

CHAPITRE XIV

EFFETS DE LA CONTRAINTE HYDRIQUE SUR LA PHOTOSYNTHÈSE DU MIL

J.F. BOIS

D.P.V.E., Centre d'études de Cadarache
13 108 St Paul Lez Durance Cedex

La réponse à la contrainte hydrique du mil est étudiée en conditions contrôlées, sur différentes populations. Deux méthodes ont été utilisées : la première concerne la mesure des échanges gazeux (CO_2 et H_2O) en chambre d'assimilation; la seconde concerne la mesure *in vivo* de la fluorescence de la chlorophylle. L'étude de la régulation des échanges gazeux se révèle peu discriminante entre populations. La contrainte hydrique affecte la photosynthèse par effet stomatique et par effet non-stomatique. Une intervention précoce de la contrainte hydrique sur les mécanismes photochimiques est mise en évidence. Pour les potentiels hydriques inférieurs à -15 bars, les paramètres de fluorescence montrent une différence significative entre deux populations, suggérant une disparité de stabilité de leur système photosynthétique.

I - INTRODUCTION

Le mil (*Pennisetum glaucum* L.) présente une photosynthèse de type métabolique C4 caractérisée par une haute capacité d'assimilation du CO_2 ($2,77 \text{ mg m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ à saturation Mac Pherson, 1973) et par la structure anatomique du syndrome de Krantz (Maiti 1990). L'arrangement centrifuge des chloroplastes de la gaine périvasculaire est typique du groupe enzyme malique à NADP (Lavergne 1979). La photosynthèse du mil présente une température optimale comprise entre 35° et 40° C (Mac Pherson 1973); elle répond linéairement à l'augmentation de CO_2 et varie avec l'âge des feuilles, le maximum se situant après l'émergence de la ligule.

L'assimilation du CO_2 est affectée par la contrainte hydrique bien qu'elle ne soit pas parmi les premiers processus touchés (Hsiao 1977). La diminution de la photosynthèse est due à la limitation de la fourniture en CO_2 consécutive à la fermeture stomatique, à l'augmentation des résistances internes au transfert du CO_2 jusqu'aux sites de carboxylation et à la limitation de l'activité des chloroplastes. A plus long terme, s'ajoute la réduction de surface foliaire entraînée par l'accélération de la sénescence.

L'effet stomatique entraîne l'augmentation de la résistance à la diffusion du CO_2 (r_s). Pour Slatyer (1973) la quasi totalité de la diminution de la photosynthèse doit lui être attribuée. De même pour Quick (1992) pour le lupin et le tournesol. Paradoxalement, la concentration interne en CO_2 (C_i) reste haute pour Kaiser (1987) et Briggs (1986) pendant le stress hydrique.

L'effet non stomatique résulte de l'augmentation des résistances internes au transfert du CO₂ (r_m) qui intègre une composante physique (transport en phase liquide, passage des membranes) et une composante biochimique. Pour Hsiao (1973) r_m resterait constante jusqu'à 75 % de contenu relatif en eau (CRE). Il en est de même chez le mil où r_m reste stable entre 95 et 65 % de CRE alors que chez le maïs, r_m augmente à partir de 75 % de CRE (Slatyer 1973). De nombreux auteurs (Jones 1985, Bjorkman 1984, Farquhar 1982, Cornic 1983) ont proposé des méthodes basées sur les résistances au transfert des gaz, pour calculer la part revenant aux effets stomatiques ou non stomatiques dans la diminution de la photosynthèse.

Les enzymes de carboxylation sont très résistantes au stress hydrique (Eastin 1988, Hsiao 1973). Il en est de même des structures membranaires des chloroplastes: les dommages permanents aux chloroplastes se produisent en dessous de 55 % de CRE et de -18,5 bars chez le maïs (Giles 1974) mais sont absents chez le sorgho à -37 bars (Giles 1976). A faible intensité lumineuse, il n'y a pas d'inhibition des réactions primaires de la photosynthèse jusqu'à 50 % de CRE (Kaiser 1987). Cependant, la contrainte hydrique est le plus souvent associée aux fortes lumières. Il s'en suit une dégradation des processus photochimiques qui se traduit dans les mécanismes de fluorescence de la chlorophylle. Celle-ci est un des moyens de dissipation de l'énergie lumineuse excédentaire. Elle dépend du niveau d'oxydoréduction des premiers accepteurs d'électrons du photosystème II. La perturbation du transfert d'électrons entraîne des modifications importantes de la cinétique de fluorescence qui sert alors d'indicateur de fonctionnement du photosystème (Schreiber 1987, Ogreen 90). En conditions optimales, après un pic d'induction de fluorescence, celle-ci diminue rapidement par un phénomène d'extinction (quenching de fluorescence). La composante photochimique de l'extinction dépend des capacités de réoxydation des transporteurs d'électrons. Elle est liée linéairement à l'intensité photosynthétique (Schreiber 1987, Plesnicar 1991). Elle est diminuée fortement par les contraintes environnementales. De nombreux auteurs ont utilisé les mesures de fluorescence dans les études de réponse à la contrainte hydrique (Ogreen 90, Havaux 1988). La stabilité du quenching photochimique a été associée à la résistance variétale à la sécheresse (Havaux 1988).

La technique de mesure des échanges gazeux et la mesure *in vivo* de la fluorescence de la chlorophylle ont été appliquées à différentes populations de mil soumises à une contrainte hydrique pour tenter d'identifier des différences variétales de réponse photosynthétique au stress hydrique.

II - MATERIEL ET METHODES

• Trois variétés récoltées par L. Marchais (généticien ORSTOM) dans des zones écologiques différentes, sont testées par mesure d'échanges gazeux : - N85 293, mil précoce sahélien (origine Gao, Mali), - SOMNO, mil tardif Soudanien (origine Gaya, Niger), - S8694, mil sauvage (Adrar des Iforas, Mali). Quatre autres sont utilisées dans un programme multidisciplinaire et ont été choisies pour leur similitude de cycle phénologique et leur différences connues vis-à-vis de la sécheresse; elles sont étudiées

par mesure de fluorescence : - HKP, mil cultivé dans la région de Niamey, Niger, - ICMVIS 85327 (IC27), sélection ICRISAT, sensible à une sécheresse de fin de cycle, - ICMVIS 86330 (IC30), sélection ICRISAT, résistant à une sécheresse de fin de cycle, - S8549, mil sauvage.

- Les plants sont cultivés en conditions contrôlées avec une photopériode de 12 h, un éclairage de $500 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 28°C et 60% d'humidité relative le jour, 22°C et 80 % la nuit. Le milieu de culture est, soit un sol sableux enrichi en NPK, soit un sable grossier avec solution nutritive de type Hoagland modifiée distribuée en excès plusieurs fois par jour.

- Le dispositif de mesure d'échange gazeux est un système ouvert comprenant un compartiment aérien étanche où la température, l'hygrométrie et le débit d'air sont contrôlés. La teneur en eau de l'air (hygromètre à point de rosée) et la teneur en CO_2 (analyseur à infrarouge) sont mesurées en permanence. La transpiration et la photosynthèse de la plante sont calculées par différence entre l'air d'entrée et l'air de sortie. Le compartiment aérien permet l'introduction d'un plant au stade végétatif (25 à 35 jours environ). Un compartiment "feuille" peut être installé sur le dispositif. Une lampe de 1000 W assure un éclairage de $900 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ au sommet du feuillage et $2000 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ dans le compartiment "feuille". La contrainte hydrique est obtenue en quelques jours, par arrêt de l'irrigation. Elle est suivie par prélèvement d'échantillons sur des feuilles adultes (rangs 3 ou 4) pour la détermination du potentiel hydrique foliaire à la presse à membrane et du contenu relatif en eau (CRE).

- Le système de mesure de fluorescence (Hansatech type MFMS) comprend une pince foliaire, un module central avec la source de lumière modulée et le détecteur, une source de lumière pulsée saturante. La source modulée produit un signal qu'il est possible de distinguer des autres sources de lumière ($8 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 870 Hz, 580 nm) mais dont l'intensité est trop faible pour déclencher la photosynthèse. Le détecteur ne prend en compte que la lumière modulée réémise par fluorescence de longueur d'onde supérieure à 700 nm. La pince foliaire isole une surface de $1,76 \text{ cm}^2$; elle comporte plusieurs orifices permettant l'accès des différentes sources de lumières et du détecteur. La lumière saturante ($8000 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$) est délivrée sous forme d'éclairs de 0,3 s toutes les 10 s. La plante est éclairée par une lumière continue de $500 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ au niveau de la pince. La pince est appliquée sur la partie médiane d'une feuille adulte (rang 3 ou 4 à partir de l'apex).

La cinétique de fluorescence est obtenue selon la méthode du pulse de saturation (Schreiber 1987). Après une adaptation à l'obscurité de quelques minutes, la feuille est soumise à la lumière modulée qui donne le niveau de fluorescence initiale (F_0) puis, à l'ouverture de la lumière continue et de la lumière saturante, la fluorescence variable (F_v) présente un pic, c'est la fluorescence maximale (F_m); les pics secondaires liés aux éclairs saturants se surajoutent sur F_v , c'est la fluorescence variable à saturation (F_{vs}). Ensuite des phénomènes d'extinction de la fluorescence (quenching) se mettent en place.

Un état d'équilibre est obtenu en quelques minutes. Avec ces différents paramètres, on calcule selon la formule de Schreiber le quenching photochimique (qQ) qui est un indicateur de l'état d'oxydoréduction des transporteurs d'électrons du photosystème II.

$$qQ = F_{vs} - F_v / F_{vs} - F_o$$

Lors de la contrainte hydrique, les différents paramètres de la cinétique de fluorescence sont modifiés (F_o et surtout F_{vs}); la valeur de qQ traduit ces modifications.

III - RESULTATS

1) Echanges gazeux

La figure 1a présente la relation entre le taux de photosynthèse de deux cultivars de mil et l'éclairement. On note que le plateau de saturation de la photosynthèse n'est pas atteint pour un éclairement proche de $2000 \mu E m^{-2} s^{-1}$, ce qui est conforme aux valeurs classiques des plantes en C4. Les courbes des deux variétés sont similaires avec un taux maximum de photosynthèse élevé de l'ordre de $2 mg de CO_2 m^{-2} s^{-1}$. La figure 1b montre l'effet d'une contrainte hydrique suivie d'une réhydratation sur les courbes de saturation photosynthétiques d'un plant de mil cv. N85293. Les taux de photosynthèse sont fortement réduits pour toutes les valeurs d'éclairement lors du stress. La récupération est complète en 4 jours. L'évolution de la photosynthèse (P) en fonction de la transpiration (T) de plants de mil (cv. Somno) soumis à une séquence de dessèchement suivie d'une réhydratation est décrite dans la figure 2a. Les données sont exprimées en valeurs relatives par rapport aux valeurs maximales atteintes avant l'application de la contrainte. On note une décroissance régulière et pratiquement simultanée des deux paramètres, avec cependant un passage en dessous de la droite d'équivalence $P=T$ à partir des valeurs de 70 % de P et T : pour 30 % de transpiration, il ne subsiste que 20 % environ de photosynthèse. Les points correspondants à la phase de réhydratation se superposent à ceux de la phase de dessèchement. Pour chaque point expérimental, le calcul de la différence entre P et T exprime l'écart entre P et la droite d'équivalence $P=T$. Il est mis en relation avec la transpiration relative (figure 2b). On peut montrer par le calcul utilisant les différentes résistances au transfert du CO_2 et de H_2O , que lorsque $P-T=0$, les facteurs d'augmentation de la résistance interne (r_m) et de la résistance stomatique (r_s) sont identiques. Lorsque $P-T$ est négatif, l'augmentation de r_m devient prédominante; c'est le cas en-dessous de 70 % de transpiration.

2) Fluorescence de la chlorophylle

La figure 3 montre la cinétique de fluorescence d'une feuille témoin de potentiel hydrique -3,6 bars. La figure 4 présente la relation entre le quenching de fluorescence (qQ) et le contenu relatif en eau (CRE) de la feuille. Sur feuilles excisées mises en dessèchement rapide, comme sur plante entière avec un dessèchement plus lent, en-dessous de 90 % qQ est lié linéairement au CRE. Les relations entre les paramètres de fluorescence et le potentiel hydrique foliaire sont présentées dans la figure 5. La fluorescence initiale (F_o) varie avec le stress hydrique. Cette variation exprimée par la différence entre la valeur F_o en début et F_o' en fin de cinétique, est liée linéairement au potentiel hydrique (figure 5a). Elle augmente lorsque celui-ci diminue. La figure 5b

montre l'évolution de qQ en fonction du potentiel hydrique foliaire. Lorsque le potentiel s'abaisse de -5 à -15 bars, qQ diminue fortement, puis plus lentement au-delà de -20 bars. La relation est décrite par une fonction de type puissance ($Y = aX^b$). Les 4 variétés testées donnent la même relation (résultats non présentés). Entre 0 et -15 bars les différences sont faibles. Par contre, entre -15 et -25 bars, IC30 diffère significativement de IC27 et S8549 avec des qQ respectifs de 0,41 contre 0,35 et 0,33 (tableau 1) suggérant une stabilité plus grande du photosystème.

Tableau 1
Relation entre le quenching de fluorescence qQ
et le potentiel hydrique foliaire entre -15 et -25 bars

Cultivars	n	Potentiel moyen	qQ
IC30	28	19,4 ± 1,2 a	0,41 ± 0,04 a
HKP	21	18,9 ± 1,3 a	0,39 ± 0,03 ab
IC27	17	19,7 ± 1,4 a	0,35 ± 0,04 bc
S8549	31	18,4 ± 1,0 a	0,33 ± 0,03 c

Les valeurs suivies des mêmes lettres ne sont pas significativement différentes à $P=0,95$.

IV - DISCUSSION

En conditions optimales, les trois variétés testées par la mesure des échanges gazeux ne se différencient pas par leur courbe de saturation photosynthétique. En phase de contrainte hydrique, leur réponse est semblable (résultats non présentés) à celle de la variété Somno analysée dans la figure 3. Les paramètres mesurés se révèlent insuffisants pour discriminer les variétés qui proviennent pourtant de zones écologiques très contrastées du point de vue de la pluviométrie. L'analyse de l'effet du stress sur la photosynthèse selon le modèle de Robelin (1984) montre dans la figure 3, une action conjointe de r_s et de r_m en début de stress puis une action dominante de r_m . Ce résultat est contraire à celui de Slatyer (1973) pour qui l'effet stomatique est prépondérant dans la limitation de la photosynthèse du mil. Cependant, les modèles de calcul définissant la part stomatique et non-stomatique de cette action reposent sur l'hypothèse d'une saturation des espaces intercellulaires en H_2O , ce qui n'est pas toujours vérifié en cas de stress (Ward 1986), et sur une répartition homogène des stomates fermés contrairement à ce que montre Downton (1988). Les conclusions basées sur les calculs de résistances au transfert des gaz et de concentration interne en CO_2 doivent donc être prises avec précaution pour Kaiser 1987.

Les mesures de fluorescence de la chlorophylle montrent que les processus primaires de la photosynthèse sont touchés précocement (figure 4 et 5b) puisque le quenching photochimique diminue dès que la valeur de CRE tombe en-deçà de 90 % ou dès que le potentiel hydrique s'abaisse. Ce résultat confirme celui obtenu plus haut qui montre une

augmentation de r_m , laquelle intègre les processus photochimiques. Malgré une plus grande dispersion des valeurs, on notera une bonne concordance entre les résultats obtenus sur plantes entières avec un stress lent et sur feuilles excisées avec un stress très rapide (figure 4). La modification de la fluorescence initiale (figure 5a) est à rattacher à un changement des propriétés de réflectivité (albedo) de la surface foliaire entraîné par la contrainte hydrique. La méthode de fluorescence a permis de mettre en évidence une réponse variétale (figure 5b et tab. 1) : IC30 réputé le plus résistant à une sécheresse de fin de cycle conserve un qQ plus élevé que celui des autres variétés, pour les mêmes conditions de stress.

Les deux méthodes utilisées se sont révélées complémentaires dans l'étude de la réponse de la photosynthèse du mil. Les différences variétales montrées sont faibles. La résistance à la sécheresse de la plante passe peut-être moins par une réponse physiologique au niveau des tissus foliaires, que par une stratégie globale d'évitement où la composante phénologique est importante (croissance racinaire, vitesse de développement, relations entre les talles et le brin-maître). Le mil est reconnu pour présenter une bonne tolérance aux fortes températures qui participe à sa résistance à la sécheresse (Bidinger 1982). La méthode de fluorescence doit permettre de préciser l'importance de cette propriété.

BIBLIOGRAPHIE

- BIDINGER (FR.), MAHALAKSHMI (V.), TALUKDAR (B.S.), and ALAGARSWAMY (G.), 1982. Improvement of drought resistance in pearl millet. In Drought resistance in crops with emphasis on rice. IRRI Ed. : 357-375.
- BJORKMAN (O.) and POWLES (B.), 1984. Inhibition of photosynthetic reactions under water stress : interaction with light level. *Planta* 161 : 490-504.
- BRIGGS (G.M.), JURIK (T.W.) and GATES (D.M.), 1986. Non-stomatal limitation of CO_2 assimilation in tree species during natural drought conditions. *Physiol. Plant.* 66 : 521-526.
- CORNIC (G.), PRIOUL (J.L.) and LOUASON (G.), 1983. Stomatal and non-stomatal contribution in decline in leaf net CO_2 uptake during rapid water stress. *Physiol. Plant.* 58 : 295-301.
- DOWNTON (W. J.), LOVEYS (B.R.) and GRANT (J.R.), 1988. Non uniform stomatal closure induced by water stress causes putative non-stomatal inhibition of photosynthesis. *New Phytol.* 110 : 503-509.
- EASTIN (J.D.) and SULLIVAN (C.Y.), 1988. Environmental stress influences on plants. In *Physiological basis of crop growth and development*. Tesar Ed. : 214-233.
- FARQUHAR (G.D.) and SHARKEY (T.D.), 1982. Stomatal conductance and photosynthesis. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 33 : 317-345.

- GILES (K.L.), BEARDSSELL (M.F.) and COHEN (D.), 1974. Cellular and ultrastructural changes in mesophyll and bundle sheath cells of maize in responses to water stress. *Plant Physiol.* 54 : 208-212.
- GILES (K.L.), COHEN (D.) and BEARDSSELL (M.F.), 1976. Effects of water on the ultrastructure of leaf cells of *Sorghum bicolor*. *Plant Physiol.* 57, 11-14.
- HAVAUX (M.), ERNEZ (M.) et LANNOYE (R.), 1988. Sélection de variétés de blé dur et de blé tendre adaptés à la sécheresse par la mesure de l'extinction de fluorescence de la chlorophylle *in vivo*. *Agronomie.* 8 : 193-199.
- HSIAO (T.C.), 1973. Plant responses to water stress. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 24 : 519-570.
- JONES (H.G.), 1985. Partitioning stomatal and non-stomatal limitations to photosynthesis. *Plant Cell Envir.* 8 : 95-104.
- KAISER (W.M.), 1987. Effects of water deficit on photosynthetic capacity. *Physiol. Plantarum* 71, 142-149.
- LAVERGNE (D.), BISMUTH (E.) and CHAMPIGNY (M.L.), 1979. Physiological studies on two cultivars of *Pennisetum* : *P. americanum* 23DB, a cultivated species and *P. mollisum*, a wild species. Photosynthetic carbon metabolism. *Z. Pflanzenphysiol.* 91 : 291-303.
- MAITI (R.K.) et BISEN (S.S.), 1990. L'anatomie du mil. ICRISAT. *Bull. d'information* N°6.
- MC PHERSON (H.G.) and SLATYER (R.O.), 1973. Mechanisms regulating photosynthesis in *Pennisetum thyphoides*. *Aust. J. Biol. Sci.* 26 : 329-339.
- OGREN (E.), 1990. Evaluation of chlorophyll fluorescence as a probe for drought stress in willow leaves. *Plant Physiol.* 93 : 1280-1285.
- PLESNICAR (M.) and PANKOVIC (D.), 1991. Relationship between chlorophyll fluorescence and photosynthetic O₂ evolution in several *Helianthus* species. *Plant Physiol. Biochem.* 29 : 661-668.
- QUICK (W.P.), CHAVES (M.M.), and WENDLER (R.), 1992. The effect of water stress on photosynthetic carbon metabolism in four species grown under field conditions. *Plant Cell Envir.* 15 : 25-35.
- ROBELIN (M.), 1984. Méthode d'approche pour la hiérarchisation des critères de jugement de la résistance à la sécheresse. *In La sécheresse en zone intertropicale. Pour une lutte intégrée. Actes du colloque de Dakar : Résistance à la sécheresse en milieu intertropical.*
- SCHREIBER (U.), BILGER (W.), 1987. Rapid assessment of stress effects on plant leaves by chlorophyll fluorescence measurements. *In Plant response to stress.* Tenhunen J.S., Catarino F.M., Lange O.L., Oechel W.C. Eds., Springer Berlin. 27-53.

- SLATYER (R.O.), 1973. The effect of internal water status on plant growth development and yield. in UNESCO Plant responses to climatic factors. Proc. Uppsala Symp., 177-189.
- WARD (D.A.), BUNCE (J.A.), 1986. Novel evidence for a lack of water vapour saturation within the intercellular air space of turgid leaves of mesophytic species. *J. Exp. Bot.*, 37 : 504-516.

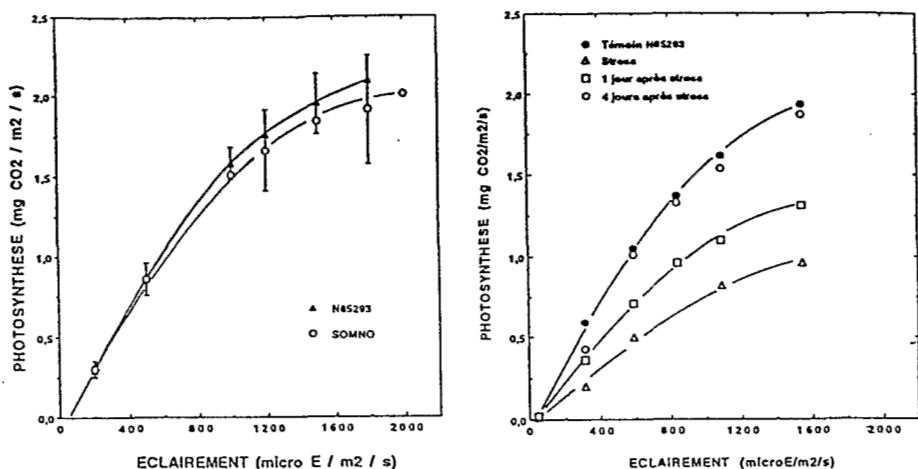


Figure 1

Relation entre le taux d'assimilation du CO₂ et l'éclairement.

1a : Courbes de saturation photosynthétique de 2cv. de mil (moyenne de 5 plants)

1b : Courbes de saturation photosynthétique (cv. N85293); effet d'une contrainte hydrique suivie d'une réhydratation.

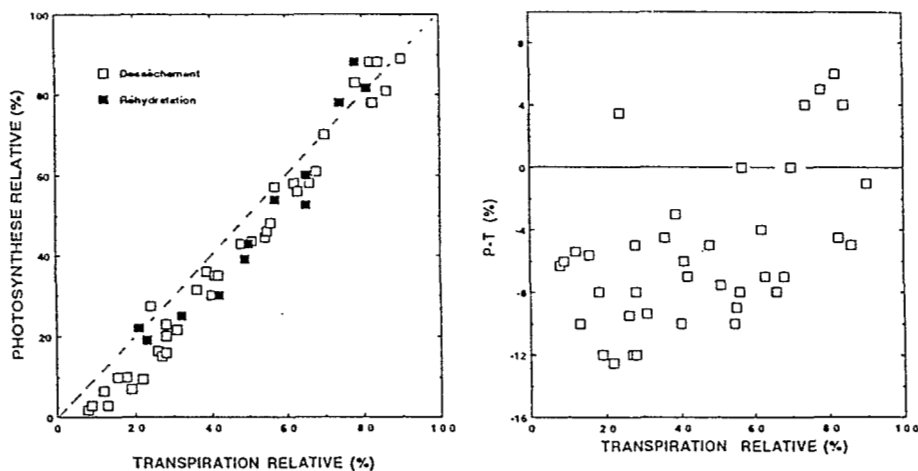


Figure 2

2a : Relation entre la photosynthèse (P) et la transpiration (T) du mil (cv. Somno) soumis à une séquence de dessèchement et réhydratation. Les données correspondent à 5 répétitions et sont exprimées en valeurs relatives par rapport aux valeurs maximales atteintes avant la contrainte. La ligne pointillée indique la droite d'équivalence P=T, les carrés vides la phase de dessèchement et les carrés pleins la phase de réhydratation.

2b : Relation entre la différence (P-T) et la transpiration relative pour les mêmes points expérimentaux.

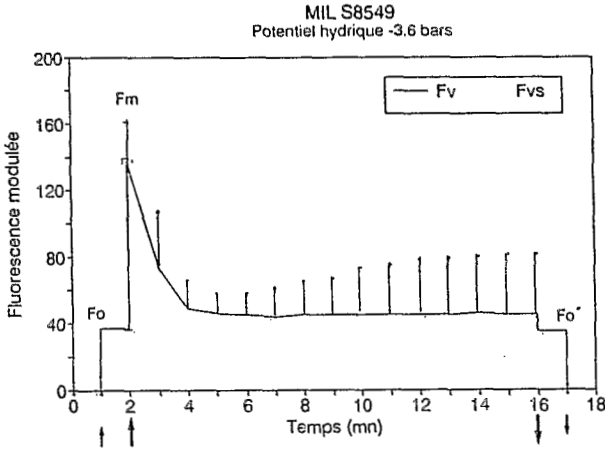


Figure 3

Cinétique de fluorescence de la chlorophylle d'une feuille de mil témoin (population Sv8549). Les pics secondaires ne sont pas tous représentés.

↑ lumière modulée ouverte

↓ fermeture

↑ lumière continue + éclairs saturants

↓ fermeture

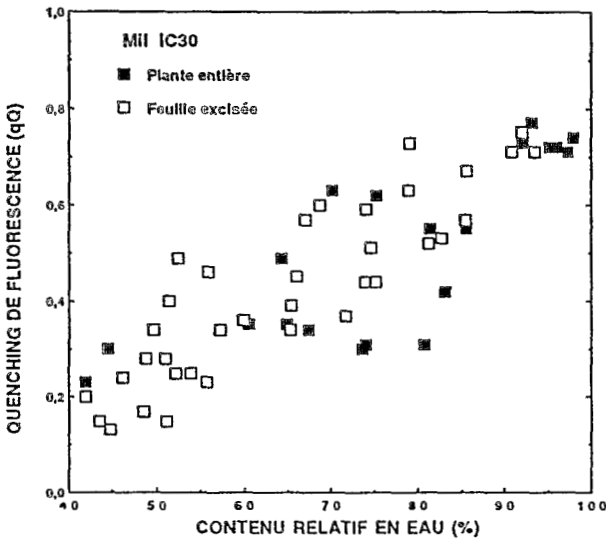


Figure 4

Evolution du quenching de fluorescence en fonction du contenu relatif en eau (CRE) du cv. IC30.

Les carrés vides représentent des données obtenues sur feuilles excisées (8 feuilles provenant de 4 plants), les carrés pleins sont les données obtenues sur plantes entières (5 répétitions).

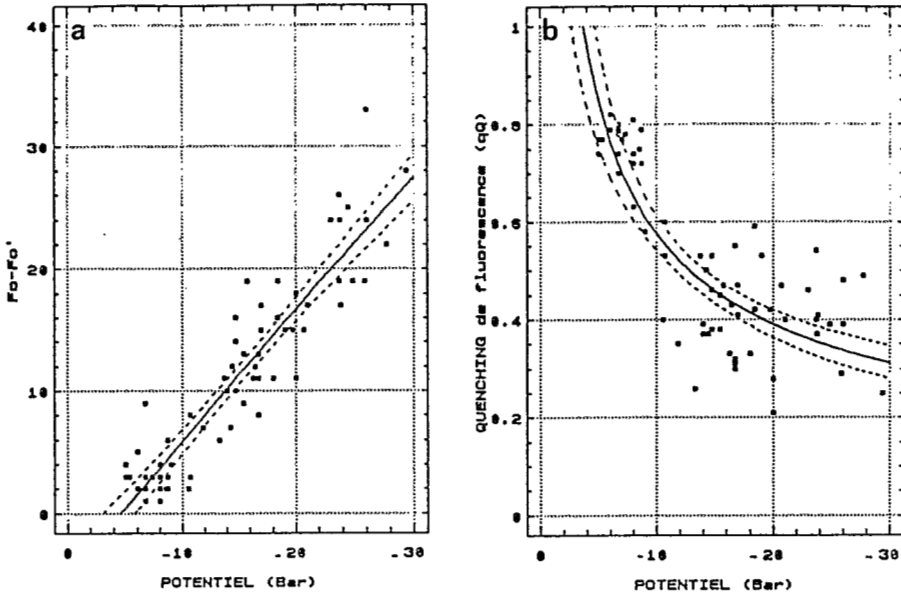


Figure 5

Relation entre la fluorescence et le potentiel hydrique foliaire du cv. IC30 soumis à une contrainte hydrique. Les points proviennent de 5 plants.

L'erreur standard à $P = 0,05$ figure en pointillé.

5a : Variation de la fluorescence initiale ($F_o - F_o'$) et potentiel hydrique foliaire.

5b : Quenching de fluorescence (qQ) et potentiel hydrique foliaire.