Grover, 1997). Des teneurs élevées en protéines solubles ont été observées chez des cultivars d'orge, de tournesol, de mil et de riz tolérants à la salinité (Ashraf & Harris, 2004). Agastian et al. (2000) ont noté que les teneurs en protéines chez les cultivars de mûrier augmentent à faibles doses de NaCl et diminuent à fortes doses de NaCl. Bien que Ashraf & Fatima (1995) aient démontré que les accessions de tournesol tolérantes et sensibles au sel ne diffèrent pas significativement par rapport à leurs teneurs en protéines foliaires, plusieurs auteurs s'accordent sur la diminution de la teneur en protéines solubles, en réponse à la salinité.

2.8. Effet sur la teneur en proline

Parmi les réponses aux différents stress hydrique et osmotique chez les plantes, la synthèse et l'accumulation de la proline reste l'une des manifestations les plus remarquables (Belkhodja et Bidai, 2004). Son rôle d'osmoticum a en effet été rapporté par de nombreux auteurs (Stewart & Lee, 1974 ; Kauss, 1977).

Hassani et *al.* (2008) ont noté chez l'orge que l'accumulation de proline est positivement corrélée avec la salinité et il ressort de leur étude que la réponse au stress salin des géotypes est plutôt une accumulation de proline que de sucre.

Khadi-Mounaye, (2006), en travaillant sur la fève dans des conditions de stress salin, avait expliqué la résistance de la fève au stress salin par une accumulation de la proline au niveau des différents organes de la plante.

L'accumulation de la proline, induite par les stress, peut être le résultat de trois processus complémentaires : stimulation de sa synthèse (Boggess et al., 1976), inhibition de son oxydation (Rayapati et Stewart, 1991) et/ou altération de la biosynthèse des protéines (Stewaert et al., 1977). La proline serait synthétisée à partir de l'acide glutamique via l'acide 5 carboxylique-1-pyrroline (P5C). Il peut être synthétisé également via l'arginine et l'ornithine (Lignowski & Slittstoesser, 1971) (Figure 2).

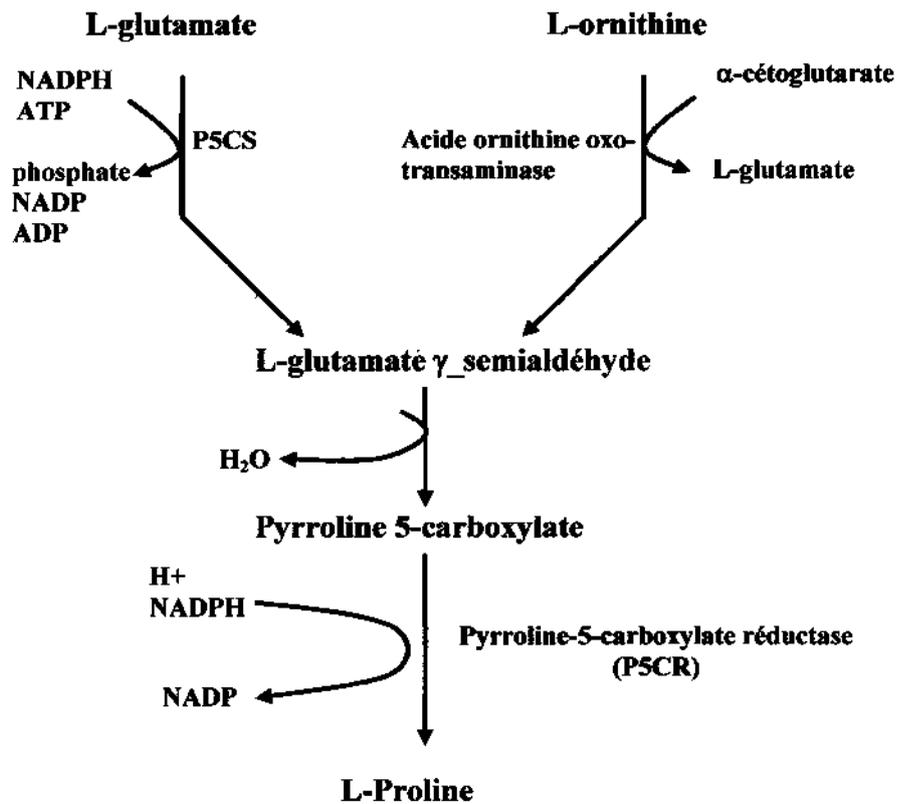


Figure 2. Voie de biosynthèse de la proline

Chapitre II

Matériel et méthodes

1. Matériel végétal :

Le matériel végétal analysé est constitué de 10 accessions de riz. Quelques caractéristiques des génotypes utilisés sont consignées dans le tableau 2.

Tableau 2. Principales caractéristiques des variétés de riz étudiées

Variétés	Origine*	Rendement (Kg/ha)	Tallage
IR 1529	IRRI (Philippines)	6000 à 10000	Moyen
Sahel 108	Philippines	6 à 10000	Bon
Sahel 201	Sri Lanka	7000 à 11000	Bon
Sahel 202	IITA (Nigeria)	6000 à 11000	Bon
Nerica entry 12	WARDA, Bouaké	5500	Bon
Nerica entry 13	WARDA, Bouaké	6000	Bon
Nerica entry 14	WARAD, Bouaké	5000	Bon
ITA 222	IITA (Nigeria)	7000 à 8000	Bon
BG 222	Inconnue	Inconnue	Inconnu
Jaya	Inde,	5000 à 9000	Bon

(*) Anonyme, (2008)

Les semences de ces variétés nous ont été aimablement fournies par la Direction du Centre National de Recherches Agronomiques pour le Développement Agricole de Mauritanie (CNARADA).

2. Substrat de culture

Lors de ces expériences, nous avons semé les différentes variétés dans un substrat constitué de terreau, de sable et de copeaux à proportions égales.

3. Solutions d'irrigation

L'arrosage des plantes a été fait par une eau additionnée de chlorure de sodium (NaCl) aux concentrations suivantes : 3 g/l et 6 g/l de NaCl. Parallèlement, des lots de plantes témoins ont été arrosés avec de l'eau courante.

ou eau distillée?

4. Effet de la salinité sur la germination

L'effet de la salinité sur la germination a été évalué par l'utilisation de 30 graines (15 par boîtes de Pétri) de chaque variété (Photo 1). Ces dernières sont mises dans des boîtes de Pétri tapissées de rondelles de papier filtre imbibées soit par de l'eau distillée (témoin), soit par la solution saline (3g/L, 6g/L). Les boîtes de Pétri sont alors placées dans une étuve à 25°C, pendant 96H durant lesquelles le nombre de graines germées est évalué toutes les 24 heures.



Photo 1. Dispositif expérimental pour tester l'effet du sel sur la germination des grains de riz

5. Réponse biochimique et physiologique de jeunes plants de riz *vis-à-vis* du stress salin

Cette étude a été conduite sur de jeunes plants de riz âgés de 3 à 4 semaines.

5.1. Conduite des cultures

Les expérimentations ont été réalisées sous abri à la Faculté des Sciences et Techniques de Nouakchott, entre mars et avril 2010.

Des lots de 20 graines de chaque variété sont désinfectées à l'eau de javel à 5% pendant 5 minutes, puis rincées abondamment à l'eau distillée pour éliminer toute trace de chlore. Elles sont ensuite mises à germer dans des sacs en plastique remplis de substrat de culture jusqu'au stade première feuille. A ce stade, le stress salin est appliqué en arrosant les plantes deux fois par jour avec les solutions d'irrigation 0 g/L, 3 g/L et 6 g/L de NaCl. Après trois semaines d'irrigation (Photo 2), des échantillons foliaires des différentes variétés sont collectés et conservés à -20 °C pour les analyses biochimiques.



Photo 2. Plants de variétés de riz après 3 semaines d'arrosage par des solutions de NaCl à différentes concentrations.

5.2. Les paramètres étudiés

Plusieurs paramètres ont été évalués au cours de cette étude.

5.2.1 Teneur en pigments chlorophylliens

Pour extraire les pigments chlorophylliens, nous avons utilisé l'acétone à 80%. 20 mg de matière fraîche, issue de chaque concentration, sont broyés dans 5 ml d'acétone. L'extrait est filtré à l'aide d'un filtre de type Wattman.

L'étape suivante est la lecture de la densité optique de la solution à l'aide d'un spectrophotomètre réglé aux longueurs d'ondes suivantes : 663 nm et 646 nm pour déterminer la teneur de chlorophylle a et chlorophylle b et 470 nm pour déterminer la teneur de caroténoïdes.

La formule de Mc Kinney et *al.* 1949 :

$$\text{Chlorophylle a} = [(12.21 * A_{663}) - (2.81 * A_{646})] * V / P$$

$$\text{Chlorophylle b} = [(12.21 * A_{646}) - (2.81 * A_{663})] * V / P$$

$$\text{Caroténoïdes + Xanthophylles} = [(100 * A_{470}) - (3.27 * \text{Chl a} - 104 * \text{Chl b})] / 229$$

Avec :

A : densité optique de l'échantillon mesuré à 663, 646 ou 470 nm.

V : volume de l'extrait sur 1000 ml.

P : poids frais de l'échantillon en mg

5.2.2. Teneur en protéines foliaires

La teneur en protéines dans les feuilles a été déterminée selon la méthode décrite par Bradford et *al.* (1976); cette méthode est basée sur la réaction entre le bleu de Coomassie et les protéines qui donne une coloration bleu dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de protéines présentes dans l'échantillon.

10 mg d'échantillons foliaires issus de chaque concentration sont broyés dans 1 ml de solution physiologique (0.9% NaCl). Le broyat est alors centrifugé à 20 000 xg et à 4°C pendant 10 min. Le dosage est réalisé en mélangeant 50 µl du surnageant dilué 4X avec 4 ml de bleu de Coomassie. Après 20 min d'incubation à température

ambiante, nous procédons à la lecture de la densité optique à 595 nm. (Le détail de la démarche expérimentale est donné en annexe I).

La teneur en protéines est déterminée en se référant à une gamme étalon réalisée avec une solution de BSA à 0,2 mg/ml sur la base des quantités suivantes 0, 10, 20, 40, 80, 160 µg par tube.

5.2.3. Teneur en proline

L'extraction et le dosage de la proline chez les plantes ont été réalisés selon la méthode décrite par Bates et *al.* (1973) 25 mg d'échantillons foliaires issus de chaque concentration sont broyés dans 5 ml d'une solution d'acide sulfosalicylique à 3%. Le broyat est centrifugé à 5000 trs/min pendant 20 min. Le dosage de la proline est réalisé en ajoutant à 2 ml du surnageant 2 ml d'acide acétique glacial et 2 ml de mélange de ninhydrine (voir annexe II). Le mélange est incubé pendant 1h dans un bain-marie à 100°C. La réaction est arrêtée en déposant les tubes dans de la glace pilée. 4 ml de toluène (pour extraire la couleur rouge qui s'est développée pendant la réaction) sont ajoutés à chaque tube, puis on vortex pendant 15-20 secondes. La phase supérieure est récupérée puis la densité optique des tubes est lue à 520 nm contre un témoin de toluène.

La concentration en proline dans les feuilles des plantes analysées est déterminée en se reportant à une droite étalon préparée à partir d'une gamme étalon de proline sur la base des concentrations suivantes : 5, 10, 15, 20 et 25 µg/ml de proline par tube (voir annexe II).

5.2.4. Extraction et dosage des sucres totaux foliaires

La teneur en sucres totaux a été déterminée par la méthode phénol-acide sulfurique décrite par Dubois et *al.* (1956). Cette méthode est basée sur la condensation des dérivés chromogènes de furfural formés par l'action d'acide concentré sur les glucides avec diverses substances susceptibles de donner naissance à des chromophores.

L'extraction des glucides a été faite par l'éthanol à 80% selon le protocole suivant : pour chaque variété, nous avons broyé 200mg de feuilles issues de chaque concentration dans 5 ml d'éthanol à 80%.

- Centrifuger le mélange à 5000trs/min pendant 10 min

- Mettre 0.1ml du surnageant dans un tube à essai
- Ajouter 1ml de phénol à 5 % (P/V)
- Ajouter rapidement 5ml de H₂SO₄ concentré
- Placer les tubes immédiatement au bain-marie bouillant pendant 20 min
- Refroidir à l'obscurité pendant 20 min
- Mesurer la densité optique à 495 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible

ZuZi 4210

Les teneurs en sucres totaux sont déterminées en référence à une gamme étalon de glucose à 100µg/ml (voir annexe III).

5.2.5. Electrophorèse des protéines foliaires

5.2.5.1. Extraction des protéines foliaires

- Peser 200 mg de feuilles issues de chaque concentration
- Ajouter 400 µl de tampon 50 mM Tris-HCl pH 8 contenant (10 mM NaCl ; 1% SDS ; 5% mercaptoéthanol ; 0,1 mM Phénylméthanesulfonyl fluoride (PMSF)
- Broyer le mélange dans un mortier
- Centrifuger à 4°C à 12000 trs/min pendant 10 min
- Conserver le surnageant à -20°C pour l'électrophorèse.

L'électrophorèse a été réalisée sur gel de polyacrylamide à 12% préparée dans des plaques de 20x17x0.2 cm selon la méthode décrite par Laemmli (1970) (voir annexe IV). Avant le dépôt, 50 µl de chaque échantillon foliaire sont incubés à 100°C pendant 5 min, en présence de 50µl de tampon de dénaturation dont la composition est la suivante : 62mM TrisHCl, 1.5% SDS, 10% Saccharose, 0.01 bleu de bromophénol bleu, 5% mercaptoéthanol.

La migration est faite avec un tampon Tris-glycine à 0.025M pH 8.3 sous 200V pendant 4 à 5H. Lorsque le front de migration (bleu de bromophénol) est en bas du gel, nous coupons le générateur et nous démoulons le gel qui est aussitôt immergé pendant une nuit, sous agitation continue, dans une solution de bleu de Coomassie à 0.025% (solution de

coloration des protéines) dont la composition est donnée en annexe 3. Le gel est ensuite décoloré en le plaçant dans des bains successifs de solution de décoloration (acide acétique 10% : méthanol 20%). Lorsque les bandes de protéines sont visibles, nous photographons le gel.

1. Pourcentage de germination

Les résultats portés sur la figure 2 montrent, qu'en absence de la salinité (0 g/l NaCl), les variétés ont un comportement variable en ce qui concerne la germination. En effet, après 48H, les variétés Nerica entry 13, Nerica entry 14, Nerica entry 12, ITA 222, Sahel 108 et Jaya ont donné plus de 20% de germination, alors que les variétés Sahel 201, Sahel 202, BG 222, IR 1529 ont donné des pourcentages de germination inférieurs à 20%. Cependant, à 72H et à 96H, la majorité des variétés testées ont donné un pourcentage de germination de plus de 80%, à l'exception de BG 222, Sahel 202, Sahel 201 qui ont donné respectivement 63%, 36% et 30%.

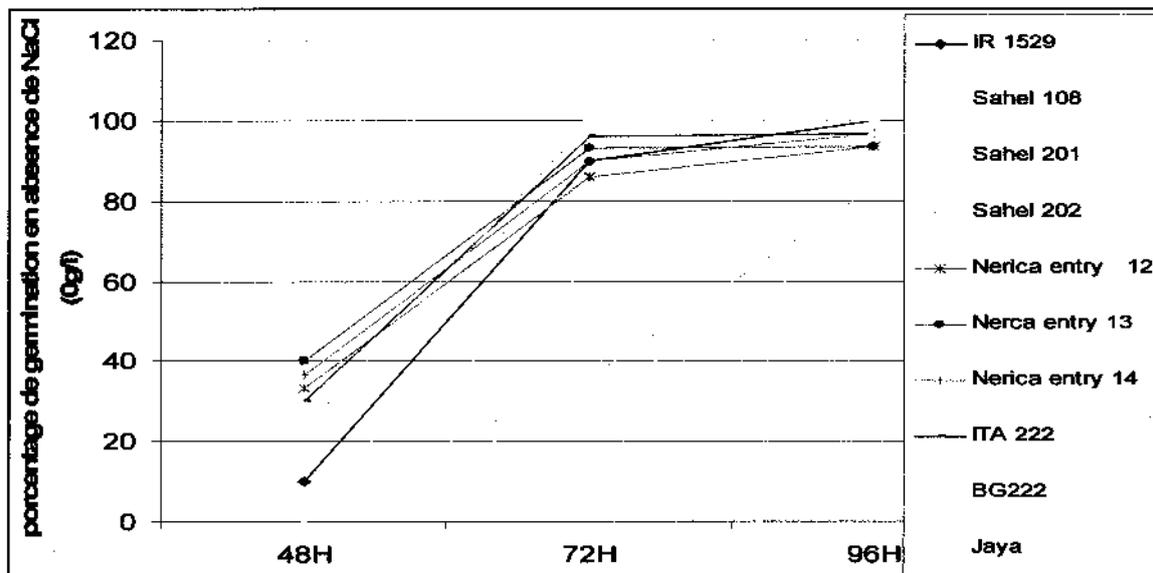


Figure 2: Variations du pourcentage de germination en fonction du temps avec la dose 0g/l de Na Cl.

En présence de la salinité (fig. 3), la majorité des variétés ont donné des pourcentages de germination de moins de 20%. En effet, à la dose 3g/l de NaCl, seules les variétés Nerica entry 12 et Nerica entry 13 ont donné respectivement 33% et 30%.

Lorsque la dose de NaCl est de 6g/l (fig. 4), toutes les variétés testées ont donné des pourcentages de germination des moins de 20%.

Après 48H, seules les variétés Nerica entry 12 ; Nerica entry 13, Nerica entry 14, ITA 222 et Jaya ont germé dans la dose de 6g/l de NaCl. Alors que seule Sahel 202 après 96H n'a pas germé à 6g/l de NaCl.

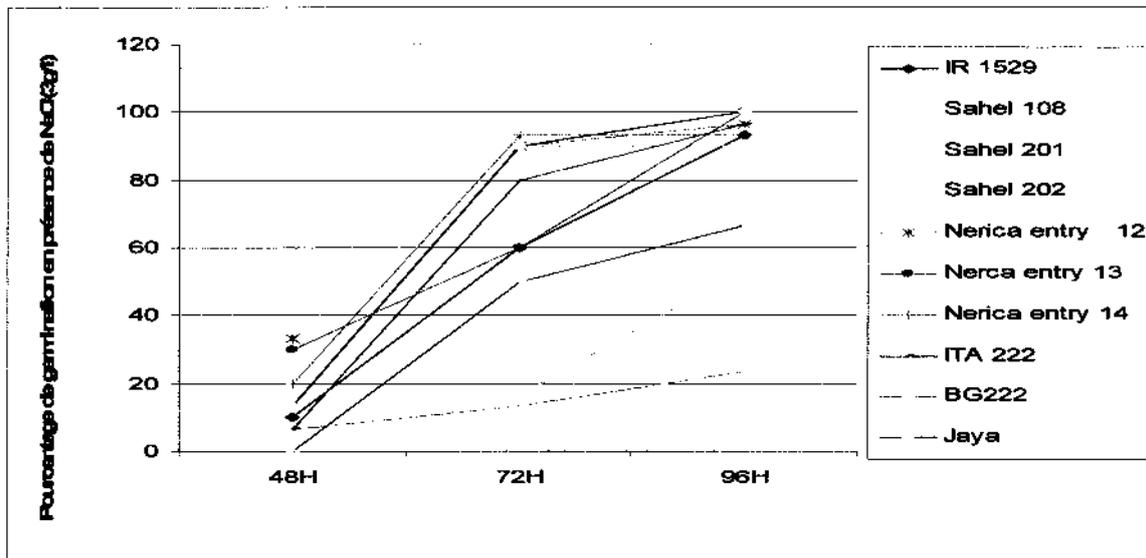
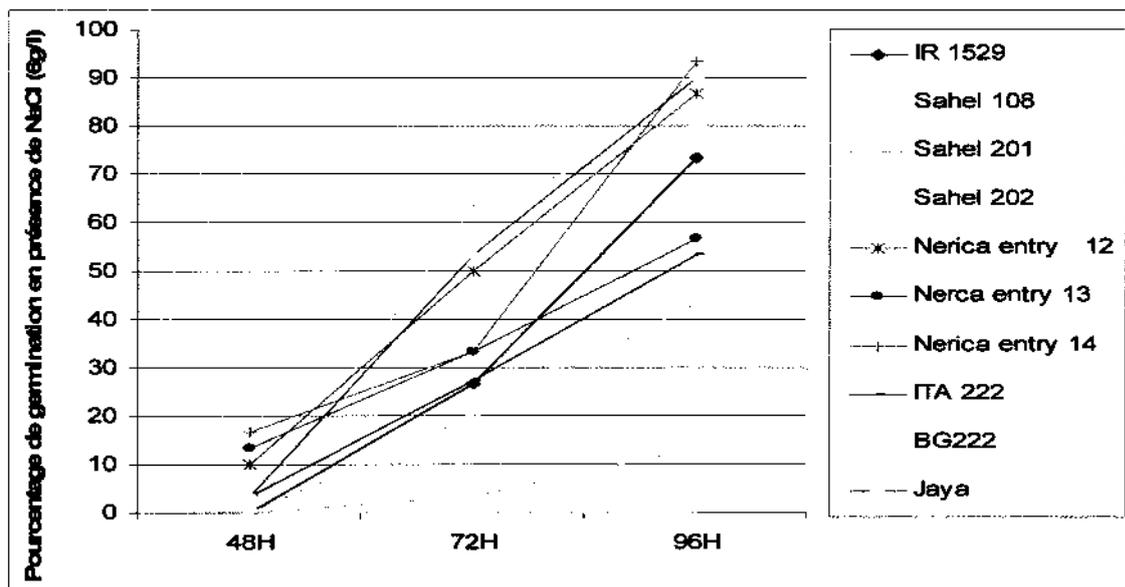


Figure 3 : Variations du pourcentage de germination en fonction du temps avec la dose 3g/l de NaCl



← **Figure 4 :** Variations du pourcentage de germination en fonction du temps avec la dose 6g/l de NaCl

Les résultats présentés sur les figures 2, 3 et 4 montrent d'une manière générale que le pourcentage de germination diminue avec l'augmentation de la concentration de NaCl. La variété Sahel 202 paraît la plus sensible à l'augmentation de la salinité au stade de germination, suivie par Sahel 201, BG 222, ITA 222 Nerica entry 13, IR 1529, Sahel 108, Nerica entry 12, Jaya et Nerica entry 14.

Ainsi, il ressort que les variétés de riz testées se comportent différemment selon les concentrations de NaCl. Ce résultat est soutenu par celui de Rejilli et *al.* (2006) qui ont remarqué que la présence de sel dans le milieu de culture réduit différemment la capacité germinative chez deux populations de lotier.

La diminution du pouvoir germinatif peut s'expliquer par une augmentation de la pression osmotique de la solution du sol qui ralentit l'imbibition et limite l'absorption de l'eau nécessaire au déclenchement des processus métaboliques impliqués dans la germination. (Hajlaoui et *al.*, 2007). La salinité perturbe également les systèmes enzymatiques impliqués dans les différentes fonctions physiologiques de la graine en germination tels que la diminution de l'activité de polyphénol oxydase et amylase (Slama et *al.*, 1992)) et des peroxydases (Iraida et *al.*, 1999).

2. Teneur en pigments chlorophylliens

Les résultats du dosage des pigments chlorophylliens chez les variétés étudiées sont présentés dans les figures 5, 6 et 7.

Pour la chlorophylle a, les résultats portés sur la figure 5 montrent que les teneurs varient de 5.22 (Nerica entry 14) à 7.76 mg/g (Sahel 108) de matière fraîche chez les plantes témoins, alors qu'elles fluctuent de 4.34 (Jaya) à 6.07 mg/g (ITA 222) de matière fraîche chez les plantes arrosées avec la solution 3g/L de NaCl. Chez les plantes exposées à la solution de 6 g/L, ces teneurs ont varié de 2.04 (Nerica entry 12) à 3.61 mg/g (Nerica entry 14). Il faut signaler que les diminutions observées ont atteint 59, 67 et 69% respectivement chez les variétés Sahel 108, BG 222 et Nerica entry 12.

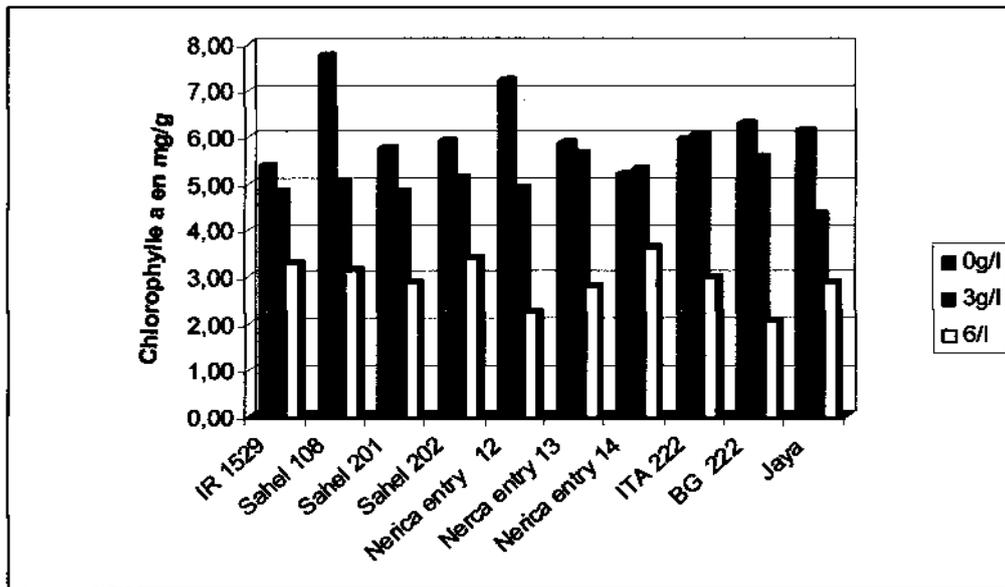


Figure 5 : Teneurs en chlorophylle a chez les variétés de riz étudiées en fonction de différentes concentrations de chlorure de sodium.

En ce qui concerne la chlorophylle b, les résultats présentés dans la figure 6 montrent globalement la même tendance observée pour la chlorophylle a avec des diminutions significatives des teneurs en chlorophylle b chez les plantes arrosées par la solution à 6g/L comparés aux plantes témoins. Ces diminutions ont atteint 62, 52% respectivement chez les variétés BG 222 et Sahel 108.

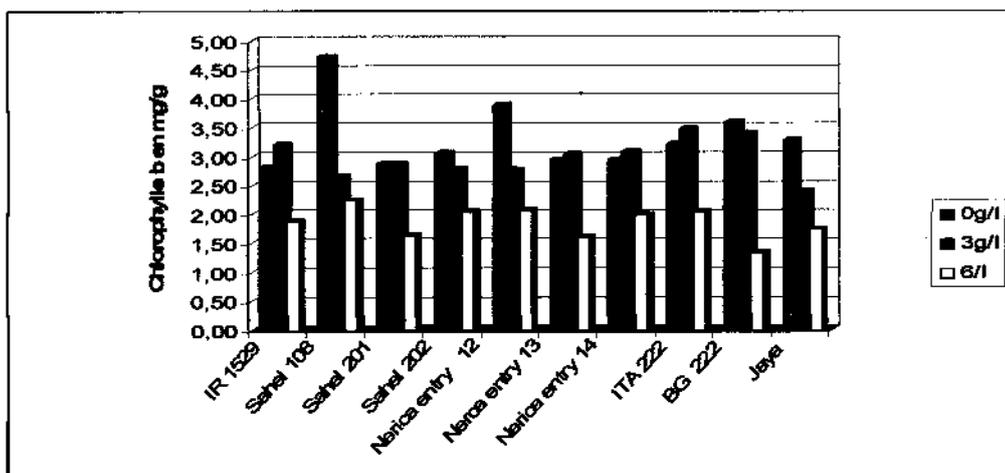


Figure 6 : Teneur en chlorophylle b chez les variétés de riz étudiées en fonction de différentes concentrations de chlorure de sodium.

L'examen de la figure 7 relative à la teneur en caroténoïdes chez les variétés étudiées montre que ces teneurs diminuent en fonction de l'augmentation de la concentration en NaCl. Cet effet est plus remarquable chez les variétés Nerica entry 12, Sahel 108 et BG 222 qui ont montré respectivement des chutes de 51, 55 et 64%.

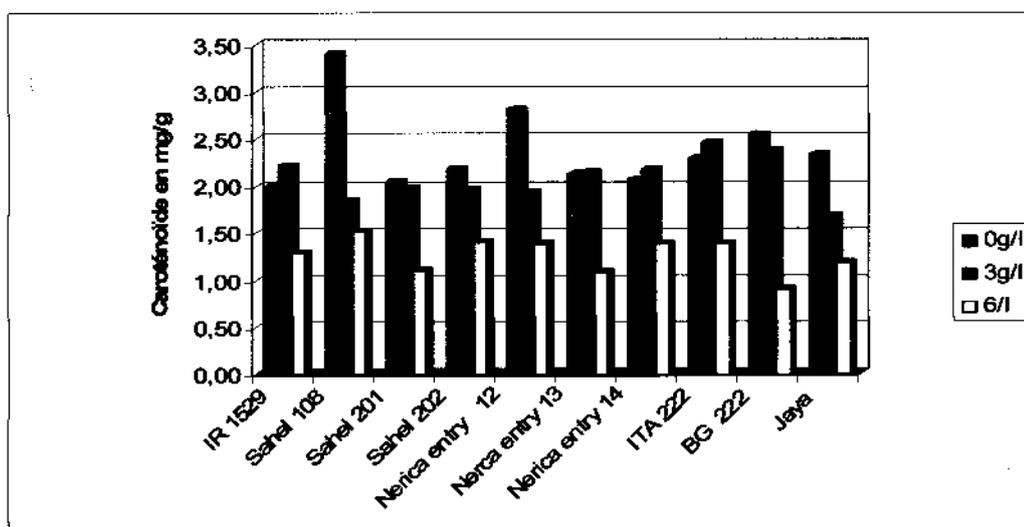


Figure 7 : Teneur en caroténoïdes chez les variétés de riz étudiées en fonction de différentes concentrations de chlorure de sodium.

De ces résultats, nous pouvons retenir que la solution d'irrigation 6g/l NaCl a provoqué des diminution des concentrations des pigments chlorophylliens (chlorophylle a, b et les caroténoïdes) chez toutes les variétés étudiées, ce qui montre une sensibilité des pigments chlorophylliens *vis-à-vis* du stress salin. Toutefois, ces diminutions sont remarquables chez BG 222, Nerica entry 12 et Sahel 108.

Ces constatations sont en accord avec les résultats de El Housseine et *al.* (1998) qui ont obtenu une diminution de pigments chlorophylliens suite à un stress salin chez trois variétés de blé et de Shaheena et *al.* (2005) qui ont rapporté une diminution des chlorophylles suite à un stress salin chez la moutarde.

3. Teneur en protéines

La comparaison des valeurs trouvées pour les protéines foliaires chez les 10 variétés de riz testées est présentée dans la figure 8. L'examen de cette figure montre que l'application d'une dose de 3g NaCl/L provoque une augmentation de ce paramètre, sauf chez Sahel 108 et Jaya ou on a enregistré des diminutions de 28% et 20% respectivement

et ceci en comparaison avec leur témoin respectif (0g NaCl /L). Cependant, les augmentations ont été de 9 %, 30%, 14%, 16%, 41%, 16% et 24% respectivement pour IR1529, Sahel 202, Nerica entry 12, Nerica entry 13, Nerica entry 14, ITA 222, et BG222

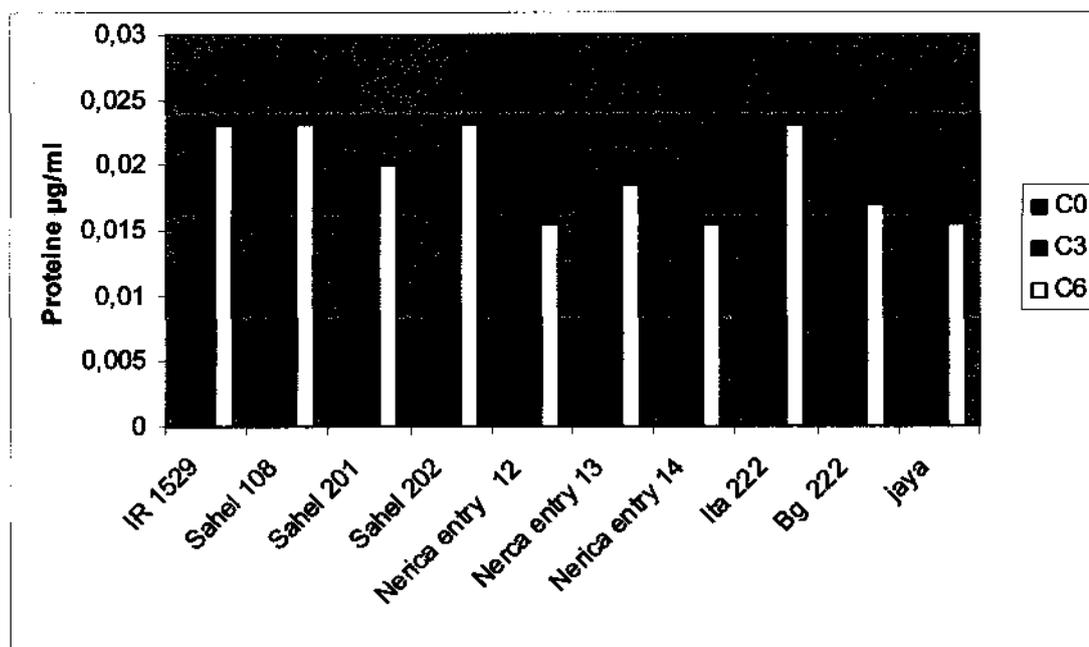


Figure 8 : Teneur en protéines en fonction de la concentration de NaCl chez les dix variétés étudiées

Dans le même ordre de concentrations, l'arrosage des variétés par une solution saline (6g NaCl/L) a augmenté le taux de protéines foliaires, exception faite pour BG222 et Jaya où nous avons enregistré des diminutions de l'ordre de 8% et 33%, en comparaison au témoin.

Des résultats similaires sont rapportés par Pareek et *al.*, 1997 chez des variétés de riz tolérantes aux sels. Cependant, chez la lentille, Ashraf et Waheed, 1993 ont montré que les teneurs en protéines diminuent avec l'augmentation de la salinité.

La variation des teneurs en protéines solubles en fonction de l'augmentation de la concentration en NaCl ainsi que leur utilisation en tant qu'indicateur de stress semble être controversée et c'est plutôt la teneur en certains acides aminés qui serait de bon indicateur de la tolérance au sel

4. Teneur en proline

La figure 9 représente les variations de la teneur en proline des différentes accessions étudiées en fonction de l'intensité du stress salin.

Dans les conditions normales (absence de stress), la teneur en proline est variable selon l'accession en question. En effet, Nerica entry 14, Sahel 202, Sahel 108 ont enregistré les valeurs les plus basses ($< 0.0007 \mu\text{moles/g}$ de matière fraîche (MF)). Alors que, Nerica entry 12 et Nerica entry 13 dépassent les $0.001 \mu\text{moles/g}$ de matière fraîche.

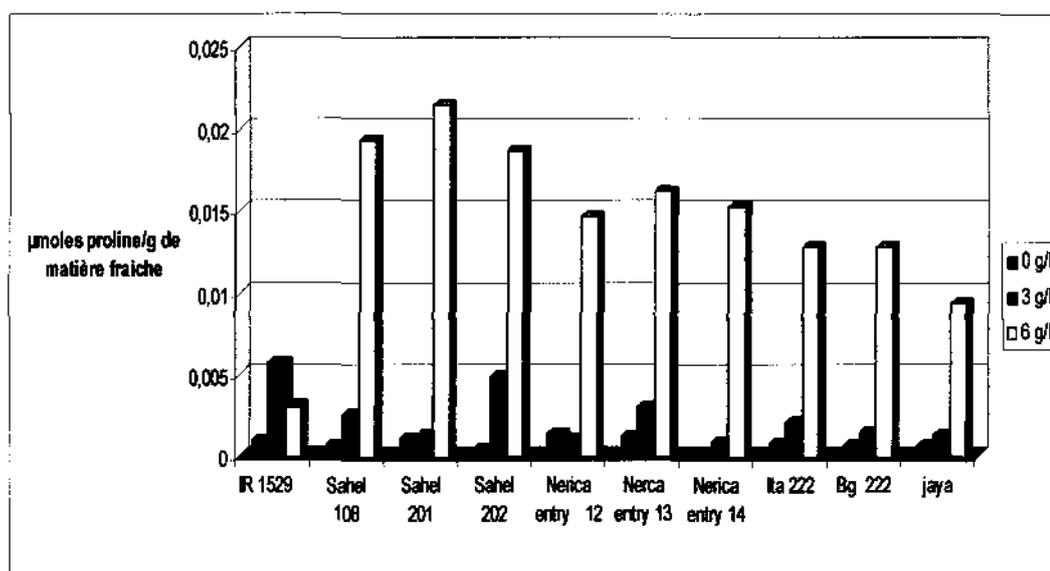


Figure 9 : Teneur en proline en fonction de la concentration de NaCl chez les dix variétés étudiées

En cas de stress faible (3g NaCl/L), la plupart des accessions testées ont montré une augmentation de leur teneur en proline. Cependant, cette augmentation est variable. Elle est très faible pour les cas de Nerica entry 14 et Nerica entry 12, ce qui laisse supposer une éventuelle tolérance au sel. Les accessions IR 1529 et Sahel 202 sont celles qui ont accumulé le plus de proline dans ces conditions.

Lorsque le stress est plus accentué (6g NaCl /L), toutes les accessions étudiées ont montré une augmentation significative de leurs teneurs en proline, à l'exception de IR 1529 qui a enregistré une teneur en proline légèrement plus faible par rapport au stress modéré. En effet, cette augmentation est nettement observée chez les trois variétés Sahel 201, 202

et 108 dont la teneur en proline dépasse 0,016 $\mu\text{moles/g}$ de MF et atteint même 0,021 $\mu\text{moles/g}$ de MF pour le cas de Sahel 201.

Ces résultats montrent que la présence de NaCl dans les solutions d'irrigation induit une augmentation de la proline foliaire. Cette accumulation de la proline dans les plantes prouve, chez le riz, une aptitude de résistance à la salinité. Ses constatations sont en accord avec les résultats de Hassani et *al.*, (2002) qui ont trouvé une accumulation de la proline comme une réponse aux stress salin chez l'orge et de El Jaafari (5) qui a observé une accumulation de proline chez trois variétés de blé en cas de stress salin.

5. Teneur en glucides

Les mesures de la teneur en sucres foliaires chez les variétés testées (Fig. 10) ont montré que ce paramètre augmente suite à l'application des doses de 3 et 6g/l de NaCl, en comparaison avec les témoins, bien que chez Sahel 108 et BG 222 respectivement à la dose 6 et 3 g/l de NaCl, la teneur en sucres enregistrée ait été inférieure à celle des témoins respectifs.

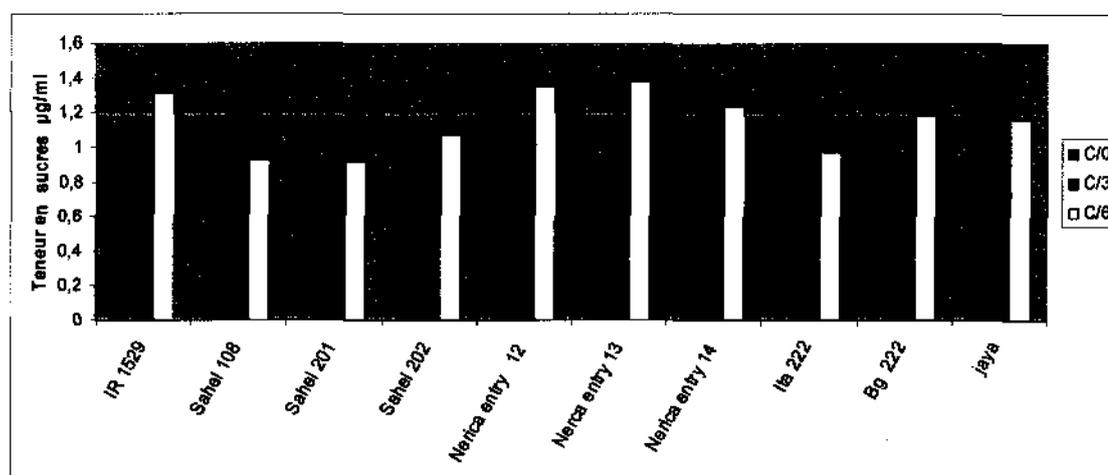


Figure 10: Variations de la teneur en sucre foliaire en fonction de la concentration de NaCl

Ces résultats montrent que la présence de NaCl dans les solutions d'irrigation induit une augmentation des sucres solubles totaux chez toutes les variétés étudiées sauf Jaya. Cette augmentation de la teneur en sucres totaux au niveau des feuilles de riz est probablement attribuée à une augmentation du saccharose, du glucose et du fructose qui

jouent un rôle important dans l'osmorégulation. Ces observations vont dans le même sens que celles rapportées par Karmous et *al.*, (2005) qui ont attribué l'accumulation du glucose au niveau foliaire chez le blé à une aptitude à réaliser une osmorégulation.

6. Electrophorèse des protéines foliaires

La comparaison des profils électrophorétiques de protéines foliaires des 10 variétés de riz dont cinq sont représentées dans la figure 11 montre que les variétés ne semblent pas présenter des différences qualitatives dans leur contenu en protéines. En effet, les 24 bandes mises en évidence par cette technique sont présentes chez toutes les variétés testées quelque soit l'intensité du traitement salin auquel elles ont été exposées. .



Figure 11. Profil électrophorétique des protéines foliaires de 5 variétés de riz exposées à un stress salin. **M** : marqueur de taille ; 1 : 6g NaCl/L, 2 : 3 g NaCl/L, 3 : 0g NaCl/L.

Dans la littérature, il est rapporté que le stress salin induit des modifications qualitatives et quantitatives dans la synthèse des protéines, détectables par électrophorèse sur gel de polyacrylamide. L'application de cette technique à deux variétés d'orge soumises à un stress salin a permis de mettre en évidence une différence de comportement entre la variété sensible et la variété résistante. Cette différence s'est manifestée au niveau des feuilles par la synthèse de cinq nouvelles protéines de poids moléculaires 20 à 40 kDa

dont trois sont spécifiques de la variété sensible et deux communes aux deux variétés. Kong-ngem et al. 2005 ont trouvé que le stress salin induit l'expression de deux protéines de 22 et 31 kDa particulièrement dans la gaine foliaire et les racines mais pas dans le limbe foliaire. Dans notre cas, l'absence de différences qualitatives entre les profils électrophorétiques pourrait s'expliquer par le fait que les doses de NaCl appliquées sur les variétés testées (à un stade phenologique précoce : trois feuilles) n'ont pas atteint un seuil permettant l'induction de la synthèse des protéines spécifiques au stress salin.

Conclusion

Ce travail fait ressortir que les 10 variétés testées ont montré un comportement physiologique et métabolique variable vis-à-vis des doses de NaCl appliquées.

En effet, nos résultats montrent que, à des concentrations supérieures à 6 g/L, les capacités germinatives ainsi que la vitesse de germination des variétés sont affectées à des degrés différents. Les variétés Sahel 202, Sahel 201, BG 222, ITA 222 et Nerica entry 13 sont les plus sensibles au stress salin à ce stade phénologique alors que les variétés IR 1529, Sahel 108, Nerica entry 12, Jaya et Nerica entry 14 possèdent le meilleur comportement germinatif en présence de NaCl.

. Les pigments chlorophylliens semblent être un paramètre pour le criblage du degré de tolérance ou de sensibilité des accessions de riz à la salinité. Les variétés Sahel 108, BG 222 et Nerica entry 12 ont montré des taux de réduction de pigments chlorophylliens de 51 à 69% du témoin suggérant leur sensibilité au stress salin.

L'évolution de la teneur en proline chez les différentes accessions a montré que les doses de NaCl utilisées ont induit des perturbations métaboliques chez les variétés testées. Ce qui montre que chez le riz la proline joue un rôle important dans l'osmoregulation dans des conditions de stress salin.

Notre étude a également montré chez les variétés testées, une certaine corrélation entre le métabolisme azoté (proline) et le métabolisme carboné (glucides) dans des conditions de salinité. Cette constatation s'est manifestée clairement chez les variétés IR 1529, Jaya, Sahel 201, Sahel 108 et Sahel 202. En effet il s'emble que, à une dose de 3 g/L de NaCl, le riz osmorégule par une synthèse de sucres alors que, à une dose de 6 g/L de NaCl, la plante paraît utiliser la proline comme osmoticum

Pour mieux apprécier le degré de tolérance à la salinité des variétés étudiées il est important de voir le comportement des variétés à des stades phénologiques plus avancés et l'exploration d'autres paramètres physiologiques, biochimiques et agronomiques tels que biomasse, teneur relative en eau, production florale, rendements, ...etc.

Références bibliographiques

- Anonyme 2008** - Nerica : The New Rice for Africa , a compendium. African Rice Center (WARDA), Somado EA, Guei RG and Keya SO (eds.), 195p.
- Ashraf M. & Waheed A. 1993** - Responses of some local/exotic accessions of lentil (*Lens culinaris* Medic).to salt stress, J. Agron. Soil Sci. 170 103–112.
- Bajji M., Kinet J-M. & Lutts S., 2002** - Osmotic and ionic effects of NaCl on germination, early
- Bates LS, Waldren R.P. & Tear ID., 1973** - Rapid determination of free proline for water stress studies. **Plant Soil** 39:205-207.
- Ben Khaled L., Gomes A.M, Honrubia M. & Oihabi A., 2003** - effet du stress salin en milieu hydroponique sur le trèfle inoculé par le Rhizobium, **Agronomie** 23: 553-560
- Bennes, S., .2003** - Irrigation with saline water. Minimizing the impact proper management. **New Ag. International** pp. 40-42.
- Bogges, S-F., Aspinall, D. & Paleg, L-G. 1976** - Stress metabolism. IX. The significance of end product inhibition of proline synthesis and of compartmentation in relation to stress-induced proline accumulation. **Aust. J. Plant Physiol.**, 3: 513-525.
- Bouaouina S., E. Zid & Hajji, M. 2000.** Tolérance à la salinité, transports ioniques et fluorescence chlorophyllienne chez le blé dur (*Triticum turgidum* L.), Zaragoza : CIHEAM-IAMZ, 8 : 239-243 :.
- Bounaqba S., 1998** - Analyse des déterminants de tolérance à NaCl chez le blé tendre, le triticale, et l'orge. Utilisation de la floescence chlorophyllienne dans le diagnostic de l'état fonctionnel du photosystème II. Thèse de doctorat de biologie, Uni Tunis 230p.
- Bouzouba Z., ElMousadik, 2003.** Effet de la température, du déficit hydrique et de la salinité sur la germination de l' granier, (*Argania spinosa* L skeel.) **Actal Botanica Gallica.** 150(3) : 321-330.

- Bradford M. M. 1976** - A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principal of protein-dye binding, *Anal. Biochem.* 72: 248- 254.
- Cheverry C., 1995** - Comportement des plantes dans un milieu salé. *Comptes rendus de Vég.* P18.
- Clarcke J. & Mc Caig, T., 1982** - Excised leaf water retention capability as an indicator of drought résistance of *Triticum* genotypes. *Can. J. of Plant Science.*; 62 571-578.
- Danecette C., 1999-** Les principaux systèmes de riziculture irriguée de la zone d'intervention du PSU. Activités de recherches conduites et résultats. Actes du séminaire, DAKAR (Sénégal) 30 Nov-3 Décembre.
- Dali, N., Ben Ghanem, H & Mougou, A. 1996-** Effet du stress salin sur la répartition entre amidon et sucre solubles dans les feuilles de deux lignées de tomate. *Revue de l'INAT.* 11 :2.
- Dubois M., K.A Gilles, Hamilton J.K., Rebers P.A. and Smith F. 1956** - Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analyt. Chem.* 3, 350-360.
- El Houssine T., Abdelmajid B & Khadija S. 1998.** Effet d'un stress osmotique sur l'accumulation de proline, de chlorophylle de ARNm codant pour la glutamine synthétase chez trois variétés de blé (*tritucum durum*). *Bulletin de l'Institut Scientifique, Rabat, 1997-1998, 21, 81-87.*
- El Jaafari S., 1993-** Contribution à l'étude des mécanismes biophysiques et biochimiques de résistance à la sécheresse chez le blé. Doctorat, Faculté des Sciences agronomiques de Gembloux, Belgique, 214 p.
- Groome M.C., Axler S. & Gfford D.J., 1991-** Hydrolysis of lipid and protein reserves in lobolly pine seeds in relation to protein electrophoretic patterns following imbibition. *Physiol. Plant,* 83 : 99-106.

- Hajlaoui H., Denden M. & Bouslama M., 2007** - Etude de la variabilité intraspécifique de tolérance au stress salin du pois chiche (*Cicer arietinum* L.) au stade germination. *Tropicultura*, 25(3) : 168-173
- Hassani A., Dellal A., Belkhdja M. & Kaid-Harche M. 2008** – Effets de la salinité sur l'eau et certains osmolytes chez l'orge (*Hordeum vulgare*). *Eur J. Scient. Reser.* 23(1): 61-69.
- Iraida A., Miguel A.B., Mercedes C., Maria I.M., Antonio H., Ray A.B., Paul M.H., Miguel A.Q. & Victoriano V., 1999** - Improved germination under osmotic stress of tobacco plants overexpressing a cell wall peroxidase. *FEBS Letters*, 457 : 80-84.
- Juliano B.O., 1994** – Le riz dans la nutrition humaine. Collection FAO: Alimentation et nutrition n° 26. FAO, Rome, 184p
- Kauss, H. 1977**- Biochemistry of regulation. In Northcote (Ed): *International Review of Biochemistry*, II, . 119-139.
- Kingsbiry, R.W., Epstein ,E. Percy, R.W, 1984**. Physiological responses to salinity in selected lines of wheat. *Plant Physiol.*, 47: 417-423
- Kong-ngern K., Daduang S., Wongkham C. Bunnag S. Kosittrakuna M. & Theerakulpisuta P. 2005** - Protein profiles in response to salt stress in leaf sheaths of rice seedlings. *ScienceAsia* 31 : 403-408
- Laemmli U.K. 1970** – Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227, 680-685
- Lignowski, E.M. & Splittstoesser, W.E. 1971** - Arginine synthesis, proline synthesis and related process. In John & Thompson (Eds): *The Biochemistry of plants*, 25: 225-229.
- M'Barek B., Rahmoune C., Sdiri H., Medahi ML., Salmi M, 2001**. Effet du stress salin sur la germination, la croissance et la production en grain de quelques variétés maghrébines de blé. *Science et changements planétaires sécheresse*. 12; 3: 167-174.

- Miguel A.Q. & Victoriano V., 1999** - Improved germination under osmotic stress of tobacco plants overexpressing a cell wall peroxidase. **FEBS Letters**, 457: 80-84.
- Mansour, M .M.F, 1990.** Studies on protoplasm of salt sensitive and salt tolerant plants. These Ph D, USA.
- McKinney G. 1941** - Absorption of light by chlorophyll solutions. **J. Biol. Chem.**140, 315- 322.
- Munns R.,Richard A.J, Lauchli A. 2006** - Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. **J. Exp. Bot.**, 57(5) : 1025–1043,
- Munns R. & Termaat A., 1986.** Whole plant responses to salinity. **Aust. J. Plant. Physiol.** 13 :143-160.
- Ould Djeh T, 2007.** Effets de l'enrichissement carboné sur une culture de tomate irriguée par les eaux géothermales et traitée à l'acide gibbérellique. Thèse de doctorat en sciences agronomiques 140p. Institut agronomique de Tunisie.
- Pareek A. & Singla S.L., A. 1997-** Grover Salt responsive proteins/genes in crop plants. In: Jaiwal, P.K., R.P. Singh and A. Gulati (eds), *Strategies for Improving Salt Tolerance in Higher Plants*. Oxford and IBH Publication Co., New Delhi, pp 365-391.
- Rayapati, P.J. & Stewart, C.R. 1991** - Solubilization of proline dehydrogenase from maize (*Zea mays* L.) mitochondria. **Plant Physiol.**, 95: 787-791.
- Rejili ,M Vadel A.M. Nef., fati .M, 2006.** Comportements germinatifs de deux populations de (*Lotus creticus* L.) en présence du NaCl. *Revue des régions*.17, 65-78.
- Shaheena, A ; Mohamed F., Hayat., S., Siddiqui.M.H, 2005** Exogenous Application of gibberellic Acid counteracts the effect of Sodium Chloride in Mustard. *Turk.J. Biol.* 29: 233-236.
- Samba D., 2003.** La problématique de la qualité du riz mauritanien. Mémoire de maîtrise,40 pp. Faculté de Sciences et Techniques de Nouakchott ; Mauritanie.

- Sasaki, T. & Burr, B. 2000** - International rice genome sequence project: the effort to complete the sequence of rice genome. **Current Opinion in Plant Biology**, vol. 3, No. 2, 138-141.
- Seeman, J.R. and C.Criteheey, 1985.** Effect of salt stress on the growth, ion content, *Phaseolus vulgaris* L. *Planta*. 164: 151-162.
- Slama A.D., Afifi W.M., Moussa A.Z. & Shams El Din., 1992** - Biochemical study on the effect of salinity on cucumber seedlings. *Annals Agric. Sci. Ain Shams Univ. Cairo*, 37, 2, 339-349.
- Stewart, C.R. & Lee, J.A. 1974** - The role of proline accumulation in halophytes. *Planta*, 120: 273-289.
- Stewart, C.R., Boggess, F., Aspinall, D. & Paleg, I.G. 1977** - Inhibition of proline oxidation by water stress. *Plant Physiol.*, 59: 930-932.
- Vierling E. 2003** – aliments et boissons, filière et produits (2nd eds.). Biosciences et Techniques. 270p.

Annexes

Annexe I – Dosage des protéines

1. Préparation du réactif de Bradford

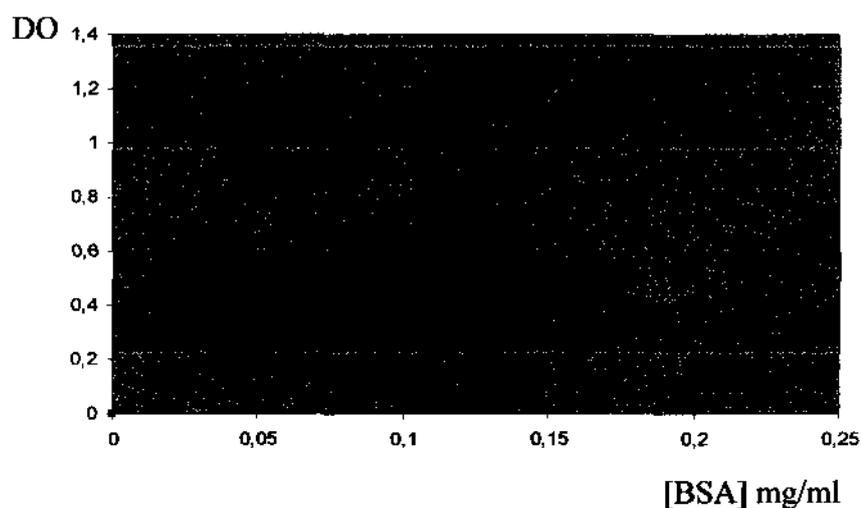
-Bleu de coomassie (coomassie brillant bleu G-250) :100mg

-Ethanol 95°: 50 ml

-Acide phosphorique 85 % (poids / volume) : 100 ml

- Eau distillée : Quantité suffisante pour 1000 ml

2. Gamme étalon pour le dosage des protéines



3. Tableau récapitulatif des teneurs en protéines en µg/ml d'extrait foliaire, chez les variétés étudiées aux différentes concentrations de NaCl.

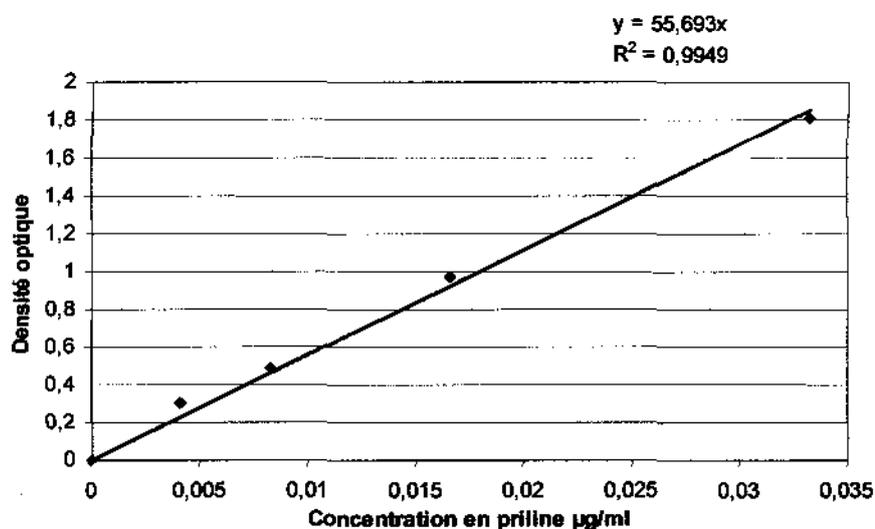
variétés	0 g/L	3 g/L	6 g/L
IR 1529	0,0153967	0,01693637	0,02309504
Sahel 108	0,02155537	0,0153967	0,02309504
Sahel 201	0,01847604	0,01847604	0,0200157
Sahel 202	0,01077769	0,0153967	0,02309504
Nerica entry 12	0,00923802	0,01077769	0,0153967
Nerca entry 13	0,0153967	0,01847604	0,01847604
Nerica entry 14	0,01077769	0,01847604	0,0153967
ITA 222	0,0153967	0,01847604	0,02309504
BG 222	0,01847604	0,02463471	0,01693637
jaya	0,02309504	0,01847604	0,0153967

Annexe II - Dosage de la proline

1. Réactif à la ninhydrine

Dissoudre 1.25g de ninhydrine dans 30 mL d'acide acétique glacial, et 20mL d'acide phosphorique 6M. Agiter plusieurs fois pour dissoudre la ninhydrine. (ne se conserve pas plus de 24H).

2. Les courbes d'étalonnage pour le dosage de la proline

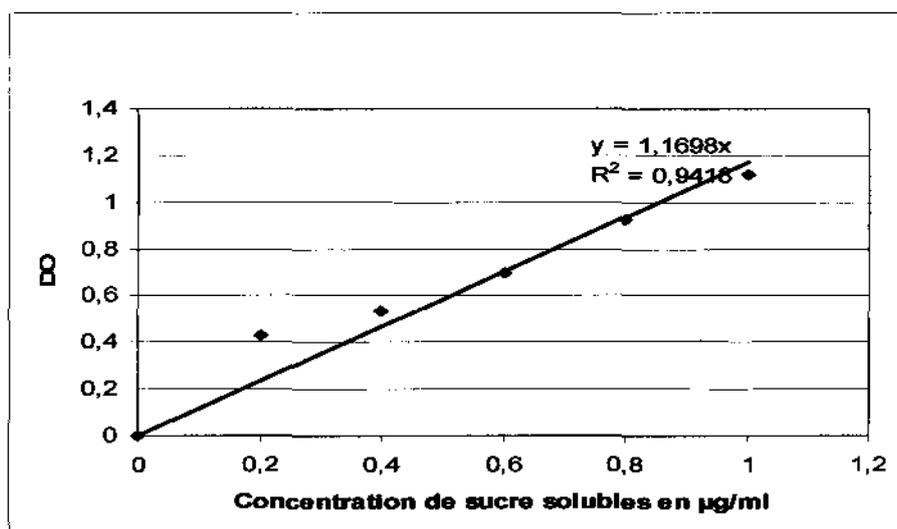


3. Tableau récapitulatif des teneurs en proline en µmole/mg de matière fraîche, chez les variétés étudiées aux différentes concentrations de NaCl.

Variétés	0 g/L	3 g/L	6 g/L
IR 1529	0,00099494	0,00572091	0,00310919
Sahel 108	0,00068402	0,00258063	0,01927698
Sahel 201	0,00108822	0,00124368	0,02145342
Sahel 202	0,00049747	0,00485034	0,01865515
Nerica entry 12	0,00139914	0,00102603	0,0146132
Nerica entry 13	0,00118149	0,00304701	0,01616779
Nerica entry 14	0,00027983	0,00087057	0,01523504
ITA 222	0,00080839	0,00208316	0,01274768
BG 222	0,00062184	0,00146132	0,01274768
Jaya	0,00068402	0,00130586	0,00932757

Annexe III- Dosage de sucres totaux

1. Le courbe d'étalonnage pour le dosage des sucres totaux



2. Tableau récapitulatif des teneurs en sucres totaux en µg/ml d'extrait foliaire, chez les variétés étudiés aux différentes concentrations de NaCl.

Variétés	C/0	C/3	C/6
IR 1529	0,653957942	0,81381433	1,31646435
Sahel 108	0,985638571	1,47717559	0,92579928
Sahel 201	0,857411523	0,95058984	0,91383142
Sahel 202	0,901094204	0,86852453	1,07197812
Nerica entry 12	1,271157463	1,08907506	1,34723884
Nerica entry 13	0,738587793	0,81723372	1,38314242
Nerica entry 14	0,928363823	1,02581638	1,24123782
ITA 222	0,901008719	1,24123782	0,97367071
BG 222	0,983928877	0,81295948	1,18481792
Jaya	1,442981706	1,26175415	1,15831766

MINT EL MOUKHTAR Soukeina

Titre « Etude des réponses physiologique et métabolique de dix variétés de riz (*Oryza sativa* L.) aux premiers stades de développement vis-à-vis de stress salin. »

DIPLOME D'ETUDES APPROFONDIES (DEA) EN CHIMIE ET BIOCHIMIE DES PRODUITS NATURELS

Résumé

Afin d'explorer l'effet de la salinité sur les premiers stades phénologiques de dix variétés de riz (*Oryza sativa* L.), des concentrations de 0., 3 et 6 g/L de NaCl ont été utilisées pour élucider leur comportement à travers cinq paramètres physiologiques et métaboliques (pourcentage de germination et les teneurs en proline, protéines, sucres totaux et pigments chlorophylliens). Les résultats obtenus montrent la variabilité des réponses physiologiques et métaboliques des variétés étudiées vis-à-vis des doses de NaCl appliquées. Les variétés IR 1529, Sahel 108, Nerica entry 12, Jaya et Nerica entry 14 possèdent le meilleur comportement germinatif en présence de NaCl. Au stade 3 feuilles, les variétés Sahel 108, BG 222 et Nerica entry 12 ont montré les taux de réduction de pigments chlorophylliens les plus élevés suggérant leur sensibilité au stress salin. En outre, l'accumulation de fortes teneurs en proline chez les différentes accessions à la dose 6g/L de NaCl montre que, chez le riz, la proline joue un rôle important dans l'osmorégulation dans des conditions de stress salin.

Mots clés : riz, variétés, comportement, stress, NaCl, Mauritanie

Abstract

In order to explore the effect of salinity on early growth stages of ten rice (*Oryza sativa* L.) varieties, concentrations of 0., 3 and 6 g / L NaCl were used to elucidate their behaviour through five metabolic and physiological parameters (germination percentage, proline content, proteins, total sugar and chlorophyll pigments). Results show the variability of physiological and metabolic responses of the varieties studied vis-à-vis the NaCl treatments applied. The varieties IR 1529, Sahel 108, Nerica entry 12, Nerica entry 14 and Jaya have the best germination behavior in the presence of NaCl. At the 3-leaf stage, varieties Sahel 108, BG 222 and Nerica entry 12 showed the higher rate of reduction of chlorophyll pigments suggesting a higher sensitivity to salt stress. In addition, the accumulation of high levels of proline in the different accessions at 6g / L of NaCl shows that, in rice, proline plays an important role in osmoregulation under conditions of salt stress.

Key words: rice, varieties, behaviour, stress, NaCl, Mauritania