

CR002416

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

CERAAS

I.S.R.A. - C.N.R.A.

BP 53 Bambey Sénégal

Tél.: 73-60-50

**TECHNIQUES D'EVALUATION DES MECANISMES
PHYSIOLOGIQUES
D'ADAPTATION A LA SECHERESSE.**

Cécile SEDOGO
INERA, BURKINA-FASO

CENTRE D'ETUDE REGIONAL
POUR L'AMELIORATION DE L'ADAPTATION
A LA SECHERESSE

CERAAS

I.S.R.A. - C.N.R.A.

BP 53 Bambey Sénégal

Tél.: 73-60-50

**TECHNIQUES D'EVALUATION DES MECANISMES
PHYSIOLOGIQUES
D'ADAPTATION A LA SECHERESSE.**

Cécile SEDOGO
INERA, BURKINA-FASO

I) INTRODUCTION:

La sécheresse constitue dans les zones semi-arides, principalement dans la zone soudano-sahélienne, un des principaux facteurs limitant la production agricole,

Au Burkina, les contraintes majeures à la production du mil sont liées :

- au matériel végétal peu performant;
- à la fertilité des sols;
- aux problèmes phytosanitaires (insectes et maladies) et au striga.

De plus, depuis deux décennies, la sécheresse est devenue un problème majeur. On assiste à une baisse de la pluviométrie due à une installation tardive et à un arrêt précoce des pluies ainsi qu'à une irrégularité spatio-temporelle (réduction du nombre de jours de pluie, mauvaise répartition dans le temps). Ceci réduit considérablement la production et engendre des déficits alimentaires chroniques.

Dans le cadre de la lutte contre la sécheresse, plusieurs méthodes sont utilisées. Les progrès de la physiologie dans la compréhension des mécanismes physiologiques d'adaptation à la sécheresse offrent de nouvelles perspectives à l'amélioration génétique. C'est dans ce cadre que le CERAAS met à la disposition des chercheurs de la sous-région une infrastructure adaptée et un appui scientifique leur permettant d'étudier le comportement physiologique de leur matériel végétal et de conduire des programmes d'amélioration génétique d'adaptation à la sécheresse.

C'est dans le but d'avoir une bonne approche méthodologique des mécanismes d'adaptation à la sécheresse que le CERAAS nous a donné la possibilité d'effectuer un stage du 14 Octobre au 16 Novembre 1991 dans son laboratoire au CNRA de Bambey au Sénégal.

Pendant notre séjour, nous avons été initié aux différentes techniques d'études utilisées au CERAAS et nous avons aussi entamé une évaluation de la variabilité des caractères d'adaptation physiologique à la sécheresse de 5 écotypes provenant d'une collection du Burkina.

II) PROGRAMME DE SEJOUR:

A) PRISE DE CONTACT:

Nous avons rencontré dès notre arrivée les responsables du CERAAS, D. ANNEROSE et J-L K. KHALFAOUI, et le personnel technique. Nous avons visité les laboratoires et les différentes infrastructures du CERAAS.

B) INITIATION AUX DIFFERENTES TECHNIQUES D'ETUDE DES MECANISMES PHYSIOLOGIQUES D'ADAPTATION A LA SECHERESSE

- suivi du développement racinaire en rhizotron (densité, longueur et nombre de racines);
- mesure des échanges gazeux avec l'ADC type LCA3 portable;
- mesure de la résistance protoplasmique chez le sorgho;
- mesure du potentiel hydrique foliaire;
- mesure porométrique de la résistance stomatique;
- mesure de la transpiration de la plante sur feuille détachée;
- utilisation du thermo-couple (Mesure de T° et de potentiel foliaire);
- mesure du contenu relatif en eau (sorgho).

Enfin, nous avons entamé une étude, par la mise en place d'un essai en rhizotron. Cette étude pourrait s'inscrire dans le cadre d'une thèse de cycle que nous préparons.

III) LES MECANISMES D'ADAPTATION A LA SECHERESSE:

La résistance à la sécheresse est un système complexe comportant plusieurs mécanismes possibles d'adaptation. Lorsqu'on parle de résistance à la sécheresse, on doit d'abord préciser le type de sécheresse à laquelle la plante est soumise, la phase du cycle de développement au cours de laquelle survient la sécheresse. Les études sur la résistance à la sécheresse doivent être réalisées et adaptées à chaque type de zones climatiques.

A) LES MECANISMES D'ADAPTATION:

LEVITT (cité par ANNEROSE 1990) a proposé une classification des mécanismes d'adaptation à la sécheresse qui peuvent être séparés en trois grandes catégories.

- L'esquive de la sécheresse : c'est la capacité d'une plante réaliser son cycle complet de développement avant que des déficits hydriques importants ne se manifestent dans ses tissus.
- L'évitement de la sécheresse qui exprime la capacité d'une plante à supporter des sécheresses significatives en cours de cycle tout en permettant à ses tissus de conserver un potentiel hydrique élevé.
- La tolérance à la sécheresse : la capacité d'une plante à maintenir l'intégrité fonctionnelle et structurale de ses tissus lorsque le potentiel hydrique est faible.

B) LES METHODES D'APPROCHE POUR ADAPTATION A LA SECHERESSE:

1) Amélioration de l'absorption hydrique:

Le système racinaire:

Quatre paramètres du système racinaire ont de l'importance pour l'amélioration de l'absorption hydrique (ANNEROSE, 1990):

- la profondeur de l'enracinement;
- la densité racinaire linéaire;
- la résistance hydraulique;
- la vitesse d'installation du système racinaire, ce caractère est important pour les pays ayant des contraintes hydriques, il permet le maintien de l'équilibre hydrique des plantes durant la phase végétative.

Un système racinaire bien développé constitue un caractère important pour l'amélioration de l'absorption hydrique.

Réduction des pertes en eau:

- la diminution de la surface foliaire;
- la fermeture des stomates, associée à une faible transpiration, la variation de la conductance stomatique a souvent été mise en relation avec celle du potentiel hydrique.

2) Les principaux mécanismes de tolérance à la sécheresse sont :

Le maintien de la turgescence des tissus

La diminution de la turgescence est considérée comme l'une des causes principales des effets négatifs d'un stress hydrique sur les fonctions de la plante.

La tolérance à la déshydratation

La tolérance à la déshydratation dépend de la capacité des membranes cellulaires, des protéines membranaires et cytoplasmiques à résister à la dégradation et à la dénaturation. L'étude des effets de la sécheresse sur la photosynthèse nous permet d'étudier ce mécanisme de tolérance à la sécheresse.

Le test d'évaluation de l'intégrité des membranes par dosage des électrolytes avec un choc osmotique ou thermique nous permet de mesurer la résistance des membranes protoplasmiques à la dessiccation et à la chaleur.

IV) QUELQUES EXEMPLES D'ETUDES DES MECANISMES DE L'ADAPTATION A LA SECHERESSE SUIVIES AU CERAAS:

A) ETUDE SUR LE SORGHO:

L'étude que nous avons suivie à pour thème : Etude de la sensibilité à la sécheresse du sorgho en conditions contrôlées (5 variétés : 2 variétés béninoises, 2 variétés togolaises, 1 témoin local). Elle est menée par Messieurs LABARE (DAR du Togo) et DOSSOU YOVO (DAR du Bénin).

1) Mesure du potentiel hydrique foliaire:

Mesure à la presse hydraulique : l'appareil utilisé est une presse hydraulique J 14 (CAMPBELL instruments).

Principe

On découpe sur la 3ème feuille (sorgho) un carré que l'on place dans la presse, on le recouvre avec un morceau de papier filtre. La presse est refermée et à l'aide d'un manche on applique une pression sur la feuille jusqu'à l'observation du point d'apparition de la sève. On mesure ainsi le potentiel hydrique (PSI) que l'on transforme en bar. en appliquant un coefficient multiplicateur de $\cdot 0,07$.

B) ETUDE SUR L'ARACHIDE:

1) mesure de la transpiration sur feuilles détachées:

Les mesures sont faites sur les feuilles en cours de déshydratation selon la méthode des pesées successives :

- on prélève les feuilles ou champ et on les immerge dans l'eau avant la pesée;
- au labo et au bout de quelques heures de flottaison, les feuilles sont essuyées avec du papier absorbant et on les pèse afin d'obtenir le poids turgescent;
- on suspend ensuite la feuille à l'air ambiant puis on procède à des pesées successives à une fréquence au début de 30 secondes, puis 30 mn jusqu'à la déshydratation totale de la feuille. Le contenu relatif en eau CRE des feuilles à chaque instant t est déterminé par la formule :

$$CRE(t) = \frac{\text{Poids frais} - \text{poids sec}}{\text{Poids turgescent} - \text{poids sec}}$$

Cette étude a été réalisée sur 3 variétés d'arachide.

2) Mesure de la résistance protoplasmique:

Principe:

Dans de bonnes conditions hydriques, les échanges gazeux entre une cellule et le milieu extérieur se font dans le sens unique milieu extérieur-cellule. De mauvaises conditions hydriques ou tout autre choc physiologique ou même physique entraînent l'altération des structures membranaires qui se désagrègent. Dans ce cas la diffusion des électrolytes est facilitée et la conductivité du liquide de trempage dans lequel serait mis à flotter un échantillon de tissu végétal sera plus grande.

Cette conductivité mesure l'importance de la diffusion des électrolytes intracellulaires et permet d'évaluer le degré de dommages survenus au niveau de structures protoplasmiques sous l'effet du choc. La conductivité de la solution de trempage reste faible, les dommages sont peu importants (KODJO, 1991).

Etude:

L'étude est faite après application de 2 types de stress la chaleur et la dessiccation (PEG 600 purifié, polyéthylène glycol). L'intégrité de la membrane est évaluée directement par la quantité d'électrolytes libérés des structures cellulaires suite à un choc osmotique ou thermique.

- les feuilles sont coupées au niveau du pétiole et conservées dans un sachet plastique contenant de l'eau;

- au laboratoire, on prélève 90 disques foliaires de 1 cm de diamètre avec l'emporte-pièce. Les disques sont mis à flotter dans de l'eau distillée pendant une heure, Cette procédure permet d'éliminer les électrolytes libérés pendant le prélèvement des disques;

- après le rinçage les disques sont séparés en 3 lots;

- 1^{er} lot subit un traitement osmotique, les disques sont mis à flotter dans une solution PEG 300 g/l;

- 2^{ème} lot subit un traitement à la chaleur, les disques mis dans des tubes à essai sont placés dans un bain-marie;

- 3^{ème} lot témoin sans traitement, les disques sont trempés dans de l'eau distillée.

On détermine ensuite la conductivité du milieu de trempage

Le pourcentage de dégâts membranaires relatifs (PDR) résultant des traitements est calculé selon la formule :

$$PDR = 100 \left(-\frac{1 \cdot CL_{TR}/CT_{TR}}{1 \cdot CL_{Te}/CT_{Te}} \right) \times 100$$

avec TR (traité), Te (témoin)

Le pourcentage d'intégrité relative (PIR) est obtenu par la relation $PIR = 100 - PDR$. Les mesures ont été effectuées sur du matériel prélevé dans l'étude comparative de la résistance à la sécheresse de différentes variétés de sorgho soumises à un stress durant la période de floraison (KODJO et DOSSOU-YOVO).

Les résultats obtenus nous montrent succinctement que l'utilisation d'un choc osmotique PEG 300 g/l et d'un choc thermique (49") permettent une bonne discrimination des variétés en fonction de leur résistance protoplasmique à la déshydratation et à la dessiccation. Les contraintes osmotiques (PEG) calorifiques (49") ont permis de déceler des différences entre les variétés étudiées. Une variété togolaise, TCHOULELI, paraît relativement résistante à la sécheresse et présente en moyenne la meilleure résistance protoplasmique.

V) CARACTERISATION DE LA VARIETE GENETIQUE D'ADAPTATION A LA SECHERESSE DE 5 ECOTYPES DU BURKINA:

L'objectif de cette étude est d'évaluer la variabilité génétique des caractères physiologiques d'adaptation à la sécheresse. Une méthode d'application d'un stress hydrique, a été utilisée afin de faciliter le criblage du matériel étudié pour ses capacité d'adaptation à la sécheresse.

B) MATERIEL ET METHODES:

1) Matériel végétal:

Le matériel végétal comprend 5 écotypes du Burkina provenant d'une collection de mil. Ce matériel a fait l'objet d'une étude morphologique et enzymatique préalable par l'auteur.

Le choix du matériel pour la résistance à la sécheresse devrait être fait sur le matériel le plus discriminant à partir de l'analyse enzymatique, mais le manque de document nous a amené à faire un choix à partir d'une identification géographique du matériel utilisé pour l'analyse enzymatique.

Nous avons retenu 9 écotypes au départ, nous avons été obligés d'en éliminer 4 pour mauvaise levée.

Matériel retenu :

CBF 32	CRPA Sahel
CBF 75	CRPA Nord
CBF 93	CRPA Est
CBF 281	CRPA Comoé
CBF 175	CRPA Centre
Souna	Sénégal témoin local présenté sensible à la sécheresse.

2) Dispositif de culture:

Les semis sont effectués dans les rhizotrons.

Caractéristiques des rhizotrons :

Ce sont des tubes en PVC de 100 cm de haut, 16 cm de diamètre, avec une face plane transparente en plexiglas constituant une fenêtre à travers laquelle l'avancée du front racinaire peut être suivie. Les tubes sont en position inclinée à 30° sur un châssis métallique. Les racines pendant leur croissance s'appliquent en partie contre le plexiglas permettant ainsi leur observation. Les tubes sont remplis d'un sol local léger appelé Dior.

3) Dispositif expérimental:

Le dispositif expérimental est un essai en randomisation totale avec 6 variétés (5 écotypes plus un témoin local) en 5 répétitions. Les plantes sont cultivées dans les rhizotrons à raison d'un plant par rhizotron.

Deux régimes hydriques sont appliqués :

- régime normal correspondant à un arrosage journalier (500 ml/j);

- régime stress hydrique, le sol est humidifié au début et on observe un stress hydrique par suspension d'arrosage soit au début, soit à la fin selon l'objectif visé.

Nous avons au total $6 \times 5 \times 2 = 60$ rhizotrons. La culture en rhizotron est installée en plein air.

4) Méthode d'étude:

* Suivi du développement racinaire

Méthode non destructive

5 horizons sont distingués dans chaque tube.

O-20 cm

20-40 cm

40-60 cm

60-80 cm

80-100 cm

-On détermine la densité racinaire pour chaque horizon par une note visuelle variant entre 1 et 5 (1 densité faible, 5 densité forte).

-On compte le nombre de racines ayant les terminaisons dans chaque horizon.

-On mesure la longueur des racines les plus longues dans chaque horizon.

Méthodes destructives

A la fin de la croissance racinaire, on vide les tubes à l'aide d'un jet d'eau. La racine intacte et débarrassée du sol par lavage.

Mesures des paramètres racinaires

- mesure de la longueur totale de la racine;
- mesure du volume de la racine (déplacement volumique) ;
- mesure de la masse sèche racinaire (poids sec),

* Résistance protoplasmique et mesure de transpiration:

(voir les méthodes ci-dessus citées).

C) RESULTAT~

Nous avons suivi l'essai jusqu'à la première mesure racinaire. Les observations vont continuer jusqu'au dépotage par le CERAAS.

VI) CONCLUSION;

Ces études préliminaires nous ont permis de définir une méthodologie de travail pour les futures recherches que nous aurons à réaliser. L'étude que nous avons entamée nécessiterait un second séjour.

VII) REMERCIEMENT _

Nous remercions très sincèrement Messieurs D. ANNEROSE, J-L B. KHALFAOUI et C. MATHIEU pour avoir accepté de nous accueillir dans leur laboratoire et nous donner ainsi l'opportunité de nous initier à la manipulation des différentes techniques et méthodologies d'approche aux différents mécanismes d'adaptation des plantes à la sécheresse. Nous les remercions aussi pour toutes les mesures prises pour rendre notre séjour agréable.

Nous ne saurions terminer sans exprimer toute notre gratitude à tous les techniciens et particulièrement à Mbaye Ndoeye SALL dont la contribution nous a été fort utile.

BIBLIOGRAPHIE

ANNEROSE, D., D.J.M., 1988. Critères physiologiques pour l'amélioration de l'adaptation à la sécheresse de l'arachide. 4 pages.

ANNEROSE, D.J.M., 1990. Recherches sur les mécanismes physiologiques d'adaptation à la sécheresse, application au cas de l'arachide (*Arachis hypogea* L.) cultivée au Sénégal. **Thèse de Doctorat es Sciences Nat. Université Paris VII**, 281 pages.

ANNEROSE, D.J.M et DIAGNE, M. 1990. Caractérisation de la sécheresse agronomique en zone semi aride. Présentation d'un modèle simple d'évaluation appliquée au cas de l'arachide cultivée au Sénégal. 8 pages

ANNEROSE, D.J.M. 1991. Caractérisation de la sécheresse agronomique en zone semi-aride. Evaluation des formes de sécheresses agronomiques de l'arachide au Sénégal par simulation du bilan hydrique de la culture. 5 pages.

DOSSOU YOVO Sigisbert 1991. Etude sur la résistance protoplasmique du mil (*Pennisetum americanum*) à la chaleur et à la dessiccation **CERAAS**. 12 pages.

KHALFAOUI, J-L. B. 1985. Conduite de l'amélioration génétique de l'adaptation à la sécheresse en fonctions de ses mécanismes physiologiques

KODJO Labare, 1991. Etude sur la résistance protoplasmique du mil, *Pennisetum americanum* à la chaleur et à la dessiccation **CERAAS**. 7 pages.

LAFFRAY, D. et LONGUET, P. Appareil stomatique et la résistance à la sécheresse.. 20 pages.