



CR000778

RAPPORT DE MISSION

Juillet - Août 1995

**CENTRE D'ETUDES REGIONAL
POUR L'AMELIORATION
DE L'ADAPTATION A
LA SECHERESSE.**

**Méthodes et techniques d'Evaluation
des mécanismes physiologiques
d'adaptation à la sécheresse :
Application sur maïs en rhitotron**

ANGONGA - LETSAKA

(C.R.A.L./CONGO)

ISRA - CNRA

**P. 53 BAMBEY SENEGAL
(221) 73.61.97 - 73.60.50
(221) 73.61.97 - 73.60.52**

LETS

41/852

RAPPORT DE MISSION

Juillet - Août 1995

**Méthodes et techniques d'Evaluation
des mécanismes physiologiques
d'adaptation à la sécheresse :
Application sur maïs en rhizotron**

ANGONGA - LETSAKA

(C.R.A.L./CONGO)

SOMMAIRE

1. Introduction	1
2. Programme de séjour	1
3. Principes et méthodes physiologiques utilisées	1
3.1. Contenu Relatif en Eau (CRE):	1
3.2. Potentiel hydrique foliaire par psychométrie	2
3.3. Potentiel hydrique à la chambre à pression et à la presse à membrane	2
3.4. Potentiel osmotique:	3
3.5. Contrôle stomatique de la transpiration : courbes de déshydratation	3
3.6. Echanges gazeux..	3
3.7. Résistance protoplasmique	4
3.8. Dynamique d'enracinement (rhizotrons)	5
3.9. Mesures sonde à neutrons :	5
4. Etude de 2 variétés de maïs cultivées en rhizotrons	5
4.1. Protocole:	5
4.2. Résultats : Mesures racinaires et hauteur des plantes	6
4.3. Résultats : Résistance protoplasmique	7
5. conclusion..	8
6. Remerciements..	8
7. Références Bibliographiques	9

1. INTRODUCTION

Les difficultés de communication entre le **CERAAS** Bambey et Brazzaville n'ont pas permis mon arrivée le 20 mai 1995 comme le **prévoyait** la direction du **CERAAS**. Compte tenu de ce retard, le voyage du 08 juillet 1995, pour une **durée** d'un mois, **n'était** plus propice **à** la conduite d'un essai, si ce n'est que pour l'assimilation de la méthodologie. Néanmoins, le test sur maïs en rhizotrons, m'aurait permis d'avoir une **idée** flexible soit elle, de la résistance de mes **variétés à** la **sécheresse**.

Hormis l'initiation aux **méthodes** et techniques **d'évaluation** des **mécanismes physiologiques** d'adaptation **à** la **sécheresse**, deux **variétés** de maïs ADONIS de France et **Synthétique C** du **Sénégal** ont **été** semées en pots le **13/07/95**, pour une **étude** physiologique sur les racines et les feuilles.

La connaissance des **mécanismes** physiologiques, des **différentes méthodes** et techniques y relatives, me paraît utile pour la **sélection** du **matériel végétal** mieux adapté **à** certaines zones **agroécologiques** du Congo.

Le présent rapport résume donc les différentes **méthodes utilisées** et donne un **aperçu** des tendances **observées** sur **maïs** en rhizotrons.

2. PROGRAMME DE SEJOUR

Revue des méthodes et acquisition des quelques techniques **d'études** physiologiques pour **l'amélioration** de l'adaptation **à** la **sécheresse** des **espèces cultivées**:

- Contenu relatif en eau (CRE) et potentiel hydrique et osmotique
- Echanges gazeux et **contrôle** stomatique de transpiration,
- **Résistance** protoplasmique
- **Dynamique d'enracinement**
- Etat hydrique du sol et mesures **neutroniques**

3. **PRINCIPES ET METHODES PHYSIOLOGIQUES UTILISEES**

3.1. Contenu Relatif en Eau (CRE):

Objectif

Détermination du volume d'eau et du taux d'hydratation des cellules **végétales** par la technique des pesées de feuilles ou de disques foliaires (méthode **gravimétrique**).

Principe

Evaluation de l'**état** hydrique de la plante et **appréciation** de l'**intensité** du déficit hydrique (Konan Konan, 1994)

Méthode

On **prélève** de disques foliaires sur une feuille (en **général** il s'agit de la **3ème** feuille en partant du sommet) qu'on met dans des fioles **déjà tarées**. On **détermine** le poids frais. Les disques sont ensuite plongés dans l'eau distillée pendant trois heures pour rehydratation. On obtient ainsi le poids turgescent. Le poids sec des disques sera obtenu après un passage à l'**étuve** à **85°C** pendant 48 heures.

Le CRE (en %) est donné par la formule :

$$CRE = (\text{poids frais} - \text{poids sec} / \text{poids turgescent} - \text{poids sec}) \times 100.$$

3.2. Potentiel hydrique foliaire par psychométrie

Objectif

Caractérisation de l'**état** hydrique d'un **végétal**.

Principe

Un échantillon est placé dans une chambre **hermétiquement fermée**. Après **équilibre** de **température** et de vapeur; la pression de vapeur qui se **développe** est **égale** à son potentiel hydrique.

Méthode

Le **procédé** consiste à prélever des échantillons des disques foliaires (**3e** feuille le plus souvent) entre **12H.00** **13H.00** . Ils sont introduits dans la chambre de **psychromètre** qui est **immédiatement fermée**. Les chambres sont **laissées** à la température ambiante pendant **4** heures pour avoir l'**équilibre** de pression de vapeur et de **température** entre l'air dans la chambre et l'**échantillon**. La température et la différence de potentiel (ddp) sont **mesurées** avec un **microvoltmètre**.

Une courbe **d'étalonnage d'équation** : $Y_h \text{ (bars)} = a \text{ (ddp)} + b$, (a et b étant des constantes) est **préalablement établie** en utilisant du **NaCl**, pour chaque

psychromètre. Elle permet de transformer les valeurs du ddp lues en potentiel hydrique.

3.3. Potentiel hydrique à la chambre à pression et à la presse à membrane

Objectif

Détermination de la force de rétention de l'eau dans les cellules foliaires.

Principe

Mesure de l'énergie **nécessaire** à la **libération** de l'eau par la feuille

Méthode 1: chambre à pression

On introduit la feuille dans la chambre de telle **manière** que le bout de pétiole soit visible à l'extérieur. Sous pression du gaz azote, l'aiguille du manomètre se **déplace** jusqu'à l'**apparition** de la **sève** de la section du **pétiole**, ce qui correspond au potentiel hydrique exprime en bars.

Méthode 2: presse à membrane

On place une partie de la feuille sur une membrane circulaire qu'on recouvre d'un papier filtre. L'ensemble est **hermétiquement** ferme **aussitôt** avec un **couvercle** transparent, permettant l'observation. A l'**aide** d'une manette, on applique la pression sur la membrane jusqu'à l'apparition de la **sève** sur le papier filtre. Le potentiel hydrique observé sous forme de pression lue sur le **manomètre** est **égal à** l'énergie appliquée pour **libérer** l'eau mais de signe contraire.

3.4. Potentiel osmotique:

Principe

Le principe de mesure est basé sur le changement **d'énergie** libre des **molécules** d'un solvant lorsque des **solutés** s'y ajoutent. Ce changement est dû aux variations de température d'ébullition, de **congélation** et de la pression de vapeur (Konan Konan, **1994**).

Méthode

On **prélève** un échantillon de la troisième feuille qu'on introduit dans une seringue hypodermique. La seringue est aussitôt mise au **congélateur à très** basse température pendant 24 heures afin **d'éclater** ou rompre les structures cellulaires de l'**échantillon**. Après 3 heures de **décongélation à température** ambiante, le suc vacuolaire est **libéré** à l'aide d'une micro pipette de 10 μL , il est **prélevé** et **déposé** sur un disque en papier filtre porté par un support. L'appareil devra **être stabilisé** et calibre au **préalable** pour des **résultats** fiables. Les valeurs de l'**osmomolalité** sont données directement par l'appareil (**Osmomètre WESCOR**) en **mmol/kg** à 37°C.

3.5. Contrôle stomatique de la transpiration : courbes de déshydratation

Objectif

Suivi de la **déshydratation** d'une feuille préalablement **hydratée à 100%** en fonction du temps.

Principe

Une grande partie de l'eau absorbée par les plantes est **rejetée** au niveau des feuilles par les stomates qui assurent les **échanges** gazeux avec le milieu extérieur.

Méthode

On détache une feuille qu'on met dans une boîte de Petri contenant de l'eau distillée, pendant **1h30**. Elle est ensuite sortie essuyée avec un papier buvard et pesée au rythme de toutes les 15 secondes durant les 5 premières minutes et d'une minute pendant les 10 minutes qui suivent jusqu'à ce que le poids de l'échantillon ne varie plus. On obtient ainsi une courbe de déshydratation dont le point d'inflexion correspond au point de fermeture des stomates au temps t sur l'axe des abscisses.

3.6. Echanges gazeux

Objectif

Mesurer en conditions réelles les échanges de CO_2 et de vapeur d'eau **libérée** par la plante au niveau de la feuille.

Principe

Mesurer de façon non destructive sur des plantes au champ, **à** l'aide de chambres de mesure automatisées et portables, les composantes de la transpiration (échanges d'eau) et de la **photosynthèse** (échange de CO_2) au niveau de la feuille

Méthodes

a) Le Poromètre LICOR Modèle Li 1600 permet de mesurer la quantité **d'énergie** reçue, la résistance stomatique, la transpiration et la température au niveau de la feuille et de **la** chambre ventilée grâce **à** laquelle **l'humidité** est maintenue constante. Les mesures sont faites sur la **troisième** feuille avec **le** maximum de luminosité possible sur le couple pince feuille pour la fiabilité des **résultats**.

b) L'ADC mesure les mêmes paramètres que le LICOR plus la photosynthèse et l'assimilation au niveau de la feuille. Il permet de suivre les échanges de dioxyde de carbone et de vapeur d'eau libérée par la plante.

Avant toute mesure, l'appareil devra **être** en **stabilité** thermique et hygrométrique avec le milieu. Les mesures sont prises toujours sur la **troisième** feuille en partant du sommet de la plante. La pince et la feuille sont **également exposées à** plus de lumière possible. Les résultats sont enregistrés dans l'appareil et peuvent **être transférés** dans un ordinateur pour lecture.

3.7. Résistance protoplasmatique

Objectif

Evaluer les **dégâts** relatifs membranaires occasionnés par le choc thermique ou osmotique sur les structures cellulaires de l'échantillon et déterminer à l'aide d'une courbe, la **température** et la concentration, qui provoquent 50% de dommages membranaires.

Principe

Mesure la quantité d'électrolytes **libérés** par les cellules **végétales après** application du choc osmotique ou thermique. Plus les **dégâts provoqués** sont importants, moins le **matériel végétal utilisé** est **résistant**.

Méthode

a) Choc thermique

Mettre des disques dans des tubes, les chauffer dans un bain-marie **à différentes températures**, pendant une heure. Conserver des tubes témoin.. Ajouter de l'eau distillée dans tous les tubes. Refroidir pendant 24 h au **réfrigérateur**. Mesurer la conductivité libre (CL). Remettre les tubes au bain-marie **à 100 °C** pendant 1 h, puis au **réfrigérateur** pendant 24 h. Mesurer la conductivité totale (CT).

b) Choc osmotique

Mettre des disques dans une solution de PEG 600 avec un volume et une concentration définis. Conserver des disques dans de l'eau distillée comme **témoins**. Laisser **à** température ambiante pendant 24 h. Rincer et mettre dans des tubes contenant 30 ml. d'eau distillée. Remettre les tubes au **réfrigérateur** pendant 24 h. Mesurer la **conductivité** libre (CL). Remettre les tubes au bain-marie **à 100°C** pendant 1 h, puis au **réfrigérateur** pendant 24 h. Mesurer la **conductivité** totale (CT)

3.8. Dynamique d'enracinement (rhizotrons)

Objectif

Suivre en milieu contrôlé le développement racinaire (vitesse de croissance, densité, profondeur) par horizon, sous différentes conditions d'irrigation et apprécier la réponse du système racinaire.

Caractéristiques des rhizotrons

Les plantes sont **cultivées** dans des tubes en PVC de **100** cm de hauteur et 15 cm de **diamètre**, avec une **face** transparente en Plexiglas, permettant l'observation de la progression racinaire. Les tubes habillés d'un **polyéthylène** noir sont **inclinés** de 30° sur un châssis **métallique**.

3.9. Mesures sonde à neutrons :

Objectif

Détermination de l'humidité du sol

Principe

L'**appareil libère** des neutrons qui sont ralentis par les atomes **d'hydrogène** de l'eau **présente** dans le sol. La quantité de neutrons ralentis est proportionnelle à la quantité **d'eau** dans le sol.

Méthode

Avec la sonde à neutrons on mesure la quantité d'eau dans chaque couche de sol **répartie** sur tous les dix **centimètres** jusqu'à une profondeur de 280 cm.

Le calcul de l'humidité volumique et de l'évapotranspiration (ETR), permet de **connaître jusqu'à** quelle profondeur les racines s'enfoncent dans le sol pour leur alimentation hydrique.

4. ETUDE DE 2 VARIETES DE MAIS CULTIVEES EN RHIZOTRONS:

4.1. Protocole:

Matériel végétal: Variété ADONIS (France), Variété synthétique C (Sénégal)

Semis : 13/07/95 en rhizotrons

Les tubes sont remplis avec un sol léger bien tamisé appelé Dior. Avant le semis ils sont irrigués jusqu'à la **capacité** au champ. Les rhizotrons sont semés le 13/07/95 à raison de 5 rhizotrons par variété (soit 10 tubes), et 4 graines par tube. Le **démariage** est effectué le 19/07/95 à 1 plant / rhizotron. Maintien des pots en conditions hydriques **non** limitantes.

a) Mesures racinaires et hauteur des plants:

Toutes les mesures sont **effectuées** à 7, 11 et 15 jours **après** semis.

Paramètres suivis :

- Racines:
 - Croissance racinaire (profondeur maximale) dans les horizons 0- 20 , **20- 40 , 40-60 cm**
 - Dénombrement des racines ayant leur terminaison dans l'horizon .
 - Déplacement volumique des racines après **dépotage** des tubes à l'eau
- Hauteur des plants de la base à la dernière ligule visible

b) Résistance protoplasmique

Prélèvement **d'échantillons** le 24/07/95, soit 11 jours après semis

Méthode

Prélever 4 feuilles de rang 3 par **variété** et les mettre dans des sachets en plastique contenant de l'eau distillée. Découper 160 disques foliaires par variété à l'aide d'un **emporte-pièce**. Les tremper pendant 30 min dans de l'eau distillée pour rinçage.

Pour le choc osmotique

- Préparer une gamme de trois solutions de PEG 600 à , -21, -22 et -23 bars
- Mettre 20 disques dans chaque solution et 20 autres dans de l'eau distillée comme **témoin**, soit un total de 80 disques foliaires.
- Laisser les **échantillons** sur la pailleasse pendant 24 heures **à** température ambiante
- Rincer les disques avec de l'eau distillée. Les essuyer et les mettre dans des tubes à essai contenant 30 ml d'eau **distillée** (10 disques par tube et par variété).
- Mettre les tubes au **réfrigérateur** à 8°C pendant 24 heures pour permettre la diffusion des électrolytes.
- Faire la mesure de la **conductivité** libre (CL).
- Remettre les tubes au bain-marie pendant 1 heure à **100°C**, puis au réfrigérateur pendant 24 heures à **10°C**.
- Faire la mesure de la conductivité totale (CT).

Pour le choc thermique

- Mettre 10 disques par tube avec des traces d'eau **distillée** et les soumettre à différentes températures de bain-marie, 51, 52 et **53°C**, pendant 1 heure, garder les **témoins** sur paillasse.
- Ajouter 30 ml d'eau distillée à chaque tube et mettre au **réfrigérateur**.
- Mesurer les **conductivités** libre et totale comme décrites plus haut.

Calculs

- Le pourcentage de **dégâts** relatifs membranaires lié au traitement est donné par la formule :

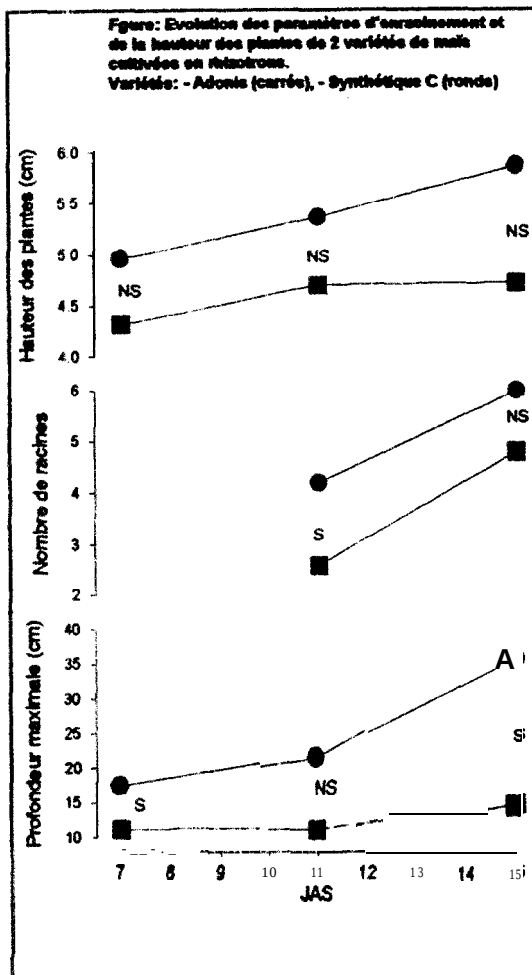
$$PDR = \{ (1 - CL_{TR}/CT_{TR}) / (1 - CL_{TE}/CT_{TE}) \} \times 100,$$

TE = témoin et TR = traitement

Le pourcentage d'**intégrité** relatif (PIR) pour le traitement est obtenu par la relation

$$PIR = 100 - PDR.$$

4.2. Résultats : Mesures racinaires et hauteur des plantes



A la **dernière** date (15 JAS), les plantes des 2 **variétés** ont développé 4 feuilles chacune.

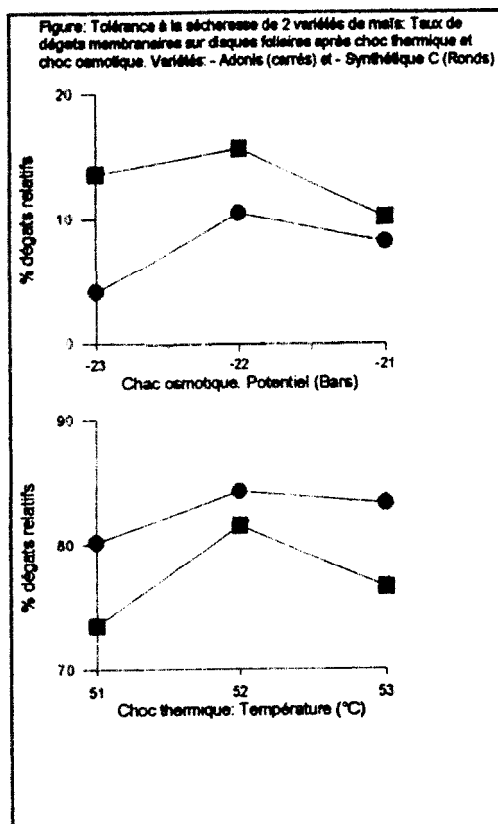
Aucune différence significative n'a été **observée** sur la hauteur. **Néanmoins**, aux 3 dates, **Synthétique C** se classe en tête.

Après dépotage des tubes, le **déplacement** volumique racinaire moyen mesuré sur 5 pots a été de 5,4 ml pour Adonis et de 8,4 ml chez **Synthétique C**, soit en densités racinaires 0,0020 et 0,0013 cm³/cm³ respectivement. Cette inversion de classement s'explique par le fait que le volume de sol prospecté chez Adonis est inférieur. Pour 2 **paramètres** racinaires mesurés, ainsi que pour la hauteur des plants, et pour chacune des 3 dates, on constate que la **variété Synthétique C** est toujours au dessus de la variété Adonis.

La différence dans la dynamique racinaire observée entre les 2 **variétés** peut être le reflet d'un passage plus rapide chez **Synthétique C**, de la phase de croissance **hétérotrophe** à la phase de croissance autotrophe.

L'ensemble de ces observations indiquent donc une croissance aérienne et racinaire plus rapide de la variété **Synthétique C** dans les 15 premiers jours de développement. Il serait **intéressant** de **confirmer** ce comportement par une étude en conditions **réelles**. L'avantage d'une croissance racinaire plus rapide serait également à mettre en relation avec une **éventuelle** meilleure résistance à la sécheresse.

4.3. Résultats : Résistance protoplasmique



Choc thermique:

On constate que le pourcentage de **dégâts** membranaires est supérieur **à 70%**. Cet **écart** par rapport aux **résultats** mentionnés par Akanvou, qui obtenait 50% de **dégâts** relatifs pour les **mêmes** températures (52°C) s'explique par le fait que les plants étudiés dans cet essai étaient plus jeunes, soit 15 JAS au lieu de 50 JAS dans l'étude **d'Akanvou**.

Dans les conditions de ce test la variété Adonis semble plus **résistante** à un choc thermique que la variété Synthétique C.

Choc osmotique

Les pourcentages de dégâts membranaires en réponse à un choc osmotique, entre -23 et -21 bars sont restés **très** faibles (de l'ordre de 10 %), et en dessous des chiffres obtenus par Akanvou de 50% à -22 bars. Ce résultat ne permet pas de tirer de conclusion fiable sur ce volet.

Au vu des résultats obtenus et des **difficultés rencontrées** dans leur **interprétation**, pour diverses raisons, cette étude pourrait être reconduite dans les meilleures conditions pour des résultats plus raisonnés.

5. CONCLUSION.

Le séjour d'un mois au **CERAAS** m'a permis de me familiariser avec quelques méthodes et techniques d'évaluation de certains mécanismes physiologiques d'adaptation à la **sécheresse**, ce qui n'est pas sans intérêt.

L'objectif principal peut **être** considéré atteint sauf que: ***la méthode vaut ce que vaut l'utilisateur***

6. REMERCIEMENTS

Je remercie **sincèrement** la direction du **CERAAS** pour son invitation et pour la **qualité** du **séjour**.

Je tiens **également** à remercier le corps de chercheurs et plus **particulièrement** les Drs Harold **ROY-MACAULEY** et Marcel NWALOZIE et M. Jean-Marc **LACAPE** pour tout ce qui a **été** fait pour moi.

Je n'oublie pas l'équipe des techniciens "plaque tournante" du laboratoire dont Abdou FAYE, MB-Ndoye SALL et Amadou DIOP pour leur disponibilité.

7. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

AKANVOU, L. 1991. Etude de comportement de 3 genotypes de Maïs en condition de **régime** hydrique naturel avec **complément** et de Stress hydrique pendant la **période pré-florale** hivernage. Rapport CERAAS, **7p.**

KONAN KONAN, J. L. 1994. **Amélioration** pour l'adaptation des plantes **à la sécheresse**. Quelques méthodes d'études physiologiques. **Rapport CERAAS, 18p.**

TOGOLA, O. 1990. **Caractérisation** de l'adaptation **à la sécheresse** de 4 **écotypes** de Maïs (ZEA mays L.). Rapport CERAAS, **10p.**