

**Caractérisation des réponses physiologiques
chez 13 variétés de niébé (*Vigna unguiculata*
L. Walp) soumises à un déficit hydrique en
phase végétative**

Dédicaces

A ma mère et mon père qui ont consentis tant d'efforts et de sacrifices pour nous élever dans la croyance en Dieu, la dignité et le respect de l'autre.

A ma sœur et mon frère qui m'ont toujours avoué un amour exceptionnel.

Remerciements :

Ce travail a été réalisé au Centre d'Etude Régional pour l'Amélioration de l'Adaptation à la Sécheresse (CERAAS), dirigé par Dr. Dogo Seck qui a mis à ma disposition tous les moyens nécessaires pour mener à bien mes travaux, je lui adresse mes vifs remerciements. Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance et mes très sincères remerciements à Dr. Harold Roy Macauley qui, le premier, m'a accueilli au CERAAS quand il était le directeur du centre.

Je n'aurais pu suivre mon stage au CERAAS sans l'aide précieuse du Dr. Serge Braconnier, responsable scientifique du centre. De par son expérience scientifique et sa vaste connaissance dans le domaine de l'adaptation à la sécheresse, il m'a toujours formulé des critiques constructives et donner des conseils éclairés sur le travail. Sans sa clairvoyance, sa disponibilité, son soutien moral et scientifique, la réalisation de ce document serait difficile. Qu'il me soit permis de lui exprimer mes sincères remerciements et de l'assurer de ma profonde gratitude.

Mes sincères remerciements à Dr. Ndeye Ndack Diop, qui a suivi, de très près, avec compétence et dévouement le déroulement de ce travail. Elle m'a donné le goût de la recherche en me confrontant à des problèmes passionnants et en m'initiant aux exigences de l'expérimentation scientifique. Sa confiance, la grande liberté d'action qu'elle m'a accordé, sa grande disponibilité, sa rigueur scientifique et ses encouragements m'ont été très bénéfiques. De par ses qualités humaines, elle m'a donné un soutien moral et m'a réconforté au cours des moments difficiles. Je tiens à lui adresser mes vifs remerciements et lui exprimer ma profonde reconnaissance.

Mes remerciements s'adressent aux physiologistes du CERAAS : Dr. Omar Diouf et Dr. Macoumba Diouf, pour avoir suivi toutes les étapes de mon expérimentation et d'avoir formulé des critiques constructives qui ont attribué à améliorer ce travail.

Mes remerciements s'adressent également au reste de l'équipe chercheurs du CERAAS : Dr. Jean-François Rami, M. Daniel Foncéka, Dr. François Lompo, Dr. Modou Sène, pour leurs conseils et remarques précieuses qu'ils m'ont fait tout au long du déroulement de mon expérimentation, et pour leurs remarques judicieuses pour la réalisation et la rédaction de ce travail.

Je remercie à tout cœur Pr. Ismail EL HADRAMI, professeur à l'université Cadi Ayyad de Marrakech au Maroc. De par sa compétence et rigueur scientifique, il a guidé mes premiers pas dans la recherche. Qu'il me soit permis de lui exprimer ma très profonde gratitude pour ses qualités intellectuelles, humaines

et morales et son profond respect de la personne humaine. Pour son soutien constant, son aide précieuse et l'intérêt porté à mon travail et à ma modeste personne.

Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance au Pr Amadou Tidiane BA d'avoir m'autoriser de m'inscrire dans le DEA au sein de son département et d'avoir accepter de juger ce travail comme président du jury, Dr. Aliou GUISSÉ Dr Diégane DIOUF pour l'enseignement de qualité qu'ils nous ont dispensé dans le cadre de l'AEA de Biologie Végétale et d'avoir accepter de faire partie des membres de jury et enfin Dr Samba THIAW de m'avoir fait l'honneur de juger ce travail malgré sa lourde charge.

Je remercie sincèrement tout le personnel du CERAAS avec une mention spéciale et un grand respect à M. Mbaye Ndoye Sall, technicien du laboratoire pour tout le soutien et l'aide qui m'a apporté. I. Dieng D. Sidi Bâ, P.M. Sall, M. Sall, et à travers eux tout le reste du personnel pour leur amitié et leurs encouragements.

Je tiens à associer à ce travail mes amis les stagiaires : les thésards, les étudiants du DEA et les élèves ingénieurs avec mention spéciale à N. Drami, R. Bayala, N. Fakis et B. Tricoche pour leur amitié et leurs encouragements qui ont permis de vivre dans climat chaleureux pendant et en dehors des heures de travail. Qu'ils soient assurés de ma très sincère gratitude.

Résumé :

Le niébé est une légumineuse qui joue un rôle fondamental dans la sécurité alimentaire des pays du Sahel. Il se heurte de plus en plus à un problème de déficit hydrique qui limite sa productivité. L'étude des mécanismes impliqués dans la tolérance à la sécheresse du niébé, au niveau cellulaire, devrait conduire à la caractérisation de marqueurs physiologiques de résistance pouvant être utilisés dans des programmes de sélection.

L'objectif de la présente étude est de tester, l'efficacité de caractères physiologiques simples, rapides et peu coûteux pour la discrimination des variétés de niébé en relation avec le stress hydrique. L'étude a porté sur 13 variétés de niébé issues de la collection de l'ISRA : 740, 755, 906, 961, 976, 977, 985, 993, 998, 2065, IT81D-1137, Melakh et Mouride. Ces variétés ont été mises en culture en serre en conditions d'alimentation hydrique normale et de déficit hydrique par suspension d'arrosage.

Le premier paramètre étudié concerne la stabilité des membranes cellulaires qui a été évaluée par le test de fuite d'électrolytes sur des disques foliaires sous un choc osmotique au polyéthylène glycol 4000. Les variétés n'étaient pas significativement différentes. Le régime hydrique, par contre, avait un effet significatif sur le comportement des variétés. En conditions d'alimentation hydrique normales, les valeurs de pourcentages de dommages relatifs étaient significativement plus élevées que sous déficit hydrique pour toutes les variétés étudiées.

Les 13 variétés ont été également caractérisées en utilisant le contenu en chlorophylles (chl) a, chl b et chl a+b, et la fluorescence chlorophyllienne. L'évolution des teneurs en chlorophylles a montré que la durée de l'application de la contrainte (10 jours de stress) n'était pas suffisante pour affecter les pigments chlorophylliens des variétés Melakh, IT81D-1137, 998 et 755. Les autres variétés : 906, 977, 985, 993, 740, 976, Mouride, 2065 et 961 ont été affectées à différentes dates selon leur degré de résistance ou de sensibilité au stress appliqué. Pour les indices de vitalité et de performance, un effet variétal et un effet régime hydrique ont été observés au 7^{ème} jour de stress, et un effet interaction au 10^{ème} jour de stress.

La mesure de la fuite d'électrolytes est très influencée par les variations des paramètres expérimentaux et par conséquent, ne semble pas indiquée pour le criblage d'un grand nombre d'échantillons. L'évolution des teneurs en chlorophylles a permis de mieux discriminer les variétés étudiées de point de vue photosynthétique.

Liste des abréviations

°C:	Degré Celsius	PS I:	Photosystème I
ABS:	Absorbance	PS II:	Photosystème II
ANOVA:	analyse of variance	PS:	Poids sec
CaCO₃	Carbonates de Calcium	RC:	Reactionnel Center
CERAAS:	Centre d'Etude Régional pour l'Amélioration de l'Adaptation à la Sécheresse	rpm :	Rotations par minute
Chl. :	Chlorophylle	SAS:	Statistics analyser system
CILSS :	Comité Inter états de Lutte contre la Sécheresse au Sahel.	SFI:	Structural and Fonctionnel Index
CL:	Conductivité libre	SNK:	Student Newman-Keuls
CNRA:	Centre National de Recherche Agronomique	STR:	Stressés.
CO₂ :	Dioxyde de carbone		
CT:	Conductivité totale		
DO :	Densité optique		
DR:	Dommage relatif		
ETM:	Evapotranspiration maximale		
FAO:	Food and Agriculture Organisation.		
ISRA:	Institut Sénégalais de Recherche Agronomique		
JAS:	Jours après semis		
Js:	jours de stress		
LED:	Light Emitting Diode		
Mkh:	Melakh		
MPa:	Méga pascal		
Mrd:	Mouride		
NPK:	Azote, phosphore et potassium.		
PDR :	Pourcentage de dommage relatif.		
PEA:	Plant Efficiency Analyser		
PEG:	Polyéthylène glycole		
PI:	Performance Index		
PIa:	Pourcentage d'intégrité absolue		
PLC :	Phospholipase C		
PLD :	Phospholipase D		

Liste des figures

Figure 1 : Pourcentage de dégâts membranaires mesuré après un choc osmotique ($\Psi_o = -2$ Mpa), des 13 variétés de niébé, cultivées en pots et soumises aux conditions d'alimentation hydrique normales (ETM) et à un déficit hydrique moyen ($\Psi_H = -1,5$ Mpa) par suspension d'arrosage (STR).....	18
Figure 2 : Moyennes des PDR mesurés après choc osmotique au PEG 4000 ($\Psi_o = -2$ Mpa) des plantes soumises aux conditions d'alimentation hydrique normale (ETM) et des plantes soumises à un déficit hydrique moyen ($\Psi_H = -1,5$ Mpa) par suspension d'arrosage (STR).....	19
Figure 3 : Différences de PDR des 13 variétés de niébé cultivées en pots et soumises aux conditions d'alimentation hydrique normale (ETM) et à un déficit hydrique moyen ($\Psi_H = -1,5$ MPa) par suspension d'arrosage (STR) suivi d'un choc osmotique au PEG 4000 ($\Psi_o = -2$ MPa).....	20
Figure 4 : Evolution du rendement quantique maximal de la photochimie (PHI (Po)), en fonction du nombre de jours de stress, chez 13 variétés de niébé, cultivées en pots et soumises aux conditions d'alimentation hydrique normales (ETM)	24
Figure 5 : Evolution du rendement quantique maximal de la photochimie (PHI (Po)), en fonction du nombre de jours de stress, chez 13 variétés de niébé, cultivées en pots et soumises à un déficit hydrique par suspension d'arrosage (STR)	25
Figure 6 : Evolution du flux d'énergie piégée par les centres réactionnels, en fonction du nombre de jours de stress, chez 13 variétés de niébé, cultivées en pots et soumises aux conditions d'alimentation hydrique normales (ETM).....	26
Figure 7 : Evolution du flux d'énergie piégée par les centres réactionnels, en fonction du nombre de jours de stress, chez 13 variétés de niébé, cultivées en pots et soumises à un stress hydrique par suspension d'arrosage (STR)	26
Figure 8 : Evolution de l'indice de vitalité, en fonction du nombre de jours de stress, chez 13 variétés de niébé, cultivées en pots et soumises aux conditions d'alimentation hydrique normales (ETM).....	27
Figure 9 : Evolution de l'indice de vitalité, en fonction du nombre de jours de stress, chez 13 variétés de niébé, cultivées en pots et soumises à un déficit hydrique par suspension d'arrosage (STR).....	27
Figure 10 : Evolution de l'indice de performance, en fonction du nombre de jours de stress, chez 13 variétés de niébé, cultivées en pots et soumises aux conditions d'alimentation hydrique normales (ETM).....	28
Figure 11 : Evolution de l'indice de performance, en fonction du nombre de jours de stress, chez 13 variétés de niébé, cultivées en pots et soumises à un déficit hydrique par suspension d'arrosage (STR)	28

Liste des diagrammes et tableaux

Diagramme 1 : Mécanismes d'adaptation à la sécheresse.	8
Tableau 1 : Quelques caractéristiques des 20 variétés de niébé étudiées (Cissé <i>et al.</i> , 2000)	12
Tableau 2 : Evolution de la concentration en chlorophylle a (mg par rapport au poids sec) chez 13 variétés de niébé en réponse au 2 régimes hydriques : alimentation hydrique normale (ETM), déficit hydrique moyen (STR).	21
Tableau 3 : Evolution de la concentration en chlorophylle b (mg par rapport au poids sec) chez 13 variétés de niébé en réponse au 2 régimes hydriques : alimentation hydrique normale (ETM), déficit hydrique moyen (STR).	22
Tableau 4: Evolution de la concentration en chlorophylle a+b (mg par rapport au poids sec) chez 13 variétés de niébé en réponse au 2 régimes hydriques : alimentation hydrique normale (ETM), déficit hydrique moyen (STR).	23

Table des matières

Introduction	1
I Etat de connaissances.....	3
I.1 Le niébé	3
I.1.1 Origine et domestication	3
I.1.2 Répartition géographique	3
I.1.3 Taxonomie.....	4
I.1.4 Botanique	4
I.1.5 Ecologie.....	4
I.1.6 Valeur alimentaire	5
I.1.7 Pression parasitaire.....	5
I.2 Les stratégies d'adaptation des plantes à la sécheresse.....	5
I.3 L'intégrité membranaire.....	8
I.4 La photosynthèse.....	9
II Matériel et Méthodes.....	11
II.1 Matériel végétal.....	11
II.2 Méthodes	11
II.2.1 Mise en culture	11
II.2.2 Traitement hydrique	11
II.2.3 Dispositif expérimental	13
II.2.4 Paramètres suivis.....	13
II.2.4.1 Potentiel hydrique foliaire.....	13
II.2.4.2 Fluorimétrie.....	14
II.2.4.3 Dosage des chlorophylles.....	15
II.2.4.4 Mesure de l'efflux d'électrolytes	16
II.2.5 Analyse des données	17
III Résultats	18
III.1 Fuite d'électrolytes.....	18
III.2 Teneurs en chlorophylles	20
III.3 La fluorescence	24
Discussion	29
Conclusion et perspectives.....	33
Références bibliographiques	34

Introduction

La sécheresse est un terme relatif, fondé sur la pluviométrie moyenne pour une zone donnée à un moment de l'année. C'est la résultante des effets cumulés du déficit hydrique du sol et de l'atmosphère, de hautes températures et de fortes irradiations lumineuses. Contrairement à beaucoup de phénomènes météorologiques qui sont soudains et éphémères, la sécheresse est plus insidieuse. Elle frappe progressivement une région et maintient son emprise au fil du temps. Dans certains cas graves, elle peut durer de nombreuses années, envahir de grandes surfaces parfois même à l'échelle d'un continent.

L'Afrique est l'un des continents les plus touchés par la sécheresse. Les pays du Sahel, en particulier, sont confrontés à des périodes de sécheresse récurrentes qui peuvent avoir des effets catastrophiques. Parmi les plus importants figurent la décimation des cultures et du bétail avec pour conséquence directe une pénurie alimentaire qui met en péril les situations économique et sanitaire des populations. Dans ces pays, 40% des populations vivent dans l'insécurité alimentaire (CILSS, 2004). Les personnes les plus touchées sont les femmes, les enfants en bas âge, les personnes âgées et handicapées.

Dans ces zones exposées aux aléas pluviométriques, il existe des plantes classées comme tolérantes au déficit hydrique et qui ont une forte valeur nutritionnelle. C'est le cas du niébé (*Vigna unguiculata*, Walp). Le niébé est une légumineuse tropicale qui occupe une place importante dans les productions végétales des zones semi-arides surtout en période de soudure. C'est aussi bien une culture vivrière qu'économique. Cette dernière décennie, l'étendue qu'elle occupait a considérablement fluctué à cause de la sécheresse résultant de l'irrégularité et de la forte variabilité spatio-temporelle des précipitations. Ce problème de déficit hydrique limite de façon significative le développement de la canopée chez le niébé et aboutit à des pertes de rendement (en matière sèche totale, en graines et en gousses) (Sarr *et al.*, 2001).

Face à ce constat, on assiste de plus en plus aux niveaux national, sous-régional et international à la mise en place de programmes d'amélioration de la productivité agricole. Réduire l'impact de la sécheresse et parvenir à l'autosuffisance alimentaire constituent des défis que les gouvernements, les services d'urgence, les chercheurs et les agriculteurs doivent relever en s'appuyant prioritairement sur la valorisation des ressources de la sous région et sur la prise de mesures préventives telles que le rationnement de la gestion de l'eau et la sélection de variétés plus adaptées et plus performantes. Dans ce cadre et afin d'identifier divers critères pouvant être utilisés dans des programmes de sélection chez le niébé, plusieurs travaux ont été réalisés sur la caractérisation agrophysiologique et moléculaire de cette légumineuse en utilisant différents paramètres comme : les échanges gazeux et la conductance stomatique (Hall *et al.*, 1992, 1997a), le potentiel hydrique (Pimentel *et al.*, 1999), la productivité et le développement racinaire (Sarr *et al.*, 2001), l'étude des systèmes racinaires

(Ogbonnaya *et al.*, 2003) et l'étude des marqueurs microsatellites (Otto, 2002 ; Nadjiam, 2002).

Dans le cadre de la présente étude, l'objectif est de tester l'efficacité de caractères physiologiques simples, rapides et peu coûteux pour le criblage pour la résistance à la sécheresse de 13 variétés de niébé en utilisant des paramètres physiologiques tels que l'intégrité membranaire, les teneurs en chlorophylles (a, b et a+b) et la fluorescence chlorophyllienne.

Ce mémoire se décline en cinq parties : une première partie présentant l'état de connaissances bibliographiques sur l'importance de niébé, et un aperçu sur les effets de la sécheresse sur l'intégrité membranaire et sur la photosynthèse. La deuxième partie porte sur les variétés de niébé utilisées et sur la méthodologie suivie pour mener notre étude. La présentation des résultats obtenus constitue la troisième partie et ils sont discutés dans la quatrième. Enfin, les conclusions et des perspectives sont présentées en dernière partie.

I Etat de connaissances

I.1 Le niébé

I.1.1 Origine et domestication

Le niébé, *Vigna unguiculata* (L.) Walpers, est originaire d'Afrique (Padulosi et Ng, 1997). En effet, son premier centre de domestication serait l'Afrique de l'Ouest (Baudoin et Maréchal, 1985). Il semblerait que les mouvements anciens d'échanges de culture et les routes de commerce entre l'Est et l'Ouest aient permis la diffusion du niébé d'une région à l'autre. Les grecs et les romains l'ont cultivé sous les noms de *Phaseolos* (Purseglove, 1984). Il a probablement atteint l'Europe à partir du Nord-Est de l'Afrique (Padulosi et Ng, 1997). Au Sénégal, le niébé a été introduit par le fleuve Sénégal en provenance probablement du Mali.

I.1.2 Répartition géographique

Le niébé est largement cultivé dans les régions tropicales et subtropicales couvrant une partie de l'Asie, du Moyen Orient, de l'Europe du Sud, de l'Afrique, du sud des USA et d'Amérique Central et du Sud. Mais sa production est particulièrement importante en Afrique Centrale et de l'Ouest avec plus de 9,3 millions hectares et 2,9 millions de tonnes par an (Fatokun *et al.*, 2002).

Les premiers producteurs de niébé en Afrique sont par ordre décroissant de quantité produite : Nigeria, Niger, Sénégal, Ghana, Mali et Burkina Faso. En 1999, le Nigeria et le Niger ont produit, respectivement, 2 099 000 et 641 000 millions de tonnes (FAOSTAT, 2000).

Au Sénégal, le niébé est la deuxième légumineuse cultivée après l'arachide dans les systèmes de culture traditionnels. Pendant la saison culturale 2001, la superficie occupée par le niébé a été estimée à 90 685 ha (Cissé et Hall, 2003). Le Nord et le Centre Nord constituent les principales zones de culture : la région de Louga englobe à elle seule près de la moitié des superficies. Environ 93% des superficies cultivées en niébé au Sénégal sont concentrées dans les régions de Louga (48%) dont 22% dans le département de Louga et 17% dans le département de Kébémér, la région de Diourbel (25%) avec 14% dans le département de Mbacké et la région de Thiès (20%) dont 12% dans le département de Tivaouane. La région du Fleuve englobe environ 5% des superficies totales cultivées, le reste se répartissant dans les autres régions et principalement en Basse Casamance et au Sénégal Oriental. La production nationale annuelle a également fluctué pendant la dernière décennie entre 13 000 et 80 000 tonnes avec une moyenne de 30 000 tonnes (Cissé *et al.*, 1996).

I.1.3 Taxonomie

Le niébé est une dicotylédone de l'ordre des *Fabales*, de la Famille des *Fabaceae*, de la sous-famille des *Faboideae*, de la tribu des *Phaseoleae*, du genre *Vigna* et de la section *Catiang* (Maréchal *et al.*, 1978). Il appartient à l'espèce botanique *Vigna unguiculata* (L.) Walpers. C'est un genre pantropicale et le nombre d'espèces varie selon les auteurs, de 84 à 184 (Hall *et al.*, 1997b)

I.1.4 Botanique

Le niébé est une légumineuse herbacée, annuelle, à port semi érigé, érigé ou rampant. Les feuilles sont généralement alternes, pétiolées et trifoliées, mais les deux premières feuilles sont opposées, sessiles et entières. Les folioles mesurent 3 à 10 cm de long sur 2 à 3 cm de large vers le bas et de 10 à 15 cm vers le milieu. Chaque nœud de la tige porte deux stipules et trois bourgeons axillaires. Les fleurs en glomérule, long de 10 à 12 mm, elles sont blanchâtres, parfois jaunâtres ou violettes. Le fruit est une gousse cylindrique longue de 7 à 10 cm sur 4 à 5 mm, qui contient des graines globuleuses, réniformes, lisses ou ridées, de couleur blanche, verte, jaune, brune, noire ou tachetée. La racine pivotante bien développée permet au niébé de s'adapter à la descente des nappes d'eau en culture de décrue. Les racines présentent des nodules renfermant des bactéries fixatrices d'azote.

Le cycle de développement, du semis à la maturité, varie selon les variétés entre 55 et 60 jours pour les variétés à cycle court et au delà de 75 jours pour les variétés à cycle long (Cissé *et al.*, 1996). La durée de la phase de la levée à la pleine floraison (50% de floraison) varie de 44 à 77 jours pour les variétés cultivées au Sénégal.

I.1.5 Ecologie

Le haricot niébé est adapté à l'environnement du Sénégal et on peut distinguer 2 types de culture pour son exploitation :

- ❖ Culture de saison, dans les régions Nord et dans les zones de climat océanique.
- ❖ Culture de contre saison réalisée sur les périmètres irrigués de la vallée du fleuve Sénégal ou dans les zones en voie d'assèchement dû au retrait des eaux.

Le niébé tolère des sols à faible fertilité grâce à sa grande capacité de fixation d'azote au niveau des nodules (Elowad et Hall, 1987), sa symbiose mycorhizienne (Kwapata et Hall, 1985), et son aptitude à résister aux conditions d'acidité et d'alcalinité des sols (Fery, 1990). Sa culture est recommandée sur les sols Dior ou Dior-deck, à pH compris entre 6 et 7 et ayant un bon drainage. Sur ces sols sablonneux, l'aération des racines conduit à un meilleur développement des plantes et à des meilleurs rendements. Ce type de sol est rencontré sur la grande majorité du territoire sénégalais.

Le niébé est peu exigeant vis à vis des quantités d'eau, il est adapté aux zones à faibles pluviométries. En effet, ses besoins en eau sont de l'ordre de 300 à 350 mm (Fretaud et Dancette, 1983). Sa température optimale pendant toute la durée du cycle est d'environ 28°C (Craufurd *et al.*, 1997)

I.1.6 Valeur alimentaire

Le niébé présente une source précieuse de protéines dont le taux élevé et l'excellente qualité le destine à jouer un rôle clé dans l'équilibre nutritionnel des populations vivant dans les zones marginales d'Afrique au sud du Sahara. Il permet de fournir plus de la moitié des protéines consommées (Pasquet et Baudoin, 1997) et contribue à la lutte contre la déficience protéinique des enfants. En effet, une alimentation composée (en poids sec) de 25% de niébé et 75% de céréales (mil, riz ou maïs) satisfait les besoins quotidiens en protéines de l'homme (Cissé *et al.*, 1996). Il présente un appoint important de produit vivrier en période de soudure (la période où les réserves de l'année précédente sont écoulées et la nouvelle récolte n'est pas encore réalisée)

I.1.7 Pression parasitaire

La pression parasitaire reste l'un des problèmes cruciaux de la culture du niébé au Sénégal. En effet, cette plante est très attaquée à tous les stades de son développement (Tardieu et Sène, 1966) :

- En début de stade végétatif : ce sont les chenilles poilues d'*Amsacta moloneyi* qui peuvent détruire très rapidement un semis bien réussi.
- A partir de la floraison : ce sont des chenilles diverses des feuilles et des gousses (exemple : *Prodenia litura*). Dans les zones humides, Centre Nord et Sud ce sont essentiellement les thrips qui attaquent le niébé (Cissé *et al.*, 1996)
- Les apions (*Piezotrachelus varium*) causent également beaucoup de dégâts sur les gousses.
- En fin de cycle : ce sont *Jassides* et *Bemisia* qui, par leurs piqûres, affaiblissent les plantes. Ils sont en plus vecteurs de viroses.
- Les nématodes sont également responsables de mortalité, surtout en octobre quand les pluies sont quasiment terminées.
- En cours de stockage, les bruches (surtout *Callosobruchus sinensis*) sont les ennemis les plus dangereux (Tardieu et Sène, 1966).

I.2 Les stratégies d'adaptation des plantes à la sécheresse

La tolérance à la sécheresse est définie comme étant la capacité des plantes à vivre, à croître et à donner un rendement satisfaisant avec un apport d'eau limité ou bien sous déficit hydrique périodique (Ashley, 1993). Pour parvenir à s'adapter à la sécheresse, les végétaux ont développé plusieurs stratégies (Turner *et al.*, 2001), dont :

L'esquive

Il s'agit d'une modification de la durée du cycle de développement pour éviter les effets de la contrainte hydrique, en particulier lors d'une phase sensible ou précoce. En fait, la plante réalise son cycle complet de développement, de la germination à la formation de graines, avant l'installation du déficit hydrique critique, de ce fait le cycle est effectué pendant les périodes de disponibilité de l'eau (Annerose et Cornaire, 1994).

L'évitement

Cette stratégie permet à la plante de maintenir un potentiel hydrique élevé en conditions de déficit hydrique (Belhassen *et al.*, 1995). L'évitement pourrait se manifester par :

- ✓ La réduction des pertes en eau qui se réalise grâce à des modifications morphologiques, anatomiques ou métaboliques :
 - Enroulement foliaire (Belhassen *et al.*, 1995).
 - Réduction de la transpiration par accumulation de l'acide abscissique (Turner *et al.*, 2001),
 - Réduction de la transpiration épidermique (Belhassen *et al.*, 1995),
 - La fermeture des stomates (Louguet, 1984),
- ✓ L'amélioration de l'absorption racinaire par une augmentation du diamètre, du nombre de vaisseaux conducteurs et de la masse racinaire par rapport à celle des parties aériennes, pour avoir un volume de sol exploré supérieur (Ben-Naceur *et al.*, 1992).

La tolérance à la déshydratation

Ce mécanisme est lié à la capacité d'une plante à maintenir l'intégrité des structures et les fonctions métaboliques des tissus en conditions de déficit hydrique (Keim et Kronstad, 1981).

Elle pourrait se manifester par :

- ✓ Le maintien de la turgescence grâce au phénomène d'ajustement osmotique (Belhassen *et al.*, 1995 ; Bohnert *et al.*, 1995) qui consiste en une accumulation active, au niveau symplasmique, de certains solutés, notamment la proline (Turner *et al.*, 2001) et la déhydrine (Suprnova *et al.*, 2002).
- ✓ La résistance à la déshydratation qui se caractérise par une diminution de l'activité chimique de l'eau, par une réduction de l'hydratation des macromolécules et par une altération des membranes cellulaires (Belhassen *et al.*, 1995). La tolérance à la déshydratation se manifeste, également, chez les plantes par la résistance biochimique des enzymes et des protéines membranaires et cytoplasmiques à la dénaturation et à la dégradation (Monneveux et This, 1997).

Cas du niébé

Le niébé est, de loin, la plante la plus adaptée et la plus tolérante au stress hydrique, dans les zones à pluviométrie déficitaire, parmi les légumineuses (Ehlers et Hall, 1997). Mais, il

souffre encore de dommages considérables dues à la sécheresse très fréquente dans la région sahélienne où les pluies sont irrégulières (Singh *et al.*, 1999).

Plusieurs études ont permis d'observer différents mécanismes de tolérance à la sécheresse chez le niébé au niveau de la capacité à réduire les pertes en eau par changement de l'orientation des feuilles, réduction de la surface foliaire et diminution de la conductance stomatique (Shackel et Hall, 1979). La fermeture stomatique est un critère majeur de la réponse physiologique à la sécheresse chez le niébé (Nwalozie et Annerose, 1996). Une étude agronomique (Sarr *et al.*, 2001) a permis de montrer que le niébé maintient sa productivité sous stress hydrique en optimisant l'absorption hydrique par un allongement racinaire et une ramification secondaire dans les couches humides profondes. Au point de vue morphologique, deux mécanismes de tolérance à la sécheresse au stade végétatif précoce (plantule) ont été observés chez le niébé (Maï-Kadomi *et al.* 1999) :

- Un arrêt de croissance et une conservation de l'humidité au niveau de tous les tissus pendant une période de deux semaines, suivi d'un dessèchement graduel et simultané.
- Une élimination des feuilles unifoliées par une sénescence précoce et maintien d'une croissance lente et continue des feuilles trifoliées et des bourgeons turgescents permettant ainsi aux plantules de survivre assez longtemps.

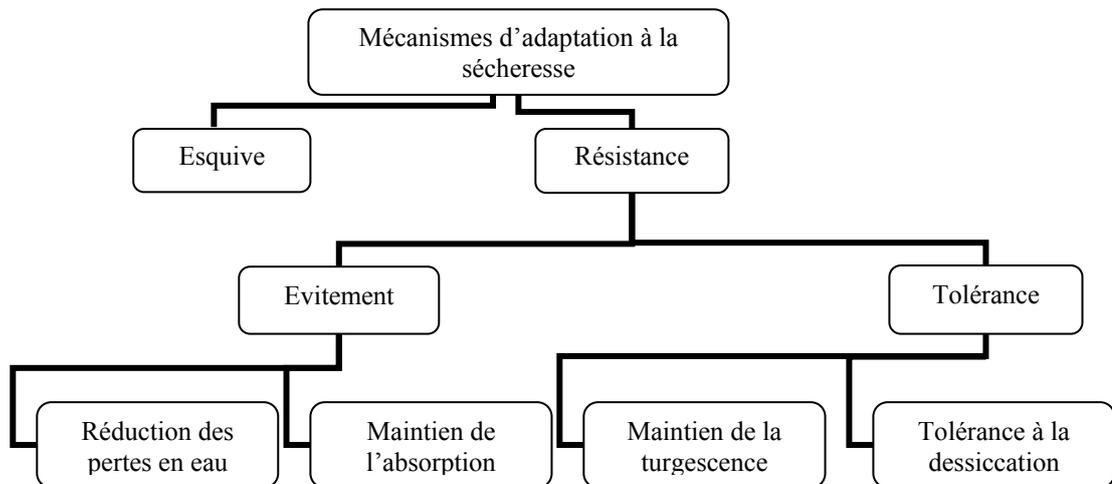


Diagramme 1 : Mécanismes d'adaptation à la sécheresse.

I.3 L'intégrité membranaire

La membrane cellulaire constitue la première interface entre la cellule et le milieu extérieur. C'est donc l'une des premières cibles des stress environnementaux. La perte de l'intégrité membranaire se traduit par une augmentation de la perméabilité cellulaire (Seneratna et McKersie, 1983) ce qui entraîne l'augmentation de l'efflux d'ions. L'altération des structures membranaires provoque une modification de la compartimentation cellulaire suite à une augmentation de l'activité des enzymes hydrolytiques.

La composition lipidique des membranes cellulaires varie en réponse à la contrainte hydrique et témoigne du niveau de leur destruction. Le déficit hydrique induit une diminution de la teneur en phospholipides et du degré d'insaturation des acides gras. Plus les phospholipides et les galactolipides sont désaturés (forte teneur en C 18 :3) plus la plante est sensible (Repellin *et al.*, 1997), autrement dit, il existe une corrélation forte entre la concentration des acides gras polyinsaturés et le degré de tolérance à la sécheresse. Les principales enzymes responsables de la dégradation des phospholipides membranaires sont les phospholipases (Sahsah *et al.*, 1998). Parmi elles, une phospholipase D (PLD) a été isolée, clonée et séquencée. L'étude de son expression montre qu'elle est induite par la contrainte hydrique (El Maarouf *et al.*, 1999). Une phospholipase C (PLC) a également été étudiée. Elle est présente sous deux isoformes chez le niébé et semble être impliquée dans la production de messagers secondaires pour la mise en place de mécanismes adaptatifs en réponse à la contrainte hydrique (El Maarouf *et al.*, 2001)

Les protéines, autres composants majeurs des membranes, sont également soumises à l'impact de la contrainte hydrique. Cet impact consiste en une diminution des teneurs en

protéines foliaires. Ce phénomène résulte d'une modification de l'équilibre entre la synthèse et la dégradation des protéines cellulaires suite à une activation des protéinases (Roy-Macauley, 1993). En effet, des études ont montré l'existence de trois groupes de protéinases dans les extraits de feuilles de légumineuses. Ces protéinases ont été bien étudiées, la cystéine protéinase (Forsthoefel *et al.*, 1998), et l'aspartyl protéinase (Cruz de Cavalho *et al.*, 2001) et la sérine protéase (Cruz de Cavalho *et al.*, 2001 ; Clavel *et al.*, 2002). La diminution des teneurs en protéines est différentielle, certaines protéines sont plus affectées que d'autres (Dhindsa et Cleland, 1975). En effet, les protéines chloroplastiques, en particulier thylacoïdales sont les plus touchées par la sécheresse, ceci est corrélé au degré de sensibilité des plantes (Roy-Macauley, 1993), ainsi, plus le cultivar est sensible plus la diminution de la teneur en protéines chloroplastiques est importante. Plusieurs travaux ont mis en évidence la synthèse de nouvelles protéines sous stress hydrique (Sachs et Ho, 1986 ; Vartanian *et al.*, 1987)

Le maintien de l'intégrité et de la stabilité des membranes cellulaires est un bon indice de la tolérance des plantes à la sécheresse (Riga et Vartanian, 1999 ; Bajji *et al.*, 2001), des températures basses (Coursolle *et al.*, 2000 ; Tamura, 2000 ; Vainola et Repo, 2000), des températures élevées (Ismail et Hall, 1999; Maheswary *et al.*, 1999; Saelim et Zwiazek, 2000), de la pollution de l'air (Garty *et al.*, 2000), du stress salin (Chen *et al.*, 1999; Sreenivasulu *et al.*, 2000), de l'acidité (Spencer et Ksander, 1999), des métaux lourds (De et Mukherjee, 1996) et également de la réponse à des stress biotiques (Adam *et al.*, 2000; Sriram *et al.*, 2000).

Récemment, il a été démontré que la tolérance membranaire peut être corrélée à des paramètres physiologiques, biochimiques et agronomiques qui conditionnent les réponses de la plante aux contraintes environnementales, par exemple : spectre de réflectance (Garty *et al.*, 2000 ; Vainola et Repo, 2000), synthèse des enzymes anti-oxydatives (Liu et Huang, 2000 ; Sreenivasulu *et al.*, 2000), concentration des lipides acides dans la membrane (Lauriano *et al.*, 2000), l'efficacité d'utilisation de l'eau (Franca *et al.*, 2000 ; Saelim et Zwiazek, 2000) et la productivité (Diop, 2002).

I.4 La photosynthèse

La photosynthèse est un facteur déterminant de la productivité végétale. Elle est le processus par lequel la lumière solaire incidente est convertie en biomasse. La photosynthèse comporte 2 aspects : le premier consiste en la captation de l'énergie lumineuse et sa conversion en énergie chimique. Le deuxième aspect consiste en l'utilisation de cette énergie chimique pour fixer le CO₂ au niveau du stroma chloroplastique.

Dans le chloroplaste, le siège de la photosynthèse, se trouvent les pigments chlorophylliens qui assurent la collecte et le transfert de l'énergie lumineuse vers les centres réactionnels au niveau desquels s'effectue la photoconversion. Ce processus fait intervenir les photosystèmes I et II (PS I et PS II) qui sont composés de protéines associées à des pigments chlorophylliens (Govindjee, 1974).

L'énergie photonique reçue par la plante, au niveau des pigments « antennes collectrices » des PS I et PS II, se répartit entre différentes voies de désexcitation (Desouky, 1994) :

- Le transfert de l'énergie absorbée vers les pigments voisins ;
- L'émission d'un photon (fluorescence et phosphorescence) ;
- Le transfert de l'énergie des antennes du PS II vers les antennes du PS I ;
- L'activité photochimique ;
- L'émission de chaleur (désexcitation non radiative).

Le déficit hydrique limite la photosynthèse à l'intérieur du chloroplaste. Cet effet de déficit hydrique se fait sentir par la plante à différents niveaux. Il provoque la fermeture des stomates (Turner, 1979 ; Ahmadi, 1983 ; Repellin *et al.*, 1994) ce qui augmente la résistance à la diffusion du CO₂ (Stayler, 1973) et perturbe la dissipation de l'énergie (Ouédraogo, 2000). Ce phénomène se traduit par une augmentation de l'émission de fluorescence chlorophyllienne. Le signal de fluorescence permet de mettre en évidence les limitations photosynthétiques avant l'apparition des premiers symptômes visibles (Eyletters et Bourrié, 1996). Les changements relatifs dans les teneurs en pigments chlorophylliens et le signal de fluorescence chlorophyllien ont été utilisés pour évaluer l'effet de la sécheresse sur la photosynthèse chez le niébé (Scotti Campos, 1998 ; Goalbaye, 2001), la pomme de terre (Van der Mescht *et al.*, 1999), le bananier (Thomas et Turner, 2001) et le blé (Nyachiro *et al.*, 2001).

II Matériel et Méthodes

II.1 Matériel végétal

Treize variétés de niébé provenant de la collection de l'ISRA de Bambey ont été étudiées : 740, 755, 961, 976, 977, 985, 993, 998, 2065, IT81D-1137, Melakh et Mouride.

Les caractéristiques de ces variétés définies à partir des tests agronomiques conduits par les sélectionneurs au CNRA de Bambey sont répertoriées dans le tableau 1.

II.2 Méthodes

II.2.1 Mise en culture

Les plantes ont été cultivées en serre au CERAAS à Thiès (14°42'N ; 16°28'O). La serre est équipée d'un système de refroidissement. Ce système est basé sur la circulation dans le compartiment d'un air préalablement refroidi par passage à travers des clayettes humidifiées par circulation d'eau froide. La circulation de l'air est assurée par un extracteur qui se déclenche lorsque la température est trop élevée ou l'humidité est trop basse par rapport aux réglages programmés.

Les graines ont été semées dans des pots de 2 litres remplis de 3 kg de sol Deck-Dior qui est un sol ferrugineux tropical, faiblement lessivé, peu évolué, à faible teneur en argile (7 à 9,3%) et à pH compris entre 6 et 6,3 (Sarr *et al.*, 1999) souvent trouvé dans les zones Nord et Centre-Nord du Sénégal. Trois graines, préalablement traitées au Granox (fongicide : Captafol 10%, Benomyl 10% et Carbofuran 20%) ont été semées par pot à une profondeur d'environ 3 cm après un arrosage à la capacité au champ la veille. Les plantes ont été arrosées quotidiennement pendant 4 semaines. Au 10^{ème} jour après semis (JAS), le démariage à une plante par pot a été réalisé ainsi qu'un apport d'engrais NPK, 6-20-10 à la dose de 0.247g par pot.

II.2.2 Traitement hydrique

Au 30^{ème} JAS, deux traitements hydriques ont été appliqués. Le premier a permis de maintenir les plantes en évapotranspiration maximale (ETM, témoins) par un arrosage journalier jusqu'à la fin de l'expérimentation. Le second traitement a consisté à placer les plantes en conditions de déficit hydrique par suspension d'arrosage

Tableau 1 : Quelques caractéristiques des 20 variétés de niébé étudiées (Cissé *et al.*, 2000)

Variétés	Pedigree	Port	50% Flor.	95% Mat.	Cycle (j)	Poids De 100g	Rdt (kg/h)	CAbMV	Chancre bactérien	Striga	Amsacta	Pucerons	Thrips	Bruches	Sécheresse
976	504* B 21		43	75		23	1,836								
740	57* (283*2246-4)		45	72		23	2,384								
961	B21*504	Semi-érigé	47	75		29	0,676								
906	275*504	Semi-érigé	45	74		22	2,344								
977	504*B21		42	66		26	1,495								
2065	275*58-77	Semi-érigé	39	64		21	1,392								
Melakh	IS86-292*IT83S-742-13	Rampant	38	65	55-60	21	1,800	+	-	-	-	+	-	-	
985	283*504		37	63		27	1,992								
Mouride	58-57*IT81D-1137	Semi-érigé	42	68	55-60	18	2,277	+	+	+	-	-	-	-	+
993	283*504		40	66		22	1,478								
IT81D-1137	Variété locale	Semi-érigé						+	+	+	+	+	+	+	
998	504*283		48	73		23	2,819								
755	57* (283*2246-4)		43	68		24	2,129								

Croi. =croissance ; Dét.= Déterminée ; Indét.= Indéterminée ; Flor.= Floraison ; Mat.= Maturation ; Rdt= Rendement ; + = résistant ; - = sensible.

II.2.3 Dispositif expérimental

Le dispositif est en blocs complets randomisés (Annexe 1). Les facteurs étudiés sont la variété à 13 niveaux (13 variétés) et le régime hydrique à 2 niveaux (témoin et stress). L'ensemble du dispositif comporte 3 répétitions et chaque unité élémentaire est composée de 2 pots.

II.2.4 Paramètres suivis

II.2.4.1 Potentiel hydrique foliaire

Le potentiel hydrique foliaire est considéré comme un bon indicateur de l'état hydrique de la plante. La photosynthèse, l'allongement cellulaire, l'ouverture stomatique etc. sont très influencés par le potentiel hydrique.

C'est une grandeur thermodynamique intensive (ne dépend pas de la masse d'eau) qui détermine le sens des échanges d'eau entre deux points de l'ensemble formé par le sol, le végétal et l'atmosphère. Le potentiel hydrique donne une idée sur l'intensité du stress hydrique de la culture. Il traduit l'état de liaison de l'eau à l'intérieur des tissus végétaux. Il est défini en termes d'énergie nécessaire pour extraire une masse unitaire d'eau du tissu végétal, et est évalué par rapport à l'état référentiel (potentiel de l'eau pure libre fixé à 0). Il est la somme algébrique des potentiels osmotiques et de turgescence :

$$\Psi_H = \Psi_O + \Psi_T \quad \text{avec les termes } \Psi_H \text{ et } \Psi_O < 0 \text{ et } \Psi_T > 0.$$

Ψ_T = potentiel de turgescence correspondant à la pression hydrostatique positive à l'intérieur des cellules.

Ψ_O = potentiel osmotique traduisant l'action des solutés dilués dans la sève sur la membrane cellulaire.

Le potentiel hydrique d'un système est l'énergie libre de l'eau dans ce système. Il est mesuré à l'aide d'une chambre à pression ou à l'aide de la presse à membrane. Lorsqu'on excise un organe végétal et dans cette étude la feuille, la colonne d'eau est interrompue et se rétracte dans les vaisseaux. La pression appliquée sur la feuille en utilisant la chambre à pression, jusqu'à l'apparition du ménisque de sève dans la zone sectionnée correspond à la pression à laquelle la sève était préalablement soumise dans le xylème.

Les valeurs du potentiel hydrique peuvent être mises en rapport avec les aptitudes de la plante à résister à la contrainte hydrique. Ainsi, une plante qui en conditions de déficit hydrique, possède un potentiel hydrique élevé sera considérée comme tolérante.

Ce paramètre a été mesuré sur les plantes stressées pour déterminer le moment de prélèvement des disques foliaires afin d'effectuer les mesures de fuite d'électrolytes sur des tissus ayant atteint le même niveau de déficit hydrique correspondant à $\Psi_H = -1,5$ MPa, considéré comme un déficit hydrique moyen pour le niébé.

Principe de mesure

La 3^{ème} feuille en partant de l'apex, est coupée à la base du pétiole à l'aide d'une lame de rasoir est introduite dans la chambre à pression (type PMS 1000, PMS Instrument Co, Corvallis, Oregon, USA). Le pétiole émerge à l'extérieur de la chambre qui est hermétiquement fermée. La pression est exercée par introduction progressive d'un gaz inerte (air comprimé ou azote) dans la chambre jusqu'à l'apparition du ménisque de sève au niveau du canal du xylème. La sève sortant par les canaux secondaires n'est pas prise en considération. La pression enregistrée correspond au potentiel hydrique.

II.2.4.2 Fluorimétrie

La première étape de la photosynthèse dans tous les tissus végétaux verts, consiste en l'absorption de la lumière par les molécules de chlorophylle. Même si la majeure partie de cette énergie lumineuse (~ 85%) est utilisée à l'intérieur du processus photosynthétique, une certaine quantité d'énergie d'excitation est perdue en fluorescence (3 à 5% d'émission de lumière).

La fluorescence chlorophyllienne s'effectue pendant la phase claire de la photosynthèse au cours des transferts de l'énergie d'excitation entre les molécules de chlorophylle a (processus primaires de la photosynthèse). Elle constitue un processus de désactivation des pigments excités. En effet, lorsque les molécules du photosystème reçoivent des photons, elles passent à l'état excité. Le retour à l'état fondamental s'effectue par différentes voies de désexcitation dont la conversion chimique, la dissipation thermique et la fluorescence.

Lorsque la plante est dans un environnement non contraignant (bonne alimentation minérale et hydrique, température et ensoleillement adaptés...), le fonctionnement de ses photosystèmes est optimal. Alors que, si la plante subit une contrainte entraînant la dégradation de ses photosystèmes, la part non transformée de l'énergie reçue augmente résultant ainsi en une augmentation de la restitution sous forme de fluorescence. Ce qui implique un rendement photosynthétique plus faible.

Ainsi l'augmentation de l'émission de fluorescence chlorophyllienne permet d'indiquer une perturbation de la dissipation d'énergie par photochimie. Par sa facilité et sa rapidité de mesure, sa richesse en informations sur l'activité photochimique notamment celle du PS II, le signal de fluorescence revêt un grand intérêt écophysiological. Elle provient essentiellement de la chlorophylle (a) des plantes et peut être mesurée par un fluorimètre de type Hansatech (modèle PEA – Plant Efficiency Analyser-, Hansatech Instruments Ltd, King's Lynn, UK).

Principe de fonctionnement du PEA et paramètres mesurés

Le PEA est un fluorimètre non-modulé possédant un système d'acquisition rapide des données. Des clips sont employés pour adapter la zone de mesure de la feuille à l'obscurité pour assurer une ouverture maximale des centres réactionnels. La source lumineuse comprend 6 LEDs (Light Emitting Diodes) qui fournissent une intensité de $600 \text{ W}^\circ\text{m}^{-2}$ de lumière rouge ($\lambda=630$). Cet

ensemble permet l'illumination de la zone mise préalablement à l'obscurité et la détection du signal de fluorescence qui en résulte.

Le PEA permet de mesurer une série de paramètres qui sont à la base du calcul d'un certain nombre d'expressions biophysiques et phénoménologiques conduisant à la description dynamique d'un échantillon photosynthétique à un état physiologique donné (Strasser, 1988).

Dans notre étude, la fluorescence chlorophyllienne a été mesurée le 2^{ème}, 4^{ème}, 7^{ème} et 10^{ème} jours après suspension de l'arrosage entre 12h et 14h. Les résultats de quatre paramètres de fluorescence ont été considérés :

ABS/ CR : Flux d'énergie d'excitation piégé au niveau des centres réactionnels.

PHI (Po) : Rendement maximal de la photochimie ou rendement photochimique qui représente la probabilité qu'un photon absorbé par les antennes sert effectivement à une séparation des charges, alimentant ainsi la voie photochimique.

SFI (abs) : Indice de vitalité, c'est un bon indicateur de l'intégrité et de la fonctionnalité de l'appareil chloroplastique au niveau de la surface foliaire illuminée.

PI (cso) : Indice de performance : il compare le flux de dissipation non photochimique au flux d'énergie utilisé pour la conversion photochimique.

II.2.4.3 Dosage des chlorophylles

L'énergie lumineuse est captée dans les chloroplastes des végétaux verts par des substances colorées ou pigments qui appartiennent à deux groupes chimiques distincts :

Le groupe des tétraterpènes ou caroténoïdes, substances de couleur jaune, constitué par les carotènes, qui sont des hydrocarbures, et par les xanthophylles, qui diffèrent par la présence d'oxygène dans leurs molécules.

Le groupe des porphyrines représenté par les chlorophylles, de coloration verte, dont les molécules comportent un noyau porphyrique, constitué de quatre groupes pyrroliques reliés entre eux par quatre radicaux méthéniques et combinés à un atome de magnésium. Il existe deux types de chlorophylles, chlorophylle (a) et chlorophylle (b). La chlorophylle (a) comporte un groupement méthyle (CH₃) sur l'un des pyrroles alors que la chlorophylle (b) a un formyle (CHO).

Les chlorophylles sont des photorécepteurs très efficaces avec deux bandes d'absorption extrêmement fortes, une bande dans la région bleue du spectre (de 380 à 470 nm) et une bande dans la région rouge (600 à 700 nm). L'action des deux chlorophylles se complète car là où l'absorbance de l'une est déficiente, c'est l'autre qui complète.

Les pigments de végétaux sont en association étroite avec les complexes lipoprotéiques qui constituent les membranes. Afin d'extraire les pigments de ces complexes, il est nécessaire d'utiliser un solvant présentant des caractéristiques amphipolaires de façon à dissocier les liaisons tant polaires que non polaires existant entre les divers constituants de ces membranes et de libérer

ainsi les molécules pigmentaires lipophiles. Les mesures des teneurs en chlorophylles ont été faites le 2^{ème}, 4^{ème}, 7^{ème} et 10^{ème} jours après l'application du stress.

La manipulation est effectuée à l'abri de la lumière et de la chaleur car les chlorophylles sont des pigments très photo- et thermolabiles. Le matériel végétal a été pesé (0,25 à 0,5g), placé dans un mortier préalablement refroidi avec des grains de quartz et une pincée des carbonates du calcium (CaCO₃) qui neutralisent l'acidité vacuolaire libérée au cours du broyage, puis broyé dans 4 ml d'acétone 80%. Le volume du broyat est déterminé à l'aide d'une éprouvette et ensuite centrifugé à 14000 rpm pendant 3 min. Le surnageant est récupéré dans un tube entouré du papier aluminium. Les densités optiques (DO) à 645 et 663 nm sont lues au spectrophotomètre.

Calcul des teneurs en chlorophylles : coefficients de Mackinney (1941) et Arnon (1949) :

$$\text{Chl a (mg /l)} = 12.7 \times \text{DO663} - 2.49 \times \text{DO645}$$

$$\text{Chl b (mg /l)} = 22.9 \times \text{DO645} - 4.68 \times \text{DO663}$$

$$\text{Chl a + b (mg /l)} = 8.02 \times \text{DO663} + 20.20 \times \text{DO645}$$

Calcul de la concentration de chlorophylles par rapport au volume d l'extrait :

$$\text{Chl a} = \frac{\text{X mg} \times \text{Volume total de l'extrait (ml)}}{1000} = \text{Y mg}$$

Calcul de la concentration des chlorophylles par rapport au PS :

$$\text{Chl a} = \frac{\text{Y mg}}{\text{PS}}$$

Pour la chlorophylle b et les chlorophylles a+b, le calcul est identique.

II.2.4.4 Mesure de l'efflux d'électrolytes

Le déficit hydrique peut causer des dégâts au niveau des membranes cellulaires en dissociant leur structure et par conséquent, provoquant une décompartmentation cellulaire suite à une augmentation de l'activité des enzymes hydrolytiques. Une conséquence de la perte de l'intégrité membranaire est l'augmentation de la perméabilité de la cellule qui entraîne une augmentation de l'efflux d'ions. Le test de la fuite d'électrolytes est un critère pertinent qui permet d'évaluer indirectement les dommages subis par les membranes cellulaires des plantes. Il est basé sur la mesure de la conductivité électrique d'un milieu aqueux contenant des disques foliaires ayant subi un stress osmotique *in vitro* dans une solution de PEG-4000.

Les disques (40 à 45 de 1 cm de diamètre) sont prélevés à partir de la 3^{ème} feuille en partant de l'apex sur des plantes bien arrosées (ETM) et plantes soumises à un stress hydrique moyen ($\Psi_H = -1,5$ MPa). Les disques foliaires sont rincés 3 fois dans une boîte de pétri contenant 150 ml d'eau

distillée, pendant 30 min. Ce rinçage permet d'éliminer les solutés de la surface foliaire, des cellules endommagées par la coupe et des espaces intercellulaires (Bajji *et al.*, 2001). Ensuite, 18 disques foliaires sont transférés dans une boîte de pétri contenant 20 ml d'eau distillée, et 18 autres dans 20 ml de la solution de PEG 4000 ($\Psi_0 = -2$ MPa à 25°C). L'ensemble des boîtes est placé à l'obscurité pendant 6 heures à température ambiante. Après incubation, les disques foliaires sont rincés 3 fois rapidement dans de l'eau distillée, et séparés par lot de 6 par tube à essai contenant 12 ml d'eau distillée. Les tubes sont placés pendant 18 heures à 5°C et régulièrement agités pour équilibrer les échanges ioniques. La lecture des conductivités libres (CL) est faite à l'aide d'un conductimètre (Solea, type CD 6 NG, LYON)

Les tubes sont autoclavés à 100° C pendant 1 heure pour détruire totalement les cellules. Après refroidissement à température ambiante, les tubes sont placés à 5° C pendant 18 heures pour une diffusion totale des électrolytes, puis la conductivité totale (CT) est mesurée à température ambiante.

Le calcul du DR s'effectue comme suit :

$$DR\% = 100 - [(PIa S / PIa T) \times 100]$$

Où PIa S et PIa T représentent, respectivement les pourcentages d'intégrité absolue des disques stressés au PEG et témoins.

$$PIa \% = (1 - CL / CT) \times 100$$

Où CL et CT représentent, respectivement, les conductivités libre et totale.

II.2.5 Analyse des données

Le traitement des données de mesures des paramètres physiologiques a été fait à l'aide du tableur Excel. Les analyses ont été réalisées à l'aide du logiciel SAS /STAT (SAS Institute Inc., Cary, USA. 1999-2001). Les données ont été soumises à une analyse de variance (ANOVA) et le test de Student Newman-Keuls (SNK) au seuil de 5% a été utilisé pour la comparaison des moyennes.

III Résultats

III.1 Fuite d'électrolytes

La résistance protoplasmique des 13 variétés de niébé a été évaluée au moyen du test de la fuite d'électrolytes. Les disques foliaires des plantes témoins et contraintes ont été stressés par un choc osmotique (PEG 4000 ; $\psi_o = -2$ MPa).

Les analyses statistiques montrent que les variétés ne sont pas significativement différentes (Annexe 2). Il semble cependant que chez les témoins (figure 1), les variétés Mouride et 976 ont les plus faibles PDR (pourcentage de dommage relatif) avec respectivement 19,6 et 21,8%. Les variétés 977 et 998 présentent les valeurs de PDR les plus élevées (41,8 et 43,1%, respectivement), alors que les variétés 740, 755, 906, 961, 985, 993, 2065, IT81D-1137 et Melakh sont intermédiaires avec des pourcentages compris entre 22,9 et 35,9%.

Chez les plantes ayant subi un déficit hydrique moyen ($\Psi_H = -1,5$ MPa) additionné d'un choc osmotique au PEG 4000 ($\psi_o = -2$ MPa), le classement variétal est différent (figure 1). Les variétés 998 et 976 présentent les plus faibles PDR (13,9 et 14,4%, respectivement), alors que la variété 977 a le PDR le plus élevé (22,6%). Le reste des variétés ont des PDR comparables fluctuant entre 16,3% et 19,9%.

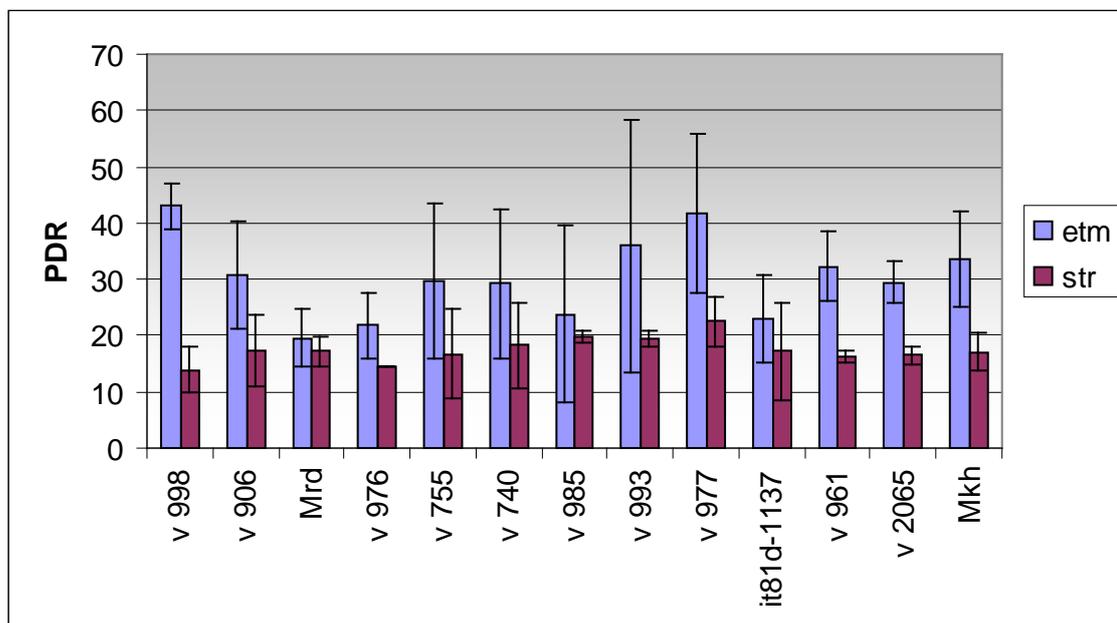


Figure 1 : Pourcentage de dégâts membranaires mesuré après un choc osmotique ($\Psi_o = -2$ Mpa), des 13 variétés de niébé, cultivées en pots et soumises aux conditions d'alimentation hydrique normales (ETM) et à un déficit hydrique moyen ($\Psi_H = -1,5$ Mpa) par suspension d'arrosage (STR).

L'analyse statistique révèle que les plantes témoins présentent des valeurs de PDR significativement plus élevées que celles des plantes préalablement contraintes (figure 2).

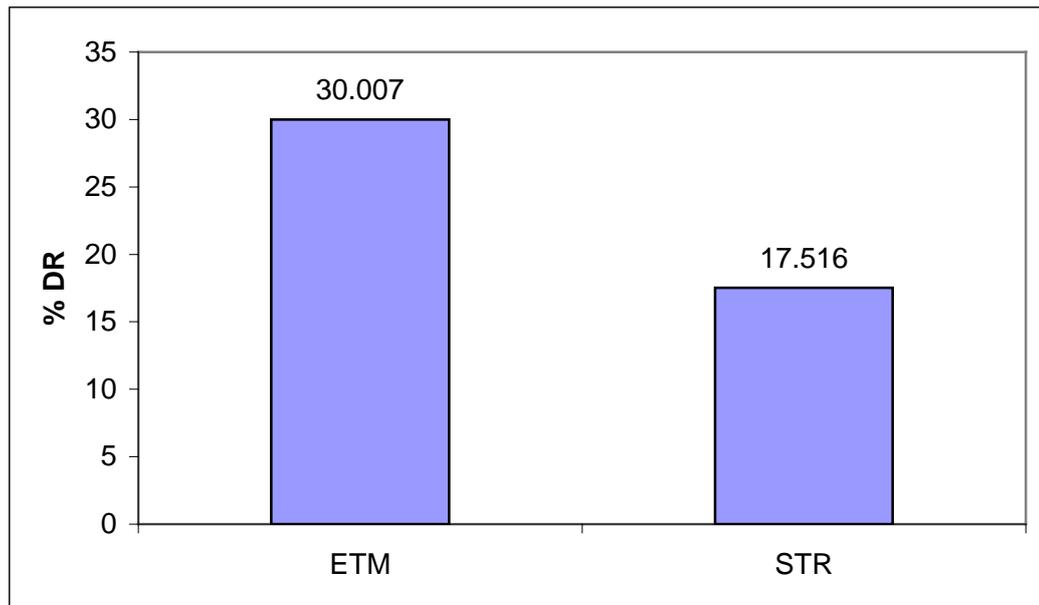


Figure 2 : Moyennes des PDR mesurés après choc osmotique au PEG 4000 ($\Psi_o = -2$ Mpa) des plantes soumises aux conditions d'alimentation hydrique normale (ETM) et des plantes soumises à un déficit hydrique moyen ($\Psi_H = -1,5$ Mpa) par suspension d'arrosage (STR).

Les différences de PDR entre les ETM et les STR des 13 variétés (figure 3), montrent que la variété 998 présente la plus grande différence (67,8%) alors que les variétés Mouride et 985 ont de faibles différences, respectivement 12,4% et 16,6%. Les autres variétés sont intermédiaires avec une différence qui varie entre 49,5 et 25,1%. Elles peuvent cependant être groupées en trois sous-ensembles : le premier est composé des variétés 906, 755, 993, 977, 2065, 961 et Melakh qui ont des taux d'endurcissement qui varient entre 40 et 50%. Le deuxième sous-ensemble est formé des variétés 976 et 740 (34% et 37,6%, respectivement) alors que le dernier contient la variété IT81D-1137 avec une différence de 25,1%.

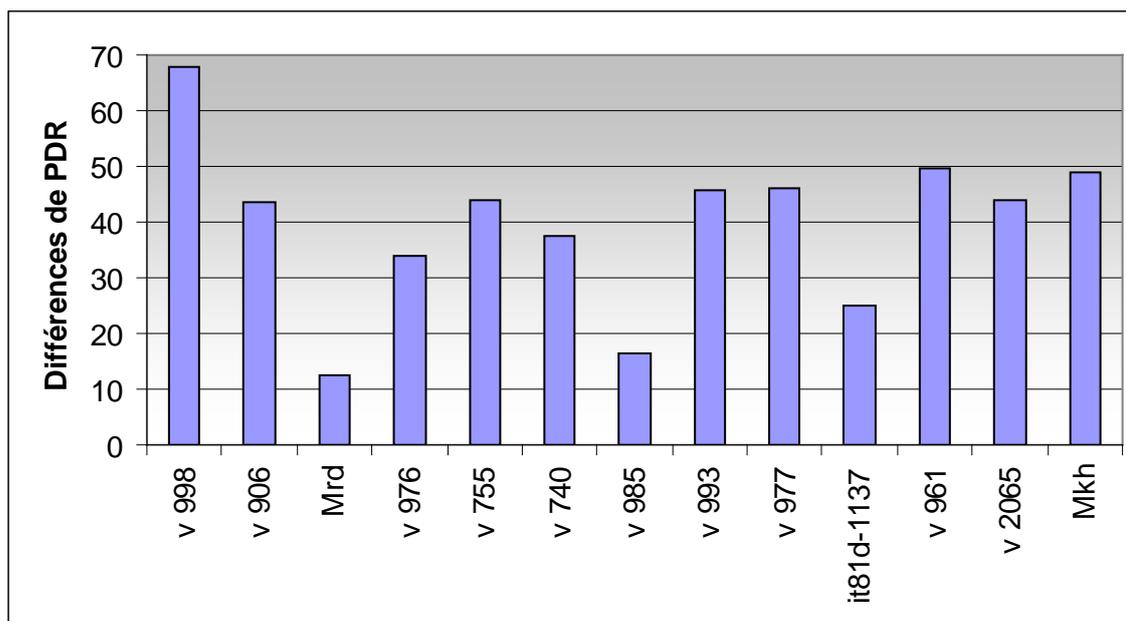


Figure 3 : Différences de PDR des 13 variétés de niébé cultivées en pots et soumises aux conditions d'alimentation hydrique normale (ETM) et à un déficit hydrique moyen ($\Psi_H = -1,5$ MPa) par suspension d'arrosage (STR) suivi d'un choc osmotique au PEG 4000 ($\Psi_o = -2$ MPa).

III.2 Teneurs en chlorophylles

Les tableaux 2, 3 et 4 présentent respectivement l'évolution de la teneur en chl a, chl b et chl a+b des 13 variétés de niébé étudiées. Les teneurs en chl a et chl a+b présentent une évolution similaire tout au long de la contrainte. L'effet du régime hydrique sur le contenu chlorophyllien est significatif à partir du 4^{ème} js. Les variétés 906, 977, 985 et 993 montrent une diminution de leurs teneurs en chl a et chl a+b par rapport aux plantes témoins. Au 7^{ème} js, la diminution des teneurs en chl a et chl a+b chez les variétés 740 et 976 est notée alors que pour les variétés Mouride, 2065 et 961, l'effet du régime hydrique sur les teneurs en chl a et chl a+b est observé au 10^{ème} js. Cependant, les 10 jours de stress n'ont pas été suffisants pour affecter la teneur en pigments chlorophylliens des variétés Melakh, IT81D-1137, 998 et 755.

La teneur en chl b suit une évolution légèrement différente. La contrainte hydrique affecte les variétés 740, 906, 977, 985 et 993 à partir du 4^{ème} js alors que la teneur en chl b de la variété 976 diminue à partir du 7^{ème} js. Au 10^{ème} js, l'effet du déficit hydrique sur la teneur en chl b des variétés 755, 961, 998, Melakh et Mouride est significatif. La teneur en chl b des variétés 2065 et IT81D-1137 n'a pas été affectée après 10 jours de suspension d'arrosage. Ainsi, la dégradation de la chlorophylle b est antérieure à celle de la chlorophylle a chez les variétés 740, 755, 998 et Melakh, alors que chez la variété 2065, l'inverse est observé. La variété IT81D-1137 est la seule à maintenir ses teneurs en chlorophylles stables en réponse au déficit hydrique.

Tableau 2 : Evolution de la concentration en chlorophylle a (mg par rapport au poids sec) chez 13 variétés de niébé en réponse au 2 régimes hydriques : alimentation hydrique normale (ETM), déficit hydrique moyen (STR).

Variété	RH	chlorophylle a			
		2 js	4 js	7 js	10 js
v 740	ETM	1,0±0,6	1,2±0,6	1,5±0,8	1,9±1,0
	STR	1,6±0,2	1,2±0,9	1,1±0,4	1,4±0,1
v 755	ETM	0,9±0,3	1,4±0,8	1,5±0,4	1,6±0,4
	STR	2,0±0,5	1,9±0,7	1,9±0,1	2,1±0,3
v 906	ETM	0,9±0,4	2,5±0,2	2,7±0,6	2,9±0,3
	STR	2,7±0,4	2,2±1,2	1,8±0,6	1,6±0,8
v 961	ETM	0,8±0,1	1,0±0,7	1,6±0,5	2,2±0,7
	STR	2,1±0,1	1,9±0,4	2,2±0,7	1,6±0,4
v 976	ETM	1,1±0,7	0,9±0,2	1,7±0,5	1,8±0,7
	STR	0,7±0,3	1,4±1,0	1,6±0,8	1,6±0,1
v 977	ETM	0,9±0,5	1,7±0,7	2,0±0,6	2,7±0,4
	STR	2,1±0,3	1,4±0,8	1,5±0,6	1,2±0,2
v 985	ETM	1,4±0,2	1,6±1,1	2,4±1,0	2,0±0,8
	STR	1,6±0,8	1,1±1,1	1,7±0,7	1,7±0,6
v 993	ETM	0,9±0,3	1,1±1,3	1,8±0,1	2,2±0,6
	STR	1,1±0,6	0,7±0,3	1,3±1,1	0,9±0,6
v 998	ETM	1,2±0,2	1,1±0,4	1,5±0,3	2,4±0,8
	STR	2,6±0,8	3,2±0,6	3,4±1,6	3,4±2,0
v 2065	ETM	0,5±0,2	0,4±0,1	1,1±0,5	1,6±1,1
	STR	0,7±0,5	1,8±0,7	1,9±0,4	1,5±0,5
it81d-1137	ETM	0,9±0,9	1,2±0,7	1,4±0,6	2,5±1,1
	STR	2,0±0,9	1,4±0,6	2,9±0,1	2,9±0,3
Mkh	ETM	0,8±0,5	0,7±0,4	1,0±0,4	1,7±0,2
	STR	0,9±0,6	1,8±1	2,6±1,3	2,5±0,1
Mrd	ETM	0,9±0,6	1,2±0,8	1,3±0,8	1,7±0,3
	STR	1,2±0,6	1,7±0,7	1,9±0,9	1,4±0,6

RH : régime hydrique ; ETM : témoins ; STR : stressés ; Mkh : Melakh ; Mrd : Mouride ; js : jours de stress.

Tableau 3 : Evolution de la concentration en chlorophylle b (mg par rapport au poids sec) chez 13 variétés de niébé en réponse au 2 régimes hydriques : alimentation hydrique normale (ETM), déficit hydrique moyen (STR).

Variété	RH	chlorophylle b			
		2 js	4 js	7 js	10 js
v 740	ETM	0,6±0,5	0,8±0,6	0,8±0,3	0,7±0,1
	STR	1,0±0,5	0,7±0,5	0,7±0,3	1,4±0,1
v 755	ETM	0,4±0,1	0,9±0,6	1,0±0,6	2,3±0,1
	STR	1,0±0,3	1,2±0,5	1,5±0,1	2,0±0,1
v 906	ETM	0,3±0,1	1,2±0,2	1,9±1,1	2,5±0,1
	STR	1,6±0,6	1,1±0,7	0,9±0,5	1,2±0,1
v 961	ETM	0,3±0,1	0,5±0,3	0,8±0,3	2,0±0,1
	STR	0,9±0,1	1,0±0,2	1,8±0,9	0,9±0,1
v 976	ETM	0,6±0,3	0,5±0,1	1,5±1,1	1,9±0,1
	STR	0,4±0,2	0,7±0,4	0,8±0,3	0,6±0,1
v 977	ETM	0,5±0,4	0,9±0,4	1,3±0,6	2,3±0,1
	STR	1,2±0,3	0,8±0,5	0,8±0,3	1,4±0,1
v 985	ETM	0,7±0,2	1,2±1,1	2,1±1,5	1,9±0,1
	STR	0,9±0,5	0,6±0,6	0,9±0,3	1,3±0,1
v 993	ETM	0,4±0,1	0,8±1,0	1,9±0,6	2,9±0,1
	STR	0,4±0,1	0,4±0,3	1,3±1,4	1,2±0,1
v 998	ETM	0,5±0,1	0,7±0,3	1,4±1,3	2,8±0,1
	STR	1,7±0,6	2,2±1,0	2,0±1,0	1,7±0,1
v 2065	ETM	0,2±0,1	0,2±0,1	0,9±0,8	1,0±0,1
	STR	0,4±0,2	1,1±0,5	1,3±0,4	1,7±0,1
it81d-1137	ETM	0,7±1,0	0,6±0,4	1,3±0,9	2,6±0,1
	STR	1,0±0,3	0,8±0,3	2,1±0,3	3,1±0,1
Mkh	ETM	0,3±0,2	0,3±0,2	0,4±0,1	1,7±0,1
	STR	0,4±0,3	1,2±0,7	1,4±0,7	1,0±0,1
Mrd	ETM	0,3±0,2	0,9±1,0	1,5±1,8	2,6±0,1
	STR	0,7±0,2	1,3±0,9	1,8±1,4	1,1±0,1

RH : régime hydrique ; ETM : témoins ; STR : stressés ; Mkh : Melakh ; Mrd : Mouride ; js : jours de stress.

Tableau 4: Evolution de la concentration en chlorophylle a+b (mg par rapport au poids sec) chez 13 variétés de niébé en réponse au 2 régimes hydriques : alimentation hydrique normale (ETM), déficit hydrique moyen (STR).

Variété	RH	chlorophylles a+b			
		2 js	4 js	7 js	10 js
v 740	ETM	1,7±1,1	2,0±1,3	2,4±1,1	3,6±1,5
	STR	2,7±0,7	2,0±1,5	1,8±0,8	2,9±0,9
v 755	ETM	1,4±0,4	2,4±1,5	2,6±1,0	3,9±1,1
	STR	3,0±0,8	3,1±1,2	3,4±0,3	4,1±1,2
v 906	ETM	1,2±0,5	3,7±0,4	4,6±1,4	5,5±0,3
	STR	4,3±1,0	3,3±1,9	2,7±1,1	2,9±1,4
v 961	ETM	1,2±0,1	1,5±1,0	2,5±0,8	4,3±1,7
	STR	3,1±0,1	3,0±0,6	4,1±1,7	2,5±0,6
v 976	ETM	1,7±1,1	1,4±0,3	3,2±1,3	3,8±1,3
	STR	1,1±0,5	2,2±1,5	2,5±1,2	2,3±0,1
v 977	ETM	1,5±0,9	2,6±1,1	3,3±1,2	5,1±0,5
	STR	3,3±0,6	2,2±1,3	2,3±0,9	2,6±0,9
v 985	ETM	2,1±0,4	2,8±2,3	4,5±2,5	4,0±2,2
	STR	2,5±1,4	1,8±1,8	2,7±1,1	3,0±1,5
v 993	ETM	1,4±0,4	1,9±2,4	3,7±0,6	5,2±0,7
	STR	1,6±0,8	1,1±0,7	2,6±2,5	2,2±2,3
v 998	ETM	1,7±0,3	1,8±0,7	2,9±1,6	5,3±1,1
	STR	4,4±1,4	5,4±1,7	5,5±2,7	5,1±3,2
v 2065	ETM	0,8±0,4	0,6±0,1	2,0±1,4	2,7±1,6
	STR	1,1±0,8	2,9±1,2	3,2±0,7	3,3±1,4
it81d-1137	ETM	1,7±1,9	1,8±1,2	2,8±1,5	5,1±2,1
	STR	3,1±1,3	2,2±0,9	5,0±0,1	6,0±0,6
Mkh	ETM	1,2±0,7	1,1±0,7	1,5±0,6	3,5±0,4
	STR	1,3±0,9	3,1±1,8	4,0±2,1	3,5±0,1
Mrd	ETM	1,3±0,8	2,1±1,8	2,9±2,6	4,4±0,9
	STR	2,0±0,9	3,1±1,6	3,7±2,0	2,5±1,3

RH : régime hydrique ; ETM : témoins ; STR : stressés ; Mkh : Melakh ; Mrd : Mouride ; js : jours de stress.

III.3 La fluorescence

Parmi les paramètres de fluorimétrie qui ont été analysés, le rendement quantique maximale de la photochimie (PHI (Po)). Les figures 4 et 5 montrent respectivement l'évolution de ce rendement chez les ETM et chez les STR. L'analyse statistique n'a montré aucune différence significative entre les variétés de même qu'entre les 2 régimes hydriques appliqués (annexe 3). Néanmoins, il semble qu'à partir du 7^{ème} js, de faibles différences de comportement variétal commencent à se faire observer (figure 5). Les valeurs de PHI (Po) diminuent légèrement pour les variétés 906, 976, 998 et Melakh. Pour les variétés 740, 755, 961, 977, 985, 993, 2065, IT81D-1137et Mouride les valeurs de PHI (Po) restent stables voir augmentent légèrement entre le 7^{ème} et le 10^{ème} js.

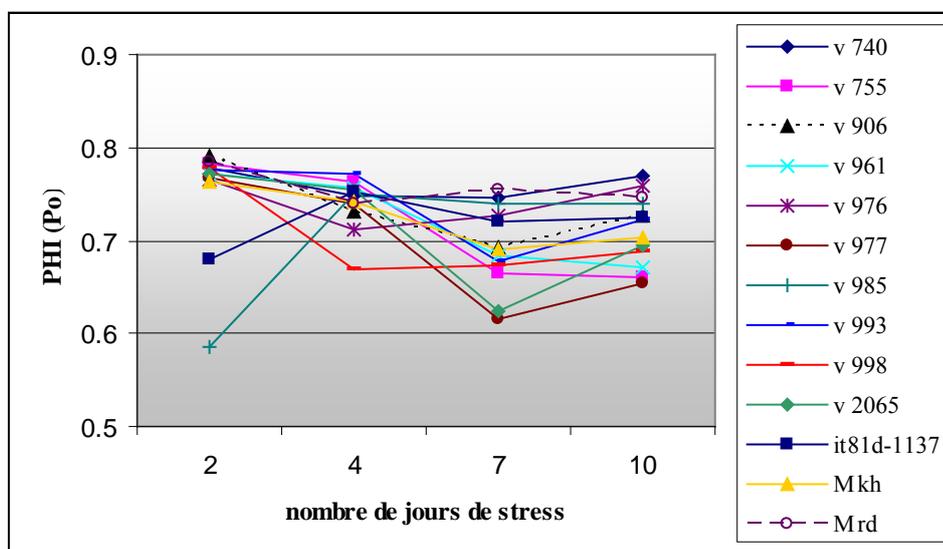


Figure 4 : Evolution du rendement quantique maximal de la photochimie (PHI (Po)), en fonction du nombre de jours de stress, chez 13 variétés de niébé, cultivées en pots et soumises aux conditions d'alimentation hydrique normales (ETM)

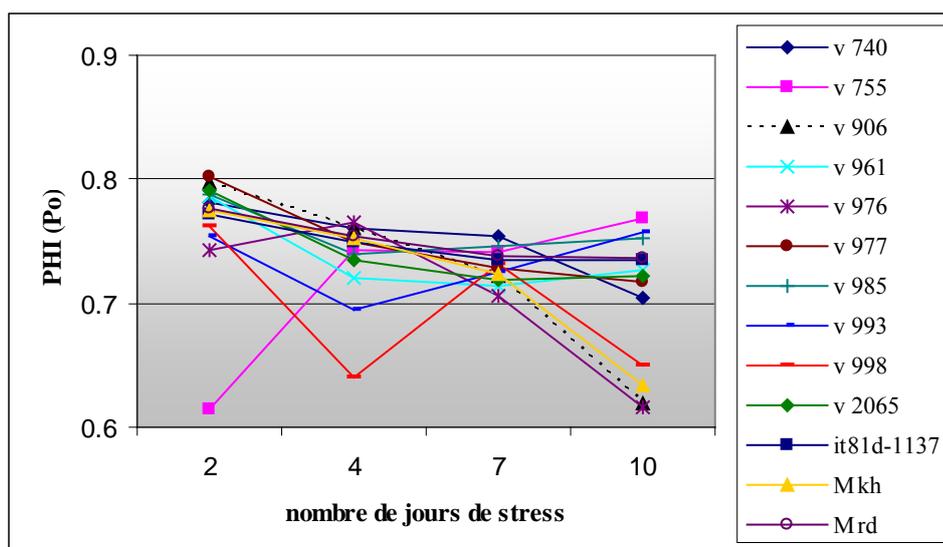


Figure 5 : Evolution du rendement quantique maximal de la photochimie (PHI (Po)), en fonction du nombre de jours de stress, chez 13 variétés de niébé, cultivées en pots et soumises à un déficit hydrique par suspension d'arrosage (STR)

L'ANOVA pour le flux d'énergie piégée par les centres réactionnels (ABS/ RC) n'a pas révélé de différence significative aussi bien entre les 13 variétés qu'entre les 2 régimes hydriques (annexe 4). Cependant, malgré ces résultats de l'analyse statistique, il semble qu'en conditions d'alimentation hydrique normale (ETM), le flux d'énergie augmente au cours du temps pour l'ensemble des variétés avec un pic au 7^{ème} js (Figure 6). Cette évolution ne se fait pas de la même manière chez toutes les variétés. Les variétés 740, 906, 977, 998, 2065 et Melakh présentent une augmentation de leur ABS/ RC entre le 2^{ème} js et le 7^{ème} js avant de diminuer légèrement au 10^{ème} js. Les variétés 755, 961 présentent une augmentation de leur flux d'énergie jusqu'au 7^{ème} js avant de se stabiliser jusqu'au 10^{ème} js. La variété 976 augmente son ABS/RC jusqu'au 4^{ème} js avant de diminuer jusqu'au 10^{ème} js. Les variétés IT81D-1137 et Mouride présentent une augmentation entre le 2^{ème} et le 10^{ème} js avec une légère diminution au 4^{ème} js pour la variété IT81D-1137 et au 7^{ème} js pour la variété Mouride.

Les plantes stressées par suspension d'arrosage (STR) (Figure 7), ont un comportement similaire jusqu'au 7^{ème} js. Les valeurs de ABS/RC varient entre 1,25 et 2,16 et sont, généralement, plus faibles que celles des ETM. A partir de cette date, 3 types de réponses se distinguent. La variété 906 atteint au 10^{ème} js une valeur de 4.79 supérieure à toutes les valeurs enregistrées aussi bien pour les témoins que pour les plantes stressées. Le deuxième groupe est formé par les variétés 976 et Melakh dont les valeurs sont 3.54 et 3.64 respectivement et restent supérieures à celles des témoins toutes dates de mesures confondues. Le troisième groupe est constitué par les dix variétés restantes : 740, 755, 961, 977, 985, 993, 998, 2065, IT81D-1137 et Mouride pour lesquelles le flux d'énergie ne change pas en réponse à la contrainte hydrique.

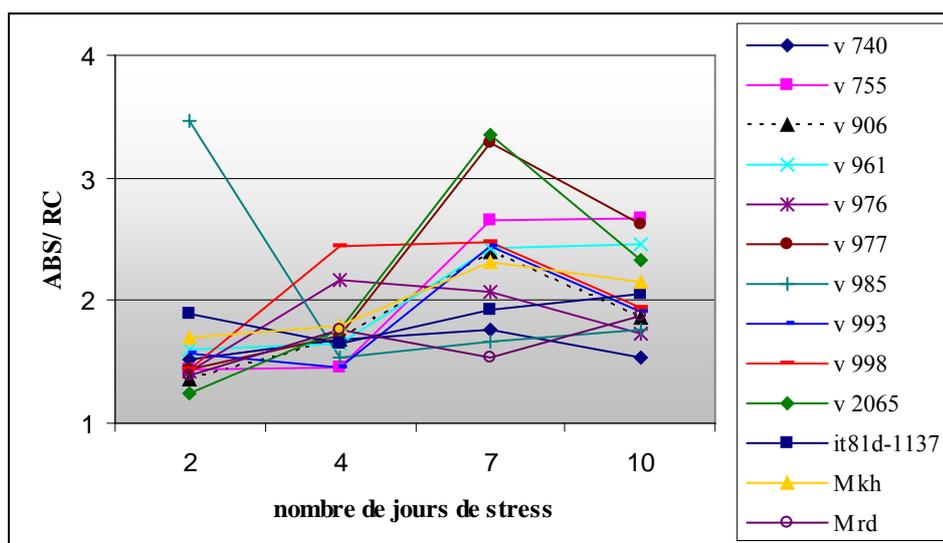


Figure 6 : Evolution du flux d'énergie piégée par les centres réactionnels, en fonction du nombre de jours de stress, chez 13 variétés de niébé, cultivées en pots et soumises aux conditions d'alimentation hydrique normales (ETM)

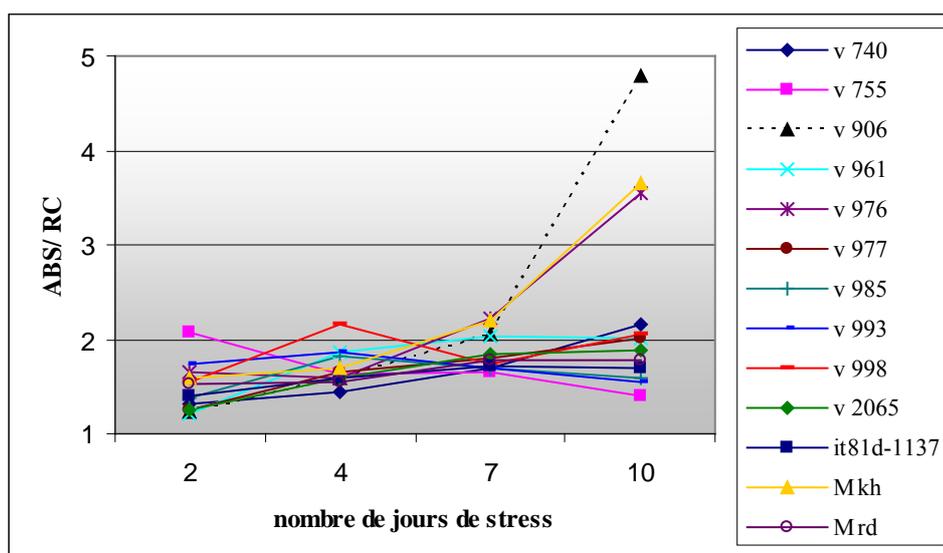


Figure 7 : Evolution du flux d'énergie piégée par les centres réactionnels, en fonction du nombre de jours de stress, chez 13 variétés de niébé, cultivées en pots et soumises à un stress hydrique par suspension d'arrosage (STR)

Pour les indices de vitalité (SFI) et de performance (PI) de l'appareil photosynthétique, les analyses statistiques révèlent un effet variétal et un effet « régime hydrique » au 7^{ème} js. Au 10^{ème} js, l'interaction entre les 2 facteurs variété et régime hydrique est significative (annexes 5 et 6). Chez les plantes bien arrosées (ETM) (figure 8), deux types de comportement variétal se distinguent. Les variétés 740, 906, 976, 977, 998, 2065 et Mouride montrent une diminution des SFI et PI entre le 32^{ème} et 37^{ème} JAS suivie d'une légère augmentation entre le 37^{ème} et 40^{ème} JAS. Les variétés 755, 961, 985, 993, IT81D-1137et Melakh présentent une augmentation de leurs indices jusqu'au 34^{ème} JAS avant leur diminution jusqu'au 40^{ème} JAS.

Chez les plantes stressées, 3 types de réponses se distinguent : la variété 755 qui présente au 10^{ème} js la valeur de SFI (3.02) ou de PI (17055.75) la plus élevée. Chez les variétés 985, 993, IT81D-1137et Mouride, les indices diminuent au cours du stress hydrique jusqu'au 7^{ème} js et se stabilisent au 10^{ème} js. Le troisième type de réponse est une diminution progressive des valeurs de SFI et PI en fonction de l'intensification du stress hydrique et concerne les variétés 740, 906, 961, 976, 977, 998, 2065 et Melakh.

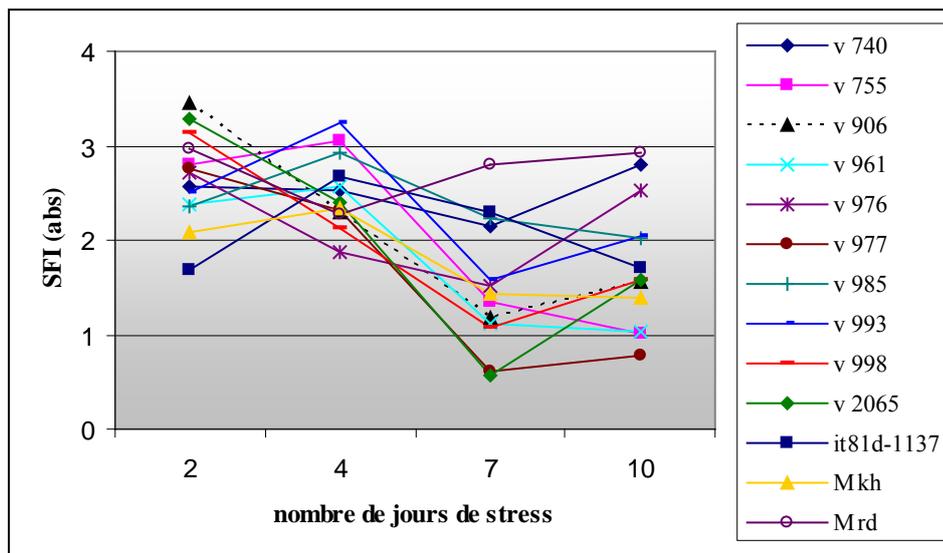


Figure 8 : Evolution de l'indice de vitalité, en fonction du nombre de jours de stress, chez 13 variétés de niébé, cultivées en pots et soumises aux conditions d'alimentation hydrique normales (ETM)

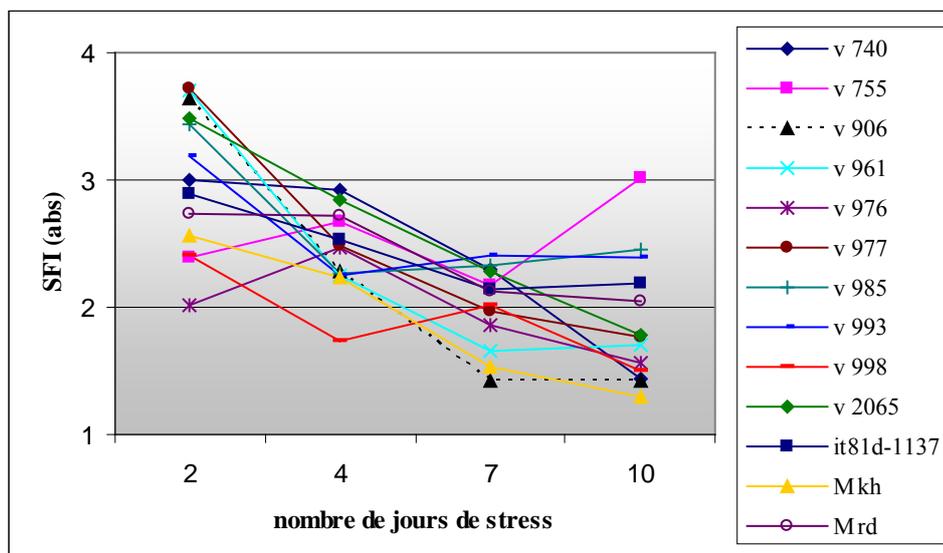


Figure 9 : Evolution de l'indice de vitalité, en fonction du nombre de jours de stress, chez 13 variétés de niébé, cultivées en pots et soumises à un déficit hydrique par suspension d'arrosage (STR)

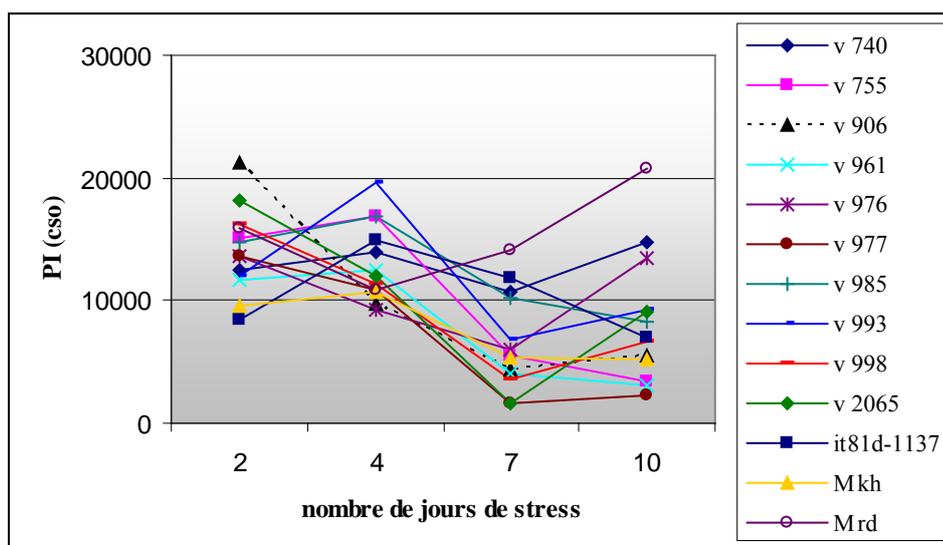


Figure 10 : Evolution de l'indice de performance, en fonction du nombre de jours de stress, chez 13 variétés de niébé, cultivées en pots et soumises aux conditions d'alimentation hydrique normales (ETM)

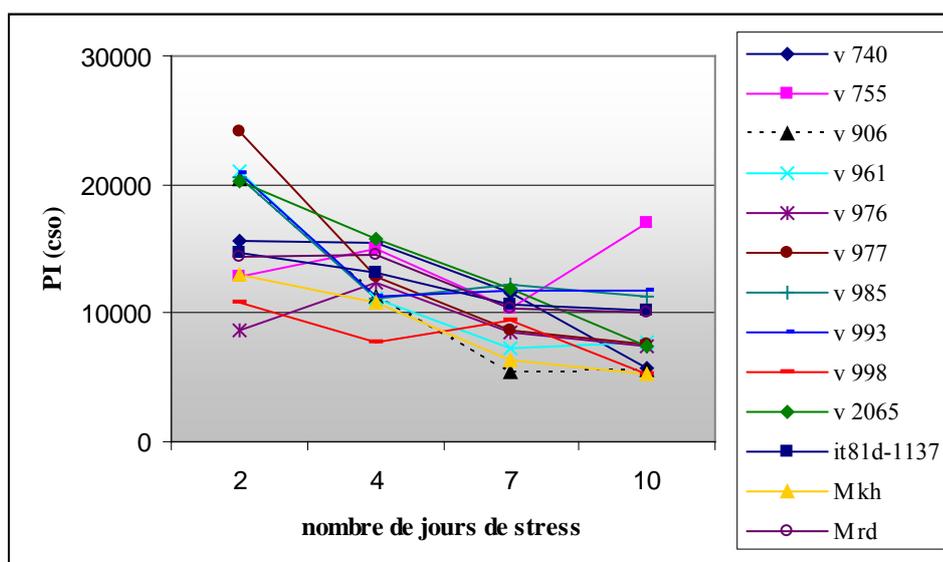


Figure 11 : Evolution de l'indice de performance, en fonction du nombre de jours de stress, chez 13 variétés de niébé, cultivées en pots et soumises à un déficit hydrique par suspension d'arrosage (STR)

Discussion

Les mécanismes d'adaptation des plantes à la sécheresse sont nombreux et se situent au niveau de l'organisme entier, aussi bien, qu'au niveau cellulaire et moléculaire.

Les systèmes membranaires sont d'une importance majeure dans le métabolisme cellulaire. En effet, toutes les fonctions cellulaires font intervenir les membranes qui maintiennent une compartimentation indispensable à la survie des cellules. Cependant, ces membranes cellulaires sont les cibles privilégiées des effets du déficit hydrique.

L'altération et/ou la désorganisation des membranes cellulaires en réponse à la déshydratation des tissus se manifeste par un changement de leur perméabilité. L'amplitude de la perméabilité est fonction des capacités intrinsèques de la plante à résister à la sécheresse, les plantes résistantes ayant une perméabilité faible. Sous ces conditions, le test de fuite d'électrolytes est apparu comme un critère pertinent, susceptible de différencier les variétés quant à leur tolérance membranaire au stress hydrique. C'est ainsi que la stabilité membranaire a été utilisée comme indicateur de résistance au déficit hydrique chez différentes espèces cultivées comme le niébé (Vasquez-Tello *et al.*, 1990 ; Diop, 2002), l'orge (Ben Naceur *et al.*, 1997), le tabac (Riga et Vartanian, 1999), l'arachide (Roy-Macauley, 1996 ; Akubugwo, 1999 ; Clavel *et al.*, 2002) et la betterave à sucre (Ghoulam *et al.*, 2002) et aussi comme critère de sélection de lignées chez le blé (Ibrahim et Quick, 2001) et chez le niébé (Thiaw *et al.*, 2004 ; Hall, 2004).

Dans notre étude, il n'a pas été possible de faire une discrimination claire des variétés à partir des résultats de pourcentages de dommages relatifs (PDR). Ceci pourrait être expliqué par les grandes valeurs de l'erreur résiduelle entraînant par conséquent un chevauchement des intervalles de confiance. Ce problème est plus marqué chez les témoins pour qui un nombre important d'échantillons (39) a été analysé le même jour. En effet, les témoins ont été prélevés le même jour, ce qui a augmenté involontairement la durée de l'échantillonnage (entre 11h et 17h). De ce fait, la durée des rinçages et des incubations dans l'eau et le PEG s'est rallongée pour certains des échantillons. Par contre chez les stressés l'échantillonnage s'est fait en fonction du potentiel hydrique ainsi, un nombre réduit d'échantillons a été traité par jour. Les résultats de PDR montrent des amplitudes d'erreur résiduelle plus faibles. La mesure de la fuite d'électrolytes est, par conséquent, influencée par les variations des paramètres expérimentaux, essentiellement : le temps de rinçage des échantillons avant l'exposition au PEG (Blum et Ebercon, 1981 ; Premachandra et Shimada, 1987), l'intensité et la durée du traitement par le PEG (Blum et Ebercon, 1981 ; Vasquez-Tello *et al.*, 1990) et la durée de la période de réhydratation après le choc osmotique (Bandurska et Gniazdowska-Skoczek, 1995 ; Bandurska *et al.*, 1997). De plus, la conductivité a été mesurée à différents moments de la journée dans une salle climatisée mais où la température n'est pas régulée. Puisque le conductimètre est thermosensible, la variation de la température ambiante pourrait donc avoir influencé les valeurs de la conductivité mesurée. Un effet bloc très significatif s'est ajouté aux différentes sources de variations. Les valeurs de PDR mesurées sur les différentes variétés étudiées étaient très variables entre les trois blocs du dispositif expérimental. Les moyennes de ces valeurs ont contribué à augmenter l'écart type. Chez les stressés, les amplitudes réduites des écarts-types n'ont pas permis d'avoir des différences significatives entre les variétés.

La variabilité inter variétale est faible. Il est possible qu'en plus des variations dues à la mesure que les variétés choisies soient génétiquement proches. En effet, l'arbre généalogique des 13 variétés étudiées montre un lien de parenté entre les variétés 740, 755 et les variétés 993 et 998. Ces dernières ont le même parent que les variétés 961, 976, 977 et 906. La variété 906 a elle aussi un parent commun avec la variété 2065. IT81D-1137 est un des parents de Mouride. Melakh est la seule variété à ne pas avoir un lien de parenté direct avec les autres variétés.

Sous stress hydrique, aussi bien que sous d'autres formes de contraintes les lipides membranaires changent de configuration et forment des micelles retournées. Entre ces micelles, se produisent des discontinuités qui entraînent des perturbations dans le fonctionnement membranaire, notamment, l'augmentation de la fuite d'électrolytes suite à une perte de la perméabilité sélective des membranes (Bajji *et al.*, 2001). La composition en lipides et en acides gras des membranes foliaires subies des modifications dues à une inhibition des biosynthèses et surtout à une accélération des processus dégradatifs (Pham-Thi, 1999) suite à un bouleversement des activités enzymatiques marqué par une augmentation des enzymes hydrolytiques (Champigny et Miginiac-Malow, 1971 ; Pham Thi et Vieira da Silva, 1976). Etant riches en acides gras insaturés, responsables de la fluidité membranaire, les galactolipides constituent une cible vulnérable à l'action des processus dégradatifs. La dégradation des galactolipides induit une diminution du degré d'insaturation, et par conséquent, une rigidification de la bicouche lipidique des membranes cellulaires (Monteiro de Paula, 1992). Chez le niébé soumis à un déficit hydrique moyen, les génotypes tolérants à la sécheresse maintiennent leur intégrité membranaire à travers leur capacité à réduire le processus de la dégradation enzymatique par les peroxydases et/ou leur capacité de synthétiser plus de lipides pour compenser la détérioration éventuelle des membranes (Scotti Campos, 1998).

Le régime hydrique a un effet significatif sur l'efflux d'électrolytes. Les valeurs de PDR des plantes stressées par suspension d'arrosage préalablement au choc osmotique sont significativement plus faibles que celles des témoins. Cette différence des valeurs de PDR entre les variétés de niébé contraintes et témoins bien hydratés, rend compte d'un endurcissement des membranes au choc osmotique à la suite d'un stress hydrique. En réponse à la salinité, l'endurcissement membranaire chez le niébé a été lié à un ajustement osmotique par des accumulations de pinitol et de proline (Silveira *et al.*, 2001). Ce phénomène d'endurcissement membranaire a été décrit chez le blé (Blum et Ebercon, 1981), le maïs (Premachandra *et al.*, 1991), le sorgho (Prechamandra *et al.*, 1992), le tabac (Riga et Vartanian, 1999) et le niébé (Diop, 2002). En conditions de déficit hydrique, le maintien de l'intégrité membranaire chez des plantes de blé dur a été corrélé à une augmentation de la quantité des sucres accumulés au niveau des feuilles (Bajji, 1999 ; Bajji *et al.*, 2000). Les molécules normalement associées aux phospholipides sont remplacées par les sucres, en particulier les disaccharides non réducteurs comme le saccharose et tréhalose (Leopold et Vertucci, 1986). Ces molécules interagissent avec les membranes cellulaires pour augmenter la stabilité des couches lipidiques (Nilsen et Orcutt, 1996) en empêchant la formation des micelles retournées.

L'activité photosynthétique est l'un des processus physiologiques les plus affectés par la sécheresse. Elle a une grande influence sur la croissance et, donc, sur le rendement de la plante.

L'étude de l'évolution des teneurs en chlorophylles, ainsi que la fluorescence chlorophyllienne constituent de bons moyens de caractérisation de cette activité photosynthétique.

La teneur en chlorophylle est affectée par le déficit hydrique qui induit une dégradation des pigments chlorophylliens. Cette dégradation a un effet négatif sur l'efficacité de la photosynthèse. Chez le maïs (Sanchez *et al.* 1983) et chez le blé (Gummuluru *et al.* 1989), les génotypes tolérants à la sécheresse maintiennent une teneur totale en chlorophylle plus élevée en comparaison avec les génotypes sensibles. Les résultats des dosages chimiques montrent que le déficit hydrique a provoqué une réduction des teneurs en chlorophylles chez les variétés 906, 977, 985, 993, 740, 976, Mouride, 2065 et 961 qui sont sensibles à la contrainte par rapport aux variétés 755, 998, IT81D-1137 et Melakh qui ne montrent pas une dégradation de leurs pigments. Chez les variétés sensibles, l'effet de la contrainte intervient à différentes dates selon le degré de sensibilité de chaque variété. La diminution des teneurs en pigments chlorophylliens a déjà été observée chez le niébé (Scotti Campos, 1998) et chez le blé (Nyachiro *et al.*, 2001). Chez le niébé, les changements des teneurs en pigments chlorophylliens peuvent être interprétés, non seulement, comme effet de détérioration à cause du stress, mais aussi comme des ajustements protecteurs de l'appareil photosynthétique qui, par la diminution de l'énergie absorbée, pourrait réduire la surcharge d'énergie sur le PS II (Scotti Campos, 1998).

La diminution de PHI (Po) chez les variétés 906, 976, 998 et Melakh traduirait une diminution de l'énergie utilisée dans la photochimie au profit de la dissipation non photochimique dont la fluorescence est une composante principale (Epron et Dreyer 1990). Cette diminution a été observée chez le niébé (Scotti Campos, 1998) et chez la pomme de terre (Van der Mescht *et al.*, 1999). Une altération de centres réactionnels de l'appareil photosynthétique, et par conséquent une réduction dans le nombre d'accepteurs d'électrons au niveau du PS II, notamment les plastoquinones et particulièrement QA pourrait en être la cause (Maxwell et Johnson, 2000). Ceci peut être, probablement, dû à la dissociation des protéines complexes des antennes pigmentaires (Havaux *et al.*, 1988) ou bien à une dégradation de la protéine D1 (Franklin *et al.*, 1992 ; Rintamäki *et al.*, 1994).

Les valeurs de SFI et PI sont en concordance avec les valeurs de PHI (Po) puisque ces 2 paramètres traduisent la vitalité et la performance de l'appareil photosynthétique. En effet, la diminution des valeurs des 2 paramètres reflète le degré d'intégrité de l'appareil photosynthétique qui est affecté par le stress. L'augmentation de la valeur du ABS/ RC chez les variétés affectées par le stress pourrait être expliquée par un phénomène de compensation. Les variétés 906, 976 et Melakh compensent probablement l'altération de certains centres réactionnels par l'augmentation de l'énergie piégée par ceux qui sont intacts pour essayer de maintenir leur niveau d'activité photosynthétique.

Sous l'effet de la dessiccation, l'augmentation de la force ionique peut réduire les interactions entre les membranes chloroplastiques et les protéines extrinsèques de ces membranes entraînant ainsi leur dissociation (Younis *et al.*, 1979). Ce qui engendre une baisse de la capacité de collecte des centres antennes du PS II et une perte de l'activité de l'ATP synthase, qui change de conformation quand le potentiel hydrique est faible (Cissé, 2001).

Combinant les paramètres photosynthétiques (teneurs en chlorophylles et fluorescence), on distingue les variétés 998 et Melakh qui présentent une diminution de l'activité photosynthétique (diminution du SFI et du PHI (Po)) malgré le maintien de leur teneur normale en chlorophylles. Ces variétés sont dites homéochlorophylliennes (Bewley, 1979 ; Gaff, 1989). L'appareil photosynthétique de ces plantes subit une inactivation réversible au cours du déficit hydrique. Les variétés 906, 977, 985, 993, 740, 976, Mouride, 2065 et 961 sont dites poïklochlorophylliennes caractérisées par une dégradation de la structure de leurs chlorophylles sous l'effet de la dessiccation (Bewley, 1979 ; Gaff, 1989).

Conclusion et perspectives

La présente étude a permis de montrer que le stress hydrique moyen ($\psi_H = -1,5$ MPa), au jeune âge, provoque chez les treize variétés de niébé étudiées (740, 755, 906, 961, 976, 977, 985, 993, 998, 2065, IT81D-1137, Melakh et Mouride) la diminution des valeurs de PDR des membranes cellulaires suite à un phénomène d'endurcissement manifesté par ces membranes. Les témoins ont eu une moyenne de PDR de 30,0, alors que les stressés ont eu 17,5 comme moyenne de PDR. La résistance protoplasmique n'a pas permis de distinguer les 13 variétés de niébé à cause de la grande variabilité observée dans les résultats, ce qui rend compte de la grande sensibilité de la technique utilisée qui ne permet pas d'étudier un grand nombre de variétés. Le test de la fuite d'électrolytes ne semble pas indiqué pour la discrimination des lignées.

Les résultats de l'évolution des teneurs en chlorophylles, sous stress hydrique, a montré une réduction des teneurs en chlorophylle a, chlorophylle b et chlorophylles a+b chez les variétés 906, 977, 985, 993, 740, 976, Mouride, 2065 et 961, alors que les pigments chlorophylliens des variétés 755, 998, IT81D-1137 et Melakh n'ont pas été affectés par l'intensité de la contrainte hydrique.

Concernant les paramètres de fluorescence, le PHI (Po) et l'ABS/ RC n'ont pas été discriminants pour les 13 variétés. Par contre, les indices de vitalité (SFI) et de performance (PI) ont été plus discriminants. En effet, le stress hydrique a provoqué la diminution de ces 2 indices chez les variétés 740, 906, 961, 976, 977, 998, 2065 et Melakh tout au long du stress.

Parmi les 13 variétés étudiées, la variété 755 semble la plus performante sous stress hydrique. Elle maintient sa teneur en chlorophylle élevée et présente une augmentation de ces indices SFI et PI et une stabilité des valeurs de l'ABS/ RC et du PHI (Po). Par contre, la variété 906 semble la plus sensible. La contrainte hydrique provoque la diminution de sa teneur en chlorophylles, de ces indices de vitalité et de performance et de son rendement quantique maximal de la photochimie.

- ✓ Ainsi certains changements pourraient être apportés à l'étude suite à ces conclusions, nous proposons, comme perspectives, de reprendre l'étude tout en améliorant les conditions de l'expérimentation en essayant de :
- ✓ Contrôler au maximum les paramètres de la mesure des efflux d'électrolytes en travaillant dans un environnement où la température est bien régulée au cours de la journée car le test est avéré très sensible. Ce contrôle passe également par une meilleure gestion du nombre d'échantillons à analyser par jour de mesure ce qui permettrait de mieux respecter les durées d'incubation des échantillons.
- ✓ Faire des mesures journalières de la teneur en chlorophylles et de la fluorescence chlorophyllienne, afin de pouvoir les corréler au test de fuite d'électrolytes.
- ✓ Intensifier le déficit hydrique afin d'obtenir une meilleure discrimination des 13 variétés sur la base des paramètres de fluorescence.
- ✓ Analyser la composition en lipides des membranes cellulaires pour essayer de mieux expliquer les DR de ces membranes.

Références bibliographiques

Adam A.L., Gala A.A., Manninger K. and Barna B., 2000. Inhibition of the development of leaf rust (*Puccinia recondita*) by treatment of wheat with allopurinol and production of a hypersensitive-like reaction in a compatible host. *Plant Pathology* **49**: 317-323.

Agarie S., Hanaoka N., Kubota F., Agata W., Kaufman P.B., 1995. Measurement of Cell Membrane Stability Evaluated by Electrolyte Leakage as a Drought and Heat Tolerance Test in Rice (*Oryza sativa* L.). *J. Fac. Agr., Kyushu Univ.*, **40** (1-2), 233-240

Ahmadi N., 1983. Variabilité génétique et hérédité de mécanismes de tolérance à la sécheresse chez le riz (*Oryza sativa* L.) 1. Développement du système racinaire. 2. Sensibilité stomatique au déficit hydrique. *Agro. Trop*, **38** : 110-112.

Akubugwo E.I., 1999. Electrolyte leakage and fatty acid profile as indices of membrane integrity in groundnut (*Arachis hypogaea* L.) subjected to water stress. Technical report. CERAAS. 9p.

Annerose D. et Cornaire B., 1994. Approche physiologique de l'adaptation à la sécheresse des espèces cultivées pour l'amélioration de la production en zones sèches. Bilan hydrique agricole et sécheresse en Afrique tropicale ; *John Libbey Eurotext* [eds] (Paris) ; pp 137-150.

Arnon D.I., 1949. Copper enzymes in isolated chloroplast. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiol.* **24**: 1-15.

Ashley, J., 1993. Drought and crop adaptation. In: J.R.J. ROWLAND (Ed.) *Dryland Farming in Africa*. Macmillan Press Ltd, London, pp. 46-67.

Bajji M. 1999. Etude des mécanismes de résistance au stress hydrique chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.) : caractérisation de cultivars différant par leurs niveaux de résistance à la sécheresse et de variants somaclonaux sélectionnés *in vitro*, PhD Dissertation, Université catholique de Louvain, Belgium. 188p.

Bajji M., Kinet J.M. and Lutts S., 2001. The use of the electrolyte leakage method for assessing cell membrane stability as a water tolerance test in durum wheat. *Plant Growth Regulation* **00**: 1-10.

Bajji M., Lutts S. and Kinet J.M. 2000. Resistance to water stress in durum wheat : comparison of cell and whole seedling behaviours. In: Royo C., Nachit M.M., Di Fonzo N. and Araus J.L. (eds), *Durum wheat improvement in the Mediterranean region: New challenges*. Options Méditerranéennes, pp.22-34.

Bandurska H. et Gniazdowska-Skoczek H., 1995. Cell membrane stability in two barley genotypes under water stress conditions. *Acta Soc. Bot. Pol.* **64** : 29-32.

Bandurska H., Stroinski A. et Zielezinska M., 1997. Effects of water deficit stress on membrane properties, lipid peroxidation and hydrogen peroxide metabolism in the leaves of barley genotypes. *Acta Soc. Bot. Pol.* **66** : 177-183.

Baudoin, J.P. and Maréchal, R., 1985. Genetic diversity in *Vigna*. In: *Cowpea research, production and utilization*, Singh, S.R. and Rachie, K.O.(eds). New-York, USA, Wiley, pp. 3-5.

Belhassen E., This D. et Monneveux P., 1995. L'adaptation génétique face aux contraintes de sécheresse. *Cahiers Agriculteurs*, **4** : 251-261.

Ben Naceur M., Paul R., Ben Salah H., 1997. Screening of Six Barley Varieties for Drought Resistance by Using Leaf Water Potential, Membrane Stability and Phosphatase Activity Parameters. *Médit.* **4**: 51-54.

Ben-Naceur M., Paul R. et Impens R., 1992. Principaux mécanismes de résistance des végétaux aux stress hydriques. *Annales de Gremloux* **98** :227-246.

Bewley D.J., 1979. Physiological aspects of desiccation tolerance. *Annual Review of Plant Physiology* **30**: 195-238.

Blum A. and Ebercon A., 1981. Cell membrane stability as a mesure of drought and heat tolerance in weat; *Crop Sci.* **21**: 43-47.

Bohnert H.J., Nilson D.E. et Jensen R.G., 1995. Adaptation to environmental stresses. The plant Cell, *American Society of Plant Physiologists*, **7** : 1099-1111.

Champigny M.L., Miginiac-Malow M., 1971. Relation entre l'assimilation photosynthétique de CO₂ et la photophosphorylation de chloroplasts isolés. I. Stimulation de la fixation de Co₂ par l'antimycine A., antagoniste de son inhibition par le phosphate. *Bioch. Biophys. Acta.*, **243**: 335-343.

Chen Q., Zhang W.H. and Liu Y.L., 1999. Effect of NaCl, gltathione and ascorbic acid on function of tonoplast vesicles isolated from barley leaves. *J. Plant Physiol.* **155**: 685-690.

CILSS, 2004. XIVème Sommet des pays membres du CILSS, Nouakchott, 25 Janvier 2004. <http://www.mapeci.com/531/actualite.htm>.

Cissé M.S., 2001. Effet d'un stress hydrique en milieu semi-contrôlé sur 3 écotypes locaux de mil (*Pennisetum glaucum* L.) cultivé dans les régions nord du Sénégal. Mémoire du DEA de Biologie Végétale, Université Cheikh Anta Diop de Dakar. 49p.

Cissé N. and Hall A.E., 2003. Traditional Cowpea in Senegal, a Case Study. www.fao.org/ag/agp/agpc/doc/publicat/cowpea_cisse/cowpea_cisse_e.htm.

Cissé N., Sène A. et Sall B., 2000. Amélioration du niébé. Rapport annuel-1999. *ISRA. CNRA de Bambey*. 27p.

Cissé, N., Thiaw, S., Ndiaye, M. et Hall, A.E., 1996. Guide de production de niébé. *ISRA. Fiches techniques*. 6 (2) : 12p.

Clavel D., Drame N.K., Diop N.N. et Zuily-Fodil Y., 2002. Outils moléculaires pour l'étude de l'adaptation à la sécheresse chez l'arachide. In : *Biotechnologie Végétales : de la structure des génomes à l'amélioration des plantes*. VIIIèmes journées scientifiques de réseau « Biotechnologies, Amélioration des plantes et Sécurité Alimentaire » de l'Agence Universitaire de la Francophonie / 7-9 octobre, Marrakech-Maroc. I. EL HADRAMI et F. Daayf. 307p.

Costa – França M.G., Pham Thi A. T., Pimentel C., Pereyra Rossiello, R.O., Zuily-Fodil Y., Laffray D., 1999. Differences in growth and water relation among *Phaseolus vulgaris* cultivars in response to induces drought stress. *Environ. and Exp. Bot.*, **43**: 227-337.

Coursolle C., Bigras F.J. and Margolis H.A., 2000. Assessment of root freezing damage of two-year-old white spruce, black spruce and jack pine seedlings. *Scand. J. For. Res.* **15**:343-353.

Craufurd P.Q., Summerfield R.J., Ellis R.H. et Robert E.H., 1997. Photoperiod, Temperature, and The growth and development of cowpea. *In: Advances in Cowpea Research*, Singh B.B., Mohan Raj D.R., Dashiell K.E. and Jackai L.E.N., (eds). IITA-JIRCAS, Ibadan, Nigeria, pp 75-86.

Cruz de Carvalho M.H., d’Arcy-Lameta A., Roy-Macauley H., Gareil M., El Maarouf H., Pham-Thi A.T. et Zuily-Fodil Y., 2001. Aspartic protease in leaves of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp): enzymatic activity, gene expression and relation to drought susceptibility. *FEBS Lett.* **492**: 242-246.

De B. and Mukherjee A.K., 1996. Mercuric chloride induced membrane damage in tomato cultured cells. *Biol. Plant.* **38**: 469-473.

Desouky L., 1994. Physiologie et Biochimie de la phytotoxicité des herbicides inhibiteurs de la photosynthèse. Thèse de Doctorat. Université Libre de Bruxelles. 137p.

Dhindsa R.S., Cleland R.E., 1975. Water stress and protein synthesis. II. Interaction between water stress, hydrostatique pressure and abscisic acid on the pattern of protein synthesis in *Avena coleptiles*. *Plant Physiol.* **55**: 782-785.

Diop, N.N., 2002. Ecophysiologie moléculaire de la tolérance à la sécheresse chez une Fabacée tropicale, *Vigna unguiculata* L. Walp. Clonage et étude d’un nouveau gène codant un inhibiteur de protease. Thèse de doctorat, Université Paris 12- Val de Marne. 138p.

Ehlers, J.D. et Hall, A.E., 1997. Cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) *Field Crops Research* **53**: 187-204.

El Maarouf H., d’Arcy-Lameta A., Gareil M., Zuily-Fodil Y. et Pham-Thi A.T., 2001. Cloning and expression under drought of cDNAs coding for two PI-PLCs in cowpea leaves. *Plant Physiol. Biochem.* **39**: 167-172.

El Maarouf H., Zuily-Fodil Y., Gareil M., d’Arcy-Lameta A. et Pham-Thi A.T., 1999. Enzymatic activity and gene expression under water stress of phospholipase D in two cultivars of *Vigna unguiculata* L. Walp. Differing in drought tolerance. *Plant Mol. Biol.* **39**: 1257-1265.

Elowad H.O.A. and Hall A.E., 1987. Influences of early and late nitrogen fertilization on yield and nitrogen fixation of cowpea under well-watered and dry field conditions. *Field Crops Res.*, **15**: 229-244.

Epron D. and Dreyer E., 1990. Effets de la sécheresse sur la photosynthèse: mécanismes d’action et techniques d’étude. pp 77-80.

Eyletters M. et Bourrié B., 1996. La fluorimétrie. Un outil pour étudier les déficiences nutritionnelles de la vigne et mesurer l'effet des apports d'engrais. *Phytoma « La défense des végétaux »* **489** : 58-60.

FAOSTAT, 2000. Site Internet: <http://www.fao.org/statistics>.

Fatokun, C.A., Tarawali, S.A., Singh, B.B., Kormawa, P.M. et Tamo, M. 2002. Challenges and opportunities for enhancing sustainable cowpea production. Proceeding of the world cowpea conference III held at the International Institute of Tropical Agriculture (IITA), Ibadan, Nigeria, 4-8 September 2000. IITA, Ibadan Nigeria. 433p.

Fery R.L., 1990. The cowpea: production, utilisation, and research in the United States. *Hort. Rev.*, **12**: 454-456.

Forsthoefel N.R., Cushman M.A.F., Ostrem J.A. et Cushman J.C., 1998. Induction of cysteine protease cDNA from *Mesembryanthemum crystallinum* leaves by environmental stress and plant growth regulators. *Plant Sci.* **136**: 195-206.

Franca M.G.C., Thi A.T.P., Pimentel C. Rossiello R.O.P., Zuily Fodil Y. and Laffray D., 2000. Differences in growth and water relations among *Phaseolus vulgaris* cultivars in response to induced drought stress. *Environm. Exp. Bot.* **43** : 227-237.

Franklin L.A., Levasseur G., Osmond C.B., Henley W.J., Ramus J., 1992. Two components of onset and recovery during photoinhibition of *Ulva rotundata*. *Planta*, **186**: 399-408.

Fратиanni A., Pastore D., Pallotta M.L., Chiatante D., Passarella S., 2001. Increase of Membrane Permeability of Mitochondria Isolated from Water Stress Adapted Potato Cells. *Bioscience Reports*, **21** (1) :81 -91.

Fretaud J.P. et Dancette C., 1983. Synthèse des recherches agroclimatologiques sur le niébé. Bambey, CNRA, 4p.

Gaff D.F., 1989. Responses of desiccation tolerant “resurrection” plants to water stress. IN K.H. Kreeb, H. Richter and T.M. Hinckley, eds. *Structural and Functional Responses to Environment Stresses*. SPB Academic Publishing by, The Hague, The Netherlands: 255-268.

Garty J., Weissman L., Tamir O., Beer S., Cohen Y. et Karnieli A., 2000. Comparison of five physiological parameters to assess the vitality of the lichen *ramalina lacera* exposed to air pollution. *Physiol. Plant.* **109**: 410-418.

Ghoulam C., Foursy A., and Fares K., 2002. Effects of salt stress on growth, inorganic ions and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in five sugar beet cultivars. *Environ. Exp. Bot.* **47**: 39-50.

Goalbaye T., 2001. Contribution à l'étude de marqueurs physiologiques de contrainte hydrique chez le niébé (*Vigna unguiculata* L. Walp). Mémoire de DEA de Biologie Végétale. Université Cheikh Anta Diop de Dakar. 53p.

Govindjee, 1974. Analyse des phénomènes photochimiques au niveau thylakoïdien, la transduction d'énergie. P 69 In : *Physiologie végétale I : Nutrition et métabolisme*. Danielle Laval-Martin, Paul Mazliak.

Gummuluru S., Hobbs S.L.A. and Jana S., 1989. Physiological responses of drought tolerant and drought susceptible durum wheat genotypes. *Photosynthetica* **23**: 479-485.

Hall A.E, Mutters R.G. and Furquhar G.D., 1992. Genotypic and drought-Induced differences in carbon isotop discrimination and gas exchange of cowpea. *Crop Science*, **32**: 1-6.

Hall A.E., 2004. Breeding for adaptation to drought and heat in cowpea *Europ. J. Agronomy*, **21**: 447-454.

Hall A.E., Thiaw S., Ismail A.M. and Ehlers J.D., 1997a. Water use efficiency and drought adaptation of cowpea. In: *Advances in cowpea research*. Singh B.B., Mohan D.R., Dashiell K.E., Jackai L.E.N. (eds). Ibadan, Nigeria: copublication of the International Institute for Tropical Agriculture, pp 87-98.

Hall, A.E., Singh, B.B. et Ehlers, J.D., 1997b. Cowpea breeding. In: *Plant Breeding Reviews*, Jules Janicks (ed). Vol.15. Wiley, USA. pp 215-274.

Havaux M., Erne M. and Lannoye R., 1988. Correlation between heat tolerance and drought tolerance in cereals demonstrated by rapid chlorophyll fluorescence tests. *J. Plant Physiol.* **133**: 555-560.

Ibrahim, A.M.H., Quick, J.S., 2001. Genetic control of high temperature tolerance in wheat as measured by membrane thermal stability. *Crop. Sci.* **41**: 1405-1407.

Ismail A.M. and Hall A.E., 1999. Reproductive-stage heat tolerance, leaf membrane thermostability and plant morphology in cowpea. *Crop Sci.* **39**: 1762-1768.

Keim D.L. et Kronstad W.E., 1981. Drought response of winter wheat cultivars grown under field stress conditions. *Crop Science*, **21**: 11-15.

Kwapata M.B. and Hall A.E., 1985. Effects of moisture regime and phosphorus on mycorrhizal infection, nutrient uptake, and growth of cowpeas (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) *Field Crops Res.*, **12**:241-250.

Lauriano J.A., Lidon F.C., Carvalho C.A., Campos P.S. and Matos M.D., 2000. Drought effects on membrane lipids and photosynthetic activity in different peanut cultivars. *Photosynthetica* **38**: 7-12.

Leopold A.C. and Vertucci C.W., 1986. Physiological attributes of desiccated seeds. In: Leopold A.C. (ed.), *Membranes, Metabolism, and Dry Organisms*. Comstock Publishing Associates, Ithaca, New York, pp.22-34.

Liu X.Z. and Huang B.R., 2000. Heat stress injury in relation to membrane lipid peroxidation in creeping bentgrass. *Crop Sci.* **40**: 503-510.

- Louguet P., 1984.** Inter-relations entre les mouvements des stomates et la résistance à la sécheresse chez les végétaux cultivés: cas du mil, 185-197. In : *la sécheresse en zone intertropicale pour une lutte intégrée*, Dakar, CIRAD/ISRA, 591p.
- Mackinney G., 1941.** Absorption of light chlorophyll solution. *Journal of Biological Chemistry*, **140**: 315-322.
- Maheswary M., Joshi D.K., Saha R., Nagarajan S. and Gambhir P.N., 1999.** Transverse relaxation time of leaf water protons and membrane injury in wheat (*Triticum aestivum* L.) in response to high temperature. *Ann. Bot.* **84**: 741-745.
- Mai-Kadomi, Y., Singh, B.B., Myers, jr, O., Yopp, J.H., Gibson, P.J. and Terao, T., 1999.** Two mechanisms of drought tolerance in cowpea. *Indian Journal of Genetics* **59** (3): 309-316.
- Maréchal, R., Mascherpa, J.M. and Stainier, F., 1978.** Etude taxonomique d'un groupe complexe d'espèces des genres *Phaseolus* et *Vigna* (Papilionaceae) sur la base de données morphologiques et polliniques traitées par l'analyse informatique. *Boisiera* **28** : 1-273.
- Maxwell K. and Johnson G.N., 2000.** Chlorophyll fluorescence – a practical guide. *Journal of Experimental Botany*. **51**(**345**): 659-668.
- Monneveux, P. et This, D., 1997.** La génétique face au problème de la tolérance des plantes cultivées à la sécheresse. *Sécheresse* **8** (1) : 29-37.
- Monteiro De Paula F., 1992.** Rôle des espèces moléculaires des lipides membranaires dans la résistance à la sécheresse chez le niébé (*Vigna unguiculata* L.). Thèse de doctorat. UFR de Biologie et Sciences de la nature. Université Paris VII. 178p.
- Nadjiam D., 2002.** Caractérisation agromorphologique et moléculaire de sept variétés de niébé (*Vigna unguiculata* [L.] Walp) de la collection de l'ISRA. Mémoire de DEA de Biologie Végétale, Université Cheikh Anta Diop de Dakar, 57p.
- Nilsen E.T. and Orcutt D., 1996.** The Physiology of Plants under Stress: Abiotic Factors. John Wiley and Sons, Inc., New York.
- Nwalozie M.C. et Annerose D.J.M., 1996.** Stomatal behaviour and water status of cowpea and peanut at low soil moisture levels. *Acta Agronomica Hungarica*. **44** (3): 229-236.
- Nyachiro J.M., Briggs K.G., Hoddinott J. and Johnson-Flanagan A.M., 2001.** Chlorophyll Content, Chlorophyll Fluorescence and Water Deficit in Spring Wheat. *Cereal Research Communications*. **29** (1-2): 135-142.
- Ogbonnaya C.I., Sarr B., Brou C., Diouf O., Diop N.N. and Roy-Macauley H., 2003.** Selection of Cowpea Genotypes in hydroponics, Pots, and Field for Drought Tolerance. *Crop Sci.* **43**: 1114-1120.
- Otto G.M.C., 2002.** Etude agromorphologique et moléculaire de quelques lignées recombinantes de niébé (*Vigna unguiculata* [L.] Walp.). Mémoire de DEA en Biologie Végétale; Université Cheikh Anta Diop de Dakar. 41p.

Ouedraogo I., 2000. Caractérisation du comportement morpho-physiologique en condition de déficit hydrique de variétés d'arachide (*Arachis hypogaea* L.) cultivées en zone semi aride d'Afrique Tropicale. Mémoire de DESS de protection de l'environnement et amélioration des systèmes agraires sahéliens. Université Abdou Moumouni, Niger. 65p.

Padulosi S. and Ng N.Q., 1997. Origin, taxonomy and morphology of *Vigna unguiculata* (L.) Walp., In: *Advances in cowpea research*, Singh B.B., Mohan Raj D.R., Dashielle K.E. and Jackai L.E.N (eds.). IITA and JIRCAS. IITA, Ibadan, Nigeria. pp 1-12.

Pasquet, R.S. et Baudoin, J.P., 1997. Le niébé. In: *L'amélioration des plantes tropicales*. Charrier A. *et al.*, CIRAD et ORSTOM: 483-505.

Pham Thi A., 1999. Lipides membranaires, peroxydation des lipides et tolérance à la sécheresse. In : *Méthodes et techniques de biochimie et de biologie moléculaire : outils d'appui à la sélection des plantes résistantes à la sécheresse*. Atelier, Thiès, Sénégal, 22-28 février. 30p.

Pham Thi A.T., Vieira da Silva J.B., 1976. Action des déficits hydriques sur la photosynthèse et la respiration des feuilles du cotonnier. In : *les processus de la productivité végétale primaire*. Moyse A. (ed.). Gauthiers-Villars : 183-202.

Pimantel C., Roy-Macauley H., Abboud A.D., Diouf O. and Sarr B., 1999. Effects of irrigation regimes on the water status of cowpea cultivated in the field. *Physiology and molecular biology of plants*, **5**: 153-159.

Premachandra G.S., Saneoka H. and Ogata S., 1991. Cell membrane stability and leaf water relations as affected by potassium nutrition of water-stressed maize. *J. Exp. Bot.* **42**: 739-745.

Premachandra G.S., Saneoka H., Fugita K. and Ogata S., 1992. Leaf water relations, osmotic adjustment, cell membrane stability, epicuticular wax load and growth as affected by increasing water deficits in Sorghum. *J. Exp. Bot.* **43**: 1569-1576.

Premachandra G.S. et Shimada T., 1987. The measurement of cell membrane stability using polyethylene glycol as a drought tolerance test in wheat. *Jpn. J. Crop Sci.* **56** : 92-98.

Purseglove, J.W., 1984. Tropical crops: Dicotyledons. *Longman Group Ltd.éd.*, Singapour, 719p.

Repellin A., Daniel C. et Zuily-Fodil Y., 1994. Intérêt des tests physiologiques dans la caractérisation du comportement de différentes variétés de cocotier soumis à la sécheresse. *Oléagineux*, vol.**49** (4) :155-169.

Repellin A., Pham Thi A.T., Tashakoré A., Sahrah Y., Daniel C. et Zuily-Fodil Y., 1997. Leaf membrane lipids and drought tolerance in young coconut palms (*Cocos nucifera* L.). *Eur. J. Agronomy***6**, 25-33.

Riga, P. and Vartanian, N., 1999. Sequential expression of adaptive mechanism is responsible for drought resistance in tobacco. *Aust.J.Plant Physiol.* **26**: 211-220.

Rintamäki E., Salo R., Aro E.M., 1994. Rapid turnover of the D1 reaction-centre protein of photosystem II as a protection mechanism against photoinhibition in a moss *Ceratodon purpureus* (Hedw.) *Brid. Planta*, **193**: 520-529.

Roy-Macauley H., 1996. Evaluation of Membrane Integrity: Electrolyte and Inorganic Phosphate Leakage methods. Technical Document. CERAAS. 8p.

Roy-Macauley H., 1993. Activités endoprotéolytiques: mise en évidence et variations en réponse au déficit hydrique chez *Phaseolus et Vigna*. Etude préliminaire de la réponse du système ubiquitine à la contrainte hydrique. Thèse de doctorat. UFR de Biologie et Sciences de la nature. Université Paris VII. 140p.

Sachs M.M. et Ho T.D.H., 1986. Alteration of gene_expression during environmental stress in plants. *Annu Rev. Plant Physiol.* **37**: 363-376.

Saelim S. and Zwiazek J.J., 2000. Preservation of thermal stability of cell membranes and gas exchange in high temperature-acclimated *Xylia xylocarpa* seedlings. *J. Plant Physiol.* **156**: 380-385.

Sahsah Y., Campos P., Gareil M., Zuily-Fodil Y. et Pham-Thi A.T., 1998. Enzymatic degradation of polar lipids in *Vigna unguiculata* leaves and influence of drought stress. *Physiol. Plant.* **104** : 577-586.

Sanchez R.A., Hall A.J., Trapani N. and De Hunau R.C., 1983. Effects of water stress on the chlorophyll content, nitrogen level and photosynthesis of leaves of two maize genotypes. *Photosynth. Res.* **4**: 35-47.

Sarr B., Diouf O., Diouf M., Roy-Macauley H. et Brou C., 2001. Utilisation des paramètres agronomiques comme critères de résistance à la sécheresse chez 3 variétés de niébé cultivées au Sénégal et au Niger. *Sécheresse*, **12** (4); 259-266.

Sarr, B., Njdiendole, S., Diouf, M. et Roy-Macauley, H., 1999. Suivi de l'état hydrique du sol et de la température du couvert de maïs au Sénégal. *Sécheresse* 10 (2): 129-135.

Scotti Campos P.L.B.A, 1998. Effects of water stress on photosynthetic performance and membrane integrity in *vigna* spp. The role of membrane lipids in drought tolerance. LISBOA. 114p.

Seneratna, T. et Mc Kersie, B.D., 1983. Characterization of solute efflux from dehydration injured soy bean (*Glycine max* L. Merr.) *Seeds Plant Physiol.* **72**: 911-914.

Shakel, K.A. and Hall, A.E., 1979. Reversible leaflet movements in relation to drought adaptation in cowpeas *Vigna unguiculata* (L.) Walp. *Australian journal of plant physiology* 6: 265-276.

Silveira J.A.G., Melo A.R.B., Viégas R.A. and Oliveira J.T.A., 2001. Salinity-induced effects on nitrogen assimilation related to growth in cowpea plants. *Environ. Exp. Bot.* **42** (2) : 171-179.

Singh, B.B., Maï-Kadomi, Y. and Terao, T., 1999. A simple screening method for drought tolerance in cowpea. *Indian Journal of Genetics.* 59 (2): 211-220.

Spencer D.F. and Ksander G.G., 1999. Influence of dilute acetic acid treatments on survival of monoecious *Hydrilla* tuber in the Oregon House Canal, California. *J. Aqu. Plant Manag.* **37**: 67-71.

Sreenivasulu N., Grimm B., Wobus U. and Weshke W., 2000. Differential response of antioxidant compounds to salinity stress in salt-tolerant and salt-sensitive seedling of foxtail millet (*Setaria italica*). *Physiol. Plant.* **109**: 435-442.

Sriram S., Raguchander T., Babu S., Nandakumar R., Shanmugam V., Vidhyasekaran P. 2000. Inactivation of phytotoxin produced by the rice sheath blight pathogen *Rhizoctonia solani*. *Can. J. Microbiol.* **46**: 520-524.

Stayler R.O., 1973. Effects of short periods water stress on leaf photosynthesis. In: Réponse des plantes aux facteurs climatiques. Actes colloque d'Uppsala, Paris. UNESCO. pp 271-276.

Strasser R.J., 1988. A concept for stress and its application in remote sensing. In: *Applications of Chlorophyll Fluorescence in Photosynthesis Research, Stress Physiology, Hydrobiology and Remote Sensing*, pp: 333-337, edited by Hartmut K. Lichtenthaler Kluwer Academic Publisher.

Suprnova T., Baca I., Ktugman T., Fahima T., Korol A. and Nevo E., 2002. Induction and differential expression of dehydrin (dhn) genes in wild barley (*Hordeum spontaneum*) in response to drought stress. *Plant, Animal and Microbe Genomes X Conference*. Poster: Functional Analysis. http://www.intl-pag.org/pag/10/abstracts/PAGX_P747.html.

Tamura A., 2000. Evaluation of freezing tolerance of whole plants in komatsuna (*Brassica campestris* L.) and spinach (*Spinacia oleracea* L.). *J. Jap. Soc. Hort. Sci.* **69**: 332-338.

Tardieu M. et Sène D., 1966. Le haricot niébé (*Vigna unguiculata* Wap.) au Sénégal. *L'agronomie tropicale*. pp : 918-926.

Thiaw S. and Hall A.E., 2004. Comparison of selection for either leaf-electrolyte-leakage or pod set in enhancing heat tolerance and grain yield of cowpea. *Field Crops Research*, **86**: 239-253.

Thomas D.S. and Turner D.W., 2001. Banana (*Musa* sp.) leaf gas exchange and chlorophyll fluorescence in response to soil drought, shading and lamina folding. *Scientia Horticulturae* **90**: 93-108.

Turner N.C., 1979. Drought resistance and adaptation to water deficit in crop plants, In : *Stress physiology of crop plants*, *Mussel H., Staples R.C. (eds) Wiley interscience*, New York.

Turner N.C., Wright G.C., and Siddique K.H.M., 2001. Adaptation of Grain Legumes (Pulses) to Water-Limited Environments. *Advances in Agronomy*, **71**: 193-231.

Vainola A. and Repo T., 2000. Impedance spectroscopy in frost hardiness evaluation of Rhododendron leaves. *Ann. Bot.* **86**: 799-805.

Van der Mescht A., de Ronde J.A. and Rossow F.T., 1999. Chlorophyll fluorescence and chlorophyll content as a measure of drought tolerance in potato. *Research Letters, South African Journal of Science* **95**: 407-412.

Vartanian N., Damerval C., De Vienne D., 1987. Drought induced changes in protein patterns of *Brassica napus* var. *oleifera* roots. *Plant Physiol.* **84**: 989-992.

Vasquez-Tello A., Zuily-Fodil A., Pham Thi A.T. and Vieira Da Silva J.B., 1990. Electrolyte and Pi Leakages and Soluble Sugar Content as Physiological Tests for Screening Resistance to Water Stress in *Phaseolus* and *Vigna* Species. *Journal of Experimental Botany*, **41(228)**: 827-832.

Younis H.M., Boyer J.S. and Govindjee, 1979. conformation and activity of chloroplast coupling factor exposed to low chemical potential of water in cells. *Ibid.* **548**: 328-340.

Annexe 1: dispositif expérimental:

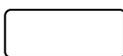
Bloc 1	Bloc 2	Bloc 3
V 906 STR	V 993 ETM	V 2065 ETM
V 740 STR	V 985 STR	V 993 STR
V 998 ETM	Mkh STR	V 977 ETM
V 998 STR	V 976 ETM	V 906 STR
V 977 STR	Mkh ETM	V 2065 STR
V 906 ETM	V 906 STR	V 740 STR
Mrd ETM	Mrd ETM	IT81D-1137ETM
V 976 ETM	V 961 ETM	V 985 STR
Mkh STR	V 985 ETM	V 755 ETM
V 985 STR	V 755 ETM	Mrd ETM
V 755 ETM	V 740 STR	V 961 STR
V 755 STR	V 906 ETM	Mkh STR
V 740 ETM	V 2065 STR	V 961 ETM
V 985 ETM	IT81D-1137ETM	V 985 ETM
V 961 STR	V 993 STR	Mrd STR
V 2065 STR	Mrd STR	V 976 ETM

V 993 ETM
V 977 ETM
IT81D-1137ETM
IT81D-1137STR
V 961 ETM
V 993 STR
Mrd STR
V 2065 ETM
V 976 STR
Mkh ETM

V 2065 ETM
IT81D-1137STR
V 977 ETM
V 976 STR
V 998 STR
V 755 STR
V 998 ETM
V 740 ETM
V 961 STR
V 977 STR

IT81D-1137STR
V 977 STR
Mkh ETM
V 998 ETM
V 755 STR
V 976 STR
V 906 ETM
V 993 ETM
V 740 ETM
V 998 STR

 TEMOINS

 STRESSES

ETM : témoins ; STR : stressés ; Mkh : melakh ; Mrd : mouride

Annexe 2 : analyse des variances de PDR, pour les 13 variétés de niébé, cultivées en pots et soumises aux conditions d'alimentation hydrique normales (ETM) et à un déficit hydrique moyen (STR).

	Pr > F
Régime hydrique	< .0001 *
Variété	0.1700 ns
Régime hydrique × variété	0.4342 ns

Annexe 3 : analyse des variances du PHI (Po) en fonction du nombre de jours après stress, pour les 13 variétés de niébé, cultivées en pots et soumises aux conditions d'alimentation hydrique normales (ETM) et à un déficit hydrique moyen (STR).

	Variété	Régime hydrique	R.H ×Variété
2 jas	0.6677 ns	0.6115 ns	0.3747 ns
4 jas	0.1472 ns	0.6581 ns	0.8193 ns
7 jas	0.1386 ns	0.0019 *	0.4722 ns
10 jas	0.7750 ns	0.6376 ns	0.4303 ns

Annexe 4 : analyse des variances du paramètre ABS/ RC en fonction du nombre de jours après stress, pour les 13 variétés de niébé, cultivées en pots et soumises aux conditions d'alimentation hydrique normales (ETM) et à un déficit hydrique moyen (STR).

	Variété	Régime hydrique	R.H ×Variété
2 jas	0.6396 ns	0.3398 ns	0.5131 ns
4 jas	0.1745 ns	0.5248 ns	0.7583 ns
7 jas	0.1079 ns	0.0006 *	0.1411 ns
10 jas	0.7546 ns	0.4553 ns	0.4813 ns

Annexe 5 : analyse des variances du SFI (abs) en fonction du nombre de jours après stress, pour les 13 variétés de niébé, cultivées en pots et soumises aux conditions d'alimentation hydrique normales (ETM) et à un déficit hydrique moyen (STR).

	Variété	Régime hydrique	R.H ×Variété
2 jas	0.7917 ns	0.2051 ns	0.8904 ns
4 jas	0.2383 ns	0.5705 ns	0.3831 ns
7 jas	0.0151 *	0.0019 *	0.1733 ns
10 jas	0.0971 ns	0.4740 ns	0.0365 *

Annexe 6 : analyse des variances du Pi (cso) en fonction du nombre de jours après stress, pour les 13 variétés de niébé, cultivées en pots et soumises aux conditions d'alimentation hydrique normales (ETM) et à un déficit hydrique moyen (STR).

	Variété	Régime hydrique	R.H ×Variété
2 jas	0.7185 ns	0.2004 ns	0.8896 ns
4 jas	0.2554 ns	0.6078 ns	0.4269 ns
7 jas	0.0046 *	0.0011 *	0.1974 ns
10 jas	0.0170 ns	0.8091 ns	0.0080 *