

Effet de la teneur en proline sur la stabilité membranaire chez des variétés d'orge soumises au stress salin

Alem C.¹, Mamouni Alaoui M.², Amri A.³, Filali Maltouf A.⁴

¹ Département de biologie Faculté des sciences et techniques Errachidia

² Institut National de la Recherche Agronomique Errachidia

³ Institut National de la Recherche Agronomique Rabat

⁴ Département de biologie Faculté des sciences Rabat

Résumé

L'extension des cultures et leurs productivités sont souvent limitées par la salinité des eaux et des sols. Cette étude vise à étudier les mécanismes de tolérance à la salinité chez des variétés d'orge marocaines par le suivi des variations de la stabilité des membranes cellulaires et de l'accumulation de la proline sous stress salin provoqué par des solutions de NaCl/CaCl₂ ou par l'eau salée de Ain el Atti (CE=11,6 mS). Les résultats obtenus ont permis de mettre en évidence une augmentation de la teneur en proline chez toutes les variétés au cours du stress salin et cette augmentation semble intervenir dans le maintien d'une bonne stabilité membranaire au niveau racinaire en condition de stress salin. Cependant, nous n'avons pas pu mettre en évidence cette intervention au niveau foliaire.

Mots clés : Tolérance à la salinité, Stress salin, Proline, Stabilité membranaire

Abstract : Effect of calcium accumulation on membrane stability of barley grown varieties under salt stress

Extension of agriculture land and crop productivity are affected in many regions by saline conditions of water and soils. The objective of this study is to investigate the mechanisms involved in salt tolerance of some maroccan barley varieties under NaCl/CaCl₂ salt concentrations and Ain el Atti water (CE = 11,6 mS). Results showed a significant increase in proline accumulated in roots and leaves for all varieties under salt stress. This proline accumulation appears to be correlated with membrane stability at the root level but not in the leaf level.

Key words : Salt tolerance, barley, proline, accumulation, membrane stability, salt stress

ملخص : تأثير كمية البرولين على استقرار غشاء الخلايا تحت تأثير الملوحة عند بعض أصناف الشعير

عالم ش.1، الماموني العلوي م.2، العمري أ.3 و الفيلاي مطوف ع.4

1 قسم البيولوجيا، كلية العلوم، الراشدية، المغرب

2 المعهد الوطني للبحث الزراعي، الراشدية، المغرب

3 المعهد الوطني للبحث الزراعي، الرباط، المغرب

4 قسم البيولوجيا، كلية العلوم، الرباط، المغرب

ان توسيع المجال الزراعي و تحسين انتاجيته يصطدم بملوحة المياه و التربة. ان احسن طريقة لاستغلال هذه المناطق المالحة هي إيجاد اصناف نباتية مقاومة للملوحة. تهدف هذه الدراسة الى بحث ميكانيزمات المقاومة للملوحة عند بعض اصناف الشعير المغربية عن طريق تتبع التغيرات الطارئة على استقرار غشاء الخلايا مع ربطه بقدرات تكديس البرولين، وذلك تحت تأثير ضغط الملوحة الناجمة عن محاليل كلورود السديوم و الكالسيوم او عن ماء عين العاطي المالحة. ان النتائج المحصل عليها مكنتنا من اظهار ارتفاع كمية البرولين عند كل اصناف الشعير مع ارتفاع درجة الملوحة المطبقة. و يعتبر هذا الارتفاع من العوامل التي تمكن من الابقاء على غشاء الخلايا في حالة مستقرة تحت تأثير ضغط الملوحة و ذلك عند الجذور فقط.

الكلمات المفتاحية : ضغط الملوحة، البرولين، غشاء الخلايا

Introduction

L'accumulation de la proline est l'une des manifestations les plus remarquables des stress salins et hydriques. Ceci incite à la recherche d'une relation entre cette accumulation et la tolérance à ces stress abiotiques. L'existence d'une variabilité génétique intraspécifique relative au potentiel d'accumulation de la proline a été mise en évidence chez l'orge. De plus, il est rapporté que les variétés les plus résistantes sont celles qui ont tendance à accumuler le plus de proline (Sing et al. 1972, El Mekaoui 1990). Ceci suggère une possibilité de l'utilisation de l'accumulation de la proline comme outil de sélection pour la tolérance à ce stress (Zid et Grignon 1991). Cependant chez la tomate, il est mentionné que les espèces et les variétés les plus sensibles aux stress hydriques et salins sont celles qui accumulent le plus de proline comparativement aux génotypes tolérants (Tal et al. 1979).

Le rôle de la proline dans la résistance aux stress abiotiques n'est pas encore bien élucidé, bien que quelques auteurs pensent que l'accumulation de la proline n'est pas une réaction d'adaptation au stress mais plutôt le signe d'une perturbation métabolique (Dix et Pearce 1981, Han-

son et al. 1977). D'autres auteurs pensent que cette accumulation permet de neutraliser les effets ioniques et osmotiques de l'accumulation de sel dans les vacuoles (Salsac et Monneveux 1991). Venekamp (1989) cite l'intervention de la proline dans la régulation du pH cellulaire. Dreier (1978) rapporte que l'augmentation de la teneur en proline est une réponse de protection des plantes à tous les facteurs qui entraînent une diminution en eau du cytoplasme (Stress hydrique, stress salin ou flétrissement). De ce fait, la proline peut remplacer la perte en eau au niveau de la structure tertiaire des protéines permettant aux enzymes de conserver leur activité. Solomon et al. (1994) rapportent une intervention de la proline pour empêcher la rubisco d'être inhibée par des concentrations élevées de NaCl. Floyd et Zs-Nagy (1984) ont indiqué que la proline est capable de réduire l'activité des radicaux libres en formant avec eux un solide assemblage permettant leur détoxication. Il est aussi mentionné que la proline en s'intercalant entre les têtes hydrophiles des phospholipides influence l'hydratation de la couche entourant les phospholipides membranaires (Rudolph et al. 1986). Tantau et Dörffling (1991) citent une implication de la proline dans la stabilisation des membranes vacuolaires chez des lignés de blé soumises au froid. Van Rensburg et al. (1993) rapportent chez le tabac soumis à un stress hydrique, que les variétés qui présentent les augmentations de la teneur en proline les plus rapides sont celles qui arrivent le mieux à protéger leurs membranes cellulaires et chloroplastiques. Crown et al. (1990), dans une étude réalisée sur des biomolécules, n'ont pas trouvé que la proline joue un rôle stabilisateur au niveau des systèmes membranaires soumis à une déshydratation.

Le présent travail consiste en un suivi de la variation de la teneur en proline chez des variétés d'orge marocaines sous stress salin. L'étude s'intéresse aussi à démontrer l'importance de la proline dans le maintien de la stabilité membranaire chez ces variétés d'orge dans les conditions du stress salin.

Matériel et méthodes

Matériel végétal

Six variétés d'orge marocaines inscrites au catalogue officiel : Aglou, Arig 08, Asni, Lannocour, Merzaga 077 et Rabat 071, ont été utilisées.

Traitements salins

L'essai a été conduit sous serre. Le substrat utilisé est du sable abondamment rincé à l'eau distillée avant le remplissage des pots.

Le dispositif expérimental est un split plot à trois répétitions. La grande parcelle est occupée par les traitements salins et les petites parcelles par les variétés d'orge.

Les différents traitements salins sont appliqués à partir du stade deux feuilles.

Les traitements salins sont réalisés à partir de solutions contenant du NaCl et du CaCl₂ dans les proportions 2 : 1

Traitement non stressé : TNS

Traitement avec une solution de 50 mM de NaCl, 25 mM de CaCl₂

Traitement avec une solution de 100 mM de NaCl, 50 mM de CaCl₂

Traitement avec une solution de 150 mM de NaCl, 75 mM de CaCl₂

Traitement avec une solution de 200 mM de NaCl, 100 mM de CaCl₂

Traitement avec une eau de la source salée d'Ain El Atti (CE=11,6 mS) dont la composition chimique est la suivante (en meq/L) :

Ions	Na	Mg ⁺⁺	Ca ⁺⁺	Cl ⁻	SO ₄ ⁺⁺	HCO ₃	K ⁺	pH	CE
Concentration meq/L	82,2	23	50	100	24	36	4,24	6,4	11,6 mS

Les plantes sont arrosées deux fois par semaine par ces différentes solutions et une fois par semaine par une solution nutritive de Hoagland et Arnon (1950).

Mesure de la stabilité de la membrane cellulaire

La méthode utilisée est celle décrite par Sullivan et Rosse (1979) et reprise par Ouassou (1991). Après 24h à 4°C de traitement par le PEG 600, des morceaux de tissus végétaux (feuilles ou racines) sont réhydratés par immersion dans de l'eau déionisée pendant 24h à 4°C. Après cette dernière incubation une première lecture de la conductivité électrique est réalisée à 25°C. Cette première lecture correspond à la perte d'ions par les tissus végétaux. Ce même milieu avec les morceaux de plante est ensuite autoclavé pendant 15 mn et une deuxième lecture de la conductivité est réalisée à 25°C. Celle-ci représente la conductivité des ions totaux présents dans les tissus végétaux. Un lot témoin où les morceaux de plante n'ont pas subi de traitement par le PEG 600 a été réalisé.

La stabilité membranaire est calculée en utilisant la formule suivante :

$$SM = (1 - T1/T2) / (1 - C1/C2)$$

T = Conductivité du milieu traité avec le PEG 600

C = Conductivité du milieu non traitée avec le PEG 600

1 = Première lecture de la conductivité

2 = Deuxième lecture de la conductivité

Dosage de la proline

La méthode utilisée est celle de Troll et Lindley (1955) et modifiée par Drein et Goring (1974).

Expression des résultats

Tous les dosages sont effectués sur des échantillons composés des quatre répétitions. Les résultats de toutes les mesures effectuées sont exprimés en pourcentage d'augmentation ou de diminution par rapport aux valeurs des lots témoins.

Résultats

Niveau racinaire

Variation de la teneur racinaire en proline

Dans le cas du traitement avec les solutions de NaCl/CaCl₂, chez chaque variété testée, nous observons une augmentation de la teneur racinaire en proline parallèlement à l'augmentation de l'intensité du stress salin (Figure 1).

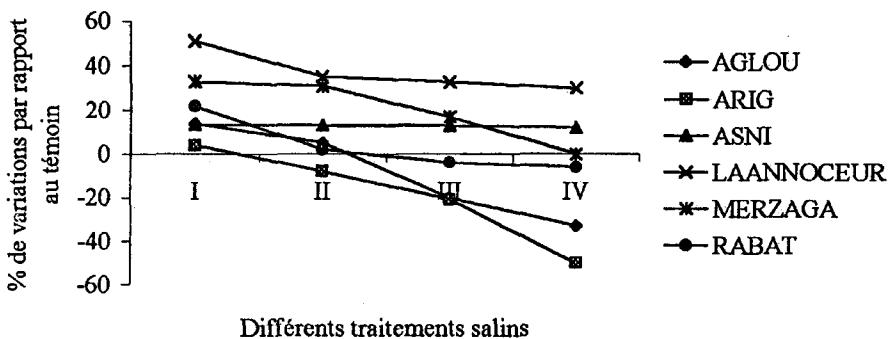


Figure 1. Variation de la stabilité membranaire racinaire des variétés d'orge sous différents stress salins

I. Traitement avec une solution de 50 mM de NaCl, 25 mM de CaCl₂

II. Traitement avec une solution de 100 mM de NaCl, 50 mM de CaCl₂

III. Traitement avec une solution de 150 mM de NaCl, 75 mM de CaCl₂

IV Traitement avec une solution de 200 mM de NaCl, 100 mM de CaCl₂

La variété Arig 08 est celle qui présente la plus faible augmentation de la proline ; alors que les variétés Asni et Merzaga 077 sont celles qui affichent les plus fortes augmentations.

Dans le cas du traitement avec l'eau d'Ain el Atti (Figure 2), la variété Arig 08, contrairement au traitement précédent, présente une augmentation significative de sa teneur en proline par rapport aux autres variétés. La variété Asni continue d'avoir la plus forte augmentation.

Si en général la teneur racinaire en proline est reliée à l'intensité du stress salin, chez la variété Arig 08 cette teneur est influencée par la composition chimique de la solution saline.

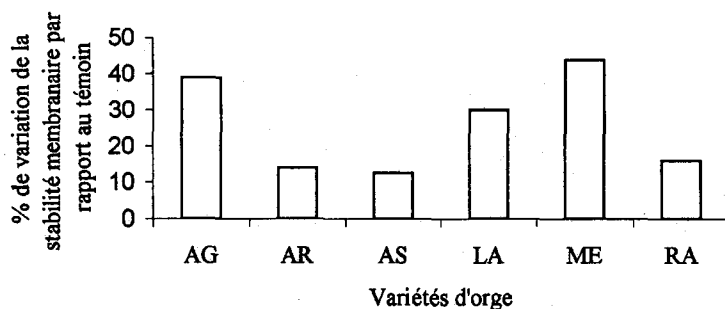


Figure 2. Variation de la stabilité membranaire racinaire des variétés d'orge sous l'effet de l'eau de Ain el Atti

AG : Aglou, AR : Arig, AS : Asni, LA : Laannoceur, ME : Merzaga, RA : Rabat

Variation de la stabilité membranaire racinaire

Les résultats montrent que la plupart des variétés traitées par les différentes solutions salines (figure 3) ainsi que par l'eau de Ain el Atti (figure 4) présentent une amélioration de la stabilité membranaire par rapport aux témoins non stressés. Les variétés Aglou et Arig 08 présentent une chute significative de la stabilité membranaire aux moyens et fort stress salins (Traitements III et IV). La variété Laannoceur présente la meilleure stabilité membranaire pour tous les degrés du stress salin. La variété Asni se remarque par la constance des valeurs de la stabilité membranaire à tous les niveaux du stress salin. Sous le traitement avec l'eau de Ain el Atti, les variétés Merzaga 077, Aglou et Laannoceur montrent les augmentations les plus marquées de la stabilité membranaire. La variété Aglou, bien qu'elle montre une amélioration de sa stabilité membranaire quand elle est traitée avec l'eau de Ain el Atti, présente cependant une chute significative quand elle est traitée avec les différentes solutions salines. La variété Arig 08 présente la plus faible stabilité membranaire par rapport aux autres variétés pour les deux traitements.

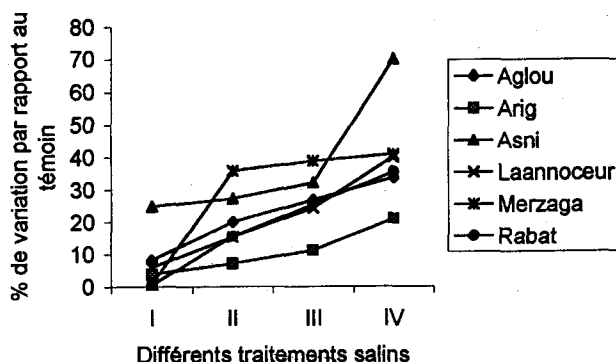


Figure 3. Variance de la teneur racinaire en proline chez des variétés d'orge sous différents stress salins

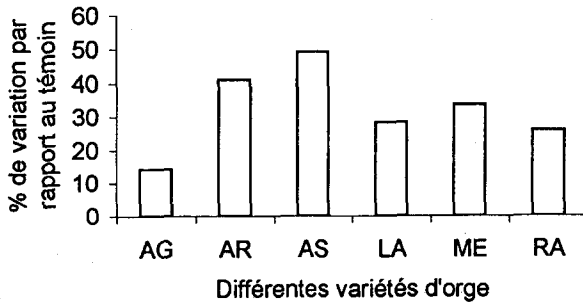


Figure 4. Variation de la teneur racinaire en proline chez des variétés d'orge sous l'effet de l'eau

Relation entre la variation de la teneur en proline et la stabilité membranaire

Dans le cas du traitement par les solutions de NaCl/CaCl₂ (Tableau 1), l'augmentation de la teneur en proline est corrélée négativement avec la diminution de la stabilité membranaire. Ceci indique que ce stress salin engendre en même temps une augmentation de la teneur en proline et une diminution de la stabilité membranaire. De plus, les variétés Asni, Laannoceur et Merzaga 077 qui présentent les plus faibles diminutions de la stabilité membranaire sont parmi celles qui présentent les plus importantes augmentations de leurs teneurs en proline. Arig 08 qui montre la plus grande diminution de la stabilité membranaire est aussi la variété qui présente la plus faible augmentation de la teneur en proline. Ainsi la proline semble jouer un rôle dans le maintien d'un bon niveau de stabilité membranaire sous stress salin.

Tableau 1. Corrélations entre la teneur en proline et la stabilité membranaire racinaire

	Aglou	Arig	Asni	Laannoceur	Merzaga	Rabat
+AA	-0,85	0,18	-0,96	-0,91	-0,41	-0,72
-AA	-0,95	-0,99	-0,95	-0,90	-0,64	-0,94

Tableau 2. Corrélations entre la teneur en proline et la stabilité membranaire foliaire

	Aglou	Arig	Asni	Laannoceur	Merzaga	Rabat
+AA	-0,76	-0,92	-0,86	-0,36	-0,91	-0,97
-AA	-0,94	-0,92	-0,86	-0,99	-0,96	-0,98

+AA : Les résultats du traitement par les différentes solutions de NaCl, CaCl₂ plus le traitement par l'eau de Ain el Atti sont utilisés.

-AA : Seuls les résultats des traitements par les différentes solutions de NaCl, CaCl₂ sont utilisés.

En combinant les résultats du traitement par l'eau de Ain el Atti avec ceux des traitements par les différentes concentrations de NaCl/CaCl₂ (Tableau 1), la corrélation chez les variétés Merzaga 077 et Arig 08 précité disparaît. De plus, pour le traitement avec l'eau de Ain el Atti, nous constatons que la variété Aglou, qui ne montre qu'une faible augmentation de sa teneur en proline, présente par contre une amélioration importante de sa stabilité membranaire. Les

variétés Asni et Arig 08 qui ont enregistré de fortes augmentations de la teneur en proline ne montrent par contre que de faibles améliorations de la stabilité membranaire. Dans le cas du traitement avec l'eau de Ain el Atti, la teneur en proline ne semble pas être un facteur qui améliore la stabilité membranaire.

Niveau foliaire

Variation de la teneur foliaire en proline

Pour chaque variété, nous observons une augmentation de la teneur en proline en parallèle avec l'augmentation de l'intensité du stress salin. Les variétés Laannoceur et Asni sont celles qui présentent les plus importantes augmentations de la teneur en proline que ce soit avec les solutions de NaCl/CaCl₂ ou avec l'eau de Ain el Atti. Les variétés Rabat 071 et Arig 08 par contre présentent les augmentations les moins significatives pour les deux traitements. Il apparaît que l'augmentation de la teneur en proline est indépendante de la composition chimique du traitement salin appliqué et dépend surtout de l'intensité du stress salin.

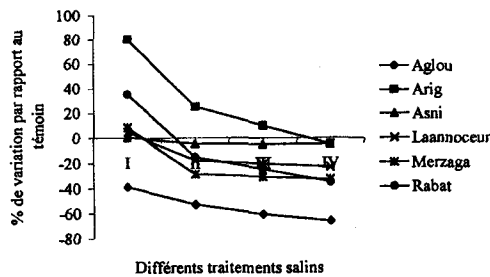


Figure 5. Variation de la stabilité membranaire foliaire des variétés d'orge sous différents traitements salins

Variation de la stabilité membranaire foliaire

Toutes les variétés étudiées montrent une diminution de la stabilité membranaire avec l'augmentation de l'intensité du stress imposé par les différentes solutions salines (Figure 7). Trois classes de variétés peuvent être distinguées à savoir Arig 08 et Asni qui sont peu affectées ; Merzaga 077, Laannoceur et Rabat 071 qui sont moyennement affectées et Aglou qui est fortement affectée. Ces mêmes variétés traitées avec l'eau de Ain el Atti (Figure 8) montrent qu'à part la variété Aglou qui est fortement affectée, les autres ne sont pas sensibles à ces variations de l'intensité du stress salin. Cependant pour les variétés Laannoceur et Merzaga 077 une légère amélioration de la stabilité membranaire a été enregistrée.

A part la variété Aglou qui montre une forte diminution de la stabilité membranaire pour les deux différents traitements (solutions de NaCl/CaCl₂ et l'eau de Ain el Atti), les autres variétés semblent se comporter différemment selon le type de traitement salin appliqué.

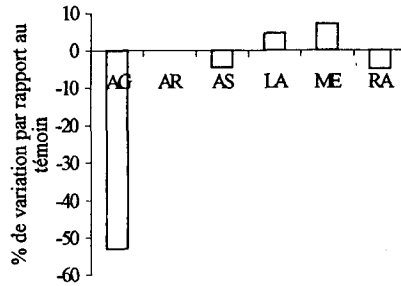


Figure 6. Variation de la stabilité membranaire foliaire des variétés d'orge sous l'effet de l'eau de Ain el Atti

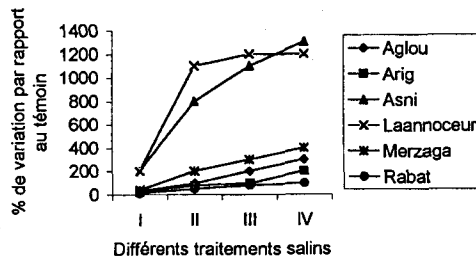


Figure 7. Variation de la teneur foliaire en proline chez des variétés d'orge sous différents stress salins

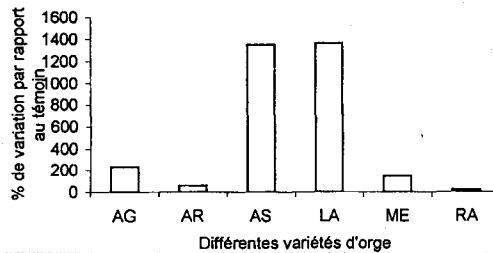


Figure 8. Variation de la teneur foliaire en proline chez des variétés d'orge sous l'effet de l'eau de Ain el Atti

Relation entre la variation de la teneur en proline et la stabilité membranaire

Dans le cas de tous les traitements salins, la diminution de la stabilité membranaire est corrélée négativement avec l'augmentation de la teneur en proline sauf chez la variété Laannoceur. Ainsi au cours du stress salin, l'augmentation de la teneur foliaire en proline est accompagnée d'une diminution de la stabilité membranaire. Cependant, nous constatons que la variété Arig 08 qui ne montre qu'une faible augmentation de la teneur en proline par rapport aux autres variétés présente la meilleure stabilité membranaire. La variété Laannoceur qui affiche une forte augmentation de sa teneur en proline, montre une stabilité membranaire moyenne par

rapport aux autres variétés. Dans le cas du traitement avec l'eau de Ain el Atti, la variété Merzaga 077 qui montre la meilleure stabilité membranaire ne présente cependant qu'une faible augmentation de la teneur en proline. La variété Asni qui a enregistré la plus forte augmentation de la teneur en proline, présente en même temps une diminution de la stabilité membranaire par rapport aux autres variétés.

Il semble ainsi que la teneur en proline ne joue pas de rôle dans l'amélioration de la stabilité membranaire dans les conditions de stress salin.

Discussion

Toutes les variétés d'orge testées ont tendance à accumuler de la proline aux niveaux racinaire et foliaire quand elles sont sous stress salin. Cette accumulation est plus importante au niveau foliaire que racinaire.

Cette accumulation semble être en général reliée plus à la concentration de la solution engendrant le stress salin qu'à sa composition chimique.

L'implication de la proline dans la stabilisation des membranes cellulaires dans les conditions de stress a été mentionnée par plusieurs auteurs (Van Rensburg 1993, Tantau et Dörffling 1991). Cependant l'influence de la proline sur la stabilité des membranes cellulaires des variétés d'orge testées n'a pu être mise en évidence qu'au niveau racinaire.

Vu la diversité des rôles attribués à la proline dans les conditions des stress abiotiques, nous pouvons penser que ceux-ci sont différents selon l'organe végétal considéré. L'orge est une plante à caractère inclusif qui a tendance à accumuler des quantités d'ions élevées dans les feuilles et à limiter leurs concentrations dans les racines (Zid et Grignon 1991, El Mekaoui et al. 1994). Ainsi le rôle joué par la proline dans la réalisation des équilibres ioniques et osmotiques entre le cytoplasme et les vacuoles est plus important au niveau foliaire que racinaire.

L'absence de corrélation entre la teneur en proline et la stabilité membranaire au niveau foliaire, peut être expliquée par le fait qu'à ce niveau, les teneurs en proline sont impliquées davantage dans la réalisation des équilibres ioniques et osmotiques que dans la stabilisation des membranes cellulaires.

Remerciements

Nous tenons à remercier Monsieur le directeur et le personnel de l'Office Régional de Mise en Valeur Agricole de Tafilalt (ORMVAT), ainsi que le chef du domaine expérimental de l'Institut National de la Recherche Agronomique (INRA) à Errachidia pour leur précieuse collaboration.

Références bibliographiques

- Crow J.H., Carpentier J.F., Crow L.M. and Anchordoguy T.J. 1990. Are freezing and dehydration similare stress vectors ? A comparison of modes of interaction stabilising solutes with biomolecules. *Cryobiology*. 27 : 219-231.
- Dix P.J. and PEARCE P.S. 1981. Proline accumulation in NaCl resistant and sensitive celles lines of *Nicotiana sylvestris*. *Z Pflanzenphysiol* BD : 102 S : 243-248.
- Dreier W. 1978. Possibilité d'une élaboration d'un test de présélection des variétés de plantes ayant une haute tolérance ou résistance aux sels, sur la base de la relation entre la teneur en proline des tissus végétaux et la résistance aux sels. Journées d'étude et de recherche agronomique. I.N.A. El Harrache, Algérie.
- El Mekkaoui M. 1990. Etude des mécanismes de tolérance à la salinité chez le blé dur (*T. durum* Desf) et l'orge (*H. vulgare*) : Recherche des testes précoces de sélection. Thèse doct. Montpellier.
- El Mekaoui M., Agbani M. et Monneveux Ph. 1994. Rôle de la sélectivité K^+/Na^+ et de l'accumulation de proline dans l'adaptation à la salinité de l'orge (*Hordeum vulgare* L.) et du blé (*Triticum durum* Desf.). Actes Inst. Agron. Vet. (Maroc) 14(2) : 27-36.
- Floyd R.A. and ZS-Nagy 1984. Formation of long lived hydroxyl free radical adducts of proline and hydroxyproline in a fenton reaction. *Biochem.Biophys.Acta*. 790 : 94-97.
- Hanson A.D., Nelson C.E. and Evarson E.H. 1977. Evaluation of free proline accumulation as an index of drought resistance using two contrasting barley cultivars. *Crop Sci*. 17 : 720-726.
- Hoagland D.R. and Arnon D.I. 1950. The water culture method for growing plant without soil. In *Mineral nutrition of plant : Principles and perspectives* (ed) Epstein E. 29-49.
- Rudolph A.S., Corwe J.H. and Corwe L.M. 1986. Effects of three stabilising agents : proline, betaine and trehalose on membranes phospholipides. *Arch.Biochem.Biophys*. 245 : 134-143.
- Salsac L. et Monneveux P. 1991. Relation entre la nutrition minérale et la tolérance au déficit hydrique. In *Physiology- Breeding of Winter Cereals for Stressed Mediterranean Environments*. Montpellier. July 3-6. (colloques n°55) (eds) Acevedo E., Conesa A.P. , Monneveux P. and Srivastava J.P. 49-66.
- Sing T.N. 1972. Proline accumulation and varietal adaptability to drought in barley : A potentiel metabolic measure of drought resistance. In *Nature New Biology*. 236 (12) : 188-189.
- Solomon A., Beer S., Waisel Y., Jones G.P. and Paleg L.G. 1994. Effects of NaCl on the carboxylating activity of Rubisco from *Tamarix jordanis* in the presence and absence of proline related compatible solutes. *Physiol. Plant*90 : 198-204.
- Tal M., Katz A. Heikin and Dahan K. 1979. Salt tolerance in wild relatives of cultivated tomato : proline accumulation in *Lycopersicum esculentum* Mill., *L. peruvianum* Mill. And *Solanum pennellii* treated with NaCl and polyethyleneglycol. *New.Phytol*. 82 : 349-355.
- Tantau H. and Dorffling K. 1991. In vitro selection of hydroxyproline resistant cell lines of wheat (*Triticum aestivum*) : Accumulation of proline, decrease in osmotic potential, and increase in frost tolerance. *Physiol. Plant*. 82 : 243-248.
- Van Rebsburg L., Krüger G.H.J. and Kruger H. 1993. Proline accumulation as drought tolerance selection criterion : its relationship to membrane integrity and chloroplast ultrastructure in *Nicotiana tabacum* L. *J. Plant Physiol*. 141 : 188-194.
- Venekamp J.H. 1989. Regulation of cytosol acidity in plants under conditions of drought. *Physiol. Plant*. 76 : 112-117.

Zid E. et Grignon C. 1991. Les testes de sélection précoce pour la résistance des plantes aux stress. Cas des stress salin et hydrique. 11èmes journées scientifiques du Réseau de Biotechnologies Végétales. L'amélioration des plantes pour l'Adaptation aux Milieux Arides. AUPELF/UREF. (ed) Libbey J. Eurotext. Paris et Londres. 91-108.