

THESE

présentée à

L'UNIVERSITE DE PARIS VII

par

ALY NDIAYE

pour obtenir le titre de DOCTEUR de 3e CYCLE

Spécialité : PHYSIOLOGIE VEGETALE

Su jet : CONTRIBUTION A L'ETUDE DE L' ACTION DE LA SECHERESSE
SUR L'ACTIVITE DE QUELQUES ENZYMES CHEZ LE MIL
(*Pennisetum typhoides* Burm.)

Soutenue le 18 Septembre 1979 devant la Commission d'Examen

MM. HELLER

Président

VIEIRA DA SILVA

Examineurs

PERNES

Ce travail a été réalisé au Laboratoire de Biologie végétale et d'Ecologie forestière de Fontainebleau.

- Je remercie son Directeur, Monsieur le Professeur VIEIRA DA SILVA d'avoir accepté de m'y accueillir. Sa disponibilité constante, ses suggestions, ses qualités humaines et ses connaissances qu'il a du sujet m'ont été d'un apport considérable. Qu'il trouve ici l'expression de mon profond attachement et de mes vifs remerciements.

- Je remercie aussi Monsieur le Professeur HELLER d'avoir bien voulu présider mon jury.

- Mes remerciements vont également à Monsieur le Professeur PERNES qui a bien accepté de juger ce travail.

- Que le personnel du laboratoire de Fontainebleau trouve ici l'expression de mes vifs remerciements pour sa collaboration constante. Je remercie particulièrement Monsieur HEBERT, ses collaborateurs et sa "petite" famille.

- Je remercie également le personnel du Centre National de Recherches Agronomiques de Bambey (Sénégal), particulièrement celui du Groupe pour l'Amélioration du Mil (GAM) et celui du Groupe Physiologie de l'Arachide pour leur collaboration, notamment en ce qui concerne le matériel végétal.

- Que le personnel du Laboratoire de la physiologie du développement des plantes (C.N.R.S.) à GI-F, particulièrement Monsieur SANDMEIER, trouve ici tous mes remerciements pour sa collaboration dans le domaine de l'Electrophorèse.

- Je remercie Madame DA SILVA pour son *amabilité* et sa *disponibilité constante*.

Ce travail est le témoignage de ma reconnaissance,

A mon peuple

A mes camarades et amis

A mon père et ma mère

sans le sacrifice desquels il n'aurait pas existé.

T A B L E D E S M A T I E R E S



| | PAGE |
|---|------|
| INTRODUCTION | 1 |
| 1 - Généralités | 2 |
| 2 - Résistance du mil à la sécheresse | 8 |
| 3 - Orientation et but de l'étude | 11 |
| CHAPITRE 1 - MATÉRIEL VÉGÉTAL ET TECHNIQUE DE CULTURE | 14 |
| 1 - Matériel végétal | 15 |
| 2 - Technique de culture | 17 |
| CHAPITRE II - MÉTHODES D'ÉTUDE | 18 |
| II.1 - Phosphatase | 19 |
| 7-a - <i>Dosage quantitatif</i> | 19 |
| 7-b - <i>Dosage qualitatif</i> | 20 |
| II-2 - Invertase | 21 |
| II-3 - Les amylases | 22 |
| II-4 - Glucides solubles | 22 |
| II-5 - Amidon | 22 |
| II-6 - Protéines | 23 |
| II-7 - La chlorophylle | 23 |
| II-8 - Extraction et centrifugation | 24 |
| CHAPITRE III - RÉSULTATS ET DISCUSSIONS | 25 |
| A - <u>ACTIVITÉS ENZYMATIQUES</u> | 26 |
| A-1 <u>INTRODUCTION</u> | 27 |
| A-2 <u>PHOSPHATASE</u> | 26 |
| A. 2. 1 - <u>Etude de pH</u> | 26 |

| | PAGE |
|--|------|
| A.2.2 - <u>Phosphatase aci de</u> | 28 |
| A.2.2.7 - DOSAGE QUANTITATIF VE LA PHOSPHATASE ACIDE | 28 |
| A.2.2.7.7. - Etude de km | 28 |
| A.2.2.1.2. - <i>Traitement au Triton X 700</i> | 33 |
| A.2.2.1.3. - <i>Activité de La phosphatase acide en fonction de La quantité d'homogénat</i> | 33 |
| A.2.2.1.4. - <i>Activité de la phosphatase acide en fonction du temps d'incubation</i> | 37 |
| A.2.2.1.5. - <i>Activité de la phosphatase acide dans les différents organes : feuille, Tige et racine</i> | 37 |
| A.2.2.1.6. - <i>Variation de l'activité de la phosphatase acide en fonction de la sécheresse</i> | 30 |
| A.2.2.1.6.2. - LA FEUILLE | 38 |
| A.2.2.1.6.2. - LA TIGE | 55 |
| A.2.2.1.7. - <i>Variation de l'activité de la phosphatase acide en fonction du traitement au PEG 600</i> | 60 |
| A.2.2.2. - DOSAGE QUALITATIF VE LA PHOSPHATASE ACIDE : ELECTROPHORSE | 66 |
| A.2.2.2.7. - <i>Inkduction</i> | 68 |
| A.2.2.2.2. - <i>Traitement au Triton X 100</i> | 68 |
| A.2.2.2.3. - <i>Traitement à la sécheresse.</i> | 69 |
| A.2.3. - <u>Phosphatase al cal ine</u> | 72 |
| A-3 - <u>INVERTASE ACIDE</u> | 81 |
| A.3.1. - Etude de pH | 81 |
| A.3.2. - <i>Activité de l'invertase acide en fonction du temps d'incubation</i> | 81 |

| | |
|---|-----|
| A.3.3. - Variation de l'activité de l'invertase acide en fonction de la sécheresse | 84 |
| A.3.3.7. - LA FEUILLE | 84 |
| A.3.3.2, - LA TIGE | 91 |
| A-4 - <u>LES AMYLASES</u> | 96 |
| A.4.1. - Etude de pH | 96 |
| A.4.2. - Variation des activités des amylases en fonction de la sécheresse | 96 |
| A.4.2.7. - LA FEUILLE | 96 |
| A.4.2.2. - LA TIGE | 105 |
| A-5 - <u>LOCALISATION CELLULAIRE DES ENZYMES ETUDIÉES - ETUDE DE LEUR SOLUBILISATION AVEC LA SECHERESSE</u> | 116 |
| A.5.1. - Introduction | 117 |
| A.5.2. - Détermination des fractions cellulaires | 120 |
| A.5.3. - Résultats et discussion | 121 |
| A-6 - <u>CONCLUSIONS SUR L'ACTIVITE ENZYMATIQUE</u> | 131 |
| B - <u>GLUCIDES SOLUBLES, AMIDON ET GLUCIDES TOTAUX</u> | 137 |
| B.1 - INTRODUCTION | 138 |
| B.2 - RESULTATS ET DISCUSSIONS | 138 |
| B.2.1. - Conditions hydriques normales | 138 |
| B.2.2. - Conditions hydriques déficitaires. | 141 |
| CONCLUSION ET DISCUSSION FINALES | 146 |
| RESUMÉ | 155 |
| BI B L I O G R A P H I E | 163 |

INTRODUCTION'

1 ■ GENERALITES

Si on consulte le dossier réalisé par la conférence des Nations Unies sur la désertification, tenue à NAÏROBI (KENYA) en 1977, on est frappé par l'étendue mondiale des terres arides et semi-arides et surtout par les menaces d'extension de ce fléau.

Les perturbations intervenues récemment dans le monde, concernant la régularité des périodes de pluies et les quantités d'eau tombant habituellement, nous indiquent que nul endroit de la terre n'est à l'abri d'une sécheresse inattendue. La sécheresse intervenue en Europe en 1976 est à ce titre éloquente. Les 27 millions de Sahéliens, quant à eux, se souviennent de la période 1968-1973, et vivent encore les problèmes relatifs aux irrégularités et insuffisances des pluies. Parmi les problèmes soulevés par l'eau, ceux traitant des rapports plante-eau, du comportement de la plante vis à vis du manque d'eau par leur importance, non seulement biologique, mais aussi économique, ont beaucoup retenu l'attention des auteurs. Il est à ce sujet réconfortant de constater avec KRAMER (1974) que la recherche a connu un grand développement ces dernières années, surtout celle tournée vers les effets du manque d'eau sur les processus physiologiques des plantes.

Ainsi VIEIRA DA SILVA (1970), passant en revue l'essentiel de ce qui avait été fait sur les mécanismes de la résistance à la sécheresse des plantes, propose à la lumière des

connaissances du moment un schéma montrant les divers mécanismes et les connections existant entre eux. Deux grandes voies se dégagent de ce tableau :

1 - Une aptitude à éviter la déshydratation, où la plante arrive à conserver, au moins dans certains organes, l'hydratation nécessaire au fonctionnement métabolique normal.

2 - Une aptitude à supporter la déshydratation : ici, les plantes n'évitent pas la déshydratation et se trouvent dans un état d'hydratation faible, mais néanmoins suffisant pour conserver les processus physiologiques à un niveau compatible avec la survie des tissus.

A notre niveau, nous avons seulement étudié une partie' du deuxième mécanisme, celle qui concerne la stabilité enzymatique.

Plusieurs caractéristiques du protoplasme ont été impliquées dans la capacité de la cellule à résister à une dessiccation (hydrophilie des colloïdes, quantité d'eau liée, viscosité du protoplasme, etc.). Mais VIEIRA DA SILVA (1970) reconnaît qu'aucune de ces caractéristiques ne peut à elle seule expliquer ou rendre compte ni des effets nuisibles de la sécheresse sur les plantes sensibles, ni de l'adaptation des plantes résistantes à cette même sécheresse.

ILJIN (1930, 53-57) a été l'un des premiers à proposer un mécanisme de résistance à la sécheresse reliant les dommages causés par le manque d'eau à la dislocation et à la destruction de la structure du protoplasme. Cette idée reprise par STOCKER (1948) mettait le point sur une augmentation de la perméabilité avec le déficit hydrique entraînant une libération d'enzymes respiratoires et hydrolytiques.

Une autre aptitude à supporter la déshydratation (qui découle en fait des caractéristiques du protoplasme) a trait

à la stabilité enzymatique, en particulier à celle des enzymes hydrolytiques. Le travail de STOCKER (1961) concernant les effets du manque d'eau sur l'activité des enzymes hydrolytiques a été d'un grand apport. L'auteur souligne que les modifications des activités enzymatiques sous l'effet de la sécheresse sont reliées à une transformation des structures du protoplasme. Par ailleurs, OPARINE (1953) condense les résultats obtenus par l'académie des sciences de l'U.R.S.S., et démontre l'importance des structures fixatrices du protoplasme en ce qui concerne le sens et la vitesse des réactions enzymatiques. On peut souligner entre autres les travaux de VASSILIEV et VASSILIEV (1936) sur l'invertase, de SPOEHR et MILNER (1939) sur l'amylase et de NIR et POLJAKOFF-MAYBER (1966) sur la phosphatase.

Parallèlement à ces travaux sur les plantes, les résultats obtenus par l'école de DE DUVE (DE DUVE et WATTIAUX, 1966) sur les lysosomes des cellules animales, et ceux de MATILE (1966, 68a et b, 69 et 751, ceux de MATILE et al (1971) sur des structures comparables aux lysosomes observées chez les cellules végétales, ont permis de mieux cerner les effets du déficit hydrique sur les activités des enzymes hydrolytiques.

Les résultats de PUJARNISCLE (1966, 68 et 69) faisant état de l'existence de la phosphatase acide dans la composante lourde (lutoïde) du latex d'*Hevea brasiliensis* confirment l'analogie entre lutoïdes et lysosomes des cellules animales.

Cependant la découverte d'une phosphatase latente dans les chloroplastes de plusieurs cellules végétales par RAGETTI, WEINTRAUB et RINK (1966), et celle de VIEIRA DA SILVA (1970), montrant l'existence d'hydrolases comme la ribonucléase et la phosphatase acide dans la fraction cellulaire riche en chloroplastes chez le cotonnier, prouvent que la localisation de ces hydrolases est bien plus complexe chez les cellules végétales que chez celles des animaux.

En ce qui concerne l'étude des mécanismes par lesquels la déficience hydrique modifie l'activité des enzymes en général, des hydrolases en particulier, il est réconfortant de noter que l'élan que celle-ci a connu n'a cessé de se développer. Ainsi TODD (1972) fait une révision assez exhaustive sur les connaissances concernant l'action ou déficience hydrique sur l'activité enzymatique. Les conclusions auxquelles il aboutit de par leur intérêt méritent qu'on s'y attarde.

Après avoir analysé les données d'activités enzymatiques obtenues par plusieurs auteurs, pendant un déficience hydrique plus ou moins important, il note que :

- lors d'un déficience hydrique important il y a d'une façon générale, une baisse d'activité des enzymes;
- les enzymes hydrolytiques se stabilisent au même niveau, ou augmentent, mais ne baissent d'activité qu'à un seuil très important du manque d'eau,
- parmi les enzymes de synthèse certains augmentent d'activité tandis que d'autres baissent.

D'autres données lui permettent de conclure qu'un certain nombre de corps comme les glucides et les protéines, peuvent protéger les enzymes lors d'une déshydratation. L'inactivation de certaines enzymes, selon lui, peut être expliquée en partie par la formation de ponts S-S intra et intermoléculaires, ou par des interactions hydrophobiques.

Il constate aussi que le déficience hydrique entraîne une libération ou une activation d'enzymes de dégradation.

Il indique également que les interactions avec les grandes molécules, les changements de configuration, ou les interactions dues à l'augmentation du taux des sels qui se produisent lors d'une déshydratation causent des dommages aux enzymes. Il n'est pas impossible alors que, par certaines con-

ditions, la cellule fabrique des enzymes ayant le même rôle que les vraies, mais moins sensibles à la perte d'eau. Toujours selon l'auteur, les enzymes à structure peu organisée résistent mieux à la déshydratation que celles existant sous forme très organisée.

Pour conclure cette révision, l'auteur met le point sur les structures membranaires, supports énergétiques et facteurs de compartimentation.

A son tour, KRAMER (1974) résume l'essentiel des mécanismes avancés pour expliquer l'intervention du déficit hydrique sur les processus enzymatiques. C'est ainsi que le déficit hydrique intervient :

- En abaissant le potentiel chimique ou l'activité de l'eau dans la cellule,
- En diminuant la pression de turgescence,
- Par des changements dans : Les relations spatiales entre les membranes et les organites cellulaires,
- Par l'altération de la structure des macromolécules,
- Par une augmentation de la concentration des sels,

ce sur quoi HSIAO (1973) ne semble pas totalement d'accord, car selon lui aucun de ces effets ne peut expliquer comment un léger déficit hydrique arrive-t-il à affecter les processus métaboliques. Selon l'auteur, l'accumulation des métabolites, dans ces conditions, pourrait avoir un effet rétroactif sur le métabolisme des glucides, lipides et sur celui azoté.

La sécheresse a donc une influence sur le métabolisme de la cellule et fait varier l'activité enzymatique. Au niveau de l'importance de cette variation et de son sens il y a des différences suivant les enzymes, la composition du milieu cellulaire et le comportement de la plante vis à vis de la sécheresse. Les hydrolases, quant à ce qui les concerne, augmentent d'activité

avec le déficit hydrique [révision de TODD en 1970 ; VIEIRA DA SILVA, 1968, 70, 74 et 76 ; VIEIRA DA SILVA et al, 1969, 72 et 74].

Cette augmentation d'activité et celle de la solubilisation des enzymes hydrolytiques sont plus importantes chez les espèces végétales sensibles à la sécheresse que chez celles résistantes (VIEIRA DA SILVA, 1968, 70, 74 et 76, VIEIRA DA SILVA et al, 1969, 72 et 74).

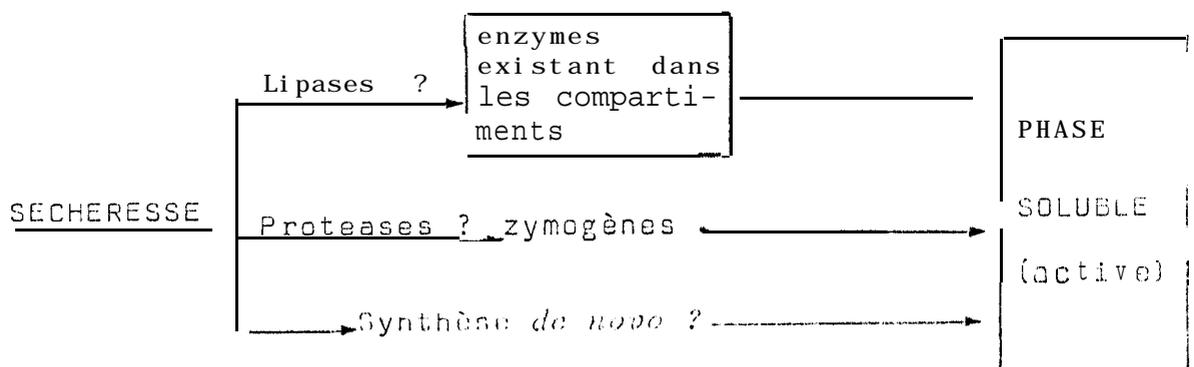
Pour expliquer cette augmentation d'activités des enzymes, des hydrolases en particulier, il existe plusieurs hypothèses :

- Un des aspects du problème consisterait en l'altération des membranes, des organites cellulaires, entraînant une décompartmentation, ce qui mettrait en contact des corps jusque là isolés. Les lipases dont l'activité augmente avec la sécheresse (VIEIRA DA SILVA et al, 1974 ; VIEIRA DA SILVA, 1976) joueraient un rôle important dans cette altération des membranes

- Un autre aspect du problème est l'action des protéases sur les zymogènes rendant ainsi ces enzymes "potentielles" actives.

- Le dernier aspect du problème serait une synthèse d'enzymes nouvelles lors de la sécheresse (synthèse *de novo*).

On pourrait schématiser cela comme suit :



Liée à l'augmentation d'activité enzymatique, avec la sécheresse, la résistance de certaines grosses molécules à l'hydrolyse est une autre approche des problèmes de résistance des plantes à la sécheresse. Certaines de ces molécules résistent en effet à l'hydrolyse, cependant que d'autres comme l'amidon résistent moins bien à cette hydrolyse ; il s'ensuit alors une augmentation des sucres solubles, comme l'indiquent ILJIN en 1957 et VIEIRA DA SILVA en 1968.

2 - RESISTANCE A LA SECHERESSE CHEZ LE MIL (*Pennisetum typhoides*)

Les problèmes de résistance à la sécheresse s'analysent à deux niveaux quand il s'agit d'une plante cultivée. En effet, la plante dans ce cas, doit non seulement survivre dans les conditions de manque d'eau, mais aussi assurer à l'homme un rendement acceptable à la récolte. Dans le cas du mil, le produit de la récolte est une graine, ce qui fait intervenir des problèmes de floraison, fécondation et de maturation qui sont des phénomènes physiologiques complexes sensibles aux variations des conditions extérieures.

La grande résistance à la sécheresse du mil est rapportée par plusieurs auteurs. FERRARIS (1973) examinant la bibliographie des rapports agronomiques, indique que tous font état de la grande résistance à la sécheresse du mil et son aptitude à se développer dans les régions de faible pluviométrie.

Ainsi CURSON (1940) montre qu'en Afrique du sud, la plante pousse dans des régions recevant moins de 635 mm d'eau par an.

De leur côté, JOHNSON et RAYMOND (1964) indiquent que le mil est généralement une céréale alimentée en eau par la pluie, bien qu'il soit irrigué dans certaines zones et qu'il pousse dans des régions d'Afrique et d'Asie recevant annuellement 430 à 500 mm d'eau.

MASEFIELD et al (1969) pensent que plus que toute autre plante, c'est celle qui est la plus répandue dans les régions tropicales de faible pluviométrie. Mais tous les auteurs ne considèrent pas le mil comme étant la céréale la plus résistante à la sécheresse. Ainsi DEGEUS (1967) classe le mil en deuxième position au point de vue résistance à la sécheresse il près le petit millet, mais avant le sorgho.

En ce qui concerne les incidences de la période d'arrivée de l'eau de pluie et de sa quantité sur le rendement, KANITAR (1944) pense que la période critique se situe entre la 6ème et la 12ème semaine, c'est-à-dire pendant les périodes de reproduction et de maturation.

KRISHNASWAMY (1962) montre que moins de 80 mm ou plus de 230 mm de pluie pendant la période végétative baisse le rendement.

BROWN (1963) démontre que les pluies tardives ont une importance pour le rendement en graines, encore que l'excès soit nuisible. Selon lui, le minimum pour la période végétative se situerait entre 150 et 200 mm de pluie.

SIBANG (1974-1977) trouve sur de jeunes plants de mil, que la production de matière végétale n'est pas optimale avec la turgescence maximale, mais qu'elle culmine à un potentiel hydrique d'approximativement -3 bars ; elle est déprimée au-delà, essentiellement au niveau des parties aériennes.

FATDUMATA DIOP (1977) sur le mil soudanais et des mils hybrides, montre que le déficit hydrique réduit considérablement le rendement, même si l'alimentation hydrique est régulièrement répartie sur tout le cycle de la plante. Concernant la sensibilité des différentes phases du cycle au manque d'eau, elle indique que la phase Montaison-épiaison semble la plus sensible. Cette sensibilité semble décroître sensiblement à la

floraison et au stade grain pâteux. Les stades Tallage-Montaison et grain pâteux semblent moins sensibles.

La composition des éléments nutritifs dans la plante, elle aussi, varie avec la sécheresse.

BENNETT et ses collaborateurs (1964) montrent que le contenu de la plante en N et K baisse avec l'augmentation de l'humidité du sol.

Dans la feuille et la tige de plantes maintenues au point de flétrissement, NAIDU et VEKKATESWARLU (1967) trouvent une quantité d'azote élevée, tandis que chez les plantes abondamment arrosées, cette quantité était plutôt faible. Quant aux sucres solubles dans la feuille on n'en trouvait plus dans les conditions de déficit hydrique, qu'à la capacité au champ ; au niveau de la tige, la quantité de sucre s'élevait avec la quantité d'eau jusqu'à la capacité au champ.

SIBAND (1974-77) trouve une baisse générale ces éléments minéraux dans les parties aériennes et les racines, sauf pour le fer qui tend à s'accumuler lors de stress hydrique.

Pour expliquer la grande résistance à la sécheresse du mil, RATNASWAMI (1960) évoque les caractéristiques anatomiques de certains de ses organes : importance de l'exoderme des régions corticales des racines, le sclerenchyme bien lignifié des cellules entourant les tissus vasculaires de la stèle. Au niveau de la tige, de la gaine et du limbe de la feuille de mil, l'auteur indique qu'on trouvait un grand nombre de faisceaux vasculaires et que la gaine était étroitement collée à la tige, ce qui est une caractéristique que l'on retrouve chez d'autres herbes résistantes à la sécheresse. L'épaisseur de la vaste assise de longues cellules silicatées, sur la face intérieure de la feuille, était aussi relativement importante, et le nombre de stomates, faible.

WAHAB (1972) attribue la grande capacité d'utilisation de l'eau du *Pennisetum* oriental à la faible dimension 'des stomates, aux caractéristiques du feuillage, à la géométrie des feuilles et à son grand pouvoir photosynthétique.

FANOUS (1967) étudie la résistance à la sécheresse de cinq variétés de mil d'origine écologique diverse. Les résultats qu'il a obtenus lui font dire qu'il est plus urgent et plus important de faire des progrès dans les études visant à sélectionner des variétés hâtives plutôt qu'à obtenir des variétés physiologiquement résistantes à la sécheresse.

3 - ORIENTATION ET BUT DE L'ETUDE

Le mil, appelé aussi mii à chandelle ou mil pénicillaire ou petit mil, est une céréale de grande taille. C'est une plante d'une grande importance alimentaire dans la zone Soudano-Sahélienne, et prédésertique d'Afrique [c'est la principale culture vivrière dans le Sahel). Mais sa faible productivité en graines amène à lui préférer le sorgho chaque fois que le milieu le permet. Plus apprécié que le sorgho pour l'alimentation humaine, il est aussi utilisé pour fabriquer la bière familiale. On retrouve aussi le mil comme importante plante alimentaire dans la péninsule indienne (11,5 millions d'ha en Inde seulement).

Malgré son importance, le mil est l'une des céréales les moins étudiées. On trouve de très rares publications agronomiques de portée assez limitée quant à la connaissance de la plante elle-même.

Son grand développement végétatif a amené les généticiens à chercher à améliorer l'architecture de la plante. Ajouté à ce problème, il y a celui que pose la longuetir de son cycle, compte tenu des perturbations intervenues dans les saisons de pluies des régions où cette plante est cultivée.

Au niveau du Centre National de Recherche Agronomique de BAMBEY [SENEGAL], un programme a été lancé depuis quelques années en deux directions :

- création d'un mil amélioré de structure traditionnelle,
- recherche de structures nouvelles, type céréalier avec raccourcissement du cycle,

la seconde prenant le pas sur la première.,

Il faut cependant reconnaître que les mils traditionnels, en dépit de leurs inconvénients [longueur du cycle et taille excessive] ont l'avantage d'être adaptés aux conditions du milieu [pauvreté du sol et faiblesse de la quantité d'eau].

A côté donc de ces études de sélections, il nous paraît important de développer des études physiologiques qui aideraient à mieux saisir les variétés traditionnelles, et ainsi à suivre la transmission des caractères aux nouvelles variétés.

Nous avons, par le présent travail, essayé de faire quelques investigations au niveau biochimique, notamment dans un domaine fort important pour la compréhension de la physiologie de la plante : l'étude de l'activité de quelques enzymes.

Nous avons suivi chez le mil, l'activité de certaines enzymes dans des conditions hydriques normales et déficitaires.

Nous sommes conscients des limites de notre travail, mais nous avons tenu à apporter notre modeste contribution à la grande tâche que constitue la compréhension des problèmes de résistance à la sécheresse des plantes en général, du mil en particulier.

Pour terminer, nous signalons que dans certaines de nos expériences, nous avons aussi travaillé d'une part sur deux variétés de sorgho, compte tenu des caractéristiques de résistance à la sécheresse reconnues au sorgho, et d'autre part sur l'arachide vu la place importante qu'elle occupe dans notre cadre futur de travail.

CHAPITRE I

MATÉRIEL VÉGÉTAL ET TECHNIQUE DE CULTURE

I - 1 - MATERIEL VEGETAL

Notre matériel végétal est fondamentalement constitué par deux variétés de mil :

- Le SYNTHETIQUE 1-5-G.A.M.
- et le SOUNA₃.

Pour élargir la comparaison nous avons aussi travaillé sur deux variétés de sorgho :

- le NK 120
- et le NK 108,

et sur une variété d'arachide : la 59-127.

Quelques caractéristiques de plantes utilisées :

- le *Mil SYNTHETIQUE 1-5-G.A.M. (Pennisetum typhoides)* -
Résulte d'une recombinaison (5ème génération) de 40 lignées F₄
issues de 9 plantes F₂ du croisement

= 1 472 x 1133 = (= nain Or ≈ Tift 23 D₂B) x [lignée
issue d'un cultivar traditionnel en provenance du Niger].

. Taille naine = 1,60 m

. Cycle : 75 jours [semis-récolte] au Sénégal en hiver-
nage.

Les pressions de sélection qu'il a subies ne comportent pas de stress hydrique.

- le *Mil SOUNA₃ (Pennisetum typhoides)* : Population améliorée
à partir de cultivars locaux souna.

Mi 1 s SOUNA₃ et SYNTHETIQUE
1-5 GAM
(syn)

Sorghos NK108 etNK120

(âge = 50jours)

- . Taille : 2 m.
- . Cycle : 90 jours toujours au Sénégal.

Matériel ayant une meilleure souplesse adaptative, notamment vis-à-vis de la sécheresse.

Il est considéré comme présentant des qualités apparentes de résistance à la sécheresse.

- Le SORGHO NK 120 (*Sorghum vulgare*)
- Le SORGHO NK 108 (*Sorghum vulgare*)
- L'ARACHIDE 59-127 (*Arachis hypogea*)

- . Port : erigé
- . Cycle : 120 jours (au Sénégal)

Parmi les variétés cultivées, ou étudiées au Sénégal, la 59-127 est considérée comme ayant une forte résistance à la sécheresse.

1.2 ■ TECHNIQUE DE CULTURE

Les cultures sont effectuées dans une serre chauffée, où la température moyenne annuelle est de 27°C le jour et 17°C la nuit. L'éclairage est assuré pendant 16 h (6h - 22h) par des lampes à sodium H L R G de 400 W de puissance.

Les plantes se développent dans des pots en plastique contenant du TK S₂ [tourbe enrichie en éléments minéraux: et de la vermiculite en quantité égale. Dans ces conditions, la germination est obtenue en moyenne en 72 h et les plantes sont disponibles pour étude à partir du 40ème jour.

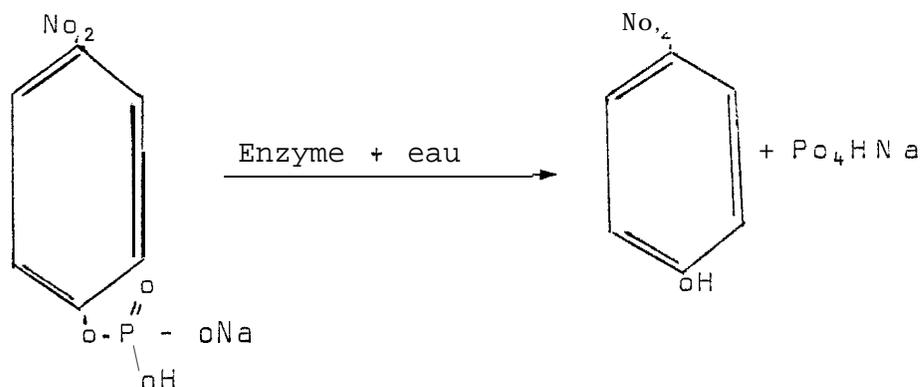
C H A P I T R E I I

MÉTHODES D'ÉTUDE

II-1 - PHOSPHATASE

1a) *Dosage quantitatif* : La méthode utilisée est celle de LINHART K. et WALTER K. en 1963 (revue et corrigée en 1985).

PRINCIPE : Le Para nitrophényl phosphate (P.N.P.P.) est utilisé comme substrat pour déterminer l'activité de la phosphatase (phosphomonoesterase). Après un temps d'incubation avec l'enzyme, le substrat est hydrolysé : il se libère du phosphate inorganique et du Paranitrophenyl (P.N.P.). La réaction est arrêtée par une solution basique (NaOH ou tampon basique) qui a également la propriété de donner avec le P-Nitrophényl une coloration jaune qui est évaluée au spectrophotomètre. L'activité de la phosphatase est directement proportionnelle à la quantité de P.N.P. par unité de temps.



Réactifs utilisés :

- Tampon Tris-HCl, 0,02 M, pH : 7,2 contenant du man-
nitol 0,5 M ou du Triton X100 à 0,15 %,
- Tampon basique, pH : 11,7 contenant par litre
 - . 0,384 g de glycine
 - . 3,920 g de NaCl
 - . 8,780 g de Na₂CO₃

- . 5,00 g de NaOH
- Tampon acétate 0,1 M pH : 5,2
- Tampon Tris-HCR 0,1 M pH : 7,2
- P-Nitrophénylphosphate de sodium
- Acide trichloroacétique (T.C.A.)

Dosage :

Le volume d'incubation total de 2 ml comprend :

- . 1 ml de tampon acétate 0,1 M, pH : 5,2 [ou tampon Tris-HCR 0,1 M, pH : 7,2]
- . 0,5 ml de solution de P.N.P.P. (20 μ moles/l)
- . 0,5 ml d'homogénat (enzyme)

La température d'incubation est fixée à 30°C, le temps variant suivant l'expérience en cours.

La réaction est arrêtée par 2 ml d'une solution de T.C.A. à 10 %.

Après avoir agité et laissé reposer les tubes pendant 5 à 10 mn, on effectue une filtration sur papier.

- 2 ml sont ensuite prélevés du filtrat,
- 4 ml de tampon basique sont ajoutés à ces 2 ml, et la coloration jaune obtenue est évaluée au spectrophotomètre à $\lambda = 400$ nm.

1 b) *Dosage qualitatif* : Electrophorèse - Méthode tirée du livre de H. RAINER MAURER des éditions WALTER DE GRUYTER - Berlin et New-York (1971)

PRINCIPE : Sur des gels de Polyacrylamide, un extrait de protéine est mis à migrer sous la force d'un courant donné. Lorsque le front de migration symbolisé par du bleu de bromophérol atteint la fin du parcours, l'expérience est arrêtée. Les gels sortis de leur tube sont mis en incubation dans du tampon acétate 0,1 M pH : 5,2 contenant de α et β naphthyl phosphata de

sodium à 37°C. La révélation se fait par le O.Dianisidine (diazobluu : Zn Cl₂) dans du tampon Véronal à l'obscurité à 37°C.

Les distances de migration des bandes (de couleur violette) sont évoluées en fonction de celle du bleu de bromophénol.

Réactifs :

- Tampon acétate 0,1 M, pH : 5,2
- Tampon Tris-HCl 0.1 M, pH : 7,2
- Acrylamide
- N, N' Methylon bisacrylamide
- N, N', N', tétraméthyl éthylène diamine (T.M.E.D.)
- Diéthylbarbiturate de Na. (véronal)
- Bleu de bromophénol
- Tampon Tris-glycine pH : 7,2 (tampon de bac)
- Persulfate d'ammonium (NH₄)₂S₂O₈
- α et β naphthyl phosphate de sodium.
- O.Dianisidine

Nous avons travaillé sur des gels à 10 % d'acrylamide.

II"2 - INVERTASE (β-fructofuranosidase : EC 3.2 . 1261

PRINCIPE : La méthode utilisée est celle de BERNFELD (1955). Le saccharose est hydrolysé par l'invertase et donne le fructose et le glucose.

Dosage : Le volume d'incubation est de 2 ml et comprend :

- 1 ml de Tampon acétate 0,1 M, pH : 4,8
- 0,5 ml de solution de saccharose à 2 %
- 0,5 ml S'extrait enzymatique

L'incubation se fait à 30°C et la réaction est bloquée par 2 ml de solution d'acide dinitrosalicylique [1 g d'acide 3-5 dinitrosalicylique dans 20 ml de NaOH à 2 N, on y additionne 50 ml d'eau distillée, puis on ajoute 30 g de sel de

Rochelle (tartrate de sodium et de potassium), et on complète le tout à 100 ml avec de l'eau distillée]. A p r l'arrêt de la réaction, l'échantillon est chauffé pendant 5 mn dans un bain-marie bouillant. Après refroidissement sous un filet d'eau, la lecture est effectuée au spectrophotomètre à $\lambda = 540$ nm (en ce qui nous concerne).

II.3 - L'a ET β AMYLASES

La même méthode de BERNFELD est utilisée. Ici le substrat est de l'amidon à 2 %, le pH d'incubation de l'a amylase est de 4,8, et celui de la β de 7,0. La longueur d'onde d'observation est de 640 nm.

II.4 - GLUCIDES SOLUBLES

La méthode est celle de DREYWOOD (1946) modifiée par SCOTT (1953), citée par COLDWICK et KAPLAM (1957) dans "Methods in Enzymology", vol.III, page 84 :

A l'homogénat, on additionne de l'alcool absolu pour obtenir une concentration de 80 %. Cet ensemble est agité dans un bain-marie à 70°C pendant 30 mn. Après refroidissement et centrifugation, les glucides solubles sont dosés dans le surnageant de la façon suivante :

- A 5 ml de solution d'anthrone (2 g d'anthrone dans un litre d'acide sulfurique pur) on ajoute 2,5 ml d'extrait alcoolique sous de la glace fondante. Les tubes sont agités et chauffés pendant 10 mn au bain-marie bouillant. Ensuite on refroidit brusquement en les plongeant dans de la glace fondante. La lecture se fait au spectrophotomètre à $\lambda = 640$ nm. La gamme étalon est établie avec du glucose.

II.5 - L'AMIDON

L-a méthode de Mc CREACY et al. (1950) modifiée est uti-

lisée. Le culot précédent est lavé avec de l'alcool à 80 % et centrifugé. Le surnageant est rejeté ; l'opération est répétée jusqu'à ce que la réaction du surnageant à l'anthrone soit négative. Au culot définitif on ajoute 1,5 ml d'acide perchlorique à 35 %, puis on agite dans un bain d'eau pendant 15 mn. On centrifuge ensuite, et le surnageant est prélevé. On recommence l'opération en ajoutant 1,5 ml d'acide perchlorique au culot ; après hydrolyse pendant 15 mn, on rajoute le surnageant précédemment prélevé et on complète le tout à 5 ml par de l'eau distillée. Après centrifugation, 2,5 ml du surnageant sont cotés à l'anthrone de la même manière que dans le cas du dosage des glucides solubles.

II.6 - DOSAGE DES PROTEINES.

La méthode de LOWRY et al. (1951) est employée. Pour améliorer la stabilité du composé B, le citrate de sodium est utilisé à la place du tartrate.

Réactif :

- Solution A : 2 % de NaCO_3 dans NaOH 0,1 N
- Solution B : 0,5 % de $\text{CuSO}_4(5 \text{ H}_2\text{O})$ dans du citrate de Na à 0,1 %
- Solution C : 1 ml de B est mélangé avec 50 ml de A
- Solution D : réactif de FCLIN-CIOLCALTENS dilué avec de l'eau distillée jusqu'à acidité normale (1 NI.

Dosage : A un échantillon à doser (0,1 à 0,2 ml) on ajoute 1 à 5 ml de C. L'ensemble est laissé restabiliser à la température ambiante pendant 10 mn. Ensuite 0,1 à 0,5 ml de D est ajoutée, le tout est laissé se stabiliser pendant 30 mn à 2 h. Au terme de ce temps, la lecture de la densité optique est effectuée au spectrophotomètre à λ : 750 nm.

II.7 - DOSAGE DE LA CHLOROPHYLLE

Nous avons utilisé la méthode de ARNON (1949). Elle est basée sur le travail de MACKINEY sur l'absorption de la

lumière par une solution acétonique (80 %) d'un extrait de chlorophylle.

La formule $C_1 = 20,2 D_{0,645} + 8,02 D_{0,663}$ donne la quantité totale de chlorophylle a et b en mg par litre ou μg par ml.

On peut aussi utiliser la formule $C_2 = \frac{D_{0,652} \times 1000}{34,5}$ qui donne directement la quantité de chlorophylle totale.

$D_{0,645}$, $D_{0,663}$ et $D_{0,652}$ indiquent les densités optiques aux longueurs d'ondes respectives de 645, 663 et 652' nm.

II.8 - EXTRACTION ET CENTRIFUGATION.

Ces deux opérations sont effectuées dans une chambre froide à 4°C.

L'extraction s'effectue avec un tissu végétal, du tampon TRIS-HC 0,02 ou 0,1 M avec ou sans Mannitol à 0,5 M (ou du TRITON X 1001 et une pincée de sable de Fontainebleau.

Pour la tige, le 3ème entrenoeud à partir du lieu d'implantation des racines est utilisé, pour la feuille celle de rang 2 à partir du sommet constitue l'échantillon d'étude.

Après l'extraction l'homogénat est filtré à travers des couches de gaze et une partie peut être conservée pour le dosage de l'activité enzymatique dans l'extrait brut, l'autre centrifugée donne un surnageant et un culot où l'activité enzymatique peut également être mesurée.

CHAPITRE III

RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

- A -

ACTIVITÉS ENZYMATIQUES

A-1 - INTRODUCTION

Nous avons, après quelques recherches préliminaires, étudié les activités de la phosphatase, de l'invertase acide et de l' α et β amylases dans des échantillons de feuilles et tiges de plantes en conditions hydriques normales et déficitaires [par suspension d'arrosage ou par traitement au P.E.G. 600].

En ce qui concerne la feuille, nous avons travaillé sur celle de rang deux à partir du sommet de la plante ; pour la tige, c'est le troisième entre-noeud à partir du lieu d'implantation des racines, qui constitue l'échantillon d'étude.

Pour le dosage quantitatif de la phosphatase dans la feuille, 0,5 g de tissu est extrait avec 25 ml de tampon TRIS-HCl, 0,02 M, pH : 7,2 contenant du mannitol à 0,5 M. Après extraction et filtration 5 ml sont conservés pour le dosage dans l'extrait brut, les 20 ml sont centrifugés à 31 890 g pendant 10 minutes et donnent un surnageant et un culot, ce dernier sera repris par 2.0 ml de tampon TRIS-HCl sans mannitol. L'activité enzymatique sera dosée dans, ces deux fractions.

Pour l'invertase acide et les amylases, 0,5 g de tissu foliaire est extrait avec 20 ml de tampon TRIS-HCl 0,02 M, pH : 7,2 contenant du mannitol 0,5 M. Ce volume, 10 ml seront conservés pour le dosage dans l'extrait brut, les 10

autres vont être centrifugés à 31 890 g pendant 10 minutes, et l'activité enzymatique va être dosée dans le surnageant.

Au niveau de la tige le même protocole que celui pour l'invertase et les amylases est employé pour doser les mêmes enzymes et la phosphatase acide, et au lieu de 0,5 g de tissu végétal, c'est 1 g qui est utilisé.

A. 2 - LA PHOSPHATASE

A. 2. 1 - Etude de l'activité de la phosphatase en fonction du pH.

Nous avons étudié dans des surnageants d'extraits foliaires des deux variétés de mil, l'activité de la phosphatase sur une gamme de pH allant de 4 à 7,8 (voir figure 1.) Les résultats obtenus montrent que chez les mils étudiés, une importante partie de la phosphatase est constituée par la phosphatase acide et que la zone de pH comprise entre 4,8 et 5,6, est celle où elle s'exprime le mieux, particulièrement au pH : 5,2. Il existe néanmoins une phosphatase alcaline. Le mil SYNTHETIQUE I-5 GAN a une phosphatase acide plus active que le mil SOUNA₃ ; le rapport s'inverse à partir du pH 7,4 et le SOUNA₃ montre une activité de la phosphatase alcaline qui commence à dominer celle du SYNTHETIQUE.

Nous avons dosé la phosphatase acide au pH : 5,2 et l'alcaline à 7,2.

A. 2. 2. - Phosphatase acide (EC 3. 1. 3. 2)

A. 2. 2. 7. - DOSAGE QUANTITATIF.

A. 2. 2. 1. 1. - Le Km des phosphatases acides non spécifiques des mils hydrolysant le P-Nitrophenyl phosphate, a été étudié dans le surnageant d'extraits foliaires de ces

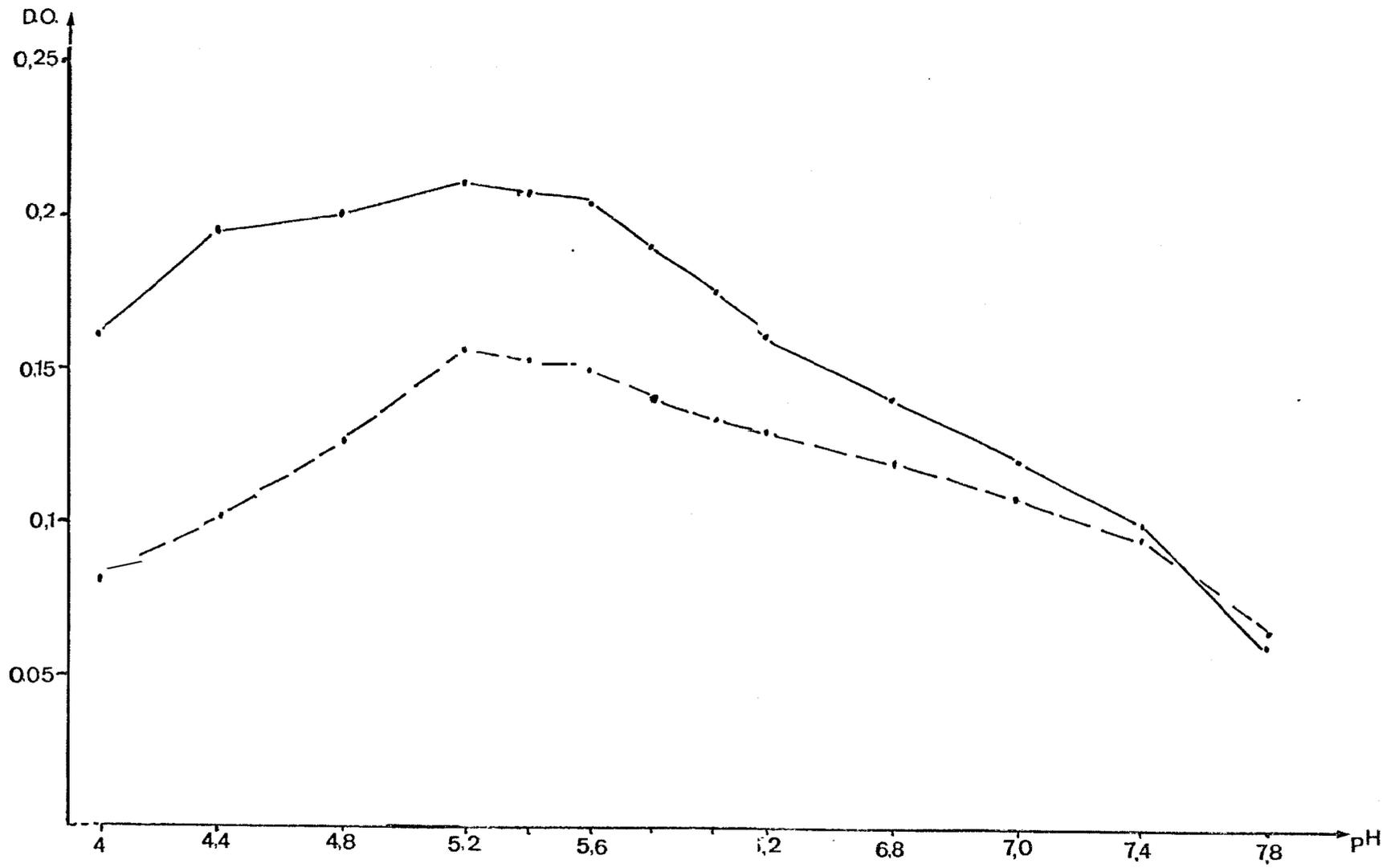


FIG. 1 : ACT VITE DE LA PHOSPHATASE EN FONCTION DU pH

— SYNTHETIQUE
 - - - SOUNA₃
 DO = densité optique

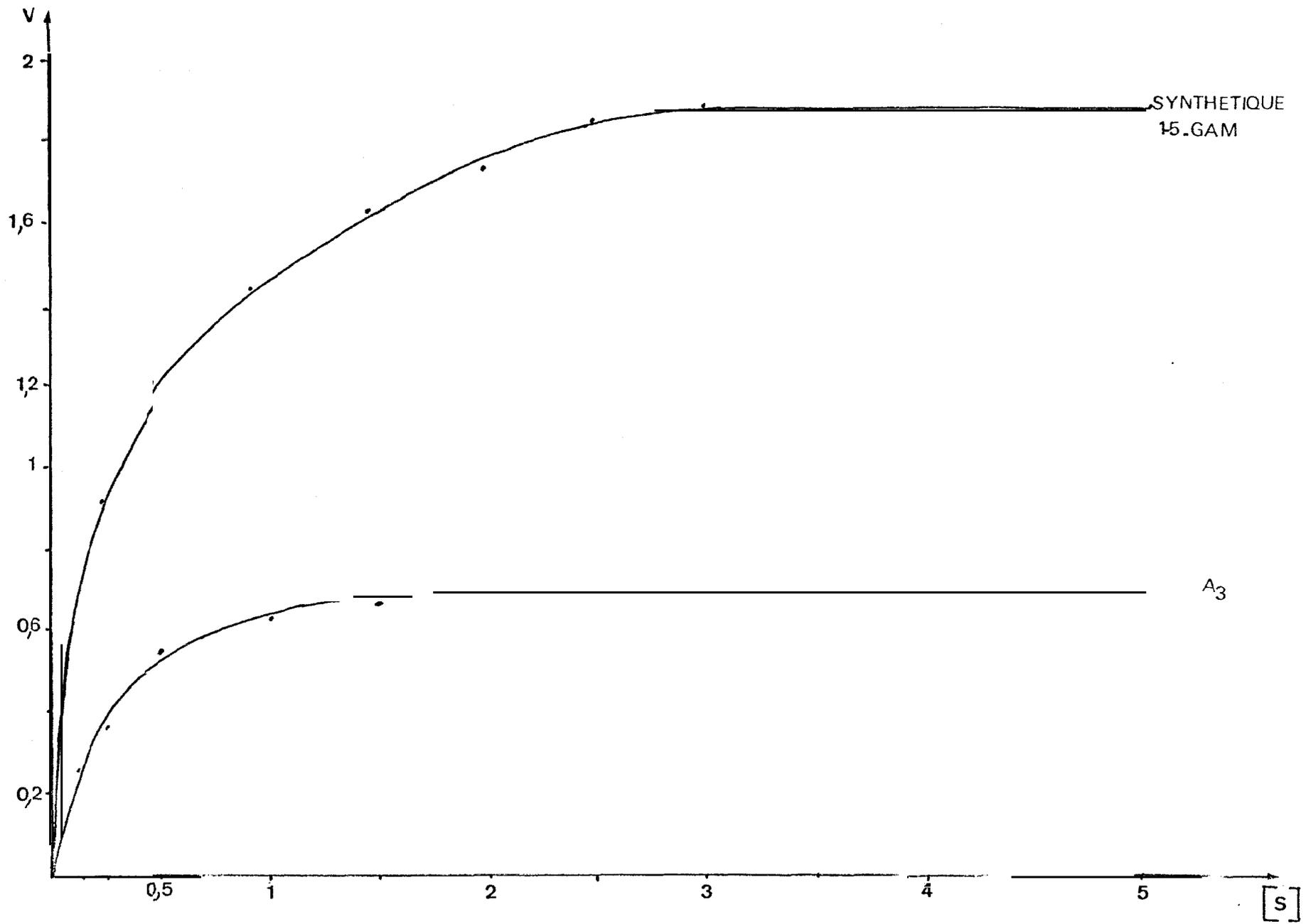


FIG. 2 : PHOSPHATASE ACIDE : vitesse de la reaction enzymatique en fonction de la quantite de substrat.

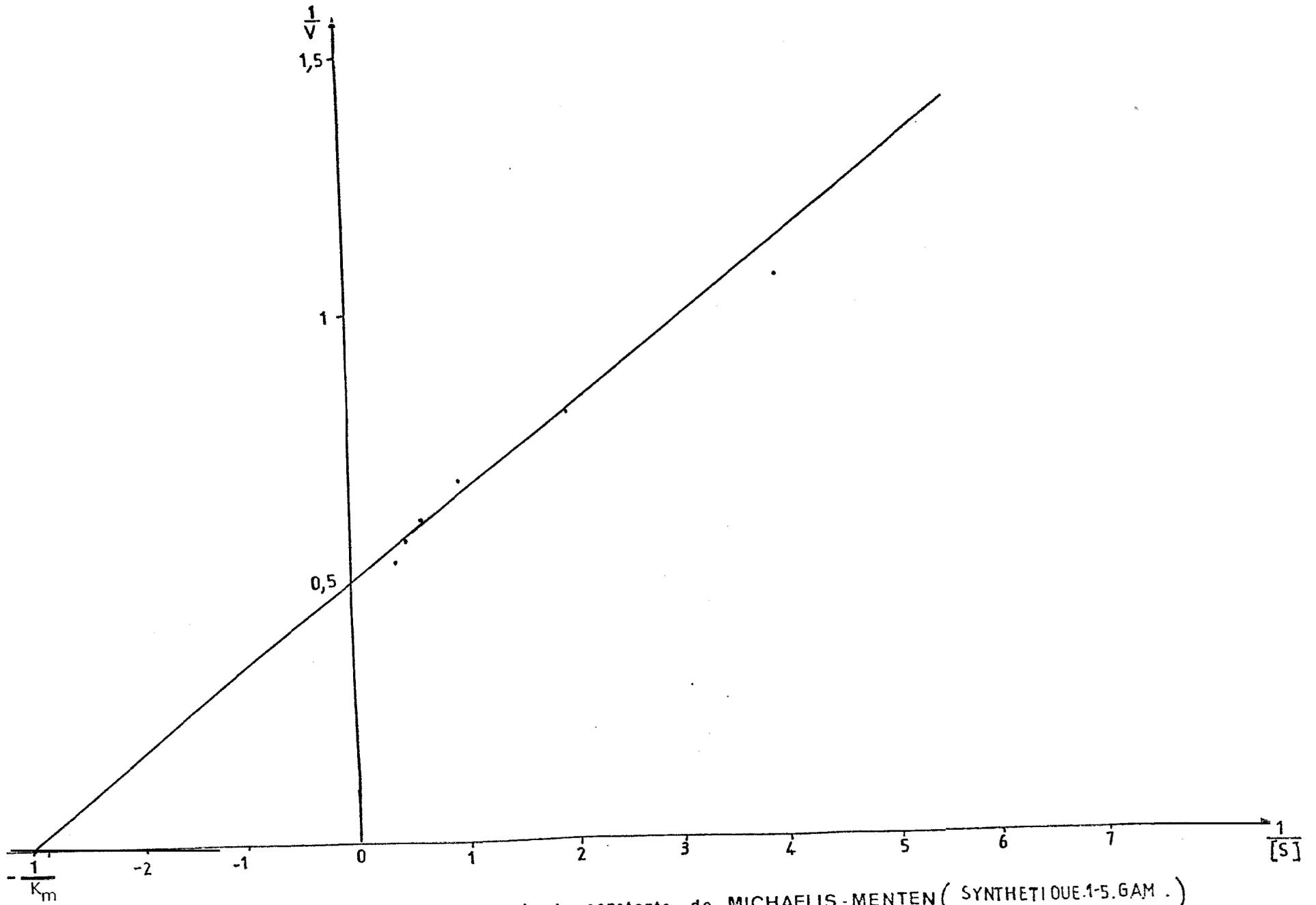


FIG. 3 - PHOSRHATASE ACIDE : determination de la constante de MICHAELIS - MENTEN (SYNTHETIQUE 1-5.GAM .)

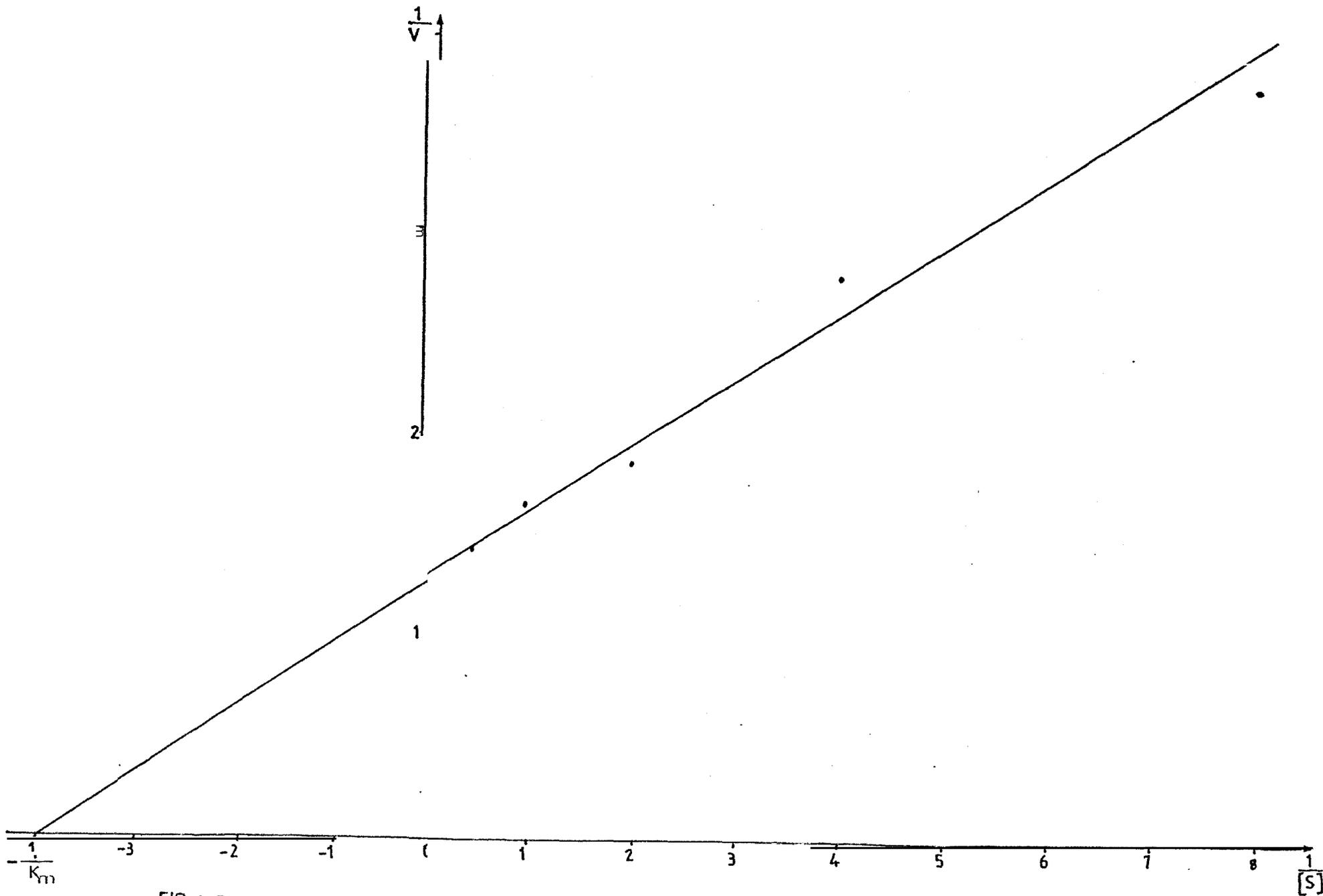


FIG 4: PHOSPHATASE ACIDE determination de la constante de MICHAELIS-MENTEN (SOUNA_3)

plantes [figure 2, 3 et 43. Nos résultats indiquent qu'à 30°C et au pH : 5,2, les km des mils SOUNA₃ et SYNTHETIQUE 1-5 GAM sont respectivement 0,25 et 0,32 µmole de P.N.P., ce qui semble montrer dans l'ensemble des proportions différentes des différentes enzymes (voir étude électrophorétique)

A.2.2.1.2. - *Traitement* au TRITON X 700.

Pour simuler l'action de la sécheresse et entraîner une destruction de l'organisation cellulaire, nous avons fait agir sur des extraits foliaires du mil SYNTHETIQUE 1-5 GAM un détergeant : le Triton X 100 aux concentrations de 0,1, 0,15 et 0,2 %. Sur d'autres échantillons de la même plante, nous avons protégé les structures cellulaires avec du Mannitol à 0,5 M, et dans d'autres encore nous avons seulement utilisé le tampon d'extraction (sans mannitol ni triton). Les résultats (en µmoles de P.N.P. par mg de protéine et par heure) sont :

- Traitement avec mannitol : 2,67 pour le surnageant et 2,7 pour le culot [soit respectivement 49,72 et 50,28 %]
- Traitement sans mannitol ni triton : 5,0 pour le surnageant et 1,2 pour le culot (soit respectivement 80,65 et 19,35 %).
- Traitement TRITON X 100 à 0,1 % : 5,02 pour le surnageant et 1,10 pour le culot [soit 82,03 et 17,97 % respectivement].
- Traitement TRITON X 100 à 0,15 % : 5,76 pour le surnageant et 1,02 pour le culot (soit respectivement 84,87 % et 15,13 %).
- Traitement TRITON X 100 à 0,2 % : 4,23 pour le surnageant et 1,80 pour le culot (soit respectivement 70,15 et 29,85 %).

Ces résultats montrent que le Triton solubilise une importante partie de l'activité de la phosphatase acide, et

qu'il semble activer l'enzyme surtout dans le surnageant. La solubilisation est plus importante à la concentration 0,15 % qu'à celle à 0.1 % ; cependant la concentration 0,2 % déprime l'activité enzymatique dans le surnageant.

Cette augmentation de la solubilisation de l'enzyme avec la concentration du détergent, suivie d'une baisse à une concentration donnée peut être comparée à l'action de la sécheresse. Nous avons vu, en effet, que la sécheresse augmentait l'activité soluble des enzymes hydrolytiques *jusqu'à un certain seuil du déficit hydrique, et qu'ensuite il y avait une baisse d'activité des enzymes lorsque le manque d'eau était très important (révision de TODD, 19721

Les résultats montrent également que le manque de protection des structures cellulaires lors de l'extraction (sans mannitol) augmentait la solubilisation de l'activité de la phosphatase acide (80,65 % de l'activité totale se retrouve en effet dans le surnageant). Il y a par contre une assez bonne protection de ces structures avec la mannitol à 0,5 M (seulement 49,72 % de l'activité totale se trouve dans le surnageant], et une assez importante activité enzymatique reste dans le culot.

En conclusion, on voit que le triton désorganise la cellule entraînant ainsi une décompartimentation, ce qui a pour effet d'augmenter l'activité de la phosphatase acide dans la fraction cellulaire soluble. A partir d'une concentration importante du détergent, l'activité enzymatique est déprimée. Ces effets sont tout à fait comparables à ceux de la sécheresse.

A.2.2.7.3. - *Activité enzymatique en fonction de La quantité d'homogénat (enzyme)*

Pour cette étude, nous avons travaillé dans des surnageants d'extraits foliaires des mils SOUNA₃ et SYNTHETIQUE 1-5-GAM.

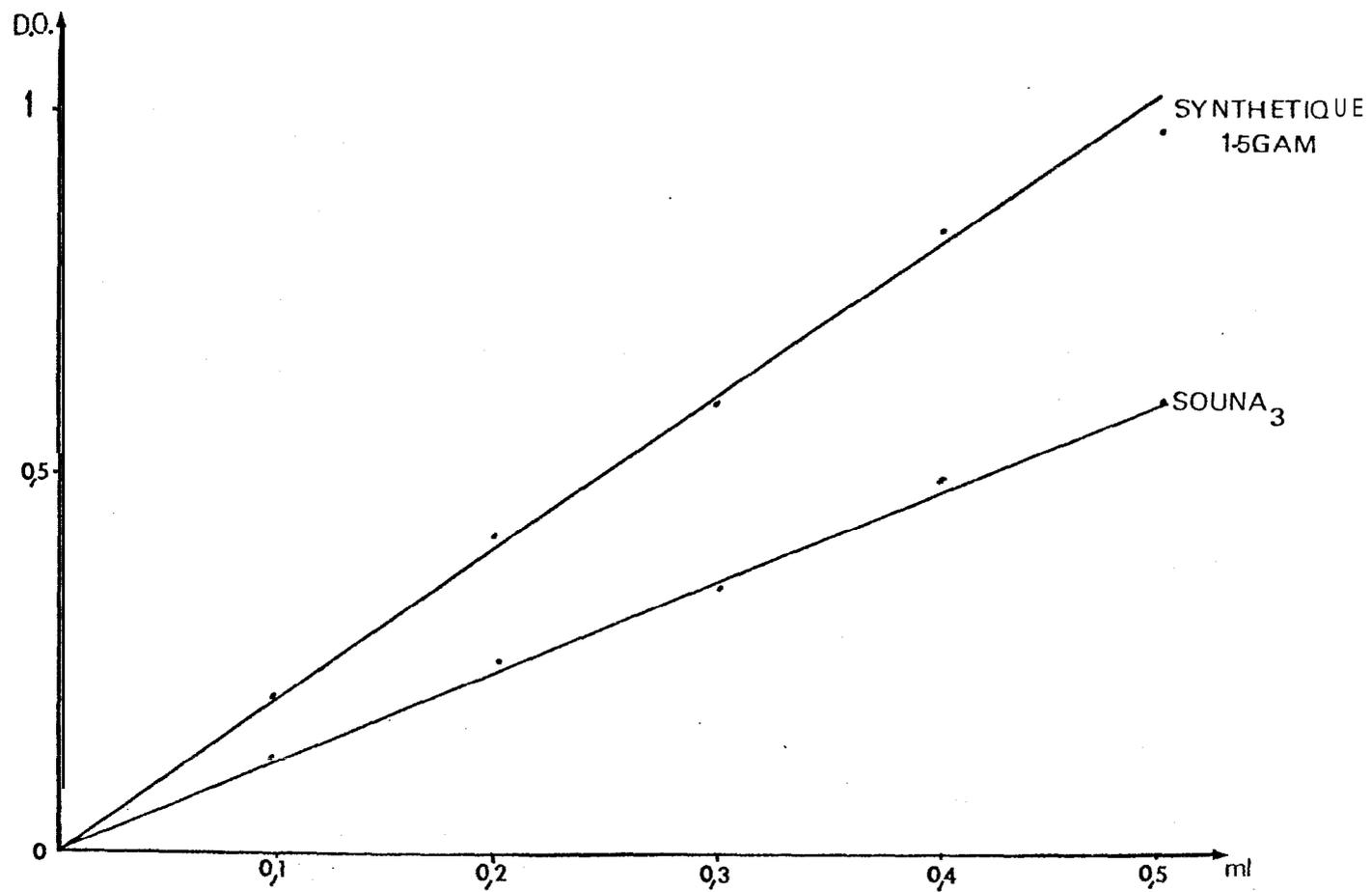


FIG.5: ACTIVITE DE LA PHOSPHATASE ACIDE(en densite optique) EN FONCTION DE LA QUANTITE D'HOMOGENAT

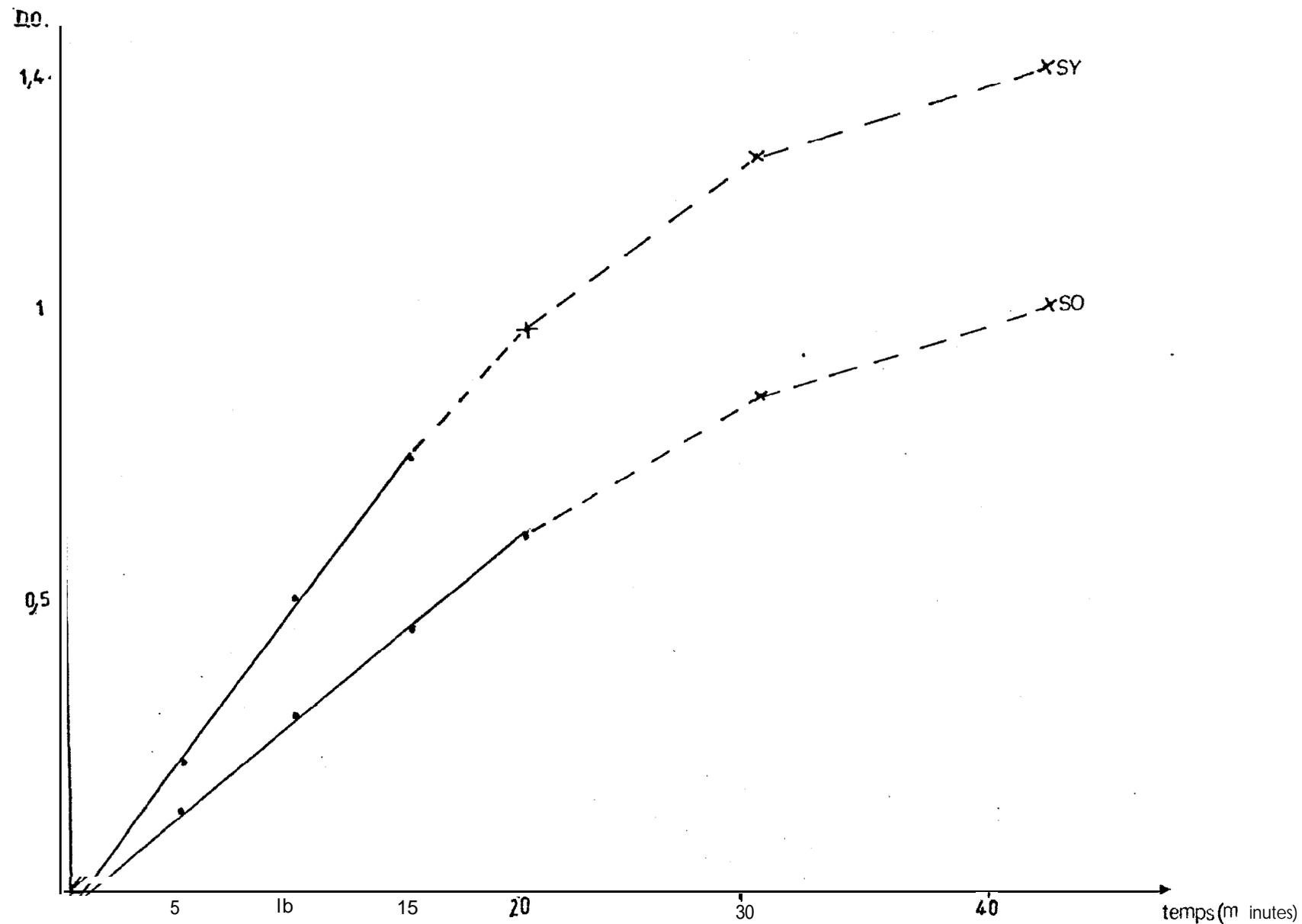


FIG.6 : ACTIVITE DE LA PHOSPHATASE ACIDE (en densite optique) EN FONCTION Du TEMPS D'INCUBATION CHEZ LES MILS SYNTHETIQUE 15.GAM(SY) ET SOUNA₃(SO)

Les quantités d'homogénat utilisées sont 0,1, 0,2, 0,3, 0,4 et 0,5 ml, les volumes sont complétés à 0,5 ml par de l'eau distillée. Le temps d'incubation a duré 20 minutes. Les résultats (figure 51) montrent que pour le SCUNA₃, l'activité enzymatique est proportionnelle à la quantité d'homogénat jusqu'à 0,5 ml, tandis, que pour le SYNTHETIQUE, cela n'est valable que jusqu'à 0,4 ml.

Compte tenu du fait que les concentrations utilisées autres que 0,5 ml d'homogénat demandaient des manipulations supplémentaires (donc source d'erreurs) nous, avons choisi de travailler avec 0,5 ml d'homogénat et de réduire le temps d'incubation.

A.2.2.1.4. - *Activité enzymatique en fonction du temps d'incubation*

Nous avons choisi les mêmes échantillons pour cette étude que ceux pour l'expérience précédente. La quantité d'homogénat est de 0,5 ml et les temps d'incubation sont de 5, 10, 15, 20, 30 et 40 mn. Les résultats [figure 61] indiquent que l'activité enzymatique est proportionnelle au temps d'incubation jusqu'à 10 mn pour le SCUNA₃ et seulement jusqu'à 15 mn pour le SYNTHETIQUE.

Tenant compte des augmentations d'activité enzymatique probables, du désir de comparer ces deux variétés et de celui de travailler dans la zone de la courbe où l'activité enzymatique était proportionnelle au temps, d'incubation, nous avons choisi de travailler avec 10 mn d'incubation (et 0,5 ml d'homogénat).

A.2.2.7.5. - *Activité de la phab phatab e acide. dans les différents organes de la plante*

A partir d'échantillons (1 gl de feuille, de tige et de racine prélevés sur une même plante de mil SYNTHETIQUE 1-5-GAM [de 80 jours]), nous avons, après extraction et cen-

trifugation, étudié dans le surnageant l'activité de la phosphatase acide dans ces différents organes. Les résultats obtenus en μ moles de P.N.P. par mg de protéine et par heure sont :

- feuille = 22
- tige = 19
- racine = 5,16

Ainsi, chez le mil, l'activité de la phosphatase acide est plus élevée dans la feuille que dans la tige, qui elle-même en contient plus que la racine. Ces résultats confirment ceux obtenus par YIN (1945) qui trouvait chez des plantes adultes, des rapports analogues entre les différents organes en ce qui concerne l'activité de l'enzyme (phosphatase acide).

A. 2. 2. 7. 6. - *Variation de l'activité de la phosphatase acide avec la sécheresse (par suspension d'arrosage)*

I - LA FEUILLE

Nous avons, pour cette étude, travaillé sur des échantillons prélevés chez des mils SQUANA₃ et SYNTHETIQUE 1-5-GAM et les Sorghos NK 120 et NK 108. Nous avons mesuré l'activité enzymatique dans l'extrait brut, le surnageant et le culot chez des plantes traitées à la sécheresse et chez des témoins arrosés normalement.

a) - Examinons d'abord les résultats, lorsque l'activité enzymatique est exprimée en fonction de la quantité de protéines : Tableau Ia.

L'obtention d'une activité enzymatique dans le surnageant et le culot montre que, non seulement il y a une activité de la phosphatase soluble, mais qu'il existe également une activité de l'enzyme liée aux structures cellulaires sédimentables. Cette activité est même assez élevée,

• TABLEAU 1 a •

Evolution de l'activité de la phosphatase acide (en μ moles de P.N.P. par mg de protéine par heure) dans la feuille des mils SOUNA₃ et SYNTHETIQUE et SORGHOS NK 120 et NK 108 soumis à la sécheresse.

| P L A N T E | SECHERESSE en nombre de jours | % d'eau P.S. | ACTIVITE DE L'ENZYME dans | | |
|-------------------------------|-------------------------------------|-----------------|------------------------------|------------|-------|
| | | | brut | surnageant | culot |
| MIL SOUNA ₃ | Témoin 0 | 540,42 | 0,80 | 1,96 | 1,2 |
| | 6 | 311,79 | 0,88 | 0,88 | 1,92 |
| | 9 | 261,58 | 0,99 | 0,77 | 1,3 |
| | 12 | 65,40 | 1,63 | 1,29 | 0,45 |
| MIL SYNTHETIQUE 1-5-GAM | Témoin 0 | 582,69 | 1,25 | 1,70 | 1,32 |
| | 6 | 306,50 | 1,51 | 1,31 | 1,2 |
| | 9 | 252,83 | 1,56 | 2,03 | 2,7 |
| | 12 | 191,83 | 3,34 | 1,96 | 0,34 |
| SORGHO NK 120 | Témoin 0 | 372,85 | 7,04 | 10,36 | 4,8 |
| | 6 | 209,38 | 8,24 | 10,12 | 5,21 |
| | 9 | 142,72 | 11,82 | 15,64 | 6,79 |
| SORGHO NK 108 | Témoin 0 | 302,38 | 6,72 | 7,95 | 4,22 |
| | 6 | 208,68 | 6,75 | 7,90 | 4,21 |
| | 9 | 157,25 | 10,96 | 14,47 | 5,82 |

surtout par rapport à la quantité de protéines contenues dans cette fraction. Ces résultats vont dans le sens de ceux déjà obtenus sur d'autres plantes par YIN (1945) PUJARNISCLE 11966, 68 et 691, RAGETLI et al (1966), VIEIRA DA SILVA (1970) et VIEIRA DA SILVA (1976). Nous reviendrons sur ces problèmes de localisation de l'enzyme dans le paragraphe : Distribution (localisation) de l'activité enzymatique dans différentes fractions cellulaires.

Les résultats montrent aussi chez les témoins, que les sorghos (NK 120 surtout) ont une activité phosphatasique plus élevée que les mils et que chez ces derniers le SYNTHETIQUE montre une activité de l'enzyme plus élevée que le SOUNA₃.

Au point de vue présentation des plantes, le SOUNA₃ surtout, et le sorgho NK 120 sont de grande taille et ont une grande envergure, le mil SYNTHETIQUE a une taille réduite ainsi que le sorgho NK 108 qui, en plus de sa petite taille, a une tige et des feuilles minces.

Dans les conditions d'un métabolisme normal, une activité élevée de la phosphatase acide est décrite comme étant bénéfique à la plante et est signe d'une vitalité métabolique. Ainsi YIN (1945) travaillant sur des *Lamium* et des *Iris*, trouve une activité de la phosphatase élevée dans les tissus méristématiques, dans les éléments du phloème et les cellules chlorophylliennes. Au niveau des racines, l'activité élevée se trouvait dans les zones de différenciations primaires et dans le procambium. Dans les cellules du cortex, l'activité phosphatasique était faible. Chez les racines âgées l'activité enzymatique était généralement faible, bien qu'elle reste élevée dans le phloème.

Ces résultats sont interprétés par l'auteur comme une corrélation entre l'activité phosphatasique et la capacité

d'accumulation et de mobilisation des glucides, ainsi un gradient de concentration de glucides est maintenu dans les tubes' criblés.

Toujours en rapport avec la mobilisation des sucres, SHEILA et al. (1953), travaillant sur des racines excisées de tomate, pensent que l'activité phosphatasique doit être élevée non seulement dans le phloème, mais aussi dans le cortex à travers lequel se fait le transport des glucides du milieu de culture vers les tissus. Leurs résultats confirment effectivement leur hypothèse car ils ont obtenu une importante activité phosphatasique dans les cellules corticales des racines excisées de tomate. Cette activité était intimement liée à des grains d'amidon.

De son côté, KLJRSANOV (1963), sur la feuille, propose un modèle de transfert du saccharose, des chloroplastes vers le phloème sous-tendu 'par l'intervention d'une phosphatase au niveau des membranes chloroplastiques.

Une activité phosphatasique élevée, liée à des zones où existe une forte activité métabolique, est également rapportée par des auteurs tels que WILSON et al 1949, VAN DEN BORN (1963) et FOSKET et al. (1966) qui ont montré que l'activité de la phosphatase acide était étroitement associée aux tissus dans lesquels se déroulait une division cellulaire active ou une différenciation. Cependant cette activité était faible dans les tissus mûrs, où l'activité métabolique était réduite.

De leur côté, ONOFOGHARA et KOROÏA (1974) travaillant sur des cucurbitacées, ont mis en évidence une activité de la phosphatase acide élevée dans les tissus où s'effectuent les premières étapes de la croissance des plantes.

Les résultats obtenus par PUJARNISCLE (1969) sur les lwtoides du latex d'*Hévéa brasiliensis*, où il découvre une activité phosphatasique très élevée, lui font conclure au rôle important de cette enzyme (en tant que libératrice d'énergie) pour la cellule laticifère dont la biogénèse nécessite beaucoup d'énergie.

Ainsi donc, en conditions normales, une activité phosphatasique élevée semble plutôt être bénéfique pour la plante.

Nos résultats montrent également que, les activités de la phosphatase acide dans le surnageant et le culot peuvent être élevées par rapport à celle dans l'extrait brut, et que la relation : activité dans l'extrait brut = activité dans le surnageant + celle dans le culot n'est pas vérifiée. Ceci fait intervenir des problèmes d'inhibition, d'activation et d'interaction qui sont toujours présents dans des systèmes si complexes.

Par rapport à la sécheresse il y a une augmentation d'activité de la phosphatase dans tous les extraits bruts. Cette augmentation est plus importante chez les sorghos que chez les mils, où le SYNTHETIQUE présente une augmentation plus importante que le SDUNA₃. *

• Dans le surnageant il y a une baisse d'activité dans les premiers jours de sécheresse (6ème jour), suivie d'une augmentation d'activité de l'enzyme avec la sécheresse. Chez le SDUNA₃, cette baisse se maintient jusqu'au 8ème jour de sécheresse. Cette baisse d'activité est, dans tous les cas, plus importante chez les mils que chez les sorghos.

• Dans le culot, l'augmentation d'activité avec la sécheresse est régulière chez le sorgho NK 120 ; chez le NK 108, il semble y avoir une stabilisation suivie d'une augmentation d'ac-

tivité. Chez le mil SOUNA₃, il y a une augmentation d'activité de la phosphatase dans le culot en début de traitement, en fin de traitement il y a une baisse d'activité (12ème jour). Chez le mil SYNTHETIQUE, il y a une légère baisse en début de traitement, suivie d'une augmentation, et en fin de traitement il y a également une baisse d'activité (12ème jour).

Par rapport à la sécheresse, les mils résistent mieux que les sorghos et le SOUNA₃ semble mieux adapté que le SYNTHETIQUE. Le mil SOUNAS et le sorgho NK 120, par leur importante partie aérienne, perdent certainement beaucoup d'eau par évapo-transpiration, ce qui peut ne pas être le cas chez le SYNTHETIQUE et le sorgho NK 108. Mais le mil SOUNA₃ supporte assez bien le manque d'eau comme nous l'avons indiqué au début de ce travail.

La variation de l'activité de la phosphatase dans l'extrait brut peut être retenue comme étant conforme au comportement des plantes vis-à-vis de la sécheresse : augmentation plus importante chez les sorghos que chez les mils, où l'augmentation est plus grande chez le SYNTHETIQUE que chez le SOUNA₃. Dans nos conditions de culture le SOUNA₃ résiste mieux au manque d'eau que le SYNTHETIQUE.

Pour mieux comprendre ce qui se passe dans le surnageant et le culot, nous allons faire : activité dans le surnageant + activité dans le culot = 100 % d'activité (activité totale) et les quantités de protéines dans le surnageant plus celles dans le culot = quantité totale des protéines (100 %). Les figures 7a et 7b rendent compte des évolutions des activités enzymatiques avec la sécheresse dans les différentes fractions.

En abscisse, il est porté le pourcentage de la quantité de protéines dans chaque fraction (chiffre à la base

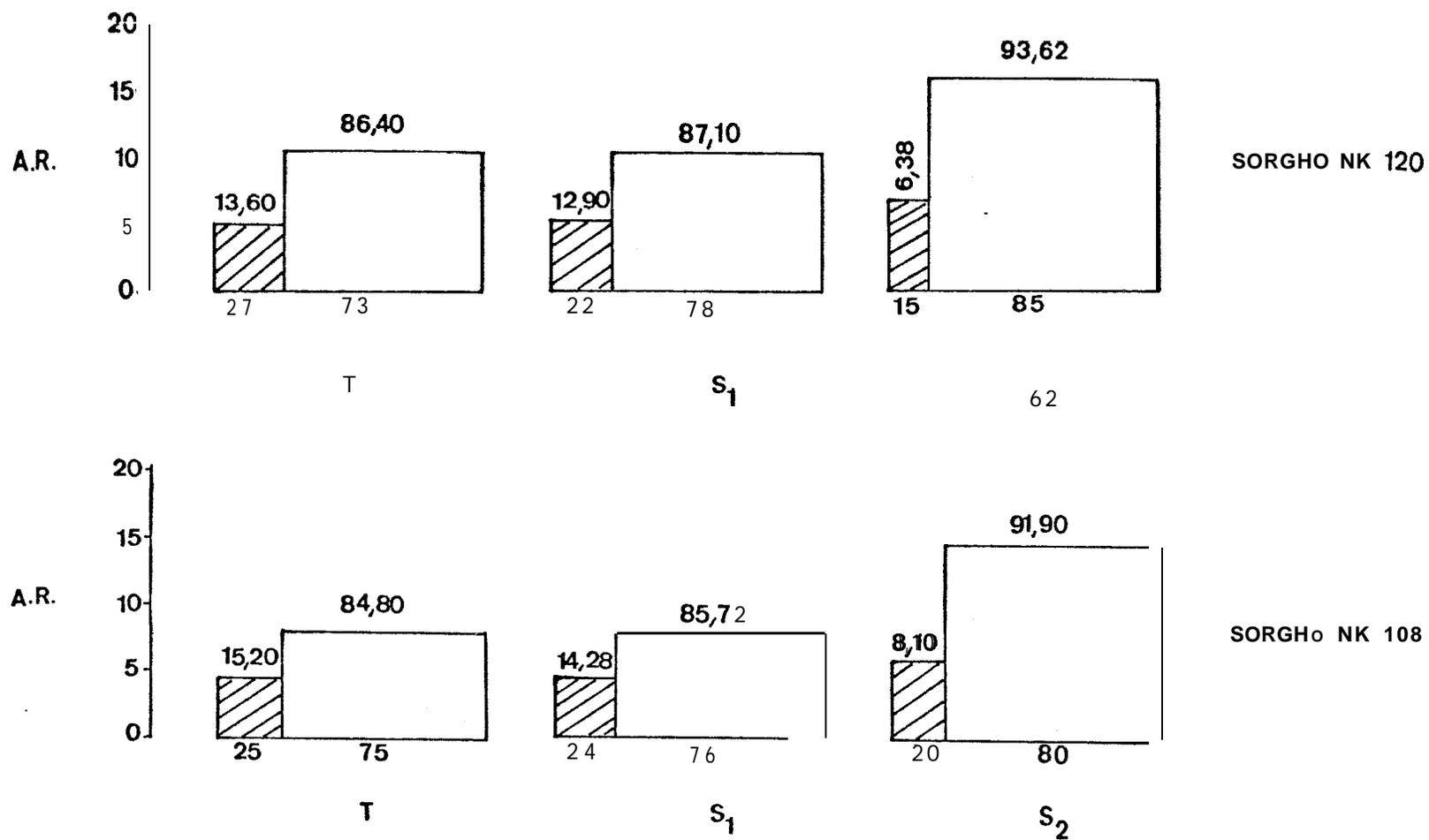


FIG 7a Distribution de l'activité de la phosphatase acide dans le culot (hachures) et le surnageant (blanc) chez les témoins (T) et chez des plantes soumises à la sécheresse (S₁ = 6, S₂ = 9, S₃ = 12 jours) AR = activité relative

(Voir le texte pour la légende)

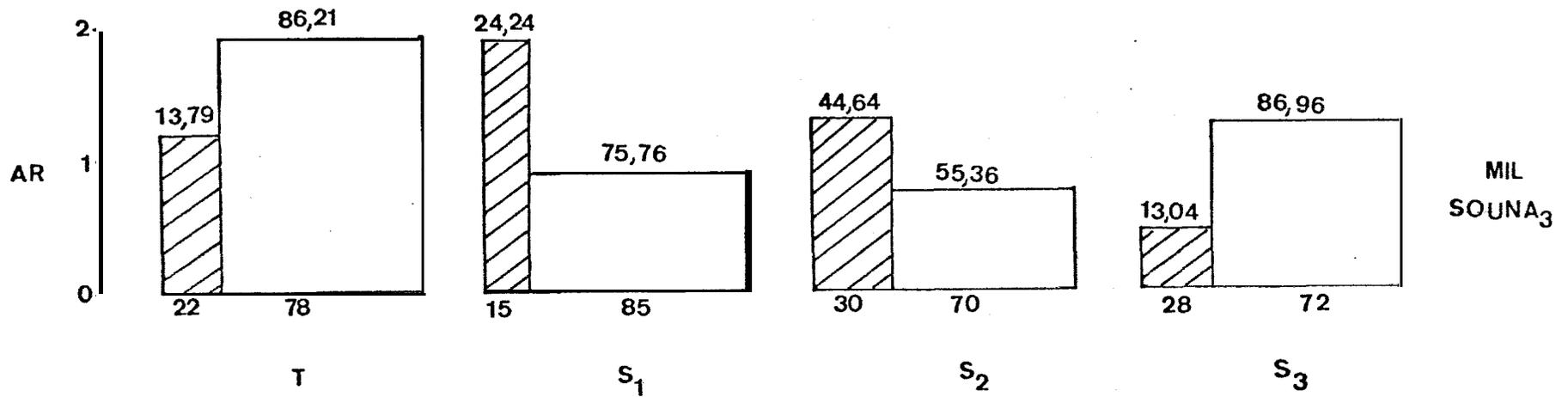
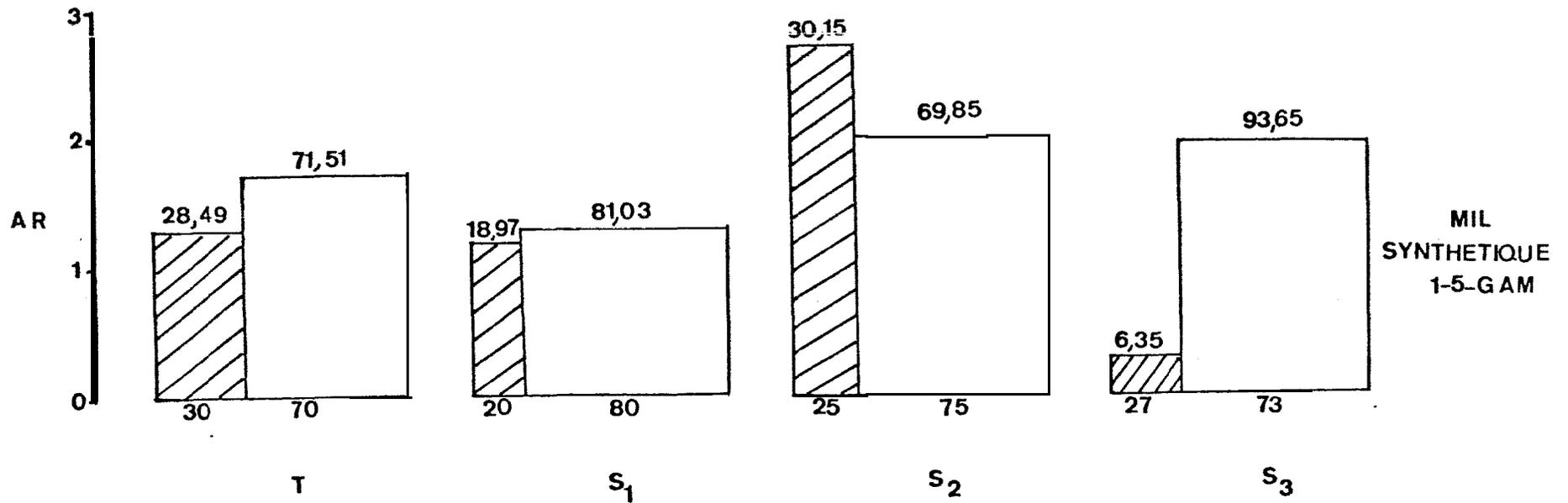


FIG.7b : Distribution de

de la phosphatase acide entre le culot et le surnageant.

(Même légende que la Fig 7a.)

des rectangles¹ ; en ordonnées l'activité relative dans la fraction (= pourcentage d'activité enzymatique sur pourcentage de la quantité de protéines dans la fraction). La surface du rectangle (chiffres au-dessus des rectangles¹ donne le pourcentage d'activité dans la fraction.'

- Chez les sorghos on note une solubilisation des protéines au fur et à mesure que la sécheresse se développe, surtout chez le NK 120. L'activité de la phosphatase devient également de plus en plus importante dans la phase soluble au détriment du culot. En fin de traitement,, la solubilisation est plus importante chez le NK 120 que chez le NK 108 où la perte de protéines solubles par le culot est moins importante que chez le NK 120. La solubilisation de l'activité de l'enzyme est donc assez liée à celle de la quantité de protéines.

- Chez les mils, le problème est moins simple. La solubilisation de l'activité de la phosphatase avec la sécheresse est plus importante chez le SYNTHETIQUE que chez le SOUNAS. Chez le SOUNAS₃, en effet., il y a baisse de la solubilisation de l'activité de la phosphatase au 6ème jour (S₁) et au 8ème jour (S₂); une très légère augmentation de l'activité soluble n'intervient qu'en fin de traitement 12è jour (S₃). Chez le SYNTHETIQUE, la baisse de solubilisation intervient plus tardivement au 9ème jour, et au 12ème jour (S₃) il y a une importante solubilisation de l'activité de l'enzyme.

- En ce qui concerne la quantité de protéines dans les fractions, il y a au 6ème jour, chez le SYNTHETIQUE, une importante solubilisation, mais aux 8ème et 12ème jours, la quantité de protéines augmente dans le culot. Cette augmentation de la quantité de protéines dans le culot peut être interprétée comme une possible réaction de la cellule à la désorganisation, notamment sous la forme d'une nouvelle syn-

thèse de protéines. Au 9^{ème} jour, l'augmentation de la quantité de protéines dans le culot est accompagnée d'une importante activité enzymatique. Ceci peut correspondre à une activation particulière de l'enzyme [la quantité d'enzyme restant la même], ou à une augmentation de la protéine enzymatique, ou aux deux phénomènes à la fois. Au 12^{ème} jour, bien qu'il y ait eu une augmentation de la quantité de protéines dans le culot, l'activité de l'enzyme baisse, ce qui peut s'expliquer par une perte d'activité de l'enzyme (dénaturation?). Au 12^{ème} jour, malgré la baisse relative en pourcentage de la quantité de protéines dans le surnageant, l'activité de l'enzyme y est très importante, ce qui correspondrait à une activation importante de l'enzyme.

• Chez le SOUNAS, après une baisse de la quantité de protéines au 6^{ème} jour (S₁) dans le culot, il y a une augmentation au 9^{ème} et au 12^{ème} jour (surtout au 9^{ème}). Au 6^{ème} jour de sécheresse, malgré une baisse de la quantité de protéines dans le culot, l'activité de l'enzyme y reste très importante, ce qui suppose une appréciable activation de l'enzyme. Au 9^{ème} jour, on observe chez le SOUNA₃ le même phénomène (dans le culot.1 décrit chez le SYNTHETIQUE, c'est-à-dire une augmentation relative des protéines, suivie d'une augmentation de l'activité enzymatique assez importante. Au 12^{ème} jour, on observe aussi le même phénomène que celui dans le culot du SYNTHETIQUE, c'est-à-dire une baisse d'activité de l'enzyme malgré l'augmentation relative de la quantité de protéines par rapport au 6^{ème} jour. Dans le surnageant, au 12^{ème} jour il y a une légère augmentation de la quantité de protéines par rapport au 6^{ème} jour, suivie d'une augmentation de l'activité enzymatique.

Cette baisse de la quantité de protéines dans le culot en début de traitement sécheresse, suivie d'une augmentation ultérieure de ces protéines dans le même culot peut être vue comme une adaptation de la plante (mil) aux conditions nou-

velles. Ainsi, on peut comprendre ces phénomènes comme étant les deux phases de STOKER (1961). Une première phase : la réaction où l'on voit se manifester l'influence néfaste du déficit hydrique sur la structure plasmatique, l'autre : la restitution pendant laquelle la dite structure est rétablie et stabilisée. Le processus enzymatique, allant en général dans le sens oxydation + hydrolyse dans la première phase, et dans celui réduction-synthèse dans la seconde.

Chez les sorghos, nous n'avons pas obtenu, dans cette expérience, ce phénomène et la perte des protéines par le culot s'est faite régulièrement avec la sécheresse au profit du surnageant.

Une augmentation de l'activité totale de la phosphatase acide avec la sécheresse et une augmentation importante de sa solubilisation chez les espèces végétales sensibles à la sécheresse ont été rapportées par plusieurs travaux. GATE (1957) disait que le métabolisme du phosphate faisait partie des premiers processus physiologiques atteints lors de la deshydratation de la plante.

Ainsi NIR et al. (1966) sur *Beta vulgaris*, obtiennent une augmentation d'activité de la phosphatase avec la sécheresse.

De son côté, TAKAOKI (1968) sur *Vigna sinensis* obtient lui aussi, une augmentation d'activité de la phosphatase acide avec la sécheresse.

Sur diverses variétés de cotonniers, VIEIRA DA SILVA (1968, 1970 et 1976) note une augmentation d'activité phosphatase avec la sécheresse, la solubilisation de l'activité de l'enzyme étant plus importante chez les espèces sensibles à la sécheresse que chez celles qui sont résistantes.

Par ailleurs, ADJAHOSSOU (1977) trouve sur le palmier à huile une augmentation de l'activité de la phosphatase acide avec la sécheresse.

Il faut cependant noter que TODD et YOO (1964), sur le blé, avaient obtenu une baisse d'activité de l'enzyme avec la sécheresse. Mais, de l'avis de TODD même, (révision de TODD, 1973) les enzymes hydrolytiques en général se stabilisent ou augmentent d'activité avec la sécheresse, et la diminution d'activité n'intervient que dans des conditions de déficit hydrique extrême.

L'augmentation d'activité de la phosphatase dans l'extrait brut lors du déficit hydrique confirme les résultats des auteurs que nous avons cités (NIR et al, 1966 ; TAKAOKI, 1968 ; VIEIRA DA SILVA, 1968, 70, 76 ; ADJAHOSSOU, 1977). Cette augmentation d'activité de la phosphatase plus importante chez les sorghos que chez les mils, et celle chez le SYNTHETIQUE plus importante que celle chez le SOUNAS, vont dans le sens des résultats obtenus par VIEIRA DA SILVA (1968, 70 et 76) chez le cotonnier. Chez différentes espèces de cotonniers, l'auteur obtient une augmentation d'activité de l'enzyme plus importante chez les variétés sensibles à la sécheresse que chez celles qui sont résistantes. La solubilisation de l'activité de l'enzyme plus importante d'une part chez les sorghos que chez les mils, chez le SYNTHETIQUE que chez le SOUNAS d'autre part, est également conforme aux résultats obtenus par le même auteur sur le cotonnier. En effet, l'auteur obtient une solubilisation plus importante de l'activité de l'enzyme avec le déficit hydrique chez les espèces de cotonniers sensibles à la sécheresse, que chez celles résistantes.

Une augmentation d'activité des hydrolases en général, et de la phosphatase acide en particulier, peut avoir des effets nuisibles pour la plante.

L'augmentation d'activité de ribonucléase avec le déficit hydrique entraîne une baisse de la quantité de matière sèche chez la feuille de cotonnier (VIEIRA DA SILVA, 1968a). La quantité d'ARN totale également diminue, et cette perte se fait surtout au niveau des A.R.N. chloroplastiques [MARIN et VIEIRA DA SILVA, 1972].

Les protéases, dont l'activité a été décrite comme augmentant avec le déficit hydrique [ISISAKYAN et al, 1938 et KAWASHIMA et al, 1967, 1968] peuvent avoir des actions néfastes dans la cellule ; destruction des protéines (donc des enzymes) et destabilisation des membranes, etc...

Les lipases, de leur côté, dont également l'activité augmente avec le déficit hydrique (VIEIRA DA SILVA et al, 1974, et VIEIRA DA SILVA, 1976) peuvent attaquer les systèmes membranaires des organites cellulaires. Le fait qu'elles augmentent également la quantité d'acides organiques est aussi préjudiciable au métabolisme de la cellule. En effet, CONSTANTOPOULOS et KENYON (1968) ont montré une corrélation négative entre la vitesse de la réaction de HILL et la quantité d'acides organiques insaturés. D'autres auteurs ont rapporté que les réactions photochimiques étaient déprimées en présence d'acides organiques libres (KROGMANN et JAGENOORF, 1959 ; NIR et al. ,1967 ; BOYER et BOWEN, 1970 ; FRY, 1970 ; BUTLER et OKAYAMA, 1971).

Ces deux actions, l'une directe (sur les membranes notamment), l'autre indirecte (par l'intervention des acides organiques), donnent à l'action des lipases un rôle important dans les effets néfastes du manque d'eau sur la plante.

L'augmentation d'activité de la phosphatase acide, mis à part qu'elle entraîne une libération importante d'énergie par la rupture des liaisons de haute énergie ~ P, peut avoir des incidences directes sur le métabolisme de la plante

par le phosphate inorganique qu'elle libère. Ainsi, VIEIRA DA SILVA (1970) pense que la solubilisation de phosphatase acide serait responsable de la diminution de la photosynthèse en conditions de sécheresse.

L'inhibition de l'absorption du CO_2 par le phosphate inorganique dans des chloroplastes isolés a été obtenue par CHAMPIGNY et MIGINIAC-MASLOW (1971).

Chez *Gossypium anomalum*, une espèce de cotonnier résistant à la sécheresse, l'augmentation réversible du point de compensation du CO_2 par le phosphate inorganique, habituellement décrite chez les plantes sensibles à la sécheresse, n'a pas été obtenue chez cette espèce (VIEIRA DA SILVA, 1976). En effet, chez cette dernière, la solubilisation de l'activité de l'enzyme est très faible avec la sécheresse.

L'augmentation de l'activité de la phosphatase pendant le déficit hydrique semble donc être nuisible aux plantes dans ces conditions, ce qui est également le cas de certaines hydrolases comme la ribonucléase, les protéases et les lipases.

b) Examinons maintenant ce qui se produit lorsque l'activité enzymatique est exprimée en fonction de la matière sèche [Tableau Ib).

- Chez le SDUNA_3 il y a une diminution de l'activité enzymatique chez la plante soumise à la sécheresse par rapport au témoin dans tous les échantillons; sauf dans le culot du 9ème jour où il y a une augmentation d'activité.

- Chez le SYNTHETIQUE, il y a également une diminution de l'activité enzymatique avec la sécheresse dans le surnageant et le culot, dans l'extrait brut il y a une augmentation de celle-ci (par rapport au témoin) au 12ème jour de sécheresse.

- TABLEAU I b -

Evolution de l'activité de la phosphatase acide (μ moles de P.N.P. par mg de matière sèche par heure) dans la feuille de mils SOUNA₃ et SYNTHETIQUE 1-5-GAM et des SORGHOS NK 120 et NK 108 soumis à la sécheresse.

| P L A N T E | SECHERESSE en nombre de jours | % d'eau P.S. | ACTIVITE DE L'ENZYME dans | | |
|-------------------------------|-------------------------------------|-----------------|------------------------------|-----------|-------|
| | | | brut | surageant | culot |
| MIL SOUNA ₃ | Témoin 0 | 540,42 | 0,27 | 0,22 | 0,035 |
| | 6 | 311,79 | 0,21 | 0,15 | 0,025 |
| | 9 | 261,58 | 0,19 | 0,16 | 0,13 |
| | 12 | 165,40 | 0,18 | 0,16 | 0,024 |
| MIL SYNTHETIQUE 1-5-GAM | Témoin 0 | 582,69 | 0,40 | 0,37 | 0,14 |
| | 6 | 306,50 | 0,34 | 0,28 | 0,067 |
| | 9 | 252,83 | 0,31 | 0,25 | 0,10 |
| | 12 | 191,83 | 0,45 | 0,25 | 0,017 |
| SORGHO NK 120 | Témoin 0 | 372,85 | 1,82 | 1,45 | 0,22 |
| | 6 | 209,38 | 1,46 | 1,25 | 0,18 |
| | 9 | 142,72 | 1,47 | 1,28 | 0,09 |
| SORGHO NK 108 | Témoin 0 | 302,38 | 1,60 | 1,21 | 0,21 |
| | 6 | 208,68 | 1,66 | 1,25 | 0,21 |
| | 9 | 157,25 | 2,11 | 1,48 | 0,13 |

- Chez le sorgho NK 120, l'activité enzymatique chez les plantes traitées reste inférieure à celle chez le témoin dans tous les échantillons.

- Chez le sorgho NK 108, il y a une augmentation de l'activité enzymatique avec la sécheresse dans l'extrait brut et le surnageant, dans le culot après une stabilisation au 6ème jour, l'activité diminue au 8ème jour de sécheresse.

- Chez les mils, après une importante diminution de l'activité enzymatique au 6ème jour dans les surnageants, il y a une tendance à une stabilisation.

L'observation du rapport teneur en protéines/matière sèche (tableau III montre que la valeur de celui-ci diminue avec le déficit hydrique chez les mils et le sorgho NK 120. Il y aurait donc une destruction des protéines avec la sécheresse. Chez le sorgho NK 108, la valeur de ce rapport croit au 6ème jour et décroît au 8ème jour de sécheresse. L'augmentation de l'activité enzymatique chez cette plante (sorgho NK 1081 peut s'expliquer par l'augmentation de la protéine enzymatique dans un premier temps (6ème jour de sécheresse) qui peut être accompagnée d'une activation de l'enzyme, éventuellement. Au 9ème jour, cette augmentation (dans l'extrait brut et le surnageant) malgré la diminution relative des protéines, peut s'expliquer par une activation importante de l'enzyme ; on peut aussi penser que la diminution relative des protéines ne touche pas la protéine enzymatique, les deux phénomènes peuvent également intervenir en même temps. Chez les mils et le sorgho NK 120, l'augmentation d'activité enzymatique avec la sécheresse, observée lorsque les résultats sont exprimés en fonction des protéines, peut donc s'expliquer par la perte de protéines avec la sécheresse ; on peut aussi avoir une activation de l'enzyme, bien que la première raison puisse suffire pour expliquer l'augmentation de l'activité enzymatique. La tendance à une stabilisation de l'ac-

- TABLEAU II -

Evolution de la valeur du rapport :
teneur en protéines/matière sèche dans la feuille des
mils et sorghos (âgés de 50 jours), soumis à la sécheresse.

DOSAGE : PHOSPHATASE ACIDE

| | SECHERESSE (en nombre de jours) | | | |
|--------------------|------------------------------------|------|------|------|
| | 0 | 6 | 9 | 12 |
| SOUNA ₃ | 0,28 | 0,23 | 0,18 | 0,11 |
| SYNTHETIQUE | 0,29 | 0,21 | 0,20 | 0,13 |
| SORGHO NK 120 | 0,24 | 0,17 | 0,12 | - |
| SORGHO NK 108 | 0,22 | 0,24 | 0,19 | - |

- TABLEAU IV -

Evolution de la valeur du rapport :
Teneur en protéines/matière sèche dans la tige des
mils (âgés de 85 jours) soumis à la sécheresse.

DOSAGE : PHOSPHATASE ACIDE, AMYLACE ACIDE , AMYLASE ALCALINE et
INVERTASE ACIDE.

| | SECHERESSE (en nombre de jours) | | | |
|--------------------|------------------------------------|-------|------|------|
| | 0 | 6 | 10 | 14 |
| SOUNA ₃ | 0,08 | 0,075 | 0,05 | 0,08 |
| SYNTHETIQUE | 0,13 | 0,06 | 0,06 | 0,07 |

tivité enzymatique (après une diminution chez les mils (surnageant) malgré la diminution relative des protéines (expression de l'activité enzymatique par rapport à la matière sèche) montre quand même qu'il y a une certaine activation de l'enzyme ; dans l'extrait brut du SYNTHETIQUE au 12ème jour, il y a même une augmentation d'activité, ce qui prouve que l'enzyme est quand même activé par la sécheresse.

2 - LA TIGE

a) Si nous examinons les résultats lorsque l'activité enzymatique est exprimée en fonction des protéines, le tableau IIIa et la figure 8 rendent compte de l'évolution de l'activité de la phosphatase acide, dans les tiges du SOUNA₃ et SYNTHETIQUE, avec la sécheresse.

- Chez le SOUNA₃, l'activité de l'enzyme augmente avec la sécheresse aussi bien dans l'extrait brut que dans le surnageant, et cela par rapport à l'activité chez le témoin. Pendant tout le traitement, l'activité enzymatique chez la plante soumise à la sécheresse reste supérieure à celle chez le témoin. Quant à l'évolution de cette activité avec la sécheresse, après une importante augmentation au 6ème jour de sécheresse (dans l'extrait brut et le surnageant) il y a une diminution de celle-ci jusqu'en fin de traitement. Il faut signaler parallèlement que, à cette importante augmentation de l'activité de l'enzyme au 6ème jour, il y a aussi celle, notable, des glucides solubles dans la tige. Cette augmentation d'activité de la phosphatase n'est-elle pas à lier à la mobilisation de ces glucides ? Ceci n'est certainement pas à exclure.

• Chez le SYNTHETIQUE, l'augmentation d'activité de la phosphatase n'existe qu'au 6ème jour de sécheresse, et surtout dans le surnageant; après cela, l'activité enzymatique diminue chez la plante traitée et la valeur reste infé-

- TABLEAU III a -

Evolution de l'activité de la phosphatase acide (en μ moles de P.N.P. par mg de protéine par heure) dans la tige des mils SOUNA₃ et SYNTHETIQUE 1-5-GAM soumis à la sécheresse.

| SECHERESSE en nombre de jours | MIL SOUNA ₃ | | | MIL SYNTHETIQUE 1-5-GAM | | |
|-------------------------------------|------------------------|---|-----------|---|-----------|-----------------|
| | % d'eau P.S. | ACTIVITE DE LA PHOSPHATASE ACIDE dans | | ACTIVITE DE LA PHOSPHATASE ACIDE dans | | % d'eau P.S. |
| | | brut | surageant | brut | surageant | |
| Témoin 0 | 843,39 | 2,27 | 1,84 | 8,0 | 10,72 | 1 062,79 |
| 6 | 458,65 | 10,31 | 10,20 | 8,03 | 12,73 | 471,42 |
| 10 | 301,60 | 5,95 | 7,09 | 7 | 8 | 440,54 |
| 14 | 263,63 | 5,38 | 6,35 | 6 | 6,5 | 316,66 |

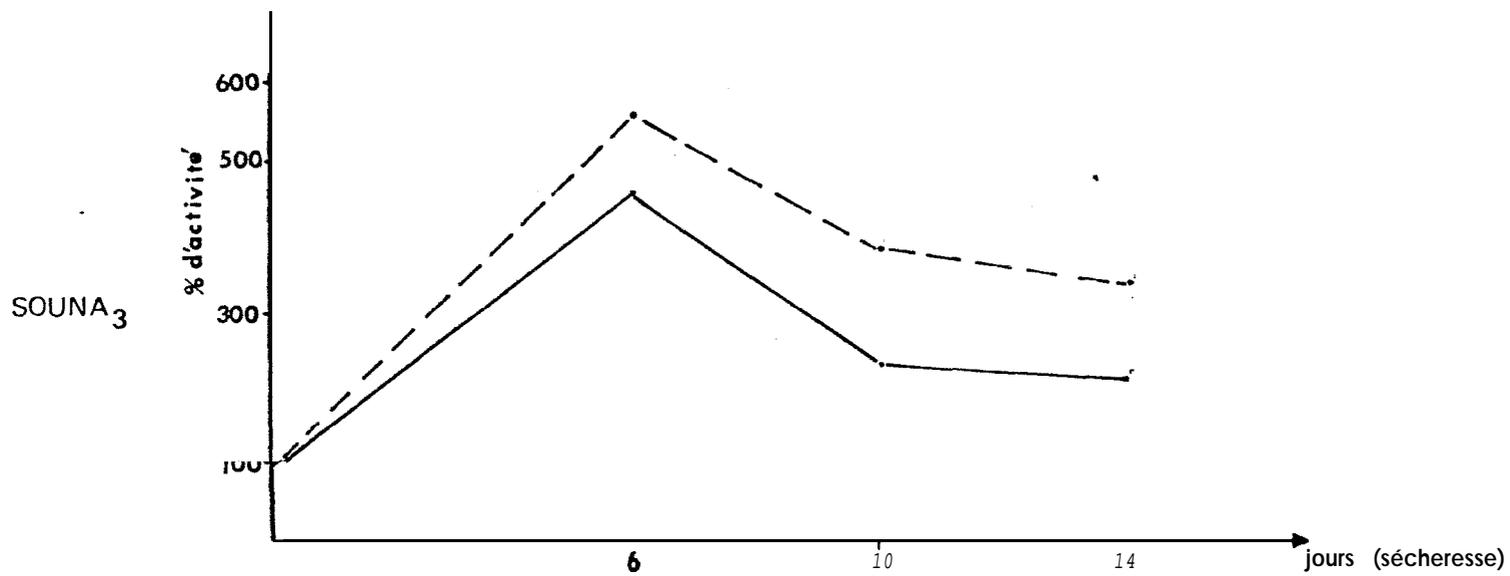
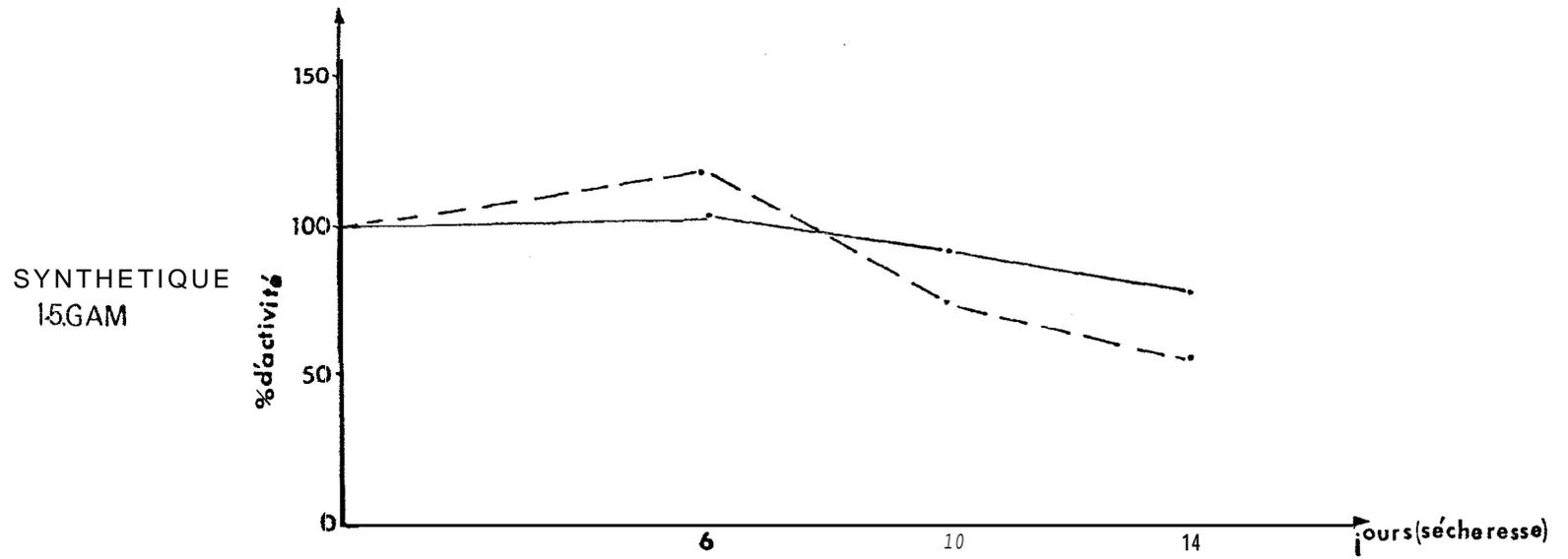


FIG.8: EVOLUTION DE L'ACTIVITE DE LA PHOSPHATASE ACIDE DANS LA TIGE DES MILS SOUMIS A LA SECHERESSE

----- = SURNAGEANT ————— = EXTRAIT BRUT

rieure à celle chez le témoin. A noter que l'activité de l'enzyme est très élevée chez le témoin, ceci est certainement en rapport avec l'importante teneur en glucides observée chez ce témoin.

b) Si l'activité enzymatique est exprimée en fonction de la matière sèche (Tableau IIIb) :

- Chez le SYNTHETIQUE, après une diminution d'activité au 6ème jour par rapport à l'activité chez le témoin, il y a une forte tendance à une stabilisation, dans l'extrait brut et dans le surnageant.

- Chez le SOUNA₃, dans tous les cas la valeur de l'activité enzymatique chez la plante traitée reste supérieure à celle chez le témoin. Après une augmentation d'activité au 6ème jour, celle-ci diminue au 10ème jour (par rapport au 6ème jour), et augmente au 14ème jour (par rapport au 10ème).

L'observation du rapport teneur en protéines/matière sèche (tableau IV) montre que la valeur de celui-ci décroît d'abord avec la sécheresse, puis croît en fin de traitement. Ceci indique qu'après une diminution relative des protéines, celles-ci tendent à augmenter. La diminution relative de la teneur en protéines est plus importante chez le SYNTHETIQUE que chez le SOUNA₃. L'augmentation d'activité de l'enzyme chez le SOUNA₃, malgré la diminution relative des protéines (dans le cas de l'expression des résultats par rapport à la matière sèche) peut s'expliquer par une activation de l'enzyme ; en fin de traitement (14ème jour) l'augmentation de l'activité enzymatique, en plus de l'activation de l'enzyme, peut également être due à l'augmentation de la protéine enzymatique. Chez le SYNTHETIQUE, la légère diminution d'activité enzymatique (toujours lorsque celle-ci est exprimée en fonction de la matière sèche) entre le 6ème et le 10ème jour, malgré la constance de la valeur du rapport : teneur en protéines/matière sèche, doit faire intervenir une inactivation de

- TABLEAU III b -

Evolution de l'activité de la phosphatase acide (en μ moles de P.N.P. par mg de matière sèche par heure) dans la tige des mils SOUNA₃ et SYNTHETIQUE 1-5-GAM soumis à la sécheresse.

| SECHERESSE en nombre de jours | MIL SOUNA ₃ | | | MIL SYNTHETIQUE 1-5-GAM | | |
|-------------------------------------|------------------------|---|------------|---|------------|-----------------|
| | % d'eau P.S. | ACTIVITE DE LA PHOSPHATASE ACIDE dans | | ACTIVITE DE LA PHOSPHATASE ACIDE dans | | % d'eau P.S. |
| | | brut | surnageant | brut | surnageant | |
| Témoin 0 | 843,39 | 0,2 | 0,11 | 1,18 | 1,06 | 1 062,79 |
| 6 | 458,65 | 0,5 | 0,40 | 0,52 | 0,47 | 471,42 |
| i 10 | 301,60 | 0,32 | 0,31 | 0,5 | 0,45 | 440,54 |
| 14 | 263,63 | 0,40 | 0,39 | 0,5 | 0,45 | 316,66 |

l'enzyme [destruction ?] ou une insuffisante augmentation de la protéine enzymatique. Au 14ème jour de sécheresse, malgré une légère augmentation de la valeur du rapport teneur en protéines/matière sèche, l'activité de l'enzyme se stabilise, ce qui confirme ce que nous disions tout à l'heure, c'est-à-dire inactivation ou dénaturation (destruction ?) de l'enzyme.

A.2.2.1.7. - Variation de l'activité de la phosphatase acide chez les mils SOUNA₃ et SYNTHETIQUE 1-5-GAM avec le traitement au P.E.G. 600.

A.2.2.1.7.1. - Introduction

Nous avons étudié l'activité de la phosphatase acide dans l'extrait brut, le surnageant et le culot d'échantillons foliaires prélevés sur des plantes de mil traitées au P.E.G. 600 et sur des plantes témoins [arrosées normalement). Le traitement au P.E.G. se fait par l'arrosage des plantes par une solution de P.E.G. 600 à -30 joules par mole, ayant été purifiée par le passage à travers deux résines : le DOWEX 50 et le DOWEX 1.

A.2.2.1.7.2. - Les résultats exprimés en fonction de la quantité de protéines sont consignés dans le tableau : Va.

On constate qu'il y a une augmentation d'activité de la phosphatase dans tous les échantillons, au fur et à mesure que le traitement dure. Dans l'extrait brut, l'augmentation d'activité de l'enzyme au 5ème jour de traitement au P.E.G. est plus importante chez le SYNTHETIQUE que chez le SOUNA₃ ; au 11ème jour, l'augmentation d'activité (par rapport au 9ème jour) est plus considérable chez le SOUNA₃ que chez le SYNTHETIQUE.

Dans le surnageant, au 9ème jour de traitement au P.E.G., l'augmentation d'activité de la phosphatase est plus

TABLEAU V a -

Activité de la phosphatase acide (en μ moles de P.N.P. par mg de protéine par heure} dans l' extrait brut, le surnageant et le culot de tissus foliaires des mils SYNTHETIQUES 1-5-GAM et SOUNA₃ traités au PEG 60Q comparée à celle chez les témoins.

| P L A N T E | Traitement au P.E.G. en nombre de jours | % d'eau P.S. | ACTIVITE DE L'ENZYME dans | | |
|---------------------------------|--|-----------------|------------------------------|------------|-------|
| | | | brut | surnageant | culot |
| MIL SYNTHETIQUE 1-5 - GAM | Témoin 0 | 281,68 | 1,85 | 2,13 | 0,57 |
| | 9 | 252,11 | 2,19 | 2,35 | |
| | 11 | 240.13 | 3,08 | 3,26 | 2,51 |
| MIL SOUNA ₃ | Témoin 0 | 346,43 | 1,56 | 1,80 | 0,53 |
| | 9 | 263.37 | 1,78 | 2,16 | 0,56 |
| | 11 | 232 | 3,11 | 3,47 | 2,20 |

élevée chez le SOUNAS que chez le SYNTHETIQUE, ce rapport se conserve aussi au 11ème jour (fin de traitement).

Dans le culot, celui du SOUNAS montre une augmentation d'activité de l'enzyme moins importante que celle qui existe dans le culot du SYNTHETIQUE au 9ème jour de traitement au P.E.G. ; le phénomène s'inverse au 11ème jour.

Cette augmentation d'activité de l'enzyme (phosphatase) avec le traitement P.E.G. 600, qui a été obtenue dans notre étude, confirme les résultats de VIEIRA DA SILVA (1968, 1969, 1970 et 1976) sur les feuilles de cotonniers, ainsi que ceux de ADJAHOSSOU (1977) chez le palmier à huile.

Comme dans le paragraphe précédent (traitement par la sécheresse) nous allons examiner l'évolution de la solubilisation de l'activité de l'enzyme, et celle de la teneur en protéines au fur et à mesure que le traitement se poursuit. La figure 9 est constituée en faisant : activité dans le surnageant + activité dans le culot = activité totale (100 % d'activité) et la quantité de protéines dans le surnageant + celle dans le culot = quantité totale. La légende est la même que celle de la figure 7.

Nous signalons que nous avons, dans ce cas, travaillé avec des plantes plus âgées (80 jours) que celles dans le cas du traitement par suspension d'arrosage (les plantes avaient 50 jours).

Ici, la solubilisation des protéines se fait au fur et à mesure que le traitement se poursuit, elle semble plus importante chez le SOUNAS que chez le SYNTHETIQUE.

La solubilisation de l'activité de l'enzyme également se fait au fur et à mesure que le traitement est appliqué chez le mil SOUNAS ; il y a plutôt une diminution de solubilisation chez le SYNTHETIQUE.

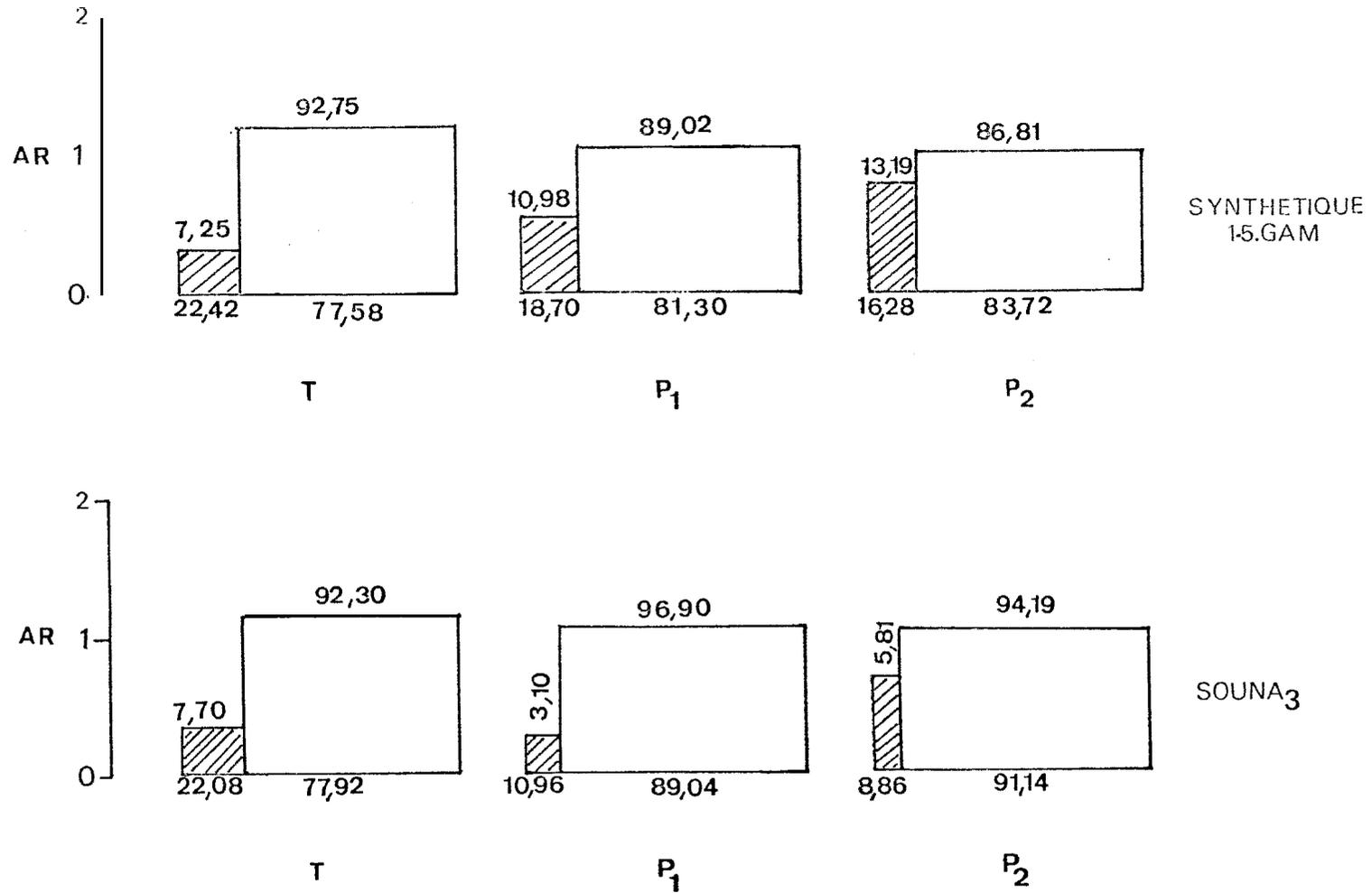


FIG 9 : Distribution de l'activité de la phosphatase acide entre le culot (hachures) et le surnageant (blanc) chez les témoins (T) et chez des plantes arrosées avec du PEG 600 (P₁ = 9 P₂ = 11 jours). AR = activité relative (% d'activité / % de protéines dans la fraction). Les chiffres sur les rectangles = % d'activité, ceux à la base = % de protéines dans la fraction.

Il y a une activation de l'enzyme dans les culots du SYNTHETIQUE au 9ème et au 11ème jour car, malgré la diminution du pourcentage des protéines dans cette Fraction, il y a une augmentation de l'activité enzymatique.

• Dans le culot du SOUNA₃, il y a d'abord une diminution de l'activité enzymatique au 9ème jour ; l'augmentation de celle-ci au 11ème, malgré la diminution du pourcentage des protéines dans cette fraction (le culot), suppose une activation de l'enzyme.

La diminution de la solubilisation de l'activité de l'enzyme, malgré la solubilisation des protéines, suppose une bonne protection de l'enzyme dans le cas du traitement au P.E.G. chez le SYNTHETIQUE, donc une assez bonne résistance des structures de cette plante au traitement osmotique. L'observation des plantes au cours du traitement ne montre pas de différences apparentes dans le comportement des mils. Néanmoins, la perte d'eau par les plantes semble plus importante chez le SOUNA₃ que chez le SYNTHETIQUE. L'augmentation d'activité de l'enzyme dans l'extrait brut et le surnageant plus importante chez le SOUNA₃ au fur et à mesure que le traitement se poursuit, et l'évolution de la solubilisation chez le SOUNA₃, semblent montrer que le SOUNA₃ est plus sensible au traitement P.E.G. que le SYNTHETIQUE, du moins dans nos conditions d'étude et à l'âge considéré.

Comme nous l'avons déjà signalé, le SOUNA₃ peut perdre beaucoup d'eau par évapotranspiration. Des mesures de perte d'eau par la plante pendant le manque d'eau (dans certaines de nos expériences) montrent également que la plante peut perdre de l'eau d'une façon plus importante que le SYNTHETIQUE, mais le SOUNA₃ dans son comportement réel supporte bien cette perte d'eau jusqu'à une certaine limite.

A. 2. 2. 1. 7. 3. - Examinons maintenant l'évolution de l'activité de la phosphatase acide avec le traitement au P.E.G. lorsque l'activité enzymatique est exprimée en fonction de la matière sèche - Tableau Vb.

Il y a dans tous les échantillons (sauf au culot du SOUNA₃ au 9ème jour) une augmentation d'activité de la phosphatase avec le traitement P.E.G.

- Dans l'extrait brut, l'augmentation d'activité est d'abord plus importante chez le SYNTHETIQUE (9ème jour) que chez le SOUNA₃ ; ensuite elle devient plus importante chez le SOUNA₃ au IIème jour. Dans le surnageant, l'augmentation d'activité enzymatique est d'abord égale chez les deux plantes au 9ème jour ; au IIème jour, celle-ci est plus importante chez le SOUNA₃ que chez le SYNTHETIQUE.

- Dans le culot, l'activité enzymatique augmente régulièrement chez le SYNTHETIQUE avec le traitement P.E.G., chez le SOUNA₃ après une diminution de celle-ci au 9ème jour, il y a une importante augmentation au IIème jour.

Si l'on observe la valeur du rapport teneur en protéine/matière sèche (tableau VI), on constate que celle-ci, après une légère diminution chez le SOUNA₃, se stabilise. Chez le SYNTHETIQUE, la valeur de ce rapport diminue jusqu'en fin de traitement, ce qui indique une diminution relative de la teneur en protéines de la plante. Dans l'augmentation de l'activité enzymatique observée chez le SYNTHETIQUE lorsque l'on exprime les résultats en fonction des protéines, il y a sans doute la diminution relative de la teneur en protéines, mais également une activation de l'enzyme, ce qui est confirmé par l'expression des résultats en fonction de la matière sèche. Chez le SOUNA₃, l'activation de l'enzyme semble moins importante vu la valeur du rapport teneur en protéines/matière sèche, l'augmentation de la protéine enzymatique peut intervenir de manière plus importante ici que dans le cas du SYNTHETIQUE.

TABLEAU V b -

Activité de la phosphatase acide (en μ moles de P.N.P. par mg de matière sèche par heure) dans l'extrait brut, le surnageant et le culot de tissus foliaires des mils SYNTHETIQUE 1-5-GAM et SOUNA₃ traités au P.E.G.600, comparée à celle chez les témoins.

| P L A N T E | Traitement au P.E.G. en nombre de jours | % d'eau P.S. | ACTIVITE DE L'ENZYME dans | | |
|--------------------------------|--|-----------------|------------------------------|------------|-------|
| | | | brut | surnageant | culot |
| MIL SYNTHETIQUE 1-5 -GAM | Témoin 0 | 281,68 | 0,37 | 0,36 | 0,027 |
| | 9 | 252,11 | 0,40 | 0,38 | 0,047 |
| | 11 | 240.13 | 0,48 | 0,40 | 0,06 |
| MIL SOUNA ₃ | Témoin 0 | 346,43 | 0,26 | 0,24 | 0,02 |
| | 9 | 263.37 | 0,27 | 0,26 | 0,008 |
| | 11 | 232 | 0,47 | 0,40 | 0,021 |

- TABLEAU VI -

Evolution de la valeur du rapport :
teneur en protéines/matière sèche dans la feuille des
mils (âgés de 80 jours) traités au PEG 600.

DOSAGE : PHOSPHATASE ACIDE

| | <i>TRAITEMENT au PEG 600</i> (en nombre de jours) | | |
|--------------------|--|------|------|
| | 0 | 9 | 11 |
| SOUNA ₃ | 0,16 | 0,15 | 0,15 |
| SYNTHETIQUE | 0,20 | 0,17 | 0,15 |

- TABLEAU VIII -

Evolution de la valeur du rapport :
teneur en protéines/matière sèche dans la feuille des mils
et sorghos (âgés de 75 jours) soumis à la sécheresse.

DOSAGE : PHOSPHATASE ALCALINE

| | <i>SECHERESSE</i> (en nombre de jours) | | |
|--------------------|---|------|------|
| | 0 | 6 | 9 |
| SOUNA ₃ | 0,58 | 0,34 | 0,28 |
| SYNTHETIQUE | 0,51 | 0,32 | 0,28 |
| SORGHO NK 120 | 0,30 | 0,23 | |
| SORGHO NK 108 | 0,23 | 0,23 | |

A.2.2.2. - DOSAGE QUALITATIF DE LA PHOSPHATASE ACIDE
= ELECTROPHORESE.

A.2.2.2.1. - Introduction

Un gramme de tissu foliaire du mil SYNTHETIQUE 1-5-GAM âgé de deux mois est homogénéisé avec 3 ml de tampon TRIS-HCl = 0,1 M, pH : 7,2 sans mannitol. Après filtration à travers 4 couches de gaze, l'échantillon est centrifugé à 31 890 g pendant 20 mn. On prélève 1 ml du surnageant, auquel on ajoute 1 goutte de bleu de bromophénol à 0,05 % (dans du tampon véronal) et 200 g de saccharose. Après homogénéisation, 0,1 ml de cet ensemble est déposé sur chaque gel de polyacrylamide (à 10 % d'acrylamide), et on débute la migration par une tension de 80 V pour les 8 tubes, ce qui donne 0,75 mA par tube. Après une période de stabilisation de 5 à 10 mn, on porte la tension à 180 V, ce qui donne 1,74 mA par tube de gel. Dans ces conditions, le front, de migration (bleu de bromophénol) atteint la fin du parcours après 4h30mn en moyenne. Les gels sont alors sortis des tubes par une aiguille et une seringue contenant de l'eau distillée. L'incubation se fait à 37°C dans un tampon acétate 0,1M, pH : 5,2, contenant de l'a et β naphtylphosphate de sodium. La révélation, à l'obscurité dans du O.Dianisidine ($Zn Cl_2$) en solution dans du tampon véronal, dure entre 2h et 12h. La coloration ces bandes est violette.

A.2.2.2.2. - Effet du TRITON X 100 sur la solubilisation de l'activité de la phosphatase

Dans les conditions hydriques normales, nos méthodes d'études nous donnent le même nombre de bandes chez le SCUNA₃ et le SYNTHETIQUE ; il existe quelques différences sur lesquelles nous reviendrons dans le prochain paragraphe.

Nous avons testé l'effet du TRITON X 130 sur la solubilisation de l'activité de la phosphatase sur les mils.

Tenant compte des résultats obtenus lors du dosage quantitatif de la phosphatase chez le SYNTHETIQUE, où nous avons obtenu une stimulation de l'enzyme et une augmentation de la solubilisation, nous avons utilisé le détergent à une concentration de 0.15 %.

Sur chaque mil il y a eu une extraction en présence de TRITON, l'autre sans le Triton.

Les résultats (figure 10a) montrent que chez le $SOUNA_3$ il n'y a pas de modification au point de vue nombre de bandes. Néanmoins, il semble y avoir un léger glissement de la bande 1 vers le front de migration avec le traitement Triton.

Chez le SYNTHETIQUE, il y a dans certains cas (4/6), apparition d'une cinquième bande X. Cette irrégularité d'apparition de la bande X peut faire penser au fait qu'elle [l'enzyme correspondante] est juste absorbée sur les parois sédimentables des structures cellulaires. On peut aussi penser que l'enzyme soit inhibée dans certains cas et activée dans d'autres, ou que la structure cellulaire dans laquelle elle se trouve résiste à l'action du triton dans certains cas et pas dans d'autres.

L'apparition de cette nouvelle bande avec le traitement TRITON dans le surnageant chez le SYNTHETIQUE, peut expliquer en partie l'augmentation d'activité constatée (dans le surnageant) avec le dosage quantitatif.

A. 2. 2. 2. 3. - *Stabilité de l'activité de La phosphatase avec La sécheresse* (figure 10b).

Nous avons également mené des expériences pour voir s'il y avait un changement dans le nombre, l'importance de la coloration des bandes et la disposition de celles-ci lors d'un déficit hydrique induit chez les plantes par suspension d'arrosage.

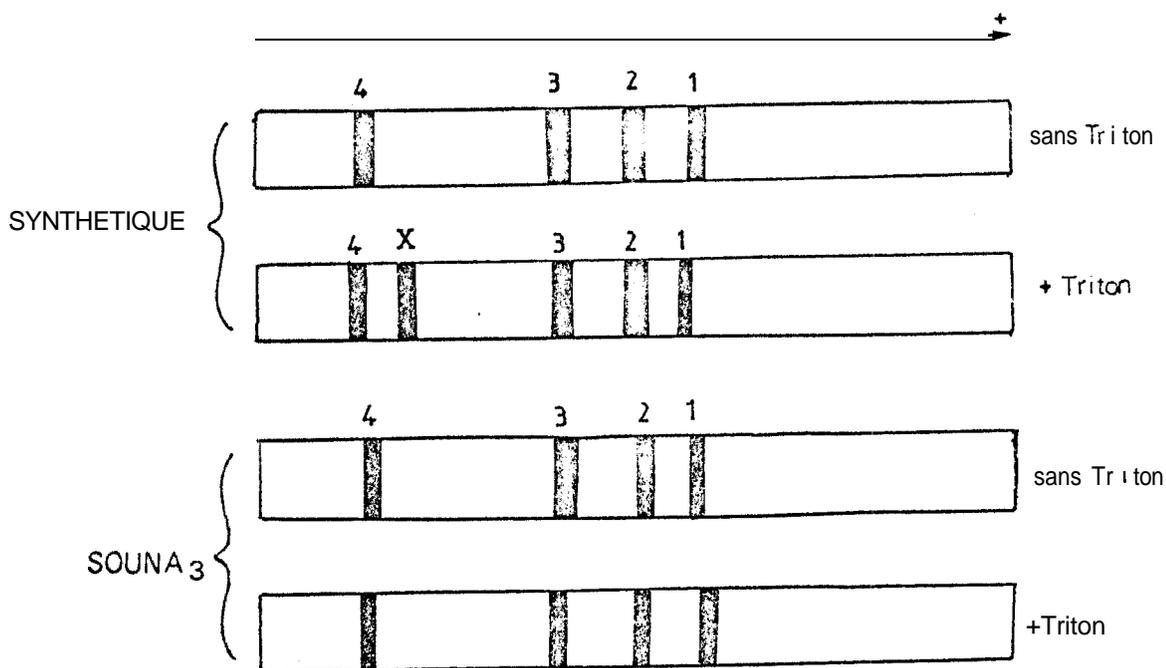


FIG 10a Traitements avec et sans Tritonx100 chez les deux variétés de mil

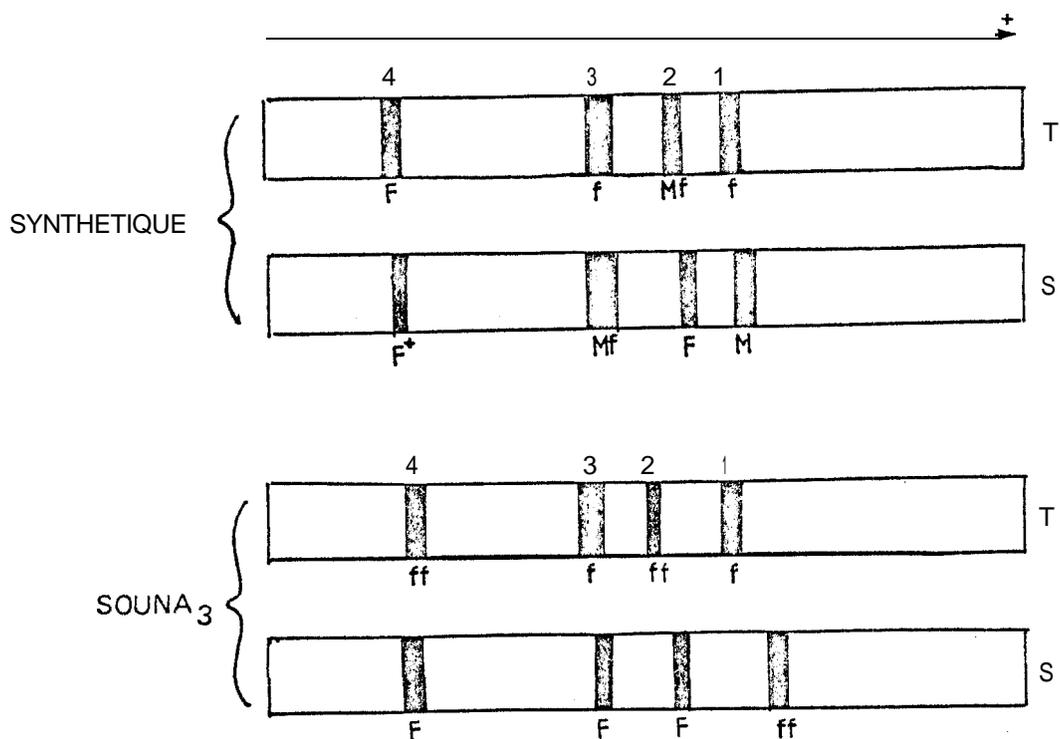


FIG. 10b : Disposition des bandes de Phosphatase acide chez des plantes soumises a la secheresse (S) et chez les te moins (T).

F^+ , F, M, Mf, f, ff : intensite de la coloration .

($F^+ > F > M > Mf > f > ff$)

Chez les plantes témoins, il y a des différences quant à la coloration des bandes chez le SOUNA₃ et chez le SYNTHÉTIQUE.

Les bandes 2 et 4 sont plus colorées chez le SYNTHÉTIQUE que chez le SOUNA₃, ce qui confirme la différence entre les phosphatases observées avec l'étude du km ; pour les bandes 1 et 3, la coloration est la même.

En ce qui concerne le traitement sécheresse : au bout d'une semaine de suspension d'arrosage (pourcentage d'eau par rapport au poids sec = 185,07 pour le SOUNA₃ et 177,27 pour le SYNTHÉTIQUE), il ne semble pas y avoir de différence au point de vue nombre de bandes par rapport au nombre chez les témoins.

Il y a un léger glissement des bandes 1 et 2 vers le front de migration avec la sécheresse chez les deux plantes, La bande 1 qui avait esquissé le mouvement avec le traitement TRITON chez le SOUNA₃, est celle qui se déplace le plus.

Il y a également, dans l'ensemble, une atigmentation de coloration des bandes avec la sécheresse sauf chez la bande 1 du SOUNA₃, qui semble plutôt perdre de la coloration. Chez le même SOUNA₃, les autres bandes augmentent de coloration surtout les bandes 2 et 4, en particulier lorsqu'on se réfère à la coloration de ces bandes chez le témoin.

Chez le SYNTHÉTIQUE, la bande 3, en, plus du fait qu'elle augmente de coloration, est plus étendue ici qu'elle ne l'est chez le témoin. De toutes les bandes, la bande 4 ou SYNTHÉTIQUE est la plus colorée.

La bande X, qui était apparue lors du traitement au TRITON X 100, n'apparaît pas ici. Plusieurs raisons peuvent expliquer cela : si elle se trouvait dans une structure cellu-

laire, celle-ci n'a pas été détruite par cette durée de sécheresse. L'enzyme X peut également être inactivée. Si elle était adsorbée, le traitement n'a pas été suffisant pour la détacher de la structure cellulaire sédimentable sur laquelle elle était fixée.

Le comportement des protéines en général, des enzymes en particulier, varie différemment avec le déficit hydrique. Ainsi STUTTE et TODD (1969) étudient sur ces gels de polyacrylamide les variations qualitatives et quantitatives de certaines enzymes chez le blé. Ils trouvent que l'activité du Glucose-B-Phosphate déshydrogénase et celle de l'enzyme succinique déshydrogénase varient quantitativement [coloration des bandes], alors que celle de l'enzyme malique-déshydrogénase varie aussi bien quantitativement que qualitativement [nombre de bandes] avec le déficit hydrique [une semaine de dessiccation].

Au terme de cette étude, nous pouvons conclure et dire que le changement notable qui intervient au bout d'une semaine de sécheresse est surtout quantitatif chez les deux variétés de mil étudiées. Nous nous proposons, dans nos travaux futurs, d'augmenter la durée de la sécheresse et de suivre les changements qui interviendront, en ce qui concerne le nombre, la couleur et la disposition des bandes.

A. 2. 3. - Phosphatase alcaline : variation de l'activité de l'enzyme avec la sécheresse.

A. 2. 3. 7. - INTRODUCTION

Nous avons, comme dans le cas de l'étude sur la phosphatase acide, évalué la variation de l'activité de la phosphatase alcaline chez le $SOUNA_3$, le SYNTHETIQUE 1-5-GAM, et les sorghos NK 108 et NK 120 soumis à la sécheresse par suspension d'arrosage. L'activité enzymatique de la même façon, a été étudiée dans l'extrait brut, le surnageant et le culot. Ici, nous avons travaillé sur des plantes âgées de 75 jours.

A.Z.3.2. - LE TABLEAU VIIIa REND COMPTE DES RESULTATS LORSQUE L'ACTIVITE ENZYMATIQUE EST EVALUEE EN FONCTION DES PROTEINES.

Il y a, en général, une augmentation de l'activité de l'enzyme avec la sécheresse dans les échantillons étudiés par rapport à l'activité enzymatique chez les témoins.

- Dans l'extrait brut, l'augmentation d'activité est plus importante chez les sorghos que chez les mils. Chez les mils, le SOUNA₃ montre une augmentation d'activité dans l'extrait brut plus importante que celle chez le SYNTHETIQUE au 6ème jour, le phénomène se renverse au 9ème jour. De tous les échantillons, l'augmentation d'activité dans l'extrait brut est plus importante chez le NK 108.

- Dans le surnageant, au 6ème jour, l'augmentation d'activité est toujours plus importante chez les sorghos (NK 120 en particulier) que chez les mils, où le SYNTHETIQUE montre une augmentation d'activité plus importante que le SOUNA₃ ; ceci se maintient également au 9ème jour.

- Dans le culot, au 6ème jour, c'est le SOUNA₃ qui détient le record d'augmentation suivi des deux sorghos, le SYNTHETIQUE vient en dernier lieu. Au 9ème jour de sécheresse il y a une baisse d'activité dans le culot du SOUNA₃ par rapport au 6ème jour, et une augmentation dans celui du SYNTHETIQUE.

Ici comme dans le cas de la phosphatase acide, les sorghos montrent une activité enzymatique plus élevée que les mils. L'augmentation d'activité de la phosphatase alcaline avec la sécheresse est également plus importante chez les sorghos que chez les mils. Chez les mils, le SOUNA₃ semble montrer une augmentation L'activité plus importante dans l'extrait brut au 6ème jour de sécheresse que le SYNTHETIQUE, ce qui n'était pas le cas avec la phosphatase acide. L'aug-

- TABLEAU VII a -

Evolution de l'activité de la phosphatase alcaline (μ moles de P.N.P. par mg de protéine par heure) dans l'extrait brut, le surnageant et le culot de feuilles, des mils. SYNTHETIQUE et SOUNA₃, et des SORGHOS NK 120 et 108 soumis à la sécheresse.

| P L A N T E | SECHERESSE en nombre de jours | % d'eau - E s. - - - - | ACTIVITE DE L'ENZYME dans | | |
|---------------------------------------|-------------------------------------|---------------------------|------------------------------|------------|-------|
| | | | brut | surnageant | culot |
| MIL SYNTHETIQUE 1-5-GAM | Témoin 0 | 559,63 | 0,48 | 0,42 | 0,33 |
| | 6 | 306,50 | 0,83 | 0,78 | 0,48 |
| | 9 | 252,83 | 0,86 | 0,91 | 1,33 |
| MIL SOUNA ₃ | Témoin 0 | 511,10 | 0,24 | 0,23 | 0,28 |
| | 6 | 309,83 | 0,66 | 0,56 | 1,60 |
| | 9 | 254,60 | 0,68 | 0,67 | 0,82 |
| SORGHO NK 120 | Témoin 0 | 329,77 | 1,27 | 1,26 | 1,07 |
| | 6 | 209,38 | 1,91 | 2 | 1,6 |
| SORGHO NK 108 | Témoin 0 | 264,21 | 1,45 | 1,56 | 0,92 |
| | 6 | 208,68 | 2,4 | 2,08 | 1,42 |

mentation d'activité de la phosphatase alcaline avec la sécheresse semble plus régulière que celle de la phosphatase acide où il y avait une diminution d'activité en début de traitement (surtout chez le mil SOUNA₃) dans la phase soluble.

Cette enzyme semble donc moins protégée que la phosphatase acide, et serait plus sensible au déficit hydrique, du moins chez les plantes que nous avons étudiées et dans nos conditions d'études.

Nous suivrons l'évolution de l'activité de l'enzyme dans le culot et le surnageant en posant : activité de la phosphatase alcaline dans le culot + celle dans le surnageant = activité totale (100 % d'activité) et quantité de protéines dans le culot + celle dans le surnageant = quantité totale (100 %). Dans ces conditions, les figures 11a et 11b rendent compte de la solubilisation de l'activité de l'enzyme et de la teneur en protéines avec la sécheresse (Pour la légende, voir figure 71.

• Chez les sorghos, il y a une faible solubilisation des protéines avec la sécheresse, surtout chez le NK 120. Il y a également une faible diminution de la solubilisation de l'activité de la phosphatase alcaline avec la sécheresse. La sécheresse semble plutôt stimuler l'enzyme dans le culot.

• Chez les mils, le SOUNA₃ montre une solubilisation des protéines au 6ème jour de la sécheresse, il y a ensuite une légère augmentation du pourcentage des protéines dans le culot au 5ème jour, mais le taux reste toujours inférieur à celui chez le témoin. Le mil SYNTHETIQUE montre d'abord une augmentation du taux de protéines dans le culot au 5ème jour, suivie d'une solubilisation de ces protéines au 6ème jour. La solubilisation de l'activité de l'enzyme augmente au 6ème jour chez le SYNTHETIQUE et diminue au 5ème jour. Chez le SOUNA₃, il y a d'abord une diminution de la solubilisation

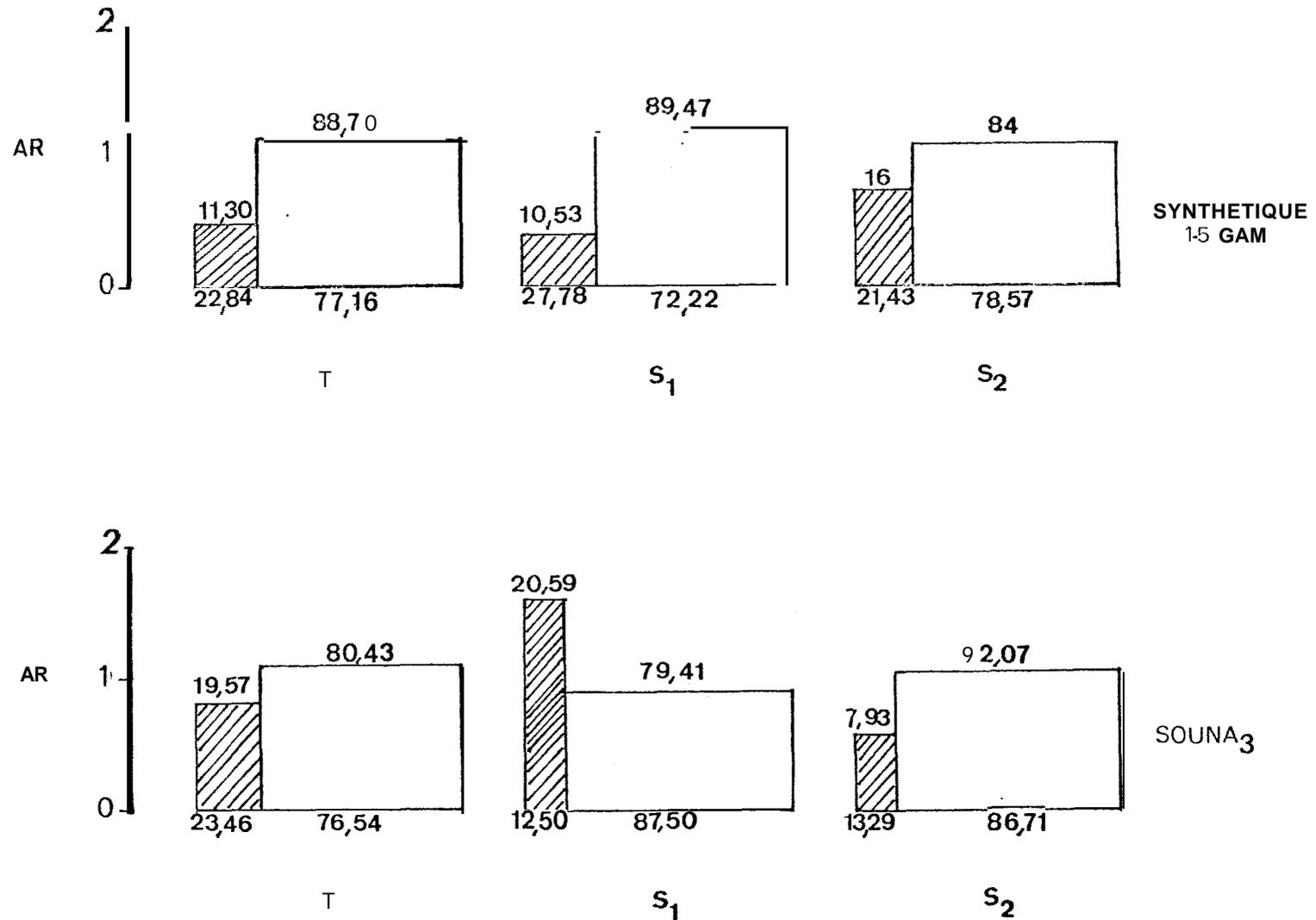


FIG.11a : Distribution de l'activité de la phosphatase alcaline entre le culot(hachures) et le surnageant(blanc) chez les témoins(T) et des plantes soumises à la sécheresse (S₁= 6, S₂= 9 jours). AR= activité relative (%d'activité / %de protéines dans la fraction). les chiffres sur les rectangles= % d'activité dans la fraction et ceux à la base= % de protéines .

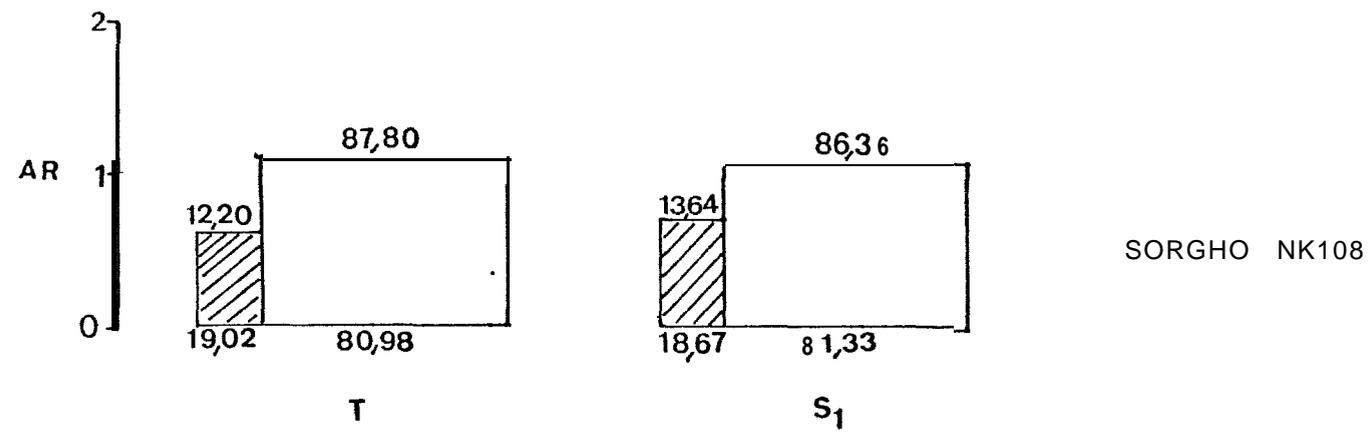
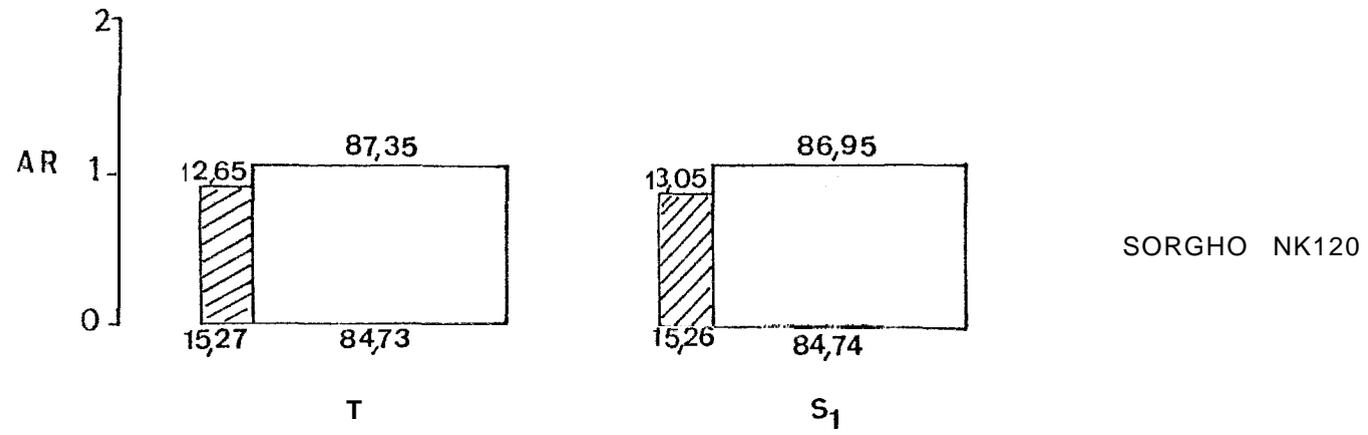


FIG.11b : ACTIVITE DE LA PHOSPHATASE ALCALINE DANS LE CULOT ET LE SURNAGEANT
(Même légende que la Fig 11a)

de l'activité de l'enzyme au 6ème jour, suivie d'une augmentation au 8ème jour. Comme dans le cas de la phosphatase acide il y a une importante activité de la phosphatase alcaline dans le culot du SOUNA₃ au 6ème jour, malgré une diminution du pourcentage de protéines dans cette fraction. Ce qui suppose une activation de l'enzyme dans le culot au 6ème jour de sécheresse. Au 9ème jour, l'activité de la phosphatase alcaline diminue dans le culot du SOUNA₃, malgré la légère augmentation du pourcentage de protéines dans la fraction, ce qui suppose une inactivation de l'enzyme, ou que la protéine enzymatique ne soit pas suffisamment représentée dans l'augmentation. Ces protéines, les deux phénomènes pouvant intervenir en même temps.

• Chez le SYNTHETIQUE, l'augmentation du pourcentage de protéines dans le culot au 6ème jour de sécheresse n'est pas suivie d'une augmentation de l'activité de l'enzyme dans la fraction ; ici également des problèmes d'inhibition ou de manque d'augmentation suffisante de la protéine enzymatique peuvent expliquer ce phénomène. Au 8ème jour, toujours dans le culot du SYNTHETIQUE, malgré la diminution relative des protéines, il y a une augmentation de l'activité de la phosphatase alcaline dans la fraction, ce qui peut s'expliquer par une activation de l'enzyme par la sécheresse.

Bien que cette expérience ait une durée, au point de vue sécheresse, moins importante que celle avec la phosphatase acide, on peut constater qu'au point de vue solubilisation, les sorghos semblent solubiliser la phosphatase acide plus que la phosphatase alcaline avec la sécheresse. La solubilisation de la phosphatase alcaline chez les mils semble plus importante avec la sécheresse que celle de la phosphatase acide, particulièrement chez le SOUNA₃.

A.2.3.3. - EXAMINONS MAINTENANT L'EVOLUTION DE CEJJE ACTIVITE ENZYMATIQUE LORSQUE LES RESULTATS SONT EXPRIMES EN FONCTION DE LA MATIERE SECHE. Tableau VIIb.

Il y a une augmentation d'activité enzymatique dans tous les échantillons avec la sécheresse par rapport à celle

- TABLEAU VII b -

Evolution de l'activité de la phosphatase alcaline (en μ moles de P.N.P. par mg de matière sèche par heure) dans l'extrait brut, le surnageant et le culot de feuilles du SYNTHETIQUE, du SOUNA₃ et des SORGHOS NK 120 et 108 soumis à la sécheresse

| P L A N T E | SECHRESSE en nombre de jours | % d'eau / P.S. | ACTIVITE DE L'ENZYME dans | | |
|---------------------------------------|------------------------------------|-------------------|------------------------------|------------|-------|
| | | | brut | surnageant | culot |
| MIL SYNTHETIQUE 1-5-GAM | Témoin 0 | 559,63 | 0,25 | 0,18 | 0,023 |
| | 6 | 306,50 | 0,27 | 0,20 | 0,024 |
| | 9 | 252,83 | 0,28 | 0,21 | 0,04 |
| MIL SOUNA ₃ | Témoin 0 | 511,10 | 0,14 | 0,11 | 0,027 |
| | 6 | 309,83 | 0,22 | 0,16 | 0,04 |
| | 9 | 254,60 | 0,20 | 0,16 | 0,014 |
| SORGHO NK 120 | Témoin 0 | 329,77 | 0,38 | 0,34 | 0,047 |
| | 6 | 209,38 | 0,45 | 0,37 | 0,055 |
| SORGHO NK 108 | Témoin 0 | 264,21 | 0,34 | 0,33 | 0,045 |
| | 6 | 208,68 | 0,56 | 0,43 | 0,069 |

chez le témoin, sauf dans le culot du SOUNA₃ au 9ème jour.

- Chez le SYNTHETIQUE, l'activité enzymatique augmente dans l'extrait brut, le surnageant et le culot au fur et à mesure que la sécheresse dure, et l'augmentation a les mêmes valeurs dans l'extrait brut et le surnageant au 6ème jour ; ce même rapport se maintient au 9ème jour de sécheresse.

- Chez le SOUNA₃, après une augmentation d'activité dans l'extrait brut au 6ème jour de sécheresse, celle-ci diminue au 9ème jour, mais reste supérieure à celle du témoin. Dans le surnageant, après l'augmentation d'activité au 6ème jour, il y a une stabilisation jusqu'au 8ème jour. Dans le culot, l'activité enzymatique après une augmentation au 6ème jour, diminue au 8ème jour, et la valeur est même inférieure à celle chez le témoin.

- Chez les sorghos, l'augmentation d'activité enzymatique est plus importante dans tous les échantillons (extrait brut, surnageant et culot) chez le NK 108 que chez le NK 120.

L'observation de l'évolution de la valeur du rapport teneur en protéines/matière sèche (tableau VIII) montre qu'il y a une diminution de celle-ci avec la sécheresse chez les mils et le sorgho NK 120 ; chez le sorgho NK 108, la valeur de ce rapport se stabilise.

- Chez le sorgho NK 108, l'augmentation d'activité peut donc s'expliquer par une activation de l'enzyme avec la sécheresse, et peut-être une légère augmentation de la protéine enzymatique.

- Chez les autres plantes (mils et sorgho NK 120) l'augmentation d'activité enzymatique dans l'expression des résultats par rapport aux protéines peut donc s'expliquer par l'activation de l'enzyme avec la sécheresse et par la diminution

tion relative de la teneur en protéines, mais l'augmentation d'activité enzymatique avec l'expression des résultats en fonction de la matière sèche montre qu'il y a quand même une activation de l'enzyme avec la sécheresse. Cette activation serait importante chez les mils, en particulier chez le SOUNA₃ si on observe l'évolution de la valeur du rapport teneur en protéines/matière sèche.

A.3. - INVERTASE ACIDE (ou β fructofuranosiaase = EC 3.2.126)

A.3.1. - Etude de l'activité de l'invertase en fonction du pH.

Nous avons étudié, dans des surnageants d'extraits foliaires prélevés sur le mil SYNTHETIQUE, l'activité de l'invertase sur une gamme de pH allant de 3 à 8,6. Les résultats [figure 12] montrent que l'activité de l'enzyme s'annule à partir de pH : 6,6, ce qui indique l'absence d'une invertase alcaline. La figure montre également que l'activité de l'invertase acide à 30°C est maximale au pH : 4,8, ce qui nous a amené à doser l'activité de l'enzyme à ce pH dans toutes nos expériences.

A.3.2. - Etude de l'activité de l'invertase acide en fonction du temps d'incubation

Nous avons effectué les expériences à partir de surnageants d'extraits foliaires prélevés des mils SOUNA₃ et SYNTHETIQUE. L'observation des résultats (figure 131) indique qu'il n'y a pas d'inactivation de l'enzyme et que pendant un temps d'incubation assez long (3h et demi au moins) l'activité de celle-ci reste proportionnelle au temps d'incubation.

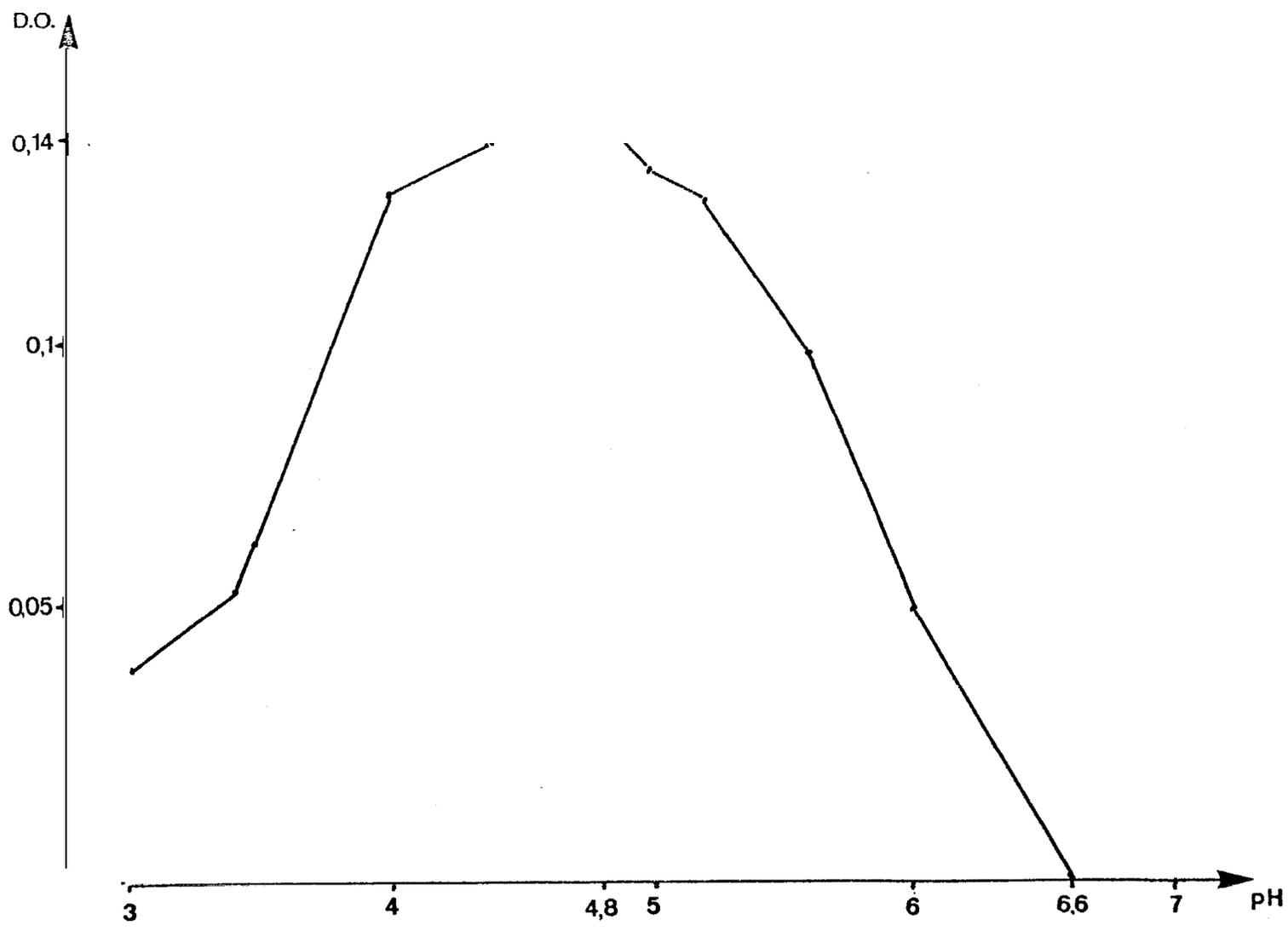


FIG.12 : ACTIVITE DE L'INVERTASE (en densite optique =DO) EN FONCTION DU pH CHEZ LE SYNTHETIQUE 15.GAM

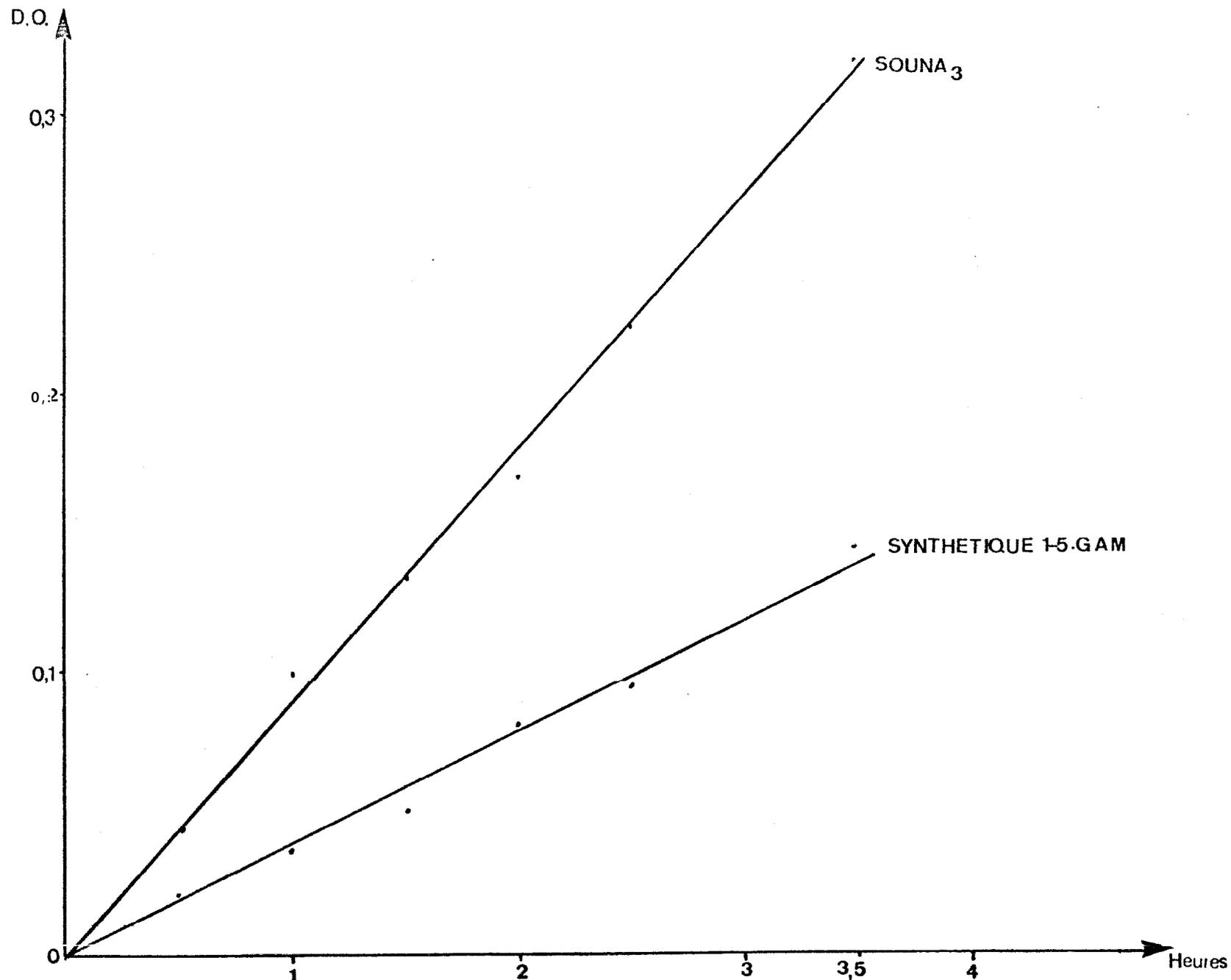


FIG.13 : ACTIVITE DE L'INVERTASE ACIDE (en densite optique) EN FONCTION DU TEMPS D'INCUBATION CHEZ LES MILS

A.3.3. • Evolution de l'activité de l'enzyme avec 1 a sécheresse

A. 3. 3. 1. • CONCERNANT L'ETUDE DE L'ACTIVITE DE
L'ENZYME SUR LA FEUILLE, NOUS AVONS TRAVAILLE SUR LES MILS
SOUNA₃ ET SYNTHETIQUE 1-5-GAM ET L'ARACHIDE 59-127.

a) Le tableau IXa et la figure 14 rendent compte des résultats
lorsque l'activité enzymatique est exprimée en fonction des
des protéines.

• Si l'on observe le tableau IXa, on constate qu'il y a, en général, une augmentation de l'activité de l'enzyme dans l'extrait brut et le surnageant des plantes soumises à la sécheresse par rapport à l'activité chez les témoins.

• Dans l'extrait brut du SOUNA₃, il y a une très légère diminution d'activité au 3ème jour de sécheresse, suivie d'une augmentation au 5ème jour, la tendance est ensuite à la stabilisation après une diminution d'activité au 8ème jour par rapport au 5ème jour de sécheresse ; mais l'activité enzymatique reste toujours supérieure à celle chez le témoin. Dans le surnageant du SOUNA₃, après une diminution d'activité au 3ème jour de sécheresse, l'activité enzymatique augmente avec la sécheresse jusqu'en fin de traitement.

• Chez le SYNTHETIQUE, dans l'extrait, brut après une augmentation au 3ème jour de sécheresse, il y a une forte tendance à une stabilisation de l'activité enzymatique, en fin de traitement il y a une baisse d'activité de l'enzyme et la valeur de l'activité enzymatique est inférieurs à celle du témoin. Dans le surnageant, après une diminution d'activité au 3ème jour, celle-ci augmente avec la sécheresse jusqu'au 10ème jour, et diminue enfin au 14ème jour.

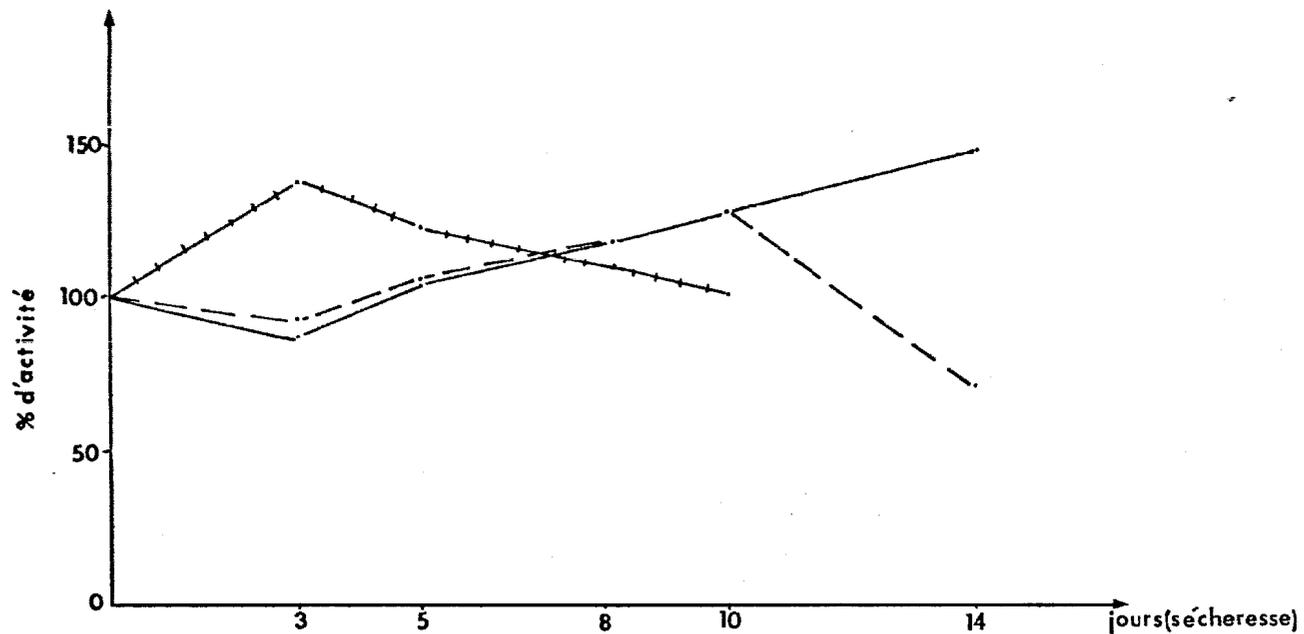
• Chez l'arachide, dans l'extrait brut, après une augmentation d'activité au 3ème jour de sécheresse, il y a une

- TABLEAU IX a -

Evolution de l'activité de l'invertase acide (en mg de glucose par mg de protéine par heure) dans la feuille des mils SOUNA₃ et SYNTHETIQUE 1-5-GAM, et dans celle de l'ARACHIDE 59-12'7 soumis à la sécheresse.

| P L A N T E | SECHERESSE en nombre de jours | % d'eau P.S. | ACTIVITE DE L'ENZYME dans | |
|-------------------------------|-------------------------------------|-----------------|------------------------------|-----------|
| | | | brut | surageant |
| MIL SOUNA ₃ | 0 | 349,20 | 0,33 | 0,5 |
| | 3 | 309,33 | 0,32 | 0,43 |
| | 5 | 291,60 | 0,40 | 0,52 |
| | 8 | 269,97 | 0,35 | 0,59 |
| | 10 | 240,11 | 0,35 | 0,64 |
| | 14 | 120,53 | 0,36 | 0,7 |
| MIL SYNTHETIQUE 1-5-GAM | 0 | 351,06 | 0,34 | 0,6 |
| | 3 | 335,04 | 0,40 | 0,56 |
| | 5 | 292,40 | 0,40 | 0,64 |
| | 8 | 280,02 | 0,39 | 0,66 |
| | 10 | 269,65 | 0,38 | 0,72 |
| | 14 | 151,60 | 0,30 | 0,43 |
| ARACHIDE 59-127 | 0 | 331,40 | 0,30 | 0,47 |
| | 3 | 327 | 0,40 | 0,65 |
| | 5 | 321,58 | 0,40 | 0,58 |
| | 8 | 165,05 | 0,37 | 0,52 |
| | 10 | 34,74 | 0,35 | 0,48 |

FEUILLE



TIGE

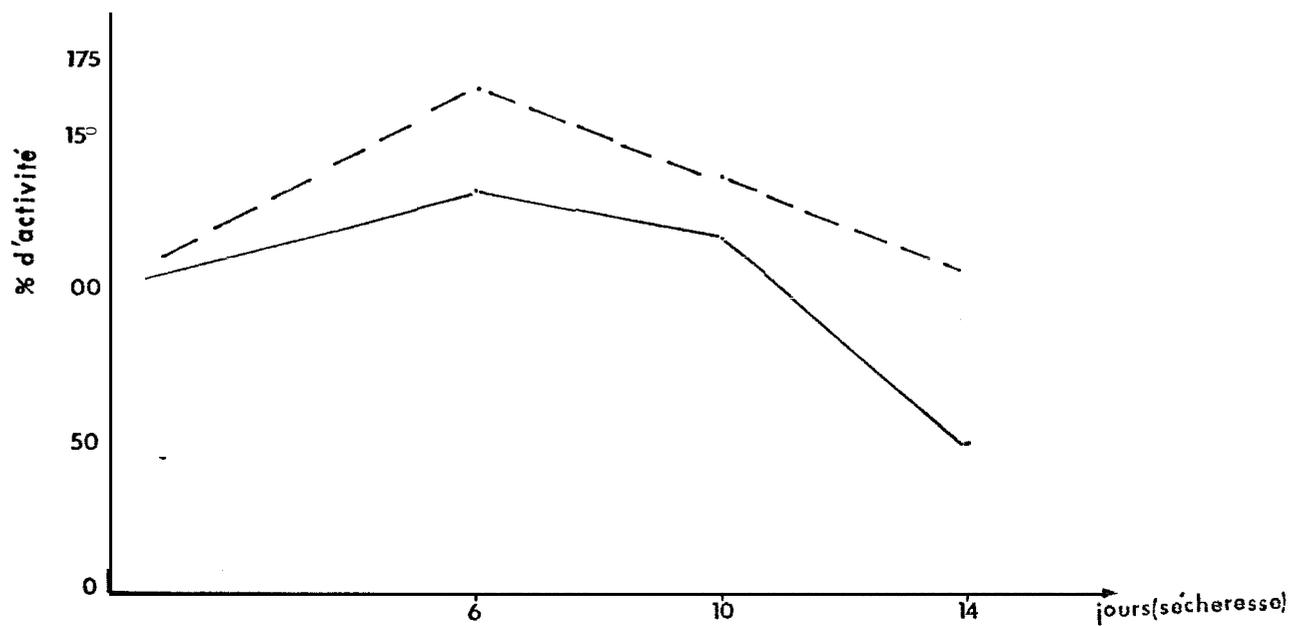


FIG.14 : EVOLUTION DE L'ACTIVITE DE L'INVERTASE ACIDE (*surnageant*) CHEZ DES PLANTES SOUMISES A LA SECHERESSE

— souna₃

- - - synthétique

+ + + + arachide

tendance à une stabilisation d'abord, suivie d'une diminution vers la fin du traitement ; l'activité enzymatique reste quand même supérieure à celle du témoin. Dans le surnageant, après une forte augmentation d'activité enzymatique au 3ème jour de sécheresse, celle-ci diminue jusqu'à la fin du traitement, mais reste supérieure à celle chez le témoin.

En résumé, dans l'extrait brut, après une augmentation d'activité intervenant à des périodes différentes selon les plantes (5ème jour pour le SOUNA₃ et 3ème pour le SYNTHETIQUE et l'arachide) il y a une tendance à une stabilisation de l'activité enzymatique, bien qu'une diminution d'activité puisse intervenir lorsque le déficit hydrique se fait de plus en plus sentir. Dans le surnageant, après une diminution d'activité dans les premiers jours de sécheresse chez les mils, il y a une augmentation régulière de celle-ci jusqu'en fin de traitement pour le SOUNA₃ ; pour le SYNTHETIQUE, il y a une diminution d'activité de l'enzyme au 14ème jour. Dans le surnageant de l'arachide, après une brutale augmentation d'activité en début de sécheresse (3ème jour), la baisse d'activité s'installe jusqu'en fin de traitement, bien que l'activité enzymatique chez la plante traitée soit supérieure à celle chez le témoin.

b) Si l'activité enzymatique de l'invertase acide est exprimée par rapport à la matière sèche (Tableau IXb), il y a chez le SOUNA₃, après une légère diminution d'activité enzymatique dans l'extrait brut en début de traitement (3ème jour) une stabilisation de celle-ci. Dans le surnageant, il y a également une stabilisation de l'activité de l'enzyme. Dans les deux cas (extrait brut et surnageant) il y a une diminution d'activité en fin de traitement (14ème jour).

* Chez le SYNTHETIQUE, il y a une augmentation d'activité enzymatique dans l'extrait brut. Il existe également une

- TABLEAU IX b -

Evolution de l'activité de l'invertase acide (en mg de glucose par mg de matière sèche par heure) dans la feuille des mils SOUNA₃ et SYNTHETIQUE et dans celle de l'ARACHIDE 59-127 soumis à la sécheresse.

| P L A N T E | SECHERESSE on nombre de jours | % d'eau P.S. | ACTIVITE DE L'ENZYME dans | |
|-------------------------------|-------------------------------------|-----------------|------------------------------|-----------|
| | | | brut | surageant |
| MIL SOUNA ₃ | 0 | 349,20 | 0,035 | 0,03 |
| | 3 | 309,33 | 0,03 | 0,03 |
| | 5 | 291,60 | 0,03 | 0,03 |
| | 8 | 269,97 | 0,03 | 0,03 |
| | 10 | 240,11 | 0,03 | 0,03 |
| | 14 | 120,53 | 0,25 | 0,02 |
| MIL SYNTHETIQUE 1-5-GAM | 0 | 351,06 | 0,04 | 0,035 |
| | 3 | 335,04 | 0,04 | 0,034 |
| | 5 | 292,40 | 0,04 | 0,035 |
| | 8 | 280,02 | 0,05 | 0,035 |
| | 10 | 269,65 | 0,05 | 0,035 |
| | 14 | 151,60 | 0,03 | 0,030 |
| ARACHIDE 59- 127 | 0 | 331,40 | 0,067 | 0,061 |
| | 3 | 327 | 0,08 | 0,07 |
| | 5 | 321,58 | 0,08 | 0,065 |
| | 8 | 165,05 | 0,06 | 0,05 |
| | 10 | 34,74 | 0,035 | 0,033 |

tendance à une stabilisation après augmentation d'activité. Dans le surnageant, l'activité de l'enzyme tend plutôt à se stabiliser. Ici aussi il y a une diminution d'activité dans les deux échantillons (extrait brut et surnageant) en fin de traitement.

- Chez l'arachide, il y a une augmentation d'activité enzymatique avec la sécheresse dans l'extrait brut ; la diminution d'activité commence à intervenir au 8ème jour de sécheresse ; au 10ème jour, l'activité de l'invertase y est très faible. Dans le surnageant, après une augmentation d'activité au 3ème jour de sécheresse et une faible diminution au 5ème jour, l'activité de l'enzyme devient inférieure à celle du témoin aux 8ème et 10ème jours de sécheresse.

- Si l'on observe l'évolution de la valeur du rapport teneur en protéines/matière sèche (tableau XI, on constate que celle-ci reste constante chez le SOUNA₃ jusqu'au 8ème jour de sécheresse et ensuite diminue jusqu'en fin de traitement. Chez le SYNTHETIQUE, cette valeur augmente légèrement et se maintient au même niveau jusqu'au 10ème jour de sécheresse, elle diminue au 14ème jour. Chez l'arachide, il y a une diminution de la valeur de ce rapport jusqu'en fin de traitement.

- Chez l'arachide, il y a une activation de l'enzyme avec la sécheresse jusqu'à une certaine limite, ce qui justifie l'augmentation d'activité enzymatique quel que soit le mode d'expression des résultats, bien que la quantité de protéines semble relativement diminuer avec le manque d'eau.

- Chez le SYNTHETIQUE, il peut y avoir une augmentation relative de la protéine enzymatique et une activation de l'enzyme.

Chez le SOUNA₃, la teneur en protéines semble se maintenir par rapport à la quantité de matière sèche, ceci peut

- TABLEAU X -

Evolution de la valeur du rapport :
teneur en protéines/matière sèche dans la feuille des mils et
de l'arachide (âgés de 90 jours) soumis à la sécheresse.

DOSAGE : INVERTASE ACIDE, AMYLASES ACIDE ET ALCALINE

| | SECHERESSE | | | | | |
|------------------------|----------------------|------|------|------|------|------|
| | (en nombre de jours) | | | | | |
| | 0 | 3 | 5 | 8 | 10 | 14 |
| SOUNA ₃ | 0,12 | 0,12 | 0,12 | 0,12 | 0,11 | 0,07 |
| SYNTHETIQUE 1-5-GAM | 0,11 | 0,12 | 0,11 | 0,12 | 0,12 | 0,02 |
| ARACHIDE 59-127 | 0,22 | 0,20 | 0,19 | 0,16 | 0,10 | - |

justifier la stabilité enzymatique observée surtout dans le surnageant [expression des résultats par rapport à la matière sèche). L'augmentation de l'activité enzymatique, surtout dans le surnageant (expression des résultats en fonction des protéines) peut s'expliquer par une augmentation des protéines solubles (dans le surnageant), la quantité de protéines totales gardant le même rapport avec la matière sèche ; ce qui suppose une diminution des protéines dans les structures sédimentables de la cellule et une éventuelle activation de l'enzyme dans ces structures.

A. 3. 3. 2 - AU NIVEAU DE LA TIGE, NOUS AVONS TRAVAILLÉ
SUR VEUX VARIÉTÉS DE MIL.

a) Lorsque l'activité enzymatique est exprimée en fonction des protéines (tableau XIa), il y a une augmentation d'activité de l'invertase par rapport aux témoins dans les surnageants des deux mils (jusqu'au 10^{ème} jour pour le SOUNA₃). Dans l'extrait brut du SOUNA₃ également, il y a une augmentation d'activité de l'enzyme avec la sécheresse par rapport à l'activité dans le témoin jusqu'au 10^{ème} jour. Dans l'extrait brut du SYNTHETIQUE, l'augmentation d'activité existe seulement au 6^{ème} jour de sécheresse. Dans tous les cas il y a une diminution d'activité de l'enzyme (sauf dans le surnageant du SYNTHETIQUE) au 14^{ème} jour de sécheresse, et l'activité y est plus faible que celle chez le témoin.

b) Par rapport à la matière sèche (tableau XIb), l'activité de l'invertase après une diminution au 6^{ème} jour de traitement dans l'extrait brut et le surnageant du SYNTHETIQUE, se stabilise jusqu'au 10^{ème} jour ; au 14^{ème} jour l'activité enzymatique chez la plante soumise à la sécheresse est déprimée.

Chez le SOUNA₃, après une légère augmentation d'activité dans le surnageant et l'extrait brut, la tendance est à la diminution d'activité enzymatique. La valeur du rapport

- TABLEAU XI a -

Evolution de l'activité de l'invertase acide (en mg de glucose par mg de protéine par heure) dans la tige des mils $SOUNA_3$ et SYNTHETIQUE 1-5-GAM soumis à la sécheresse.

| MIL SYNTHETIQUE 1-5-GAM | ACTIVITE DE L'INVERTASE ACIDE dans brut | | ACTIVITE DE L'INVERTASE ACIDE dans brut | | % d'eau P.S. | SECHERESSE en nombre de jours |
|----------------------------|--|------|--|------|-----------------|-------------------------------------|
| | suragcant | 0,36 | suragcant | 0,42 | | |
| | 1 062,79 | 0,37 | 843,39 | 0,42 | | Témoin 0 |
| | 47,42 | 0,46 | 458,65 | 0,55 | | 6 |
| | 440,54 | 0,35 | 301,60 | 0,54 | | 10 |
| | 316,66 | 0,37 | 263,63 | 0,30 | | 14 |

teneur en protéines/matière sèche (tableau IV) diminue d'abord avec le déficit hydrique, il y a une augmentation de cette valeur au 14ème jour.

- Cette diminution importante de la valeur du rapport au 6ème jour peut expliquer la diminution d'activité observée ce jour chez la SYNTHETIQUE (expression des résultats par rapport à la matière sèche), il pourrait en effet y avoir une diminution de teneur en protéines enzymatiques. La valeur de ce rapport peut également expliquer la stabilisation de l'activité enzymatique au 10ème jour (expression des résultats en fonction de la matière sèche), mais la diminution d'activité au 14ème jour est certainement due à la destruction de l'enzyme car il y a une augmentation relative des protéines.

- Chez le SOUNA3, il y a une activation de l'enzyme au 6ème jour, car malgré la diminution de la valeur du rapport protéine/matière sèche par rapport au témoin, il y a une augmentation de l'activité enzymatique. L'évolution de l'activité enzymatique au 10ème jour peut s'expliquer par l'évolution du rapport teneur en protéines/matière sèche, mais au 14ème jour il y a certainement une destruction de la protéine enzymatique. L'augmentation de l'activité enzymatique lors de l'expression des résultats en fonction de la teneur en protéines peut s'expliquer par une perte des protéines, en particulier par les structures sédimentables. En fin de traitement, il doit y avoir une destruction de l'enzyme (sauf dans le surnageant du SYNTHETIQUE] assez importante, surtout chez le SOUNA₃.

*

* *

Une augmentation d'activité de l'invertase acide avec la sécheresse a été obtenue par beaucoup d'auteurs. Ainsi, VASSILIEV et VASSILIEV (1936) trouvent chez cinq variétés de blé une augmentation d'activité de l'invertase avec la sécheresse. De son côté, VIEIRA DA SILVA (1970) sur le coton-

nier obtient une augmentation d'activité de l'invertase acide avec la sécheresse. Des résultats allant dans le même sens ont été obtenus par ADJHOSSOU (1977) sur le palmier à huile.

Par contre, SISAKYAN (1937) et TODD et YOO (1964), chez le blé, obtiennent plutôt une baisse d'activité de l'invertase.

Une augmentation d'activité de certaines enzymes hydrolytiques, comme la phosphatase, la ribonucléase, les protéases et les lipases peut être préjudiciable au métabolisme de la plante, comme nous l'avons vu. Cela ne semble pas être le cas d'enzymes comme l'invertase et l'amylase.

Concernant l'invertase, beaucoup d'auteurs font ressortir le rôle bénéfique qu'aurait une activité élevée de celle-ci pour le métabolisme de la plante et pour sa vie. Ainsi, l'invertase acide participe à la circulation du saccharose entre les tissus conducteurs et les lieux d'accumulation des glucides, elle jouerait ainsi par ce biais, un rôle important dans la formation et l'utilisation des glucides de réserves (SACHER et al, 1963). En outre, VIEIRA DA SILVA (1966), sur le cotonnier montre que le potentiel osmotique de la sève dépendait de la quantité de glucides solubles dans les tissus foliaires. L'invertase augmentant la quantité des glucides solubles, jouerait donc un rôle important dans l'élévation du potentiel osmotique de la plante. Par ailleurs, HATCH et GLASZIOU (1963) et GAYLER et GLASZIOU (1972) ont observé une corrélation positive entre l'activité de l'invertase et le taux de croissance des entre-nœuds de la canne à sucre. L'invertase joue également un rôle important dans des conditions de manque d'eau, par le fait qu'elle augmente les glucides solubles. Ainsi SANTARIUS (1973) démontre sur des chloroplastes de *Spinacia oleracea* le rôle protecteur des glucides solubles à l'égard des thylakoïdes pendant la perte d'eau par les chloroplastes. La protection est fonction de la concentration des glucides et de leur poids moléculaire, et croît avec ces

deux données. Par ailleurs, HEBER et SANTARIUS (1976) indiquent que dans des conditions de perte d'eau par la plante, les glucides protégeaient les structures membranaires de deux façons. D'abord par leur concentration ils diminuent celle des substances toxiques pour la membrane (protection non spécifique). D'autre part ils stabilisent la membrane (protection spécifique).

Ces résultats font ressortir que l'invertase, par son action hydrolysante, peut jouer un rôle important dans la vie de la plante en conditions hydriques normales et déficitaires.

A.4. - LES AMYLASES (α et β)

A.4.1. - Etude de l'activité enzymatique en fonction du pH.

L'étude a été réalisée dans les surnageants d'extraits foliaires du mil SYNTHETIQUE sur une gamme de pH s'étendant de 3 à 8,6 [figure 15]. Nous avons mis en évidence deux amylases : l'amylase acide ou β amylase et l'amylase alcaline ou α amylase. L'activité de l'amylase acide est maximale au pH 4,8, et celle de l'amylase alcaline entre les pH:7 et 7,4. Nous avons choisi en ce qui nous concerne, de doser l'activité de l'amylase acide au pH:4,8 et celle de l'amylase alcaline au pH:7.

A.4.2. - Evolution de l'activité enzymatique avec la sécheresse.

A.4.2.1. - FEUILLE

a) Examinons d'abord ce qui se passe au niveau de la feuille lorsque l'activité enzymatique est exprimée en fonction de la quantité de protéines.

- AMYLASE ACIDE : Tableau XIIa et figure 16.

- Dans l'extrait brut, il y a une augmentation d'activité

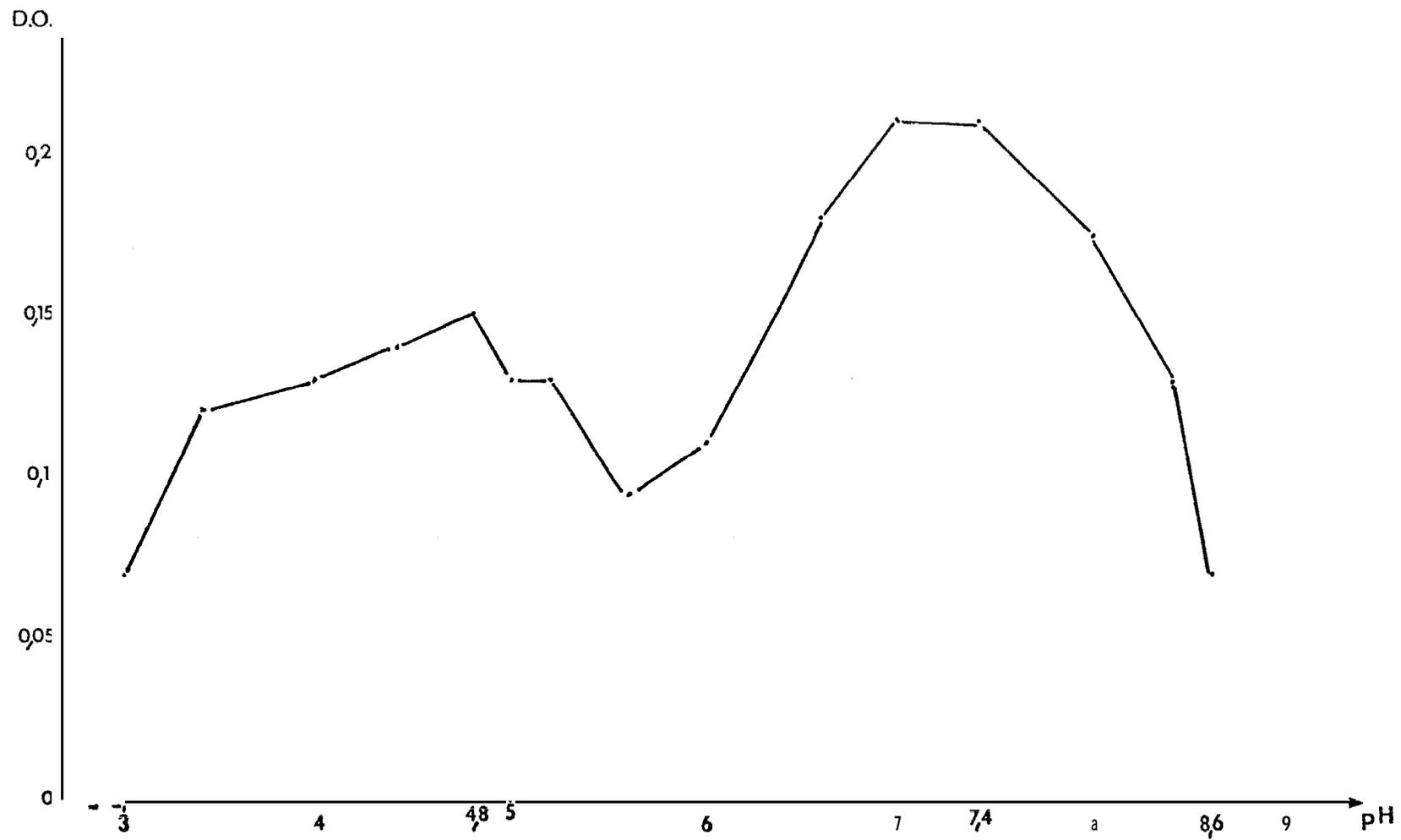


FIG. 15 : ACTIVITE DE L'AMYLASE (en densite optique = D.O.) EN FONCTION DU pH
CHEZ LE SYNTHETIQUE 15.GAM

- TABLEAU XII a -

Evolution de l'activité de l'amylase acide (en mg de glucose par mg de protéine par heure) dans la feuille des mils SOUNA₃ et SYNTHETIQUE 1-5-GAM et dans celle de l'arachide 59-127 soumis à la sécheresse.

| P L A N T E | SECHERESSE en nombre de jours | % d'eau P.S. | ACTIVITE DE L'ENZYME dans | |
|-------------------------------|-------------------------------------|-----------------|------------------------------|-----------|
| | | | brut | surageant |
| MIL SOUNA ₃ | 0 | 349,20 | 0,48 | 0,8 |
| | 3 | 309,33 | 0,60 | 0,7 |
| | 5 | 291,60 | 0,64 | 0,9 |
| | 8 | 269,97 | 0,44 | 0,86 |
| | 10 | 240,11 | 0,44 | 0 |
| | 14 | 120,53 | 0 | 0 |
| MIL SYNTHETIQUE 1-5-GAM | 0 | 351,06 | 0,66 | 1,2 |
| | 3 | 335,04 | 0,67 | 1,18 |
| | 5 | 292,40 | 0,7 | 0,95 |
| | 8 | 280,02 | 0,53 | 0,86 |
| | 10 | 269,65 | 0,45 | 0 |
| | 14 | 151,60 | 0,44 | 0 |
| ARACHIDE 59-127 | 0 | 331,40 | 0,38 | 0,25 |
| | 3 | 327 | 0,36 | 0,42 |
| | 5 | 321,58 | 0,48 | 0,86 |
| | 8 | 165,05 | 0,30 | 0 |
| | 10 | 34,74 | 0,08 | 0 |

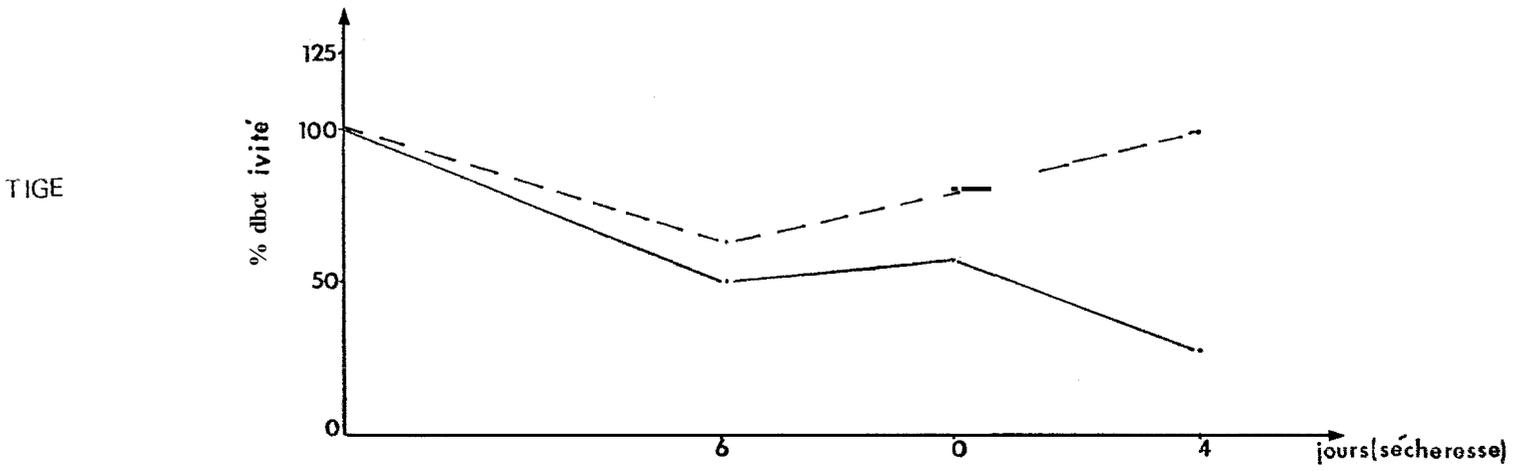
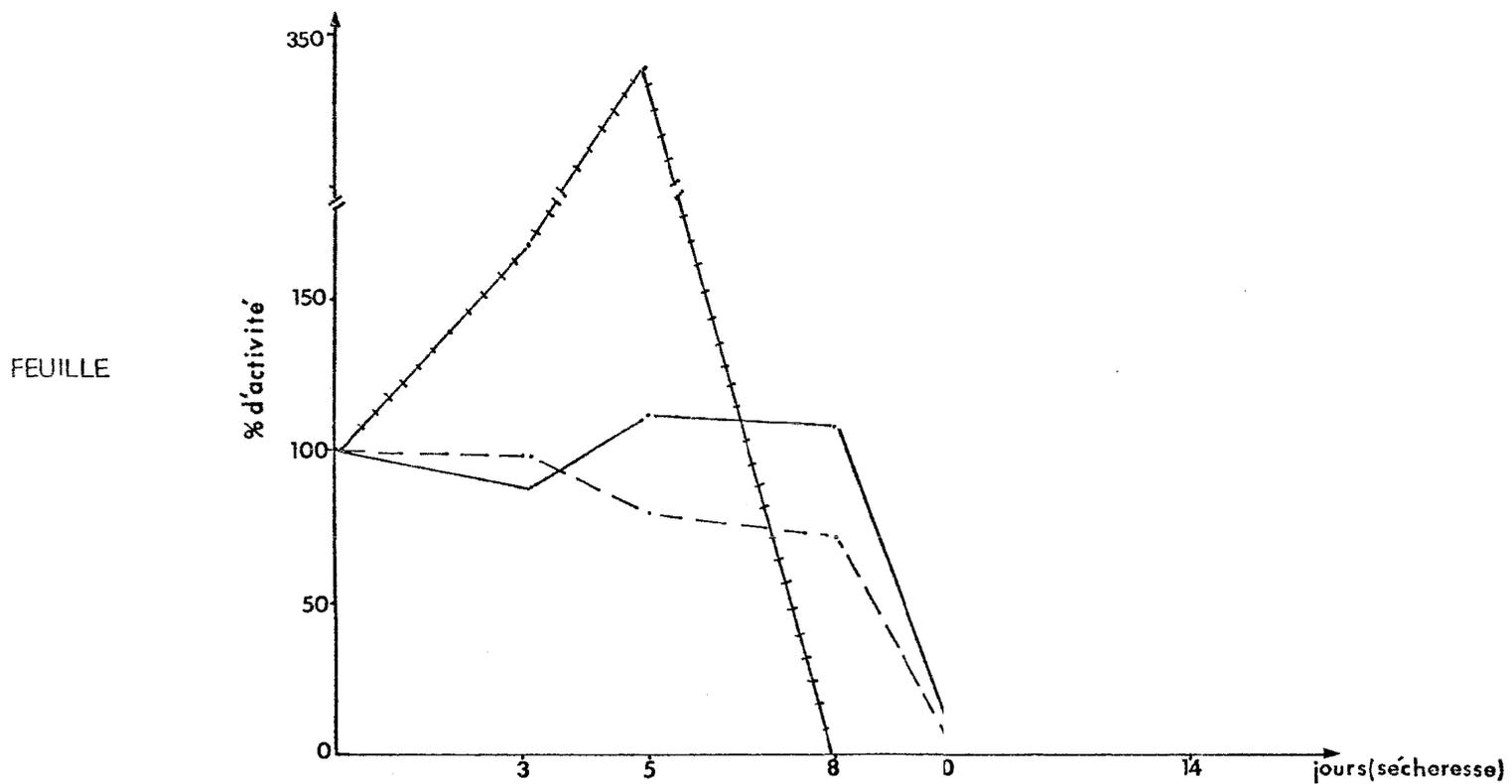


FIG.16 : EVOLUTION DE L'ACTIVITE DE LA β AMYLASE (*surnageant*) CHEZ DES PLANTES SOUMISES A LA SECHERESSE
 — SOUNA₃ - - - synthetique ++++ arachide

de l'enzyme chez les mils jusqu'au 5ème jour de sécheresse, ensuite l'activité diminue jusqu'à la fin du traitement et s'annule même chez le SOUNA₃. Chez l'arachide, après une diminution d'activité au 3ème jour de sécheresse, il y a une augmentation au 5ème jour, ensuite la baisse d'activité s'installe jusqu'en fin de traitement.

- Dans le surnageant, l'activité de l'enzyme diminue chez le SYNTHETIQUE avec le déficit hydrique. Chez le SOUNA₃, après une diminution d'activité de l'enzyme au 3ème jour, il y a une augmentation au 5ème jour de sécheresse ; au 5ème jour, il y a une diminution d'activité de l'enzyme par rapport au 5ème jour, bien que la valeur de celle-ci reste supérieure à celle du témoin. Aux 10ème et 14ème jours, l'activité enzymatique est nulle. Chez l'arachide, et toujours dans le surnageant, l'activité enzymatique augmente jusqu'au 5ème jour de sécheresse, puis s'annule aux 8ème et 10ème jours.

- Chez les mils, l'augmentation d'activité avec la sécheresse dans l'extrait est plus importante chez le SOUNA₃ que chez le SYNTHETIQUE. Chez l'arachide, il y a d'abord une diminution d'activité au 3ème jour de sécheresse, et l'augmentation d'activité se maintient très peu dans le temps par rapport à celle chez les mils. Dans le surnageant, une forte augmentation d'activité intervient chez l'arachide (surtout au 5ème jour de sécheresse) ; chez les mils, seul le SOUNA₃ montre une augmentation d'activité par rapport au témoin (au 5ème jour surtout).

La diminution d'activité observée en fin de traitement, et même une annulation (surtout dans le surnageant) peuvent être dues à une destruction de l'enzyme au fur et à mesure que la sécheresse s'installe.

- AMYLASE ALCALINE - Tableau XIIIa et figure 17 *

- Dans l'extrait brut des mils il y a, en général, une diminution d'activité de l'enzyme avec la sécheresse. Au 5ème j.

- TABLEAU XIII a -

Evolution de l'activité de l'amylase alcaline (en mg de glucose par mg de protéine par heure) dans la feuille des mils SOUNA₃ et SYNTHETIQUE 1-5-GAM, et dans celle de l'ARACHIDE 59-127 soumis à la sécheresse.

| P L A N T E | SECHERESSE en nombre de jours | % d'eau P.S. | ACTIVITE DE L'ENZYME | |
|-------------------------------|-------------------------------------|-----------------|----------------------|-----------|
| | | | brut | surageant |
| MIL SOUNA ₃ | 0 | 349,20 | 0,68 | 1,0 |
| | 3 | 309,33 | 0,50 | 0,6 |
| | 5 | 291,60 | 0,7 | 0,7 |
| | 8 | 269,97 | 0,6 | 0,76 |
| | 10 | 240,11 | 0,4 | 0,55 |
| | 14 | 120,53 | 0 | 0 |
| MIL SYNTHETIQUE 1-5-GAM | 0 | 351,06 | 0,69 | 1,2 |
| | 3 | 335,04 | 0,61 | 1,18 |
| | 5 | 292,40 | 0,50 | 0,9 |
| | 8 | 280,02 | 0,50 | 1,12 |
| | 10 | 269,65 | 0,40 | 1,10 |
| | 14 | 151,60 | 0,35 | 1,02 |
| ARACHIDE 59-127 | 0 | 331,40 | 0,23 | 0,34 |
| | 3 | 327 | 0,24 | 0,29 |
| | 5 | 321,58 | 0,30 | 0,57 |
| | 8 | 165,05 | 0,46 | 0 |
| | 10 | 34,74 | 0,26 | 0 |

- TABLEAU XIII b -

Evolution de l'activité de l'amylase alcaline (en mg de glucose par mg de matière sèche par heure) dans la feuille des mils SOUNA₃ et SYNTHETIQUE 1-5-GAM, et dans celle de P'ARACHIDE 59-127 soumis à la sécheresse.

| P L A N T E | SECHERESSE en nombre de jours | % d'eau P.S. | ACTIVITE DE L'ENZYME dans | |
|-------------------------------|-------------------------------------|-----------------|------------------------------|-----------|
| | | | brut | surageant |
| MIL SOUNA ₃ | 0 | 349,20 | 0,08 | 0,07 |
| | 3 | 309,33 | 0,05 | 0,04 |
| | 5 | 291,60 | 0,06 | 0,05 |
| | 8 | 269,97 | 0,05 | 0,04 |
| | 10 | 240,11 | 0,04 | 0,03 |
| | 14 | 120,53 | 0 | 0 |
| MIL SYNTHETIQUE 1-5-GAM | 0 | 351,06 | 0,08 | 0,08 |
| | 3 | 335,04 | 0,07 | 0,07 |
| | 5 | 292,40 | 0,06 | 0,06 |
| | 8 | 280,02 | 0,05 | 0,06 |
| | 10 | 269,65 | 0,05 | 0,07 |
| | 14 | 151,60 | 0,04 | 0,06 |
| ARACHIDE 59-127 | 0 | 331,40 | 0,05 | 0,04 |
| | 3 | 327 | 0,045 | 0,035 |
| | 5 | 321,58 | 0,06 | 0,06 |
| | 8 | 165,05 | 0,07 | 0,05 |
| | 10 | 34,74 | 0,01 | 0,01 |

l'activité s'annule ensuite. Chez le SYNTHETIQUE, l'activité se stabilise jusqu'au 5ème jour, puis diminue au 8ème jour avant de s'annuler ensuite. Chez l'arachide, la stabilisation de l'activité de l'enzyme se maintient seulement jusqu'au 3ème jour de sécheresse, l'activité diminue ensuite avant de s'annuler.

- AMYLASE ALCALINE - Tableau XIIIb -

• Chez les mils il y a, en général, diminution d'activité enzymatique avec la sécheresse dans l'extrait brut et le surnageant, cette diminution est plus importante chez le SOUNA₃ que chez le SYNTHETIQUE. Chez l'arachide, après une diminution d'activité au 3ème jour de sécheresse, il y a une augmentation de celle-ci par rapport au témoin dans l'extrait brut et le surnageant jusqu'au 8ème jour ; il y a ensuite une diminution de l'activité enzymatique . Donc, par rapport à la matière sèche, l'augmentation d'activité de l'amylase alcaline se retrouve plutôt chez l'arachide, chez les mils la tendance est à une diminution d'activité enzymatique avec la sécheresse.

A.4.2.2. - TIGE

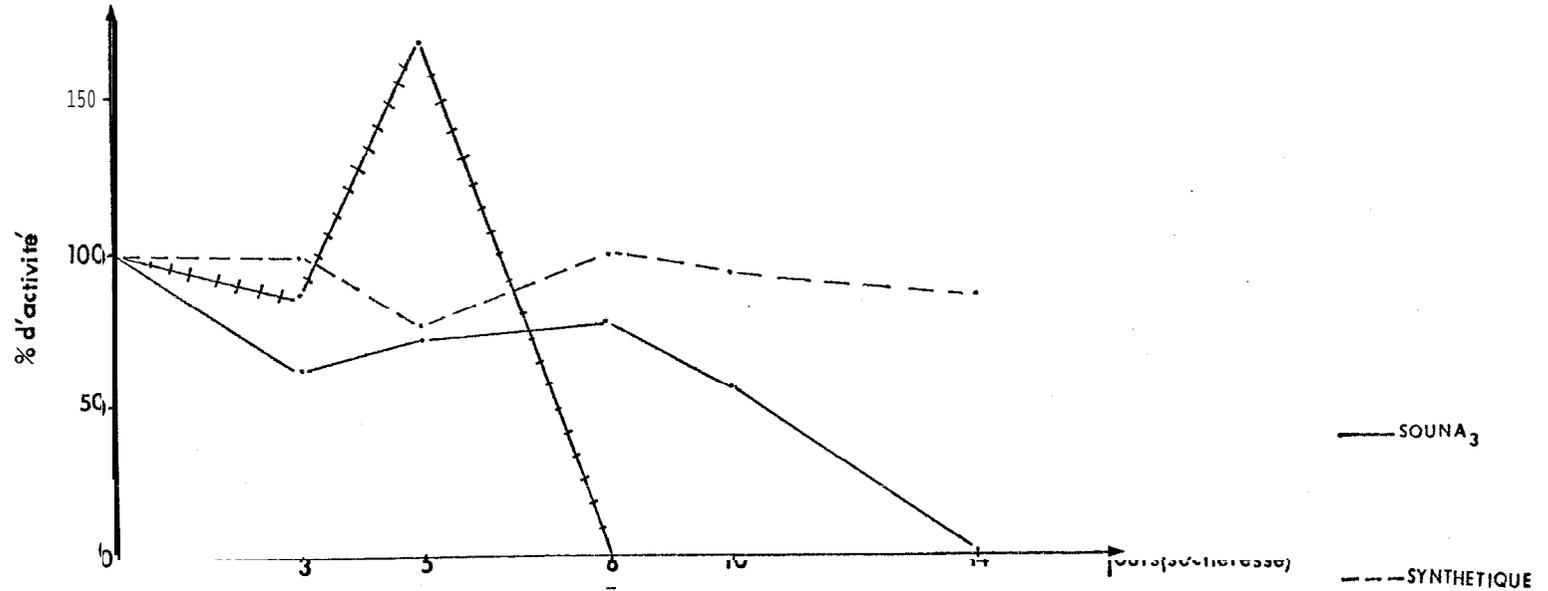
a) Examinons maintenant l'évolution des activités des amylases dans la tige, d'abord par rapport à la quantité de protéines

• AMYLASE ACIDE - Tableau XIVa, -Figure 16 -

• Chez le SOUNA₃, il y a une diminution d'activité enzymatique avec la sécheresse dans l'extrait brut et le surnageant.

• Chez le SYNTHETIQUE, il y a d'abord une légère diminution d'activité dans l'extrait brut au 6ème jour, suivie d'une augmentation au 10ème jour ; au 14ème jour l'activité enzymatique reste toujours supérieure à celle du témoin, bien qu'il y ait une diminution par rapport au 10ème jour. Dans le surnageant, après une diminution d'activité enzymatique au 6ème jour par rapport au témoin, la tendance est à une aug-

FEUILLE



TIGE

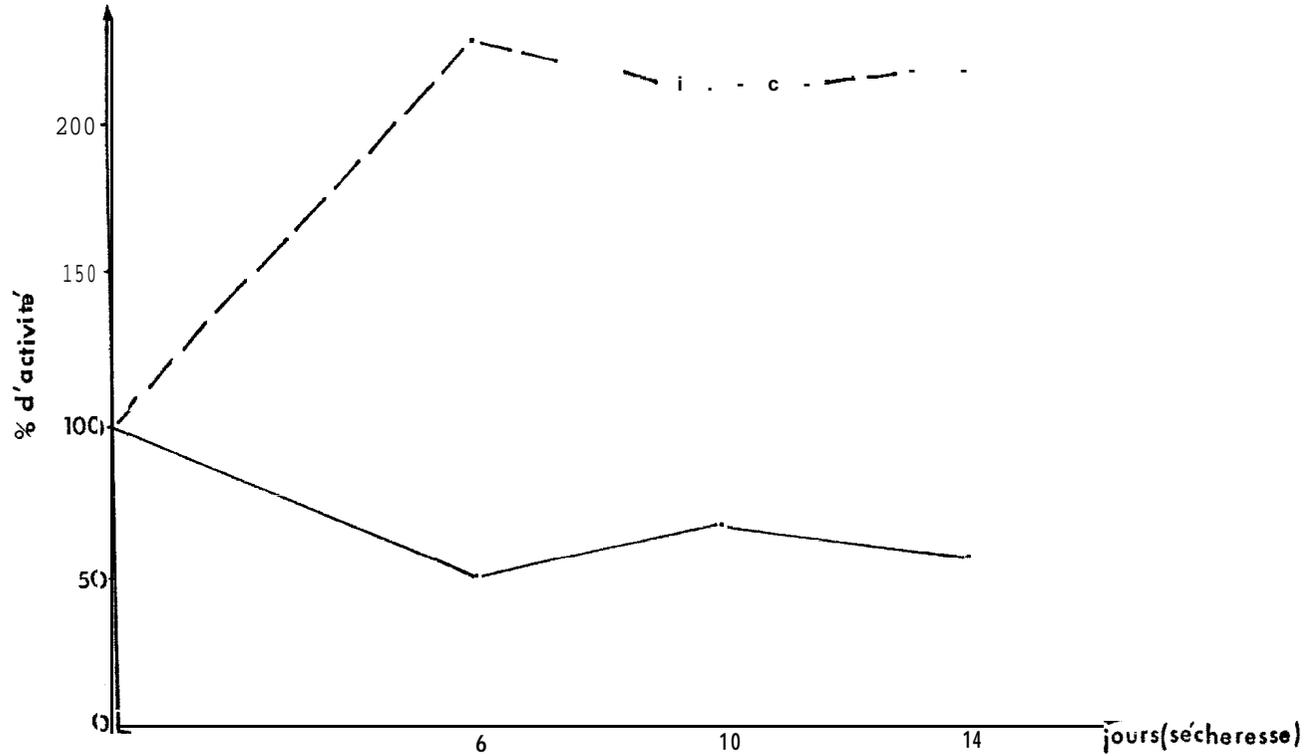


FIG.17: EVOLUTION DE L'ACTIVITE DE L' α AMYLASE (*surnageant*) CHEZ DES PLANTES SOUMISES A LA SECHERESSE

- TABLEAU XIV a -

Evolution de l'activité de l'amylase acide (en mg de glucose par mg de protéine par heure)
dans la tige des mils SOUNA₃ et SYNTHETIQUE 1-5-GAM soumis à la sécheresse.

| SECHERESSE en nombre de jours | MIL SOUNA ₃ | | | MIL SYNTHETIQUE 1-5-GAM | | |
|-------------------------------------|------------------------|---|-----------|---|-----------|----------------------|
| | % d'eau — P.S. | ACTIVITE DE L' AMYLASE ACIDE dans | | ACTIVITE DE L' AMYLASE ACIDE dans | | % d'eau — P.S. |
| | | brut | surageant | brut | surageant | |
| Témoin 0 | 843,39 | 1,00 | 1,00 | 0,34 | 0,50 | 1 062,79 |
| 6 | 458,65 | 0,60 | 0,50 | 0,33 | 0,32 | 471,42 |
| 10 | 301,60 | 0,54 | 0,58 | 0,48 | 0,40 | 440,54 |
| 14 | 263,63 | 0,19 | 0,28 | 0,42 | 0,50 | 316,66 |

- TABLEAU XV a -

Evolution de l'activité de l'amylase alcaline (en mg de glucose par mg de protéine par heure)
dans la tige de mils SOUNA₃ et SYNTHETIQUE 1-5-GM soumis à la sécheresse.

| SECHERESSE en nombre de jours | MIL SOUNA ₃ | | | MIL SYNTHETIQUE 1-5-GAM | | |
|-------------------------------------|------------------------|---|-----------|---|-----------|-------------------|
| | % d'eau / P.S. | ACTIVITE DE L'AMYLASE ALCALINE dans | | ACTIVITE DE L'AMYLASE ALCALINE dans | | % d'eau / P.S. |
| | | brut | surageant | brut | surageant | |
| Témoin 0 | 843,39 | 0,64 | 1,20 | 1,00 | 0,40 | 1 062,79 |
| 6 | 458,65 | 0,60 | 0,60 | 0,70 | 0,90 | 471,42 |
| 10 | 301,60 | 0,50 | 0,80 | 0,60 | 0,84 | 440,54 |
| 14 | 263,63 | 0,34 | 0,56 | 0,60 | 0,87 | 316,66 |

mentation d'activité avec la sécheresse, et au 14ème jour l'activité enzymatique chez la plante soumise à la sécheresse égale celle chez le témoin.

• AMYLASE ALCALINE • Tableau XVa et figure 17 •

• Chez le $SOUNA_3$, l'activité enzymatique diminue avec la sécheresse, surtout dans le surnageant.

• Chez le SYNTHETIQUE, dans l'extrait brut il y a une diminution d'activité par rapport au témoin, suivie d'une stabilisation. Dans le surnageant par contre, il y a une augmentation d'activité enzymatique par rapport au témoin, et jusqu'à la fin du traitement l'activité de l'enzyme chez la plante soumise à la sécheresse reste supérieure à celle chez le témoin.

Donc dans la tige, les amylases ne semblent pas augmenter d'activité chez le $SOUNA_3$; chez le SYNTHETIQUE, l'amylase acide augmente d'activité dans l'extrait brut ; avec l'amylase alcaline cette augmentation se trouve plutôt dans le surnageant. Les amylases, lors du déficit hydrique, seraient très inactivées ou détruites assez tôt chez le $SOUNA_3$; chez le SYNTHETIQUE une des amylases au moins augmenterait d'activité et serait activée par le déficit hydrique dans la phase soluble, ou au niveau des structures sédimentables de la cellule ou dans les deux.

b) Maintenant examinons ce qui se passe lorsque l'activité enzymatique est exprimée en fonction de la matière sèche.

• AMYLASE ACIDE • Tableau XIVb •

• Chez le $SOUNA_3$, après une diminution d'activité enzymatique au 6ème jour, il y a une stabilisation de l'activité jusqu'au 10ème jour ; au 14ème jour de sécheresse, l'activité est très faible dans l'extrait brut et le surnageant.

- TABLEAU XIV b -

Evolution de l'activité de l'amylase acide (en mg de glucose par mg de matière sèche par heure)
dans la tige des mils SOUNA₃ et SYNTHETIQUE 1-5-GAM soumis à la sécheresse.

| SECHERESSE en nombre de jours | MIL SOUNA ₃ | | | MIL SYNTHETIQUE 1-5-GAM | | |
|-------------------------------------|------------------------|--|-----------|--|-----------|-----------------|
| | % d'eau P.S. | ACTIVITE DE L'AMYLASE ACIDE dans | | ACTIVITE DE L'AMYLASE ACIDE dans | | % d'eau P.S. |
| | | brut | surageant | brut | surageant | |
| Témoin 0 | 843,39 | 0,09 | 0,06 | 0,05 | 0,06 | 162,79 |
| 6 | 458,65 | 0,04 | 0,03 | 0,04 | 0,03 | 47,42 |
| 10 | 301,60 | 0,04 | 0,03 | 0,04 | 0,03 | 44,54 |
| 14 | 263,63 | 0,015 | 0,017 | 0,03 | 0,03 | 316,66 |

• Chez le SYNTHETIQUE, le même phénomène est observé, c'est-à-dire une diminution d'activité suivie d'une stabilisation de celle-ci. Cette stabilisation est plus importante dans le cas du SYNTHETIQUE que dans celui du SOUNA₃.

• AMYLASE ALCALINE ▪ Tableau XVb ▪

• Chez le SOUNA₃ il y a une diminution d'activité au 6ème jour de la sécheresse, suivie d'une tendance à une stabilisation, qui est plus nette dans le surnageant.

• Chez le SYNTHETIQUE, il y a une diminution d'activité dans l'extrait brut, suivie d'une stabilisation jusqu'à la fin du traitement. Dans le surnageant, il y a plutôt une augmentation d'activité par rapport au témoin.

Donc, la tendance des amylases dans la tige des mils [expression par rapport à la matière **sèche1 est** à une diminution d'activité **enzymatique dans les premiers jours de sécheresse**, suivie d'une **stabilisation jusqu'à une certaine limite**. (l'activité de l'amylase alcaline augmente dans le surnageant du SYNTHETIQUE).

• Au niveau de la tige, il **ne semble pas** y avoir une augmentation d'activité des **amylases chez le SOUNA₃ avec la sécheresse** (quel que soit le mode d'expression des résultats choisis). Chez le SYNTHETIQUE, une augmentation d'activité existe, quel que soit le mode d'expression des résultats dans le surnageant pour l'amylase alcaline ; pour l'amylase acide, l'augmentation d'activité existe dans l'extrait brut lorsque les résultats sont exprimés en fonction des protéines.

• Au niveau de la feuille, **une augmentation** d'activité **existe avec la sécheresse jusqu'à une certaine limite avec l'amylase acide chez les mils** et l'arachide si l'activité enzymatique est exprimée **en fonction des protéines**. L'amylase **alcaline elle, baisse d'activité par rapport au témoin** chez les mils et augmente chez l'arachide avec la sécheresse.

- TABLEAU XV b -

Evolution de l'activité de l'amylase alcaline (en mg de glucose par mg de matière sèche par heure)
dans la tige de mils SOUNA₃ et SYNTHETIQUE 1-5-GAM soumis à la sécheresse.

| SECHERESSE en nombre de jours | MIL SOUNA ₃ | | | MIL SYNTHETIQUE 1-5-GAM | | |
|-------------------------------------|------------------------|---|-----------|---|-----------|-------------------|
| | % d'eau / P.S. | ACTIVITE DE L'AMYLASE ALCALINE dans | | ACTIVITE DE L'AMYLASE ALCALINE dans | | % d'eau / P.S. |
| | | brut | surageant | brut | surageant | |
| Témoin 0 | 843,39 | 0,05 | 0,07 | 0,1 | 0,037 | 1 062,79 |
| 6 | 458,65 | 0,04 | 0,04 | 0,04 | 0,040 | 471,42 |
| 10 | 301,60 | 0,03 | 0,04 | 0,04 | 0,05 | 440,54 |
| 14 | 263,63 | 0,03 | 0,03 | 0,04 | 0,04 | 316,66 |

Il n'y a , **en général, pas** d'augmentation d'activité des amylases dans la feuille des mils par rapport à l'expression des résultats en fonction de la matière sèche ; par contre, il y en a une chez l'arachide, surtout avec l'amylase alcaline.

L'évolution de la valeur du rapport : teneur en protéines/matière sèche en fonction du déficit hydrique dans la feuille (tableau XI chez le SOUNAS montre qu'il y a une stabilisation de cette valeur jusqu'au 8ème jour, il y a **ensuite** une diminution de celle-ci. Concernant l'amylase alcaline, elle serait tout simplement inactivée, dénaturée et détruite au fur et à mesure que le déficit hydrique s'installe. L'**augmentation d'activité enzymatique de l'amylase acide peut s'expliquer** par une activation de l'enzyme par la sécheresse, surtout dans le surnageant.

Chez le SYNTHETIQUE, la valeur **de ce rapport augmente** légèrement (dans la feuille **avant de se stabiliser et de diminuer en fin de traitement** ; concernant l'amylase **alcaline**, le manque d'augmentation **de son activité enzymatique** serait dû à une **inactivation de l'enzyme**. Quant à l'amylase acide, elle serait également inactivée.

Chez l'arachide, la valeur du rapport teneur en protéines/matière sèche **diminue avec le déficit hydrique**, l'**augmentation d'activité des amylases** serait donc **due à une activation** particulière de l'enzyme.

Au niveau de la tige, la valeur de ce rapport (tableau IV) **diminue chez les deux mils et augmente en fin de traitement** pour le SOUNA₃ ; **elle se stabilise avant d'augmenter** chez le SYNTHETIQUE. Chez le SOUNAS, **le manque d'augmentation de l'activité enzymatique (des amylases) peut s'expliquer par la diminution de la teneur en matières enzymatiques, et peut-être par une inactivation ; en fin de traitement il y aurait une dénaturation de la protéine enzymatique. Chez le SYNTHETIQUE, l'amylase alcaline doit être très activée, surtout**

dans le surnageant. En ce qui concerne l'amylase acide chez le SYNTHETIQUE, elle est inactivée dans les premiers jours de sécheresse ; en fin de traitement, malgré une très légère augmentation de la valeur du rapport teneur en protéines/matière sèche, elle se maintient dans le surnageant et diminue dans l'extrait brut [expression de résultats par rapport à la matière sèche], ce qui suppose une inactivation [destruction ?] de l'enzyme, ou que dans l'augmentation relative des protéines il n'y a pas celle de la protéine enzymatique ; les deux phénomènes peuvent intervenir en même temps.

*

* *

Si l'on se réfère à la bibliographie, ceux parmi les premiers auteurs à observer une augmentation de l'activité de l'amylase avec le déficit hydrique ont été SPOEHR et MILNER (1939) sur deux genres différents de plantes : *Hélianthus annuus* et *Nicotiana glauca* (à noter que dans ce cas, c'est la teneur en amidon qui a été suivie avec le déficit hydrique). En outre, TAKAOKI (1968) sur *Vigna sinensis*, observe une augmentation des activités des α et β amylases jusqu'à un certain seuil du déficit hydrique, il y avait ensuite une diminution des activités des enzymes. Par ailleurs, VIEIRA DA SILVA (1968 et 1970) obtient sur le cotonnier une augmentation d'activité de l'amylase avec le déficit hydrique. D'un autre côté, ADJAHOSSOU (1977), sur le palmier à huile, trouve une augmentation d'activité de l'amylase acide avec la sécheresse.

Par contre, PDPOVA 119411 sur le blé, avait obtenu une diminution d'activité de l'amylase avec le déficit hydrique.

Les amylases, comme dans le cas de l'invertase, augmentent la quantité des glucides solubles ; à ce titre, une augmentation de leur activité ne peut qu'être bénéfique pour la plante eu égard aux rôles de ces glucides solubles dans la

protection des systèmes membranaires de la cellule, et dans le maintien du potentiel osmotique de la plante.

Ainsi, comme nous l'avons indiqué précédemment (étude sur l'invertase), des auteurs comme VIEIRA DA SILVA (1968), SANTARIUS (1973), HEBER et SANTARIUS (1976) ont rapporté le rôle bénéfique des glucides solubles pour la plante dans les conditions de déficit hydrique. Les amylases, comme l'invertase, augmentant la concentration des glucides solubles, une importante activité de celles-ci ne peut être que profitable à la plante dans ces conditions.

A - 5

LOCALISATION DES ENZYMES DANS DIFFÉRENTES
FRACTIONS CELLULAIRES, ÉTUDE DE LEUR
SOLUBILISATION AVEC LA SÉCHERESSE

A.5.1. - Introduction

La localisation des enzymes hydrolytiques a fait l'objet de beaucoup d'investigations et, avec le développement des méthodes d'études, des progrès notables ont été faits, surtout avec l'ultracentrifugation et le microscope électronique.

Des résultats importants ont été obtenus par l'école de DE DUVE [DE DUVE et WATTIAUX, 1966] qui découvre dans les tissus d'animaux des organites spécialisés, contenant de la phosphatase acide.

Ces particules, nommées LYSDSOMES, contenaient d'autres hydrolases : cathepsine, β -glucuronidase, ribonucléase acide et désoxyribonucléase acide. La lyse de ces organites entraîne une libération de ces enzymes, libération qui faisait beaucoup de dégâts dans la cellule.

D'autres organites : les péroxisomes (DE DUVE et BAUDHUIN, 1963 isolés par BEAUFAY et al. (1964), contenaient aussi des enzymes comme l'urate oxydase, la catalase et la D-amino acide oxydase.

Chez les végétaux, des particules cellulaires analogues aux lysosomes des animaux, tout au moins dans la fonction, ont été trouvées.

Dans les cellules méristématiques de végétaux, deux organites analogues aux lysosomes des animaux ont été trouvés : les sphérosomes (SEMADENI, 1967) et les provacuoles (MATILE et MDDR, 1968).

D'autre part, dans des cellules végétales jeunes, une importante activité phosphatasique a été découverte, liée aux invaginations des membranes des dictyosomes ou du réticulum endoplasmique (POUX, 1963 ; MATILE et MOOR, 1968 ; et BERJAK, 1972). Selon POUX (1963) et MATILE et MOOR (1968), ce sont ces invaginations qui fusionnent et donnent la vacuole de la cellule mature. Ce qui fait, indique POUX (1963), que la majeure partie de la phosphatase dans la cellule mature est localisée dans la vacuole et probablement dans la face interne de sa membrane.

De son côté, MATILE (1966), partisan du comportement lysosomal de la vacuole, découvre, après avoir isolé des vacuoles et protoplastes des racines du maïs, que la majeure partie de la phosphatase se trouve dans la vacuole.

Utilisant des méthodes biochimiques et ultrastructurales, MATILE et WINKENBACH (1971) suivent l'évolution des activités des hydrolases avec la sénescence de la fleur de *Ipomea purpurea*. L'étude ultrastructurale montre que la vacuole des cellules du mésophylle représente un compartiment lysosomal. Avec la sénescence, cette vacuole se développait et présentait des invaginations dans lesquelles les éléments du cytoplasme étaient hydrolysés.

Par ailleurs, BERJAK (1972) étudiant chez la racine de *Lepidium sativum*, la quantité de phosphatase acide dans la vacuole, liée à l'origine et au développement de cette dernière, conclut que le système vacuolaire doit représenter une part importante dans le système lysosomal de la cellule végétale.

Toujours à propos de structures végétales analogues aux lysosomes PITT (1973) sur des feuilles de pommes de terre, isole une fraction lysosomale riche en phosphatase ; l'auteur étudie ensuite la solubilisation de l'activité de l'enzyme lors d'une infection de la plante par *Phytophthora infestans*. Il y avait une augmentation de la solubilisation de l'activité de l'enzyme avec l'infection.'

D'un autre côté, BIELESKI (1973), étudiant les problèmes liés au métabolisme du phosphate chez la plante, indique que la localisation de phosphatase dans la vacuole est conforme au fait que l'on trouve beaucoup de phosphate inorganique dans la vacuole, et que les phospho-esters se trouvent plutôt dans le cytoplasme.

D'autre part, sur des pétales de *Hippeastrum*, BUTCHER et al. (1977) trouvent des hydrolases comme la phosphatase acide, la ribonucléase et la désoxyribonucléase dans la vacuole et le cytoplasme des cellules.

Ainsi donc, beaucoup de travaux donnent à la vacuole une place importante en ce qui concerne la localisation des enzymes hydrolytiques dans la cellule végétale.

Chez les végétaux cependant, la localisation des enzymes hydrolytiques semble assez diversifiée. En plus des lieux que nous avons déjà cités : sphérosomes, vacuole, cytoplasme, etc., d'autres structures cellulaires contiennent des hydrolases. Ainsi POUX (1963) découvre une activité phosphatasique dans le noyau des cellules méristématiques de blé. D'autre part, RAGETLI et al. (1966) et RAGETLI (1967) découvrent une phosphatase liée aux chloroplastes. Par ailleurs, HADZIYEV et al. (1969) découvrent également une ribonucléase sur chloroplastes de feuille de blé. En ce qui le concerne, VIEIRA DA SILVA (1970, 761) sur le cotonnier, obtient une activité

élevée de la phosphatase acide, de l'invertase acide, de la ribonucléase acide, et de l' α et β amylases dans la fraction cellulaire riche en chloroplastes.

Même si l'existence de lysosomes en tant que tels chez les végétaux est souvent contestée (CORBETT et PRICE, 1967), la notion de lysosomes reste cependant valable chez les plantes comme définissant une structure cellulaire contenant des enzymes hydrolytiques, qui peuvent être libérées dans certaines conditions : perte d'eau, sénescence, maladie, etc..

PITT (1975) fait une étude remarquable sur les lysosomes. Considérant les résultats de travaux aussi bien dans les domaines biochimique et cytologique que dans celui ultrastructural, conclut qu'il y a une forte analogie entre les organelles cellulaires végétales contenant des hydrolases acides et les lysosomes des cellules animales.

A.5.2. - Détermination des fractions cellulaires

Pour étudier la distribution des activités enzymatiques dans différentes fractions cellulaires de plantes normalement arrosées et de celles soumises à la sécheresse, nous avons utilisé des feuilles du mil SYNTHETIQUE 1-5-GAM de 40 jours d'âge.

Après homogénéisation d'un tissu foliaire, l'homogénat est centrifugé pendant 30 mn à 2 590g, ce qui nous donne un culot C_I et un surnageant S_I. Le surnageant S_I est à son tour centrifugé à 31 890g pendant 1 heure, on obtient ainsi un deuxième culot C_{II} et un deuxième surnageant S_{II}. Les trois fractions : C_I (lourde, chloroplastique), C_{II} (légère moyenne) et S_{II} (soluble) sont reprises avec le même volume de TRIS HCl 0,02M, pH = 7,2 contenant du TRITON X 100 à 0,15% (voir résultats sur l'action du TRITON X 100). Les activités de la phosphatase acide, de l'invertase acide, de l' α et β amylases et les teneurs en protéines et en chlorophylle sont mesurées dans ces trois fractions.

Les plantes ont subi les traitements suivants : T_0 = témoin, T_1 = 7 jours de sécheresse, T_2 = 10 jours de sécheresse et T_3 = 13 jours de sécheresse.

A.5.3. - Résultats et discussions.

Pour les résultats, voir tableaux XVI et XVII et figures 18a, 18b et 18c.

- La distribution de la teneur en protéines varie dans les différentes fractions en fonction de la sécheresse. Chez le témoin (T_0) les pourcentages des protéines sont 74,61 pour Cl- (fraction riche en chloroplastes) 8,09 pour C_{II} [fraction moyenne, légère] et 17,30 pour S_{II} (fraction soluble). Dans le traitement T_1 on trouve respectivement : 68,15, 6,36 et 25,49 % ; dans T_2 : 58,03, 13,75 et 28,22 % ; et enfin dans T_3 : 56,08, 15,54 et 28,38 %.

On constate qu'il y a une solubilisation des protéines avec la sécheresse, surtout à partir de la fraction chloroplastique ; ceci confirme les résultats obtenus par MARIN et VIEIRA DA SILVA (1972) sur le cotonnier. Ces auteurs obtiennent en effet une solubilisation de la teneur en protéines des chloroplastes avec la sécheresse au profit du cytoplasme, et cela en rapport avec l'augmentation d'activité de la ribonucléase qui diminuait la teneur des chloroplastes en ARN. D'autres résultats obtenus sur la même plante par VIEIRA DA SILVA (1970, 1976) montrent également une solubilisation des protéines avec la sécheresse, surtout à partir de la fraction cellulaire riche en chloroplastes.

- En ce qui concerne la chlorophylle, bien qu'il y ait une baisse de la quantité totale avec la sécheresse, la fraction riche en chloroplastes conserve quand même assez bien le pigment. Ceci également confirme les résultats de VIEIRA DA

- TABLEAU XVI -

Distribution de l'activité de la phosphatase acide (en μ moles de P.N.P. par mg de protéine par heure), de l'invertase acide, des amylases acide et alcaline (en mg de glucose par mg de protéine par heure) dans trois fractions cellulaires : CI (chloroplastique, lourde), CII (moyenne, légère) et SII (soluble) chez un mil SYNTHETIQUE 1-5-GAM témoin et chez la même plante traitée à la sécheresse,

| NOMBRE DE JOURS DE SECHERESSE | % D'EAU P.S. | PHOSPHATASE ACIDE | | | INVERTASE ACIDE | | | AMYLASE ACIDE | | | AMYLASE ALCALINE | | |
|-------------------------------------|-----------------|-------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|----------------|-----------------|-----------------|------------------|-----------------|-----------------|
| | | C _I | C _{II} | S _{II} | C _I | C _{II} | S _{II} | C _I | C _{II} | S _{II} | C _I | C _{II} | S _{II} |
| Témoin 0 | 1176,26 | 2,18 | 4 | 14,9 | 0,05 | 0,94 | 0,4 | 0,16 | 1,0 | 0,30 | 0,34 | 0,55 | 0,92 |
| 7 | 505,52 | 2,87 | 6 | 15,57 | 0,055 | 0,61 | 0,62 | 0,46 | 2,16 | 1,88 | 0,50 | 2,66 | 1,72 |
| 10 | 386,94 | 2,98 | 2,46 | 11,95 | 0,10 | 0,27 | 0,38 | 0,32 | 0,76 | 1,64 | 0,63 | 1,02 | 1,56 |
| 13 | 177,28 | 2,43 | 0,91 | 10,97 | 0,13 | 0 | 0,32 | 0,23 | 0,63 | 1,25 | 0,44 | 0,42 | 1,36 |

- TABLEAU XVII -

Distribution des quantités de protéines et de la chlorophylle dans trois fonctions cellulaires : C_I, C_{II} et S_{II} chez le mil SYNTHETIQUE 1-5-GAM témoin et chez la même plante traitée à la sécheresse.

| NOMBRE de JOURS de SECHERESSE | % d'EAU / P.S. | QUANTITE DE PROTEINES en mg par ml homogenat | | | QUANTITE DE CHLOROPHYLLE en µg par ml solution | | |
|-------------------------------------|-------------------|--|-----------------|-----------------|--|-----------------|-----------------|
| | | C _I | C _{II} | S _{II} | C _I | C _{II} | S _{II} |
| Témoin 0 | 1 176,26 | 1,72 | 0,18 | 0,4 | 27,82 | 1,44 | 0,86 |
| 7 | 505,52 | 2,00 | 0,18 | 0,75 | 27,53 | 1,44 | 0,57 |
| 10 | 386,94 | 2,00 | 0,47 | 0,97 | 26,08 | 0,86 | 0,28 |
| 13 | 177,28 | 2,07 | 0,57 | 1,05 | 18,55 | 0,28 | 0,14 |

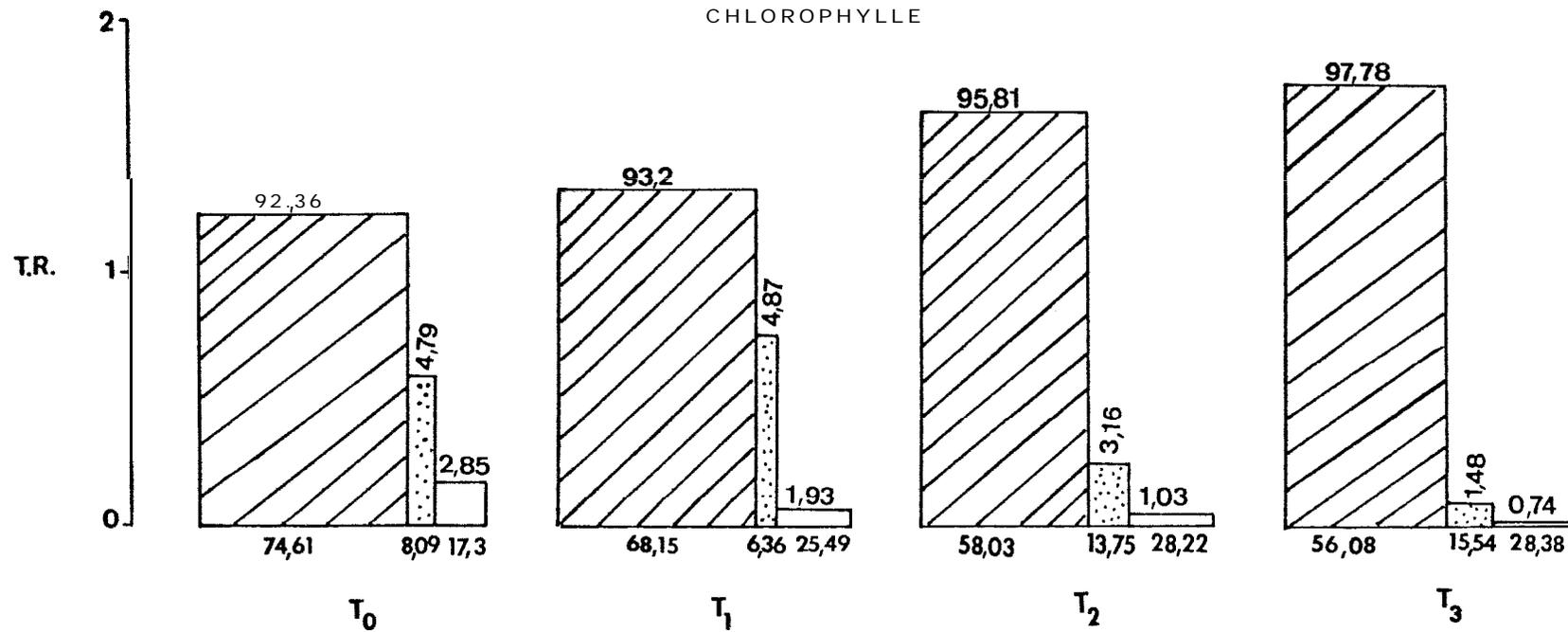


FIG. 18a :Distribution de l'activité enzymatique et de la quantité de chlorophylle dans trois fractions cellulaires. En hachures la fraction chloroplastique, en pointilles la fraction moyenne, en blanc le surnageant. En ordonnées l'activité relative (A R), ou la teneur relative (TR) est le rapport entre le pourcentage d'activité ou de teneur et le pourcentage de protéines correspondant à la fraction. En abscisses (chiffres à la base des rectangles), il est indiqué le pourcentage de protéines correspondant à la fraction. Les chiffres sur les rectangles indiquent le pourcentage d'activité ou de teneur qui correspond à la fraction.

T₀ : témoin

T₁ : 7 jours de sécheresse

T₂ : 10 jours de sécheresse

T₃ : 13 jours de sécheresse

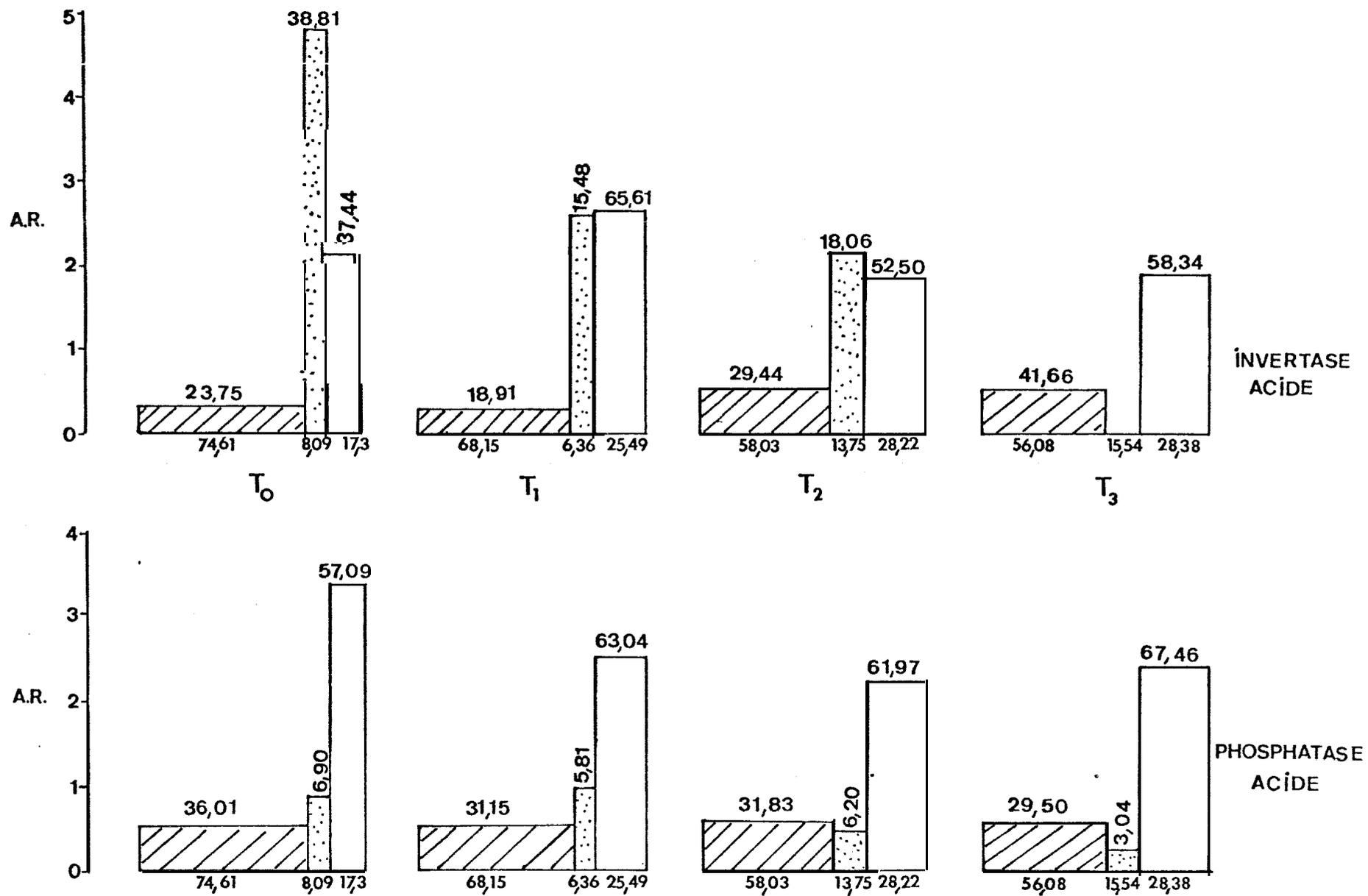


FIG.18b : ACTIVITE ENZYMATIQUE DANS TROIS FRACTIONS CELLULAIRES
(VOIR LA FIG.18a POUR LA LEGENDE)

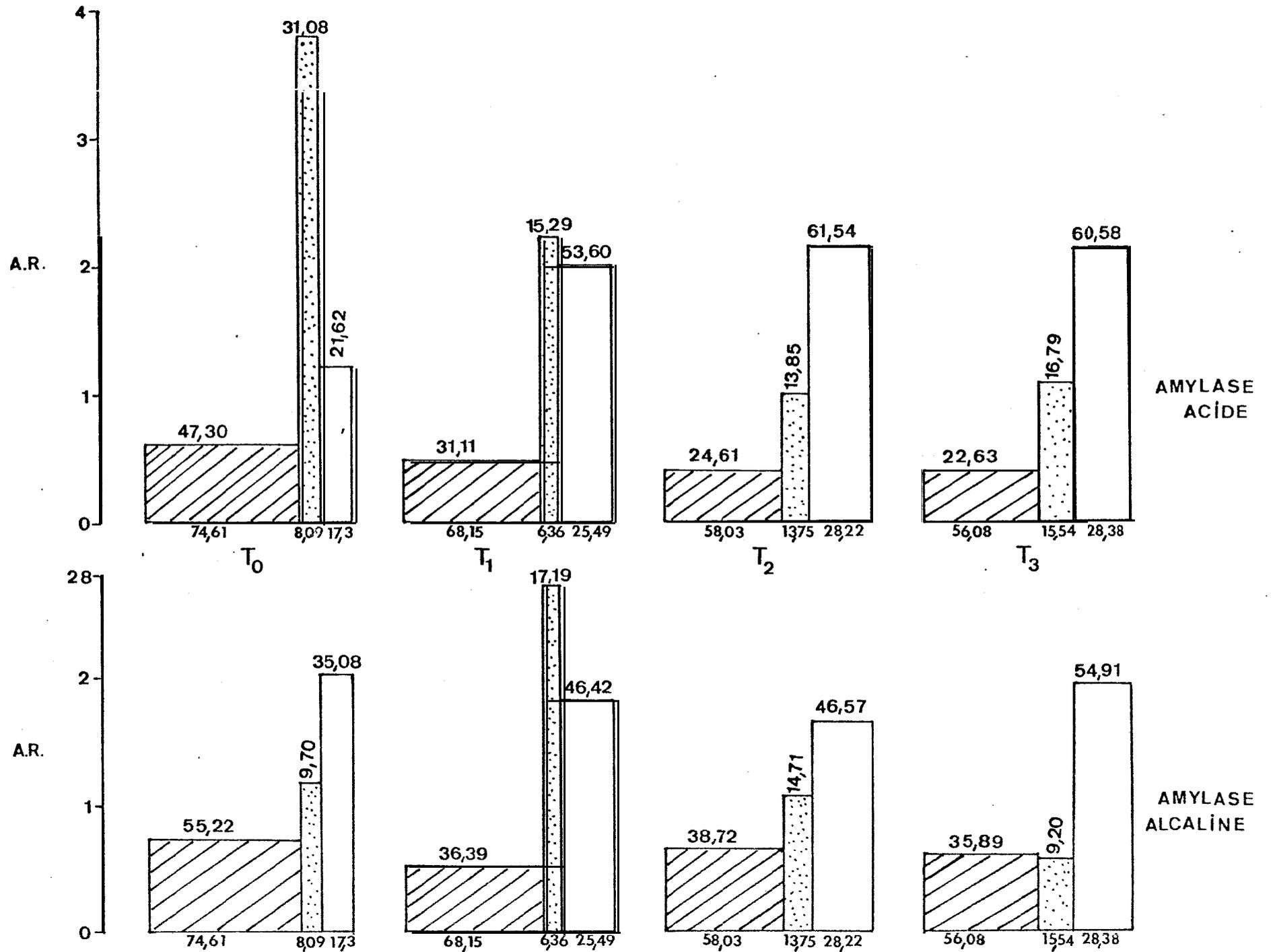


FIG.18c : ACTIVITE ENZYMATIQUE DANS TROIS FRACTIONS CELLULAIRES (VOIR FIG18a POUR LA LEGENDE)

SILVA (1970 et 19761 qui trouve sur le cotonnier que la fraction riche en chloroplastes gardait toute sa chlorophylle avec le déficit hydrique.

Pour ce qui est de la distribution des activités des enzymes dans les différentes fractions, nous avons trouvé chez le témoin (T_0) une activité enzymatique dans la fraction riche en chloroplastes, ce qui confirme les résultats de YIN (19453, RAGETLI et al. (1966) NIR et al. (1966), RAGETLI (1967) et VIEIRA DA SILVA (1970, 19761 sur la phosphatase acide, et VIEIRA DA SILVA (1970, 19761 sur la phosphatase acide, l'invertase acide et l' α et la β amylases.

La fraction moyenne (C_{II}) dont nous ne connaissons pas la composition oxocto, mais qui contiendrait certainement des microsomes et des débris membranaires, montre aussi une activité des enzymes étudiées, activité élevée dans le cas de l'arnylase acide et de l'invertase acide. VIEIRA DA SILVA (1970, 19761, chez le cotonnier, obtient dans cette fraction moyenne les activités enzymatiques de la phosphatase acide, de l'invertase, et de la β amylase, mais pas celle de l' α amylase. Au niveau de la fraction soluble il y a aussi une activité des enzymes étudiées : phosphatase, invertase et arnylase acides, ainsi que l'amylase alcaline. Ces résultats sont également conformes à ceux obtenus par VIEIRA DA SILVA (1970, 19761 sur le cotonnier concernant les mêmes enzymes. Cette activité des hydrolases dans la phase soluble peut s'expliquer par l'existence d'hydrolases, soit dans le cytoplasme (BUTCHER et al, 19771, soit dans la vacuole (POUX, 1963 ; MATILE, 1966, 69, 75 ; MATILE et al, 1968 ; MATILE et al, 1971)(et là, il interviendrait des problèmes d'extraction), soit dans ces deux localisations en même temps. D'autres vésicules cellulaires fragiles pourraient également être détruites et libéreraient ainsi leur contenu dans la phase soluble. Concernant la vacuole, VIEIRA DA SILVA (1970, 761 sur le cotonnier, y trouve un faible pourcentage (1 %) de la phosphatase acide ; il conclut que le con-

tenu vacuolaire ne doit donc pas contribuer de façon significative à l'activité phosphatasique de la cellule.

Avec la sécheresse, la distribution de l'activité des enzymes est la suivante :

- PHOSPHATASE ACIDE. L'activité de l'enzyme se solubilise au fur et à mesure que la sécheresse se développe, surtout à partir de la fraction riche en chloroplastes. En effet, le culot perd son activité avec la sécheresse, cependant que la phase soluble s'enrichit en activité phosphatasique. Dans la fraction C_{II} , après une baisse d'activité au T_1 consécutive à une perte légère de protéines, il y a une augmentation de l'activité de l'enzyme au T_2 qui est aussi consécutive à une augmentation de protéines dans cette fraction. En fin de traitement, malgré l'augmentation du pourcentage de protéines dans cette fraction, il y a une baisse d'activité de l'enzyme, ce qui peut s'expliquer par une perte d'activité de l'enzyme [destruction ?].

- L'INVERTASE ACIDE. La phase soluble (S_{II}) voit l'activité de l'enzyme y augmenter avec la sécheresse ; cette augmentation est surtout importante au T_1 , et ceci en rapport avec une perte d'activité importante par la fraction C_I . Le culot C_I , après avoir perdu de l'activité enzymatique au T_1 , voit celle-ci augmenter au T_2 et T_3 , malgré la baisse de la teneur en protéines dans la fraction, ce qui suppose une activation de l'enzyme dans cette fraction avec la sécheresse. La fraction C_{II} , quant à ce qui la concerne, perd de l'activité enzymatique (jusqu'à s'annuler avec la sécheresse).

- L'AMYLASE ACIDE. La fraction C_I perd de l'activité enzymatique au fur et à mesure que la sécheresse dure, et ceci en rapport avec la perte de protéines. La fraction C_{II} également, perd de l'activité enzymatique avec le déficit hydrique, en rapport avec une perte de protéines au T_1 , malgré l'augmen-

tation de la quantité de protéines au T_2 ; au T_3 il semble y avoir une légère augmentation d'activité par rapport au T_1 et T_2 , augmentation qui peut être liée à celle des protéines dans la fraction, ou à l'activation de l'enzyme ou aux deux phénomènes à la fois. La fraction SII, quant à ce qui la concerne, voit l'activité de l'enzyme y augmenter avec le déficit hydrique.

• L'AMYLASE ALCALINE. La fraction C_I perd son activité enzymatique avec le déficit hydrique. Il y a une légère augmentation d'activité au T_2 par rapport au T_1 , malgré la solubilisation des protéines, ce qui peut s'expliquer par une activation de l'enzyme avec la sécheresse. Dans la fraction C_{II} , l'activité de l'enzyme augmente au T_1 malgré la perte des protéines dans cette fraction ; ensuite il y a une baisse d'activité enzymatique (T_2, T_3) malgré une augmentation de la quantité de protéines ; une activation par la sécheresse de l'enzyme interviendrait dans le premier cas (T_1), et une inactivation ou une dénaturation dans les deux derniers cas (T_2 et T_3). L'activité dans le surnageant (S_{II}) augmente au fur et à mesure que la sécheresse s'installe et que les protéines sont solubilisées.

En conclusion, nous avons obtenu une activité des enzymes étudiées [phosphatase acide, invertase acide, amylase acide et amylase alcaline] dans les trois fractions cellulaires [C_I riche en chloroplastes, C_{II} (moyenne, légère) et S_{II} (soluble)] de tissu foliaire du mil SYNTHETIQUE 1-5-GAM. Une solubilisation de la teneur en protéines et de l'activité enzymatique avec la sécheresse a été également obtenue, ce qui confirme les résultats de VIEIRA DA SILVA (1970, 76) chez le cotonnier. Cette solubilisation se fait surtout à partir de la fraction riche en chloroplastes, pour les protéines, la phosphatase acide, l'amylase acide et l'amylase alcaline, ce qui est conforme aux résultats obtenus sur la même plante (cotonnier) par le même auteur. En ce qui concerne l'invertase acide, après

une importante solubilisation de l'activité de l'enzyme à partir de la fraction riche en chloroplastes (C_I) dans les premiers jours de sécheresse (T_1), cette fraction semble reprendre de l'activité enzymatique avec la sécheresse. La fraction C_{II} qui contenait beaucoup d'activité chez le témoin (T_0) participe également à la solubilisation de l'activité de l'enzyme avec le déficit hydrique ; cette participation est moins importante avec l'amylase acide, laquelle également se trouvait en forte proportion dans cette fraction (C_{II}) chez la plante témoin.

Il faut signaler aussi que la solubilisation de l'activité enzymatique obtenue ici avec le déficit est moins importante que celle obtenue par VIEIRA DA SILVA 11970, 761 sur le cotonnier, il intervient certainement des problèmes de différence de résistance à la sécheresse entre ces deux plantes. Les mils sont en général reconnus comme étant particulièrement résistants à la sécheresse.

Le déficit hydrique agit donc sur les chloroplastes, ce qui entraîne une perte de protéines et une solubilisation de l'activité des enzymes hydrolytiques contenues dans ces organites ; ces faits pourraient expliquer l'action de la sécheresse sur l'appareil chloroplastique.

A - 6

CONCLUSIONS SUR L'ACTIVITÉ ENZYMATIQUE

Nous avons, dans le présent travail, étudié les activités d'hydralases **comme** la phosphatase, l'invertase acide et les amylases α et β **chez des** plantes en conditions hydriques normales et déficitaires.

- Lorsque l'activité enzymatique est exprimée en fonction des protéines, il y a, dans la plupart des cas, une augmentation d'activité de ces enzymes avec le déficit hydrique, surtout chez les sorghos et chez l'arachide. Il existe des cas de diminution d'activité surtout chez les mils SQUNA₃ et SYNTHETIQUE 1-5-GAM. La différence de résistance à la sécheresse entre ces plantes expliquerait certainement ces différences notées au niveau de l'évolution des activités enzymatiques. Les mils sont en effet reconnus comme étant très résistants à la sécheresse.

• Lorsque l'activité enzymatique est exprimée en fonction de la matière sèche, il y a dans certains cas une augmentation d'activité enzymatique avec la sécheresse. Chez les mils, il existe beaucoup de cas où l'activité de ces enzymes diminue, il peut s'ensuivre une stabilisation de celle-ci.

Si on observe l'évolution de la valeur du rapport teneur en protéines/matière sèche, on constate qu'elle diminue dans la plupart des cas avec le déficit hydrique, ce qui indiqua qu'il y aurait **une** perte de protéines par la plante dans ces conditions, **d'où** certainement l'action **des** protéases.

• L'étude électrophorétique montre qu'il n'y a pas de changements dans le nombre des bandes avec la sécheresse en ce qui concerne la phosphatase acide chez les mils. Il y a un changement dans l'intensité de la coloration des bandes, et celles-ci voient en général leur coloration s'intensifier avec la sécheresse, de façon non uniforme ; ceci montre une solubilisation plus importante des protéines [donc de l'enzyme] chez la plante traitée en valeurs différentes pour les différentes enzymes isolées.

• En ce qui concerne l'étude de la localisation des enzymes et de leur solubilisation avec la sécheresse, nous avons obtenu une activité des enzymes étudiées dans la fraction lourde riche en chloroplastes, dans la fraction légère contenant certainement entre autres des microsomes et des débris membranaires, et dans la fraction soluble. La solubilisation des protéines et des activités de ces enzymes s'est faite, pour l'essentiel, à partir de la fraction riche en chloroplastes, au fur et à mesure que le déficit hydrique s'installait.

L'augmentation d'activité des enzymes hydrolytiques, et celle de leur solubilisation avec la sécheresse peuvent être dues à plusieurs facteurs :

- Libération d'enzymes jusque-là contenues dans des organites cellulaires,
- Activation d'enzymes "potentielles" : les zymogènes,
- Une synthèse *de novo*,

ces facteurs pouvant agir individuellement ou en même temps.

L'une des principales causes de cette augmentation d'activité et de solubilisation semble être la libération d'enzymes jusque là contenues dans des organites cellulaires. Les résultats que nous avons obtenus avec l'action du Triton X 100 [do-

sage quantitatif et électrophorèse sur les structures cellulaires **vont dans ce sens**. Ce détergent désorganise les structures cellulaires, **ce qui entraîne une augmentation** d'activité enzymatique dans la fraction soluble.

A l'appui également de l'hypothèse de décompartmentation, il y a l'étude sur la solubilisation des protéines et l'activité des enzymes avec la sécheresse. On a vu en effet qu'au fur et à mesure que la sécheresse s'installait, les protéines et les enzymes contenues dans la fraction riche en chloroplastes "quittaient" celle-ci pour la fraction soluble, ce qui indique un désorganisation de ces structures. Des résultats, analogues avaient été obtenus par VIEIRA DA SILVA (1970, 761 sur le cotonnier.

Sur le cotonnier, MARIN et VIEIRA DA SILVA (1972) avaient observé que lorsque la plante subissait une déshydratation, il y avait une perte de protéines et de ribosomes chloroplastiques au profit du cytoplasme.

Par ailleurs, VIEIRA DA SILVA (1976) constate sur le cotonnier que les chloroplastes semblaient être les organites cellulaires les plus sensibles aux contraintes que subissait la plante. C'est ainsi que la déformation des thylakoïdes et la disparition des ribosomes étaient parmi les premiers effets observés chez *G. hirsutum* lors du déficit hydrique. Au niveau des mitochondries également, selon le même auteur, il y avait des modifications avec le déficit hydrique : enflamment, destruction interne ; la membrane externe semble mieux résister que la membrane interne.

La destruction des membranes des structures cellulaires entraîne donc une libération des enzymes hydrolitiques. Mais dans cette destruction il n'y aurait pas seulement un facteur physique, il interviendrait également un facteur biochimique.

Les protéases, et surtout les lipases, pourraient également intervenir pour déstabiliser les membranes. Aussi VIEIRA DA SILVA et al. 19743 montrent, chez le cotonnier, que la sécheresse augmente les activités des lipases alcaline et acide; la première entre les lamelles des chloroplastes, et la seconde entre les lamelles des chloroplastes et dans la mitochondrie. Chez une espèce de cotonnier résistante à la sécheresse, VIEIRA DA SILVA (1974) trouve qu'il n'y avait pas une telle activation avec la sécheresse, et que la plante gardait jusqu'à une certaine limite ses structures intactes. Ceci semble confirmer l'hypothèse de NIR et al. (1970), selon laquelle les lipides étaient déplacés de leur position dans la mitochondrie et dans d'autres systèmes membranaires de la cellule avec la déshydratation.

Pour éviter cette déstabilisation des membranes, plusieurs substances de nature chimique différente peuvent apporter leur protection aux membranes. Ainsi selon SANTARIUS (1964), les glucides solubles pourraient remplacer les ponts hydrogènes perdus par les membranes avec le départ de l'eau. Par ailleurs SANTARIUS et HEBER 19671 observent que la réaction de Hill était conservée lors d'une déshydratation des chloroplastes s'il y avait la présence de glucides comme le saccharose. En outre, SANTARIUS (1973) montre le rôle protecteur des glucides sur les thylakoides lors d'une déshydratation des chloroplastes. D'autre part, HEBER et SANTARIUS (1976) font état du double rôle protecteur des glucides : rôle non spécifique par la diminution de la concentration des substances toxiques à la membrane et rôle spécifique par la stabilisation même de la membrane. Concernant ce dernier rôle, les auteurs se fondent sur les travaux de SANTARIUS (1971) montrant que malgré la forte concentration des substances toxiques pour la membrane, les glucides protégeaient quand même la membrane. Selon toujours HEBER et SANTARIUS (1976), d'autres corps comme les acides aminés (proline, sérine et glycine) pouvaient également apporter une pro-

tection à la membrane. Les auteurs indiquent également que certaines protéines (thermostables) intervenaient directement dans la structure des membranes et les protégeaient lors du déficit hydrique. Ils font également état, dans cette étude remarquable, du rôle protecteur pour la membrane de certains composés semi-polaires, pourvu que leur concentration soit faible. Ces composés changeraient la structure de la membrane et la rendraient plus résistante aux diverses attaques dont elle serait l'objet lors de la déshydratation.

En ce qui concerne le deuxième aspect du problème, c'est-à-dire la révélation des zymogènes, il pourrait représenter une des premières phases du phénomène de l'augmentation de l'activité enzymatique. Des auteurs comme ITAI et BENZONI (1976) pensent que des hormones comme l'acide absissique, pouvaient être les facteurs conduisant à l'activation de ces zymogènes. Les protéases également pourraient intervenir et entraîner une activation de ces zymogènes. En ce qui concerne la phosphatase acide, il ne semble pas qu'il y ait une synthèse *de novo* (VIEIRA DA SILVA, 1970, 1976).

L'augmentation d'activité de certaines enzymes avec la sécheresse revêt plusieurs aspects, ce qui rend la question extrêmement complexe, et de nombreuses recherches sont encore nécessaires pour élucider entièrement le phénomène..

-B -

GLUCIDES SOLUBLES, AMIDON ET. GLUCIDES TOTAUX

B.1 - INTRODUCTION

Les résultats obtenus sur les activités de l'invertase et des amylases nous ont conduit à étudier la composition en glucides non structuraux de nos extraits. Nous avons, pour cela, prélevé des échantillons (1g) sur les mils SOUNA₃ et SYNTHETIQUE et de l'arachide 59-127 pour l'étude sur la feuille. Sur la tige, les échantillons (0,5g) ont été prélevés sur les mils,

Nous avons appelé glucides totaux la somme glucides solubles + amidon. Les échantillons des feuilles et tiges ont été prélevés sur des plantes différentes.

5.2 . RESULTATS ET DISCUSSIONS.

B.2.1. - Examinons déjà la situation qui existe dans les conditions hydriques normales.

- FEUILLE - Tableau XVIII

Les mils montrent une teneur en glucides solubles supérieure à celle chez l'arachide, laquelle à son tour a une teneur en amidon supérieure à celle chez les mils. Chez les mils, le SOUNA₃ contient des teneurs en glucides solubles et amidon supérieures à celles chez le SYNTHETIQUE.

- TIGE - Tableau XIX

Le phénomène observé dans la feuille chez les mils s'inverse dans la tige et le SYNTHETIQUE a des teneurs en glucides solubles et amidon supérieures à celles chez le SOUNA₃.

- Tableau XVII -

Evolution de la teneur en glucides solubles, amidon et glucides totaux (glucides solubles + amidon) dans la feuille (en mg de glucose par gramme de matière sèche) des mils SOUNA₃ et SYNTHETIQUE et dans celle de l'ARACHIDE 59-127 en fonction de la sécheresse.

| TRAITEMENT SECHERESSE en nombre de jours | MIL SOUNA ₃ | | | | MIL SYNTHETIQUE 1-5-GAM | | | | ARACHIDE 59-127 | | | |
|---|------------------------|----------------------|--------|--------------------|-------------------------|----------------------|--------|--------------------|-----------------|----------------------|--------|--------------------|
| | % d'eau P.S. | glucides solubles | Amidon | Glucides totaux | % d'eau P.S. | Glucides solubles | Amidon | Glucides totaux | % d'eau P.S. | Glucides solubles | Amidon | Glucides totaux |
| Témoin 0 | 349,20 | 43,12 | 4,31 | 47,43 | 351,06 | 36,08 | 3,69 | 39,77 | 331,40 | 20,70 | 10,85 | 31,55 |
| 3 | 309,33 | 44,53 | 4,00 | 48,53 | 335,04 | 59,86 | 3,64 | 63,5 | 327 | 19,84 | 10,80 | 30,64 |
| 5 | 291,60 | 56,52 | 4,00 | 60,52 | 292,40 | 52 | 3,60 | 55,6 | 321,58 | 19,60 | 8,76 | 28,36 |
| 8 | 269,97 | 45,92 | 3,53 | 49,45 | 280,02 | 50 | 3,59 | 53,59 | 165,05 | 20,78 | 3,87 | 24,65 |
| 10 | 240,11 | 39,72 | 2,85 | 42,57 | 269,65 | 49,09 | 3,10 | 52,19 | 34,74 | 25,43 | 3,82 | 29,25 |
| 14 | 120,53 | 34,93 | 1,85 | 36,78 | 151,60 | 27,78 | 1,91 | 29,69 | - | - | - | - |

- TABLEAU XIX -

Evolution de la teneur en glucides solubles, amidon et glucides totaux (glucides solubles + amidon) dans la tige (en mg de glucose par gramme de matière sèche) des mils SYNTHETIQUE et SOUNA₃, en fonction de la sécheresse.

| II. TRAITEMENT en nombre de jours de sécheresse | MIL SOUNA ₃ | | | | MIL SYNTHETIQUE 1-5-GAM | | | |
|--|------------------------|----------------------|--------|--------------------|-------------------------|----------------------|--------|--------------------|
| | % d'eau P.S. | Glucides solubles | Amidon | Glucides totaux | % d'eau P.S. | Glucides solubles | Amidon | Glucides totaux |
| 0 | 843,39 | 32,29 | 3,82 | 36,11 | 1 062 79 | 75,32 | 4,aa | 80,2 |
| 6 | 458,65 | 66,71 | 3,8 | 70,51 | 471,42 | 60,00 | 3,30 | 63,30 |
| 10 | 301,60 | 94,05 | 3,00 | 97,05 | 440,54 | 97,72 | 2,70 | 100,42 |
| 14 | 263,63 | 48,03 | 2,40 | 50,43 | 316,66 | 86,32 | 2,40 | 88,72 |

Nous n'avons pas analysé la composition des glucides solubles dans la feuille et la tige des mils étudiés, mais BHATIA et al. 119721, sur deux autres variétés de mil, trouvent que la majeure partie des glucides solubles dans la tige et les feuilles de ces variétés est constituée par du saccharose, du glucose et du fructose.

B.2.2. Evolution des teneurs en glucides solubles et amidon dans la feuille et la tige avec le déficit hydrique.

Dans l'ensemble des échantillons, tant au niveau de la feuille qu'au niveau de la tige, nous avons obtenu une augmentation de la teneur en glucides solubles et une diminution de celle en amidon, avec la sécheresse. Ces résultats confirment ceux obtenus par VASSILIEV et VASSILIEV (1936) sur le tournesol et le blé ; ILJIN 119571, sur plusieurs variétés de plantes ; NAIDU et VENKATESWARLU (1967) sur le mil ; VIEIRA DA SILVA (1968) sur le cotonnier ; ADJAHOSSOU (19771) sur le palmier à huile et ADJAHOSSOU et VIEIRA DA SILVA (19781) sur le palmier à huile.

L'augmentation des glucides totaux avec la sécheresse dans la feuille [et que l'on n'observe pas chez l'arachide] et dans la tige des mils pourrait s'expliquer non seulement par l'hydrolyse de l'amidon, et les transferts d'un lieu à un autre de la plante de ces glucides, mais aussi par une nouvelle synthèse. Il n'est pas impossible, en effet, chez ces plantes reconnues résistantes à la sécheresse, que la photosynthèse continue à se dérouler malgré les faibles quantités d'eau dans la plante.

Ainsi SLATYER (1970), comparant les aptitudes de deux *Atriplex*, une C_4 et C_3 , à résister à la sécheresse, obtient un meilleur rendement chez la variété C_4 . Il conclut alors que chez la variété C_4 dans les conditions hydriques déficitaires, la faible résistance des cellules du mésophylle au CO_2 compense

partiellement la fermeture des stomates. Ainsi cette fermeture des stomates affecte beaucoup plus la transpiration que la photosynthèse.

▪ Dans la feuille, l'augmentation des teneurs en glucides totaux et solubles avec la sécheresse se maintient plus longtemps chez le SOUNA₃ que chez le SYNTHETIQUE, où après une importante augmentation de la teneur en ces glucides au 3ème jour, il y a une diminution de celle-ci jusqu'au 10ème jour, bien que la quantité de ces glucides soit supérieure à celle du témoin. Au 14ème jour, les teneurs en ces glucides chez le SYNTHETIQUE deviennent inférieures à celles chez le témoin. Chez le SOUNA₃, l'augmentation des teneurs en glucides totaux et solubles se prolonge jusqu'au 5ème jour de sécheresse ; à partir de là, elles diminuent chez la plante traitée, bien qu'elles restent supérieures à celles chez le témoin jusqu'au 8ème jour. Aux 10ème et 14ème jours, les teneurs des glucides totaux et solubles sont inférieures à celles chez le témoin. La supériorité des teneurs en glucides totaux et solubles de la plante traitée sur celles du témoin se conserve plus longtemps chez le SYNTHETIQUE (jusqu'au 10ème jour) que chez le SOUNA₃ (8ème jour).

L'hydrolyse de l'amidon est assez faible d'une façon générale en début de sécheresse. Cette faiblesse de l'hydrolyse de l'amidon se prolonge plus dans le temps chez les mils que chez l'arachide.

▪ Au niveau de la tige, les teneurs en glucides solubles et totaux sont à tout moment plus élevées chez la plante traitée que chez le témoin chez les deux mils, sauf chez le SYNTHETIQUE au 6ème jour. Chez le SOUNA₃, l'augmentation des teneurs en glucides totaux et solubles se maintient jusqu'au 10ème jour de sécheresse. Chez le SYNTHETIQUE, après une diminution de celles-ci au 6ème jour de sécheresse, il y a une augmentation

jusqu'au 10ème jour, suivie d'une diminution au 14ème jour. L'amidon est, ici aussi, hydrolysé très faiblement dans les premiers jours de sécheresse chez le *SOUINA₃*, l'hydrolyse est plus importante chez le *SYNTHETIQUE*, ce qui est certainement à mettre en relation avec l'évolution de l'activité des amylases dans la tige de ces plantes avec la sécheresse (voir étude sur amylases).

*

* *

Les glucides solubles ont un rôle extrêmement important pour les plantes, surtout en condition de déficit hydrique. Ainsi, *HEBER* et *SANTARIUS* (1964) indiquent que le manque d'eau entraîne une rupture des ponts hydrogènes de lipoprotéines des membranes, ce qui occasionne une perte d'activité comme la photophosphorylation par ces dernières. Ils pensent que les glucides solubles rétabliraient la stabilité de la membrane en se substituant aux ponts hydrogènes de l'eau. Au niveau des chloroplastes, la réaction *HILL* et la photophosphorylation sont supprimées quand ceux-ci sont complètement déshydratés (*SANTARIUS* et *HEBER*, 19671 ; on peut y palier en ajoutant à la préparation, lors de la déshydratation, des glucides solubles. Par ailleurs, *VIEIRA DA SILVA* (1968) montre sur le cotonnier que le potentiel osmotique de la sève dépendait de la concentration en glucides solubles dans les tissus foliaires. En outre, *SANTARIUS* (1973) trouve sur l'épinard, que la protection des thylakoïdes était assurée pendant la déshydratation par la présence de glucides solubles, et que cette protection dépendait de leur concentration et de leur poids moléculaire. D'autre part, *HEBER* et *SANTARIUS* (1976) montrent le double rôle protecteur des glucides solubles pendant la déshydratation pour les membranes : rôle non spécifique (par la diminution de la concentration des substances toxiques pour la membrane) et rôle spécifique (par stabilisation de la membrane].

*

* *

En conclusion, disons que dans la feuille des témoins les mils ont une teneur en glucides solubles plus élevée que l'arachide, qui à son tour a une teneur en amidon plus élevée que celles des mils. Le mil SOUNA₃ a des teneurs en glucides solubles et amidon, dans la feuille, plus élevées que celles chez le SYNTHETIQUE. Dans la tige, le SYNTHETIQUE a des teneurs en glucides solubles et amidon plus élevées que celles chez le SOUNA₃.

Il y a, d'une façon générale, une augmentation de la teneur en glucides solubles et une diminution de celle de l'amidon avec la sécheresse. L'augmentation des teneurs en glucides solubles dans la feuille de la plante soumise à la sécheresse est plus importante chez les mils que chez l'arachide. Le mil SOUNA₃ semble montrer une meilleure régularité dans l'augmentation des glucides solubles (dans la feuille et la tige) que le SYNTHETIQUE. La faible disparition de la teneur en amidon en début de sécheresse est certainement à mettre en rapport avec l'évolution des activités des amylases chez ces plantes. Nous rappelons que, chez le SOUNA₃, il n'y a que l'amylase acide qui augmente d'activité avec la sécheresse, et seulement dans la feuille, surtout quand les résultats sont exprimés en fonction des protéines. Chez le SYNTHETIQUE, l'amylase acide n'augmente d'activité que très peu dans la feuille (extrait brut¹ ; quant à l'amylase alcaline, son activité n'y augmente guère. Au niveau de la tige du SYNTHETIQUE, l'amylase alcaline y augmente d'activité dans le surnageant seulement ; en ce qui concerne l'amylase acide, l'augmentation de son activité ne se rencontre que lorsque les résultats sont exprimés en fonction des protéines, et seulement dans l'extrait brut, donc certainement dans les structures sédimentables de la cellule,

L'augmentation de la teneur en glucides solubles chez les mils doit donc faire intervenir d'une manière assez réduite les activités des amylases. Dans cette augmentation, en plus de

l'intervention limitée des amylases, celle de l'invertase, il y aurait également les transferts d'un organe à un *autre* de la plante et peut-être une biosynthèse qui, malgré la faible teneur en eau de la plante, pourrait se dérouler encore.

Le rôle exact de ces glucides solubles chez le mil en conditions de déficit hydrique devra certainement être déterminé, mais plusieurs auteurs rapportent chez d'autres plantes leur rôle bénéfique pour la plante dans ces conditions (HEBER et SANTARIUS, 1964, 67 et 76 ; VIEIRA DA SILVA, 1968 et SANTARIUS, 19731.

C H A P I T R E I V

CONCLUSION ET DISCUSSION FINALES

Des phénomènes comme le gel lent qui entraîne la formation de glace extracellulaire et la salinité, qui font perdre de l'eau à la cellule, sont des agressions qui sont à rapprocher de celle de la sécheresse sur la plante.

Pendant la sécheresse, certaines plantes supportent assez bien la déshydratation, d'autres la supportent mal, et l'une des caractéristiques de l'aptitude à supporter la déshydratation est la stabilité enzymatique. Le sens, la vitesse et l'importance de la variation de l'activité d'une enzyme dépendent de l'enzyme, de l'aptitude de la plante à supporter la déshydratation et du taux du déficit hydrique. Les enzymes hydrolytiques, quant à ce qui les concerne, se' semblent plutôt augmenter d'activité et l'importance de cette augmentation et celle de la solubilisation de l'activité enzymatique dépendent de la capacité de la plante à supporter la déshydratation (VASSILIEV et al., 1936 ; SPOEHR et al., 1939 ; NIR et al., 1966 ; TAKAOKI, 1966 ; VIEIRA DA SILVA, 1968, 69, 70, 74, 76 ; VIEIRA DA SILVA et al, 1969, 72 et 74).

L'augmentation d'activité d'hydrolases comme la phosphatase acide, la ribonucléase, les protéases et les lipases est préjudiciable au métabolisme de la cellule dans les conditions de déficit hydrique (KROGMANN et al., 1959 ; NIR et al, 1967 ; VIEIRA DA SILVA, 1968, 70, 74, 76 ; CONSTANTOPDULOS et al, 1968 ; BOYER et al, 1970 ; FRY, 1970 ; CHAMPIGY et al, 1971 ; BUTLER et al, 1971 ; VIEIRA DA SILVA et al, 1972 et 74). Par contre, celle

d'hydrolases comme l'invertase et les amylases semble plutôt être bénéfique pour la plante dans ces conditions (GLASZIOU et al, 1963 et 72 ; SANCHER et al, 1963 ; HEBER et SANTARIUS, 1964, 67, 71, 73 et 76 ; VIEIRA DA SILVA, 19681.

Concernant la localisation cellulaire de ces hydrolases, beaucoup de structures de la cellule végétales ont été citées : vacuoles, lysosomes, sphérosomes dictyosomes, réticulum endoplasmique, chloroplastes, etc.. (POUX, 1963 ; MATILE, 1966, 69 et 75 ; NIR et al, 1966 ; RAGETLI et al, 1966 ; RAGETLI, 1967 ; VIEIRA DA SILVA, 1970 et 76 ; BERJAK, 1972 ; BIELESKI, 1973 ; PITT, 1973, 75 ; BUTCHER et al, 19771.

Pour expliquer l'augmentation d'activité des hydrolases lors du déficit hydrique, l'une des hypothèses qui recueille le plus d'adhésions est la destruction de la membrane des organites cellulaires et la libération des enzymes qui, jusque là, étaient contenues dans ces structures. En effet, les organites comme les chloroplastes et les mitochondries semblent très sensibles aux contraintes que subit la cellule lors d'une déshydratation (MARIN et VIEIRA DA SILVA, 1972 ; VIEIRA DA SILVA et al, 1974 ; VIEIRA DA SILVA, 1974 et 76). Les membranes de ces organites peuvent être protégées dans ces circonstances par des substances de nature chimique variée : glucides solubles, certains acides aminés, certaines protéines et quelques composés semi-polaires (HEBER et SANTARILJS, 1964, 67 et 76 ; SANTARIUS, 19731.

Une autre hypothèse expliquant l'augmentation d'activité d'hydrolases lors du déficit hydrique est l'activation des zymogènes, enzymes "potentielles". Ce phénomène pourrait être l'une des premières phases de l'augmentation de l'activité enzymatique.

La troisième hypothèse qui essaie d'expliquer l'augmentation de l'activité des hydrolases consisterait en une nouvelle synthèse de la protéine enzymatique : synthèse *de novo*.

Nous avons étudié, après quelques recherches préliminaires, la variation des activités des phosphatases acide et alcaline, de l'invertase acide et des amylases (α et β) lors du déficit hydrique induit dans la plante par une suspension d'arrosage et un traitement au PEG.600.

Nos échantillons d'études sont constitués fondamentalement par deux variétés de mil : SOUNA₃ et SYNTHETIQUE 1-5-GAM et secondairement par des sorghos NK 120 et NK 108, et par l'arachide 59-127.

En ce qui concerne la phosphatase acide au niveau de la feuille, il y a en général une augmentation d'activité et de solubilisation de celle-ci avec la sécheresse par suspension d'arrosage lorsque l'activité enzymatique est exprimée en fonction des protéines. Cette augmentation d'activité et de solubilisation est plus importante chez les sorghos que chez les mils ; chez les mils, les deux données sont plus importantes chez le SYNTHETIQUE que chez le SOUNA₃. Ceci est conforme aux comportements des plantes dans nos conditions de travail. Les deux mils résistent en effet mieux à la sécheresse que les sorghos, et le SOUNA₃ est plus adapté à la déshydratation que le SYNTHETIQUE, toujours dans nos conditions de travail. L'observation de la solubilisation des protéines et des enzymes semble montrer qu'elle se fait à partir des structures sédimentables de la cellule.

Si l'activité enzymatique est exprimée en fonction de la matière sèche, il y a en général une diminution de l'activité enzymatique, sauf chez le sorgho NK 108. En même temps, la valeur du rapport teneur en protéines/matière sèche diminue en général avec la sécheresse (sauf chez le sorgho NK 108 dans un premier temps). Ceci indique une perte de protéines due certainement à l'action des protéases.

Au niveau de la tige, il y a une augmentation d'activité de la phosphatase avec la sécheresse si l'activité enzymatique

est exprimée en fonction des protéines, surtout chez le SOUNA₃ ; chez le SYNTHETIQUE, l'augmentation n'existe qu'au 5ème jour de sécheresse. Il faut noter que, consécutivement à l'augmentation d'activité de la phosphatase chez le SOUNA₃, il y a également une importante augmentation des glucides solubles dans le même échantillon. L'énergie libérée par l'enzyme pourrait servir à mobiliser ces glucides solubles.

Si l'activité enzymatique est exprimée en fonction de la matière sèche, il n'y a augmentation d'activité enzymatique que chez le SOUNA₃. La valeur du rapport teneur en protéines/matière sèche diminue également avant d'augmenter à la fin du traitement ; ici également l'action des protéases pourrait justifier cette diminution relative des protéines.

- Concernant le traitement au PEG, l'activité de la phosphatase acide augmente en général chez le SOUNA₃ et le SYNTHETIQUE quel que soit le mode d'expression des résultats choisis. La solubilisation de l'activité de l'enzyme se retrouve surtout chez le SOUNA₃ qui, par ces résultats, semble être plus sensible au traitement osmotique que le SYNTHETIQUE, bien qu'il ne soit pas possible dans les délais de notre expérience (111 jours) de noter des différences dans le comportement des deux plantes lors du traitement. La valeur du rapport teneur en protéines/matière sèche diminue avec la sécheresse.

- Quant à la phosphatase alcaline, son activité augmente aussi avec la sécheresse, quel que soit le mode d'expression des résultats choisis. Bien que l'expérience soit plus limitée dans le temps que celle sur la phosphatase acide (sécheresse par suspension d'arrosage), les sorghos ne semblent pas montrer une augmentation de la solubilisation de l'activité de cette enzyme avec la sécheresse, malgré une solubilisation des protéines, même si celle-ci est faible. Le SOUNA₃ en fin de traitement solubilise plus l'activité de l'enzyme que le SYNTHETIQUE.

eci aussi, la valeur du rapport teneur en protéines/matière sèche diminue avec la sécheresse, d'où une perte de protéines ; l'augmentation d'activité de l'enzyme peut s'expliquer par une activation de l'enzyme avec la sécheresse.

• L'étude électrophorétique sur la phosphatase acide des mils montre que lors de la sécheresse, bien que le nombre de bandes chez la plante traitée reste le même que celui chez le témoin, il y a en général une intensification de la coloration des bandes avec la sécheresse de valeurs différentes chez le SYNTHETIQUE et chez le SOUNA₃ et suivant la bande. Ce phénomène peut s'expliquer par l'augmentation des protéines solubles au détriment des structures cellulaires sédimentables, la résistance des structures cellulaires à la destruction étant différente d'une plante à une autre.

• L'invertase acide augmente en général d'activité dans la feuille chez les mils et l'arachide si les résultats sont exprimés en fonction des protéines. Si l'activité enzymatique est exprimée en fonction de la matière sèche, il y a en général une assez large stabilisation chez le mil et une augmentation chez l'arachide. La valeur du rapport teneur en protéines/matière sèche est stable chez le SOUNA₃; chez le SYNTHETIQUE, après une très légère augmentation au début, elle se stabilisera aussi. Chez l'arachide, il y a une diminution de cette valeur avec la sécheresse, ce qui suppose une importante activation de l'enzyme par la sécheresse.

- Au niveau de la tige, l'invertase acide augmente d'activité avec la sécheresse chez les deux variétés de mils, si les résultats sont exprimés en fonction des protéines. Par rapport à la matière sèche, il n'y a une augmentation d'activité enzymatique que chez le SOUNA₃ en début de sécheresse ; il y a une perte de protéines avec la sécheresse (rapport teneur en protéines/matière sèche).

- Concernant les amylases, au niveau de la feuille, l'amylase alcaline n'augmente pas d'activité chez les mils avec la sécheresse ; par contre son activité augmente chez l'arachide. L'enzyme serait activée chez l'arachide en conditions hydriques déficitaires et non chez les mils. L'amylase acide n'augmente d'activité chez le SYNTHETIQUE que dans l'extrait brut et pas dans le surnageant ; chez l'arachide et le SOUNA₃, elle augmente d'activité dans les deux échantillons jusqu'à une certaine limite, lorsque l'activité enzymatique est exprimée en fonction des protéines. Chez le SYNTHETIQUE, l'enzyme doit être seulement active dans les structures sédimentables. Si maintenant cette activité enzymatique est exprimée en fonction de la matière sèche, la tendance est à une stabilisation de l'activité enzymatique. Si l'on se réfère à l'évolution du rapport teneur en protéines/matière sèche (qui reste stable pour un grand temps chez les mils et qui décroît chez l'arachide), l'amylase acide n'est activée d'une façon importante que chez l'arachide.

Au niveau de la tige, les deux amylases voient leur activité diminuer avec la sécheresse chez le SOUNA₃, chez le SYNTHETIQUE, l'amylase alcaline augmente d'activité dans le surnageant et l'amylase acide elle, n'augmente d'activité que lorsque les résultats sont exprimés en fonction des protéines et dans l'extrait brut, sinon elle semble plutôt se stabiliser après une diminution d'activité en début de traitement.

Maintenant pour la localisation cellulaire des hydrolases et la solubilisation des activités de celles-ci avec la sécheresse, nos résultats montrent que les enzymes étudiées se trouvent dans la feuille de mil au niveau de la fraction cellulaire riche en chloroplastes, de la fraction légère contenant certainement parmi d'autres éléments des débris membranaires et des microsomes, et de la fraction soluble. L'obtention d'activité

des hydrolases dans la fraction riche en chloroplastes confirme les résultats de YIN 119451, RAGETLI et al. (19661, NIR et al (1966), RAGETLI (1967) et VIEIRA DA SILVA (1970, 76). Une assez importante activité des hydrolases serait donc contenue dans le chloroplaste. La fraction moyenne est également dans certains cas, riche en activité enzymatique (amylase acide et invertase acide), ce qui montre toujours la part importante des structures sédimentables dans la localisation des hydrolases. L'activité enzymatique dans la fraction soluble peut s'expliquer par l'existence d'hydrolases dans le cytoplasme (phase soluble) ou et dans le système vacuolaire de la cellule.

Lors de la sécheresse, les protéines et les enzymes contenues dans la fraction riche en chloroplastes sont solubilisées et vont enrichir la fraction soluble, ceci confirme l'hypothèse de la décompartmentation et de la destruction d'organites cellulaires comme les chloroplastes lors de la sécheresse. Cette hypothèse qui semble être actuellement admise pour expliquer l'augmentation d'activité des hydrolases lors de la déshydratation,, est confirmée par les résultats de beaucoup de travaux, comme nous l'avons signalé au début de la conclusion.

Les résultats que nous avons obtenus concernant l'augmentation de la teneur en glucides solubles et la diminution de celle en amidon chez les plantes étudiées (mils surtout) confirment ceux déjà obtenus sur d'autres plantes par d'autres auteurs (SPOEHR et al, 1939 ; ILJIN, 1957 ; NAIDU et al, 1967 ; VIEIRA DA SILVA, 1968 et VIEIRA DA SILVA et ADJAHOSSOU, 19781.

Pour finir, disons que pour l'essentiel, il y a eu une augmentation d'activité des hydrolases étudiées avec la sécheresse surtout lorsque l'activité enzymatique est exprimée en fonction des protéines. Le rapport teneur en protéines/matière sèche montre qu'il y a une destruction des protéines avec la

sécheresse. A ce niveau, l'étude des protéases donnerait certainement beaucoup d'informations. Pour l'essentiel Également nous avons montré une solubilisation des protéines et des enzymes à partir de structures cellulaires comme les chloroplastes, ce qui confirme l'hypothèse de la décompartmentation avancée pour expliquer l'augmentation d'activité des hydrolases lors de la déshydratation. A ce niveau, l'étude des lipases et des protéases aiderait à mieux comprendre cette décompartmentation chez le mil lors de la déshydratation. Les lipases en particulier, par leur action sur les membranes, devraient jouer un rôle important dans la déstabilisation de celles-ci lors de la déshydratation de la cellule. Des auteurs (VIEIRA DA SILVA et al, 1974) ont montré l'augmentation d'activité de ces lipases dans des organites comme les chloroplastes et les mitochondries. Ces organites, les chloroplastes en particulier, semblent être les premiers atteints lors d'une déshydratation (VIEIRA DA SILVA, 1973. Il y a certainement un lien entre l'activité de ces lipases et la désorganisation observée chez ces organites lors de la, déshydratation ; ceci indique l'importance de l'étude de ces enzymes chez la plante qui subit une déshydratation.

Nous connaissons les limites de notre travail, mais nous avons tenu à apporter notre modeste contribution à la tâche que représente l'étude de la résistance à la sécheresse des plantes. Nous espérons également avoir aidé à mieux connaître la plante le MIL, qui est l'une des céréales les moins étudiées, et pourtant son importance alimentaire est considérable pour le Tiers-Monde.

R É S U M É

-=-

Nous avons, sur deux variétés de mil : le SOUNA₃ et le SYNTHETIQUE 1-5-GAM, après quelques recherches préliminaires, étudié l'activité de quelques hydrolases : phosphatase, invertase acide et amylases alcaline et acide, dans des conditions hydriques normales et déficitaires (sécheresse par suspension d'arrosage et traitement osmotique par l'arrosage des plantes avec le PEG 600); Nous avons aussi étudié la composition de nos extraits en glucides non structuraux, dans ces mêmes concitions.

La comparaison a été élargie dans certaines expériences, d'une part à deux variétés de sorgho (NK 120 et NK 108) pour des raisons de caractéristiques de résistance à la sécheresse généralement reconnues au sorgho, et d'autre part à l'arachide (la 59-127) en raison de l'importance de cette plante dans le cadre où nous sommes appelés à travailler dans le futur.

Les résultats obtenus sont les suivants :

1 - PHOSPHATASE ACIDE

a) *Dosage quantitatif*

• Activité enzymatique dans la feuille lors d'un déficit hydrique induit par la suspension d'arrosage.

Nous avons pu mesurer l'activité de la phosphatase acide dans l'extrait brut, le surnageant et le culot chez les mils et les sorghos. Dans les conditions hydriques normales, les sorghos ont une activité enzymatique plus élevée que les mils, où

le SYNTHETIQUE montre une activité plus importante que celle du SOUNA₃.

. Si l'activité enzymatique est exprimée en fonction des protéines, il y a en général une augmentation de cette activité avec la sécheresse. L'augmentation de l'activité de la phosphatase acide et de celle de sa solubilisation sont plus importantes chez les sorghos que chez les mils, où ces deux données augmentent plus chez le SYNTHETIQUE que chez le SOUNA₃.

, Si l'activité enzymatique est exprimée en fonction de la matière sèche, il y a en général une diminution d'activité par rapport aux témoins, sauf chez le sorgho NK 108 ; si l'on observe la valeur du rapport teneur en protéines/matière sèche, on constate qu'elle diminue avec la sécheresse, sauf chez le sorgho NK 108 en début de traitement.

▪ Activité enzymatique dans la tige lors d'un déficit hydrique induit par la suspension d'arrosage.

Cette expérience, conduite sur les deux variétés de mil, montre lorsque l'activité enzymatique est exprimée en fonction des protéines, une augmentation d'activité des plantes traitées par rapport à celle des témoins surtout chez le SOUNA₃ ; chez le SYNTHETIQUE, l'augmentation d'activité n'existe que dans les premiers jours de sécheresse. Si les résultats sont exprimés en fonction de la matière sèche, l'augmentation d'activité ne se retrouve que chez le SOUNA₃, chez le SYNTHETIQUE il y a plutôt une diminution d'activité par rapport au témoin.

La valeur du rapport : teneur en protéines/matière sèche diminue avec la sécheresse, surtout chez le SYNTHETIQUE ; il y a augmentation de cette valeur en fin de traitement, surtout chez le SOUNA₃.

▪ Activité de la phosphatase acide dans la feuille lors d'un déficit hydrique induit par traitement osmotique.

Cette expérience effectuée chez les mils montre une augmentation d'activité de la phosphatase acide chez la plante traitée par rapport au témoin quel que soit le mode d'expression des résultats. La solubilisation de l'activité enzymatique lors du traitement est plus importante chez le SOUNA₃ que chez le SYNTHETIQUE, où il semble plutôt y avoir une diminution de celle-ci.

La valeur du rapport teneur en protéines/matière sèche diminue légèrement avec le traitement chez le SOUNA₃ ; chez le SYNTHETIQUE cette diminution est plus importante.

b) *Dosage qualitatif :*

L'étude électrophorétique effectuée sur la feuille des deux mils montre, dans nos conditions d'études, le même nombre de bandes chez le SOUNA₃ et chez le SYNTHETIQUE. Le traitement Triton X 100 fait apparaître dans certains cas une bande de X chez le SYNTHETIQUE. Dans les conditions hydriques normales, l'intensité de la coloration des bandes respectives n'est pas toujours la même chez les deux mils. Avec la sécheresse (7 jours) le nombre de bandes reste le même chez les deux variétés de plantes, mais la coloration des bandes est en général plus importante et l'importance de la coloration d'une bande donnée est en général différente d'un mil à l'autre.

2 - PHOSPHATASE ALCALINE.

L'étude porte sur la feuille des mils et sur celle des sorghos. Les sorghos montrent toujours une activité enzymatique plus importante que celle des mils où celle du SYNTHETIQUE est supérieure à celle du SOUNA₃. Ici également, comme dans le cas de la phosphatase acide, l'activité enzymatique a pu être dosée dans l'extrait brut, le surnageant et le culot.

Avec la sécheresse, il y a en général une augmentation d'activité de l'enzyme, quel que soit le mode d'expression lus résultats ; cette augmentation d'activité est plus importante chez les sorghos que chez les mils. Ici, la solubilisation de l'activité enzymatique est plus importante chez le SOUNA₃ en fin de traitement que chez, le SYNTHETIQUE ; chez les sorghos, la solubilisation diminue avec la sécheresse.

La valeur du rapport:teneur en protéines/matière sèche diminue avec la sécheresse.

3 - INVERTASE ACIDE.

a) *au niveau de la feuille*, les échantillons sont constitués par les deux mils et l'arachide et c'est la suspension d'arrosage qui est adoptée pour induire un déficit hydrique dans les plantes.

Si les résultats sont exprimés en fonction des protéines, il y a en général une augmentation d'activité avec la sécheresse chez les plantes étudiées ; lorsque ceux-ci sont exprimés en fonction de la matière sèche, la tendance chez les mils, surtout chez le SOUNA₃, est à une stabilisation de l'activité ; il y a une légère augmentation de celle-ci chez l'arachide dans les premiers jours de sécheresse. La valeur du rapport de la teneur en protéines/matière sèche diminue chez l'arachide,, se stabilise chez le SOUNA₃ et après une légère augmentation chez le SYNTHETIQUE, il y a également une stabilisation de cette valeur avec la sécheresse.

6) au niveau de La tige : l'étude a été effectuée chez les mils et il y a en général une augmentation d'activité avec la sécheresse si les résultats sont exprimés en fonction des protiiines ; si ceux-là sont exprimés en fonction de la matière sèche, l'augmentation d'activité n'est obtenue que dans les premiers jours de sécheresse chez le SOUNA₃; chez le SYNTHETIQUE

il y a une diminution de celle-ci avec la sécheresse. La valeur du rapport:teneur en protéines/matière sèche diminue, puis augmente en fin de traitement, surtout chez le SOUNA₃.

4 - AMYLASE ACIDE : Etude effectuée sur les mils et l'arachide.

a) *au niveau de La feuille*, si les résultats sont exprimés en fonction des protéines, il y a en général une augmentation d'activité de l'enzyme isauf dans le surnageant du SYNTHETIQUE³ avec la sécheresse jusqu'à une certaine limite ; lorsque ceux-ci sont exprimés en fonction de la matière sèche, la tendance chez les mils et l'arachide est à la stabilisation de l'activité. Cette tendance se maintient mieux chez les mils que chez l'arachide.

La valeur du rapport:teneur en protéines/matière sèche diminue chez l'arachide, se stabilise chez le SOUNA₃ et, après une légère augmentation, celle-ci se stabilise également chez le SYNTHETIQUE.

b) *au niveau de la tige*, si l'activité de l'enzyme est exprimée en fonction des protéines, il y a une augmentation de celle-ci avec la sécheresse dans l'extrait brut du SYNTHETIQUE ; lorsque les résultats sont exprimés en fonction de la matière sèche, il y a plutôt une diminution d'activité suivie d'une stabilisation. Chez le SOUNA₃, il n'y a pas d'augmentation d'activité quel que soit le mode d'expression des résultats, et celle de la plante traitée est inférieure à celle du témoin.

La valeur du rapport teneur en protéines/matière sèche diminue d'abord, puis augmente avec la sécheresse, surtout chez le SOUNA₃.

5 - AMYLASE ALCALINE

a) *au niveau de la feuille*, l'étude a porté sur les mils et l'arachide. Quel que soit le mode d'expression des résultats,

l'activité enzymatique de la plante soumise à la sécheresse diminue par rapport à celle du témoin chez les mils et augmente un général jusqu'à une certaine limite chez l'arachide.

La valeur du rapport:teneur en protéines/matière sèche diminue chez l'arachide, se stabilise chez le SOUNA₃ ; chez le SYNTHETIQUE, cette stabilisation intervient après une légère augmentation en début de traitement.

b) au niveau de La tige, chez le SOUNA₃, il y a une diminution d'activité enzymatique chez la plante soumise à la sécheresse par rapport à celle du témoin, quel que soit le mode d'expression des résultats ; chez le SYNTHETIQUE, il y a une augmentation d'activité seulement dans le surnageant.

La valeur du rapport teneur en protéines/matière sèche diminue d'abord avec la sécheresse, et augmente ensuite, surtout chez le SOUNA₃.

6 - LOCALISATION CELLULAIRE DES ENZYMES ETUDIÉES ET ETUDE DE LA SOLUBILISATION DE LEUR ACTIVITE AVEC LA SECHERESSE.

Cette étude réalisée sur le SYNTHETIQUE montre l'existence d'une activité de la phosphatase acide, de l'invertase acide et de l' α et β amylases dans une fraction lourde, riche en chloroplastes, dans une fraction légère, moyenne et dans la fraction soluble.

Lors de la sécheresse il y a une solubilisation des protéines et de l'activité enzymatique, principalement à partir de la fraction lourde, riche en chloroplastes.

7 - GLUCIDES SOLUBLES ET AMIDON

a) au niveau de la feuille.

Cette étude a porté sur les mils et l'arachide. Les mils ont des teneurs en glucides solubles plus élevées que celle

de l'arachide qui, à son tour, recèle une teneur en amidon supérieure à celle des mils. Le mil SOUNA₃ a des teneurs en glucides solubles et amidon plus élevées que celles chez le SYNTHETIQUE.

b) au niveau de La tige, l'étude a porté sur les mils seulement, et le SYNTHETIQUE a des teneurs en glucides solubles et amidon supérieures à celles du SOUNA₃.

D'une façon générale, aussi bien dans la feuille que dans la tige, il y a eu une augmentation des teneurs en glucides solubles avec la sécheresse et une diminution de celles en amidon. L'augmentation des teneurs en glucides solubles a été plus importante chez les mils que chez l'arachide. Le SOUNA₃ montre une augmentation de ces glucides plus importante que celle chez le SYNTHETIQUE.

B I B L I O G R A P H I E

- ADJAHOSSOU, F., 1977 : Contribution à l'étude des caractères physiologiques de résistance à la sécheresse du palmier à huile (*Elaeisis guineensis* Jacq). Thèse de 3ème cycle, Paris VII.
- ADJAHOSSOU, F., et VIEIRA DA SILVA, J.B., 1978 : Teneur en glucides et en amidon et résistance à la sécheresse chez le palmier à huile. OLEAGINEUX, 33 (12), 599-604.
- ARNON, D.I., 1949 : Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphénoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant physiol.* 24, 1-15.
- ASHWELL, G., 1957 : Colorimetric analysis of sugars. *Methods in enzymology*, III, 73-105.
- BAMBERGER, E.S., PARK, R.B., 1966 : Effect of hydrolytic enzymes on the photosynthetic efficiencies and morphology of chloroplasts. *Plant Physiol.* 41, 1591-1600.
- BEAUFAY, H., JACQUES, P. BAUDHUIN, P., SELLINGER, O.Z., BERTHET, J. et DE DUVE, C., 1964 : Tissuefractionation studies 18. Résolution of mitochondrial fractions. from rat liver into three distinct populations of cytoplasmic particles by means of density equilibration in various gradients. *Biochem. J.*, 92, 184-205.
- BENNETT, O.L., DOSS, B.D., ASHLEY, D.A., KILMER, V.J. et RICHARDSON, E.C., 1964 : Effects of soil moisture regime on yield, nutrient content and evapotranspiration for three annual forage species. *Agronomy Journal*, 56, 195-198.
- BERJAK, P., 1972 : Lysosomal compartmentation : ultrastructural aspects of the origin, development, and function of vacuoles in roots cells of *Lepidium satiarum*. *Ann. Bot.*, 36, 73-81.
- BERNFELD, P., 1955 : Amylases α and β . *Methods in enzymology*, I 149-158.
- BHATIA, I.S., SINGH, R. et Mrs DLJA, S., 1972 : Changes in carbohydrates during growth and development of Bajra (*Pennisetum typhoides*), Jowar (*Sorghum Vulgare*) and Kangni (*Setaria italica*) - *J. SCI. Fd. Agric.*, 23, 429-440

- BIELESKI, R.L., 1973 : Phosphate pools, phosphate transport, and phosphate availability. *Ann. Rev.Plant.Physiol.* 24, 225-252.
- BOYER, J.S., BOWEN, B.L., 1970 : Inhibition of oxygen evolution in chloroplasts isolated from leaves with low water potentials. *Plant.physiol.*, 45, 612-615.
- BROWN, K.J., 1963 : Rainfall, tie ridging and crop yields in Sukumaland, Tanganyika. *Empire cotton growing Review*, 40, 34-40.
- BUTC'KER, H.C., WAGNER, G.J. et SIEGELMAN, H, 1977 : Localization of acid hydrolases in protoplasts : Examination of the proposed lysosomal function of the mature vacuole. *Plant Physiol.*, 59, 1098-1103.
- BUTLER, W.L., OKAYAMA, S., 1971 : The photoreduction of C-550 in chloroplasts and its inhibition by lipase. *Biochim.Biophys.*, 245, 237-239.
- CHAMPIGNY, M.L. et MIGINIAC-MASLOW, M., 1971 : Relations entre l'assimilation photosynthétique de CO₂ et la photophosphorylation de chloroplastes isolés. *Biochim-Biophys.*, 234, 335-343.
- CONSTANTOPOULOS, G., et KENYON, C.N., 1968 : Release of free fatty acids and loss of HILL activity by aging spinach chloroplasts. *Plant Physiol.*, 43, 531-536.
- CORBETT, J.R. et PRICE, C.A., 1967 : Intracellular distribution of p-nitrophenyl-phosphatase in plants. *Plant physiol* 42, 827-830.
- CURSON, H.H., 1940 : Millet grasses in native areas. *Farming in South Africa*, 15, 187-188.
- DE DUVE, C, et BAUDHUIN, P., 1966 : Peroxisomes (Microbodies and related particles). *Physiol. Rev.* 46, 323-357.
- DE DUVE, C, et WATTIAUX, R., 1966 : Functions of lysosomes. *Ann. Rev. Physiol.*, 28, 435-492.
- DE GEUS, J.G., 1967 : *Fertilizer guide for tropical and Sub-tropical farming*. Zurich, Switzerland, Conzett and Huber, 70-76
-

- DIOP, F., 1977 : Essais préliminaires sur la résistance à la sécheresse - Résultats des programmes de recherches agronomiques. Institut sénégalais de recherches agricoles (I.S.R.A.)
- FANOUS, M.A., 1967 : Test for drought resistance in pearl millet (*Pennisetum typhoïdeum*) *Agronomy Journal*, 59, 337-340.
- FERRARIS, R., 1973 : Pearl millet (*Pennisetum typhoïdes*) *Review series*, 1. Commonwealth Bureau of pastures and field crops.
- FOSKET, D.E. et MIKSCH, J.P., 1966 : A histochemical study of seedlings shoot apical meristem of *Pinus lambertiana* - *Am. J. Bot.*, 53, 694-702.
- FRY, K.E., 1970 : Some factors affecting the HILL reaction activity in cotton chloroplasts. *Plant physiol.*, 45, 465-469.
- GATES, C.T., 1957 : The response of young tomato plant to a brief period of water shortage : III . Drifts in nitrogen and phosphorus. *Aust. J. Biol. sci.*, 10, 125-146.
- GAYLER, K.R. et GLASZIOU, K.T., 1972 : Physiological functions of acid and neutral invertases in growth and sugar storage in sugar cane. *Physiol. Plant.*, 27, 25-31.
- HADZIYEV, D., MEHTA, S.L. et ZALIK, S., 1969 : Nucleic acids and ribonucleases of wheat leaves and chloroplasts. *Canad. J. Biochem.*, 47, 273-282.
- HATCH, M.D. et GLASZIOU, K.T., 1963 : Sugar accumulation cycle in sugar cane III. Relationship of invertase activity to sugar content and growth rate in storage tissue of plant grown in controlled environment. *Plant physiol.* (Lancaster), 38, 344-348.
- HEBER, L.J., SANTARIUS, K.A., 1964 : Loss of adenosine triphosphate synthesis caused by freezing and its relationship to frost hardiness problems. *Plant Physiol.* 39, 712-719.
- HEBER, U. et SANTARILUS, K.A., 1976 : Water stress during freezing - Water and plant life. *Ecological studies*, 19, Springer-verlag Berlin, Heidelberg, New-York, 253-267.

- HSIAO, T.C., 1973 : Plant responses to water stress. *Ann. Rev. Plant. Physiol.*, 24, 519-570.
- ILJIN, W.S., 1930 : Di Ursachen der Resistenz von Pflanzenzellen gegen Austrocknen. *Protoplasma*, 10, 379-414.
- ILJIN, W.S., 1957 : Causes of death of plants as a consequence of loss of water : conservation of life in desiccated tissues. *Bull. Torrey bot. CZ.*, 80, 166-177.
- ILJIN, W.S., 1957 : Drought resistance in plants and physiological processes. *Ann. Rev. Plant. Physiol.* 8, 257-274.
- ITAI, c. et BENZIONI, A., 1976 : Water stress and hormonal response in water et plant life. *Ecological studies* 19 (Springer Verlag, Berlin), 225-242.
- JOHNSON, R.M. et RAYMOND, W.D., 1964 : The chemical composition of some tropical food plants : 1. Finger and bulrush millets. *Tropical Sci.*, 6, 6-11.
- KANITAR, N.V., 1944 : Dry farming in India. *Scientific Monograph of the Imperial Council of Agricultural Research*, 15, 352.
- KAWASHIMA, N., IMAI, A. et TAMAKI, E., 1967 : Studies of protein metabolism in higher plants. IV. Changes in protein components in detached leaves of tobacco. *Plant Cell. Physiol.*, 8, 595.
- KAWASHIMA, N., FUKUSHIMA, A., IMAI, A. et TAMAKI, E., 1968 : Studies on protein metabolism in higher plants. V. Some properties of tobacco leaf protease increasing during curing. *Agr. Biol. Chem.*, 32, 1141.
- KRAMER, P.J., 1974 : Fifty years of progress in water relations research. *Plant. Physiol.*, 54, 463 - 471.
- KRISHNASWAMY, N., 1962 : Bajra, *Pennisetium typhoides*. S. and H. *cereal crop series of the Indian Council of Agricultural Research*, 2, 97.
- KROGMANN, D.W., TAGENDORF, A.T., 1959 : Inhibition of HILL reaction by fatty acids and metal chelating agents. *Arch. Biochem. Biophys.*, 80, 421-430.
-

- KURSANOV, A.L., 1963 : Metabolism and transport of organic substances in the phloem. *Adv. Bot. Res.*, 1, 209-279.
- LINHART, K. et WALTER, K., 1963 : Phosphatases : determination in serum with P-nitrophenyl phosphate. In *Methods of enzymatic analysis*. H.U. Bergmeyer ed. Academic Press New-York, 783-785.
- LOWRY, O.H., ROSEBROUGH, N.T., FARRAL, A.L. et RANDALL, R.J., 1951 : Protein measurements with Folin phenol reagents.. *J. Biol. chem.*, 193, 265-275.
- MARIN, B. et VIEIRA DA SILVA, J : Influence de la carence hydrique sur la répartition cellulaire de l'acide ribonucléique foliaire chez le cotonnier. *Physiol. Plantarum*, 27, 150-155.
- MASEFIELD, G.B., WALLIS, M., HARRISON, S.G. et NICHOLSON, B.E., 1969 : The Oxford book of foods plants. London, UK, Oxford University Press. 10.
- MATILE, Ph., 1966 : Enzyme der vakuolen aus wurzelzellen von Maiskeimlingen. Ein Beitrag zur funktionellen Bedeutung der vakuole bei der intrazellulären verdauung. *Z. Naturforsch.*, 21b, 871-878.
- MATILE, Ph., 1968a : Lysosomes of root tip, cells in corn seedling. *Planta* (Berl.), 79, 181-196.
- MATILE, Ph., 1968b : Aleurone vacuoles as lysosomes. *Z. Pflanzenphysiol.*, 58, 365-368.
- MATILE, Ph., 1969 : Vacuoles as lysosomes of plant cells. *Biochem. J.*, 111, 26.
- MATILE, Ph., 1975 : The lytic compartment of Plant cell. Springer-verlag, New-York.
- MATILE, Ph. et MOOR, Ph., 1968 : Vacuolation : origin and development of lysosomal apparatus in root-tip cell. *Planta*, 80, 159-175.
- MATILE, Ph. et WINKENBACH, F., 1971 : Function of lysosomes and lysosomal enzymes in the senescing corolla of Morning glory (*Ipomea purpurea*) - *J. Exp. Bot.* 22, 759-771.

- MAURER, H.R., 1971 : Disc electrophoresis and related techniques of Polyacrylamide gel electrophoresis. ed. WALTER DE GRUYTER - Berlin, New-York.
- NAIDU, B.A., VENKATESWARLU, B., 1967 : Influence of soil moisture on sugar and nitrogen contents of *Pennisetum typhoides* S. and H. *Andhra Agr. J.* 14, 143-148.
- NIR, I., POLJAKOFF-MAYBER, A., 1966 : The effect of water stress on activity of phosphatases from Swiss chard chloroplasts. *Israël J. Botany*, 15, 12-16.
- NIR, I., POLJAKOFF-MAYBER, A., 1967 : Effects of water stress on photochemical activity of chloroplasts. *Nature*, 213, 418-419.
- NIR, I., POLJAKOFF-MAYBER, A., KLEIN, S., 1970 : The effects of water stress on mitochondria of root cells. *Plant. Physiol.*, 45, 173-177.
- ONOFOGHARA, F.A. et KOROMA, S.A., 1974 : Histochemical localization of enzymes in cucurbitaceae acid phosphatases. *Annals of botany*, 38, 155.
- OPARINE, A.I., 1953 : Variation de l'activité des enzymes dans la cellule végétale sous l'effet des facteurs extérieurs. *Bull. soc. chim. Biol.*, 35, 67-82.
- PITT, D., 1973 : Solubilization of molecular forms of lysosomal acid phosphatase of *Solanum tuberosum* L. leaves, during infection by *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary, *J. gen. Microbiol.*, 77, 117-125
- PITT, D., 1975 : Lysosomes and all function. *Integrated themes in Biology*. Logman, London and New-York.
- POPOVA, Z.N., 1941 : Enzyme activity in spring wheat in relation to soil drought. *Chem. abstr.* 35, 5538-5542.
- POUX, N., 1963a : Localisation de la phosphatase acide dans les cellules meristématiques de ble (*Triticum vulgare* Vill.) *T. Microscopie*, 2, 485-489.

- POUX, N., 1963b : Localisation des phosphates et de la phosphatase acide dans les cellules des embryons de blé (*Triticum vulgare* Vill), lors de la germination. *J. Microscopie*, 2, 557-568.
- PUJARNISCLE, S., 1966 : Etudes préliminaires sur l'activité enzymatique des lutoïdes du latex d'*Hevea brasiliensis* : Distribution de la phosphatase acide, de la β -glucosidase et de la cathépsine dans le latex. *C.R. Acad. sci. Paris*, 262, 923-925.
- PUJARNISCLE, S., 1968 : Caractère lysosomal des lutoïdes du latex d'*Hevea brasiliensis* Mull. Arg. *Physiol. veg.* 6, 27-46.
- PUJARNISCLE, S., 1969 : Etudes biochimiques des lutoïdes du latex d'*Hevea brasiliensis* Mull. Arg. Différences et analogies avec les lysosomes. Thèse de Doctorat d'Etat (Sc. Nat.) A.O. 3379, Orsay.
- RAGETLI, H.W.J., 1967 : Virus host interactions, with emphasis on certain cytopathic phenomena. *Can. J. Botany*, 45, 1221-1234.
- RAGETLI, H.W.J., WEINTRAUB, M., et RINK, U.M., 1966 : Latent acid phosphatase in chloroplasts. *Can. J. Botany*, 44, 1723-1725.
- RATNASWAMY, M.C., 1960 : Studies in cereals. Structure in relation to drought resistance. *Madras Agr. J.* 47, 427-436.
- SACHER, J.A., HATCH, M.D. et GLASZIOU, K.T., 1963 : Sugar accumulation cycle in Sugar cane III. Physical and metabolic aspects of cycle in immature storage tissues. *Plant. Physiol.* (Lancaster), 38, 348-354.
- SAMADENI, E.G., 1967 : Enzymatic characterization of lysosome equivalents (spherosomes) in corn seedlings. *Pan-ta* (Berl), 72, 91-118.
- SANTARIUS, K.A., 1971 : The effects of freezing on thylakoid membranes in the presence of organic acids. *Plant. Physiol.*, 48, 156-162.
- SANTARIUS, K.A., 1973 : The protective effect of sugar on chloroplast membranes during temperature and water stress and its relationship to frost, desiccation and heat resistance. *Planta* (Berl.), 113, 105-114.

- SANTARIUS, K.A. et HEBER, C., 1967 : Das verhalten von HILL reaktion und photophosphorylierung isolierter chloroplasten in abhängigkeit vom Wassergehalt. II. Wasserentzug über CaCl_2 . *Planta* (Berl.), 73, 109-137.
- SHEILA, M., MCGREGOR et STREET, H.E., 1953 : The carbohydrate nutrition of tomato roots. IV. The nature and distribution of acid phosphatases. *Annals of Botany*, 17, 385-394.
- SIBAND, P., 1977 : Physiologie de la nutrition du mil. Principaux résultats 1974-1977. Institut sénégalais de recherche agricole.
- SISAKIAN, N.M., 1937 : Prevailing direction of enzymatic action as an index of drought resistance in cultivated plants. 1. The prevailing direction in drought-resistance and non-resistance strains of wheat. *Biokhimiya*, 2, 687.
- SISAKIAN, N.M. et KOPYAKOVA, A., 1938 : Prevailing direction of enzymatic action as an index of drought resistance in cultivated plants. II. Prevailing direction of protease action in drought-resistant and non-resistant strains of wheat. *Biokhimiya*, 3, 796.
- SLATYER, R.O., 1970 : comparative photosynthesis, growth, and transpiration of two species of *Atriplex*. *Planta*, 93, 175-189.
- SPOEHR, H.A. et MILNER, H.W., 1939 : Starch dissolution and amylolytic activity in leaves. *Proc. Amer. Phil. Soc.*, 81, 37-38.
- STOKER, O. 1948 : Beitrage zu einer theorie der Dürresistenz. *Planta*. (Berl.), 35, 445-466.
- STOKER, O., 1961 : Les effets morphologiques et physiologiques du manque d'eau sur les plantes. Recherche sur la zone aride. XI. Echanges hydriques des plantes en milieu aride ou semi-aride. Unesco, Paris, 69-113.
- STWITE, C.A. et TODD, G.W., 1969 : Some enzyme and protein changes associated with water stress in wheat leaves. *Crop Sc.*, 9, 510.
- TAKAOKI, T., 1968 : Relation between drought tolerance and aging in higher plants. II. Some enzymatic activities. *Bot. Mag.* 81, 297.

- TODD, G.W., 1972 : Water deficits and enzymatic activity.
In : *Water deficits and plant growth*, 3, (ed. T.T. KOZLOWSKI ; New-York, London : Academic press), 177-216.
- TODD, G.W. et YOO, B.Y., 1964 : Enzymatic changes in detached wheat leaves as affected by water stress - *Phyton* (Buenos-Aires), 21, 61.
- VANDEN BORN, W.H., 1963 : Histochemical studies of enzyme distribution in shoots tips of white spruce (*Picea glauca* Moench).
Cand. J. Bot., 41., 1509-1527.
- VASSILIEV, I.M., et VASSILIEV, M.G., 1936 : Changes in carbohydrate content of wheat plants during the process of hardening for drought resistance. *Plant. Physiol.* 2, 115-125.
- VIEIRA DA SILVA, J.B., 1968a : Influence du potentiel osmotique du milieu de culture sur l'activité de la ribonucléase dans trois espèces de *Gossypium*. *C.R. Acad. Sc.* (Paris), 266, 2412-2415.
- VIEIRA DA SILVA, J.B., 1968b : Le potentiel osmotique du milieu de culture et l'activité soluble et latente de la phosphatase acide dans le *Gossypium thurberi*. *C.R. Acad. Sc.* (Paris), 267, 729-732.
- VIEIRA DA SILVA, J.B., 1968c : Influence du potentiel osmotique de la solution nutritive sur la teneur en glucides solubles et amidon de trois espèces de *Gossypium*. *C.R. Acad. Sc.* (Paris), 267, 1289-1292.
- VIEIRA DA SILVA, J.B., 1969 : Comparaison entre cinq espèces de *Gossypium* quant à l'activité de la phosphatase acide après un traitement osmotique. Etude de la vitesse de solubilisation et de formation de l'enzyme. *Z. Pflanzenphysiol*, 60, 385-387.
- VIEIRA DA SILVA, J.B., 1970 : Contribution à l'étude de la résistance à la sécheresse dans le genre *Gossypium* : Variation de quelques activités enzymatiques. *Physiol. vég.*, 8, (3), 413-447.
- VIEIRA DA SILVA, J.B., 1970 : 1 - Recherches sur diverses manifestations de la résistance à la sécheresse chez les cotonniers. 2 - Proposition donnée par la faculté. *Thèses de Doctorat d'Etat* - ORSAY. A.O. 4685.

- VIEIRA DA SILVA, J.B., 1974 : Ultrastructural and enzymatic effects of water stress in cotton. Xbstr., 73. Intern. Ass. *Plant Physiol.*, 1 st Meet. Würzburg.
- VIEIRA DA SILVA, J.B., 1976 : water stress, ultrastructure and enzymatic activity. *Ecological Studies. Analysis and Synthesis*, 19, (water and plant life) , (A), 207-224.
- VIEIRA DA SILVA, J.B., NAYLOR, A.W., KRAMER, P.J., 1974 : Some ultrastructural and enzymatic effects of water stress in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) leaves. *Proc. Nat. Acad. Se.*, 71, 3243-3247.
- VIEIRA DA SILVA, J.B., POISSON, Ch., 1969 : Solubilisation hydrolytiques chez *Gossypium hirsutum*, *G. Anomalum* et des dérivés de l'hybridation entre les deux espèces. *Can. J. Genet. Cyt.*, 11, 582-586.
- VIEIRA DA SILVA, J.B., VELTKAMP, J., 1970 : Action du potentiel osmotique de la solution nutritive sur la réaction de HILL et la photophosphorylation de chloroplastes du cotonnier. *G.R. Acad. Se. (Paris)*, 271, 1376-1379.
- WAHAB, H.B.A., 1972 : Influence of moisture, temperature and defoliation systems on water use efficiency of forage crops. *Dissertations Abstracts International*, 32, 4983B
- WILSON, K. et KATHERINE, S., 1949 : Histochemical localisation of acid phosphatase during the development of cucurbit fruits. *km. J. Bot.*, 36, 806-807.
- YIN, H.C., 1945 : A histochemical study of the distribution of phosphatase in plant tissues. *New Phytol*, 44, 191-195.

- LA DESERTIFICATION (1977) Dossier réalisé par les Nations Unies
LE COURRIER, 47, (janvier-février 1978), 28-64.

- LA SECHERESSE DE 1976 : Dossier réalisé par l'Institut National de la Recherche Agronomique (I.N.R.A.) Paris - FRANCE.