

ORSAY

n° d'ordre

A.O. 4685

THÈSES

présentées

A LA FACULTE DES SCIENCES D'ORSAY

UNIVERSITE DE PARIS

pour obtenir

LE GRADE DE DOCTEUR ES SCIENCES NATURELLES

par

Jorge Bravo VIEIRA da SILVA

Première thèse - Recherches sur diverses manifestations de la
résistance à la sécheresse chez les Cotonniers

Deuxième thèse - Propositions données par la Faculté

Soutenues le 8 Juillet 1970 devant la commission d'examen

MM. LEMEE

Président

LIORET

Examineurs

HELLER

A Monsieur le Professeur G. CAMUS, Directeur Général de l'ORSTOM, qui a permis la réalisation de ce travail je souhaite témoigner de ma reconnaissance la plus grande.

Je tiens aussi à exprimer ma gratitude à Monsieur P. PREVOT qui m'a proposé initialement ce thèse de recherche.

Mes remerciements les plus vifs s'adressent à Monsieur le Professeur G. LEMEE qui m'a encouragé et conseillé tout au long de ces études et a bien voulu me faire l'honneur de présider ce jury.

Je remercie aussi Monsieur le Professeur C. LIORET d'avoir bien voulu juger mon travail : ses remarques critiques et suggestions ont été pour moi une aide précieuse.

Je suis très reconnaissant à Monsieur le Professeur R. HELLER d'avoir accepté de faire partie de ce jury : ses encouragements pendant la réalisation de ces études m'ont permis de surmonter beaucoup de difficultés.

Aux collègues et amis du Centre ORSTOM d'Adiopodoumé et d'une manière toute spéciale à ceux du Laboratoire de Physiologie Végétale je présente tous mes remerciements pour la bonne ambiance de travail et des échanges d'idées, si fructueux.

Que mes collaborateurs du laboratoire de Physiologie Végétale, Messieurs Y. KONAN, P. TROUSLOT et M. NIAMIEN, ainsi que tout le personnel qui m'a aidé d'une manière si dévouée, trouvent ici l'expression de mes bien sincères remerciements.

Je suis toujours reconnaissant au Dr J. CONTREIRAS dont les enseignements et conseils m'ont guidé dès mes débuts de chercheur vers des études sur la physiologie de l'eau chez les plantes, qui sont à la base du présent travail.

Je remercie les collègues du laboratoire d'Ecologie Végétale de la Faculté des Sciences d'Orsay de l'amitié et de l'aide qu'ils m'ont apportées pour la réalisation du mémoire.

Enfin je remercie ma femme qui m'a aidé avec dévouement dans la préparation du manuscrit,

Définitions et Abréviations

Hydratation relative (HR) - appelée aussi turgescence relative :

$$HR = \frac{\text{eau actuelle}}{\text{eau maximale}} \times 100, \text{ déterminée soit}$$

par la technique de Stocker (Howlett et Kramer, 1963) soit par celle de Barrs et Weatherley (1962).

Potentiel hydrique (ψ) - le potentiel hydrique molaire de l'eau est exprimé en joules mole⁻¹. Il est donné par l'expression

$$\psi = RT \ln \frac{p}{p_0}$$

où p = tension de vapeur de l'eau dans le système considéré, et p_0 = tension de vapeur de l'eau pure prise comme référence.

Taux de transpiration relative (TTR) -

$$TTR = \frac{\ln HR_1 - \ln HR_2}{t_2 - t_1}$$

où HR_1 et HR_2 sont les hydratations relatives aux moments t_1 et t_2 .

Indice de contrôle de la transpiration (ICT) -

$$ICT = \frac{\text{transpiration à la saturation hydrique}}{\text{transpiration à l'hydratation de flétrissement}}$$

- ln - logarithme népérien
- A - adenine
- U - uracil
- T - thymine
- G - guanine
- C - cytosine
- ARN - acide ribonucléique

ADN	-	acide désoxyribonucléique
ATP	-	adenosine - 5' - triphosphate
ADP	-	adenosine - 5' - diphosphate
Tris	-	Tris (hydroxyméthyl) aminométhane
Hepes	-	acide N-2-hydroxyéthyl piperazine-N'-2-éthanesulphonique
DOPA	-	DL - β - 3,4 - Dihydroxyphénylalanine
pNP	-	p-Nitrophénol
pNPP	-	p-Nitrophénylphosphate
PVP	-	polyvinylpyrrolidone
EDTA	-	acide éthylène diaminetetraacétique
CCC	-	chlorure de (2-chloroéthyl) triméthylammonium
PEG	-	polyéthylèneglycol (carbowax)
PO	-	potentiel osmotique

TABLE DES MATIERES

I - <u>INTRODUCTION</u>	1
× 1) LES MECANISMES DE RESISTANCE A LA SECHERESSE	2
2) LA RESISTANCE A LA SECHERESSE CHEZ <u>GOSSYPIUM</u>	15
3) ORIENTATION DU PRESENT TRAVAIL, BUT DE L'ETUDE.....	17
II - <u>MATERIEL VEGETAL ET TECHNIQUES DE CULTURE</u>	19
1) MATERIEL VEGETAL	21
2) TECHNIQUES DE CULTURE	23
III - <u>MECANISMES DE RESISTANCE A LA SECHERESSE :</u>	
<u>L'APTITUDE A EVITER LA DESHYDRATATION</u>	35
1) CYCLE VEGETATIF COURT	36
2) L'ABSORPTION D'EAU AU NIVEAU DU SYSTEME RACINAIRE	36
a) <u>Introduction</u>	36
b) <u>Expériences de greffes</u>	40
c) <u>Développement du système racinaire</u>	42
d) <u>Absorption d'eau mesurée par la réhydratation des feuilles de trois variétés</u>	46
e) <u>Absorption d'eau mesurée par l'intensité de l'exsudation (influence du nombre de capsules)</u>	47
3) L'ABSORPTION D'EAU PAR LES FEUILLES	47
a) <u>Introduction</u>	47
b) <u>Mise en évidence d'une absorption foliaire par détermination du potentiel hydrique</u>	48
c) <u>Absorption foliaire et migration des sucres</u>	52

4) FORCE DE SUCCION, RELATION ENTRE L'HYDRATATION ET LE POTENTIEL HYDRIQUE	56
a) <u>Introduction</u>	56
b) <u>Examen critique de la technique de Shardakov</u>	59
c) <u>Résultats</u>	61
5) LA REDUCTION DES PERTES D'EAU, PLANTES APHYLLES ET MICROPHYLLES	64
6) ABSCISSION D'ORGANES	64
7) LA REDUCTION DES PERTES D'EAU PAR CONTROLE STOMATIQUE ET CUTICULAIRE DE LA TRANSPIRATION	67
a) <u>Introduction</u>	67
b) <u>Méthode expérimentale et expression des résultats</u>	70

IV - MECANISMES DE RESISTANCE A LA SECHERESSE :

<u>L'APTITUDE A SUPPORTER LA DESHYDRATATION</u>	77
---	----

X 1) RESISTANCE MECANIQUE DES STRUCTURES PROTOPLAS- MIQUES PENDANT LA DESHYDRATATION	78
2) LES VARIATIONS D'ACTIVITE ENZYMATIQUE	80
a) <u>Introduction</u>	80
b) <u>Méthodes et techniques</u>	83
1) <u>Préparation des échantillons et expression des résultats</u>	83
2) <u>Analyse enzymatique</u>	86
3) <u>Protéine et chlorophylle</u>	89
4) <u>Centrifugation différentielle et en gradient de densité</u> ...	89
5) <u>Chromatographie sur colonne</u>	92
6) <u>Marquage des protéines</u>	94
c) <u>Résultats et discussion</u>	94
1) <u>Augmentation de l'activité enzymatique</u>	94
2) <u>Localisation des enzymes dans la cellule et leur</u> <u>solubilisation</u>	108
3) <u>Augmentation de l'activité totale des enzymes</u> <u>hydrolytiques</u>	124
4) <u>L'effet des retardants de croissance</u>	131

d) <u>Conclusions</u>	136
3) LA PLUS GRANDE RESISTANCE A L'HYDROLYSE ENZYMATIQUE	138
X V - <u>CROISSANCE, PRODUCTION ET PHOTOSYNTHESE</u>	140
1) INTRODUCTION	141
2) INFLUENCE DE LA SECHERESSE SUR LES REACTIONS PHOTOCHEMIQUES	145
a) <u>Méthode expérimentale</u>	146
1) Traitement osmotique et chimique	146
2) Réaction de Hill ;	146
3) Photophosphorylation cyclique	147
b) <u>Résultats et discussion</u>	147
3) INFLUENCE DE LA SECHERESSE SUR LA RESISTANCE A LA CARBOXYLATION	150
4) INFLUENCE DE LA SECHERESSE SUR LA PHOTORESPIRATION	152
5) INFLUENCE DE LA SECHERESSE SUR LA TENEUR EN CHLOROPHYLLE	
X 6) INFLUENCE DE LA SECHERESSE SUR LA CROISSANCE	153
VI - <u>RESUME ET DISCUSSION FINALE</u>	159
1) RESUME	160
2) DISCUSSION FINALE	163
VII - <u>BIBLIOGRAPHIE</u>	165

I - INTRODUCTION

1) LES MECANISMES DE RESISTANCE A LA SECHERESSE

Les premiers auteurs qui se sont occupés de la question de la résistance à la sécheresse des plantes, comme Schimper (1903), ont mis l'accent sur la réduction de la transpiration qu'ils considéraient comme une propriété caractéristique principale des xérophytes. Schimper caractérise un xérophyte typique par l'absence de feuilles ou l'existence de limbes très réduits, épines, pilosité abondante, succulence, cuticule épaisse, couches cireuses, espaces intercellulaires réduits et stomates protégés.

Cependant, Maximov (1931), critiquant les idées de Schimper insistait sur le fait que beaucoup d'espèces xérophytes possédaient une transpiration potentielle bien supérieure à la majorité des mésophytes et faisait remarquer que "Ce n'est pas le taux de transpiration quand l'eau est abondante, mais la capacité de réduire la perte d'eau à un minimum en temps de sécheresse, que caractérise l'utilisation de l'eau par le xérophyte". Stocker (1928) avait observé aussi chez les plantes du désert égyptien une transpiration élevée par unité de surface foliaire dans les conditions de bonne alimentation en eau.

Loin de s'opposer, ces deux théories se complètent comme l'ont souligné Killian et Lemée (1956) qui ont fait une mise au point du problème de l'économie d'eau chez les xérophytes.

En effet si le terme xérophyte est pris dans sa signification phytogéographique originale (Schouw, 1822 ; Clements, 1902), plusieurs formes d'adaptation à un climat sec sont possibles.

Une classification de ces formes a été proposée par Levitt (1956, 1958, 1963) et par Levitt et al. (1960), qui, s'appuyant sur les classifications déjà présentées par Ten Eyck (1910), par Kearney et Shantz (1911) et par Shantz (1927) réduit les formes de résistance à la sécheresse à deux types principaux : un étant

l'aptitude à éviter la sécheresse (drought avoidance), l'autre l'aptitude à supporter la sécheresse (drought endurance).

De leur côté, May et Milthorpe (1962), à partir des travaux cités et de ceux de Maximov (1929a), regroupent les plantes résistant à la sécheresse en trois catégories :

1. "Drought escape" : capacité de compléter le cycle végétatif avant de souffrir du manque d'eau.
2. "Drought endurance with high internal water content" : capacité de survivre au manque d'eau par conservation de l'eau.
3. "Drought endurance with low internal water content" : capacité de supporter la dessiccation et de récupérer quand les disponibilités hydriques s'améliorent.

La première catégorie est cependant constituée par des plantes qui ne sont pas de vrais xérophytes, mais qui peuvent vivre dans un climat généralement sec, profitant des périodes pendant lesquelles l'eau est disponible pour les plantes. Ils citent les cas du blé cultivé en Australie méridionale et dans les plaines de l'Inde comme exemples de plantes de cycle végétatif très court capables de profiter des périodes humides, elles aussi très courtes.

Ils affirment même que : "Il paraît peu probable que l'aptitude à survivre après des périodes considérables de turgescence réduite, soit importante pour la détermination de différences dans la résistance à la sécheresse", ce qui est nettement en contradiction avec les résultats de Stocker (1928), qui observait des déficits hydriques de l'ordre de 50 % chez les plantes du désert égyptien, mais ce qui s'explique par l'accent mis sur les problèmes des céréales cultivées.

En effet ces auteurs (May et Milthorpe, 1962) reconnaissent que "pour certaines graminées et arbustes, cultivés comme plantes fourragères, la tolérance de niveaux réduits de turgescence peut être un élément fort important dans la survie pendant une longue sécheresse". Il en est, évidemment, de même pour d'autres plantes, cultivées ou non, et aussi pour les plantes de la catégorie 3 de ces deux auteurs.

L'étude de la résistance à la sécheresse des plantes présente un intérêt certain, non seulement du point de vue de la biologie fondamentale, mais aussi par ses répercussions économiques, les zones arides et semi-arides couvrant une étendue considérable des terres émergées. Ceci a attiré l'attention de l'Unesco qui a consacré plusieurs publications aux études sur la zone aride (Unesco, 1960, 1961, 1962, 1965). D'autres travaux aussi ont spécialement traité des aspects variés des relations hydriques des plantes, en particulier ceux de Walter (1955), de Ruhland (1956), de Kursanov (1956), de Vaadia et al. (1956), de Levitt (1951, 1956, 1958, 1963), de Rutter et Whitehead (1963), de Kozlowski (1964, 1968), de Slavik (1965) et de Slatyer (1967).

Ce qu'il faut retenir de toutes ces observations c'est l'aspect multiple des formes de résistance à la sécheresse. Il ne paraît donc pas correct de choisir un mécanisme plutôt qu'un autre pour caractériser les réactions adaptatives au manque d'eau plus ou moins prononcé.

En effet, la sécheresse peut affecter le mécanisme physiologique des végétaux à plusieurs niveaux et les solutions adaptatives sont, en conséquence, multiples. Il en résulte que toute tentative de classification de ces formes de résistance est, dans une certaine mesure, artificielle : elle isole un type de réaction qui contribue rarement seul à sa manifestation et elle ne prend pas suffisamment en considération ses variations au cours du développement. Malgré tout, elle a l'avantage de mettre en place un certain ordre dans cette très grande diversité de réactions et de permettre l'isolement de mécanismes-types, ce qui en facilite ainsi l'étude.

Par conséquent il nous paraît utile, à la lumière des connaissances actuelles, de proposer une classification des formes possibles de résistance à la sécheresse, ce qui est l'objet du schéma de la figure 1 présenté sous la forme d'organigramme. Cependant des interactions existent entre ces types de réaction et leur étude ne saurait être faite sans en tenir compte.

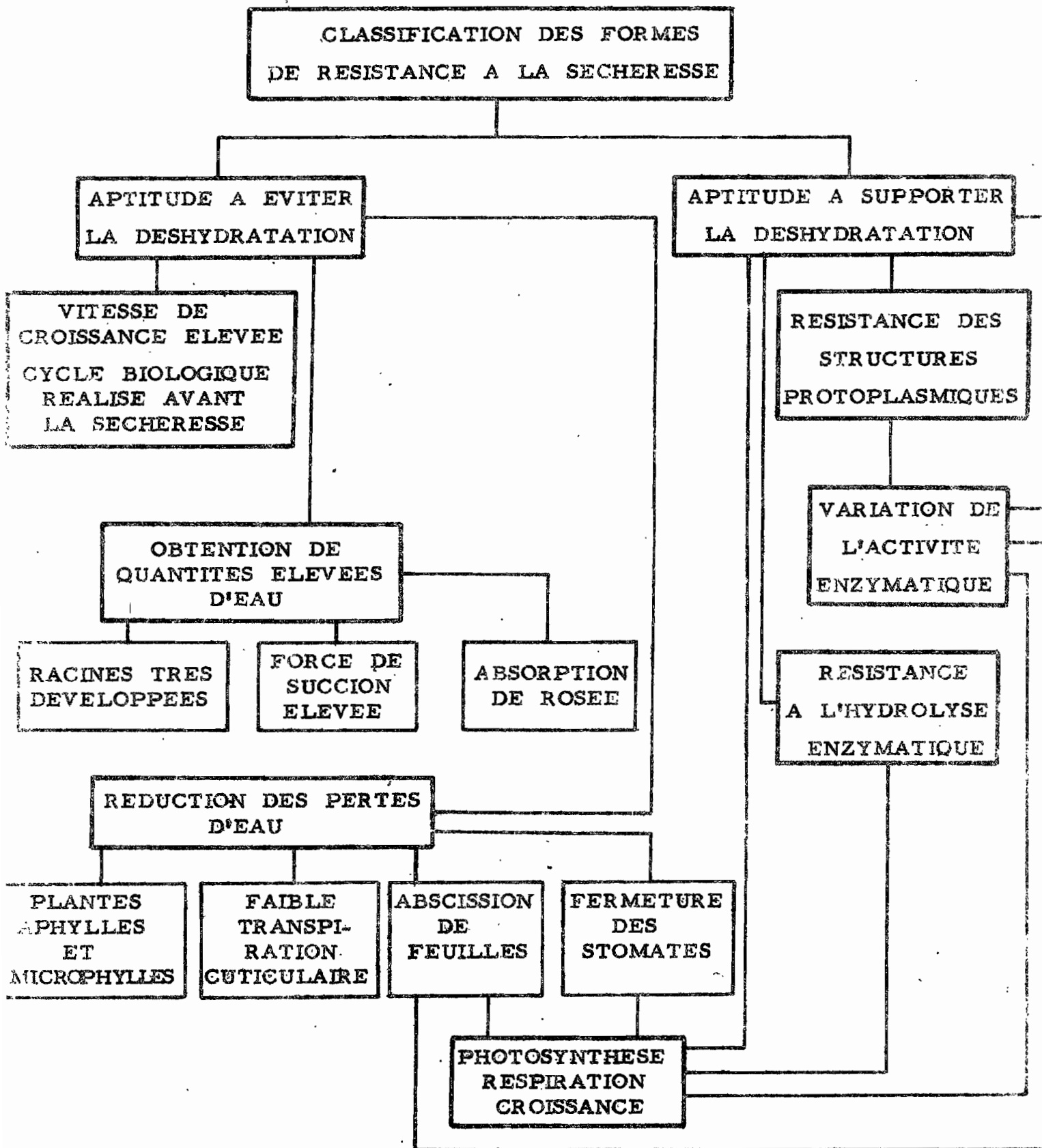


FIGURE 1

Nous nous sommes surtout appuyés sur les classifications et les recherches de Shantz (1927), de Levitt (1958, 1963), de Levitt et al. (1960), de Maximov (1929 a, b, c) et de Killian et Lemée (1956).

Parmi les formes de résistance à la sécheresse, il est possible de séparer deux ensembles : l'un correspondant aux plantes qui, au moins dans certains organes, et par des procédés variés, arrivent à conserver l'hydratation nécessaire au fonctionnement métabolique normal, voire au moins à survivre, ce qui peut se traduire par une aptitude à éviter la deshydratation. L'autre étant constitué par des végétaux qui n'évitant pas la deshydratation des tissus, ont un degré d'hydratation faible, mais néanmoins suffisant pour leur permettre de conserver les processus physiologiques à un niveau compatible avec, tout au moins, la survie des tissus, ce qui permet à ces plantes de reprendre une vie normale une fois la sécheresse passée; cette aptitude à supporter la deshydratation correspond à la "plasmatische Dürresistenz" de Stocker (1956) et à la "desiccation resistance" de Hjin (1930), Höfler et al. (1941) et de Parker (1956).

a) L'aptitude à éviter la deshydratation

La première façon d'éviter la deshydratation est celle des éphémères qui correspondent aux "drought escaping plants" de Kearney et Shantz (1911) et dont le cycle végétatif se réalise lorsqu'il y a de bonnes conditions d'alimentation en eau. Elles se comportent souvent comme de véritables mésophytes, transpirant abondamment, ce qu'a souligné Lemée (1953). Les céréales d'hiver des régions méditerranéennes peuvent être assimilées à ce type dont l'importance économique est très grande (May et Milthorpe, 1962).

Un second type de résistance est réalisé par les plantes capables d'obtenir des quantités élevées d'eau. Un système racinaire très puissant et très développé est une caractéristique de ces plantes, et Killian et Lemée (1956), et Oppenheimer (1961) ont étudié la littérature couvrant ce groupe important, dont les racines atteignent un énorme développement aussi bien horizontalement que verticalement, ce qui met à la disposition des plantes un volume d'eau considérable.

Bien que ne réduisant pas leur transpiration ces plantes présentent des déficits hydriques très réduits, même pendant la saison sèche.

L'absorption de rosée, dont l'importance est très controversée (Monteith, 1963 ; Slatyer, 1967) constitue un autre moyen de faire face au manque d'eau et permet, au moins pendant des périodes courtes, de maintenir l'hydratation. Il faut séparer la rosée d'origine atmosphérique de la rosée d'origine interne du sol, qui peut jouer aussi un rôle important (Oppenheimer, 1961 ; Killian, 1942). Selon Monteith (1963) au moins trois plantes cultivées paraissent capables d'absorber la rosée atmosphérique : le Cotonnier, l'Ananas et le Melon.

Une force de succion élevée pourrait aussi augmenter la capacité d'absorption d'eau par les plantes.

Il a été démontré, en effet, par Weatherley et Slatyer (1957) que pour le Troène et la Tomate, le dessèchement des feuilles conduisait, pour les mêmes valeurs de turgescence relative, à un potentiel hydrique (force de succion) plus grand en valeur absolue pour le Troène (plus résistant à la sécheresse) que pour la Tomate. Un des auteurs (Slatyer, 1960) a aussi montré qu'Acacia aneura, une espèce très résistante, développait des potentiels hydriques encore plus élevés (en valeurs absolues) que ceux des deux mésophytes précédemment citées.

Des différences ont aussi été retrouvées par Jarvis et Jarvis (1963) chez des plantules d'espèces forestières.

Ces importantes différences peuvent influencer le flux d'eau à travers la plante et pour les potentiels négatifs plus importants, rendre l'absorption plus facile. Cependant, la quantité d'eau du sol, au voisinage du point de flétrissement, rendue disponible par une augmentation de la force de succion est très réduite et il est donc difficile d'admettre que cette augmentation puisse améliorer de façon sensible l'alimentation en eau de la plante, dans des conditions de sécheresse.

En outre, comme le font ressortir Jarvis et Jarvis (1963) les effets d'un potentiel négatif important sur la biologie de la plante ne sont pas encore bien connus, mais paraissent être généralement très défavorables.

Il se peut ainsi que le classement précédemment cité ne montre pas que les plantes qui développent une force de succion très élevée sont résistantes à la sécheresse, mais seulement que les plantes qui ont une résistance protoplasmique peuvent supporter sans mal une telle augmentation du potentiel négatif de l'eau.

Enfin, et toujours dans cet ensemble, un autre type se présente, celui de la réduction des pertes d'eau qui est le mécanisme le plus souvent considéré comme caractéristique des xérophytes. Cette réduction peut se réaliser de plusieurs façons.

La première est celle des plantes aphyllées et microphyllées qui ont une constance relative des surfaces transpirantes, toujours faibles et dont la transpiration est très réduite (Killian et Lemée, 1956).

Les surfaces transpirantes peuvent aussi être réduites par abscission (Evenari, 1953 ; Killian, 1951 ; Runyon, 1934) et les plantes se comportent alors comme des mésophiles pendant les périodes où l'eau est abondante et réduisent, par abscission des feuilles, leur transpiration pendant les périodes sèches.

Cette extrême sensibilité à la sécheresse qui finit par se traduire par l'abscission de l'organe, est donc, paradoxalement, un critère de résistance car elle peut suffire pour permettre la survie du reste de l'individu.

La fermeture hydroactive des stomates (Stalfelt, 1955) et une faible transpiration cuticulaire peuvent contribuer à une considérable économie d'eau mais il faut qu'existent alors des procédés de résistance à la chaleur comme la réduction de taille des feuilles que facilite les pertes convectives, la pilosité, la modification de l'albédo ou des changements morphologiques. Shantz (1927) considérait déjà ces plantes comme des plantes à haute température.

En outre la réduction de la perte d'eau est toujours accompagnée d'une diminution de l'assimilation et Maximov (1931) avait déjà noté que : "les plantes ne peuvent pas arrêter leurs pertes d'eau sans diminuer leur capacité photosynthétique. Elles doivent payer la conservation de l'eau avec la faim en carbone, et pour leur carbone elles doivent payer avec une perte d'eau plus grande".

Ce dilemme peut être moins abrupt. Certaines espèces ont un rythme d'ouverture stomatique qui ne suit pas les réactions photoactives normales (Stalfelt, 1955) ; c'est le cas de végétaux comme l'Agave et l'Ananas (Neales et al., 1968) et de certaines plantes de la caatinga brésilienne comme Mimosa caesalpiniaefolia (de Oliveira et Prisco, 1967) et des cerrados (Laboriau et al., 1964) qui ouvrent les stomates pendant la nuit, ce qui se traduit par une perte réduite d'eau. Tout au moins pour les plantes étudiées par Neales et al. (1968), une absorption de CO₂ pendant la nuit a été observée, qui se traduisait par un bilan photosynthétique positif. Il s'agit cependant de plantes à croissance lente.

Il est évident que pour être efficace le contrôle stomatique de la transpiration doit être accompagné d'une transpiration cuticulaire très faible.

Enfin, l'aptitude à éviter la deshydratation constitue l'adaptation la plus évidente à la sécheresse, en effet il s'agit de mécanismes destinés à soustraire la plante, ou tout au moins une partie de la plante, à la deshydratation. Les espèces qui possèdent cette aptitude ont un comportement métabolique qui n'est pas profondément affecté par la sécheresse, car les tissus gardent une hydratation élevée.

Il se peut, cependant, que ces mécanismes destinés à conserver l'hydratation ne soient pas suffisants et dans ce cas la vie en climat aride n'est possible que pour des espèces étant capables de supporter le dessèchement des tissus.

Aucun des mécanismes évoqués jusqu'à présent pour réduire la perte d'eau par les tissus ne saurait l'éviter à la longue. Ainsi peut-on considérer comme critère fondamental, l'aptitude à supporter la deshydratation, appelée par Stocker (1956) "plasmatische Dürresistenz". Cet auteur a fait une mise au point de nos connaissances (Stocker, 1961) sur les effets morphologiques et physiologiques du manque d'eau sur les plantes et a conclu à l'existence de deux phases qu'il a appelé "phase de réaction" et "phase de restitution". La première serait constituée par les effets directs du dessèchement sur les activités métaboliques et serait suivie par la phase de restitution qui constituerait, en quelque sorte, la nouvelle voie prise par le métabolisme dans des conditions nouvelles d'hydratation.

Le fait d'accepter la notion des phases de Stocker (1961), ou celle d'endurcissement, suggérée par Maximov (1929 a), Levitt (1958) et Genkel (1964) ne suffit pas pour élucider de façon claire les causes de l'effet direct de la deshydratation, les mécanismes étant mal connus.

L'existence de ces deux phases est contesté par Levitt (1956, 1958) qui distingue seulement l'endurcissement obtenu sous l'effet d'une sécheresse légère qui rend les plantes plus aptes à supporter des deshydratations plus fortes, avec des modifications morphologiques et physiologiques concomitantes.

b) L'aptitude à supporter la déshydratation

De nombreuses caractéristiques protoplasmiques ont été impliquées dans ce processus de la résistance à la dessiccation : notamment l'hydrophilie accrue des colloïdes, la quantité d'eau liée, la viscosité et l'élasticité, mais aucune ne peut à elle seule rendre compte ni des effets nuisibles du dessèchement sur les plantes sensibles, ni de cette adaptation à la sécheresse qui se vérifie dans certaines conditions (May et Milthorpe, 1962).

Dès 1929 (c), Maximov suggérait que : "Seule l'étude approfondie des particularités chimiques et physiques du protoplasme, et d'autres parties de la cellule, dans des plantes résistantes et endurcies, et aussi une analyse plus détaillée des processus qui se passent pendant la congélation ou la dessiccation,

peut conduire à une compréhension plus complète de la nature réelle de ces phénomènes et des moyens dont dispose la plante pour résister à leur influence défavorable".

Plus tard Kramer (1963) affirmait que "un des chapitres les plus fructueux de la recherche sur les relations hydriques des plantes sera probablement l'étude des effets biochimiques de l'action de la sécheresse sur les végétaux".

Un des premiers mécanismes proposé pour expliquer la résistance à la sécheresse est celui conçu par Iljin (1930, 1935, 1952, 1953, 1957) qui lie les dommages produits par la sécheresse, non au dessèchement du protoplasma mais à la dislocation et à la destruction de sa structure, sous l'action de la deshydratation.

Toutes les particularités structurales de la cellule qui réduisent la tension dans le protoplasma au cours de la dessiccation et de la contraction favorisent sa résistance du plasma à la dislocation.

Cette théorie reprise par Stocker (1948) admet que la perméabilité augmente et qu'il y a libération des enzymes respiratoires et hydrolytiques par destruction de la structure protoplasmique, ce qui se traduit au niveau des chloroplastes par une diminution de la photosynthèse.

Les nouvelles connaissances sur la distribution structurale des enzymes apportent un regain d'intérêt à l'hypothèse d'Iljin.

Un autre type d'aptitude à supporter la deshydratation, et qui est, au moins en partie, une conséquence de celui que l'on vient de citer plus haut, correspond à une stabilité plus grande des systèmes enzymatiques, plus particulièrement, des enzymes hydrolytiques. A ce sujet Stocker (1961) analyse en détail la bibliographie concernant les effets du manque d'eau sur l'augmentation

de l'activité des enzymes hydrolytiques, et Oparine(1953) condense les résultats des travaux des chercheurs de l'Académie des Sciences de l'URSS relatifs à l'effet de la sécheresse sur l'activité de ces enzymes.

On doit souligner plus spécialement les travaux de Vassiliev et Vassiliev (1936) et de Sisakian et Kobjakova (1947), sur l'invertase ; de Spoehr et Milner (1939) sur l'amylase, de Sisakian et Kobjakova (1940) et de Nir et Poljakoff-Mayber (1966) sur les phosphatases, de Kessler (1959) et de Dove (1967) sur la ribonucléase. Grâce à ces travaux et à ceux réalisés sur les lysosomes animaux par l'école de De Duve (De Duve et Wattiaux, 1966) et sur les structures correspondantes chez les végétaux par l'école de Matile (1966, 1968 a, b, 1969), nous pouvons comprendre l'importance qui peut avoir pour la sénescence accélérée des tissus végétaux, ou tout au moins de certains tissus (Ben-Zioni et al., 1967), la libération par l'effet de la sécheresse de ces facteurs de destruction qui sont les enzymes hydrolytiques jusque là maintenues latentes dans les structures qui les contiennent.

Un autre aspect de la résistance à la sécheresse, en relation avec ce qui précède, est représenté par la résistance de certains substrats naturels à l'hydrolyse. En effet certains types de molécules, comme on peut en trouver dans l'ARN, semblent s'avérer plus résistantes que d'autres (Kessler et Frank-Tishell, 1962 ; Reddi, 1958).

Les effets du manque d'eau sur la photosynthèse et la respiration sont connus depuis longtemps. Stočker (1961) a fait une revue de l'importante littérature existante sur ce sujet, à la lumière de sa théorie des phases de réaction et de restitution.

Gaastra (1963) analyse l'effet des mouvements stomatiques sur la diffusion de CO_2 et conclut que même s'il est généralement admis que la photosynthèse est affectée principalement par les mouvements stomatiques,

d'autres conséquences directes et indirectes du déficit hydrique peuvent réduire simultanément la photosynthèse (Scarth et Shaw, 1951 ; Pisek et Winkler, 1956).

Certains auteurs (Upchurch et al., 1955) n'ont pas trouvé de liaison directe entre la photosynthèse et l'ouverture stomatique, ou bien (Dastur, 1925) trouvent une meilleure relation entre la photosynthèse et l'hydratation des feuilles.

La photosynthèse, considérée comme l'absorption nette de CO_2 étant un phénomène très complexe en soi, il est compréhensible qu'il n'ait pas été possible de la relier à des phénomènes plus simples.

En effet c'est bien en étudiant les effets de la sécheresse sur les résistances diffusives, sur les réactions photochimiques, sur les réactions obscures et sur la respiration à l'obscurité et à la lumière, mais aussi sur le transfert des produits d'assimilation, que des éléments de réponse concernant les réactions des végétaux à la sécheresse, pourront être trouvés.

Ainsi Todd et Basler (1965) n'ont pas trouvé d'influence de la sécheresse sur la réaction de Hill chez le blé et même les plantes légèrement flétries présentant une augmentation par rapport au témoin. Cependant Nir et Poljakoff-Mayber (1967) ont observé, avec des chloroplastes de Beta vulgaris, non seulement une réduction de la réaction de Hill avec le flétrissement mais aussi une diminution de la photophosphorylation cyclique.

De nombreux faits expérimentaux soulignent l'action nuisible de la sécheresse sur le transfert des produits d'assimilation des feuilles vers les autres organes (voir revue de la littérature dans Wardlaw, 1968). L'accumulation de ces produits pourrait donc réduire l'assimilation du carbone.

On trouve ainsi, en plus de l'effet direct de l'altération de l'appareil photosynthétique, du fait même des conséquences métaboliques du manque d'eau, l'effet indirect par accumulation dans les feuilles des produits de la photosynthèse qui peut être important (Neales et Incoll, 1968).

La possibilité de séparer dans le temps les échanges gazeux avec l'atmosphère des réactions photochimiques paraît être une caractéristique de certaines plantes résistantes à la sécheresse, comme l'Ananas (Joshi et al., 1965), l'Agave americana et Aeonium hawortii (Neales et al., 1968).

Les effets de la sécheresse sur la respiration ont été analysés par Stocker (1961). Selon cet auteur, la respiration augmenterait d'abord pendant la phase de réaction, reviendrait ensuite à une valeur proche de la valeur initiale, voire même tomberait en dessous, pendant la phase de réaction.

Un effet important, bien qu'indirect, de la sécheresse, est représenté par son action sur la photorespiration (Zelitch, 1967). Cet auteur a observé que certaines plantes possèdent, à la lumière, une respiration plus intense, liée à l'activité de la glycolate oxydase, qui augmente avec la température. Un des effets de la sécheresse étant la fermeture hydroactive des stomates suivie d'une augmentation de la température des feuilles, un dégagement accru de CO_2 y sera associé.

Troughton et Cowan (1968) ont confirmé chez le Cotonnier que l'absorption de CO_2 était liée tout autant à l'ouverture stomatique qu'à la température des feuilles. Ainsi, même avec une transpiration active et des stomates ouverts, l'absorption de CO_2 pouvait présenter une chute d'intensité avec l'augmentation de température allant même jusqu'à devenir négative.

2) LA RESISTANCE A LA SECHERESSE CHEZ GOSSYPIMUM

Tous les cotonniers sauvages connus actuellement sont considérés comme des plantes ayant une résistance à la sécheresse très prononcée. Dans leur publication "The Evolution of Gossypium", Hutchinson et al. (1947) constatent que "Les espèces sauvages, sans fibre, de Gossypium sont des arbustes pérennes habitant naturellement les régions arides tropicales et sous tropicales. L'habitat le plus fréquent est celui des lits et bords de rivières qui sont sèches pendant la majeure partie de l'année, mais certaines espèces sont suffisamment résistantes à la sécheresse pour s'étendre sur les côtes secs et rocheux, ou sur les plaines arides rocailleuses et sablonneuses. Il s'agit essentiellement de plantes d'associations ouvertes qui souffrent de la compétition à l'état de plantule ou des conditions d'ombre".

Cette appréciation contraste avec les besoins élevés en eau constatés chez les variétés cultivées perfectionnées, par plusieurs auteurs : Brown (1938), Brown (1955), Balls (1953), Eaton (1955), Tharp (1960). Il est en effet apparent qu'au cours de la domestication du cotonnier celui-ci a été amené dans des régions plus humides et la sélection pour la productivité a généralement négligé la résistance à la sécheresse dont les mécanismes étaient assez mal connus.

Cependant dans quelques variétés de cotonniers cultivés diploïdes comme celles de Gossypium herbaceum citées par Civinskii (1934) et par Saukaran (1933) une appréciable résistance à la sécheresse peut encore être décelée.

De même, certaines races primitives de l'espèce tétraploïde Gossypium hirsutum, sont encore cultivées dans des régions semi-arides, où l'étaient dans un passé pas très lointain. Il s'agit des Cotonniers pérennes cultivés dans le nord-est du Brésil (Velooso, 1957 ; McLaughlin, 1961), rattachés à la race marie galante par Hutchinson et al. (1947) et des cotonniers appartenant

à la race punctatum, depuis longtemps introduits dans les régions sèches de l'Afrique de l'Ouest (Hutchinson, 1938). Dans l'autre espèce tétraploïde cultivée, Gossypium barbadense, Horowitz (1959) indique la variété Pima 32 comme présentant une grande résistance à la sécheresse.

La plupart des études sur les relations hydriques du Cotonnier ont été réalisées sur des variétés cultivées de Gossypium hirsutum et Gossypium barbadense. Cependant l'intérêt pour l'étude des espèces sauvages a augmenté depuis quelque temps (Hutchinson, 1959) surtout en vue d'améliorer par des croisements la valeur agronomique et technologique des variétés cultivées dont la variabilité est devenue très réduite pour permettre une sélection efficace (Kammacher, 1968).

Les plantes de la plupart des espèces sauvages sont très rares dans leur habitat et peuvent être considérées comme reliques, sauf dans le cas de Gossypium anomalum, espèce très résistante à la sécheresse et qui se rencontre dans une région étendue en bordure des déserts du Sahara et du Namib, du côté tropical, (Chevalier, 1933 ; Hutchinson, 1959 ; Saunders, 1961).

3) ORIENTATION DU PRESENT TRAVAIL, BUT DE L'ETUDE

Le Cotonnier est une plante qui a déjà été très étudiée du point de vue de ses relations hydriques.

Néanmoins la recherche a eu presque toujours un but pratique immédiat et la plupart des études ont été réalisées sur des variétés cultivées, ne possédant plus, ou ayant à très faible degré, des caractéristiques de résistance à la sécheresse.

En conséquence notre étude sur la résistance à la sécheresse des Cotonniers devait couvrir, non seulement des variétés cultivées, mais aussi des espèces sauvages qui, isolées géographiquement, ont certainement développé des procédés originaux de résistance.

Cette étude comparée peut donc permettre de comprendre la diversité constatée dans le genre Gossypium et d'obtenir des renseignements non seulement sur l'importance relative des divers mécanismes de résistance à la sécheresse mais aussi sur le fonctionnement de quelques uns de ces mécanismes, dont la connaissance est encore très rudimentaire. Il s'agit notamment des mécanismes de résistance à la deshydratation dont l'aspect biochimique est très mal connu.

Ainsi nous avons envisagé d'expérimenter, d'après les critères énoncés dans la première partie de l'introduction, sur plusieurs espèces et variétés, dont les réactions à la sécheresse et les origines géographiques étaient connues.

La partie biochimique de ces études étant celle qui avait, jusqu'à maintenant, été la plus négligée, nous avons essayé de l'approfondir de façon à comprendre les réactions au dessèchement, si variables avec les espèces, qui sont pourtant toutes d'apparence nettement mésophytique.

La mort précoce des tissus végétaux, surtout des tissus foliaires sous l'effet d'un dessèchement, nous a conduit à considérer ce phénomène comme

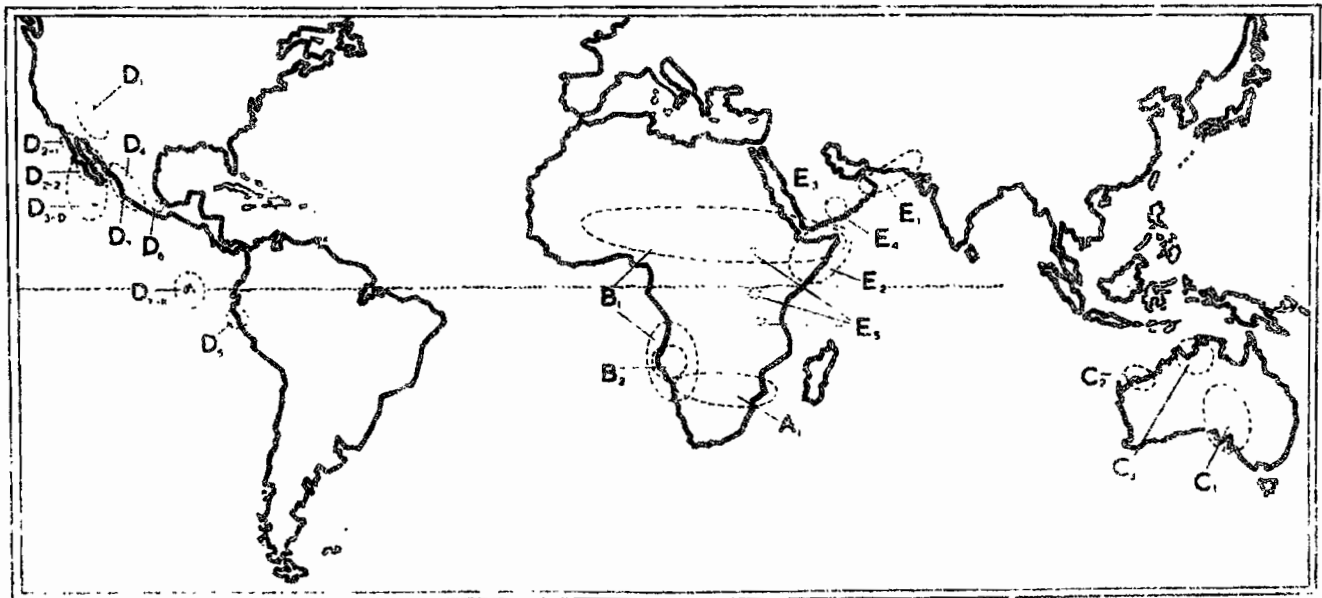
le résultat d'une sénescence plus rapide que celle qui se produit normalement pendant la croissance des plantes.

Enfin, et ce n'était pas le moindre de nos objectifs, nous nous proposons de trouver des mécanismes qui, existant dans les espèces résistantes et non dans les espèces sensibles, nous permettraient de distinguer entre ces formes et, éventuellement, de suivre la transmission de cette résistance dans les descendance de croisements entre des espèces cultivées et sauvages.

Ce dernier problème est d'une très grande généralité et dépasse le cadre du genre Gossypium. Ce genre présente cependant l'avantage de contenir une grande variété d'espèces adaptées à des conditions arides, et permet de travailler sur des plantes dont l'importance pour les régions sèches n'a pas besoin d'être soulignée.

Nous nous considérerons satisfaits si nous pouvions faire avancer les connaissances fondamentales sur la résistance à la sécheresse des plantes supérieures, ne serait-ce que d'un petit pas, et si notre travail pouvait être, tôt ou tard, utile au bien-être des gens.

II - MATERIEL VEGETAL ET
TECHNIQUES DE CULTURE



A₁ *G. hirsutum* var. *ulmifolium*.
 B₁ *G. anomalum*.
 B₂ *G. trilobum*.
 C₁ *G. stultii*.
 C₂ *G. robinsonii*.
 C₃ *G. australe*.
 D₁ *G. thurberi*.

D₂₋₁ *G. ammodendron*.
 D₂₋₂ *G. harknessii*.
 D₂₋₃ *G. klotzschianum*.
 D₂₋₄ *G. klotzschianum* var. *daudyni*.
 D₄ *G. andinum*.
 D₅ *G. raimondii*.
 D₆ *G. gossypifolium*.

E₁ *G. oblatum*.
 E₂ *G. stockii*.
 E₃ *G. somaliense*.
 E₄ *G. nivesianum*.
 E₅ *G. incanum*.
 E₆ *G. longicalyx*.

Fig. 2 Distribution géographique des espèces sauvages
 diploïdes de *Gossypium* (d'après Saunders, 1961)

1) MATERIEL VEGETAL

Au cours de ces études, les espèces et variétés suivantes ont été utilisées :

a) Espèces sauvages. La distribution géographique de ces espèces est représentée sur la figure 2 (d'après Saunders, 1961), avec indication du génome auquel elles appartiennent :

G. anomalum, du génome B, espèce africaine qui se retrouve aussi bien dans l'hémisphère nord que dans l'hémisphère sud, très bien adaptée à son habitat aride (Fig. 3).

G. australe, du génome C, originaire d'Australie septentrionale (Fig. 3).

G. raimondii, du génome D, originaire du Pérou (Fig. 3).

G. thurberi, du génome D, originaire de l'Arizona (Fig. 3).

b) Espèces cultivées diploïdes :

G. herbaceum, du génome A, originaire de l'Iran.

G. arboreum, du génome A, originaire de l'Inde.

c) Espèces cultivées tétraploïdes :

G. hirsutum, génome (A - D)₁,

race punctatum,

race marie galante,

variété Allen,

variété BJA,

variétés HAR et ATH, issues respectivement de croisement-

entre G. hirsutum, G. arboreum et G. raimondii, et entre

G. arboreum, G. thurberi et G. hirsutum (Kammacher, 1967).

G. barbadense, génome (A - D)₂,

variété Mono.

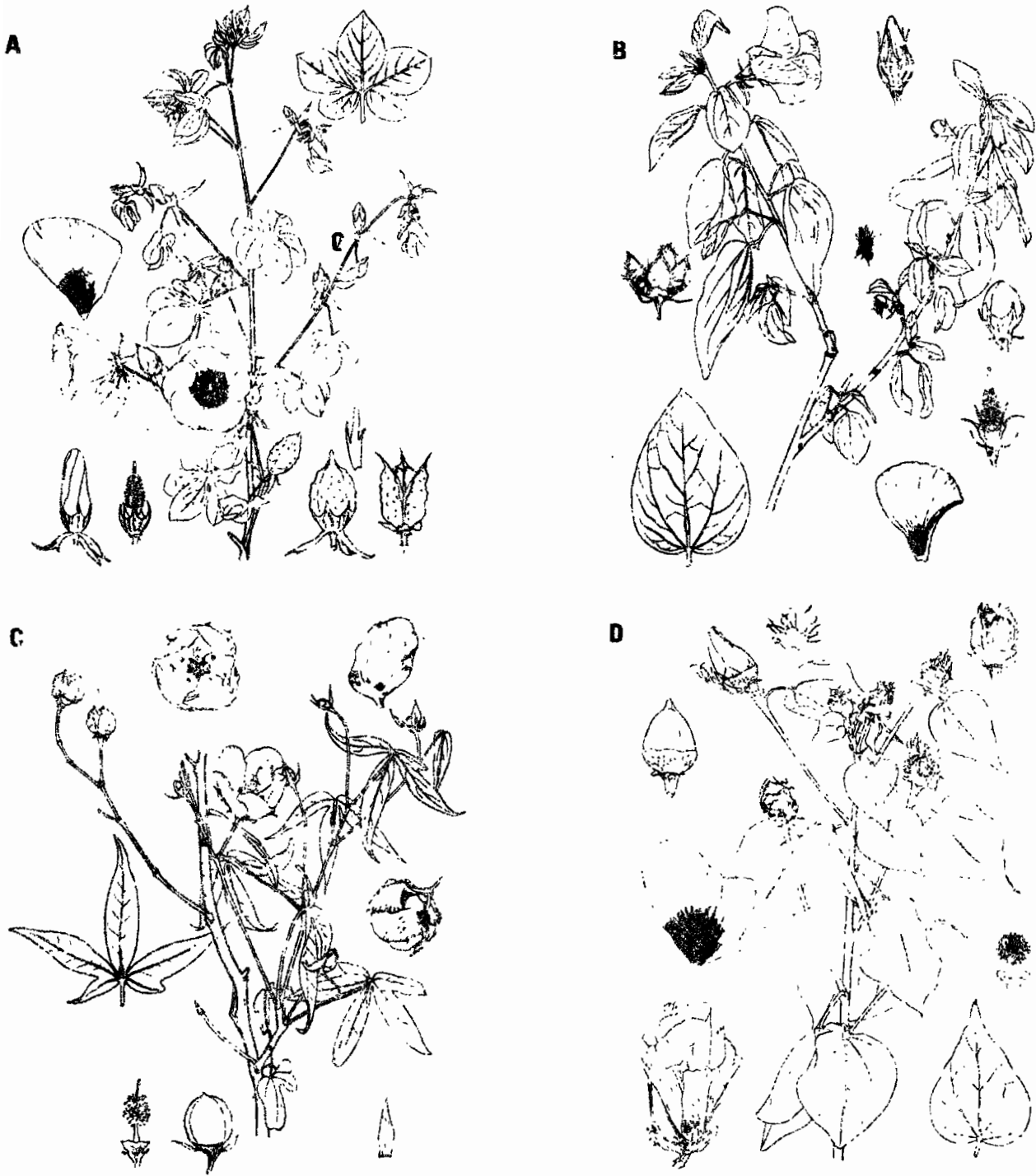


Fig. 3 A - *G. anomalum* Wawra et Peyer

B - *G. australe* von Mueller

C - *G. thurberi* Todaro

D - *G. raimondii* Ulbrich

D'après Saunders (1961)

2) TECHNIQUES DE CULTURE

Nous avons voulu produire expérimentalement de façon très précise le phénomène de sécheresse, selon une technique permettant de l'induire dans la plante à tout moment.

Dans ce but, nous avons effectué des cultures sur solution nutritive dont l'abaissement de potentiel osmotique permettait d'obtenir la contrainte hydrique souhaitée.

Cette technique ne cherche pas à imiter la sécheresse du sol, les conditions étant assez différentes (Macklon et Weatherley, 1965 b) mais à provoquer un déficit hydrique dans les plantes dans des conditions bien déterminées de potentiel hydrique du milieu racinaire.

Les Cotonniers ont été cultivés sur une variante de la solution de Hoagland, ayant pour origine la solution utilisée par Braud (1967), mais modifiée légèrement, en vue de l'adapter à la culture liquide.

La composition de cette solution est la suivante :

	g/l
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	0,700
K NO_3	0,300
$\text{Mg}(\text{NO}_3)_2, 6\text{H}_2\text{O}$	0,140
$\text{Mg SO}_4, 7\text{H}_2\text{O}$	0,165
$\text{K H}_2 \text{ PO}_4$	0,135
CaCl_2	0,007

ce qui correspond à une composition ionique en milliequivalents par litre de :

NO_3^-	12,60
SO_4^{--}	1,32
PO_4^{---}	2,98
Cl^-	0,12
K^+	3,96
Ca^{++}	8,77
Mg^{++}	2,41



Fig. 4 - Disposition générale des cultures en solution nutritive



Fig. 5 - Détail du dispositif expérimental

La composition en oligo-éléments est celle proposée par Hewitt (1952) et ils sont fournis à partir de 2 solutions mères suivantes :

- Solution mère I,	g/l
H ₃ BO ₃	3, 72
Mn SO ₄ · 1 H ₂ O	3, 38
Cu SO ₄ · 5 H ₂ O	0, 50
Zn SO ₄ · 7 H ₂ O	0, 58
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ · 4 H ₂ O	0, 07
- Solution mère II,	g/l
Citrate ferrique	49

De chacune de ces deux solutions mères, 5 ml sont prélevés et sont ajoutés à 10 l de solution nutritive. L'eau utilisée provient d'un déminéraliseur Zerolit MB6, à lits de résines mélangées.

La culture est réalisée dans des pots en polyéthylène ayant une forme parallélépipédique de 13 cm de haut sur 10 cm de côté et contenant 800 ml de solution nutritive.

Ces récipients peints extérieurement avec une peinture d'aluminium, possèdent un couvercle emboîtant, percé de 3 trous : un permettant le passage de l'axe caulinair, les deux autres correspondant au tuyau d'aération et à l'installation d'un système d'alimentation à niveau constant (figure 4 et 5).

Ce système à niveau constant alimente continuellement les plantes en solution nutritive et de plus évite d'importantes variations de potentiel hydrique dues aux pertes d'eau par transpiration et à l'éventuelle absorption du produit osmotique par la plante. En outre il permet, par différence, d'estimer la transpiration des plantes.

Il était logique d'admettre que dans une certaine mesure l'absorption d'eau évoluait parallèlement à celle des éléments minéraux et dans ce cas le

TABLEAU I

Production de la matière sèche et transpiration des plantes
dans les deux traitements : compensation du volume transpiré par
de la solution nutritive ou par de l'eau.

	Traitement		t	Probabilité
	Solution nutritive	Eau		
Poids sec des feuilles par plante (1)	3,347	2,486	2,53	0,02
Poids sec des tiges par plante (2)	4,127	2,888	3,311	0,01
Poids sec des racines par plante (3)	1,171	1,129	0,29	n. s.
Transpiration moyenne (4)	8,53	9,52	0,311	0,01

(1), (2), (3) grammes par plante

(4) $\text{g dm}^{-2} \text{ jour}^{-1}$

ballon devait contenir une solution nutritive complète permettant de faire face autant à une consommation d'eau qu'à celle d'éléments minéraux.

Un essai a été fait avec des plantes de l'espèce G. hirsutum, var. HAR 444.2 pour vérifier si la solution consommée devait être remplacée par de la solution nutritive ou par de l'eau.

Les plantes mises en germination dans des sachets en plastique contenant du sable, ont été transplantées dès qu'elles étaient âgées de 10 jours, après lavage complet des racines, dans les récipients contenant la solution nutritive.

L'expérience a duré un mois, en renouvelant la solution nutritive une fois par semaine. Chaque traitement utilisait 12 plantes. Le tableau I rend compte des résultats obtenus.

En remplaçant le liquide utilisé par de la solution nutritive, on obtient une croissance plus importante, et la transpiration observée est significativement plus faible.

Nous avons donc adopté ce système pour toutes nos expériences réalisées en solution nutritive.

Utilisation des produits osmotiques

De nombreux produits ont été déjà utilisés pour provoquer un abaissement du potentiel hydrique des solutions de culture, notamment le NaCl, le Mannitol, le Saccharose et certains polymères organiques.

Les sels, comme le NaCl, ayant des effets secondaires très importants nous avons cherché un produit qui, tout en étant inerte du point de vue métabolique, ne soit pas l'objet d'une consommation par des microorganismes, ce qui élimine aussi bien le Saccharose que le Mannitol, voire même les dextrans.

L'absorption possible du produit osmotique par la plante est aussi un problème important. En effet les plantes peuvent absorber certaines petites molécules, ce qui augmente en valeur absolue la composante osmotique du

potentiel hydrique des tissus et elles s'adaptent ainsi à une diminution du potentiel de la solution nutritive.

Les polyéthylène glycols (PEG), qui se présentent sous des poids moléculaires, pouvant varier de 200 à 20 000 et qui ne sont pas fermentescibles, paraissent être des substances capables de remplir ce rôle de produits osmotiques dans nos expérimentations.

McClenden et Blink (1952) sont les premiers auteurs à avoir utilisé le PEG comme produit osmotique pour conserver l'activité et la structure des organites cellulaires, dans leurs recherches sur la réaction de Hill.

Etudiant les PEG, Couper et Eley (1948) suggèrent l'existence de groupements aldehydes et par conséquent la possibilité d'une certaine toxicité, mais Lagerwerff et al. (1961) qui proposèrent le PEG 20 000 pour le contrôle du potentiel osmotique des solutions nutritives, purifient ce produit par dialyse, de façon à éliminer les quantités excessives d'aluminium et magnésium qu'il contenait et qui, selon eux, seraient responsables de la toxicité observée.

En ce qui concerne le choix du poids moléculaire du produit à utiliser, les avis divergent suivant les auteurs. Ainsi Janes (1961, 1966) préfère les poids moléculaires faibles et trouve même (Janes, 1966) que le PEG 400 est très peu absorbé par les plantes. Lagerwerff et al. (1961) proposent le PEG 20 000, alors que Jarvis et Jarvis (1963) et Macklon et Weatherley (1965 b) utilisent le PEG 1540.

Le problème de l'absorption de ce produit est loin d'être résolu car Lagerwerff et al. (1961) ont trouvé un transport vers les feuilles même avec le PEG 20 000, et Macklon et Weatherley (1965 b) ont aussi observé un transport qu'ils interprètent comme la conséquence de son absorption par des racines détériorées laissant le produit pénétrer directement dans le xylème. Cependant rien ne prouve qu'il soit passé dans la vacuole ni qu'il y exerce un effet cellulaire de pression osmotique.

Le potentiel osmotique des solutions de PEG a été déterminé soit par cryoscopie (Applegate, 1960) soit par des méthodes de tension de vapeur (Lagerwerff et al., 1961, Macklon et Weatherley, 1965 a).

Pour étudier l'influence du potentiel osmotique du milieu de culture sur le métabolisme de la plante nous avons adopté le PEG 600 comme produit osmotique.

Nous avons purifié les solutions de PEG 600 par passages successifs sur colonne de Dowex 1 et Dowex 50, ce qui enlève les ions contaminants mais aussi certains produits toxiques non identifiés.

Nous avons récemment vérifié que Greenway et Hiller (1967) et Greenway et al. (1968) ont adopté le même protocole de purification et leurs observations laissent penser que le PEG ainsi traité n'est plus toxique pour Chlorella.

Le PEG 600 a l'avantage d'être liquide aux températures ambiantes et miscible à l'eau. Dans la gamme des concentrations utilisées les autres PEG essayés (polymères de poids moléculaire 1000, 4000, 6000 et 20 000) donnent des solutions très visqueuses où l'aération se fait difficilement. En outre, pour obtenir un même potentiel osmotique, les quantités pondérales nécessaires doivent être supérieures à celles de PEG 600.

La détermination de ce potentiel pour le PEG 600 par la méthode de cryoscopie (Walter et Thren, 1934 ; Crafts et al., 1949) et par la méthode de tension de vapeur utilisant un osmomètre Mechrolab 301 (Whatley, 1966) a donné les résultats illustrés dans la figure 6. La méthode cryoscopique donne des potentiels osmotiques (en valeurs absolues) supérieurs à ceux obtenus par la méthode de tension de vapeur, ce qui confirme les observations de Lagerwerff et al. (1961).

Ce phénomène trouve son explication dans la viscosité de la solution et dans la lenteur de la formation de glace dans les solutions concentrées donc très visqueuses (Crafts et al., 1949).

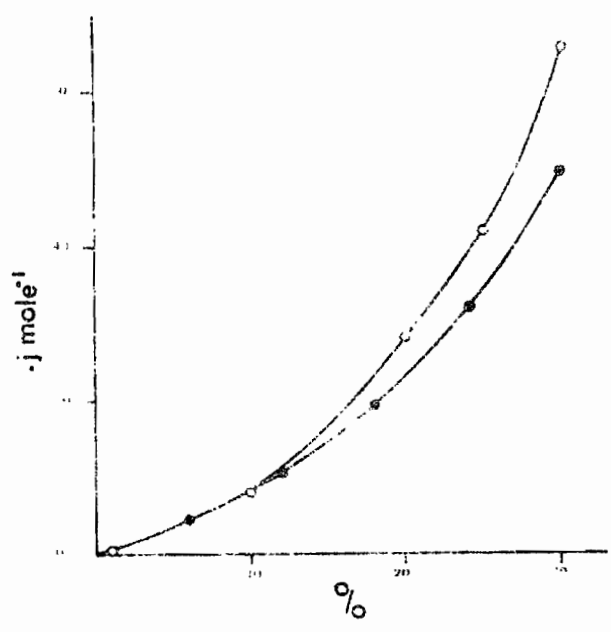


Fig. 6 Relation entre la concentration de la solution de PEG 600 (grammes par 100 ml de solution) et le potentiel osmotique de la solution.
o—o cryoscopie ; ●—● tension de vapeur.

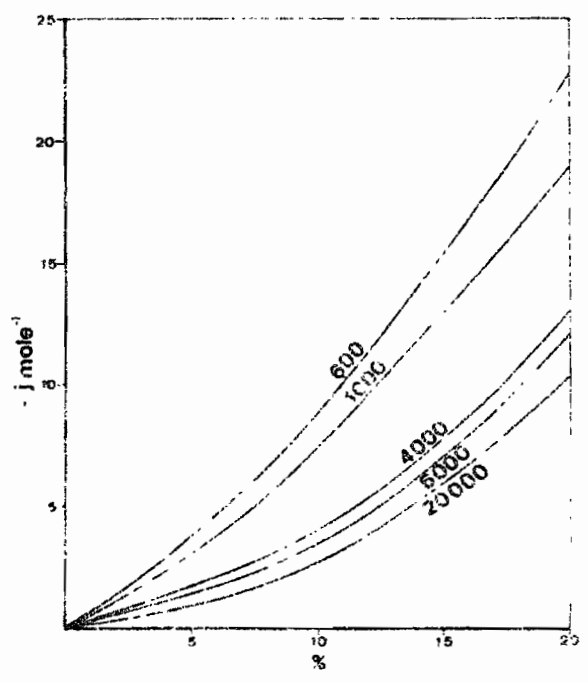


Fig. 7 Relation entre la concentration de PEG de poids moléculaires différents et le potentiel osmotique de la solution.

Aussi, toutes nos déterminations ont-elles été faites par la méthode de tension de vapeur, fondée sur l'échauffement d'une goutte de solution, déposée sur une thermistance, dans une atmosphère saturée de solvant.

L'utilisation des tables d'abaissement molal relatif de tension de vapeur données par Robinson et Stockes (1955) a permis d'étalonner l'osmomètre avec des solutions de NaCl.

Le potentiel hydrique de chaque solution de NaCl utilisée, peut être obtenu par la relation :

$$\psi = RT \ln \frac{P}{P_0}$$

qui donne la diminution d'énergie libre molaire pour chaque concentration, et que nous exprimons en joules mole⁻¹, ce qui peut être approximativement traduit en atmosphères, en l'affectant du facteur 0,56. Il est évident que les dimensions ne sont pas les mêmes dans les deux types d'expression et que thermodynamiquement seul le premier est correct (Slatyer et Taylor, 1960 ; Dainty, 1963).

Dans la figure 7 nous présentons les courbes établies par cette méthode pour les différents types de PEG.

Afin de confirmer l'innocuité du PEG 600 comme agent osmotique nous avons réalisé une expérience avec des plantes de la variété Allen âgées de deux mois.

Trois groupes comprenant chacun 10 plantes ont été constitués, un groupe témoin recevant la solution nutritive normale et les deux autres, une solution où le potentiel osmotique était abaissé à - 9 j. mole⁻¹ soit par du Mannitol soit par du PEG 600.

Le traitement osmotique a été appliqué en trois périodes distinctes, comme il est indiqué dans la figure 8. Il provoque une diminution nette de la transpiration par rapport au témoin. La reprise est cependant beaucoup plus

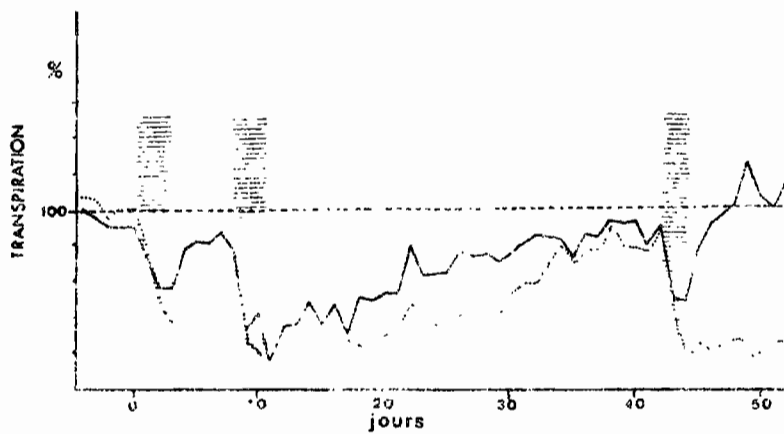


Fig. 8 Transpiration relative par rapport au témoin. L'expérience a commencé quand les plantes avaient 2 mois d'âge. En hachures les périodes d'application du traitement osmotique (1^{er} : de 0 à 3 jours ; 2^e : de 8 à 11 jours ; 3^e : de 42 à 44 jours). Entre ces traitements les pieds recevaient la solution standard.

———— PEG 600

..... Mannitol

----- Témoin

TABLEAU II

Croissance comparée des Cotonniers cultivés en solution nutritive pure ou additionnée de PEG 600 ou de Mannitol (- 9 j mole⁻¹).

	Matière sèche, grammes par plante (1)			
	Coton- (2) - graine	Feuilles	Tiges	Racines
Témoin	17,4	4,4	21,3	6,3
PEG 600 - 9 j mole ⁻¹	11,5	7,6	21,0	6,9
Mannitol - 9 j mole ⁻¹	5,3	4,9	12,5	5,0

(1) à la récolte

(2) graines plus fibre

facile pour les plantes traitées au PEG que pour celles traitées au Mannitol, qui pourtant n'est pas considéré comme un produit toxique.

A la fin de l'expérience, la quantité de feuilles dans les plantes traitées au PEG est même supérieure à celle des plantes témoins (Tableau II), ces dernières étant en fin de cycle végétatif, alors que les premières ont encore des feuilles jeunes, apparues après les traitements osmotiques.

Les résultats présentés nous ont confirmé l'intérêt du choix du PEG 600 comme produit osmotique pour l'induction de déficits hydriques dans les plantes cultivées en solution nutritive.

III - MECANISMES DE RESISTANCE A LA SECHERESSE :

L'APTITUDE A EVITER LA DESHYDRATATION

1) CYCLE VEGETATIF COURT

Ce type de résistance à la sécheresse, indiqué dans la classification adopté (fig. 1), n'a été rencontré ni chez les espèces sauvages ni chez les variétés cultivées du genre Gossypium.

Les espèces sauvages sont toutes des arbustes perennes, à longévité plus ou moins grande. C'est seulement chez les plantes cultivées que nous pouvons trouver des variétés dites annuelles dans la pratique agronomique, à floraison groupée, qui peuvent produire considérablement pendant leur première année. En réalité ces plantes ne sont pas de vraies annuelles, mais potentiellement des vivaces, bien que peu persistantes.

2) L'ABSORPTION D'EAU AU NIVEAU DU SYSTEME RACINAIRE

a) Introduction - La différence de résistance à la sécheresse entre espèces et variétés de cotonniers est souvent considérée comme le résultat d'un développement relatif plus important du système racinaire.

Ainsi Sankaran (1933) attribue la résistance plus grande de G. herbaceum, en comparaison avec G. indicum, au pivot plus important de la première espèce.

Civinskii (1934) observait aussi que la résistance était liée au développement du système racinaire, les variétés précoces ayant un système moins développé que les variétés tardives.

Les racines de cotonnier ont une croissance très rapide dans des conditions favorables, pouvant pénétrer très profondément dans le sol. En Egypte, Balls (1919, 1951) a rencontré des profondeurs d'enracinement supérieures à 2 m et King (1922), en Arizona, a observé un développement

radiculaire de la variété Pima jusqu'à 3,20 m. Hubard et Herbert (1933) ont trouvé que les cotonniers non irrigués possèdent un enracinement profond sans ramification en surface.

La relation entre la hauteur des plantes de G. barbadense et la profondeur de l'enracinement a été observée par Balls (1951) qui a obtenu les résultats suivants, en centimètres : 5/25 ; 15/50 ; 30/75 ; 60/170 ; 115/240. Le même auteur a indiqué la vitesse de croissance du système radiculaire du cotonnier égyptien comme étant, en moyenne de 1 mm par heure, la valeur observée, la plus élevée, étant de 1,6 mm par heure.

Dans le Tanganyika, Lea (1963) a observé des vitesses de croissance de l'ordre de 3,43 cm par jour et les racines de cotonnier arrivaient à des profondeurs de 1,5 m à 2,10 m.

En contraste avec les résultats présentés ci-dessus, Collings et Warner (1927) n'ont observé qu'une croissance réduite du système radiculaire du cotonnier, ne dépassant pas 60 cm en profondeur et développement latéral, et Cavaleri et Inforzato (1956) et Magalhães et al. (1962) indiquent que la grande majorité des racines se trouve dans la couche superficielle du sol de 15 à 20 cm d'épaisseur.

De même, aux U. S. A., Amemiya et al. (1963) ont observé que c'est surtout l'eau des horizons supérieurs du sol qui est utilisée par le cotonnier, l'eau des zones plus profondes étant insuffisante pour maintenir la croissance optimale pendant les périodes de consommation plus élevée.

Le pourcentage d'eau utilisé par chaque tranche de 30 cm jusqu'à la profondeur de 1,8 m par le Cotonnier (dans les régions plus chaudes) était, d'après Krantz et al. (1955) à partir de la surface : 38,2 % ; 15,6 % ; 11,6 % ; 6,5 % et 4,5 %. Cependant Clower et Patrick (1965) ont observé que les Cotonniers flétrissent seulement quand les couches profondes du sol sont au point de flétrissement.

Les différences entre les systèmes racinaires des plantes de plus grosse taille et des plantes plus petites de la variété Pima, d'après King (1922) se trouvaient seulement dans la grosseur du pivot dans les premiers 30 cm ou 36 cm de sol. A partir de cette profondeur il n'y avait pas de différences dans la taille, nombre et distribution des racines.

Cela explique qu'ayant une alimentation en eau semblable, les plus grosses plantes, qui transpirent plus, flétrissent avant les plantes plus petites, car le système absorbant est semblable.

La suppression des boutons floraux est favorable à la croissance du système racinaire et Eaton (1931 b) a observé que le poids sec total des racines et la relation racine/partie aérienne augmentaient dans les cotonniers auxquels on avait empêché le développement des branches et capsules. Une expérience au champ a démontré qu'une suppression légère des boutons floraux a permis aux plantes d'Acala de supporter mieux une sécheresse au milieu de la saison, et produire 9 % plus de coton que les témoins.

Une défloraison complète pendant la première partie de la saison conduit aussi (Eaton 1931 a) à des productions plus élevées.

L'avantage présenté, du point de vue de résistance à la sécheresse par les lignées de cotonnier à floraison non groupée, en comparaison avec celles à floraison groupée plus précoce est due, d'après Eaton et Rigler (1945), à une croissance racinaire plus grande en résultat du nombre moins important de capsules pendant la phase jeune de la plante. Cette croissance permettant d'exploiter un volume de sol plus grand. L'inhibition de la croissance des racines par les capsules en développement a aussi été observé par Boughey (1944), Eaton et Joham (1944) et Crowther (1934).

Tubbs a noté (voir Russel, 1963) que quand la fructification commence, la croissance du système racinaire est sévèrement réduite, et que c'est surtout à travers l'effet sur le système racinaire, et non sur la surface foliaire, qu'agit la suppression des premiers boutons floraux.

Dans la même conférence (Russel, 1963), Brown explique l'avantage de la variété Albar au Tanganyika par l'existence d'un système racinaire plus profond.

Comparant l'Arachide, le Sorgho et le Cotonnier, Slatyer (1955) a trouvé que ce dernier, moins résistant à la sécheresse, a un système racinaire moins développé que les deux autres espèces.

Le système racinaire très développé de l'espèce G. barbadense permet d'après Brown (1959, 1961), son utilisation en culture sèche en Israël, et une plus grande économie d'eau en conditions d'irrigation.

La rusticité de la race punctatum de G. hirsutum et sa bonne adaptation en Afrique de l'Ouest se doivent, d'après Hutchinson (1938), à l'extension de son système racinaire.

L'étendue de la surface active du système racinaire du Cotonnier a été étudiée par la mesure de l'exsudation par le collet de plantes recepées, par Shardaikov et al. (1965) et Ermochenko (1951). Filipov (1954) a utilisé la même méthode pour déterminer le niveau de sécheresse du sol qui empêchait l'absorption par la plante. La pression d'exsudation des racines de Cotonnier est supérieure (O'Leary, 1966), à celles du Haricot, du Fourmesol, du Ricin et du Mafis.

Le développement du système racinaire du Cotonnier est dépendant de l'intensité lumineuse. D'après les études de Cannon (1925) une intensité faible est défavorable à sa croissance, tandis qu'une intensité élevée, stimule le développement du pivot qui peut atteindre une longueur considérable avant que des racines latérales ne se forment.

La dynamique d'absorption de l'eau par un système racinaire a été étudié par Gardner (1960) qui considère que c'est surtout la distribution des racines en profondeur et la tension de l'eau dans le sol, sa conductivité et la succion de la plante, qui conditionnent l'absorption.

La résistance dans les racines au transfert d'eau peut être importante surtout pour le cotonnier, dont les racines profondes sont très fines, d'un diamètre de l'ordre de 2 à 3 millimètres (Balls, 1951) et elle peut empêcher l'absorption quand le sol exerce une restriction sur le diamètre du pivot pour des périodes supérieures à deux semaines (Mathers et Welch, 1964).

b) Expériences de greffes - Nous avons procédé à des expériences de greffes dans le but de voir si les cotonniers sauvages, ayant un système racinaire perenne et, a priori, plus puissant, pouvaient conférer aux espèces cultivées greffées sur eux, une plus grande résistance.

Nous avons greffé le G. hirsutum sur G. raimondii et sur G. thurberi. Le premier porte greffe est une espèce très résistante, se défoliant peu en saison sèche. Le second, est une espèce très peu persistante, passant la saison sèche à l'état de tiges et dont les racines sont peu puissantes.

Des greffes inverses ont été effectuées, non seulement de G. raimondii et de G. thurberi sur G. hirsutum, mais aussi de G. aridum et G. somalense sur cette même espèce.

Il a été vérifié que le système racinaire n'avait apparemment aucune influence sur la partie aérienne, ce qui est en contradiction avec les résultats bien connus en pomologie. Par contre le greffon a conféré au système racinaire des caractéristiques qui seraient celles du sien. Cinq ans après les premières greffes nous avons encore des plantes de G. raimondii, de G. aridum et de G. somalense greffées sur G. hirsutum alors que la greffe inverse avait donné des plantes ne dépassant pas leur deuxième année. Les greffes de G. thurberi sur G. hirsutum étaient aussi peu persistantes que les plantes de G. thurberi. La figure 9 montre des systèmes racinaires de G. hirsutum portant un greffon de G. raimondii déterrés après 5 ans de croissance. Il s'est formé une charpente puissante qui se ramifie en profondeur.

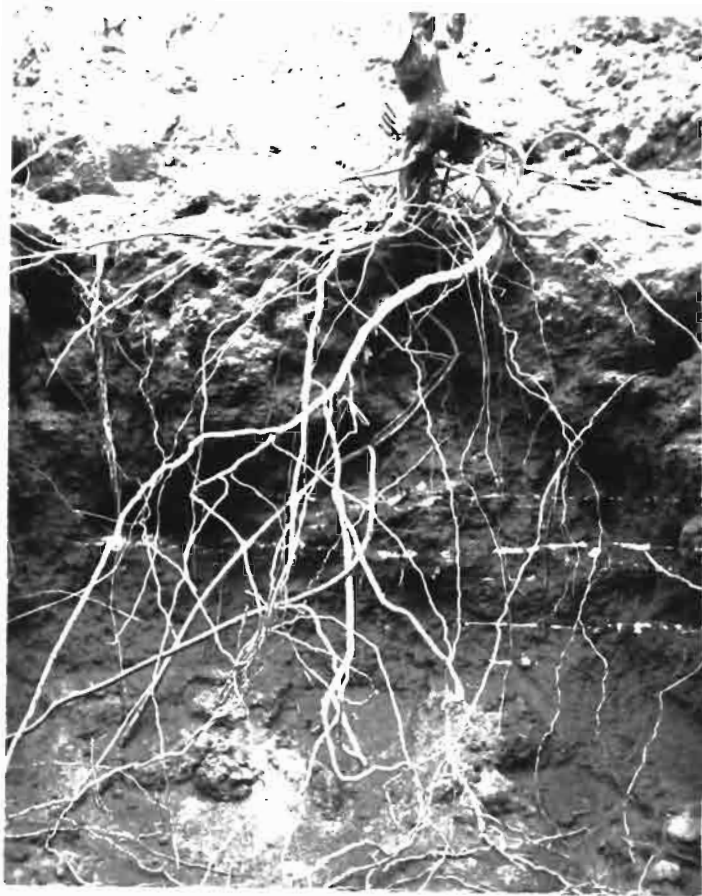


Fig. 9 - G. raimondii greffé sur G. hirsutum

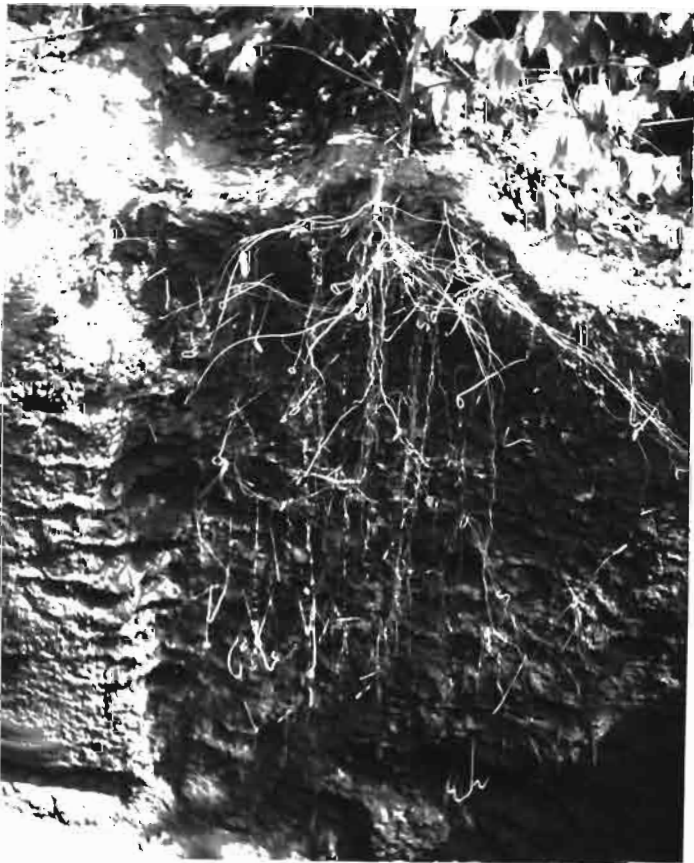


Fig. 10 - Système racinaire de G. hirsutum, race punctatum.

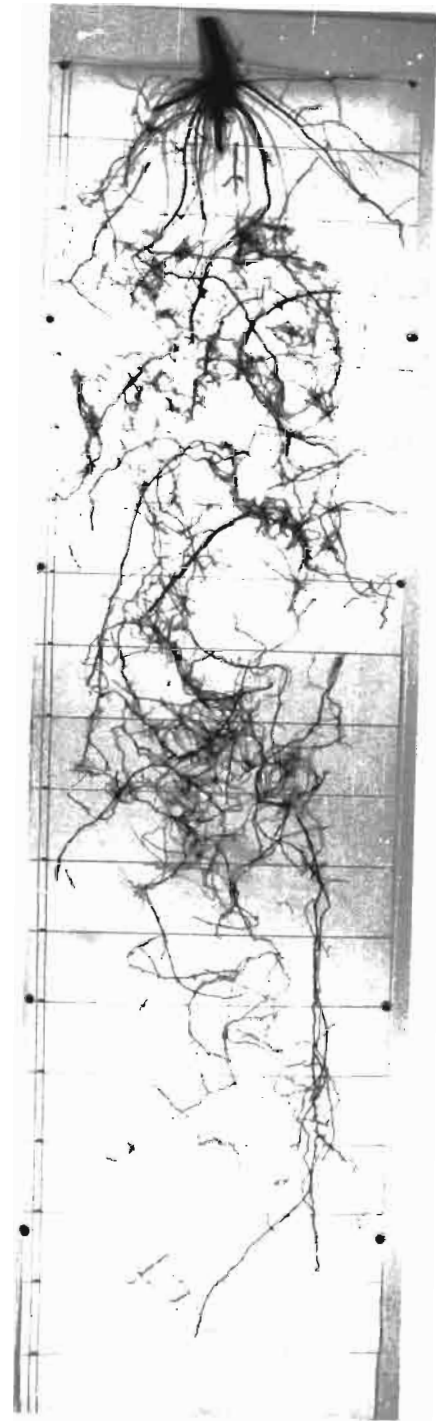


Fig. 11 - G. hirsutum, race marie galante, tranche verticale de 10 cm d'épaisseur du système racinaire.

Par contre chez G. hirsutum (figure 10) le système racinaire s'est développé plus en surface même si de fines racines peuvent s'enfoncer jusqu'à 2 m (figure 11).

c) Développement du système racinaire - Le développement du système racinaire est peut être l'un des éléments majeurs de la résistance à la sécheresse du Cotonnier Moco (G. hirsutum, race marie galante).

En effet il s'agit d'un G. hirsutum perenne qui a une fructification très tardive et très peu abondante au cours de la première année de culture. Compte tenu de l'effet d'inhibition des capsules sur la croissance du système racinaire, nous pouvons penser que, pendant la première année de culture, les racines peuvent s'allonger de façon presque continue. A la deuxième année, la croissance reprend dans des conditions plus favorables, ce qui correspond à une production plus grande.

Nous avons pu voir ces Cotonniers au Brésil en fin de saison sèche, réduits à de simples tiges, mais ayant un système racinaire dépassant 3 mètres en profondeur.

Nous avons comparé dans l'espèce G. hirsutum la vitesse de croissance des racines, de la variété sélectionnée ATH 555.7 à celle de la race punctatum, réputée posséder un système racinaire puissant (Hutchinson, 1938).

La surface des racines a été mesurée chaque semaine sur un échantillon de 5 cotonniers mis en culture dans du sable arrosé par une solution nutritive. Sur la figure 12, où sont présentés les résultats obtenus, nous pouvons constater que le taux de croissance relative est sensiblement le même pour les deux variétés, mais l'ordonnée à l'origine est plus élevée pour ATH 555.7 que pour G. punctatum. Cette différence est en relation avec le poids de graines, beaucoup plus important pour ATH 555.7 que pour l'autre variété (poids de 100 graines : ATH 555.7, 10,33 g ; punctatum, 7,00g).

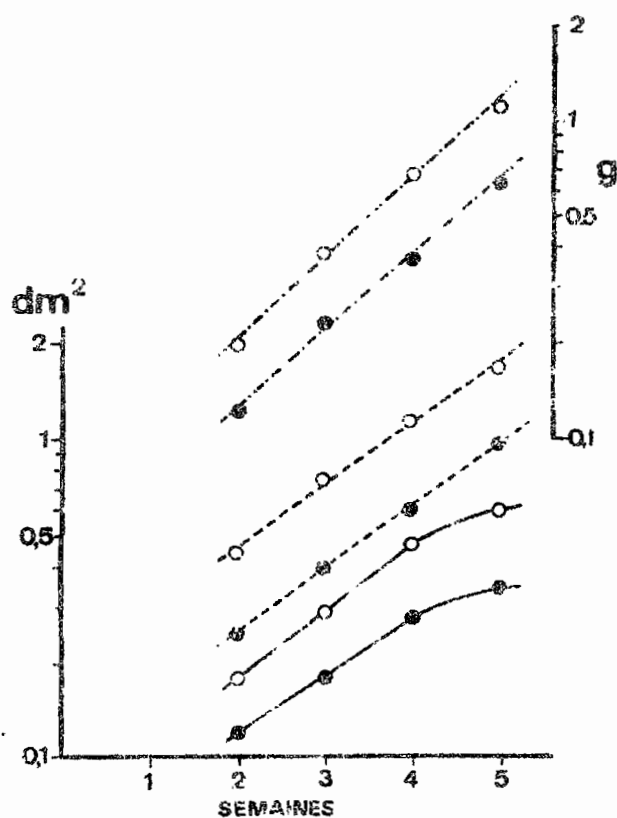


Fig. 12 Evolution de la surface du système racinaire, de la surface foliaire et de la matière sèche avec l'âge (coordonnées semi-log).

- *G. hirsutum* var. *punctatum*
- *G. hirsutum* var. ATH 555.7
- surface des racines
- - - surface des feuilles
- · · matière sèche

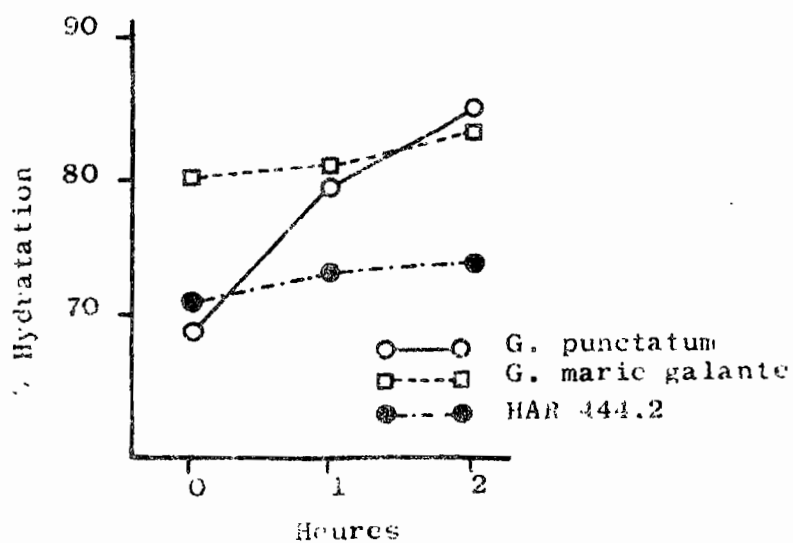


Fig. 13 Evolution de l'hydratation relative (turgescence relative, en %) des feuilles de G. hirsutum après arrosage.

- G. hirsutum race punctatum
- G. hirsutum race marie galante
- G. hirsutum var. HAR 444.2

TABLEAU III

Bilan hydrique de trois variétés de G. hirsutum

	Surface des feuilles dm ²	Surface des racines dm ²	Rapport Surface des feuilles sur Surface des racines	Transpiration mg dm ⁻² h ⁻¹	Absorption mg dm ⁻² h ⁻¹
<u>G. punctatum</u>	126	26	4,8	68	1800
<u>G. marie galante</u>	147	15	9,8	92	1500
HAR 444.2	70	14	5,0	133	900

TABLEAU IV

Exsudation du système racinaire
en fonction du nombre de capsules

Nombre de capsules par plante	Exsudation au collet, ml/heure
0	20,5 ± 0,46
15	12,1 ± 0,67
60	3,0 ± 0,85

Il est intéressant de remarquer que la croissance des racines se ralentit, même en l'absence de capsules, dès la quatrième semaine. Mais, ce ralentissement ne se retrouve ni dans l'évolution de la surface foliaire, ni dans l'évolution du poids sec total (figure 12).

d) Absorption d'eau mesurée par la rehydratation des feuilles de trois variétés - L'absorption d'eau par les systèmes racinaires de G. hirsutum (race punctatum, race marie galante et variété HAR 444,2) a été étudiée.

Des pieds de ces trois variétés ont été cultivées jusqu'à l'âge de 4 mois, dans des bacs en tôle de 50 cm de côté, contenant de la terre de forêt. L'arrosage des bacs est alors arrêté. Lorsque les plantes sont flétries, l'hydratation relative (turgescence relative) moyenne des feuilles a été mesurée (Barrs et Weatherley, 1962) et les plantes ont été de nouveau arrosées. L'hydratation relative a été mesurée à des intervalles d'une heure et la fermeture des stomates confirmée à l'aide d'un poromètre de Darwin. L'évolution de l'hydratation dans la plante et la mesure de la transpiration cuticulaire, sur des feuilles détachées, permettent d'établir le bilan hydrique de la plante, une fois déterminées les surfaces foliaires et racinaires par une méthode photométrique (Bonzon, 1964).

La figure 13 et le tableau III permettent d'apprécier l'évolution de l'hydratation de la plante et du flux de transpiration et d'entrée d'eau dans les racines.

Nous vérifions que la race punctatum a un flux d'entrée d'eau plus important que celui de la variété HAR 444,2 voire même celui de la race marie galante.

Les erreurs que nous aurions pu commettre dans les mesures de transpiration cuticulaire, beaucoup plus basse chez punctatum que chez les deux autres variétés (Vieira da Silva, 1967), ne feraient diminuer l'estimation du flux d'entrée d'eau dans les racines.

Il y a donc, apparemment, pour la race punctatum, une grande capacité d'absorption d'eau, ce qui confirmerait les idées d'Hutchinson (1938) sur son

système racinaire très actif.

De telles mesures sont très longues à réaliser et aussi très difficiles à comparer du point de vue quantitatif.

e) Absorption d'eau mesurée par l'intensité de l'exsudation (influence du nombre de capsules - Nous avons voulu étudier l'influence du nombre de capsules des pieds, sur l'absorption d'eau, mesurée par l'exsudation de plantes au niveau du collet, immédiatement après section, selon la méthode de Shardakov et Ermoshenko (1965).

Nous avons vérifié sur des pieds de G. hirsutum, que cette exsudation diminue avec le nombre de capsules que portait la plante (tableau IV, moyenne de 6 déterminations).

Compte tenu des connaissances sur l'influence des substances de croissance sur l'exsudation (Skoog et al., 1938), il n'est pas exclu que le développement des capsules entraîne un déséquilibre auxinique qui aurait comme conséquence non seulement l'arrêt de croissance des racines, vérifié par plusieurs auteurs (voir Salter et Good, 1967) mais aussi une diminution de l'exsudation.

3) L'ABSORPTION D'EAU PAR LES FEUILLES

a) Introduction -

Dans l'introduction nous avons souligné l'importance que peut avoir la rosée pour certaines plantes des régions désertiques. Cependant ce n'est pas seulement la rosée, mais aussi l'absorption directe d'eau par la feuille du Cotonnier, en atmosphère à haut degré hygrométrique, qui peut conférer à la plante une certaine capacité de résistance à la sécheresse du sol.

Les expériences classiques de Breazeale et al. (1950, 1951) et de Breazeale et McGeorge (1953) paraissent démontrer non seulement l'absorption d'eau par les feuilles des plantes dans des conditions d'humidité atmosphérique

élevée, mais aussi l'existence d'un flux inversé, conduisant à un transport de l'atmosphère jusqu'aux racines et émission d'eau par celles-ci (Breazeale et al., 1950). Haines (1952) répétant ces expériences de Breazeale et al., 1950) n'a pas obtenu cette émission racinaire d'eau, mais il confirme l'absorption d'eau par les feuilles. Müller-Stoll (1965) a cependant noté une reprise de turgescence des racines de plantes dont les parties aériennes étaient dans une atmosphère saturée d'humidité.

Stone et al. (1950) ont observé aussi l'absorption d'eau atmosphérique par des plantes dans des conditions de sécheresse édaphique, et Vieira-da-Silva (1956) a vérifié que des plantes de Haricot et de Mil poussant dans un sol près du point de flétrissement présentaient une augmentation de poids après un séjour d'une nuit dans une atmosphère saturée en vapeur d'eau.

Chez le Cotonnier, Slatyer (1956, 1957) a constaté que, dans des conditions de potentiel d'eau du sol très bas, les plantes pouvaient absorber de l'eau de l'atmosphère, diminuant ainsi leur déficit hydrique. L'explication du phénomène de la conservation de cette eau dans la plante que, d'après les gradients de potentiel (Slatyer, 1956) devait passer dans le sol est, d'après Slatyer (1957), la suberisation et la mort des racines, dues à la sécheresse, qui provoquent une discontinuité entre le système racinaire et le sol.

b) Mise en évidence d'une absorption foliaire par détermination du potentiel hydrique - Des Cotonniers, de la variété HAR 444.2 de G. hirsutum, cultivés sur solution nutritive, en serre, ont été soumis dès qu'ils avaient 45 jours aux traitements factoriels suivants :

- a) - à de la lumière continue par opposition au cycle de 12 h jour/12 h nuit.
- b) - au potentiel osmotique de la solution nutritive abaissée à -20 j. mole^{-1} à l'aide du PEG 600, par opposition à la solution normale de $-0,9 \text{ j. mole}^{-1}$.

c) - dans une atmosphère approximativement à 100 % d'humidité relative ; par opposition à l'atmosphère de la chambre conditionnée qui était à 60 % d'humidité relative.

Chaque combinaison de traitement était répétée 4 fois.

L'expérience se déroulait pendant 48 heures dans une chambre conditionnée à $25^{\circ} \pm 1^{\circ}$ C et dans les traitements à 100 % HR les plantes étaient enveloppées d'une gaine plastique, où l'atmosphère était conservée proche de la saturation à l'aide de mèches de coton imbibées d'eau.

Les pieds étaient illuminés par des lampes à vapeur d'iode et les rayons infrarouges ont été filtrés par une couche d'eau courante de 10 cm d'épaisseur placée entre les ampoules et les plantes. L'intensité de lumière était de 15 000 lux au niveau des feuilles supérieures.

Les analyses ont été effectuées après 48 h de traitement, les pieds soumis au cycle 12 h jour/12 h nuit, ayant déjà reçu 4 heures d'illumination au moment des prélèvements. Le potentiel hydrique a été déterminé par la méthode de Shardakov (1953) sur la 4^{ème} feuille à compter de l'apex. Les résultats font l'objet du tableau V.

De ces résultats, un certain nombre de conclusions semblent pouvoir être tirées :

Pour les plantes en conditions d'alimentation hydrique normale l'augmentation du pouvoir d'évaporation soit par diminution de l'humidité relative de l'air, soit par illumination permanente est compensée par l'absorption d'eau et il n'y a pas de changement significatif dans le potentiel hydrique de la feuille.

Par contre les plantes soumises à un traitement osmotique ont des potentiels hydriques au niveau des feuilles d'autant plus bas que le pouvoir d'évaporation du milieu est plus grand. Gonzalez et al. (1966) observaient des faits analogues. Cependant, les plantes à 100 % d'humidité relative et subissant un cycle normal jour/nuit ont un potentiel hydrique foliaire sensiblement égal à celui des plantes témoins et supérieur à celui de la solution nutritive.

TABLEAU V

Influence de l'illumination, de l'humidité atmosphérique et du traitement osmotique ($- 20 \text{ j mole}^{-1}$) sur le potentiel hydrique de la 4^{ème} feuille de G. hirsutum, HAR 444.2

	Lumière continue		Cycle de 12 heures de lumière	
	60 % HR (1)	100 % HR	60 % HR	100 % HR
Traitement osmotique	- 62,2	- 42,5	- 33,5	- 13,3
Témoin	- 9,6	- 9,6	- 12,0	- 9,6

p. p. d. s. $P = 0,05 : \bar{\tau} 10,4 \text{ j mole}^{-1}$

$P = 0,01 : \bar{\tau} 15,4 \text{ j mole}^{-1}$

Effets factoriels ($- \text{j mole}^{-1}$)

Lumière 13,9 *

Traitement osmotique 27,7 **

Humidité atmosphérique -10,6 *

Lumière x
traitement osmotique 15,1 *

* - $P = 0,05$

** - $P = 0,01$

(1) HR = humidité relative

Néanmoins les mesures ayant été faites 4 heures seulement après la fin de la période nocturne, il est concevable que les plantes continuant à recevoir de l'énergie lumineuse et ne pouvant pas absorber de l'eau par les racines, atteignent à la fin de la journée un potentiel hydrique plus bas que celui qui a été mesuré.

Dans les conditions de lumière continue les plantes ne peuvent plus éviter les pertes vers l'atmosphère, même saturée, et les feuilles ont des potentiels hydriques encore plus réduits que ceux de la solution osmotique.

Pour comprendre ce phénomène il faut reconnaître que l'égalité des forces de succion n'est un critère de flux nul que lorsqu'il n'y a pas de mécanismes actifs de transfert et nous pouvons y inclure le cas où se trouvent réalisées des différences de température.

En réalité nous savons (Spanner, 1954 ; Briggs, 1967), que pour une différence de température ΔT nous pouvons obtenir, à travers une membrane une différence de pression thermo-osmotique s'exprimant :

$$\Delta P = - \frac{Q^*}{VT} \Delta T$$

où V est le volume molaire, T la température absolue et Q^* la chaleur molaire de transfert.

Dans le cas de l'eau en contact avec l'air Q^* représente approximativement la chaleur latente de vaporisation.

Dans ces conditions, pour une différence de température de 1°C , ΔP correspond à - 80,6 atmosphères.

Ainsi, même si la force de succion "mesurée" dans un tissu foliaire est appréciable, ce tissu peut transpirer dans une atmosphère saturée si sa température est portée, par absorption d'énergie lumineuse à un niveau supérieur à celui de la température de l'air. Inversement le refroidissement par rayonnement pendant la nuit peut conduire, dans les conditions naturelles, à renforcer la force de succion du tissu et faciliter l'absorption de l'eau atmosphérique.

Ce phénomène a une importance relative d'autant plus grande que l'humidité relative de l'atmosphère s'approche de la saturation.

Vartanian et Vieira-da-Silva (1968 b) ont mis en évidence sur la Moutarde un gradient inversé de potentiel hydrique et les modèles proposés pour expliquer ce gradient, pourraient rendre compte des résultats obtenus dans cette expérience.

c) Absorption foliaire et migration des sucres -

Un argument supplémentaire à l'appui de l'hypothèse de l'absorption d'eau par les feuilles du Cotonnier en atmosphère saturée est apporté par le transfert des glucides solubles vers les racines.

En effet nous avons vérifié (Vieira-da-Silva, 1968 c) que les conditions de sécheresse avaient pour conséquence une accumulation de glucides solubles dans les feuilles et une diminution concomitante dans les racines, le mécanisme énergétique du transfert actif étant perturbé. Zholkevich et Koretskaya (1959) avaient déjà observé que la quantité de produits phosphorylés diminuait dans les plantes flétries et Kursanov et Brovchenko (1961) ont montré que l'infiltration des feuilles avec de l'ATP avait, pour conséquence, un transfert accru de glucides.

Selon notre hypothèse, si un gradient inversé et un flux passif d'eau des feuilles vers les racines pouvaient s'établir, nous aurions, surtout dans les cas de sécheresse du milieu racinaire, un transfert non-actif de glucides.

Pour confirmer cette hypothèse, une expérience a été réalisée avec des plantes de G. hirsutum var. HAR 444.2 âgées de 2 mois et cultivées sur une solution nutritive.

Ces plantes ont été soumises, dans une chambre à température ($25^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$) et humidité (60 % HR) constantes, à un traitement osmotique soit de -10 j mole^{-1} (1ère expérience), soit de -20 j mole^{-1} (2ème expérience). Les témoins recevaient la solution nutritive normale ayant un potentiel osmotique de $-0,9 \text{ j mole}^{-1}$.

Parmi ces plantes, deux lots ont été constitués, l'un étant soumis à l'humidité de la pièce conditionnée et l'autre contenant des plantes enveloppées d'une gaine en polyéthylène de façon à obtenir, à l'aide de mèches de coton imbibées d'eau, une atmosphère proche de la saturation.

Les plantes étaient soumises à un cycle de 12 heures de jour (15 000 lux au niveau des feuilles supérieures) et de 12 heures de nuit. Chaque expérience comportait 4 répétitions.

Au début de l'essai 0,01 ml de saccharose $U^{14}C$ (10 μ Ci par ml) ont été fournis à chacune des 4 feuilles supérieures de la plante, dans une capsule de gélatine que pénétrait une languette découpée dans le limbe de la feuille.

L'essai durait 48 h et la totalité des racines, feuilles et tiges était récoltée, en prenant soin d'éliminer un disque de 2,5 cm de diamètre autour du point d'application du saccharose ^{14}C dans chaque feuille.

Les organes récoltés ont été extraits avec de l'éthanol à 80 % et une partie aliquote de l'extrait, séchée dans une coupelle, faisait l'objet d'un comptage dans un compteur à flux de gaz, dont le rendement était de 15 % pour le ^{14}C . Le résidu de l'extraction alcoolique était soumis à une minéralisation par voie humide (Van Slyke et Folch, 1940) et le $^{14}CO_2$ libéré, fixé dans la baryte est compté dans une coupelle dans le même compteur.

Le tableau VI rend compte des résultats obtenus.

Le pourcentage de radioactivité soluble dans l'alcool à 80 % transféré des feuilles vers les racines s'avère beaucoup plus grand dans les conditions d'une atmosphère à 100 % d'humidité relative que dans celles d'une atmosphère à 60 % d'humidité relative.

Dans le traitement à 100 % d'humidité relative, le pourcentage transféré vers les racines est même supérieur, dans le cas du traitement osmotique de -10 j mole^{-1} , à celui du témoin.

Tableau VI - Influence du traitement osmotique et atmosphérique sur la distribution de la radioactivité dans la fraction insoluble et soluble dans l'éthanol à 80%.

		c.p.m. dans la plante	Pourcentage par organe								
			Feuilles			Tiges			Racines		
			Soluble (a)	Insoluble (b)	Total	Soluble	Insoluble	Total	Soluble	Insoluble	Total
Traitement osmotique - 10 j mole ⁻¹ HR	Témoin	46.244	42,4	12,3	54,7	22,7	9,6	32,3	5,6	7,4	13,0
	Traitement osmotique	35.751	27,9	20,6	48,5	25,3	9,3	34,6	8,0	8,9	16,9
	Témoin	52.884	56,8	20,8	77,6	1,5	8,4	9,9	1,4	11,1	12,5
	Traitement osmotique	61.878	73,9	13,7	87,6	2,0	3,8	5,8	0,4	6,2	6,6
	p p d s			0,05 0,01	±2,7 ±3,9		0,05 0,01	± 9,1 ±13,1		0,05 0,01	±2,2 ±3,2
Traitement osmotique - 20 j mole ⁻¹ HR	Témoin	63.703	66,5	9,1	75,6	9,8	2,2	12,0	8,1	4,3	12,4
	Traitement osmotique	51.246	67,0	3,5	70,5	16,8	5,0	21,8	5,3	2,4	7,7
	Témoin	53.734	80,8	12,0	92,8	1,7	3,7	5,4	1,1	0,7	1,8
	Traitement osmotique	54.877	70,6	16,1	86,7	1,7	10,5	12,2	0,3	0,8	1,1
	p p d s			-0,05 0,01	±8,8 ±13,3		0,05 0,01	±5,3 ±7,8		0,05 0,01	±4,0 ±5,8

(a) soluble dans l'éthanol à 80 %

(b) dosé dans le résidu de l'extraction éthanolique

Par contre, dans le traitement à -20 j mole^{-1} la quantité de radioactivité dans les racines du traitement osmotique est inférieure à celle du témoin, mais celle rencontrée dans les tiges lui est supérieure.

Cet essai paraît aussi confirmer l'hypothèse selon laquelle une absorption d'eau se ferait par les feuilles dans des conditions d'humidité élevée, ce qui améliorerait son hydratation comme nous l'avons vérifié dans l'essai précédent, et faciliterait le transfert vers le reste de la plante.

Un traitement osmotique faible faciliterait ce transfert, mais un traitement plus fort diminuerait la quantité transférée vers les racines. Il constitue peut être déjà une valeur létale pour ces organes.

Tous ces résultats paraissent donc démontrer que les Cotonniers peuvent absorber de l'eau par les feuilles, dans une atmosphère approximativement saturée d'humidité.

4) FORCE DE SUCCION. RELATION ENTRE L'HYDRATATION ET LE POTENTIEL HYDRIQUE

a) Introduction -

La relation entre l'hydratation des tissus foliaires et le potentiel hydrique a été étudiée par Weatherley et Slatyer (1957). Ces auteurs ont observé que les courbes obtenues avec des plantes de Tomates et de Troène étaient différentes, les premières développant, pour une même deshydratation, un potentiel hydrique plus bas que les secondes.

Plus tard Slatyer (1960) a comparé les valeurs obtenues sur ces deux plantes avec celles mesurées sur des phyllodes d'Acacia aneura. Dans ces trois espèces, à un même potentiel hydrique correspond une hydratation d'autant plus grande que l'espèce est plus résistante à la sécheresse, dans l'ordre croissant : la Tomate, le Troène, l'Acacia.

Cependant, comme le soulignent Jarvis et Jarvis (1963), on ne connaît pas entièrement les effets produits par un potentiel hydrique réduit sur le métabolisme des plantes, et le classement obtenu par Slatyer ne signifie peut être pas qu'un potentiel hydrique plus bas soit un facteur de résistance à la sécheresse, mais que ces plantes ont des caractéristiques leur permettant de supporter un potentiel hydrique réduit.

Les mêmes réserves ont été faites par Noy-Meir et Ginzburg (1969) qui ont vérifié qu'aucun paramètre de l'isotherme du potentiel hydrique, ne permettait de classer les plantes par ordre de résistance et que les mécanismes d'adaptation à la sécheresse au niveau cellulaire étaient différents pour chacune des espèces qu'ils étudiaient.

L'étude théorique de l'isotherme du potentiel hydrique des feuilles faite par Noy-Meir et Ginzburg (1967) et son application à trois espèces (1969), leur a permis d'estimer leurs composantes qui s'avèrent être le potentiel matri-

ciel, le potentiel de la solution et le potentiel hydrostatique.

L'isotherme d'un tissu vivant a une forme typique en S tandis que pour un tissu mort elle se présente comme une courbe concave. La différence est due à l'influence plus ou moins grande selon l'élasticité des parois des cellules, du potentiel hydrostatique. Celui-ci agit surtout sur la partie de la courbe entre la turgescence maximale et le point de flétrissement. Il est cependant possible de trouver, à partir de ce point, des potentiels hydrostatiques négatifs (Noy-Meir et Ginzburg, 1969).

Le potentiel hydrique d'un tissu serait donc la résultante de toutes ses composantes.

$$\psi_{\text{tissu}} = \psi_{\text{matriciel}} + \psi_{\text{solution}} - \psi_{\text{hydrostatique}}$$

Nous utilisons ici le terme ψ_{solution} à la place de $\psi_{\text{osmotique}}$, car les solutions contenant des substances de poids moléculaire élevé ne suivent pas la loi des gaz parfaits applicable à la pression osmotique.

La relation entre le potentiel hydrique et la turgescence relative des tissus a été étudiée chez le Cotonnier par Turina (1957) et Nakayama et Ehrler (1964). Néanmoins les connaissances que l'on a sur cette question sont encore trop fragmentaires.

La force de succion a été utilisée comme critère d'irrigation des Cotonniers, indiquant donc un seuil critique à ne pas dépasser, par Shardakov (1953) et Krapivine (1963). Le premier auteur recommande de ne pas laisser dépasser une force de succion de 14 à 15 atmosphères tandis que le deuxième auteur donne comme limites de 8-9 atmosphères avant la formation des bourgeons floraux ; de 9-10 atmosphères pendant cette dernière période ; de 10-11 atmosphères à la floraison et de 11-13 atmosphères pendant la formation des fruits. Le flétrissement prolongé correspond, chez le Cotonnier à des valeurs de potentiel hydrique (selon Shardakov, 1953) de 31 à 35 atmosphères ou de 34 atmosphères (d'après Slatyer, 1957).

Kerr et Anderson (1944) ont trouvé que dans les capsules de Cotonnier à partir de l'âge de 24 jours la force de succion des graines est supérieure à la pression osmotique et ils suggèrent qu'un mécanisme d'imbibition est responsable de l'absorption d'eau par les graines dans la capsule.

Filipov (1959 b) a trouvé une relation entre la force de succion dans les feuilles de Cotonnier, mesuré par la méthode de Shardakov (1953) et la teneur hydrique du sol. Des relations de ce genre doivent être corrigées dans les sols salins car Gumarova (1957) a vérifié que la force de succion des feuilles augmentait avec le degré de salinité.

Hawkins (1927) a étudié l'hydratation des feuilles de Pima (G. barbadense) et d'Acala (G. hirsutum) en relation avec l'humidité du sol. Cet auteur en conclut que la teneur en eau était toujours supérieure dans l'Acala que dans Pima, mais que dans cette dernière variété elle était moins dépendante de l'eau du sol. Acala paraît souffrir plus avec le manque d'eau que Pima, et a besoin d'un arrosage plus régulier.

L'hydratation n'est pas la même dans les différentes feuilles de Cotonnier et Portsmouth (1937) a vérifié que les feuilles les plus jeunes sont celles qui ont le taux hydrique le plus faible. Tadros et Saad (1951) indiquent aussi que l'hydratation était minimale aussi bien dans les feuilles les plus jeunes que dans les feuilles senescentes, et maximale dans les feuilles adultes. Ils ont observé que les régions apicales souffraient le plus du manque d'eau, car c'étaient les zones de la plante où se développaient les déficits hydriques les plus grands et où les feuilles avaient le taux hydrique le plus bas.

La composante osmotique du potentiel hydrique a été la plus fréquemment étudiée chez le Cotonnier.

Des études sur la concentration de la sève du Cotonnier ont été réalisées par Harris et al. (1924) et Harris et al. (1926) qui ont trouvé une pression osmotique et une conductivité dans la sève plus élevées pour le G. barbadense, (Pima), que pour le G. hirsutum.

La concentration de la sève était plus faible et la transpiration plus élevée pour les feuilles jeunes que pour les feuilles vieilles de Cotonnier, étudiées par Eaton (1930). Le même auteur (1942) a trouvé que la pression osmotique de la sève était plus élevée que celle du substrat de culture (liquide), en moyenne de 11 atmosphères.

La concentration de la sève du Cotonnier a été utilisée par Filipov (1959 a) comme mesure indicatrice du besoin d'eau. Cet auteur a trouvé que des valeurs inférieures à 12 % (graduations du refractomètre) correspondaient à une bonne croissance tandis qu'à partir de 20 % les Cotonniers étaient dans un état de flétrissement très poussé. Les plantes souffrant de conditions de sécheresse prolongées, perdent leurs feuilles inférieures, ce qui avait comme conséquence de faire passer la concentration de la sève dans les feuilles restantes à 18-20 %. Avetisjan et Smbatjan (1962) ont aussi vérifié que la concentration de la sève ne devait pas dépasser 13 %, pour un développement normal de la plante.

Pour l'étude des relations entre la teneur en eau des tissus foliaires de Cotonnier et le potentiel de ces tissus, nous avons adopté les techniques suivantes :

a) - L'hydratation relative (HR), désignation que nous préférons à celle de turgescence relative, a été déterminée selon la technique proposée par Barrs et Weatherley (1962) utilisant des disques de feuilles de 0,8 cm de diamètre, et un temps de saturation de 5 heures à 25° C.

b) - Le potentiel hydrique fut estimé par la méthode de Shardakov (1953) par équilibre dans des solutions de saccharose.

b) Examen critique de la technique de Shardakov -

La méthode de Shardakov (1953), d'une extrême simplicité, a été critiquée par plusieurs auteurs (Slatyer, 1966 ; Goods et Hegarty, 1965 ; Knipling et Kramer, 1967) du fait que les solutés en s'accumulant dans le tissu pouvaient changer son potentiel osmotique. Cette absorption entrainerait par elle-même un

changement de concentration de la solution test. De plus, la contamination de cette solution par les contenus cellulaires provenant des cellules détruites sur les bords coupés du tissu, ainsi que la dilution des substances existant à la surface du tissu foliaire, pourraient changer la concentration de la solution test.

Ces appréciations s'appuient sur des études comparatives entre les méthodes de tension de vapeur et la méthode Shardakov, les premières étant considérées comme mesurant le potentiel hydrique réel des tissus.

Ces méthodes de tension de vapeur peuvent être matérialisées, soit par mesure directe avec un psychromètre à thermocouple (Spanner, 1951 ; Richards et Ogata, 1958), soit par une technique gravimétrique (Slatyer, 1958 ; Lemée et Gonzalez, 1965), la tension de vapeur correspondant au potentiel hydrique étant celle d'une atmosphère confinée où le tissu ne change pas de poids.

Boyer (1969) passe en revue ces procédés, en tenant compte de différentes modifications proposées par plusieurs auteurs.

Cependant les caractéristiques des feuilles du Cotonnier, qui présentent des glandes à sel, ne permettent pas les mesures du potentiel hydrique par équilibre de tension de vapeur. En effet, les dépôts de sel à la surface du limbe conduisent à la détermination de potentiels hydriques plus bas que ceux existant dans le mésophylle (Knipling et Kramer, 1967 ; Klepper et Barrs, 1968).

La technique des solutions de Shardakov (1953) peut néanmoins s'appliquer si un rinçage préalable est adopté ce qui était déjà recommandé par Gaff et Carr (1964) pour la méthode réfractométrique.

Par ailleurs, chez le Cotonnier, la courbe qui relie les valeurs obtenues avec la méthode de Shardakov avec celles trouvées avec la méthode du thermocouple (Knipling et Kramer, 1967), est du même type que celle déterminée par Klepper et Barrs (1968), mettant en liaison les valeurs du thermocouple et celles d'une chambre de pression (Scholander et al., 1965 ; Boyer, 1967). On peut raisonnablement conclure que les déterminations faites par la méthode de Shardakov correspondent, dans cette plante à celles de la

chambre de pression, et les différences trouvées avec le thermocouple doivent correspondre aux dépôts de sels à la surface du limbe.

En outre la méthode du thermocouple nécessite des temps d'équilibrage trop grands, ce qui conduit à des altérations importantes dans le métabolisme des tissus, comme l'ont vérifié chez le Tabac Knipling et Kramer (1967), et qui peuvent même changer le potentiel hydrique en cours de détermination. En effet, nous avons trouvé (Vieira da Silva, 1968 c) une augmentation des sucres solubles et une diminution de l'amidon avec le dessèchement des feuilles. Cette tendance à l'hydrolyse peut diminuer le potentiel osmotique des cellules. Cela serait surtout important pour des organes desséchés.

Si la pénétration de soluté dans les tissus était une cause importante d'erreur dans la méthode Shardakov (Slatyer, 1966), les valeurs ainsi obtenues devraient être inférieures à celles provenant des méthodes de pression de vapeur. Or c'est le contraire qui est observé (Knipling et Kramer, 1967).

Aussi la contamination de la solution test ne nous paraît elle pas rédhibitoire, car elle peut être évitée par un rinçage préalable des tissus foliaires (Gaff et Carr, 1964).

Lemée et Gonzalez (1965) ont d'ailleurs montré que la technique de Shardakov, convenablement utilisée, donnait des valeurs de potentiel hydrique équivalentes à celles de la méthode de tension de vapeur, et Vartanian et Vieira da Silva (1968 a) ont pu montrer qu'elle traduit convenablement l'état hydrique de la plante dans des conditions variées d'humidité du sol et de l'air.

c) Résultats -

Les courbes représentant la liaison entre le potentiel hydrique et l'hydratation relative des feuilles de quatre espèces de Cotonniers sont présentées dans la figure 14. D'après ces courbes il ne nous paraît pas possible de conclure, chez le Cotonnier, à un avantage d'une diminution du potentiel hydrique (à hydratation égale)

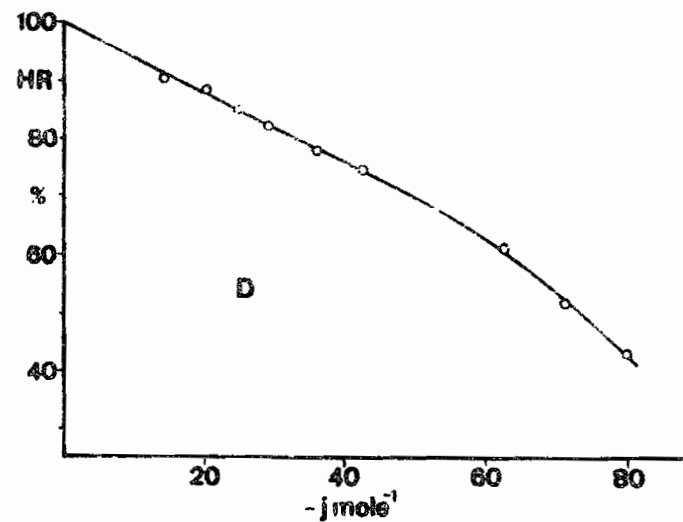
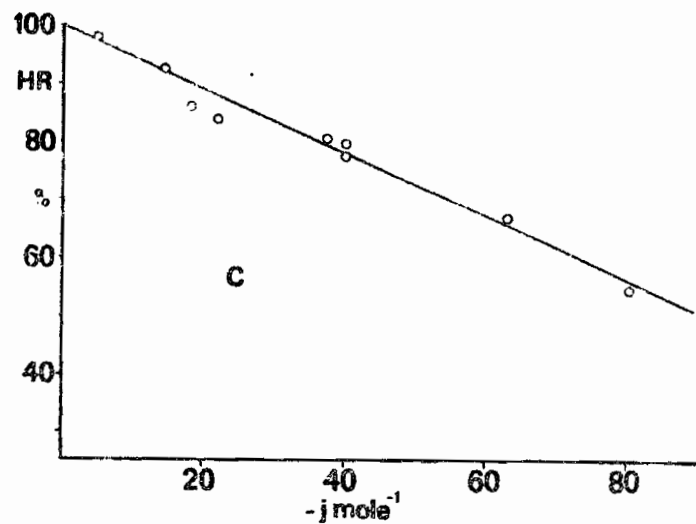
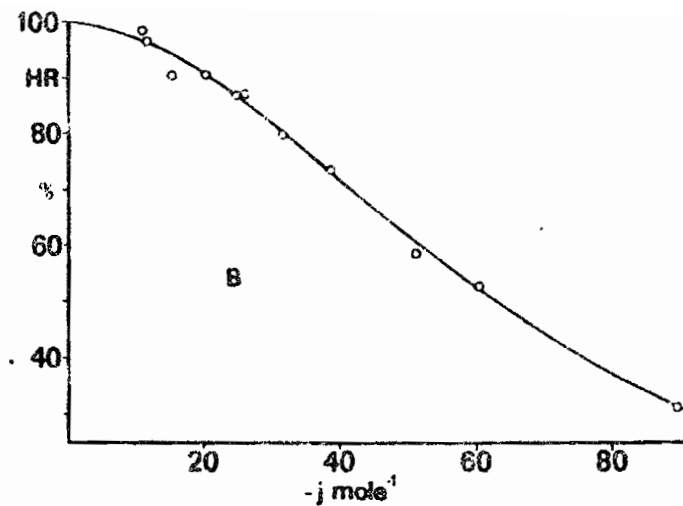
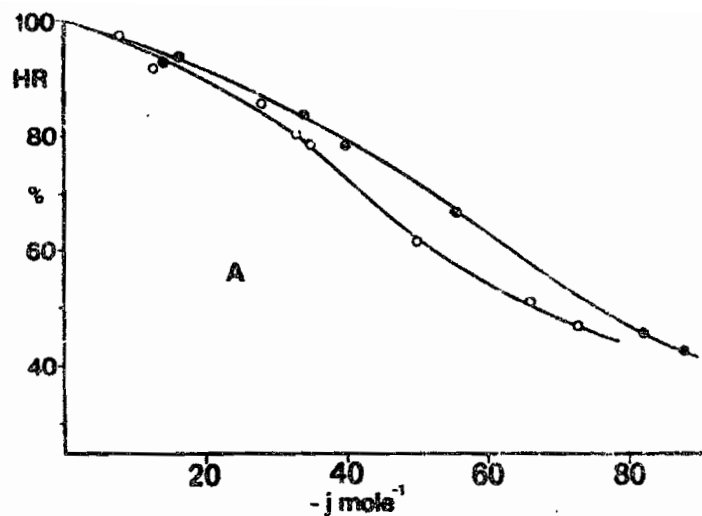


Fig. 14 - Isothermes du potentiel hydrique foliaire. A - *G. hirsutum*, var. Moco, var. Allen. B - *G. anomalum*. C - *G. thurberi*. D - *G. raimondii*.

En effet, chez G. hirsutum, le potentiel hydrique diminue plus rapidement dans la variété Allen qui n'est pas résistante à la sécheresse, que dans la variété Moco de la race marie galante qui est très résistante. Chez les trois espèces sauvages étudiées, le potentiel hydrique diminue aussi plus rapidement, avec la diminution de l'hydratation relative, chez l'espèce la plus sensible à la sécheresse (G. thurberi) qu'il ne diminue chez celle qui est la plus résistante (G. anomalum).

A la lumière des résultats obtenus nous croyons pouvoir conclure que le développement d'un potentiel hydrique très bas avec la deshydratation n'est pas une caractéristique de résistance à la sécheresse chez le Cotonnier. Les conséquences de cette diminution du potentiel hydrique seront étudiées plus loin dans le chapitre sur la variation de l'activité enzymatique.

5) LA REDUCTION DES PERTES D'EAU. PLANTES APHYLLES ET MICROPHYLLES.

Des quatre mécanismes de réduction de pertes d'eau évoqués dans l'introduction, seul le premier n'est pas rencontré dans le genre Gossypium. En effet, aucune espèce de ce genre ne présente des adaptations morphologiques permanentes conduisant à la réduction de la surface de transpiration.

6) ABSCISSION D'ORGANES.

L'abscission des feuilles paraît être un phénomène assez répandu chez les Cotonniers. Il s'agit là d'une des contradictions de la résistance à la sécheresse : le fait d'avoir des organes très sensibles au dessèchement lui confère une résistance accrue à la sécheresse. Malgré tout il faut que cette sensibilité soit limitée aux feuilles adultes et vieilles voire même qu'elle soit plus importante chez ces dernières.

L'importance des phénomènes hydrolytiques pour l'abscission a déjà été signalée (Abeles et al., 1968 ; Osborne, 1968), cette hydrolyse étant la conséquence de la sénescence des tissus, qui peut être provoquée par la sécheresse. La variation de l'activité des enzymes hydrolytiques sous l'influence de la sécheresse sera traitée plus loin.

Chez le cotonnier l'importance économique de l'abscission des organes fructifères a dévié en partie l'attention de l'abscission foliaire, celle-ci étant surtout étudiée comme procédé cultural (voir Vallade, 1965). Louie (1905) a vérifié que la diminution du potentiel hydrique des feuilles augmente l'abscission naturelle de ces organes.

Une mise au point des connaissances actuelles sur l'abscission des organes fructifères chez le Cotonnier a été faite par Cognée (1968) qui met en avant l'influence indirecte du manque d'eau sur la sénescence des ovaires pour expliquer l'abscission due à la carence hydrique.

Du fait même de la technique utilisée dans nos expériences pour la production des carences hydriques, le choc osmotique est brutal et il n'y a pas de possibilité d'adaptation graduelle : les plantes, non endurcies, ont généralement une abscission très importante. Ceci est surtout apparent chez l'espèce sauvage G. thurberi, qui se défolie très facilement, mais aussi chez les plantes des variétés cultivées de G. hirsutum. L'abscission des feuilles de G. thurberi après une saison sèche peut être appréciée sur la figure 15, par rapport à G. anomalum, figure 16 et G. raimondii, figure 17. La variation de l'activité enzymatique, dont l'abscission est probablement une conséquence, est étudiée plus loin. Il est évident que la réduction des pertes d'eau par abscission foliaire a pour conséquence une réduction considérable dans la production de la plante, la photosynthèse étant alors complètement supprimée chez le Cotonnier.



Fig. 15 - G. thurberi



Fig. 16 - G. anomalum



Fig. 17 - G. raimondii

7) LA REDUCTION DES PERTES D'EAU PAR CONTROLE STOMATIQUE ET CUTICULAIRE DE LA TRANSPIRATION.

a) Introduction -

Comme il avait déjà été signalé par Maximov (1931) les plantes résistantes à la sécheresse possèdent souvent une capacité de transpiration potentielle supérieure même à celle des mésophytes. La résistance se caractérise cependant par la capacité de réduire les pertes d'eau à un minimum pendant les périodes de sécheresse.

Cette diminution peut être le résultat de la fermeture hydroactive des stomates (Stalfelt, 1955) qui réduit la transpiration à la seule transpiration cuticulaire.

Il est évident qu'un appareil stomatique très sensible à la deshydratation, fermé pour des déficits hydriques faibles et accompagné d'une transpiration cuticulaire réduite, permet de conserver l'eau dans la plante.

Les stomates existent dans la page supérieure et inférieure des feuilles de toutes les espèces de Gossypium. Chez certaines espèces le nombre de stomates par unité de surface, selon les faces, n'est pas très différent, mais il y a toujours une plus forte densité de stomates dans la page inférieure : chez G. harknessii, par exemple, on compte 122 et 159 stomates par mm carré respectivement pour la face supérieure et la face inférieure. Chez d'autres espèces au contraire la densité est très différente selon les faces, comme chez G. peruvianum où elle est, respectivement, de 40 à 218 (Webber, 1938). Le même auteur a observé que la densité dans la page supérieure varie de 40 stomates au mm carré (G. peruvianum), à 170 stomates au mm carré (G. intermedium) dans la page inférieure varie de 80 stomates au mm carré (G. tomentosum) à 280 stomates au mm carré (G. anomalum).

Gadkari et Saini (1957) étudient les stomates de 20 variétés cultivées en Inde et concluent que la densité stomatique chez G. hirsutum est inférieure à celle observée chez G. arboreum et G. herbaceum, et qu'elle augmente avec l'éloignement des feuilles du sol ; la densité est en corrélation avec la longueur des entre-noeuds.

Plus tard Gadkari (1964) a vérifié que la densité des stomates était plus élevée dans les régions de pluies abondantes, ce qui est un peu étonnant car, pour d'autres plantes, Maximov (1929 a) considère que le nombre élevé de stomates est associé au xérophytisme et Salisbury (1927) et Wood (1934) trouvent aussi que les densités élevées sont caractéristiques des plantes des régions sèches, comme cela est vérifié par Webber (1938) pour le G. anomalum.

Les stomates de cotonnier sont très sensibles à la lumière. Dans des conditions de bonne alimentation hydrique Alvim (1956) a trouvé que l'ouverture maximale correspondait à 120 000 Lux, mais que, dans des conditions de culture sèche, une fermeture progressive suivait au fur et à mesure que l'hydratation des tissus diminuait. Les stomates sont aussi sensibles à la température (Wilson, 1948) et peuvent se fermer légèrement pour des températures supérieures à 30° C.

Une hydratation relative moyenne en dessous de 85 % diminue la période d'ouverture des stomates qui se ferment complètement à une hydratation de 70 % d'après les essais de Dale (1958, 1959) Cependant dans de bonnes conditions hydriques, l'ouverture est liée à la radiation solaire, température et heure du jour, ce qui suggère un rythme diurne (Dale 1961). La fermeture des stomates dans les feuilles flétries de Cotonnier a aussi été observée par El-Sharkawy et Hesketh (1964). Rakhinov (1964) a vérifié que le maximum d'ouverture était à midi pour des plantes bien alimentées en eau, et tard le soir pour des plantes carencées.

Slatyer et Bierhuizen (1964) ont montré que, pour des résistances faibles dans la couche limite, la transpiration du Cotonnier était contrôlée par la résistance stomatique qui atteignait un minimum de 1,1 sec cm⁻¹ à 40 000 Lux. Cette résistance peut être considérée comme très basse, en

comparaison avec d'autres plantes cultivées. L'ouverture stomatique maximale correspond aussi à une intensité lumineuse très élevée, ce qui traduit bien l'héliophytisme du Cotonnier.

En même temps ces auteurs ont trouvé une résistance cuticulaire de $32,3 \text{ sec cm}^{-1}$, très élevée pour une mésophyte, et en concluent, chez le cotonnier, du bon contrôle de la transpiration par la fermeture des stomates. Néanmoins ces résultats sont en contradiction avec les observations faites par Slatyer (1955) qui a observé, dans le nord d'Australie, que le Cotonnier maintenait très difficilement un taux d'hydratation élevé, et que l'instabilité de la balance hydrique était due, avant tout, à un contrôle médiocre de la transpiration. Déjà Tadros et Saad (1950) avaient observé que dans le Cotonnier la transpiration était surtout cuticulaire, la phase stomatique étant seulement importante au début de la matinée.

Ehlig et Gardner (1964) ont aussi observé que des quatre espèces : poivron, tournesol, trèfle et cotonnier, ce dernier était celui qui contrôlait le plus mal la transpiration et que le taux final de transpiration, à l'apparition de nécroses dans les feuilles, est encore de 10 à 20 % taux initial. Ces mêmes auteurs ont trouvé qu'au-dessous d'une certaine force de succion la transpiration du Cotonnier était proportionnelle à la transpiration potentielle. Elle diminuait cependant, très rapidement d'abord, et plus lentement après, avec l'augmentation de la force de succion.

Aussi d'après King (1922), le Cotonnier paraît être une plante mal équipée pour réduire la transpiration dans des conditions arides, et qui perd fréquemment plus d'eau qu'elle n'est capable d'absorber du sol. Pour Raheja (1951) et Subramanian (1953), c'est la capacité de réduire la transpiration qui caractérise les Cotonniers les plus résistants à la sécheresse.

b) Méthode expérimentale et expression des résultats -

La détermination du contrôle stomatique et cuticulaire de la transpiration peut être faite par la méthode de pesée des feuilles détachées. Cette méthode, critiquable si on l'utilise pour l'appréciation de la transpiration de la plante entière, comme l'ont démontré Weinman et Le Roux (1946) et Franco et Magalhaes (1963), permet de comparer, dans des conditions standard, les caractéristiques des feuilles qui traduisent le contrôle de la transpiration, ce sont le taux de transpiration avec les stomates ouverts, l'hydratation relative moyenne pour la fermeture hydroactive des stomates et le taux d'hydratation cuticulaire.

La méthode utilisée a été celle proposée par Hygen (1951, 1953) mais les résultats sont exprimés en hydratation relative et non en matière fraîche comme faisaient ces auteurs; Dans un travail antérieur (Vieira da Silva, 1967), nous avons décrit cette méthode qui consiste à suivre la variation, avec le temps, de l'hydratation relative (HR) de feuilles détachées, préalablement amenées à la saturation hydrique.

La quantité d'eau à chaque instant est ainsi exprimé en pourcentage de l'eau maximale (hydratation relative) et le taux de transpiration relative (TTR) (quantité d'eau perdue par rapport à l'eau existante dans la feuille à chaque instant) est donné par l'expression :

$$TTR = \frac{\ln HR_1 - \ln HR_2}{t_2 - t_1}$$

Le graphe rendant compte de l'évolution du logarithme de l'hydratation relative en fonction du temps (fig. 18) se décompose schématiquement en deux droites qui relie une courbe. La première de ces droites correspond à la transpiration réalisée les stomates étant ouverts, la seconde à la transpiration cuticulaire. La transition entre les deux droites traduit la fermeture progressive des stomates. Nous avons pris comme hydratation du point de fermeture les valeurs de l'ordonnée correspondantes à l'intersection de ces deux droites.

Dans le travail déjà cité (Vieira da Silva, 1967), comparant plusieurs espèces de Gossypium, nous avons retrouvé cette relation semi-logarithmique qui traduit la diminution de l'hydratation relative avec le temps. Ceci confirme les résultats de Hygen (1951, 1953), de Jarvis et Jarvis (1963) et d'Ehlig et Garner (1964) qui montrent que la transpiration dépend de l'hydratation de la feuille.

Nous avons proposé (Vieira da Silva, 1967) un indice qui rend compte du contrôle plus ou moins efficace de la transpiration, mais qui exige la détermination de l'hydratation relative au point de flétrissement (considéré comme point critique). Cet indice de contrôle de la transpiration (ICT) est donné par l'expression :

$$\text{ICT} = \frac{\text{Transpiration à la saturation hydrique}}{\text{Transpiration à l'hydratation de flétrissement}}$$

Il rend compte de la conception de Maximov (1929 b) selon laquelle les plantes xérophytes non seulement présentent une transpiration potentielle très élevée, mais peuvent la réduire considérablement dans les conditions de déficience hydrique.

Un indice plus simple peut être établi en considérant le rapport entre le taux de transpiration relative totale et le taux de transpiration relative cuticulaire, mais il ne prend pas en considération les variations possibles de l'hydratation relative correspondant au flétrissement de la feuille qui, comme nous l'avons vu (Vieira da Silva, 1967), peuvent être très grandes. La figure 19 rend compte de la liaison entre l'ICT et ce rapport et montre que les valeurs correspondant aux deux espèces présentant un point de flétrissement exceptionnellement bas, s'éloignent de la droite qui traduit cette liaison.

Le travail déjà cité (Vieira da Silva, 1967) ayant montré des différences considérables parmi plusieurs espèces de cotonniers, quant aux caractéristiques de contrôle de la transpiration, nous avons poursuivi ces études, comparant cette fois-ci des variétés d'une seule espèce (G. hirsutum), dérivées d'hybrides interspécifiques avec les parents présumés de cette espèce.

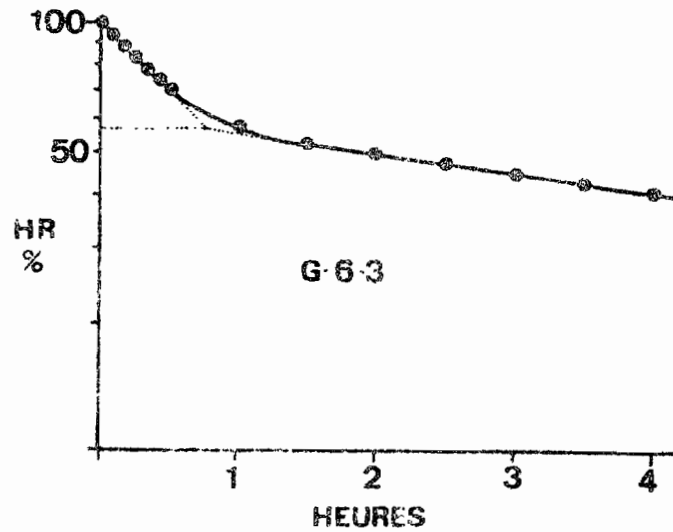


Fig. 18 - Evolution de l'hydratation relative avec le temps.
Feuille détachée de la variété G-6-3 de G. hirsutum.

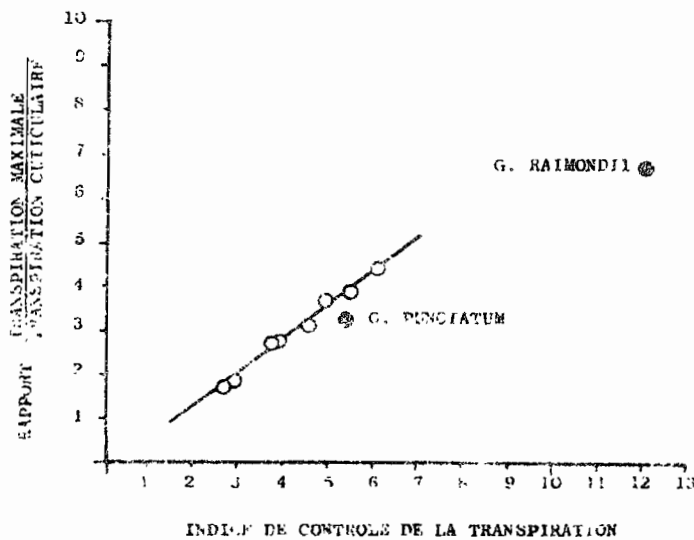


Fig. 19 - Correspondance entre l'Indice de contrôle de la transpiration et le rapport entre transpiration maximale et transpiration cuticulaire.

Un dispositif expérimental a été établi avec un arrangement statistique en carrés latins incomplets, comparant onze variétés répétées six fois.

La quatrième feuille, à partir de l'apex, après saturation d'eau pendant la nuit, était exposée à une illumination de 15 000 Lux, à 25° C et 70 % d'humidité relative et pesée, tout d'abord toutes les cinq minutes, puis toutes les demi-heures (fig. 18).

Dans le tableau VII nous présentons les résultats de cet essai.

Nous pouvons remarquer que dans le matériel végétal utilisé, une grande diversité de comportement peut être encore retrouvée. Prenant la variété HAR 444.2 comme référence, nous constatons que certaines lignées ferment les stomates à des hydratations relatives encore très élevées, et perdent moins d'eau par transpiration avec les stomates ouverts. Une seule variété, G - 277.7, a une transpiration cuticulaire significativement inférieure à la référence. Cette variété est aussi la seule qui présente une transpiration, par unité de surface foliaire, inférieure à la référence.

Elle avait déjà été remarquée au champ, pendant une période de sécheresse, comme une des lignées les plus résistantes. Au contraire la variété J-25, qui flétrit très facilement au champ, montre dans ce test un mauvais contrôle de la transpiration. Il est surprenant de remarquer que toutes les lignées qui ont une transpiration relative totale plus faible que celle de la référence, sont des plantes à grandes feuilles n'ayant en rien une morphologie de type xérophytique.

Ces essais montrent que, contrairement à ce qui se passe pour l'absorption d'eau, il paraît facile de déceler, dans le genre Gossypium, des espèces et même des variétés de la même espèce possédant des caractéristiques leur permettant de réduire de façon importante les pertes d'eau, soit par fermeture précoce des stomates, soit par transpiration maximale et cuticulaire plus basses.

TABLEAU VII

Transpiration

Caractéristiques des feuilles de onze variétés de G. hirsutum.

	(2) HR du point de fermeture des stomates	(3) Taux de transpiration relative total	(4) Taux de transpiration cuticulaire	Rapport (3)/(4)	Transpir. maximale g dm ⁻² h ⁻¹	Surface moyenne de la 4 ^e feuille (cm ²)
HAR 444.2 (1)	68,3	0,7486	0,1856	4,03	1,489	75,52
G - 6 - 3	62,5	0,7502	0,2486	3,02	1,735	84,23
G-198-9	79,0 **	0,5296 **	0,1116	4,74	1,186	118,05 **
G-220-9	73,6 **	0,5873 **	0,1612	3,64	1,527	131,33 **
G-227-7	78,2 **	0,4979 **	0,0851 *	5,85	1,163 *	160,47 **
G-998-2	75,5 *	0,6346	0,1177	5,39	1,319	106,68 **
G-1009-3	66,9	0,6618	0,2032	3,26	1,770	76,38
J - 20	72,2	0,6030 *	0,1651	3,65	1,551	66,42
J - 25	69,3	0,6372	0,2314	2,75	1,592	64,55 *
J - 67	69,2	0,7593	0,2230	3,40	1,715	90,20 *
J - 72	79,8 **	0,5735 **	0,1033	5,55	1,207	134,07 **
ppds/P = 0,05 P = 0,01	+ 6,3 ± 8,4	+ 0,1141 ± 0,1526	+ 0,0882 ± 0,1180		+ 0,321 ± 0,430	+ 10,86 ± 14,49

(1) Lignée prise comme référence. (2) Hydratation relative en %.

(3), (4) Taux de transpiration, par heure.

* Significativement (P = 0,05) différent de la référence

** " (P = 0,01) " " "

Le rapport entre la transpiration relative maximale et la transpiration cuticulaire peut varier du simple au double, mais n'atteint jamais des valeurs correspondant aux résistances cuticulaires et stomatiques mesurées par Slatyer et Bierhuizen (1964).

Ces derniers auteurs sous-estiment la transpiration cuticulaire qui est, même dans les cas les plus favorables, très importante chez le Cotonnier.

L'effet que ce contrôle de la transpiration peut exercer sur la photosynthèse est très variable avec les conditions de culture. El-Sharkawy et Hesketh (1964 a) considèrent que la surface stomatique risque d'être limitative pour la photosynthèse chez G. hirsutum var. Deltapine Smoothleaf dans des conditions d'intensité lumineuse élevée. Cependant, comme le fait remarquer Monteith (1963), la résistance stomatique constitue une fraction plus importante de la résistance totale à la diffusion de la vapeur d'eau que de la résistance totale à la diffusion du CO₂. Il s'ensuit que la fermeture des stomates a une importance plus grande sur la transpiration que sur la photosynthèse, mais cela ne se vérifie que si la réduction de l'hydratation, ou l'augmentation de température de la feuille, n'affecte pas le processus photosynthétique au niveau des chloroplastes.

En effet Troughton et Cowan (1968) ont pu remarquer que pendant une partie du cycle rythmique de transpiration, chez le Cotonnier, l'échange de CO₂ était indépendant de la transpiration de la feuille, diminuant tandis que celle-ci augmentait.

Par contre Shimshi (1969), chez le Cotonnier non-irrigué, ne trouve pas de diminution de la photosynthèse avec augmentation de la résistance diffusive, ce qui serait en contradiction avec les résultats de Troughton (1969) qui a observé, chez la même espèce, une liaison étroite entre la perméabilité foliaire et la photosynthèse.

Il paraît évident que la sécheresse n'intervient pas seulement sur la facilité de diffusion de CO₂ par contrôle stomatique, mais doit avoir des conséquences directes sur la résistance au niveau des chloroplastes.

Si cette résistance est déjà élevée, l'augmentation de la résistance stomatique n'affecte pas beaucoup l'échange de CO_2 , comme l'a remarqué Montheith (1963). Cela correspondait aux cas étudiés par Shimshi (1969). Par contre, si cette résistance chloroplastique augmente sans accroissement de la résistance stomatique, l'absorption de CO_2 diminue sans que la transpiration soit affectée (Troughton et Cowan, 1968). Ce phénomène peut être dû à un effet de la photorespiration sur le rendement photosynthétique du cotonnier (Troughton, 1969).

Ainsi le contrôle de la transpiration ne peut être considéré séparément de l'effet de la deshydratation sur les processus métaboliques, le point de fermeture des stomates devant être à une hydratation encore élevée pour les plantes sensibles au dessèchement, mais il peut attendre des valeurs plus faibles chez les plantes plus résistantes.

Une résistance stomatique faible a comme conséquence non seulement une transpiration maximale élevée, mais aussi un échange de CO_2 important et une diminution de la température de la feuille, ce qui réduirait la photorespiration.

Un équilibre entre la facilité de diffusion du CO_2 et le contrôle de la transpiration doit être donc établi, l'idéal étant une transpiration cuticulaire la plus faible possible, et une transpiration maximale élevée.

Il est vraisemblable qu'on puisse accumuler dans une même variété, à l'issue des croisements nécessaires, les caractéristiques lui conférant une résistance accrue à la perte d'eau, tout en essayant de conserver le maximum de rendement photosynthétique.

IV - MECANISMES DE RESISTANCE A LA SECHERESSE :
L'APTITUDE A SUPPORTER LA DESHYDRATATION (1)

(1) L'essentiel de ce chapitre est publié ou sous presse (Vieira da Silva, 1970 a et b).

1) RESISTANCE MECANIQUE DES STRUCTURES PROTOPLASMIQUES PENDANT LA DESSICCATION.

Iljin (1930, 1933, 1935, 1952, 1953, 1957) a été le premier à avancer l'hypothèse d'une altération de structure du protoplasma comme étant la cause des effets nuisibles du dessèchement des tissus végétaux.

Selon cet auteur, un des facteurs principaux conduisant à la mort des cellules est le changement de structure du protoplasma pendant le processus de deshydratation et de rehydratation. Il considère que la distension rapide pendant la réhumidification est une des causes de la mort des cellules et que cette mort peut être évitée si l'imbibition et la distension peuvent se faire lentement. La capacité de supporter la plasmolyse serait différente selon les plantes, ce qui serait une conséquence des caractéristiques de leur protoplasma.

D'après Iljin, les cellules de grandes dimensions seraient les plus sensibles, possédant une grande vacuole et un rapport volume sur surface élevé. Par contre les bourgeons foliaires de certaines espèces seraient très résistants à la dessiccation, ayant de petites cellules qui manquent totalement de vacuoles, ou n'en contiennent que de très petites.

Les cellules plasmolysées dans une solution de saccharose montreraient, selon Iljin (1953), une tolérance accrue à la dessiccation. Cette augmentation de la tolérance à la sécheresse est cependant controversée et n'a pas été vérifiée par Oppenheimer et Jacoby (1963), qui ont répété les expériences d'Iljin.

Il a été admis que la viscosité du protoplasma (Genkel, 1961), et la quantité d'eau liée (Kramer, 1955, Levitt, 1959) seraient impliquées dans la résistance structurale plus ou moins grande, du protoplasma à la deshydratation.

Ces hypothèses ont été un sujet de controverse et la détermination correcte de ces caractéristiques présente de grosses difficultés (Levitt, 1965).

Dans sa revue sur les effets morphologiques et physiologiques de manque d'eau sur les plantes, Stocker (1961) considère qu'un relâchement de la structure du protoplasma, tel que cela se produit pendant l'action de la sécheresse (phase de réaction de Stocker), entraîne un accroissement de l'activité hydrolytique et oxydante dans les cellules, tandis qu'un renforcement de cette structure (phase de restitution) se traduit par une augmentation de l'activité synthétique et réductrice.

Il n'est pas difficile d'admettre que les organites cellulaires, siège d'un grand nombre de réactions métaboliques, peuvent être affectés dans leur structure et fonctions, et les études récentes de Mouravieff (1969) sur les caractères protoplasmiques des cellules épidermiques foliaires ont montré des altérations importantes des éléments figurés de la cellule, qui paraissent confirmer les hypothèses d'Iljin, sous un angle nouveau.

La stabilité structurale, pendant un cycle de deshydratation et de rehydratation, paraît donc avoir une importance toute spéciale si on l'analyse à la lumière des notions de lysosome et peroxysome, issues des travaux de l'école de De Duve (De Duve, 1963 ; De Duve et Wattiaux, 1966 ; De Duve et Baudhuin, 1966).

L'extension de ces notions aux végétaux, surtout par les travaux des chercheurs de l'école de Matile (Balz, 1966 ; Matile et al. 1965 ; Matile et Wiemken, 1967 ; Matile et Moor, 1968 ; Matile et Spichiger, 1968 ; Matile 1968 a et b ; Semademi, 1967), pour les lysosomes et ceux de l'école de Tolbert (Tolbert et al., 1969 ; Nelson et al. 1969 ; Yamazaki et Tolbert, 1969 ; Kasaki et Tolbert, 1969) pour les peroxysomes, permet de comprendre l'effet possible de l'altération structurale dans ce type de particules contenant, les unes des hydrolases, les autres des oxydases, sur l'activité de ces enzymes dans des conditions de deshydratation.

Ces effets seront étudiés ultérieurement.

2) LES VARIATIONS D'ACTIVITE ENZYMATIQUE

a) Introduction -

Une des caractéristiques les plus importantes de l'aptitude à supporter la deshydratation est celle de la stabilité de l'activité enzymatique.

Il revient aux auteurs russes d'avoir les premiers observé les liaisons qui existaient entre l'état de dessèchement des tissus de l'activité des systèmes enzymatiques (Oparine, 1937, 1953).

Les travaux des chercheurs russes, Oparine et Kaden (1945), Kursanov (1940, 1946) qui ont été passés en revue par Mothes (1956) ont établi que les enzymes peuvent être libres ou liées au complexe lipoprotéique. Un relâchement de ces liaisons, soit réversible soit irréversible, conséquence de plusieurs types de facteurs dont la sénescence ou la deshydratation, provoque une libération de ces enzymes et accroît leur activité hydrolytique (Oparine, 1953).

Stocker (1961) dans sa revue des effets morphologiques et physiologiques du manque d'eau sur les plantes, souligne que la modification des processus enzymatiques est déterminée par une transformation de la structure du protoplasma. Il ajoute que dans le cadre d'une conception élargie de la physiologie, le déroulement de nombreux processus vitaux peut s'interpréter comme une alternance de périodes principalement réductrices-synthétisantes ou oxydantes-destructrices. A l'appui de son point de vue; il cite celui de Maximov (1941) selon lequel l'action de la sécheresse (phase de réaction de Stocker) aurait comme conséquence une période d'oxydation et d'hydrolyse catabolique, tandis que l'endurcissement (phase de restitution de Stocker) serait une période de réduction et de synthèse.

Encore d'après Stocker (1961) ces tendances synthétisantes ou destructrices seraient en rapport avec les différentes structures, lâches ou liées du protoplasma, tel qu'elles apparaissent dans les variations de la viscosité et de la perméabilité. L'élément de liaison entre les causes structurales et les

conséquences fonctionnelles serait l'activité des enzymes en fonction de l'état du protoplasma.

Comme le souligne Stocker (1961) l'action du déficit hydrique sur l'activité des enzymes, introduit des modifications d'une portée considérable dans l'ensemble du métabolisme.

Il a fallu attendre le développement d'instruments perfectionnés, comme l'ultracentrifugeuse et le microscope électronique, pour que les questions de l'ultrastructure cellulaire et de la localisation des activités enzymatiques puissent avancer.

C'est surtout l'école de De Duve (De Duve et Wattiaux, 1966) qui a contribué à la découverte dans les tissus animaux d'organites spécialisés contenant de la phosphatase acide.

Ces particules nommées lysosomes contenaient de plus toute une série d'autres enzymes hydrolytiques : cathépsine, β -glucuronidase, ribonucléase acide, desoxyribonucléase acide ; la lyse de ces organites était responsable de la libération de ces enzymes dans la cellule, libération suivie d'effets destructifs.

Un deuxième type de particules, les peroxisomes (voir De Duve et Baudhuin, 1966) séparés par Beaufay et al. (1964) contiennent les enzymes urate oxydase, catalase et D-amino acide oxydase.

L'existence de particules dans les cellules végétales, correspondant à celles trouvées chez les animaux, tout au moins en ce qui concerne leur fonction générale, a été confirmée par plusieurs auteurs.

Ces auteurs ont trouvé les équivalents des lysosomes soit dans les particules que Dangeard (1919) a appelé sphérosomes (Olszewska et al., 1965 ; Walek-Czernecka, 1962, 1963, 1965 ; Frey Wyssling et al., 1963 ; Frey-Wyssling, 1965 ; Jacks et al., 1967 ; Balz, 1966 ; Semadeni, 1967 ; Matile et al., 1965 ; Matile et Spichiger, 1968 ; Sorokin, 1967 ; Sorokin et Sorokin, 1968), soit dans les vacuoles ou grains d'aleurone (Poux, 1963 a, b, 1965 ; Matile et Moor, 1968 ; Matile, 1966, 1968 a et b, 1969 ; Matile et

Wiemken, 1967 ; Jacks et Yatsu, 1967 ; Yatsu et Jacks 1968) soit dans l'appareil de Golgi (Brandes et Bertini, 1964) soit dans les lutofides du latex d'Hevea (Pujarnisclé, 1965, 1966, 1968, 1969).

Cette localisation n'est pas exclusive et il ne paraît pas possible d'affirmer qu'un seul organe ou structure cellulaire correspond aux lysosomes, définis biochimiquement. La découverte de phosphatase acide (Ragetli et al., 1966 et Ragetli, 1967) et de ribonucléase (Hadziyev et al., 1969) liées aux chloroplastes montre que la situation est bien plus complexe que dans les cellules animales. Il y a même des auteurs, comme Corbett et Price (1967) qui nient l'existence de lysosomes chez les végétaux.

La notion de lysosome reste cependant valable comme définissant une structure contenant des hydrolases pouvant être libérées dans le contenu cellulaire par une action plus ou moins violente d'agents extérieurs.

Les travaux sur les peroxisomes dans les végétaux sont bien moins nombreux (Kisaki et Tolbert, 1969 ; Tolbert et al., 1968, 1969 ; Frederick et Newcomb, 1969). Les peroxisomes des plantes isolées par l'école de Tolbert, ne contiennent pas le même bagage enzymatique que ceux des animaux. Tandis que ceux-ci possèdent de l'uricase, D-amino acide oxydase et de la catalase, ceux des plantes contiennent (Kisaki et Tolbert, 1969) de la glycolate oxydase, de la glutamate-glyoxylate aminotransferase, de la malate deshydrogénase et de la catalase.

L'importance de ce système particulière pour la photorespiration (Moss, 1968 ; Nelson et al., 1969) est évidente, et on peut imaginer facilement que ce système puisse être responsable de l'augmentation de l'activité oxydasique indiquée par Stocker (1961).

Outre les auteurs russes cités plus haut, d'autres chercheurs avaient déjà trouvé une augmentation de l'activité des enzymes hydrolytiques sous l'influence de la sécheresse : l'augmentation de l'activité de l'invertase a été observée par Vassiliev et Vassiliev (1936) celle de l'amylase par Spoehr et Milner (1939), celles de la Ribonucléase par Gates et Bonner (1959), Kessler

(1959) et Dove (1967) et celle de la phosphatase acide par Nir et Poljakoff-Mayber (1966). La sécheresse provoquerait ainsi une accélération de la sénescence des feuilles.

Chez le Cotonnier, Yarosh (1958) a vérifié que l'accumulation des sucres solubles, avec une hydratation insuffisante, était accompagnée d'une diminution de la synthèse des protéines et d'une augmentation de son hydrolyse.

Des études sur l'effet de la carence hydrique sur l'activité de la ribonucléase dans les tissus foliaires et racinaires de trois espèces de cotonniers, sur l'activité soluble et totale de la phosphatase acide et sur l'effet des inhibiteurs ainsi que sur l'effet de la sécheresse sur les glucides solubles chez le cotonnier, ont déjà été présentées (Vieira-da-Silva, 1968 a, b, c, 1969).

Les liaisons entre la solubilisation de la phosphatase et celle de l'invertase et de la β -amylase dans les dérivés d'hybridation entre une espèce résistante, G. anomalum, et une espèce sensible à la sécheresse, G. hirsutum, ont également été étudiées (Vieira-da-Silva et Poisson, 1969).

L'augmentation de l'activité enzymatique sous l'effet de la sécheresse peut être considérée, soit comme le résultat d'une action lysosomale, c'est-à-dire de libération d'enzymes contenus dans des structures bien définies, soit comme le résultat d'activation de zymogènes, disparition d'inhibiteurs de ces enzymes, soit encore comme le résultat d'une synthèse de novo.

Nos travaux ont voulu déterminer si cette augmentation d'activité était due à une ou plusieurs de ces causes, de préciser la localisation cellulaire de ces enzymes et aussi d'observer la liaison entre cette augmentation d'activité et la sensibilité à la sécheresse. La plupart des travaux a été faite sur les hydrolases et une seule expérience a été réalisée sur la catalase.

b) Méthodes et techniques -

1) Préparation des échantillons et expression des résultats

Les analyses enzymatiques étaient généralement faites sur la quatrième feuille de l'axe principal de la plante, comptée à partir de l'apex,

considérée physiologiquement mure, non seulement par des critères phénologiques, mais aussi parce qu'elle présente l'activité spécifique de la phosphatase acide la plus élevée (Fig. 20).

L'induction de conditions de sécheresse était réalisée soit par l'addition de PEG 600 au milieu liquide de culture, soit par des cycles successifs de dessèchement des plantes cultivées dans des récipients contenant de la terre, soit par flottaison de disques découpés dans la quatrième feuille sur des solutions de PEG 600, pendant un temps variable de 12 à 24 heures.

Toutes les opérations d'extraction se passaient dans une chambre froide à 5° C. Les tissus foliaires étaient broyés dans un mortier refroidi, avec un peu de sable dans une solution isotonique de Mannitol (0,3 M) de façon à préserver, dans la mesure du possible, l'intégrité des organites. La proportion généralement utilisée était de 1 g de tissu frais pour 50 ml de volume final d'homogénat.

Après filtration de l'homogénat à travers deux couches de gaze, deux parties aliquotes étaient prélevées, une étant diluée avec 40 % de son volume de Mannitol 0,3 M, l'autre avec 40 % de son volume de Triton x-100 à 0,5 % (dans certaines expériences on a utilisé le Triton x-114).

Des expériences préliminaires avaient démontré que, dans le cas de l'homogénat de tissus de plantes normales broyées soigneusement dans une solution de mannitol 0,3 M, le surnageant après centrifugation à 36000 g pendant 15 minutes, ne présentait généralement aucune activité de la phosphatase acide. Les deux aliquotes citées ci-dessus étaient donc toujours centrifugées de cette façon et les activités enzymatiques déterminées dans le surnageant.

Ce protocole conduit à deux types de données. Le premier concerne l'activité des enzymes normalement présentes dans la phase soluble, auxquelles il peut s'ajouter celles qui ont été solubilisées par un broyage un peu trop brutal. Le deuxième concerne l'activité des enzymes qui peuvent être solubilisées par destruction des membranes lipoprotéiques sous l'action du détergent.

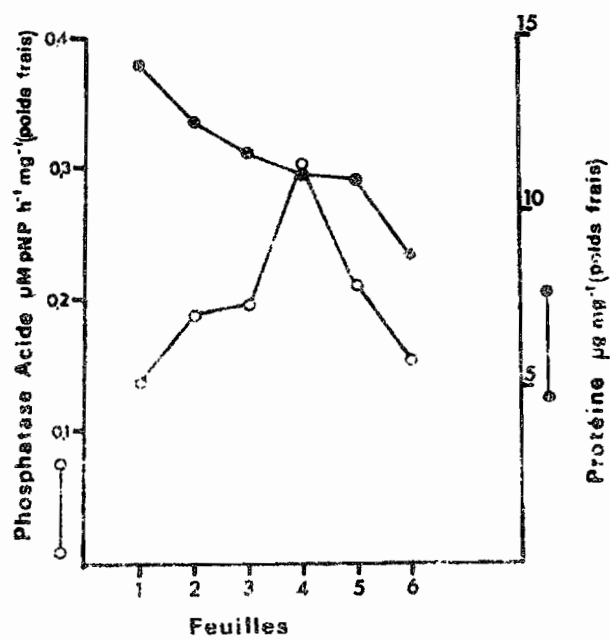


Fig. 20 - Activité de la phosphatase acide suivant le rang de la feuille, à partir de l'apex.

On a pu faire ainsi une distinction entre activité libre et activité latente. Il faut cependant préciser que l'activité soluble mesurée par la méthode adoptée ne représente pas toute l'activité libre, car des enzymes peuvent rester adsorbées dans le culot.

Toutefois, pour mesurer l'activité libre en présence des organites contenant des enzymes il faudrait utiliser des temps d'incubation très courts et des milieux à pH proches de la neutralité de façon à éviter que ces organites ne se détruisent pendant les opérations. Cela est irréalisable dans le cas des dosages des hydrolases sur des tissus de cotonnier. D'après Gahan (1965), l'incubation de coupes du méristème terminal de racines de Vicia faba pendant 5 minutes à pH 5 était suffisante pour révéler l'activité latente de la phosphatase acide.

En outre, nous avons observé, dans des conditions de sécheresse, des activités solubles de la phosphatase acide et de la ribonucléase acide, pouvant atteindre 100 % de l'activité en présence de Triton X-100 (l'activité latente étant alors nulle), ce qui indique que l'adsorption de ces enzymes sur les membranes doit être négligeable.

Nous admettons donc que l'activité dite soluble représente l'activité libre, et que l'activité solubilisée après traitement au Triton x-100, correspond à l'activité totale.

Cela nous conduit à la notion de pourcentage de solubilisation, qui mesure la destruction des structures responsables de la latence de ces enzymes.

L'augmentation d'activité spécifique totale pouvait être la conséquence soit d'activation ou de lever d'inhibition des enzymes, soit d'une synthèse de novo par dérepression des gènes concernés.

2) Analyse enzymatique -

- La phosphatase acide (EC 3.1.3.2.) a été dosée selon le procédé proposé par Linhart et Walter (1963). Le volume total d'incubation est de 2 ml contenant 20 μ moles de p-Nitrophenyl phosphate (pNPP) et du tampon acétate 0,1 M à pH 5,6 (Fig. 21). Après incubation à 30° C pendant un temps

variable, la réaction est arrêtée avec 4 ml d'une solution tampon à pH 10,7 contenant par litre, 0,084 g de glycine, 3,920 g NaCl, 8,780 g Na_2CO_3 et 5,000 g NaOH. La couleur du p-Nitrophenol (pNP) libéré est appréciée dans un colorimètre Klett-Summerson, filtre 42.

- La ribonucléase (EC 2.7.7.17) a été dosée selon la méthode de Schucher et Hokin (1954). Le volume total d'incubation est de 1 ml, contenant 3 mg d'acide ribonucléique (ARN), du tampon acétate 0,1 M à pH 5,0 (Fig. 21) et une aliquote convenable d'homogénat.

La réaction est arrêtée par addition de 7 ml d'un réactif préparé en mélangeant 935 ml d'éthanol à 95 pour cent avec 60 ml d'acide acétique glacial et 4,5 ml de NaOH 2N. Le précipité est conservé au moins 2 heures, à -20°C , centrifugé et la densité optique du surnageant déterminée à 260 m μ .

L'activité de l'enzyme était exprimée directement en valeurs de densité optique (DO) par mg de protéine et par heure.

L'ARN utilisé comme substrat est préparé de la façon suivante : 25 g d'ARN de Levure sont dissous dans 250 ml d'eau avec addition lente de NaOH N/1 jusqu'à l'obtention du pH 6,0. La solution est dialysée à 5°C pendant 3 jours contre de l'eau changée fréquemment et l'ARN est précipité avec 2 volumes d'éthanol à 95 pour cent à -20°C . Le culot est redissous dans du tampon acétate 0,1 M à pH 5,0 et les impuretés précipitées en amenant la concentration de la solution à 0,5 M de NaCl. Après centrifugation, le surnageant est dialysé, amené à une concentration dix fois plus élevée que celle utilisée dans les essais et divisé en portions de 2 ml qui sont conservées au congélateur à -25°C . Ce substrat nous a permis de toujours obtenir des résultats reproductibles.

- Les amylases, α (EC 3.2.1.1.) et β (EC 3.2.1.2.) ont été dosées respectivement à pH 7,0 et à pH 4,5 (Fig. 21) suivant la technique de Bernfeld (1955), utilisant l'amylopectine comme substrat. A l'issue de ces déterminations les sucres réducteurs ont été dosés soit par la méthode de Nelson (Ashwell, 1957) soit par l'acide 3,5-dinitrosalicylique. Les incubations ont été faites à 30°C .

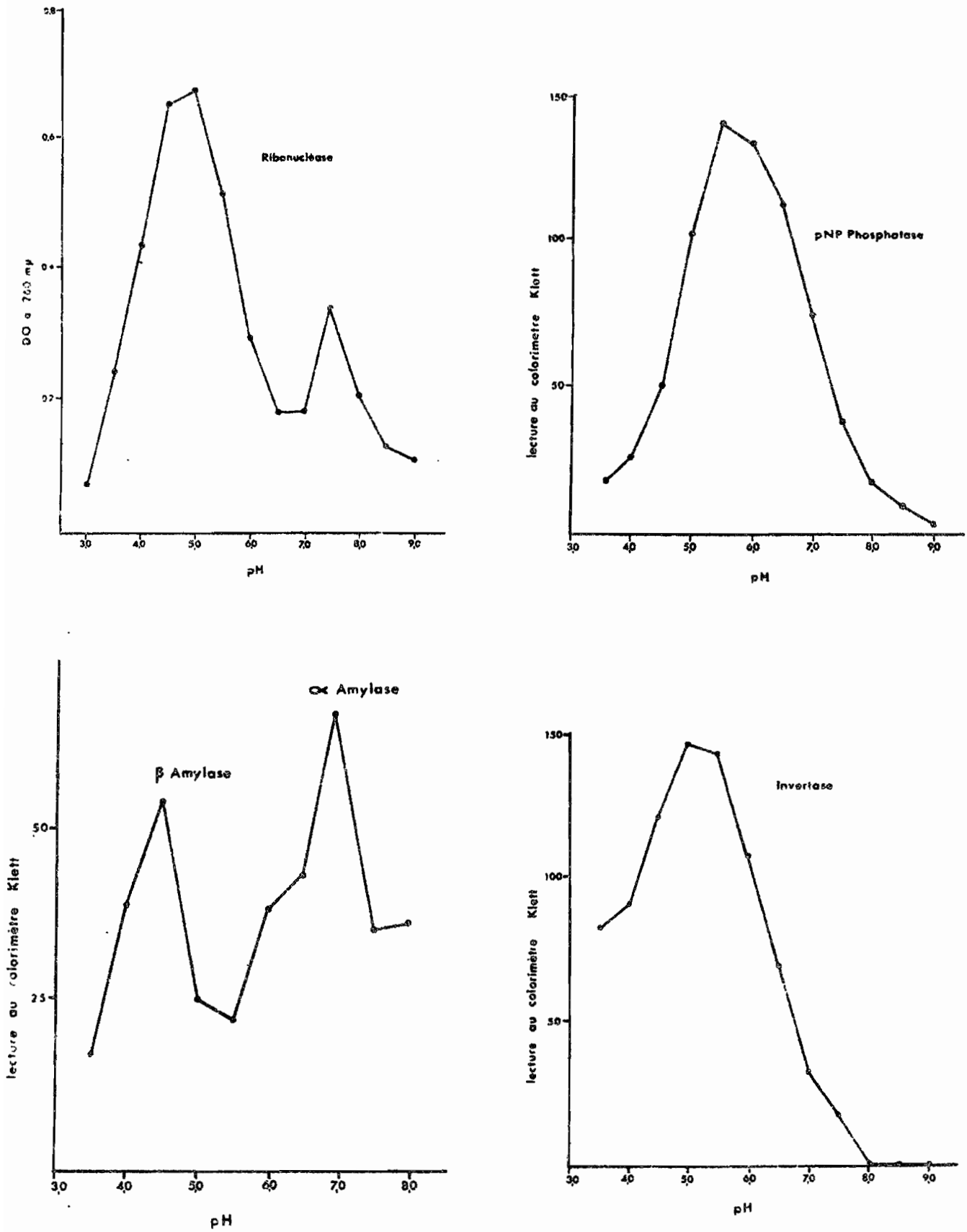


Fig. 21 - Optimum de pH pour la Ribonucléase, p-Nitrophénylphosphatase, α et β amylases et invertase.

La β -fructofuranosidase (invertase) EC 3. 2. 126) a été dosée dans un volume total de 2 ml, contenant du tampon acétate 0, 01 M à pH 5, 0 (figure 21) et utilisant comme substrat le saccharose à une concentration finale de 1 %. Les sucres réducteurs ont été dosés comme dans le cas de la α et β amylases. Les incubations étaient faites à 30° C.

La catalase (EC 1. 11. 1. 6) a été dosée par la méthode manométrique de Bunzel (1914) après avoir broyé 0, 5 g de tissu foliaire avec 0, 5 g de CaCO_3 précipité, et en amenant le volume à 25 ml avec de l'eau. Le substrat a été l'eau oxygénée à la concentration de 4 %. Les incubations ont été faites dans un bain contenant de la glace fondante.

La O-Diphenol oxydase (phenolase) EC 1. 10. 3. 1.) a été dosée en utilisant la DL- β -3, 4-Dihydroxyphenyl alanine (DOPA) comme substrat à 0, 2 % de concentration finale. Le milieu réactionnel contenait du tampon phosphate 0, 1 M à pH 6, 5 et une aliquote d'homogénat. Les incubations ont été faites à 30° C. L'oxydation de la DOPA était appréciée par lecture au colorimètre Klett Summerson (filtre 42).

3) Protéine et chlorophylle

La protéine a été dosée par la méthode de Lowry et al. (1951) et la chlorophylle par celle d'Arnon (1949).

4) Centrifugation différentielle et en gradient de densité

Toutes les opérations d'homogénéisation ont été réalisées dans une chambre froide à 5° C. 60 g de limbe de la 4ème feuille ont été broyés avec un peu de sable dans un mortier refroidi, et dans 500 ml d'un milieu constitué par du Mannitol 0, 3 M, tampon Tris-HCl 0, 1 M à pH 7, 5, EDTA 1mM, Polyvinylpyrrolidone 0, 2 % et 2-Mercaptoethanol 1mM.

Centrifugation différentielle :

Après filtration par 2 couches de gaze, et centrifugation à 100 g pendant 15 minutes pour enlever les débris de tissu foliaire et le sable, des aliquotes étaient centrifugées, dans une centrifugeuse réfrigérée à 6° C. Trois fractions

sont recueillies : une sédimentable pour 1 heure de centrifugation à 3000 g, une deuxième sédimentable pour 1 heure de centrifugation à 40 000 g, et une troisième constituée par le surnageant de cette dernière centrifugation.

Pour les analyses enzymatiques, les culots et les surnageants étaient amenés au même volume avec du tampon contenant du Triton X-100 à une concentration finale de 0,1 %. Les valeurs de chaque fraction sont exprimées en pourcentage du total.

Cette méthode réduisant les manipulations au minimum a été adoptée après de nombreux essais de façon à endommager le moins possible les organites de chaque fraction.

La fraction lourde des traitements témoins, riche en chloroplastes, a été observée au microscope en contraste de phase et il a été vérifié que la plupart des chloroplastes étaient translucides limités par un halo. Cette fraction doit donc contenir une grande proportion de chloroplastes de classe I (Leech, 1964).

Centrifugation en gradient de densité :

La technique généralement adoptée pour centrifugation en gradient de densité, utilise des solutions concentrées de saccharose (De Duve et al., 1959) dont l'effet osmotique sur les organites cellulaires n'est pas négligeable.

Pour obvier à cet inconvénient, d'autres produits ont été proposés, comme le polyvinylpyrrolidone (Thomson et Klipfel, 1958), le glycogène (Beaufay et al., 1964), le Ficoll (Kamat et Wallach, 1965) et le Dextran (Mach et Lacko, 1968).

Ces produits, convenablement mélangés avec du saccharose, permettent l'obtention de gradients approximativement isosmotiques.

Nous avons, dans nos expériences, adopté le Dextran, de poids moléculaire moyen de 15000 pour la production des gradients de densité. Ces gradients, dans des tubes de rotor Spinco SW.25.1, vont d'une concentration de 40 % de Dextran + 10 % de Saccharose dans le fond du tube, jusqu'à 10 % de

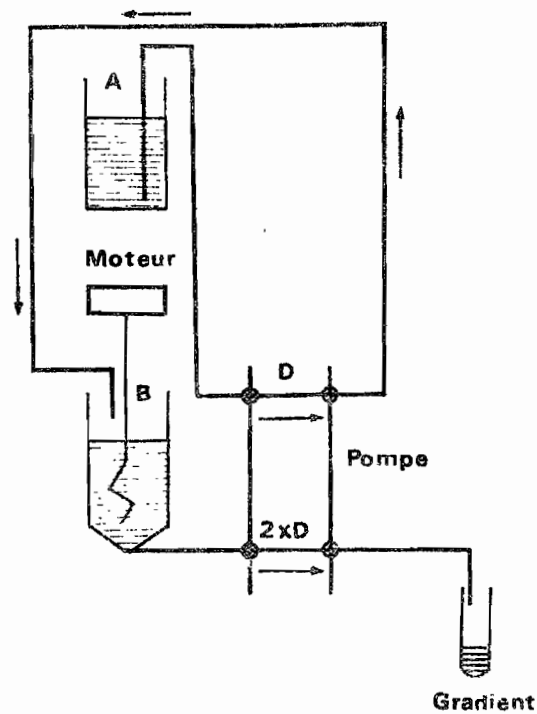


Fig. 22 - Schéma du système utilisé pour la préparation de gradients de densité de Dextrane.

A - récipient contenant la solution moins dense.

B - récipient contenant la solution plus dense.

Pompe proportionnante Technicon, à rouleaux, utilisant deux tubes, un débitant le double de l'autre.

saccharose en haut du gradient. Chaque tube contient 25 ml de gradient plus 7 ml d'homogénat (0,3 M en Mannitol).

Ces gradients qui vont d'une densité à 25° C de 1,038 en haut du gradient jusqu'à 1,167 au fond du tube, ont été établis à l'aide d'une pompe proportionnante Technicon d'après la méthode d'Ayad et al. (1968) qui permet de produire des gradients linéaires extrêmement précis, même en utilisant des solutions très visqueuses comme celles de Dextran (Fig. 22). Elle permet de réaliser, simultanément, les gradients identiques dans plusieurs tubes du rotor SW.25.1.

Sept ml de l'homogénat sont déposés sur un gradient linéaire, réalisé comme il a été indiqué plus haut, et centrifugés à 25000 t/min. pendant 2 heures et 30 minutes dans un rotor SW.25.1.

Trente à trente et une fractions sont récoltées de chaque tube percé dans le fond, par aspiration par une pompe proportionnante Technicon.

5) Chromatographie sur colonne

De façon à éliminer, dans la mesure du possible, l'action des composés phénoliques sur l'activité des enzymes, nous broyons les échantillons de la troisième et quatrième feuilles à compter de l'apex avec un poids égal du Polyvinylpyrrolidone (Polyclar AT) insoluble (Loomis et Battaile, 1968) dans du tampon Hepes (Good et al., 1966) 0,1 M pH 7,0 contenant de l'EDTA 0,1 mM et du dithiothreitol 0,1 mM (Cleland, 1964).

L'homogénat est traité avec du Triton X-100 à une concentration finale de 0,2 %, centrifugé, dialysé contre du tampon Tris 0,01 M à pH 7,5 contenant 5 mM de 2-mercaptoethanol et concentré 5 fois contre du PEG 20000.

Les extraits préparés de la façon indiquée sont appliqués sur une colonne de DEAE-cellulose de 1,6 cm de diamètre par 35 cm de long, équilibrée avec du tampon Tris 0,01 M pH 7,5.

L'élution était faite par 100 ml de tampon Tris 0,01 M pH 7,5 contenant du 2-mercaptoethanol 5mM, suivis par un gradient de NaCl (dans le même tampon Tris) établi de la façon suivante : une fiole à vide de 500 ml totalement

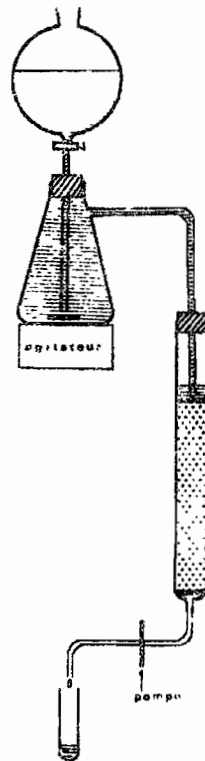


Fig. 23 - Schéma du montage utilisé pour la chromatographie sur colonne de DEAE-cellulose.

remplie avec du tampon Tris 0,01 M pH 7,5 constitue le récipient de mélange dans lequel plonge la tige d'une ampoule à décanter contenant 500 ml de NaCl 0,8 M ; une pompe proportionnante Technicon permet de régler le débit à 0,8 ml par minute (Fig. 23).

Le gradient obtenu est déterminé à l'aide d'un réfractomètre.

L'éluat est récolté en fractions de 5 ml.

6) Marquage des protéines

Une languette, découpée en trois de ses côtés dans la troisième et quatrième feuilles à compter de l'apex, à l'extrémité libre introduite dans une capsule en gélatine contenant 0,2 ml de solution de L-leucine (U) ^{14}C (50 μ Ci/ml), avec une activité spécifique de 95 m Ci/mM.

Après 24 heures la troisième et quatrième feuilles étaient récoltées, broyées ensemble, traitées comme il est indiqué ci-dessus, l'extrait obtenu étant chromatographié sur colonne de DEAE-cellulose.

La radioactivité de chaque fraction de 5 ml récoltée est mesurée avec un compteur à scintillation : une aliquote de 0,25 ml de chaque est additionnée de 10 ml du mélange scintillateur suivant : 700 g de Toluène, 400 g d'Ethanol, 4 g de 2,5-Diphényloxazole (PPO) et 0,1 g de 1,4-Di [2-(5-Phényloxazolyl)]-benzène (POPOP).

c) Résultats et discussion

1) Augmentation de l'activité enzymatique

a) Catalase

Une seule expérience a été réalisée sur l'effet du potentiel osmotique sur l'activité de la catalase. Six lots de trente disques de 0,8 cm de diamètre provenant de la quatrième feuille de la variété Allen de G. hirsutum ont été mis en équilibre avec des solutions de saccharose de molarités différentes en les faisant flotter sur ces solutions pendant 20 heures, la surface abaxiale

vers le haut. La figure 24 rend compte de la variation de l'activité de la catalase dans ces tissus en fonction de la molarité du saccharose.

Ces données confirment celles déjà obtenues chez la Tomate par Parkas et Rajhaty (1955), et par Vieira da Silva (1965) chez plusieurs espèces de Gossypium. Ces derniers résultats ont montré qu'il y avait de très grandes différences entre les espèces quant à la révélation de la catalase par l'effet du traitement osmotique et paraissaient indiquer qu'un indice simple, d'altération métabolique pouvait être donc établi comme critère pour distinguer entre les plantes résistantes et les plantes sensibles à la sécheresse.

Ce phénomène de révélation de la catalase par l'effet de la carence hydrique prend un intérêt tout spécial à la lumière de la localisation de cette enzyme dans les peroxysoines végétaux, et de l'importance qu'elle peut avoir dans l'oxydation de l'acide glycolique et donc dans la photorespiration.

Cependant l'effet de la sécheresse sur les tissus foliaires du cotonnier ayant des aspects typiques d'une sénescence accélérée, nous avons étudié plus en détail les variations d'activité des enzymes hydrolytiques, dont l'action pourrait conduire à cette sénescence.

b) Les hydrolases

Des études sur l'effet de la carence hydrique sur l'activité de la ribonucléase dans les tissus foliaires et racinaires ont été réalisées avec trois espèces de Gossypium (Vieira da Silva, 1968 a). Dans ces expériences les mesures d'activité portaient sur des homogénats bruts et il n'était pas possible de distinguer donc entre activité latente et libre ni de faire la part qui revenait, dans cette augmentation d'activité, à un possible effet lysosomal ou à une augmentation d'activité par révélation de zymogènes ou synthèse.

Cependant une liaison très nette a été trouvée entre l'activité de la ribonucléase (RNase) et l'hydratation relative (HR) des feuilles, pour l'espèce sauvage G. thurberi dont les tissus foliaires sont très sensibles au dessèchement

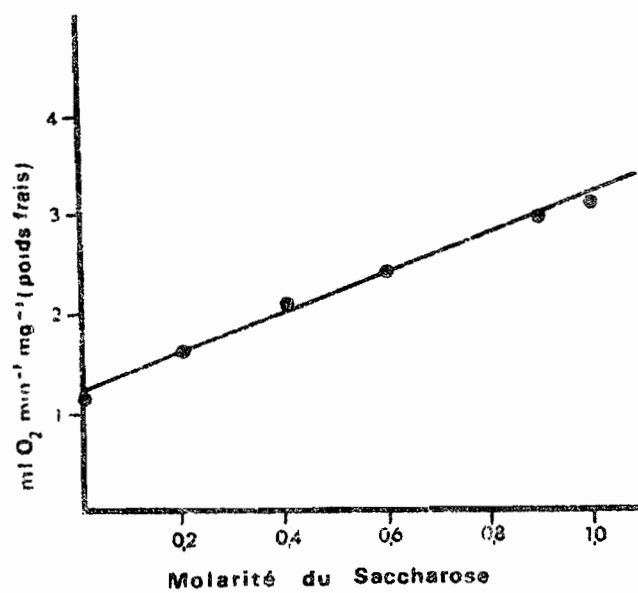


Fig. 24 - Influence de la molarité du saccharose sur l'activité de la catalase de disques de feuilles de G. hirsutum variété Allen.

(RNase = 62,28 - 0,406 HR ; $r = 0,88$ (~~*)~~), tandis que pour G. raimondii, plus résistant, il n'y avait pas de relation statistiquement significative.

A la fin de deux cycles de traitement osmotique, il a été vérifié que l'influence du traitement osmotique sur le poids sec total de la plante (exprimé en pourcentage du témoin) est en relation avec l'augmentation de l'activité de la ribonucléase.

La phosphatase acide a été étudiée chez l'espèce G. thurberi (Vieira da Silva, 1968 b) faisant la distinction entre l'activité soluble et activité totale, ce qui nous a permis de vérifier que non seulement le traitement osmotique avait comme conséquence une libération de 97,5 % de la phosphatase acide dans la phase soluble, mais que l'activité totale spécifique augmentait aussi.

L'utilisation in vivo d'inhibiteurs de la phosphatase acide n'a pas empêché ni la solubilisation ni l'augmentation de l'activité totale. Le molybdène, inhibiteur très efficace de la phosphatase acide in vitro (Spencer, 1954) a même eu comme conséquence une augmentation de presque deux fois de l'activité totale.

Ces effets des inhibiteurs sont un peu surprenants et en contradiction avec les résultats obtenus par Alexander (1965) et montrent qu'il n'est pas possible de prévoir son action in vivo à partir des résultats obtenus in vitro.

Cette augmentation d'activité totale de la phosphatase acide se passe très rapidement (Vieira da Silva, 1969) et suit, presque à la même vitesse, la solubilisation. Dans cette publication nous avons aussi présenté les résultats obtenus sur cinq espèces de Gossypium soumises à un traitement osmotique (tableau VIII).

Les réactions des cinq espèces sont différentes aussi bien du point de vue de la libération de la phosphatase acide que de l'augmentation de l'activité totale.

De toutes ces espèces c'est le G. anomalum qui présente non seulement la solubilisation la moins grande mais aussi l'augmentation d'activité totale la plus basse.

TABLEAU VIII

Activité de la Phénylphosphatase chez cinq espèces de Gossypium

	% d'activité soluble			Activité totale mg de Phénol libéré, par mg de N protéique par h.		
	Traitement osmotique	Témoin	Différence	Traitement osmotique	Témoin	Différence
<u>G. raimondii</u>	91,0	17,7	73,3	0,82	0,50	0,32
<u>G. thurberi</u>	78,0	7,9	70,1	2,09	0,88	1,22
<u>G. australe</u>	21,6	1,6	20,0	1,67	1,22	0,45
<u>G. anomalum</u>	18,5	5,7	12,8	0,96	0,90	0,06
<u>G. hirsutum</u>	79,1	29,4	49,7	1,28	0,79	0,49
	ppds 0,05 = \pm 13,8 0,01 = \pm 18,9			ppds 0,05 = \pm 0,39 0,01 = \pm 0,54		

Il s'agit d'une espèce africaine extrêmement bien adaptée à son habitat aride (Chevalier, 1933 ; Saunders, 1961).

Afin d'étudier la liaison entre la phosphatase acide d'un côté et la ribonucléase de l'autre, une expérience a été réalisée en culture liquide en utilisant des plantes de G. thurberi âgées de deux mois. Quatre plantes ont été soumises à un traitement osmotique de -10 j mole^{-1} pendant 48 heures et quatre autres plantes ont été utilisées comme témoins (figures 25 et 26).

On a constaté qu'il existe non seulement une liaison entre la solubilisation de la phosphatase acide et celle de la ribonucléase, mais également une corrélation très étroite entre les augmentations de l'activité totale de ces deux enzymes.

Chez G. hirsutum, soumis à la sécheresse naturelle par dessèchement du sol, la solubilisation concomitante de la phosphatase acide et de la ribonucléase a aussi pu être vérifiée (figure 27).

D'autres études ont été réalisées en culture en terre, pour comparer l'espèce G. anomalum, à la race punctatum et aux variétés Allen, HAR 444.2, ATH 555.7 et BJA de l'espèce G. hirsutum, en ce qui concerne leur comportement vis-à-vis de la sécheresse. Les plantes ont été cultivées dans des pots en plastique contenant 700 g de terre sèche, arrosés journalièrement jusqu'au poids correspondant à la capacité au champ. Un mois après les semis, les plantes de chaque variété ont été divisées en deux groupes : un groupe témoin continuant à être arrosé régulièrement, l'autre étant soumis à 5 cycles successifs de dessèchement, qui a été conduit jusqu'au flétrissement permanent et les plantes n'étaient arrosées de nouveau qu'après deux jours de flétrissement. Chaque traitement a été répété 4 fois. Après le cinquième cycle, la quatrième feuille de chaque plante a été récoltée et la phosphatase acide et la β -fructofuranosidase dosées.

Les résultats de cette expérimentation sont donnés par le tableau IX et la figure 28.

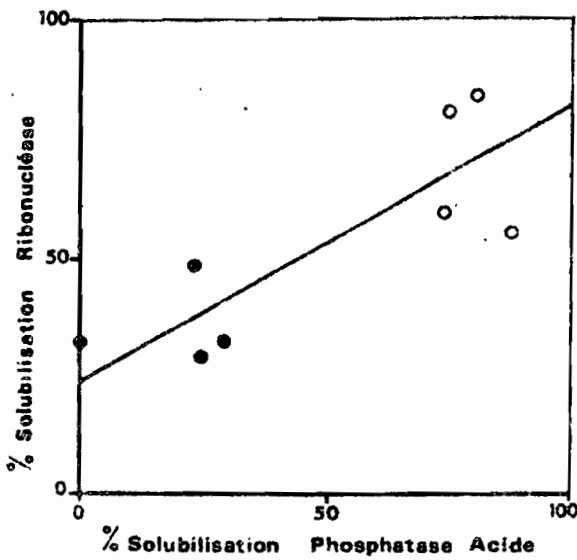


Fig. 25 - Liaison entre la solubilisation de la phosphatase acide et celle de la ribonucléase chez G. thurberi.

● Témoins

○ Traitement osmotique de
- 10 j mole⁻¹ pendant 48 h.

$$Y = 24,43 + 0,568 X$$

$$r = 0,84 \quad P < 0,01$$

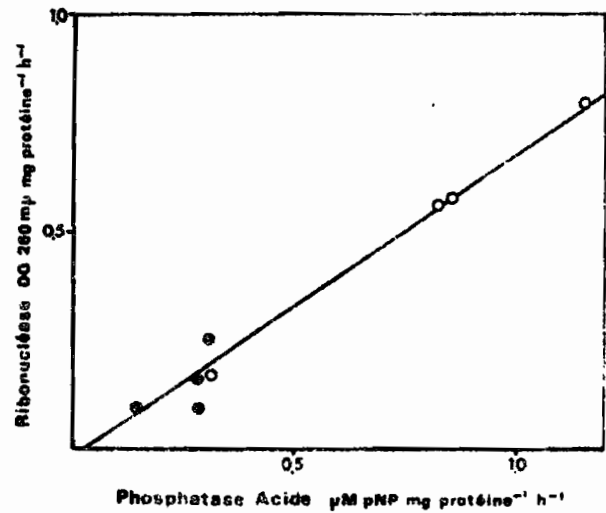


Fig. 26 - Liaison entre l'activité totale de la phosphatase acide et de la ribonucléase chez G. thurberi. Mêmes traitements que dans la figure 25.

$$Y = 0,038 + 0,727 X$$

$$r = 0,99 \quad P < 0,01$$

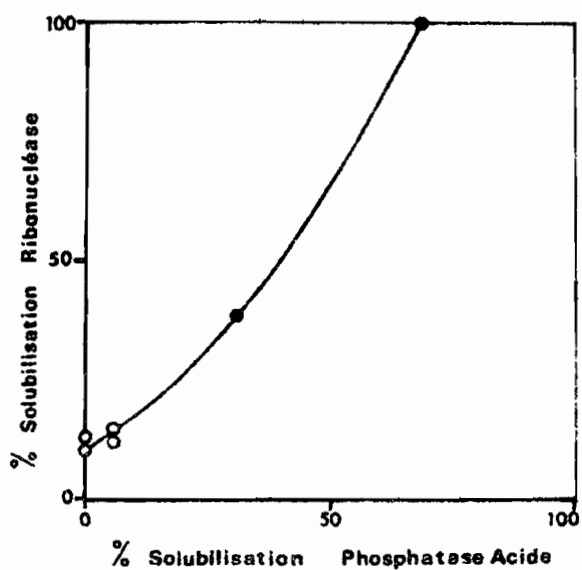


Fig. 27 - Liaison entre la solubilisation de la phosphatase acide et celle de la ribonucléase chez G. hirsutum variété HAR 444. 2.

- témoins
- sécheresse du sol

TABLEAU IX

Pourcentage de solubilisation de la phosphatase acide et de la β -fructofuranosidase.

	Phosphatase acide		β -fructofuranosidase	
	Témoin	Sécheresse	Témoin	Sécheresse
<u>G. anomalum</u>	12,3	7,1	0	14,5
<u>G. punctatum</u>	4,9	25,0	66,8	41,3
Allen	27,3	62,6	29,4	61,3
HAR 444.2	24,4	94,8	36,0	81,9
ATH 555.7	15,4	40,2	32,4	48,9
BJA	18,5	66,0	31,3	66,3
	$p = 0,05 \pm 31,2$ $0,01 \pm 42,1$ $0,001 \pm 55,8$		$p = 0,05 \pm 22,6$ $0,01 \pm 30,7$ $0,001 \pm 41,3$	

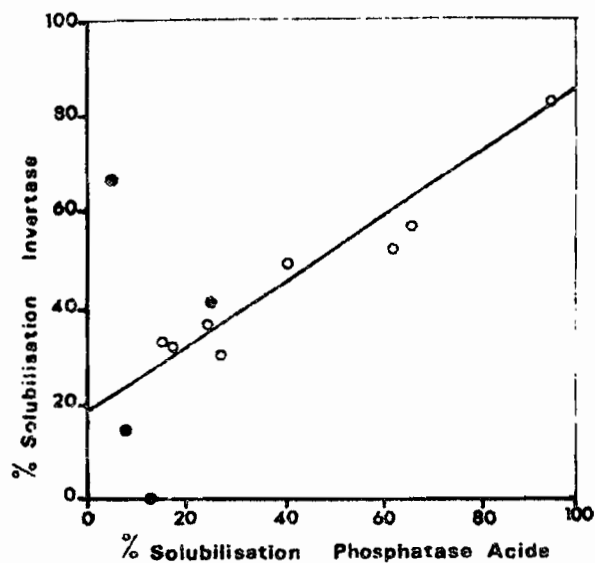


Fig. 28 - Liaison entre la solubilisation de la phosphatase acide et celle de l'invertase. Sécheresse du sol.

○ *G. hirsutum latifolium*

● *G. hirsutum punctatum* et *G. anomalum*

Pour *G. hirsutum latifolium* : $Y = 18,68 + 0,68 X$

$r = 0,98$ $P < 0,01$

Il est évident qu'il existe une relation entre la libération de la phosphatase acide et celle de la β -fructofuranosidase, dans le cas des variétés sensibles à la sécheresse : Allen, HAR 444.2, ATH 555.7 et BJA. Cependant, pour G. anomalum et G. hirsutum race punctatum cette liaison n'existe pas, la solubilisation de la phosphatase acide étant toujours réduite, tandis que celle de la β -fructofuranosidase peut même atteindre des valeurs élevées, comme pour la race punctatum.

Parmi les enzymes hydrolytiques certains, comme la phosphatase acide et la ribonucléase, ont une action destructive qui peut être extrêmement nuisible au métabolisme cellulaire. D'autres, par contre, comme l'amylase et l'invertase, peuvent avoir des effets bénéfiques, en diminuant le potentiel osmotique des tissus ce qui peut faciliter le maintien de la turgescence. En effet nous avons montré (Vieira da Silva, 1968 c) que le potentiel osmotique de la sève extraite par pression, dépendait de la quantité de sucres solubles dans les tissus foliaires. Ces résultats, qui contredisent cependant ceux de Bielorai (1968) sur des agrumes, montrent que, tout au moins pour le cotonnier, l'action des amylases et des invertases, ayant pour effet d'augmenter la force de succion des feuilles, pourrait ne pas être désavantageuse.

Une expérience faite dans le but de vérifier si l'espèce très résistante G. anomalum et l'espèce sensible G. hirsutum et des dérivés d'hybridation entre ces deux espèces avaient les mêmes rapports entre solubilisation de la phosphatase acide et solubilisation de la β -fructofuranosidase d'un côté et de la β -amylase de l'autre côté, a donné les résultats dont fait état la figure 29, (Vieira da Silva et Poisson, 1969).

Les plantes étaient soumises à un traitement osmotique de - 30 j mola⁻¹ tandis que des témoins recevaient la solution nutritive normale.

Ainsi il a été possible de conclure que si les activités enzymatiques paraissent liées, ces liaisons diffèrent néanmoins selon l'espèce ou l'hybride considéré. Le fait que G. anomalum et ses dérivés d'hybridation avec G. hirsutum présentent des analogies d'ordre biochimique, conduit à penser

qu'une information génétique a été transférée de l'espèce sauvage à ces dérivés d'hybridation y compris la partie de la population dont les constituants sont apparamment euploïdes.

En effet dans les dérivés d'hybridation il était possible de trouver dans la lignée essayée (R 264) des plantes possédant en plus du génome de G. hirsutum un chromosome de G. anomalum et que nous avons désigné R 264 a ($2n + 1$) et des plantes euploïdes ($2n$) : R 264 b.

Ces deux types de plantes, qui d'ailleurs présentent aussi certaines différences de phénotype en comparaison avec G. hirsutum : feuilles plus épaisses et plus rigides, se comportant, du point de vue des relations entre la solubilisation de la phosphatase acide et de la β -fructofuranosidase et de la β -amylase, de la même façon que G. anomalum.

En conclusion, il paraît que, dans les espèces résistantes, l'amylase et l'invertase peuvent être solubilisées sans que le soit la phosphatase acide, et que cette caractéristique est transmissible.

Dans deux répétitions de l'essai sur l'action des cycles répétés de dessèchement du sol, l'activité de la phosphatase acide dans la quatrième feuille, et l'hydratation relative (Hewlett et Kramer, 1963) de la troisième feuille ont été déterminées sur chaque plante.

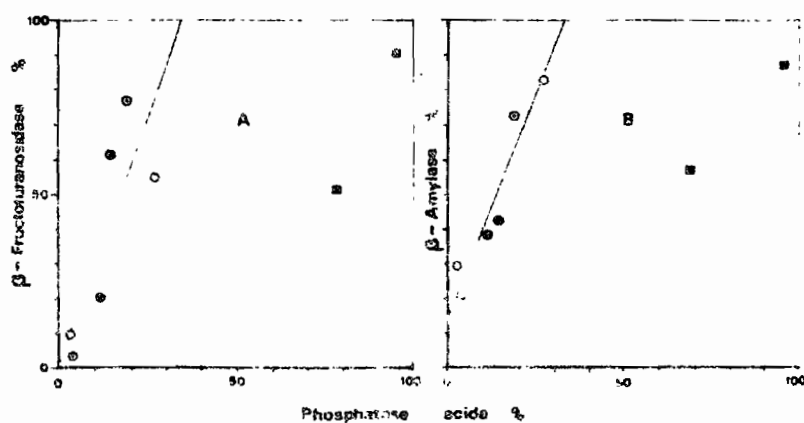


Fig. 29 - A - Liaison entre la solubilisation de la phosphatase acide et celle de la β -fructofuranosidase.

B - Liaison entre la solubilisation de la phosphatase acide et celle de la β -amylase.

■ - G. hirsutum

● - G. anomalum

⊖ - R 264 a ($2 \underline{n} + 1$)

○ - R 264 b ($2 \underline{n}$)

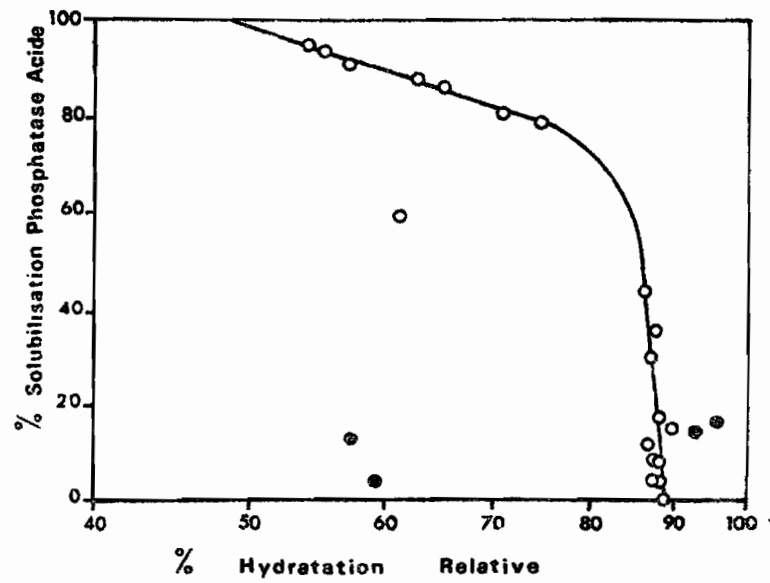


Fig. 30 - Solubilisation de la phosphatase acide en fonction de l'hydratation relative des feuilles.

- - G. hirsutum
- - G. anomalum

La figure 30 rend compte de la liaison entre la solubilisation de la phosphatase acide dans la quatrième feuille et l'hydratation relative de la troisième feuille.

Cette figure semble démontrer l'existence de deux compartiments, l'un se solubilisant plus facilement que l'autre. Il est aussi intéressant de noter que la solubilisation est totale pour des valeurs de l'hydratation relative considérées habituellement comme létales. On peut aussi voir que l'espèce résistante, G. anomalum, ne manifeste pas de solubilisation appréciable de la phosphatase acide à mesure du dessèchement de la feuille. Il s'agit en effet d'une espèce extrêmement bien adaptée à son habitat aride.

2) Localisation des enzymes dans la cellule et leur solubilisation

a) Etudes par centrifugation différentielle

Pour vérifier la répartition de l'activité enzymatique dans les différentes fractions cellulaires sous l'effet de sécheresse, trois groupes de plantes de G. thurberi ont été utilisés.

Le premier (groupe A) constitué par des plantes cultivées en serre pendant 3 mois, en solution nutritive normale, en conditions d'humidité de l'air entre 80 % et 95 % d'humidité relative et transpiration faible.

Le second (groupe B) était formé de plantes cultivées dans les mêmes conditions que celles du groupe A, mais après un séjour d'une semaine dans une chambre conditionnée à 25° C et 50 % d'humidité relative, où elles étaient illuminées par des lampes à vapeur d'iode, dont l'infra-rouge était absorbé par une couche de 5 cm d'eau courante, produisant 20 000 lux au niveau des feuilles supérieures, dans un cycle de 12 heures de jour, 12 heures de nuit.

Le troisième (groupe C) était soumis au même traitement que le groupe B, et recevait, en plus, un traitement osmotique de -15 j mole^{-1} pendant les dernières 48 heures.

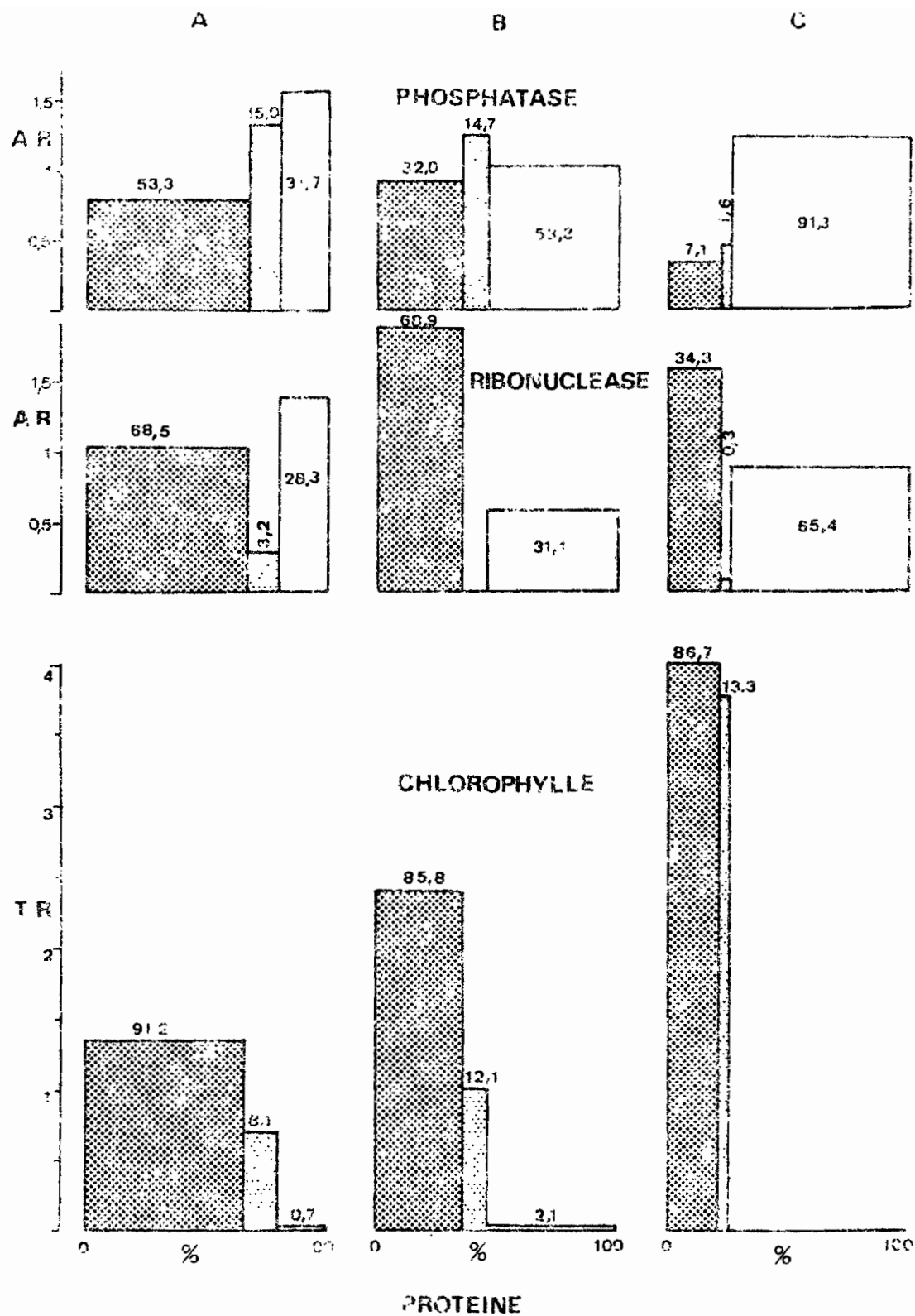


Fig. 31 a - Distribution de l'activité des enzymes et de la quantité de chlorophylle dans trois fractions cellulaires. En gros pointillé la fraction chloroplastique, en pointillé fin léger la fraction moyenne, en blanc le surnageant. Il est indiqué sur chaque rectangle le pourcentage de l'activité, ou de la teneur, qui correspond à la fraction. En abscisses la largeur du rectangle correspond au pourcentage de protéine dans la fraction. En ordonnées l'activité relative (AR), ou teneur relative (TR), est le rapport entre le pourcentage d'activité ou de teneur et le pourcentage de protéine, qui correspondent à chaque rectangle. A - sans sécheresse ; B - sécheresse atmosphérique ; C - sécheresse atmosphérique et choc osmotique.

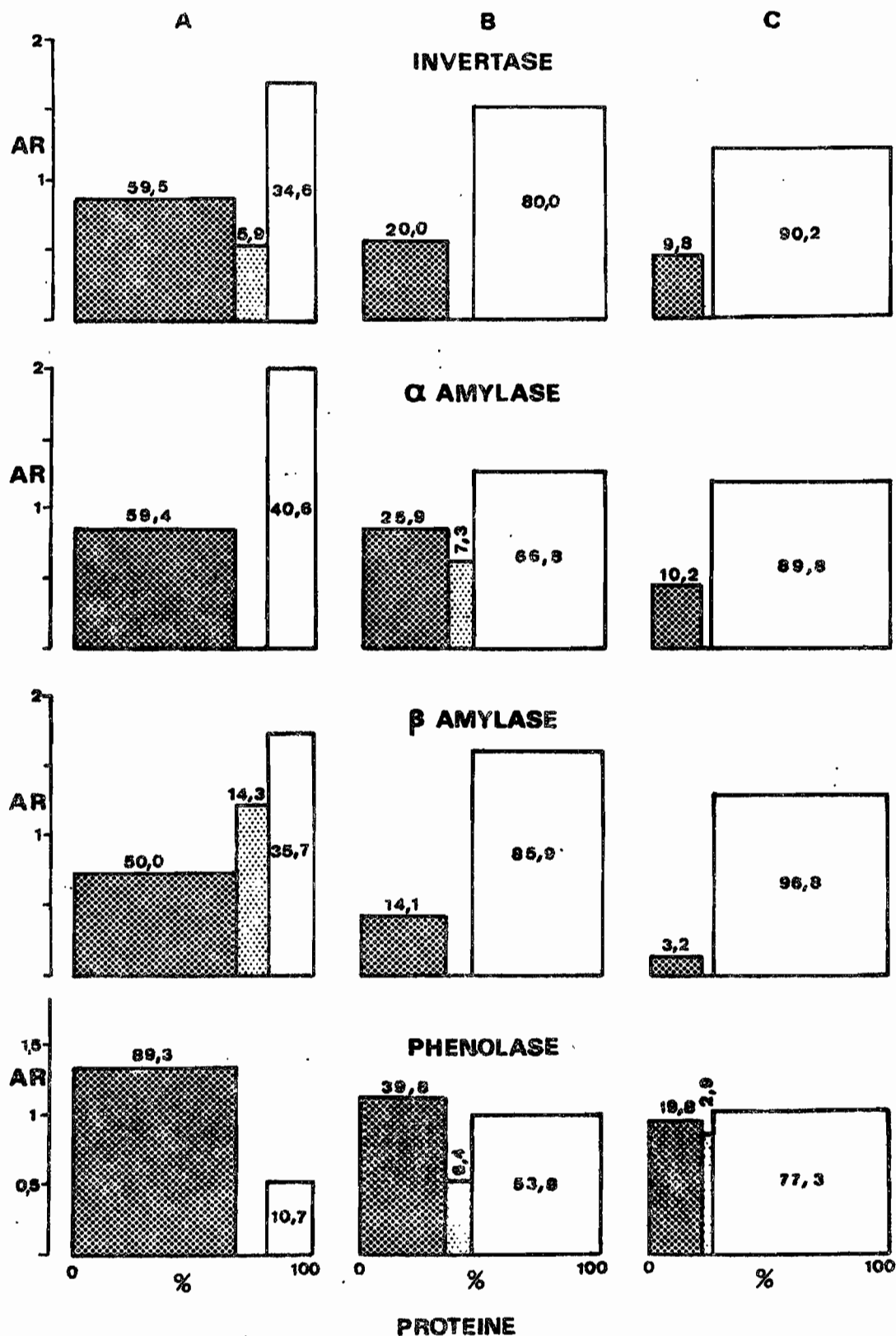


Fig. 31 b - Distribution de l'activité des enzymes dans trois fractions cellulaires. Mêmes symboles que dans la figure 31 a.

Ces 3 groupes correspondant ainsi à des conditions croissantes de sécheresse : le premier formé par des plantes qui ne souffrent pas de sécheresse, le deuxième par des plantes qui transpirent abondamment dans des conditions de sécheresse atmosphérique, et le troisième par des plantes dont les feuilles se trouvent flétries en permanence pendant les dernières 24 heures.

Les tissus foliaires ont été broyés et fractionnés par centrifugation comme il est indiqué plus haut.

Trois fractions ont été séparées : une fraction lourde riche en chloroplastes, une fraction moyenne et le surnageant.

Sur chacune de ces fractions il a été dosé : les quantités de chlorophylle et des protéines ; ainsi que les activités : phosphatase acide, ribonucléase acide, β -fructofuranosidase, α et β amylase et O-diphenol oxydase.

Sur la figure 31, la surface de chaque rectangle représente le pourcentage de l'activité totale de l'enzyme contenu dans cette fraction. En abscisse on a porté la quantité de protéine dans la fraction exprimée en pourcentage du total, et en ordonnées l'activité relative obtenue en divisant le pourcentage d'activité de chaque fraction par le pourcentage de protéines: Dans le cas de la chlorophylle, il s'agit de quantités et non d'activités.

La distribution des protéines par fraction varie en fonction du traitement. Dans le traitement A la fraction chloroplastique contient 67,9 % de la protéine, la fraction moyenne 11,6 % et le surnageant 20,5 %. Dans le traitement B les pourcentages sont respectivement 35,0 % ; 11,9 % et 53,1 %. Dans le traitement C ils sont de 21,5 %, 3,5 % et 75,0 %.

On peut dire que les fractions chloroplastiques et moyennes se "vident" d'une partie de leurs protéines qui passe dans la phase soluble. La première conserve cependant toute sa chlorophylle (figure 31 a).

Toutes les enzymes étudiées se solubilisent sous l'effet de l'augmentation de l'intensité de la sécheresse : la β -fructofuranosidase et les α et β amylases le font de façon assez semblable, tandis que la phosphatase acide,

la ribonucléase et l'O-diphénol oxydase se comportent de façon différente les unes des autres.

Il paraît toutefois évident que la partie la plus importante de l'activité solubilisée sous l'effet de la sécheresse, provient de la fraction chloroplastique.

b) Études par centrifugation en gradient de densité

Un pourcentage élevé de l'activité totale de la phosphatase acide, ainsi que celle des autres enzymes étudiées, se trouve concentré dans la fraction riche en chloroplastes.

Cette fraction libre, dans des conditions de sécheresse, l'activité enzymatique dans la phase soluble. Nous avons voulu vérifier si la diminution du potentiel osmotique de l'homogénat in vitro pouvait conduire à une telle libération.

Un homogénat préparé d'après les procédés déjà indiqués a été divisé en 11 parties aliquotes et centrifugé à 40 000 g pendant 15 minutes dans une centrifugeuse réfrigérée. Dix de ces culots ont été remis en suspension dans des solutions de saccharose de molarité croissante: Un culot a été remis en suspension dans une solution de Triton X-100 à 0,25 % pour solubiliser l'activité totale.

Après incubation pendant deux heures à 5° C les aliquotes ont été centrifugées et la phosphatase acide dosée dans le surnageant.

On peut voir d'après la figure 32 que 50 % de l'activité se libère déjà par les manipulations imposées au culot. Néanmoins la suspension du culot soit dans l'eau, soit dans une concentration hypotonique de saccharose, ne conduit pas à une plus grande libération que celle déjà observé avec la solution isotonique (0,3 M) de saccharose. Par contre la suspension dans des concentrations plus grandes que 0,6 M de saccharose conduit à la libération de la phosphatase acide, libération qui est totale à 1 M de concentration. Ce comportement est en

opposition avec celui des lysosomes qui libèrent leurs enzymes par suspension dans une solution hypotonique. Ces résultats nous permettent de comprendre l'action de la sécheresse sur la fraction chloroplastique qui paraît être sensible à une diminution du potentiel osmotique. Les surnageants des traitements 0,8 M et 1 M de saccharose étaient opalescents, ce qui ne vérifiait pas dans les autres traitements.

Nous avons ainsi écarté la technique courante de centrifugation en gradient de saccharose (De Duve et al., 1959), car le potentiel osmotique des solutions concentrées peut influencer la distribution particulière des enzymes.

Des homogénats ont été réalisés de la quatrième feuilles de plantes de G. thurberi cultivées, soit en solution nutritive normale (groupe témoin) soit dans la même solution mais recevant un traitement osmotique de -15 j inole^{-1} pendant 48 heures avant la récolte. Le milieu de broyage utilisé était celui déjà indiqué.

Sept ml de l'homogénat ont été déposés sur un gradient linéaire, réalisé comme il a été indiqué dans la méthodologie, et centrifugés à 25 000 t/min pendant 2 heures et demi dans un rotor SW. 25. 1.

Trente à trente et une fractions ont été récoltées. Sur le culot ainsi que sur chaque fraction les dosages suivants ont été faits : protéine, chlorophylle, phosphatase acide, ribonucléase acide et o-diphenol oxydase, comme précédemment décrit. Les résultats des dosages par fraction sont exprimés en pourcentage soit de l'activité totale, soit de la teneur totale dans le gradient.

Les figures 33, 34, 35 et 36 rendent compte des résultats obtenus :

a) Protéines et chlorophylle (figure 33). Nous pouvons ainsi confirmer que la fraction chloroplastique perd des protéines au profit du surnageant sous l'effet du traitement osmotique. Deux types de chloroplastes peuvent être identifiés, un plus lourd, encore riche en protéine, et l'autre plus léger, bien moins riche en protéine. La figure 33 a montré que, même dans le témoin,

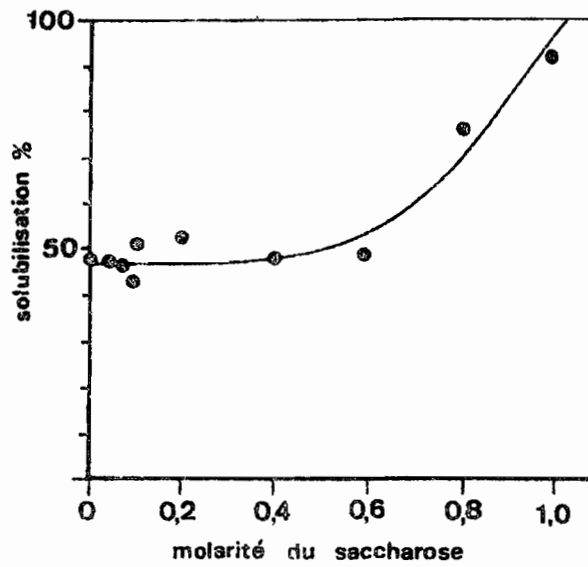
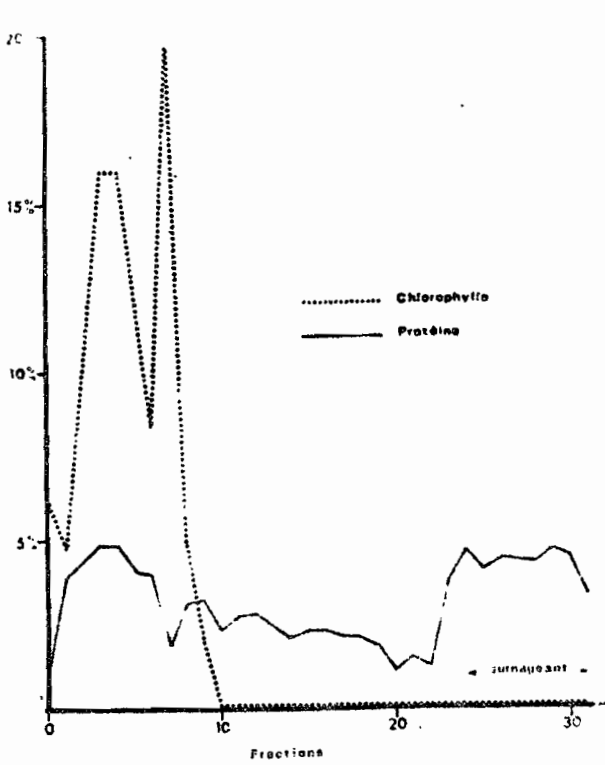
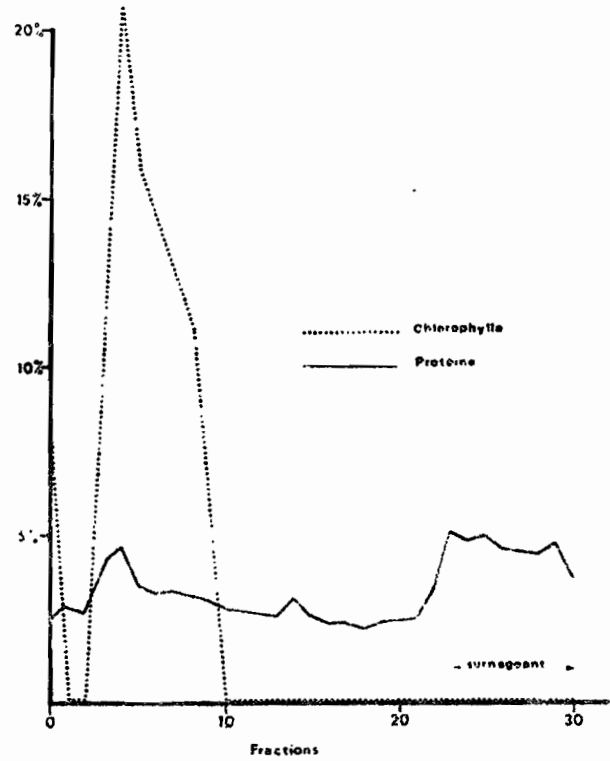


Fig. 32 - Solubilisation de la phosphatase acide sous l'influence de la molarité du saccharose chez les chloroplastes de G. thurberi.



a)



b)

Fig. 33 - *G. thurberi*. Distribution de la chlorophylle et de la protéine dans un gradient de densité.

a) plantes témoins,

b) traitement osmotique

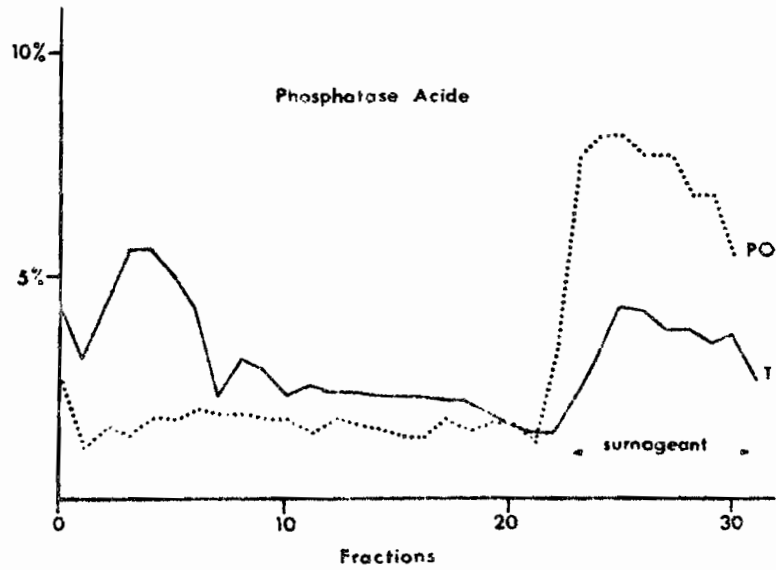


Fig. 34 - G. thurberi. Distribution de la phosphatase acide dans un gradient de densité.

PO - Traitement osmotique

T - Témoin

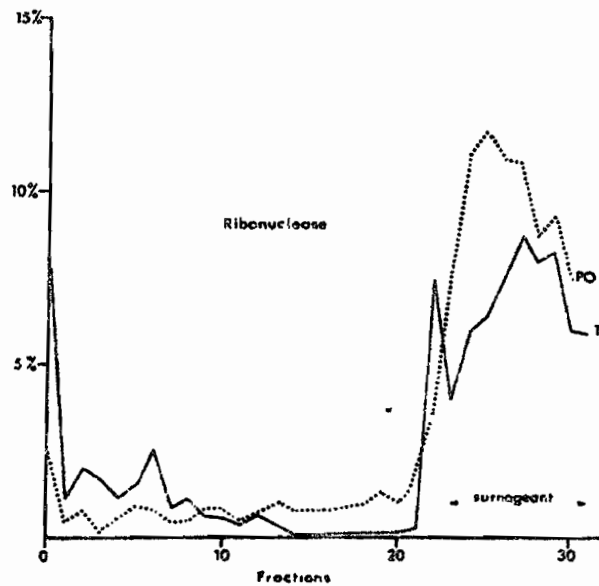


Fig. 35 - G. thurberi. Distribution de la ribonucléase acide dans un gradient de densité.

PO - Traitement osmotique

T - Témoin

l'intégrité des chloroplastes n'est pas totale, ce qui doit être dû aux manipulations d'extraction.

b) Phosphatase acide. La figure 34 montre que la phosphatase acide est localisée dans la fraction chloroplastique et qu'elle se solubilise sous l'effet du traitement osmotique.

c) Ribonucléase. Sa distribution (figure 35) paraît être différente de celle de la phosphatase acide. Elle se localise en partie dans une fraction plus lourde que les chloroplastes, très probablement dans les noyaux et également dans le haut du gradient. Aussi bien l'une que l'autre se solubilisent avec le traitement osmotique.

d) O-diphenol oxydase. Cette enzyme est localisée (figure 36) dans la fraction chloroplastique contenant encore beaucoup de protéines. Il ne paraît pas y avoir de grandes différences de solubilisation entre le témoin et le traitement osmotique.

En conclusion la distribution de la phosphatase acide et de la ribonucléase ne paraissent pas être identiques, même si leur solubilisation sous l'effet de la sécheresse est semblable.

L'O-diphenol oxydase qui se situe dans la fraction chloroplastique n'accompagne pas la phosphatase acide dans sa solubilisation.

Les chloroplastes perdent des protéines sous l'action de la sécheresse et deviennent plus légers.

Le même traitement, appliqué à l'espèce résistante G. anomalum, a donné les résultats représentés par les figures 37, 38 et 39.

Les chloroplastes, plus lourds que ceux de G. thurberi, se trouvent totalement dans le culot, ainsi que la grosse majorité de l'activité de la phosphatase acide et de l'O-diphenol oxydase. Il n'y a pas de différence sensible de solubilisation entre le témoin et le traitement osmotique.

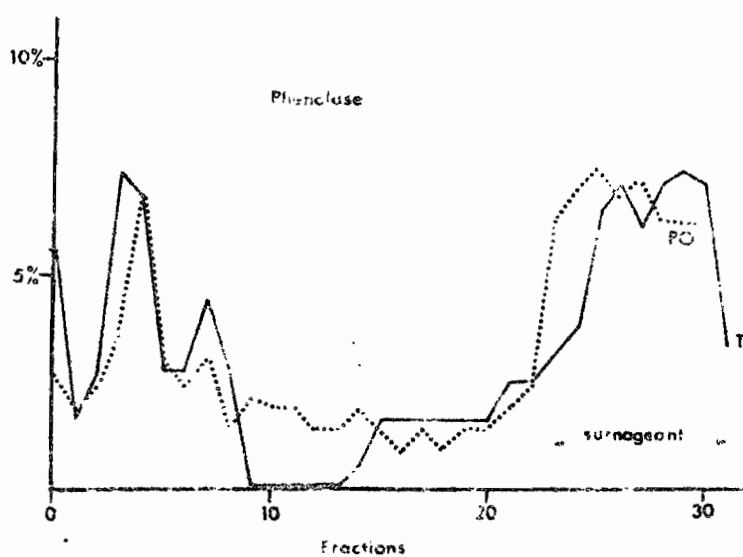


Fig. 36 - *G. thurberi*. Distribution de la o-diphénol oxydase dans un gradient de densité.

PO - Traitement osmotique

T - Témoin

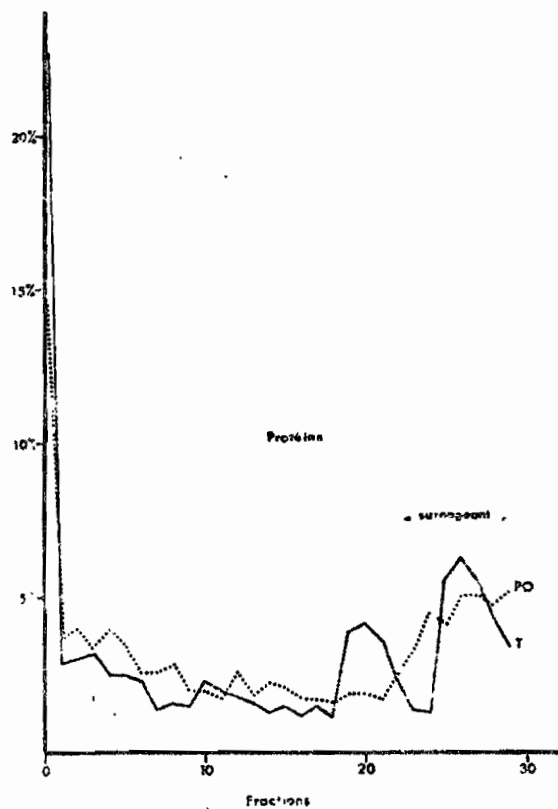


Fig. 37 - *G. anomalum*. Distribution de la protéine dans un gradient de densité.

PO - Traitement osmotique

T - Témoin

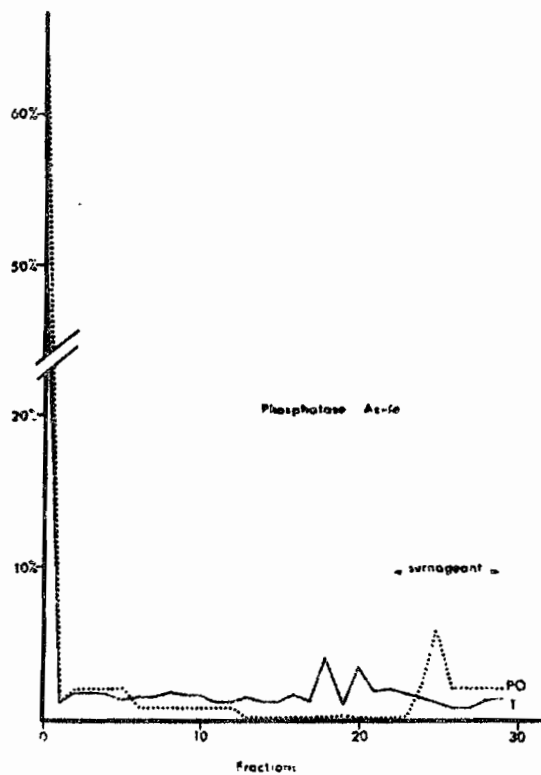


Fig. 38 - *G. anomalum*. Distribution de la phosphatase acide dans un gradient de densité.

PO - Traitement osmotique

T - Témoin

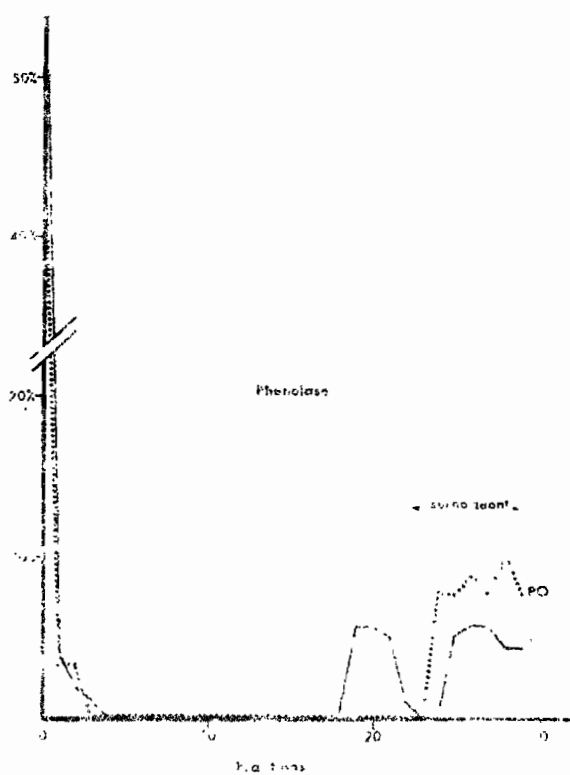


Fig. 39 - *G. anomalum*. Distribution de la o-diphénol oxydase dans un gradient de densité.

PO - Traitement osmotique

T - Témoin

Ceci confirme notre hypothèse suivant laquelle les plantes résistantes à la sécheresse manifestent une plus grande résistance à la solubilisation des enzymes (Vieira da Silva, 1969).

La localisation chloroplastique de la phosphatase acide présente des problèmes curieux.

Les travaux de Ragetli et al. (1966) paraîtraient démontrer une localisation particulière de cet enzyme à l'intérieur même des chloroplastes, et dans certains de nos gradients il apparaît, après traitement osmotique, un pic de particules légères, contenant de la phosphatase acide (fig. 40).

Ces particules, que nous n'avons jamais trouvées dans les témoins, bien qu'une bande microsomale soit bien visible dans les tubes avant le fractionnement, pourraient avoir pour origine les chloroplastes. Ce phénomène nous rappelle la perte de ribosomes chloroplastiques en conditions d'hypertonie décrite par Filippovich et al. (1967), le même résultat étant retrouvé chez des plantes ayant reçu un choc osmotique (B. Marin, communication privée).

Il paraît donc que la sécheresse affecterait considérablement les structures chloroplastiques, ce qui permettrait la révélation des enzymes étudiées et confirmerait les prévisions de Maximov et Iljin déjà citées. A l'appui de ce point de vue Trebst et Wagner (1962) ont constaté la révélation de l'O-diphénol oxydase par destruction de la structure lipidique des chloroplastes.

Par ailleurs Barton (1966) et Butler (1967) ont montré, en conditions de sénescence, une lyse des thylakoïdes autour des globules lipidiques des chloroplastes, globules déjà décrits par plusieurs auteurs (Bailey et Whyborn, 1963 ; Greenwood et al., 1963 ; Camefort, 1964 ; Laetsch et al., 1966 ; Lichtenthaler et Sprey, 1966) et dont l'importance augmente avec la sénescence des tissus foliaires.

Même s'il n'y a pas d'autre évidence d'activité enzymatique dans ces plastoglobuli (Leech, 1968), il n'en reste pas moins que la ressemblance de ces globules avec les sphérosomes cytoplasmiques, qui se chargent aussi de lipides au stade final de son évolution (Dangeard, 1919 ; Frey-Wyssling et al., 1963)

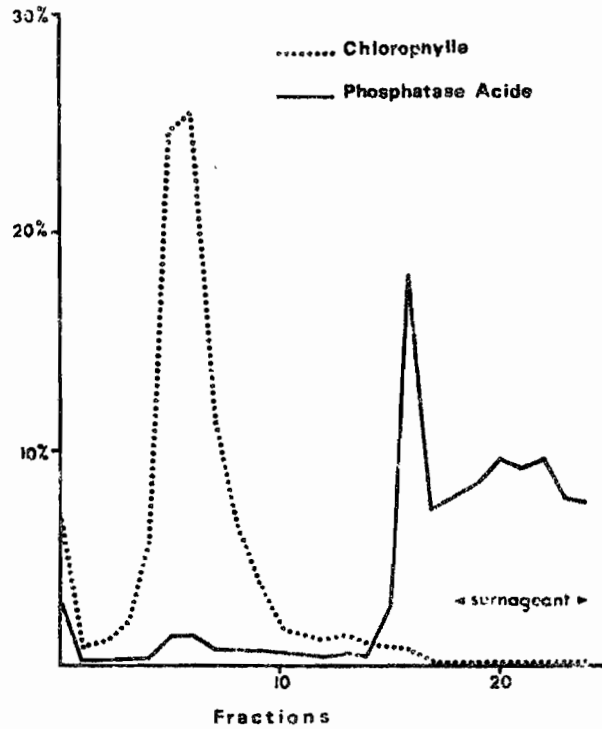


Fig. 40 - *G. thurberi*. Distribution de la phosphatase acide et de la chlorophylle dans un gradient de densité. Plantes soumises à un traitement osmotique.

est frappante. Ces globules pourraient donc constituer l'étape ultime de structures lysosomales propres aux chloroplastes. Toutefois les éléments à l'appui de cette hypothèse sont encore très réduits.

La solubilisation des hydrolases par la sécheresse, que nous venons de démontrer, pourrait avoir un effet néfaste sur l'appareil photosynthétique (Bamberger et Park, 1968 ; Constantopoulos et Kenyon, 1968).

Certains auteurs, comme Matile (1969), ont avancé l'hypothèse d'une localisation vacuolaire de la phosphatase acide, localisation qui n'était pas possible de distinguer dans les gradients étudiés par nous, car les vacuoles et particules contenant les lipides ne sédimentent pas, et se retrouvent avec le surnageant. Nous avons donc voulu extraire le contenu vacuolaire par pression et mesurer l'activité de la phosphatase acide ainsi récupérée.

Dans une presse hydraulique, nous avons soumis à la pression de 1200 kg cm^{-2} soixante disques de 2,5 cm de diamètre de la quatrième feuille de G. thurberi, empilés régulièrement à l'intérieur du cylindre. Après une première extraction, le résidu a été congelé et décongelé et une seconde extraction effectuée. Le résidu de ces deux extractions était broyé et complété à 25 ml. Dans les trois fractions ainsi obtenues on a dosé les protéines et la phosphatase acide.

Le tableau X montre que presque 30 % de l'eau cellulaire, obtenu après deux extractions ne contient qu'environ 1 % de l'activité totale de la phosphatase. Le contenu vacuolaire ne doit donc pas contribuer de façon significative à l'activité phosphatasique de la cellule.

Les résultats obtenus paraissent démontrer, comme l'avaient observé Yin (1945), Ragetli et al. (1966), Nir et Poljakoff-Mayber (1966), Ragetli (1967), qu'une fraction importante de la phosphatase acide de la cellule végétale se trouve dans les chloroplastes.

TABLEAU XExtraction du jus cellulaire par pression à 1200 kg cm^{-2}

	% du total dans la cellule		
	Activité de la phosphatase	Protéine	H ₂ O
1ère extraction	0,18	1,78	7,65
2ème extraction après congélation	1,07	7,05	22,11
Résidu	98,75	91,17	70,24

La courbe de solubilisation de cet enzyme en fonction de l'hydratation de la feuille permet d'imaginer deux compartiments, dans l'un les enzymes se solubilisent assez facilement et dans l'autre plus lentement au fur et à mesure que les tissus foliaires se dessèchent. Il paraît logique d'assimiler ce second compartiment aux chloroplastes.

L'importance des altérations subies par les membranes des organites cellulaires sous l'action du dessèchement paraît évidente. Schnepf (1961) a montré dans les racines de Pois que la dessiccation affectait profondément les membranes des organites, qui se désintégraient. Aussi Nir *et al.* (1969) observent que la deshydratation provoque des changements dans l'ultrastructure des mitochondries et plastides et détériore les membranes protoplasmiques.

L'action de la congélation et décongélation est semblable à celle de la deshydratation et Souzu (1967) a vérifié que des enzymes et d'autres substances pouvaient, après avoir subi ces traitements, traverser les membranes qui normalement les maintenaient séparées. Heber (1967) a aussi montré que la deshydratation provoquée par la formation de glace détériore les membranes chloroplastiques, les chloroplastes ne fonctionnant plus comme osmomètres.

A la lumière des résultats obtenus il nous paraît raisonnable d'admettre que, tout au moins en partie, la résistance protoplasmique à la sécheresse pourrait être assimilée à la résistance des systèmes membranaires, notamment ceux des chloroplastes. Cette résistance évite la libération des enzymes hydrolytiques comme la ribonucléase et la phosphatase acide, suivie d'effets destructifs dans la cellule. C'est le cas de G. anomalum qui montre un pourcentage très réduit de solubilisation de ces enzymes avec la sécheresse. Par contre des espèces sensibles, comme G. thurberi, montrent une solubilisation très importante dans les mêmes conditions.

3) Augmentation de l'activité totale des enzymes hydrolytiques

Nous avons vu dans certaines expériences précédentes que, dans les variétés sensibles à la sécheresse, il y avait non seulement une

solubilisation des enzymes hydrolytiques mais aussi une augmentation de l'activité totale de la phosphatase acide ou de la ribonucléase.

Cette augmentation d'activité peut être due à deux causes fondamentales : ou bien l'enzyme existant pouvait se trouver sous une forme moléculaire inactive et d'est l'activation du zymogène qui serait la cause de l'augmentation de l'activité, ou l'enzyme pouvait être révélée, ou par la disparition d'inhibiteurs, ou encore, il s'agit de synthèse de novo.

Dans tous ces cas l'enzyme révélée ou synthétisée peut être identique à celle qui avait été solubilisée par la sécheresse, soit avoir une forme moléculaire différente (un ou plusieurs isozymes).

Pour essayer d'éclaircir cette question, nous avons étudié l'influence d'inhibiteurs de syntèse des protéines et de l'ARN sur l'activité de la phosphatase acide, de la ribonucléase et de la β -fructofuranosidase dans des disques de feuilles de cotonnier.

Dans un premier essai, portant sur la phosphatase acide, 20 disques de 0,8 cm de diamètre de la 4ème feuille de G. hirsutum, var. HAR 444, 2 et var. ATH 555, 7 et de G. arboreum, ont été infiltrés sous vide pendant 15 minutes soit par une solution de chloramphenicol (4 mg/ml), soit par une solution de D-actinomycine (100 μ g/ml), soit par de l'eau (témoin).

Les disques ont été déposés sur des solutions de PEG 600 de -10 j mole⁻¹ de potentiel osmotique. Les essais sur G. hirsutum étaient répétés 4 fois, ceux sur G. arboreum deux fois.

Après douze heures, les disques sont homogénéisés, traités avec du Triton X-100 pour solubiliser toute la phosphatase latente, centrifugés à 36000 g pendant 15 minutes et la phosphatase dosée sur le surnageant.

Le tableau XI rend compte des résultats obtenus, l'activité étant exprimée en pourcentage du témoin.

Une deuxième expérience, portant sur l'espèce G. thurberi a été exécutée après infiltrations des disques par du chloramphénicol (4 mg/ml), de la cycloheximide (actidione) (10 μ g/ml) ou de l'eau (témoin). Le traitement osmotique des disques a été le même que dans le premier essai et le surnageant

TABLEAU XI

Activité de la phosphatase acide (en pourcentage de celle du témoin), dans des disques de feuilles de trois variétés de cotonnier soumis à un traitement osmotique et traités par un inhibiteur de la synthèse protéique et par un inhibiteur de la synthèse de l'ARN.

	<u>G. hirsutum</u> HAR 444.2	<u>G. hirsutum</u> ATH 555.7	<u>G. arboreum</u>
Chloramphénicol 4 mg/ml	68,1	68,8	65,2
D Actinomycine 100 µg/ml	98,4	96,6	97,0
Témoin, H ₂ O	100,0	100,0	100,0

a servi à doser la phosphatase acide (sur huit répétitions), la ribonucléase (sur quatre répétitions) et l'invertase (sur quatre répétitions). Le tableau XII rapporte les résultats obtenus.

Ces résultats montrent que ni la D-actinomycine ni la cycloheximide ne paraissent avoir d'action, aux doses utilisées, sur l'activité totale de la phosphatase acide. Par contre le chloramphénicol réduit d'à peu près trente pour cent cette activité dans toutes les espèces expérimentées.

Le chloramphénicol réduit aussi de moitié l'activité de la ribonucléase, mais il augmente même l'activité de la β -fructofuranosidase qui est cependant inhibé de 75 % par la cycloheximide.

L'interprétation de l'action des inhibiteurs sur la synthèse enzymatique est assez difficile. En effet il risque d'y avoir parfois des effets secondaires importants. C'est le cas des inhibiteurs qu'on utilise à très fortes doses comme le chloramphénicol. Ce dernier interfère dans la chaîne respiratoire (Freeman et Haldar, 1968) ce qui peut avoir des conséquences sur la synthèse protéique. D'autre part la baisse de l'activité enzymatique sous l'effet des inhibiteurs n'est pas la preuve que c'est la synthèse de novo de la protéine enzymatique qui en est la cause. La synthèse inhibée peut être celle d'une autre protéine nécessaire à l'activation d'un zymogène.

Cependant les conclusions suivantes paraissent pouvoir être tirées : le manque d'action de la D-actinomycine semble démontrer qu'une synthèse préalable d'ARN n'est pas nécessaire à l'augmentation d'activité totale de la phosphatase acide chez le G. hirsutum et le G. arboreum (Tableau XI) ; par contre les diminutions d'activité de la phosphatase acide, par l'action du chloramphénicol dans ces deux espèces et dans le G. thurberi (tableaux XI et XII) sont de l'ordre de grandeur quoiqu'un peu inférieures aux augmentations d'activité totale obtenues sous l'action de la sécheresse (Vieira da Silva, 1969 et fig. 26). Pour l'activité ribonucléasique, chez G. thurberi, l'inhibition est aussi du même ordre de grandeur que l'augmentation due à la sécheresse (fig. 26). Le manque d'inhibition de l'activité de ces deux enzymes par la cycloheximide pose le problème du système ribosomal responsable de la synthèse.

En effet la cycloheximide est considérée comme un inhibiteur spécifique de la synthèse des protéines par les ribosomes cytoplasmiques, 80 S, chez les plantes supérieures (Clarck et Chang, 1965 ; Ellis et Mac Donald, 1967). Cette substance a inhibé considérablement l'activité de l'invertase dont la synthèse

TABLEAU XII

Activité de la phosphatase acide, de la RNase et de l'invertase (en pourcentage de celle du témoin), dans des disques de feuilles de G. thurberi soumis à un traitement osmotique et traités préalablement par un inhibiteur de la synthèse protéique.

	Phosphatase	Ribonucléase	Invertase
Chloramphénicol 4 mg/ml	74,0	45,4	127,3
Cycloheximide 10 µg/ml	105,8	104,6	24,9
Témoin, H ₂ O	100,0	100,0	100,0

doit dépendre donc du système ribosomal cytoplasmique. Le chloramphénicol étant un inhibiteur puissant de la synthèse protéique par les ribosomes 70 S chloroplastiques (Linnane et Stewart 1967 ; Ellis, 1968, 1969), on peut conclure que la synthèse protéique responsable par l'augmentation d'activité de la phosphatase acide et de la ribonucléase, dépend de ce système ribosomal.

Pour confirmer le caractère de synthèse de novo de l'activité phosphatasique et ribonucléasique nous avons réalisé des essais de marquage. Dans ces essais deux lots de plantes de G. thurberi âgées de trois mois ont été choisis : l'un conservé comme témoin recevant la solution nutritive normale, l'autre traité par une solution nutritive à potentiel osmotique de -20 j mole^{-1} pendant 24 heures.

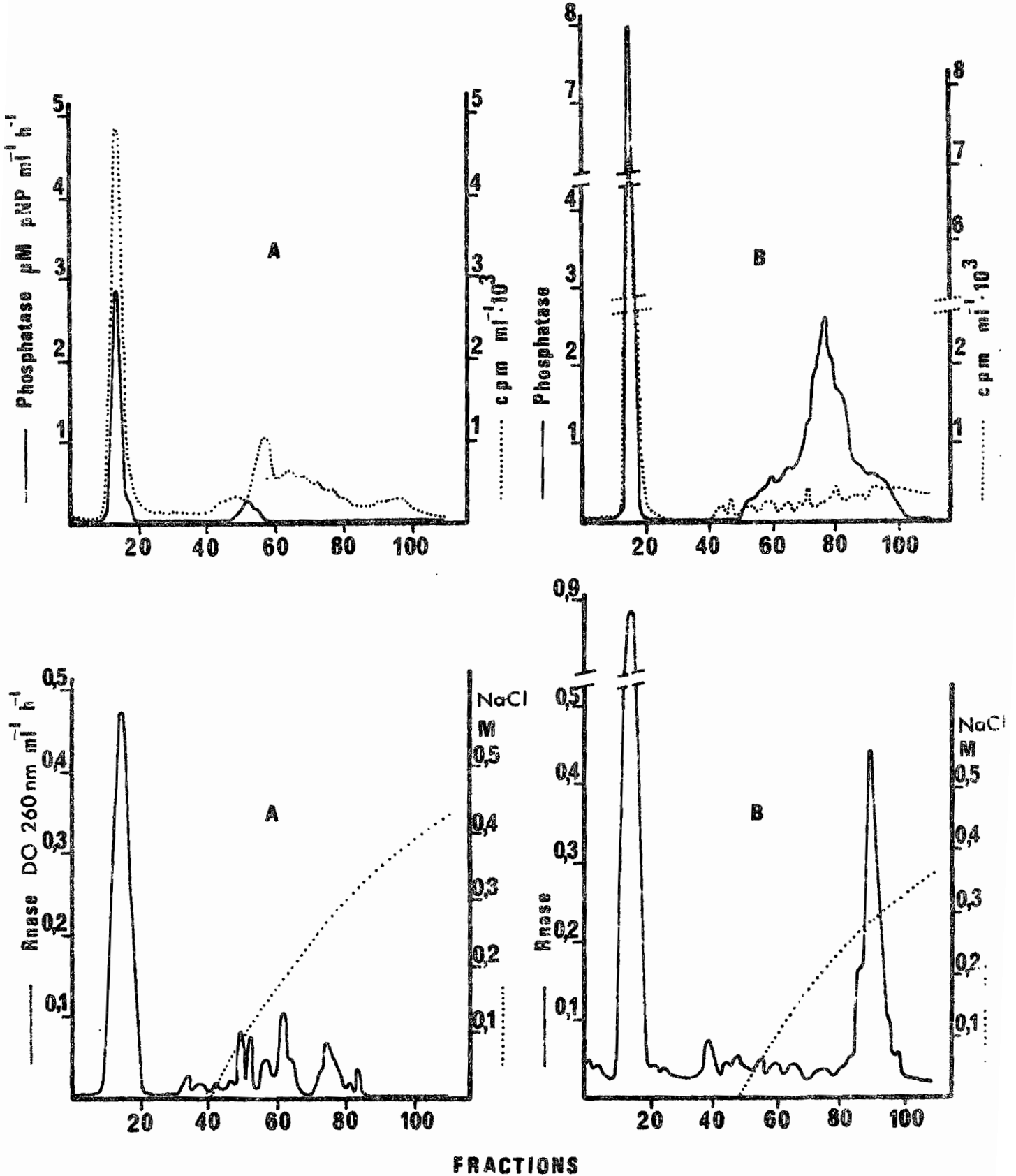


Fig. 41 - Chromatographie sur DEAE - cellulose. *G. thurberi*.
 A) plantes témoins. B) plantes ayant reçu un traitement osmotique de
 - 20 j mole⁻¹ pendant 48 h.

Le marquage des protéines avec la L-leucine (U) ^{14}C et la chromatographie sur DEAE-cellulose ont été pratiqués selon les procédés indiqués dans le chapitre des techniques, l'acide aminé est appliqué au moment du traitement osmotique simultanément dans les plantes traitées et dans les témoins.

Après chromatographie des extraits de protéine foliaire, il a été déterminé, dans chaque fraction récoltée, de 5 ml, la quantité des protéines, la radioactivité et les activités phosphatase acide et ribonucléase.

Dans tous les essais, nous avons obtenu la même distribution qui est illustrée dans la figure 41.

Il est possible de voir sur cette figure que les plantes témoins (Fig. 41 A) donnent un seul pic correspondant à la ribonucléase et à la phosphatase acide. Ces enzymes ne sont pas retenues par le DEAE cellulose. Par contre chez les plantes ayant subi un traitement osmotique (Fig. 41 B) deux nouveaux pics un de phosphatase acide et l'autre de ribonucléase apparaissent, qui, cependant, ne présentent pas de radioactivité.

Ces résultats démontrent que l'augmentation de l'activité totale de la ribonucléase et de la phosphatase acide, qui doit correspondre à ces deux nouveaux pics, n'est pas due à une synthèse de novo. Ceci est en contradiction avec les conclusions de Young et Varner (1959) concernant la phosphatase des cotylédons de germinations de Pois ; de Bagi et Farkas (1966) se rapportant à la ribonucléase dans les feuilles de Tabac endommagées mécaniquement, et de McHale et Dove (1968) qui ont étudié la ribonucléase de feuilles sénescents de Tomate.

Par contre, Presley et Fowden (1965) utilisant l'acide azetidine-2-carboxylique, analogue de la proline, avaient conclu que l'augmentation de l'activité de la phosphatase acide dans des germinations de plusieurs espèces ne correspondait pas à une synthèse de novo mais provenait de la révélation d'un zymogène;

Les résultats de nos expériences avec le chloramphénicol démontrent seulement qu'une protéine est nécessaire à la révélation d'activité enzymatique nouvelle.

Seul le marquage de la protéine enzymatique suivi de sa purification pourrait démontrer sans ambiguïté (Filner et al., 1969) que l'enzyme est néoformée.

Nos expériences n'ont pas pu apporter cette confirmation et, par conséquent, tout au moins pour les nouvelles formes séparées par chromatographie, nous penchons vers l'hypothèse de révélation de zymogènes.

Le métabolisme protéique est associé à l'adaptation des plantes aux changements de milieu. Ainsi McCown et al. (1969) de même que Stutte et Todd (1969) ont montré, par électrophorèse, l'apparition de nouvelles bandes de peroxidase respectivement avec l'endurcissement au froid ou sous l'action de la sécheresse.

La même influence du milieu paraît se retrouver dans le cas de nouvelles formes de phosphatase acide et de ribonucléase dans le cotonnier soumis à la sécheresse.

4) L'effet des retardants de croissance -

Le contrôle possible de la synthèse de certains enzymes hydrolytiques par des substances de croissance (Key, 1969 ; Filner et al., 1969) nous a amené à essayer l'effet du chlorure de (2-chloroethyl) triméthylammonium (CCC) sur l'augmentation de l'activité de la phosphatase acide et de la ribonucléase, après traitement osmotique (Vieira da Silva, 1970).

Certains auteurs (Halevy et Kessler, 1963 ; Plaut et Halevy, 1966) avaient déjà montré que le CCC pouvait améliorer la résistance à la sécheresse des plantes, leur permettant de reprendre croissance plus facilement, après avoir supporté une carence hydrique.

L'effet de ce produit doit être trouvé dans le ~~retardement~~ de la sénescence des tissus jeunes provoquée par la sécheresse (Halevy et al., 1966).

Cathey (1964) admet, d'après les travaux de Kende et al. (1963) que l'effet du CCC est de supprimer la synthèse de gibbérelline endogène, et Barnes et al. (1969) ont confirmé ces travaux et précisé le mode d'action du CCC.

Nous présentons dans le tableau XIII les résultats des expériences réalisées, qui permettent de conclure que si le traitement avec le CCC n'affecte pas l'augmentation de l'activité totale de la phosphatase acide, due au choc osmotique, par contre, dans le cas de la ribonucléase, il la réduit considérablement, l'augmentation n'étant pas statistiquement significative.

Brook et al. (1967) ont aussi montré qu'un autre retardant de croissance, le Phosphon-S diminuait l'activité de la ribonucléase dans les tissus traités et en plus les acides nucléiques de ces tissus étaient plus résistants à l'hydrolyse enzymatique.

Connaissant l'influence de la gibbérelline dans la synthèse des hydrolases (Filner et al., 1969) il serait logique d'admettre que le CCC, agissant sur la synthèse de la gibbérelline endogène, puisse empêcher la synthèse de novo de la ribonucléase. Cependant cet enzyme ne paraît pas être néoformée sous l'effet de la sécheresse, comme nous avons vu précédemment.

La reprise de croissance des plantes traitées avec le CCC, en comparaison avec les témoins, trois semaines après le choc osmotique, peut être apprécié dans la figure 42. Non seulement il n'y a pas eu d'abscission des jeunes feuilles, mais les bourgeons ont débouffé et les plantes ont repris l'aspect normal. Par contre dans les plantes traitées le débouffage des bourgeons a été très lent.

Il a été aussi possible d'observer une grande influence du CCC sur la croissance racinaire des plantes ayant souffert du choc osmotique (figure 43). Ces résultats confirment ceux de Humphries (1968) sur le système racinaire du Blé.

TABLEAU XIII

Influence du CCC appliqué dans la dose de 250 mg par pied, et du traitement osmotique ($- 20 \text{ j mole}^{-1}$) appliqué une semaine plus tard, sur l'activité totale de la ribonucléase et de la phosphatase acide dans G. thurberi.

	Ribonucléase (1)		Phosphatase acide (2)	
	Solution normale	Traitement osmotique	Solution normale	Traitement osmotique
CCC	0,599	0,832	0,742	1,073
témoin	0,458	1,407	0,717	1,004
	ppds : P = 0,05 : \pm 0,368 0,01 : \pm 0,500 0,001 : \pm 0,670		ppds : P = 0,05 : \pm 0,129 0,01 : \pm 0,175 0,001 : \pm 0,237	

(1) Densité optique par mg de protéine par heure

(2) μ M de p Nitrophénol par mg de protéine par heure



Fig. 42 - Influence du CCC sur la résistance à la sécheresse de plantes de G. thurberi.

Trois semaines après un traitement osmotique de - 20 j mole⁻¹ pendant 48 heures.

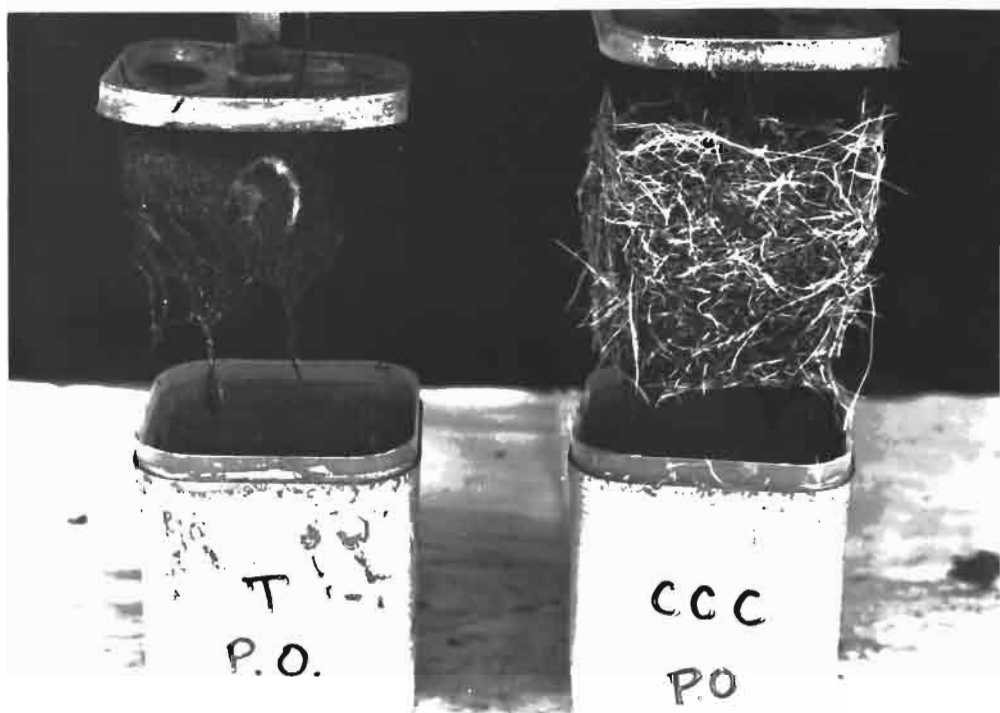


Fig. 43 - Influence du CCC sur la croissance du système racinaire de G. thurberi.

Trois semaines après un traitement osmotique de -20 j mole^{-1} pendant 48 heures.

CCC - 250 mg de CCC par plante

T - témoin

Les racines blanches dans la plante de droite sont les racines néoformées.

Les retardants de croissance et notamment le CCC peuvent donc conférer aux plantes une résistance accrue à la sécheresse, non seulement en évitant la sénescence des tissus, probablement dû à leur action sur la synthèse de la gibbérelline, mais aussi permettant une reprise plus rapide des systèmes racinaire et foliaire après une période de sécheresse.

d) Conclusions

L'activité de la catalase et de certaines hydrolases augmentent avec la sécheresse, chez les espèces sensibles. L'augmentation d'activité de ces dernières enzymes, notamment celle de la ribonucléase et de la phosphatase acide, est suffisante pour expliquer la sénescence accélérée des tissus foliaires desséchés;

Cette augmentation est due en partie à la solubilisation d'enzymes contenues dans des organites, et en partie à une augmentation de l'activité totale qui est la somme de l'activité libre et de l'activité latente.

L'espèce la plus résistante à la sécheresse G. anomalum est celle qui est caractérisée par une solubilisation réduite de la phosphatase acide, solubilisation qui n'est pas affectée par la deshydratation. Par contre chez les espèces et variétés sensibles, la solubilisation de cette enzyme croît avec la diminution de l'hydratation relative des feuilles. L'invertase et l'amylase se comportent de façon différente, la solubilisation de ces enzymes avec le dessèchement ne permettant pas de distinguer les variétés sensibles de celles qui sont résistantes.

Une partie très importante de l'activité latente des enzymes hydrolytiques étudiées, aussi bien que de l'O-diphénol oxydase, se trouve dans la fraction chloroplastique. La sécheresse a comme conséquence de provoquer, chez les espèces sensibles, une diminution de la quantité de protéines dans

cette fraction et une solubilisation de ces enzymes. La résistance protoplasmique à la sécheresse pourrait ainsi être assimilée à la résistance des systèmes membranaires de ces organites.

Le marquage avec la Leucine (U) ^{14}C ne permet pas d'admettre que l'augmentation de l'activité totale soit due à une synthèse de novo. Cependant, les études avec le chloramphénicol paraissent démontrer qu'une synthèse protéique est nécessaire pour la révélation de formes inactives de l'enzyme.

L'enzyme révélée sous l'influence du dessèchement paraît être constituée par une ou plusieurs identités moléculaires différentes, isolées par chromatographie sur DEAE-cellulose (ribonucléase et phosphatase acide).

Le CCC retarde la sénescence des plantes soumises à la sécheresse et facilite la reprise de croissance une fois les conditions normales retrouvées. L'augmentation de l'activité de la ribonucléase provoquée par un choc osmotique est aussi diminuée par le CCC. Par contre cette substance paraît sans effet sur l'activité totale de la phosphatase.

3) LA PLUS GRANDE RESISTANCE A L'HYDROLYSE ENZYMATIQUE.

L'importance de la stabilité des substrats naturels a été soulevée par Kessler et Frank-Tishel (1962). Dans leur étude sur la composition de l'acide ribonucléique chez l'Olivier et le Ligustrum ils ont vérifié que le premier synthétisait, en conditions de sécheresse, des acides nucléiques ayant un rapport $\frac{G + C}{A + U}$ supérieur à celui de l'acide ribonucléique de Ligustrum, plante considérée comme moins résistante. La richesse en paires acide cytidylique - acide guanylique conférerait, par leurs liaisons hydrogène une stabilité thermique plus grande et une résistance accrue à la sécheresse, surtout dans des conditions de température élevée.

Ces auteurs ne relient pas cette nouvelle composition à une résistance à l'hydrolyse, mais un d'eux (Kessler, 1959) avait déjà associé la sécheresse avec l'augmentation de l'activité de la ribonucléase, ce que nous venons de retrouver aussi dans le chapitre précédent.

Le travail de Reddi (1958) démontre cependant que les polynucléotides artificiels, acide polyuridylique et acide polycytidylique présentent une résistance toute différente à l'action de la ribonucléase foliaire de Tabac, le premier étant hydrolysé à une vitesse cinq fois plus grande que la deuxième. La seule richesse en acide cytidylique pourrait donc conférer aux acides nucléiques une résistance accrue à l'action des nucléases. Plus tard Stutte et Tood (1968) montrent que chez le Blé, les rapports $\frac{G + C}{A + U}$ de l'acide ribonucléique augmentaient avec l'accroissement de la sécheresse, ce qui avait déjà été trouvé par West (1962) chez le Mafz. Les résultats de Stutte et Tood (1968) montrent cependant que la variété sensible de Blé essayée donne, sous l'effet d'une sécheresse intense, des rapports $\frac{G + C}{A + U}$ plus élevés que ceux de la variété résistante.

Dans ces conditions on est tenté de penser que les dosages ne révèlent que les polynucléotides limites, l'action de la ribonucléase, agissant de façon plus intensive chez la variété sensible, réduirait les acides ribonucléiques à des résidus résistants à l'action de l'enzyme. En effet les travaux

de Pitout (1967) concernant l'action de la deoxyribonucléase sur l'acide deoxyribonucléique de Maf's, montrent que le polynucléotide limite, résistant à l'hydrolyse, présente un rapport $\frac{G + C}{A + T}$ très élevé.

Chez les microorganismes, Mangiantini et al. (1965) et Stenesh et Holazo (1967) ont montré que les espèces thermophiles présentaient un rapport $\frac{G + C}{A + U}$ de l'acide ribonucléique ribosome plus élevé que celui des mésophiles, et Stenesh et al. (1968) a aussi montré que le pourcentage de G + C était dans l'acide deoxyribonucléique également plus élevé chez des thermophiles que chez les mésophiles.

Les protéines basiques peuvent aussi protéger les acides nucléiques de l'attaque des nucléases (Padayatty et al., 1968).

Ces travaux, encore très fragmentaires, indiquent une direction de recherche que pourra être fructueuse pour l'explication de la diversité dans la résistance aux conditions extrêmes, notamment dans la résistance à la sécheresse. Cette recherche constitue le complément des études sur l'activité des hydrolases.

V - CROISSANCE PRODUCTION ET PHOTOSYNTHESE

1) INTRODUCTION

Les connaissances sur l'influence de la sécheresse sur la photosynthèse et la respiration ont été partiellement passées en revue dans l'introduction.

Les conclusions des différents auteurs sont parfois contradictoires (Gaastra, 1963), ce qui n'est pas étonnant car la photosynthèse, mesurée par l'échange de CO₂ est l'aboutissement de plusieurs phénomènes, depuis les réactions photochimiques jusqu'aux résistances diffusives, en passant par le cycle de fixation du carbone, le transfert plus ou moins important de produits élaborés, et la respiration. Chacun de ces phénomènes peut être affecté par la sécheresse d'une façon ou d'une autre, et l'importance relative de ces effets peut se traduire par des modifications de l'échange de CO₂ dans un sens ou dans un autre. En outre, l'abscission des feuilles comme résultat de l'action de la sécheresse a des conséquences immédiates sur la photosynthèse totale de la plante, et la réduction de la surface foliaire due au ralentissement de la croissance diminue aussi les possibilités d'assimilation.

Chez le cotonnier, Saad (1954 a, b) a étudié le taux photosynthétique de G. barbadense et a vérifié qu'il était maximal entre 8 et 10 heures de la matinée, et il indique que la fermeture des stomates ne serait pas la cause de la diminution ultérieure, en s'appuyant sur le fait que la face adaxiale bien que n'ayant que la moitié du nombre des stomates de la face abaxiale a une intensité photosynthétique réduite seulement de 20 % par rapport à cette dernière ; il pense que la diminution de la photosynthèse est due à la diminution de l'hydratation de la feuille.

Cependant El-Sharkawy et Hesketh (1964 a) ont trouvé que c'était la fermeture des stomates qui contrôlait la photosynthèse dans G. hirsutum (cultivar. Deltapine smoothleaf) et que la surface stomatique risquait même d'être limitative pour des intensités lumineuses élevées. Ils ont vérifié aussi que l'augmentation de température diminuait le rendement photosynthétique de plantes ayant les stomates ouverts sans que la transpiration soit diminuée.

Les travaux de El-Sharkawy et al. (1965) ont montré que le taux d'assimilation était semblable dans 26 espèces et variétés de Gossypium étudiées, et que les différences rencontrées dans l'assimilation totale étaient dues à un développement plus rapide de la surface foliaire lié à un poids de graine plus élevé et par conséquent à des cotylédons plus grands. Muramoto et al. (1965) ont obtenu les mêmes résultats avec des variétés cultivées.

Lemaeva (1957) considère que la sécheresse provoque d'abord une diminution de la photosynthèse liée à une intensification de la respiration; ensuite, lorsque la respiration diminue, on enregistre un accroissement de la production photosynthétique qui dépasse le niveau initial. Stocker (1948) avait appelé ces deux phases : phase de réaction et phase de restitution.

Cependant les travaux récents de Boyer (1965) indiquent que la photosynthèse est surtout dépendante du potentiel hydrique (DPD ou force de succion) tandis que la respiration paraît être liée au potentiel osmotique ou peut être au potentiel de pression.

L'influence des facteurs du milieu sur la photosynthèse du cotonnier a été étudiée par Bierhuizen et Slatyer (1964) en relation avec les résistances externes et internes. Comparant des anti-transpirants, Slatyer et Bierhuizen (1964 a, c) ont vérifié que l'acétate de phényl-mercure était le seul qui à des doses faibles diminuait la transpiration par fermeture des stomates sans diminuer la photosynthèse dans la même proportion, ce qui augmentait l'efficacité de l'eau utilisée par la plante. L'effet de la sécheresse atmosphérique a été étudié par Bierhuizen et Slatyer (1965).

La photosynthèse apparente diminue régulièrement avec l'augmentation de la température de la feuille du cotonnier (Baker, 1965 ; Ludwig *et al.*, 1965) et Troughton et Cowan (1968) ont vérifié que la photosynthèse croît avec la transpiration pour des températures inférieures à 40° C diminuant après pour s'annuler à 51° C. L'influence de l'hydratation sur les échanges gazeux a été étudiée par Troughton (1969).

Le transport de CO₂ de l'air vers les chloroplastes est soumis à une série de résistances. Par analogie avec la loi d'Ohm pour le flux électrique, nous pouvons admettre que la photosynthèse nette, en conditions de lumière saturante et CO₂ limitant (P, en cm³ CO₂ cm⁻² sec⁻¹) est donnée par

$$P = \frac{[\text{CO}_2]_{\text{air}} - [\text{CO}_2]_{\text{chloroplastes}}}{R_a + R_s + R_{\text{mes}}}$$

où [CO₂]_{air} et [CO₂]_{chloroplastes}, représentent respectivement la concentration de CO₂ dans l'air et au voisinage des chloroplastes,

R_a représente la résistance à la diffusion dans la couche limite,

R_s la résistance stomatique (la résistance cuticulaire pour le CO₂ est si grande que, étant en parallèle avec la résistance stomatique, elle peut être négligée)

et R_{mes} la résistance au transfert du CO₂ dans le mésophylle.

Dans le cas considéré par la plupart des auteurs, la limitation de la photosynthèse en lumière saturante, est due au processus de diffusion et il se trouve donc que [CO₂]_{chloroplastes} est nulle et que l'expression antérieure se simplifie (Gaastra, 1959) :

$$P = \frac{[\text{CO}_2]_{\text{air}}}{\sum R}$$

En réalité il s'agit d'une situation limite car la concentration du CO₂ au niveau des chloroplastes risque de ne pas être nulle dans plusieurs circonstances.

En outre, si R_a et R_s sont des résistances bien définies, R_{mes} est une résistance qui englobe plusieurs phénomènes. Nous pensons pouvoir la diviser dans les composantes suivantes :

- a) R_m - résistance proprement dite à la diffusion du CO_2 dans le mésophylle.
- b) R_e - résistance à l'excitation, ce qui englobe non une vraie résistance mais la vitesse de production de produits phosphorylés et du pouvoir réducteur nécessaires à la fixation du CO_2 .
- c) R_c - résistance à la carboxylation. Cette résistance peut être due soit au fonctionnement des enzymes responsables par la fixation du CO_2 , soit à un possible effet de l'accumulation des produits de la photosynthèse sur le processus de carboxylation.
- d) R_r - résistance due à la photorespiration. Il s'agit d'une fausse résistance, plutôt d'une compétition au niveau du chloroplaste entre le CO_2 de l'air et le CO_2 produit par la photorespiration, l'absorption de ce dernier diminuant concomitamment celle du premier.

L'effet des résistances diffusives dans la couche limite et au niveau des stomates a déjà été passé en revue par plusieurs auteurs dont les travaux sont cités dans l'introduction. Il suffit de rappeler ici les résultats obtenus par nous et déjà présentés dans un chapitre antérieur sur les différences dans le point de fermeture des stomates et transpiration totale chez plusieurs variétés de G. hirsutum. Ces différences se traduisent par des périodes plus ou moins longues de résistance stomatique faible ce qui peut avoir pour conséquence, tout autre fait en étant constant, une assimilation de CO_2 pendant une période aussi plus ou moins longue.

Il faut souligner que la résistance stomatique, contrôlée par la fermeture de ces organes, diminue généralement plus la diffusion de la vapeur d'eau que celle du CO_2 (Zelitch, 1967). En effet, les réductions de transpiration

observées par Shimshi (1969) sur des cotonniers cultivés en plein champ, n'étaient pas accompagnées par des réductions de photosynthèse. En outre Troughton et Cowan (1968) avaient observé que chez des cotonniers présentant une transpiration cyclique et en conditions de température élevée, une diminution et même une annulation de l'absorption de CO_2 , pour des transpirations toujours croissantes. Ceci montre l'intérêt des études sur les phénomènes habituellement groupés sous le terme générique de résistance du mésophylle.

2) INFLUENCE DE LA SECHERESSE SUR LES REACTIONS PHOTOCHIMIQUES.

L'effet de la sécheresse sur les réactions photochimiques est encore mal connu. Tandis que Todd et Basler (1965) n'ont pas trouvé d'influence de la sécheresse sur la réaction de Hill chez le Blé, Nir et Poljakoff-Mayber (1967), Santarius et Ernst (1967), Santarius et Heber (1967) et Santarius (1967, 1969) ont vérifié que la dessiccation diminuait non seulement la réaction de Hill mais aussi la photophosphorylation.

Il avait déjà été vu dans le chapitre précédent que la sécheresse peut solubiliser les hydrolases des structures cellulaires, et contribuer à l'augmentation de leur activité totale. L'effet néfaste de certaines hydrolases sur l'appareil photosynthétique a déjà été observé par Bamberger et Park (1966) et par Constantopoulos et Kenyon (1968).

Les réducteurs de croissance diminuent l'activité d'une des hydrolases, la ribonucléase (Brook et al., 1967 ; Vieira da Silva, 1970a) et retardent la sénescence des tissus végétaux (Halevy et al., 1966), augmentant la résistance à la sécheresse des plantes (Halevy et Kesser, 1963 ; Plaut et Halevy, 1966 ; Vieira da Silva, 1970a).

Ces considérations nous ont conduit à étudier l'effet de la sécheresse provoquée par un choc osmotique sur la réaction de Hill et la photophosphorylation cyclique de chloroplastes de Cotonnier, et à vérifier l'action du CCC en présence du traitement osmotique.

a) Méthode expérimentale -

1) Traitement osmotique et chimique - Le traitement a consisté à ajouter du CCC à raison de 250 mg par plante dans la solution nutritive de Hoagland servant à cultiver des Cotonniers (G. hirsutum variété HAR 444.2 et G. thurberi) âgés de 3 mois. Deux semaines après l'addition de CCC, quatre plantes subissaient un traitement osmotique de -20 joules mole⁻¹ par addition de polyéthylène glycol 600 (PEG 600) à la solution nutritive et quatre autres plantes continuaient à recevoir la solution normale. Ce même traitement était appliqué à 8 plantes n'ayant pas reçu de CCC.

2) Réaction de Hill - De la quatrième feuille à partir de l'apex, un échantillon de 3,5 g est prélevé 24 heures et 48 heures après le début du traitement osmotique et broyé à 5° C, avec un peu de sable, dans un mortier refroidi, en présence de 100 ml d'un mélange contenant : Tampon Tris 0,05 M de pH 7,8 ; saccharose 0,4 M ; NaCl 0,01 M ; cystéine 5 mM ; 2-mercaptoéthanol 5 mM ; acide ascorbique 0,5 mM ; carbowax 4000 0,6 % ; polyvinylpyrrolidone (PVP) 0,2 % et serum albumine de boeuf (SAB) 0,2 %. Le broyat est ensuite filtré sur 2 couches de gaze et les débris enlevés par une centrifugation à 200 x g pendant 2 minutes. Les chloroplastes sont ensuite séparés par centrifugation à 1000 x g pendant 10 minutes, lavés et remis en suspension dans un milieu contenant du tampon Tris 0,05 M de pH 7,8, du ClNa 0,01 M, du saccharose 0,4 M, du PVP 0,2 % et du SAB 0,2 %.

La réaction de Hill est mesurée à l'aide de Ferricyanure de potassium dans un volume de 3 ml contenant : Tris-HCl, pH 7,8, 40 µ moles ; NaCl, 70 µ moles ; Mg Cl₂, 12 µ moles ; Na K phosphate pH 7,8, 12 µ moles ; K₃ Fe (CN)₆, 1,5 µ moles. La suspension de chloroplastes utilisée contenait 50 µg de chlorophylle, déterminée par la méthode d'Arnon (1949). La réaction se poursuit dans un bain thermostaté à 20° C, sous une illumination de 50 000 lux, pendant 5 minutes, et est arrêtée par l'addition de 0,3 ml d'acide trichloroacétique à 30 %. Après centrifugation, le ferrocyanure de potassium est dosé dans le surchargeant avec l'O-phénanthroline, selon la méthode d'Avron et Shavit (1963).

3) Photophosphorylation cyclique

Aucun traitement au CCC n'a été effectué dans ces expériences. Le broyage et la séparation des chloroplastes furent réalisés dans les mêmes conditions que pour la réaction de Hill, si ce n'est la présence d'acide ascorbique à la concentration de 0,02 M dans le milieu de broyage. Le mélange réactionnel contenait (dans 3 ml) : Tris-HCl, pH 7,8, 45 μ moles ; NaCl, 60 μ moles ; MgCl₂, 12 μ moles ; NaK phosphate, pH 7,8, 12 μ moles ; ADP, 12 μ moles ; phenazine méthosulphate, 0,09 μ moles et une suspension de chloroplastes correspondant à 30 μ g de chlorophylle. Au mélange était ajoutée une quantité de ³²P suffisante pour permettre de compter entre 5.10⁴ et 5.10⁵ c. p. m. dans les 3 ml.

Les conditions d'illumination étaient les mêmes que pour la réaction de Hill, mais l'incubation se faisait pendant 15 minutes à 20° C, et la réaction était alors arrêtée par l'addition de 0,3 ml d'acide Trichloroacétique à 20 %. Après centrifugation, l'ATP formé était séparé et déterminé par la modification d'Avron (1960), de la technique de Nielsen et Lehninger (1955).

b) Résultats et discussion -

Les valeurs de l'activité "Hill", obtenues après 24 h de traitement osmotique sont plus faibles pour G. hirsutum que pour G. thurberi (tableau XIV, fig. 44). Après 48 heures, les pourcentages de réduction sont identiques pour les deux espèces : les pieds traités au CCC montrent l'intensité de la réaction de Hill à un niveau plus élevé que celui des témoins, pour lesquels les valeurs n'atteignent que 20 % de l'activité normale. Ces résultats confirment que, pour le Cotonnier, la sécheresse, indépendamment de son action sur la photosynthèse, par la fermeture des stomates, peut aussi affecter la réaction de Hill.

L'action du CCC qui se traduit ici par une conservation de la réaction de Hill en conditions de sécheresse est, peut être, liée à son rôle dans le contrôle de la synthèse de l'acide gibbérellique endogène (Barnes et al., 1969),

TABLEAU XIV

Influence d'un traitement osmotique ($- 20 \text{ j mole}^{-1}$) et du CCC (250 mg par plante) sur la réaction de Hill dans deux espèces de Cotonnier (en μ Moles de Ferrocyanure par mg de chlorophylle et par heure).

		Période après le traitement osmotique			
		24 heures		48 heures	
		<u>G. hirsutum</u>	<u>G. thurberi</u>	<u>G. hirsutum</u>	<u>G. thurberi</u>
Témoin	Traitement osmotique	208,6	223,6	28,8	54,8
	Solution normale	312,5	255,5	134,4	243,3
CCC	Traitement osmotique	200,2	185,6	88,8	135,4
	Solution normale	334,0	193,5	165,4	268,4

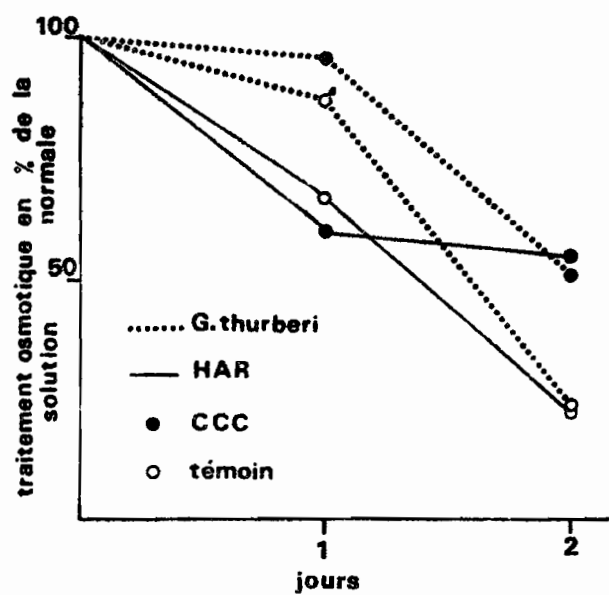


Fig. 44 - Réduction de la réaction de Hill. Traitement osmotique ($- 20 \text{ joules mole}^{-1}$), en pourcentage des valeurs des plantes cultivées dans une solution nutritive normale. En abscisse, jours après l'initiation du traitement osmotique.

celui-ci pouvant être impliqué dans la régulation de l'activité hydrolytique pour beaucoup de tissus végétaux (Filner et al., 1969).

Le traitement osmotique provoque également une dépression de la photophosphorylation cyclique (tableau XV). Ceci confirme les résultats des auteurs précédemment cités, qui avaient trouvé aussi une diminution de la photophosphorylation avec la dessiccation. A l'appui de ces données, Heber (1967) a montré que la deshydratation par le gel détériore les membranes chloroplastiques et découple la photophosphorylation.

3) INFLUENCE DE LA SECHERESSE SUR LA RESISTANCE A LA CARBOXYLATION

Dans le chapitre sur la variation de l'activité enzymatique nous avons constaté que la fraction chloroplastique se vide en grande partie de ses protéines sous l'action de la sécheresse. Une partie considérable des protéines solubles des chloroplastes est constituée par la fraction I (Wildman et Bonner, 1947). Cette fraction présente une activité ribulosediphosphate carboxylase (EC 4. 1. 1. 39) (Ricley et al., 1967); ces auteurs ont aussi vérifié que la fraction I était plus facilement libérée des chloroplastes que la fraction II. Il paraît donc probable que cette perte d'une partie de l'équipement enzymatique sous l'action de la sécheresse soit néfaste au rendement de la carboxylation, par perte totale ou partielle des enzymes nécessaires. En outre, l'hypothèse émise par Boussingault (1868) selon laquelle, "l'accumulation des produits de l'assimilation dans une feuille illuminée peut être responsable de la réduction du taux de photosynthèse nette dans cette feuille", a reçu depuis confirmation par les expériences de plusieurs auteurs (voir Neales et Incoll, 1968) même si certains résultats trouvés dans la littérature paraissent contradictoires.

TABLEAU XV

Influence d'un traitement osmotique ($- 20 \text{ j mole}^{-1}$) sur la photophosphorylation cyclique chez G. thurberi (48 heures après le traitement).

	Série I		Série II	
	a	b	a	b
Traitement osmotique	175,0	57,8	110,9	40,6
Témoin	302,8	100,0	273,3	100,0

a) μ Moles ATP par mg de chlorophylle et par heure

b) pourcentage du témoin

Nos expériences sur le Cotonnier (Vieira da Silva, 1968 c) ont montré une accumulation des sucres solubles dans les feuilles avec la sécheresse. Les études faites en utilisant le saccharose ^{14}C (tableau VI) indiquent de plus que non seulement la sécheresse du milieu racinaire mais surtout la sécheresse de l'air ont une importance considérable dans l'exportation des glucides des feuilles.

Il peut se concevoir qu'un des effets de la sécheresse sur la résistance dite diffusive du mésophylle est celui qui résulte de l'accumulation de glucides dans les feuilles.

Toutefois les effets de périodes courtes de sécheresse sont évidemment très différents : Troughton et Slatyer (1969) ont pu ainsi vérifier que la diffusion du CO_2 dans la phase liquide n'était pas affectée dans ce cas, ce qui indiquait une résistance du mésophylle constante. L'importance des effets biochimiques ne devient sensible que si la sécheresse se prolonge.

4) INFLUENCE DE LA SECHERESSE SUR LA PHOTORESPIRATION

L'action de la photorespiration sur le résultat net de la photosynthèse est très grande (Lake, 1967 a et b; Zelitch, 1967). Troughton et Slatyer (1969) ont montré que le Cotonnier est une des plantes qui présentent cette intensification de la respiration à la lumière. Dans ces conditions, l'augmentation de température de la feuille due à la fermeture hydroactive des stomates et diminution de la transpiration, déjà observée par Eaton et Belden (1929) et par Pallas et Harris (1964), et confirmée sur des plantes de Cotonnier en transpiration cyclique par Ehrler et al. (1965) peut avoir comme conséquence une diminution considérable de la photosynthèse.

5) INFLUENCE DE LA SECHERESSE SUR LA TENEUR EN CHLOROPHYLLE

Un dernier aspect de l'influence de la sécheresse sur la photosynthèse est celui étudié par Virgin (1965) qui a vérifié que même des déficits hydriques très réduits diminuaient le taux de formation de protochlorophylle et que cette inhibition était réversible.

6) INFLUENCE DE LA SECHERESSE SUR LA CROISSANCE

Une expérience, déjà citée dans le chapitre précédent, a porté sur cinq variétés de G. hirsutum et sur le G. anomalum, soumises, à partir d'un mois d'âge, à cinq cycles de dessèchement du sol, ou arrosées tous les jours jusqu'à la capacité au champ.

Le taux moyen de croissance (TC) en hauteur (h), donné par l'expression :

$$TC = \frac{h_2 - h_1}{h_1 (t_2 - t_1)} \times 100$$

a été calculé pour toutes les plantes, d'abord entre le deuxième et troisième cycles d'assèchement (10 jours) et ensuite entre le troisième et cinquième cycles (18 jours). Le nombre de feuilles produites pendant ces deux périodes a été enregistré. A la récolte, trois jours après le 5ème cycle, ont été également déterminés : - la matière sèche de la troisième feuille utilisée pour l'estimation de l'hydratation relative (Hewlett et Kramer, 1963); - la surface foliaire totale mesurée par une méthode photométrique (Bonzon, 1964), corrigée des feuilles récoltées pour analyse; - la matière sèche totale par plante; - et le rapport en matière sèche entre partie aérienne et partie souterraine.

Les résultats (tableau XVI) montrent un effet considérable de la sécheresse sur le taux de croissance en hauteur pendant la première période mesurée en ce qui concerne les variétés de l'espèce sensible G. hirsutum ;

TABLEAU XVI

Influence de cinq cycles d'assèchement du sol sur les caractéristiques de six variétés de Cotonnier

		Taux de croissance en hauteur (% par jour)		Hydratation relative (%) 3ème feuille	Matière sèche (g)	Surface foliaire totale (dm ²)	Matière sèche 3ème feuille (mg)	Feuilles produites par plante		Rapport partie aérienne racines	
		première période	deuxième période					première période	deuxième période		
<i>G. anomalum</i>	témoin	5,72	6,57	92,0	5,78	8,09	172	3,50	6,50	4,71	
	sécheresse	3,52	3,24	59,4	1,49	2,29	74	1,25	4,20	5,57	
<i>G. hirsutum</i>	Allen	témoin	3,32	1,85	80,2	7,87	5,85	318	4,50	3,20	4,31
		sécheresse	0,73	1,37	54,8	2,31	2,33	165	0,25	3,50	4,34
	HAR 444.2	témoin	4,15	1,51	85,0	6,87	5,10	267	3,50	2,50	4,48
		sécheresse	1,36	1,47	50,4	2,28	2,26	130	0,00	4,50	4,62
	ATH 555.7	témoin	3,18	1,94	84,0	7,85	6,31	378	2,00	6,50	3,77
		sécheresse	0,83	1,24	55,5	2,21	1,82	161	0,00	3,00	4,14
	race <u>punctatum</u>	témoin	3,69	3,95	85,4	8,00	8,26	354	3,25	4,50	3,85
		sécheresse	0,83	1,71	52,8	1,91	2,26	140	0,25	4,00	3,60
	B J A	témoin	4,12	1,67	85,8	7,70	5,96	362	2,25	4,00	4,08
		sécheresse	0,98	2,12	58,4	2,16	2,28	219	0,50	2,00	3,76
p. p. a. s.	P = 0,05 :	+ 1,08	+ 0,91	+ 8,1	+ 1,82	+ 2,30	+ 59				
	0,01 :	+ 1,46	+ 1,23	+ 10,9	+ 2,43	+ 3,11	+ 80				
	0,001 :	+ 1,93	+ 1,54	+ 14,5	+ 3,25	+ 4,12	+ 106				

par contre, G. anomalum, résistant, présente une réduction beaucoup moins importante. Pendant la deuxième période les plantes sensibles montrent une reprise de croissance due à l'adaptation ("hardening") sous l'effet de l'assèchement et leur TC est de même ordre de grandeur que celui des témoins. Il faut noter cependant que la fructification étant plus précoce chez ces derniers, la croissance en hauteur est de ce fait ralentie. La race punctatum, qui a une floraison plus tardive, ne montre pas ce ralentissement de croissance chez les plantes arrosées. Le même phénomène d'adaptation se retrouve dans le nombre de feuilles produites pendant la première et deuxième périodes mesurées.

La sécheresse diminue considérablement la surface de la troisième feuille et la surface foliaire totale, aussi bien chez l'espèce résistante que chez les variétés sensibles, et diminue aussi le poids sec total de la plante. Cependant le rapport partie aérienne-partie souterraine ne paraît pas être sensiblement affecté par la sécheresse, dans les conditions de l'expérience (les plantes étant cultivées en pots de dimensions assez réduites de 800 ml de capacité).

Si l'on considère le nombre total de feuilles produites et le pourcentage d'abscission, on note (tableau XVII) que la sécheresse diminue dans tous les cas le nombre total de feuilles produites et double le pourcentage d'abscission foliaire;

L'influence de la sécheresse sur le rendement en matière sèche, par rapport à la surface foliaire est différent suivant les variétés. La réduction de la production de matière sèche par rapport à la surface foliaire, sous l'effet de la sécheresse, décroît avec l'augmentation de la solubilisation de la phosphatase acide, mesurée dans les mêmes pieds (fig. 45). Cela n'est dû, ni à une meilleure conservation de l'eau, car toutes les espèces ont été amenées, dans chaque cycle, à un flétrissement total et à une hydratation également réduite (tableau XVI), ni à une différence dans le taux d'abscission foliaire puisque celui-ci est sensiblement toujours le même (tableau XVII).

TABLEAU XVII

Feuilles produites par plante et pourcentage d'abscission foliaire

		Feuilles produites par plante		% Abscission	
		témoin	sécheresse	témoin	sécheresse
<u>G. anomalum</u>		23,00	18,00	22,8	45,8
<u>G. hirsutum</u>	Allen	18,75	12,50	21,3	42,0
	HAR 444.2	17,75	13,75	19,7	43,6
	ATH 555.7	17,00	10,75	17,6	41,9
	race <u>punctatum</u>	16,75	13,00	20,9	34,6
	BJA	16,00	10,00	23,4	42,5

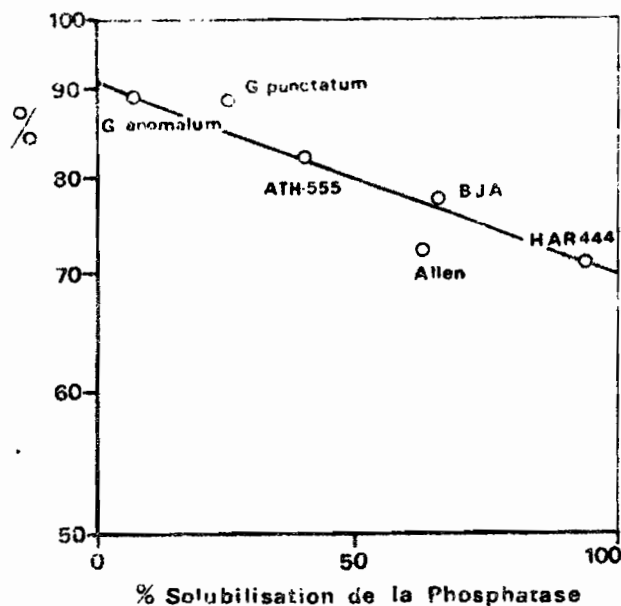


Fig. 45 - Influence de la sécheresse sur la production de matière sèche par unité de surface foliaire. Corrélation avec la solubilisation de la phosphatase acide (en abscisses). En ordonnées le rapport matière sèche/surface foliaire des "traitements secs" en pourcentage du même rapport chez les témoins.

La solubilisation des enzymes hydrolytiques, ici la phosphatase acide, serait donc responsable de la moindre efficacité photosynthétique chez les plantes sensibles : cette hypothèse est conforme aux expériences déjà citées de Bamberger et Park (1966) et de Constantopoulos et Kenyon (1968).

VI - RESUME ET DISCUSSION FINALE

Les espèces et variétés cultivées de Cotonnier sont, d'une manière générale, très sensibles à la carence hydrique, la sélection des caractères intéressants du point de vue agronomique, tels que la floraison précoce et la fructification groupée, leur ayant fait perdre l'adaptation à un milieu sec. Les espèces sauvages de Gossypium se rencontrent naturellement dans des habitats arides : leur étude montre qu'elles constituent des cas typiques de résistance à la sécheresse. Pour cette raison, la comparaison d'espèces cultivées et d'espèces sauvages permettait donc l'étude fondamentale de divers aspects de ce problème général.

En premier lieu, afin de préciser les critères choisis pour évaluer la résistance et en étudier les mécanismes, nous avons proposé une classification qui tient compte de la grande diversité des réactions possibles (fig. 1). Dans cette classification il est admis que les plantes peuvent varier dans l'"aptitude à éviter la déshydratation", ou dans l'"aptitude à supporter la déshydratation", ou même présenter ces deux types de résistance à la sécheresse.

Par le fait que chez le Cotonnier il n'existe pas d'espèces ou variétés capables d'échapper à la sécheresse par le biais d'un cycle végétatif très court, notre étude a porté, quant à l'"aptitude à éviter la déshydratation", essentiellement sur les mécanismes qui permettent de se procurer d'importantes quantités d'eau et d'en réduire les pertes :

L'absorption d'eau

1 - Nous avons pu vérifier que certains cotonniers sauvages pérennes possèdent un système racinaire beaucoup plus développé que celui des variétés cultivées de G. hirsutum. Cependant des greffons d'espèces sauvages induisent la transformation des systèmes racinaires des variétés cultivées en systèmes identiques à ceux des espèces sauvages. Cette influence considérable de la partie aérienne se trouve aussi dans l'effet, dépressif dans ce cas, des fruits en voie de formation sur l'absorption racinaire, une fructification précoce et peu étalée dans le temps paraissant exclure le développement d'un système racinaire puissant.

2 - Une réduction considérable du potentiel hydrique dans la plante peut améliorer l'alimentation en eau en créant des conditions favorables à l'absorption. Cependant, dans le genre Gossypium, nous avons vérifié que les espèces les plus résistantes à la sécheresse ne présentent pas, au cours du dessèchement, une diminution du potentiel hydrique dans les feuilles plus importante que chez les espèces sensibles : ce mécanisme ne joue donc pas un rôle primordial dans la résistance à la sécheresse chez les cotonniers.

3 - Par contre nos études semblent confirmer l'absorption foliaire d'eau par les Cotonniers, ce qui est un avantage écologique important dans certaines zones arides, habitats de beaucoup d'espèces sauvages ; ce phénomène explique la croissance aisée de cette plante dans certaines parties de la côte Atlantique de l'Afrique Australe et de la côte Pacifique de l'Amérique du Sud, régions arides mais à brouillards fréquents.

La réduction des pertes d'eau

1 - Parmi les divers mécanismes permettant la réduction des pertes d'eau le premier indiqué dans notre classification fait défaut puisque le genre Gossypium ne comporte pas d'espèces aphyllées ni microphyllées.

2 - L'abscission foliaire est au contraire un phénomène général chez les cotonniers, dans des conditions de forte sécheresse : ce processus paraît avoir une importance plus grande chez certaines espèces comme le G. thurberi.

3 - L'action des mouvements stomatiques et la résistance cuticulaire représentent un autre système de régulation des pertes d'eau : son efficacité varie non seulement avec l'espèce, mais aussi avec les variétés à l'intérieur d'une même espèce (G. hirsutum). Dans ce dernier cas, nous avons vérifié que la fermeture hydroactive des stomates s'effectue pour des déficits hydriques qui varient de 40 à 20 %, cette dernière valeur étant celle d'une des lignées les plus résistantes. Les différences entre les diverses lignées sont moins grandes pour la transpiration maximale avec les stomates ouverts que pour la transpiration cuticulaire. Le rapport entre les taux de transpiration stomatique et cuticulaire reste toujours plus élevé chez les lignées résistantes à la sécheresse que chez les sensibles.

o

o o

Les espèces du genre Gossypium sont très différentes dans leur "aptitude à supporter la déshydratation". Cette aptitude a été étudiée surtout sous l'angle des processus biochimiques. L'action destructrice du manque d'eau semble liée notamment à une intensification de l'activité hydrolytique dans la cellule. Cette intensification est due, en partie à la solubilisation d'enzymes contenues dans des organites cellulaires, et en partie à l'augmentation de l'activité totale de ces enzymes (qui est la somme de l'activité libre et de l'activité latente). Dans toutes les plantes sensibles (comme le G. thurberi) le pourcentage de solubilisation des enzymes hydrolytiques, notamment de la phosphatase acide, augmente sous l'action de la sécheresse ; la solubilisation peut même être totale pour des déficits hydriques proches du déficit léthal. Par contre chez les plantes résistantes (comme le G. anomalum) presque toute l'activité hydrolytique reste latente dans les organites cellulaires quelque soit le déficit hydrique.

Parmi ces enzymes hydrolytiques notre étude a porté sur : phosphatase acide (EC 3.1.3.2.), ribonucléase (EC 2.7.7.17), amylases α (EC 3.2.1.1.) et β (EC 3.2.1.2) et invertase (EC 3.2.1.26) - La phosphatase acide est concentrée dans la fraction riche en chloroplastes et elle se solubilise en même temps que les protéines solubles de cette fraction, sous l'effet du dessèchement des tissus.

- La ribonucléase se rencontre également dans la fraction lourde, et en partie dans les noyaux. Elle se solubilise sous l'action de la sécheresse de façon semblable à celle de la phosphatase acide même si sa localisation cellulaire ne paraît pas être entièrement la même.

- L'invertase, les amylases et la phosphatase acide sont des enzymes localisées en grande partie dans la fraction chloroplastique. Cependant, tandis que pour la phosphatase acide et pour la ribonucléase, la solubilisation élevée constitue un critère de sensibilité à la déshydratation, il n'en est pas de même de la solubilisation des autres enzymes par l'effet de la sécheresse.

La sécheresse provoque ainsi, chez les plantes sensibles, une diminution de la quantité de protéines dans la fraction lourde, riche en chloroplastes et une solubilisation des enzymes hydrolytiques contenues dans cette fraction. Cette solubilisation d'enzymes, comme la ribonucléase et la phosphatase acide, serait suivie d'effets destructifs dans la cellule. Ceci est à rapprocher d'un possible effet lysosomal, même si nous n'avons pas pu identifier d'organites semblables aux lysosomes.

Il paraît raisonnable d'admettre qu'au moins pour une grande part la résistance protoplasmique à la dessiccation peut être assimilée à la résistance des systèmes membranaires, notamment de ceux des chloroplastes.

Alors que le mécanisme de la solubilisation paraît relativement facile à comprendre par l'action du dessèchement sur les structures cellulaires, celui de l'augmentation de l'activité totale est encore mal connu.

Dans le cas de la phosphatase acide et de la ribonucléase, l'activité totale, c'est-à-dire, l'activité enzymatique obtenue dans le surnageant après une solubilisation complète sous l'action d'un détergent, peut augmenter dans les conditions de sécheresse. On remarque chez les espèces résistantes, comme le G. anomalum, une augmentation de l'activité totale inférieure à celle des espèces sensibles, comme G. thurberi.

L'étude de l'effet d'inhibiteur de la synthèse de l'ARN (D-actinomycine) et de la synthèse des protéines par le système ribosomal chloroplastique (chloramphénicol) ou cytoplasmique (cycloheximide), montre que l'augmentation de l'activité totale ne dépend pas d'une synthèse préalable d'ARN et que pour la phosphatase acide et la ribonucléase elle paraît dépendre d'une synthèse protéique par le système ribosomal chloroplastique, tandis que pour l'invertase cette synthèse dépendait du système ribosomal cytoplasmique.

Le marquage des protéines néoformées à la L-leucine ^{14}C ne se retrouve pas chez les deux nouvelles formes de phosphatase acide et ribonucléase qui apparaissent en conditions de sécheresse. Nous admettons ainsi que l'augmentation de l'activité totale, tout au moins pour ces deux enzymes, est due à l'activation de zymogènes.

Les altérations biochimiques constatées peuvent aussi être envisagées par leurs conséquences sur l'activité photosynthétique, l'activité de la sécheresse sur la photosynthèse ne devant pas être limitée aux conséquences des mouvements stomatiques. En effet, nous avons observé, sous l'action de la sécheresse, en plus de la perte de protéine soluble des chloroplastes, la solubilisation des enzymes hydrolytiques, et l'accumulation des glucides solubles dans les feuilles, ce qui peut affecter la photosynthèse. Nous avons vérifié que non seulement la réaction de Hill, mais aussi la photophosphorylation cyclique, étaient réduites par la sécheresse. Dans le premier cas, un réducteur de croissance le CCC, qui augmente aussi la résistance à la sécheresse des cotonniers, exerce un effet protecteur dont le mécanisme n'est pas connu mais qui peut être en liaison avec son influence sur les enzymes hydrolytiques, notamment sur l'activité ribonucléasique.

D'une façon plus générale, il est possible de mettre en évidence le rôle très important de ces hydrolases : nous avons en effet constaté que la production de matière sèche par unité de surface foliaire était plus réduite par la sécheresse dans le cas des lignées présentant une solubilisation élevée de la phosphatase acide, que chez les autres lignées.

2) DISCUSSION FINALE

La distinction entre formes sensibles et résistantes dans le genre Gossypium est donc très nette tant sur les plans morphologique et écologique que sous l'angle biochimique. Nos études ont ainsi permis de mettre en évidence dans ce genre plusieurs types de résistance à la sécheresse. L'importance relative de chacun de ces types peut être très différente selon l'espèce ou variété considérée et c'est du jeu de ces diverses réponses que résulte la capacité d'adaptation à un climat aride donné, cette adaptation pouvant donc être le résultat final de combinaisons très variées.

L'étendue du problème est cependant telle que de nombreux points sont encore à élucider : en effet pour certains aspects des mécanismes de résistance à la sécheresse le présent travail ne conduit en fait qu'à déplacer les problèmes.

Ainsi le contrôle du développement du système racinaire est mal connu et on ignore toujours les raisons de l'effet dépressif exercé par la fructification sur la croissance des racines et sur leur absorption, mesurée par l'exsudation au collet. Il est cependant vraisemblable qu'il s'agit d'un effet de substances de croissance.

De même les mécanismes stomatiques ne sont pas entièrement expliqués (Zelitch, 1969) et on ne peut encore que constater les différences d'hydratation relative des feuilles, au moment de la fermeture stomatique, entre les diverses lignées étudiées.

Le potentiel hydrique foliaire diminue avec la dessiccation des feuilles. Mais cette diminution ne paraît pas avantager les plantes, car si une absorption accrue d'eau peut être admise, les effets destructifs de cette diminution de potentiel sur la physiologie cellulaire paraissent les plus importants.

La sécheresse est aussi, du point de vue de la physiologie cellulaire, une agression ayant certaines similitudes avec le gel qui conduit à la formation de glace extracellulaire (Mazar, 1969). Son action sur les membranes peut expliquer la libération des enzymes hydrolytiques, la sénescence et l'abscission (Abeles et al., 1968). Une fois de plus le problème est déplacé car les plantes qui supportent la déshydratation ont des structures cellulaires plus résistantes. Cependant dans l'état actuel de la recherche nous ne connaissons pas la nature de cette résistance qui est probablement liée aux protéines de structure (Criddle, 1969) ou à l'effet protecteur de certaines substances sur les macromolécules.

D'autre part la régulation de la synthèse ou de la révélation des enzymes hydrolytiques paraît être dépendante de substances de croissance (Osborne, 1968), notamment de l'acide gibbérellique. Il est intéressant de constater que l'action des réducteurs de croissance, comme le CCC, augmente non seulement la résistance à la sécheresse, comme nous l'avons vérifié, mais aussi la résistance au gel (Alleweldt, 1969); ceci paraît confirmer la similitude de réactions au gel et à la sécheresse, même si les renseignements sur la nature de ces réactions font défaut.

Bien que cette étude laisse subsister beaucoup d'inconnues et que dans presque tous les domaines envisagés de nouvelles voies restent encore à explorer, nous pensons avoir apporté notre contribution aux connaissances actuelles sur les effets de la sécheresse chez les plantes supérieures et les types d'adaptation possibles.

Sur un plan pratique, l'accroissement des informations concernant les mécanismes de résistance contribuera certainement un jour, par croisement, sélection ou intervention directe dans la physiologie de la plante, à obtenir des formes mieux adaptées aux milieux secs.

VII - BIBLIOGRAPHIE

- ABELES, F. B., HOLM, R. E. et GARAGAN, H. E., 1968 - Abscission: induction of degradative enzymes during aging. In: Wightman, F. et Setterfield, G. (ed.) Biochemistry and Physiology of Plant Growth substances, 1515-1523.
- ALEXANDER, A. G., 1965 - Induction of varying sugar levels in leaves of immature sugarcane by use of acid phosphatase inhibitors. J. Agr. Univ. Puerto Rico, 40, 35-50
- ALLEWELDT, G., 1969 - Die Physiologie der Frostresistenz. Agr. Meteorol., 6, 97-110.
- ALVIM, P. T., 1956 - La posibilidad de reconocer la necesidad de riego en maiz, algodón y caña de azúcar por medición de la apertura de los estomas. Agronomía, Escuela Nacional de Agricultura, Lima, Perú, 23, 7-17.
- AMEMIYA, H., NAMKEN, L. N. et GERARD, C. J., 1963 - Soil water depletion by irrigated cotton as influenced by water regime and stage of plant development. Agron. J., 55, 376-379.
- APPLEGATE, G. H., 1960 - Freezing-Point depressions of Hoagland's "carb Wax" systems. Nature, 186, 232-233.
- ARNON, D. I., 1949 - Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in Beta vulgaris. Plant Physiol., 24, 1-15.
- ASHWELL, G., 1957 - Colorimetric Analysis of Sugars. In: Colowick, S. P. et Kaplan, N. O. (ed.). Methods in Enzymology, 3, 85-86.
- AVETISJAN, A. D. et SMBATJAN, M. S., 1962 - Wilting of cotton plants in relation to the water system of the soil and the plant. Bull. Acad. Sci. Armenian SSR, 15, 59.
- AVRON, M., 1960 - Photophosphorylation by Swiss-Chard Chloroplasts. Biochim. Biophys. Acta, 40, 257-272.
- AVRON, M. et SHAVIT, N., 1963 - A sensitive and simple method for determination of Ferrocyanide. Anal. Bioch., 6, 549-554.
- AYAD, S. R., BONSALL, R. W. et HUNT, S., 1968 - A simple method for the production of accurate linear gradients using a constant-speed peristaltic pump. Analyt. Bioch., 22, 533-535.
- BAGI, G. et FARKAS, G. L., 1967 - On the nature of increase in ribonuclease activity in mechanically damaged tobacco leaf tissues. Phytochemistry, 6, 161-169.

- BAILEY, J. L. et WHYBORN, A. G., 1963 - The osmiophilic globules of chloroplasts. II. Globules of the spinach-beet chloroplast. Biochim. Biophys. Acta, 78, 163-174.
- BAKER, D. N., 1965 - Effect of certain environmental factors on net assimilation in cotton. Crop. Sci., 5, 53-56.
- BALLS, W. L., 1919 - The cotton plant in Egypt. McMillan, London.
- BALLS, W. L., 1951 - Below soil level. Emp. Cott. Gr. Rev., 27, 81.
- BALLS, W. L., 1953 - The yields of a crop. E. & F. N. Spon Limited.
- BALZ, H. P., 1966 - Intrazelluläre lokalisation und funktion von hydrolytischen enzymen bei tabak. Planta (Berl.), 70, 207-236.
- BAMBERGER, E. S. et PARK, R. B., 1966 - Effect of hydrolytic enzymes on the photosynthetic efficiencies and morphology of chloroplasts. Plant Physiol., 41, 1591-1600.
- BARNES, M. F., LIGHT, E. N. et LANG, A., 1969 - The action of plant growth retardants on terpenoid biosynthesis. Planta (Berl.), 88, 172-182.
- BARRS, H. O. et WEATHERLEY, P. E., 1962 - A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficits in leaves. Austral. J. Biol. Sci., 15, 413-428.
- BARTON, R., 1966 - Fine structure of Mesophyll cells in Senescing leaves of Phaseolus. Planta (Berl.), 71, 314-325.
- BEAUFAY, H., JACQUES, P., BAUDHUIN, P., SELLINGER, O. Z., BERTHELET, J. et DE DUVE, C., 1964 - Tissue Fractionation studies. 18. Resolution 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.
- BEN-ZIONI, A., ITAI, C. et VAADIA, Y., 1967 - Water and salt stresses, kinetin and protein synthesis in Tobacco leaves. Plant Physiol., 42, 361-365.
- BERNFELD, P., 1955 - Amylases, α and β . In: Colowick, S. P. et Kaplan, N. O. (ed.), Methods in Enzymology, I, 149-150.
- BIELORAI, H., 1968 - Estimation of the osmotic potential of citrus seedling leaf sap at different soil-moisture levels by means of refractometry and conductimetry. Ann. Bot., 32, 473-477.
- BIERHUIZEN, J. F. et SLATYER, R. O., 1964 - Photosynthesis of cotton leaves under a range of environmental conditions in relation to internal and external diffusive resistances. Aust. J. Biol. Sci., 17, 348-359.
- BIERHUIZEN, J. F. et SLATYER, R. O., 1965 - Effect of atmospheric concentrations of water vapor and CO₂ in determining transpiration-photosynthesis relationships of cotton leaves. Agr. Meteorol., 2, 259-270.

- BONZON, B., 1964 - Description et mode d'utilisation d'un appareil de mesure photoélectrique des surfaces végétales. Fruits (Paris), 19, 577-581.
- BOUGHEY, A. S., 1944 - Physiological cotton wilt in the Sudan Gezira. Ann. Appl. Biol., 31, 12-18.
- BOUSSINGAULT, J. B., 1868 - Agronomie, Chimie Agricole et Physiologie. Mallet Bachelier, Paris, 1860-1874, 236-312.
- BOYER, J. S., 1965 - Effects of water stress on metabolic rates of cotton plants with open stomates. Plant Physiol., 40, 229-234.
- BOYER, J. S., 1967 - Leaf water control measured with a pressure chamber. Plant Physiol., 42, 133-137.
- BOYER, J. S., 1969 - Measurement of the water status of plants. Ann. Rev. Plant Phys., 20, 351-364.
- BRANDES, D. et BERTINI, F., 1964 - Role of golgi apparatus in the formation of cytolysomes. Exper. Cell Res., 35, 194-217.
- BRAUD, M., 1967 - La nutrition minérale du cotonnier en culture sans sol. Coton et Fibr. Trop., 22, 339-356.
- BREAZEALE, E. L., McGEORGE, W. T. et BREAZEALE, J. F., 1950 - Moisture absorption by plants from an atmosphere of high humidity. Plant Physiol., 25, 413-419.
- BREAZEALE, E. L., McGEORGE, W. T. et BREAZEALE, J. F., 1951 - Water absorption and transpiration by leaves. Soil Sci., 72, 239-244.
- BREAZEALE, E. L. et McGEORGE, W. T., 1953 - Exudation pressure in roots of tomato plants under humid conditions. Soil Sci., 75, 293-298.
- BRIGGS, G. E., 1967 - Movement of water in Plants. Blackwell Scientific Publication, Oxford.
- BROOK, J., WEST, S. H. et ANTHONY, D. S., 1967 - Effects of Phosphon-S on Nucleic Acid metabolism in Pisum sativum Alaska. Plant Physiol., 42, 785-790.
- BROWN, C. H., 1955 - Egyptian cotton. Leonard Hill Ltd., London.
- BROWN, C. H., 1959 - Cotton growing in Israel. Emp. Cott. Gr. Rev., 36, 1-4.
- BROWN, C. H., 1961 - Cotton and water use in Israel. World Crops, 13, 139.
- BROWN, H. B., 1938 - Cotton. McGraw-Hill Book Company New York.
- BUNZEL, H. H., 1914 - A simplified and inexpensive oxidase apparatus. Jour. Biol. Chem., 17, 409.
- BUTLER, R. D., 1967 - The fine structure of senescing cotyledons of cucumber. J. Exp. Bot., 18, 535-543.

- CANEFORT, H., 1964 - Evolution de la structure des plastes pendant la maturation de l'arille de l'If (Taxus baccata L.). C. R. Acad. Sci. (Paris), 258, 1017-1020.
- CANNON, W. A., 1925 - Experimental studies on roots. Yearbook, Carneg. Inst. Washington, 24, 289-298.
- CATHEY, H. M., 1964 - Physiology of Growth retarding Chemicals. Annu. Rev. Plant Physiol., 15, 271-302.
- CAVALERI, P. A. et INFORZATO, R., 1956 - Estudo do sistema radicular do algodoeiro nos três principais tipos de solo do Estado de São Paulo. Bragantia, 15, 337-346.
- CHEVALIER, A., 1933 - Le Gossypium anomalum Wawra et Peyr est-il un Cotonnier ou un Cienfuegosia? Rev. Gen. Bot. App. Agr. Trop. 13, 190-195.
- CIVINSKI, V. N., 1934 - (Drought resistance and earliness in cotton). Sredaz NIHI, Moscow and Tashkent, 102.
- CLARK, J. M. Jr. et CHANG, A. Y., 1965 - Inhibitors of the transfer of amino acids from aminoacyl soluble ribonucleic acid to proteins. J. Biol. Chem., 240, 4734-4739.
- CLELAND, W. W., 1964 - Dithiothreitol, a new protective reagent for SH groups. Biochemistry, 3, 480-482.
- CLEMENTS, F. E., 1902 - A system of nomenclature for phytogeography. Engler's Botan. Jahrb., 31b, 70.
- CLOWER, K. N. et PATRICK, W. H., 1965 - Soil moisture extraction and physiological wilting of cotton. La. Agr. Exp. Sta. Bull. n° 598.
- COGNEE, M., 1968 - Considérations sur l'abscission des organes fructifères du cotonnier. Coton Fibres Trop., 23, 315-336.
- COLLINGS, G. H. et WARNER, J. D., 1927 - Root development of cotton on cecil sandy loam. J. Amer. Soc. Agron., 19, 839-842.
- 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.
- COUPER, A. et ELEY, D. D., 1948 - Surface tension of Polyoxyethylene Glycol solutions. J. Polymer Sci., 3, 345-349.
- CRAFTS, A. S., CURRIER, H. B. et STOCKING, C. R., 1949 - Water in the physiology of plants. Waltham, Mass. Chronica Botanica Co.

- CRIDDLE, R. S., 1969 - Structural protein of chloroplasts and mitochondria. Annu. Rev. Physiol., 20, 239-252.
- CROWTHER, F., 1934 - Studies on growth analysis of the cotton plant under irrigation in the Sudan. I. Ann. Bot., Lond., 48, 877-913.
- DAINTY, J., 1963 - Water relations of plant cells. Advances in Botanical Research, 1, 279-326.
- DALE, J. E., 1958 - Stomatal physiology. Emp. Cott. Gr. Corp., Progress reports from exp. stations, Uganda, season 1957-58 (Namulonge), 32-33.
- DALE, J. E., 1959 - Stomatal behavior and cotton leaf physiology. Emp. Cott. Gr. Corp., Progress reports from exp. station Uganda, season 1958-59 (Namulonge), 46-50.
- DALE, J. E., 1961 - Investigation into the stomatal physiology of upland cotton. I. The effect of hour of day, solar radiation, temperature and leaf water-content on stomatal behaviour. Ann. Bot. N. S., 25, 39.
- DANGEARD, P. A., 1919 - Cytologie - Sur la distinction du chondriome des auteurs en vacuome, plastidome et sphérome. C. R. Acad. Sci. (Paris), 169, 1005-1010.
- DASTUR, R. H., 1925 - The relation between water content and photosynthesis. Ann. Bot., 39, 769.
- DE DUVE, C., 1963/64 - The separation and characterization of subcellular particles. The Harvey Lectures series 59, 49-87.
- DE DUVE, C. et BAUDHUIN, P., 1966, - Peroxisomes (Microbodies and related particles). Physiol. Rev., 46, 323-357.
- DE DUVE, C., BERTHET, J. et BEAUFAY, H., 1959 - Gradient centrifugation of cell particles theory and applications. Progr. Bioph. Biophysical Chem., 9, 325-369.
- DE DUVE, C. et WATTIAUX, R., 1966 - Functions of Lysosomes. Annu. Rev. Physiol 28, 435-492.
- DE OLIVEIRA, J.G. B. et PRISCO, J. T., 1967 - Transpiração e balanço hidrico de plantas da Catinga. Bol. Soc. Cear. Agron., 8, 41-66.
- DOVE, L. D., 1967 - Ribonuclease activity of stressed tomato leaflets. Plant Physiol., 42, 1176-1178.
- EATON, F. M., 1930 - Cell-sap concentration and transpiration as related to age and development of cotton leaves. J. Agr. Research, 40, 791-803.

- EATON, F. M., 1931 a - Early defloration as a method of increasing cotton yields and the relation of fruitfulness to fiber and boll characters. Jour. Agr. Research, 42, 447-462.
- EATON, F. M., 1931 b - Root development as related to character of growth and fruitfulness of the cotton plant. J. Agr. Research, 43, 875-883.
- EATON, F. M., 1955 - Physiology of the cotton plant. Ann. Rev. of Plant Physiol., 6, 299-328.
- EATON, F. M. et BELDEN, G. O., 1929 - Leaf temperatures of cotton and their relation to transpiration, varietal differences and yields. US Dept. Agr. Tech. Bull., 91.
- EATON, F. M. et JOHAM, H. E., 1944 - Sugar move ents to the roots, mineral uptake and the growth cycle of the cotton plant. Plant Physiol., 19, 506-517.
- EATON, F. M. et RIGLER, N. E., 1945 - Effect of light intensity, nitrogen supply and fruiting on carbohydrate utilization by the cotton plant. Plant Physiol., 20, 380-410.
- EHLIG, C. F. et GARDNER, W. R., 1964 - Relationship between transpiration and the internal water relations of plants. Agron. Jour., 56, 127-130.
- EHRLER, W. L., NAKAYAMA, F. S. et VAN BAVEL, C. H. M., 1965 - Cyclic changes in water balance and transpiration of cotton leaves in a steady environment. Physiol. Plant, 18, 766-774.
- ELLIS, R. J., 1968 - Stereospecificity of chloramphenicol inhibition of chloroplast ribosomes. Biochem. J., 110, 42.
- ELLIS, R. J., 1969 - Chloroplast ribosomes: Stereospecificity of inhibition by chloramphenicol. Science, 163, 477-478.
- ELLIS, R. J. et MacDONALD, I. R., 1967 - Activation of Protein synthesis by microsomes from aging beet disks. Plant Physiol., 42, 1297-1302.
- EL-SHARKAWY et HESKETH, J. D., 1964 a - Effects of temperature and water deficit on leaf Photosynthetic rates of different species. Crop Sci., 4, 514-518.
- EL-SHARKAWY et HESKETH, J. D., 1964 b - Effect of stomatal differences among species on leaf photosynthesis. Crop Sci., 4, 619-621.
- EL-SHARKAWY, M., HESKETH, J. et MURAMOTO, H., 1965 - Leaf Photosynthetic rates and other growth characteristics among 26 species of Gossypium. Crop Sci., 5, 173-175.

- ERMOSHENKO, M. A., 1951 - Influence de l'altération mécanique du système racinaire du Cotonnier sur son activité physiologique. Inst. Agric. Acad. Sci. R.S.S., Ouzbek, Tashkent.
- EVENARI, M., 1953 - The water balance of plants in desert conditions. Desert Res. Symp. Jerusalem, 1952, 266-274.
- FARKAS, G. L. et RAJHATHY, T., 1955 - Untersuchungen über die xeromorphischen Gradienten einiger Kulturpflanzen. Planta (Berl.), 45, 535-548.
- FILIPOV, L. A., 1954 - The physiological basis of the time for irrigating cotton. Izv. Timiryazev. s. kk. Akad., 2, 129-136.
- FILIPOV, L. A., 1959 a - Concentration of leaf cell-sap as a physiological index of water supply in the Cotton plant. Fiziologia Rastenii, 6, 82-85.
- FILIPOV, L. A., 1959 b - An appraisal of the effect of several factors in the transpiration pull of cotton leaves. Fiziol. Rastenii, 6, 489-492.
- FILIPPOVICH, I. I., SPANDAR'YAN, O. A., SVETAILO, P. N et SISAQYAN, N. M., 1967 - State of ribosomes in chloroplasts. Dok. Akad. Nauk SSSR, 172, 1214-1217.
- FILNER, P., WRAY, J. L. et VARNER, J. E., 1969 - Enzyme induction in higher plants. Science, 165, 358-367.
- FRANCO, C. M. et MAGALHAES, A. C., 1963 - Inconveniente do método das pesagens rápidas para a medida da transpiração. Phyton, 20, 87-96.
- FREDERICK, S. E. et NEWCOMB, E. H., 1969 - Microbody-like organelles in leaf cells. Science, 163, 1353-1355.
- FREEMAN, K. B. et HALDAR, D., 1968 - The inhibition of mammalian mitochondrial NADH oxidation by chloramphenicol and its isomers and analogues. Can. J. Biochem., 46, 1003-1008.
- FREY-WYSSLING, V. A., 1965 - Vergleichende Organellographie. Experientia, 21, 681-744.
- FREY-WYSSLING, A., GRIESHABER, E. et MUHLETHALER, K., 1963 - Origin of spherosomes in Plants cells. J. Ultrastructure Res., 8, 506-516.
- GAASTRA, P., 1959 - Photosynthesis of crop plants as influenced by light, carbon dioxide, temperature and stomatal diffusion resistance. Mededel. Landbouwhogeschool, Wagenigen, 59, 1-68.

- GAASTRA, P., 1963 - Climatic control of Photosynthesis and respiration. In: L. T. Evans (ed.) Environmental control of Plant Growth, 113-140. Academic Press.
- GADKARI, P. D., 1964 - Further studies in stomata frequencies of cotyledonary leaves of Indian cottons. Indian Cott. Gr. Rev., 18, 222-247.
- GADKARI, P. D. et SAINI, A. D., 1957 - Observations on the stomata frequency in Indian cottons. Indian Cott. Gr. Rev., 11, 16.
- GAFF, D. F. et CARR, D. J., 1964 - An examination of the refractometric method for determining the water potential of plant tissue. Ann. Bot. N. S., 28, 351-368.
- GAHAN, P. B., 1965 - Histochemical evidence for the presence of lysosome-like particles in root meristem cells of Vicia faba. J. exp. Bot., 16, 350-355.
- GARDNER, W. R., 1960 - Dynamic aspects of water availability to plants. Soil Sci. 89, 63-73.
- GATES, C. T. et BONNER, J., 1959 - The response of the young tomato plant to a brief period of water shortage. IV: Effects of water stress on the ribonucleic acid metabolism of tomato leaves. Plant Physiol. 34, 49-55.
- GENKEL, P. A., 1961 - Drought resistance in plants: methods of recognition and of intensification. Unesco: Echanges hydriques des plantes en milieu aride et semi-aride. XVI, 167-174.
- GENCKEL, P. A., 1964 - Physiology of Plants under drought. Ann. Rev. Plant Phys. 15, 363-386.
- GONZALEZ, F., OLLACARIZQUETA, M. A. et GONZALEZ, C., 1966 - Relations entre le potentiel hydrique du sol et celui des feuilles chez le maïs. Oecol. Plant. I. 63, 78.
- GOOD, N. E., WINGET, G. D., WINTER, W. et CONWOLLY, T. N., 1966 Hydrogen ion buffers for biological research. Biochemistry, 5, 467-477.
- GOODE, J. E. et HEGARTY, T. W., 1965 - Measurement of water potential of leaves by methods involving immersion in sucrose solutions. Nature, 206, 109-110.
- GREENWAY, H. et HILLER, R. G., 1967. Effects of low water potentials on respiration and on glucose and acetate uptake by Chlorella pyrenoidosa. Planta (Berl.), 75, 253-274.
- GREENWAY, H., HILLER, R. G. et FLOWERS, T., 1968 - Respiratory inhibition in chlorella produced by "Purified" polyethylene glycol 1540. Science, 159, 984-985.

- GREENWOOD, A. D., LEECH, R. M. et WILLIAMS, J. P., 1963 - The osmiophilic globules as a normal component of chloroplasts and their isolation and composition in Vicia faba L. Biochim. Biophys. Acta., 78, 148-162.
- GUMAROVA, K. F., 1957, - (Changes in the suction power of leaves of the cotton plant and its fertility in connexion with the salinity and water regime of the soil.) Institute of Plant genetics and physiology, Ac. of Sc. of Uzbek SSR, n° 1, 47-73.
- HADZIYEV, D., MEHTA, S. L. et ZALIK, S., 1969 - Nucleic acids and ribonucleases of wheat leaves and chloroplasts, Canad. J. Biochem., 47, 273-282.
- HAINES, F. M., 1952 - The absorption of water by leaves in an atmosphere of high humidity. J. of Exper. Bot., 3, 95.
- HALEVY, A. H., DILLEY, D. R. et WITTEWER, S. H., 1966 - Senescence inhibition and respiration induced by growth retardants and N⁶-benzyladenine. Plant Physiol. 41, 1085-1089.
- HALEVY, A. H. et KESSLER, B., 1963 - Increased tolerance of Bean plants to soil drought by means of growth-retarding substances. Nature, 197, 310-311.
- HARRIS, J. A., HOFFMAN, W. J., SINCLAIR, W. R., JOHNSON, A. H. et EVANS, R. D., 1926 - The leaf-tissue fluids of Egyptian cottons. Jour. Agr. Res., 31, 1027-1033.
- HARRIS, J. A., LAWRENCE, Z. W., HOFFMAN, W. J., LAWRENCE, J. V., VALENTINE, A. T., 1924 - The tissue fluids of Egyptian and Upland cottons and their F₁ hybrid. Jour Agr. Res., 27, 267-328.
- HAWKINS, R. S., 1927 - Variations of water and dry matter in the leaves of Pima and Acala cotton. Un. Ariz. Agr. Exp. Bull., 17, 419-444.
- HEBER, U., 1967 - Freezing injury and uncoupling of phosphorylation from electron transport in chloroplasts. Plant Physiol. 42, 1343-1350.
- HEWITT, E. J., 1952 - Sand and water culture methods used in the study of plant nutrition. Commonwealth Agricultural Bureaux, Farnham Royal, Bucks.
- HEWLETT, J. D. et KRAMER, P. J., 1963 - The measurement of water deficits in broadleaf plants. Protoplasma, 57, 381-391.
- HOFLEER, F., MIGSCH, H. et ROTTENBURG, W., 1941 - Über die Austrocknung resistenz landwirtschaftlicher Kulturpflanzen Forschungsdienst, 12, 50.

- HOROWITZ, M., 1959 - La culture du cotonnier en Israel. Cot. Fibr. Trop., 14, 331-339.
- HUBARD, J. W. et HERBERT, F. W., 1933 - Root development of cotton plants in the San Joaquin Valley of California. U. S. Depart. of Agric. circ., 262.
- HUMPHRIES, E. C., 1968 - The beneficial effect of CCC on wheat yields in dry conditions. Euphytica, 17, 275-279.
- HUTCHINSON, J. B., 1938 - Discussion sur la communication de J. K. Mayo: "Ratooning as a factor in cotton-growing in areas with restricted growing season". Empire Cotton Growing corporation. Third Conference on Cotton Growing Problems, 39.
- HUTCHINSON, J. B., 1959 - The application of genetics to cotton improvement. Cambridge University Press, Cambridge.
- HUTCHINSON, J. B., SILOW, R. A et STEPHENS, S. G., 1947 - The evolution of Gossypium. Oxford Univ. Press, London.
- HYGEN, G., 1951 - Studies in Plant transpiration. I. Physiol. Plant. 4, 57-181.
- HYGEN, G., 1953 - Studies in Plant transpiration. II. Physiol. Plant., 6, 106-133.
- ILJIN, W. S., 1930 - Di Ursachen der Resistenz von Pflanzenzellen gegen Austrocknen. Protoplasma, 10, 379-414.
- ILJIN, W. S., 1933 - Uber Absterben der Pflanzengewebe durch Austrocknung und ihre Bewahrung vor dem Trockentode. Protoplasma, 19, 414.
- ILJIN, W. S., 1935 - Die Lebensfähigkeit der Pflanzenzellen in Trockenem Zustand. Planta (Berl.) 24, 742-754.
- ILJIN, W. S., 1952 - Influencia de la se uia sobre algunos de los procesos fisiologicos de las plantas. Rev. Fac. Ing. Maracay, 1 (1).
- ILJIN, W. S., 1953 - Causes of death of plants as a consequence of loss of water: conservation of life in desicated tissues. Bull. Torrey bot. Cl., 80, 166-177.
- ILJIN, W. S., 1957 - Drought resistance in plants and physiological processes. Annu. Rev. Plant Phys. 8, 257-274.
- JACKS, T. J. et YATSU, L. Y., 1967 - Association of lysosomal activity with aleurone grains in plant seeds. Fed. Proc., 26, 454.
- JACKS, T. J., YATSU, L. Y. et ALTSCHUL, A. M., 1967 - Isolation and characterization of Pean spherosomes. Plant Physiol., 42, 585-597.

- JANES, B. E., 1961 - Use of polyethylene glycol solvent to increase the osmotic pressure of nutrient solutions in studies on the physiology of water in plants. Plant Physiol., 36, xxiv.
- JANES, B. E., 1966 - Adjustment mechanisms of plants subjected to varied osmotic pressures of nutrient solution. Soil Sci., 101, 180-188.
- JARVIS, P. G. et JARVIS, M. S., 1963 - The water relations of tree seedlings. IV. Some aspects of the tissue water relations and drought resistance. Physiol. Plant., 16, 501-516.
- JOSHI, M. C., BOYER, J. S. et KRAMER, P. J., 1965 - Growth, carbon dioxide exchange, transpiration, and transpiration ratio of Pineapple. Botan. Gaz., 126, 174-179.
- KAMAT, V. B. et WALLACH, D. F. H., 1965 - Separation and partial purification of plasma-membrane fragments from Ehrlich Ascites Carcinoma microsomes. Science, 148, 1343-1345.
- KAMMACHER, P., 1966 - Etude des relations génétiques et cytologiques entre génomes voisins du genre Gossypium. Cot. Fib. Trop., 21, 263-289; 357-283.
- KAMMACHER, P., 1967 - Etude des relations génétiques et cytologiques entre génomes voisins du genre Gossypium. Cot. Fib. Trop., 22, 205-223; 307-338.
- KAMMACHER, P., 1968 - Emploi des hybrides d'espèces dans l'amélioration du Cotonnier. Cot. Fib. Trop., 23, 207-211.
- KEARNEY, T. H. et SHANTZ, H. L., 1911 - The water economy of dry land crops. U.S. Dept. Agr. Yearbook (1911), 351-361.
- KENDE, H., MINNEMANN, H. et LANG, A., 1963 - Inhibition of gibberellic acid biosynthesis in Fusarium moniliforme by AMO-1618 and CCC. Naturwissenschaften, 50, 599-600.
- KERR, C. T. et ANDERSON, D. B., 1944 - Osmotic quantities in growing cotton bolls. Plant Physiol., 19, 338-349.
- KESSLER, B., 1959 - Nucleic acids as factors in drought resistance of higher plants. Intern. Botan. Cong. Montreal, 2, 1153-1159.
- KESSLER, B. et FRANK-TISHEL, J., 1962 - Dehydration-induced synthesis of nucleic acids and changing of composition of ribonucleic acid: a possible protective reaction in drought-resistant plants. Nature, 196, 542-543.
- KEY, J. L., 1969 - Hormones and nucleic acid metabolism. Annu. Rev. Plant Physiol., 20, 449-474.

- KILLIAN, Ch., 1942 - Bromus rubens, L. Contribution à l'étude des plantes annuelles xérophytiques du désert. Bull. Soc. Bot. Suisse, 52, 215-238.
- KILLIAN, Ch., 1951 - Mesures écologiques sur des végétaux-types du Fouta Djallon (Guinée Française) et sur leur milieu en saison sèche. Bull. Inst. franç. Afr. noire, 13, 601-681.
- KILLIAN, Ch. et LEMEE, G., 1956 - Les xérophytes: leur économie d'eau. In: W. Ruhland (ed.), Encyclopedia of Plant Physiology, 3, 787-824.
- KING, C. J., 1922 - Water-stress behavior of Pima cotton in Arizona. U. S. Dept. Agr. Bull., n°. 1018.
- KISAKI, T. et TOLBERT, W. E., 1969 - Glycolate and Glyoxylate Metabolism by isolated peroxisomes or chloroplasts. Plant Physiol., 44, 242-250.
- KLEPPER, B. et BARRS, H. D., 1968 - Effects of salt secretion on psychrometric determinations of water potential of cotton leaves. Plant Physiol. 43, 1138-1140.
- KNIPLING, E. B. et KRAMER, P. J., 1967 - Comparison of the Dye Method with the thermocouple psychrometer for measuring leaf water potentials. Plant Physiol. 42, 1315-1320.
- KOZLOWSKI, T. T., 1964 - Water metabolism in plants. Harper & Row, New York.
- KOZLOWSKI, T. T. (ed.), 1968 - Water deficits and plant growth. I. Development, control, and measurement. II. Plant water consumption and response. Academic Press, New York.
- KRAMER, P. J., 1955 - Bound water. In: W. Ruhland (ed.), Encyclopedia of Plant Physiol. 1, 223-242.
- KRAMER, P. J., 1963 - Water stress and plant growth. Agron. J., 55, 31-35.
- KRANTZ, B. A., SWANSON, W. P., STOCKINGER, K. R. et CARREUER, R., 1955 - Irrigating cotton to insure higher yields. U.S.D.A. Yearbook of Agriculture, 381-388.
- KRAPIVINA, A. T., 1963 - Irrigation of cotton according to leaf suction pressure. Fiziol. Rast., 10, 87-91.
- KURSANOV, A. L., 1940 - (L'effet reversible des enzymes dans la cellule végétale vivante). Moscou et Leningrad, Acad.Sc.
- KURSANOV, A. L., 1946 - (L'adsorption des enzymes par les tissus des plantes supérieures). Biokhimiya, 11, 333-348.
- KURSANOV, A. L., 1956 - Recent advances in plant physiology in the U.S.S.R. Annu. Rev. Plant Phys. 7, 401-436.

- KURSANOV, A. L. et BROVCHENCO, M. I., 1961 - Effect of ATP on the entry of assimilates into the conducting system of sugar beets. Fiziol. Rast. 8, 211-217.
- LABOURIAU, L. G., VALIC, I. F. M., MAGALHAES, A. C. et FRANCO, C. M., 1964 - Nota sobre a abertura estomatica noturna em plantas dos Cerrados. An. Acad. Bras. Cienc., 36, 465-477.
- LAETSCH, W. M., STETLER, D. A. et VLITOS, A., 1966 - The ultra-structure of sugar cane chloroplasts. Z. Pflanzenphysiol., 54, 472-474.
- LAGERWERFF, J. V., OGATA, G. et EAGLE, H. E., 1961 - Control of osmotic pressure of culture solutions with polyethylene Glycol. Science, 133, 1486-1487.
- LAKE, J. V., 1967 a - Respiration of leaves during photosynthesis. I. Estimates from an electrical analogue. Aust. J. Biol. Sci., 20, 487-493.
- LAKE, J. V., 1967 b - Respiration of leaves during photosynthesis. II. Effects on the estimation of mesophyll resistance. Aust. J. Biol. Sci., 20, 493-499.
- LEA, J. D., 1963 - Depth and rate of root penetration of some annual tropical crops. Trop. Agric., 38, 93.
- LEECH, R. M., 1964 - The isolation of structurally intact chloroplasts. Biochim. Biophys. Acta. 72, 637-639.
- LEECH, R. M., 1968 - The chloroplast inside and outside the cell. In: Pridham, J. B. (ed.). Plant Cell Organelles, 137-162.
- LEMAEVA, A. M., 1957 - (The connexion of the photosynthesis with the water relations of the cotton plant), Moscou, Univer. Publ., 97-98.
- LEMEE, G., 1953 - Contribution à l'étude écologique de la végétation des confins saharo-marocains. Désert Res., Res. Council. Israel, 302-306.
- LEMEE, G. et GONZALEZ, G., 1965 - Comparaison de méthodes de mesure du potentiel hydrique (tension de succion, DPD) dans les feuilles par équilibre osmotique et par équilibre de pression vapeur. Unesco, Recherches sur la zone Aride. 25, 361-368.
- LEVITT, J., 1951 - Frost, drought and heat resistance. Annu. Rev. Plant Physiol., 2, 245-268.
- LEVITT, J., 1956 - The hardiness of plants. Academic Press, New York.
- LEVITT, J., 1958 - Frost, drought and heat resistance. In: L. v. Heilbrunn; F. Weber (eds.), Protoplasmatologia, 7, 6.
- LEVITT, J., 1959 - The influence of dehydration on the cytoplasm and the bound water theory. Recent Adv. Bot., 2, 1149-51.

- LEVITT, J., 1963 - Hardiness and the survival of extremes: A uniform system for measuring resistance and its two components. In: T. Evans (ed.), Environmental control of Plant Growth, 351-363. Academic Press, New York.
- LEVITT, J., 1965 - The measurement of drought resistance. Unesco, Recherches sur la Zone Aride, 25, 407-412.
- LEVITT, J., SULLIVAN, C. Y. et KRULL, E., 1960 - Some problems in drought resistance. Bull. Res. Council. Israel, 8D, 173-180.
- LICHTENTHALER, H. K. et SPREY, B., 1966 - Uber die osmiophilen globulären lipideinschlüsse der chloroplasten. Z. Naturforschg., 216, 690-697.
- 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.
- LINFANE, A. W. et STEWART, P. R., 1967 - The inhibition of chlorophyll formation in Euglena by antibiotics which inhibit bacterial mitochondrial protein synthesis. Biochem. Biophys. Res. Commun., 27, 511-516.
- LOOMIS, W. D. et BATTLE, J., 1968 - Plant phenolic compounds and the isolation of plant enzymes. Phytochemistry, 5, 423-438.
- LOUIE, D. S. Jr., 1963 - Studies on abscission. I. Auxin in the physiology of abscission. II. Water relations and the defoliability of cotton. Dissert. Abstr. USA, 24, 1822.
- LOWRY, O. H., ROSEBROUGH, N. J., FARR, A. L. et RANDALL, R.J., 1951 - Protein measurements with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem., 193, 265-275.
- LUDWIG, L. S., SAEKI, T. et EVANS, L. T., 1965 - Photosynthesis and artificial communities of cotton plants in relation to leaf area. I. Experiments with progressive defoliation of mature plants. Austr. J. Biol. Sci. 18, 1103-1118.
- MACH, O. et LACKO, L., 1968 - Density gradient in a Dextran Medium. Anal. Biochem., 22, 393-397.
- MACKLON, A. E. S. et WEATHERLEY, P. E., 1965 a - A vapour-pressure instrument for the measurement of leaf and soil water potential. J. Exp. Bot., 16, 261-270.
- MACKLON, A. E. S. et WEATHERLEY, P. E., 1965 b - Controlled environment studies of the nature and origins of water deficiency in plants. New Phyt., 64, 414-427.

- MAGALHAES, A. C., FUZATTO, M. G., GRIDI-PAPP, I. L. et SCHMIDT, W., 1962 - Desenvolvimento do sistema radicular do algodo-eiro na camada aravel do solo. Bragantia, 21, 21-30.
- MANGIANTINI, M. T., TECE, G., TOSCHI, G. et TRENTALANCE, A., 1965 - A study of ribosomes and of ribonucleic acid from a thermophilic organism. Biochim. Biophys. Acta, 103, 252-274.
- MATHERS, A. C. et WELCH, M. H., 1964 - Pans in the southern Great Plains soils. II. Effect of duration of radial root restriction on cotton growth and yield. Aeron. J., 56, 313-315.
- MATILE, Ph., 1966 - Enzyme der wakuolen aus wurzelzellen von maiskeimlingen. Ein beitrag zur funktionellen bedeutung der vakuole bei der intrazellulären verdauung. Z. Naturforsch., 21 b, 871-878.
- MATILE, Ph., 1968 a - Lysosomes of Root Tip cells in corn seedlings. Planta (Berl.), 79, 181-196.
- MATILE, Ph., 1968 b - Aleurone vacuoles as lysosomes. Z. Pflanzenphysiol. Bd., 58, 365-368.
- MATILE, Ph., 1969 - Vacuoles as lysosomes of plant cells. Biochem. J., 111, 26.
- MATILE, P., BALZ, J. P., SEMADENI, E. et JOST, M., 1965 - Isolation of spherosomes with lysosome characteristics from seedlings. Z. Naturforschg., 20 b, 693-698.
- MATILE, Ph. et MOOR, H., 1968 - Vacuolation: Origin and development of the lysosomal apparatus in root-tip cells. Planta (Berl.), 80, 159-175.
- MATILE, Ph. et SPICHIGER, J., 1968 - Lysosomal enzymes in spherosomes (Oil droplets) of tobacco endosperm. Z. Pflanzenphysiol. 58, 277-280.
- MATILE, Ph. et WIEMKEN, A., 1967 - The vacuole as the lysosome of the yeast cell. Archiv für Mikrobiologie, 56, 148-155.
- MAXIMOV, N., 1929 a - The plant in relation to water (traduit par R. H. Yapp.), Allen and Unwin, London.
- MAXIMOV, N. A., 1929 b - The physiological nature of drought resistance of plants. Proceedings, International Congress of Plant Science, Ithaca, 2, 1169-1175.
- MAXIMOV, N. A., 1929 c - Internal factors of frost and drought resistance in plants. Protoplasma, 7, 259-291.
- MAXIMOV, N. A., 1931 - The physiological significance of the xeromorphic structure of plants. J. Ecol., 19, 273-282.

- MAXIMOV, N. A., 1941 - (L'influence de la sécheresse dans les processus physiologiques des plantes). Collection de travaux sur la physiologie végétale à la mémoire de V.A. Timiryazev, Moscou, Acad. Sci. URSS, 299-309.
- MAY, L. H. et MILTHORPE, F. L., 1962 - Drought resistance of crop plants. Field Crop Abstracts, 15, 171-179.
- MAZUR, P., 1969 - Freezing in plants. Annu. Rev. Plant Physiol., 20, 419-448.
- McCLENDEN, J. F. et BLINK, L., 1952 - Use of high molecular weight solutes in the study of isolated intracellular structures. Nature, 170, 577-578.
- McCOWN, B. H., HALL, T. C. et BECK, G. E., 1969 - Plant leaf and stem proteins. II. Isozymes and environmental change. Plant Physiol., 44, 210-216.
- McHALE, J. S. et DOVE, L. D., 1968 - Ribonuclease activity in tomato leaves as related to development and senescence. New Phytol. 67, 505-515.
- McLAUGHLIN, K., 1961 - New tree cotton developed for drought area of Brazil. Andean Air Mail & Peruvian Times, 21, 6.
- MONTEITH, J. L., 1963 - Dew: Facts and fallacies. In: Fitter, A. J., Whitehead, F. H. (eds), The water relations of plants, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 37-56.
- MONTEITH, J. L., 1963 - Gas exchange in plant communities in U. T. Evans (ed.): Environmental Control of Plant Growth, 95-111, Academic Press, New York.
- MOSS, D. N., 1968 - Photorespiration and glycolate metabolism in tobacco leaves. Crop Sci., 8, 71-76.
- MOTHES, K., 1956 - Der Einfluss des Wasserzustandes auf Fermentprozesse und Stoffumstz. In: W. Ruhland (ed.), Handbuch der Pflanzenphysiologie, III, 656-664.
- MOURAVIEFF, I., 1969 - Sur les caractères protoplasmiques des cellules épidermiques foliaires soumises à l'influence d'une déshydratation progressive. Expériences avec la tétracycline comme fluorochrome vital. Physiol. Vég., 7, 191-200.
- MULLER-STOLL, W. R., 1965 - The problem of water outflow from roots. In: Slavik, B. (ed.), Water Stress in Plants. Publishing House of the Czechoslovak Academy of Sciences, Prague
- MURAMOTO, H., HESKETH, J. et EL-SHARKAWY, M., 1965 - Relationships among rate of leaf area development, photosynthetic rate and rate of dry matter production among american cultivated cottons and others species. Crop. Sci. 5, 163-166.

- NAKAYAMA, F. S. et EHRLER, W. L., 1964 - Beta ray gauging Technique measuring leaf water content changes and moisture status of plants. Plant Physiol. 39, 95-98.
- NEALES, T. F. et INCOLL, L. D., 1968 - The control of leaf photosynthesis rate by the level of assimilate concentration in the leaf: a review of the hypothesis. Bot. Rev., 34, 107-125.
- NEALES, T. F., PATTERSON, A. A. et HARTNEY, V. J., 1968 - Physiological adaptation to drought in the carbon assimilation and water loss of xerophytes. Nature, 219, 469-472.
- NELSON, E. B., TOLBERT, N. E. et HESS, J. L., 1969 - Glycolate stimulation of oxygen evolution during photosynthesis. Plant Physiol. 44, 55-59.
- NIELSEN, S. O. et LEHMINGER, A. L., 1955 - Phosphorylation coupled to the oxidation of ferrocytochrome C. J. Biol. Chem. 215, 555-564.
- NIR, I., KLEIN, S. et POLJAKOFF-MAYBER, A., 1969 - Effect of moisture stress on submicroscopic structure of maize roots Aust. J. Biol. Sci., 22, 17-33.
- NIR, I. et POLJAKOFF-MAYBER, A., 1966 - The effect of water stress on activity of phosphatases from Swiss chard chloroplasts. Israel J. Bot., 15, 12-16.
- NIR, I. et POLJAKOFF-MAYBER, A., 1967 - Effect of water stress on the photochemical activity of chloroplasts. Nature, 213, 418-419.
- NOY-MEIR, I. et GINZBURG, B. Z., 1967 - An analysis of the water potential isotherm in plant tissue. I. The theory. Aust. J. Biol. Sci., 20, 695-721.
- NOY-MEIR, I. et GINZBURG, B. Z., 1969 - An analysis of the water potential isotherm in plant tissue. II. Comparative studies on leaves of different types. Aust. J. Biol. Sci., 22, 35-52.
- OLEARY, J. W., 1966 - Root pressure exudation from apical root segments. Nature, 212, 96-97.
- OLSZEWSKA, M. J., WALEK-CZERNECKA, A., KWIATKOWSKA, M. et GABARA, B., 1965 - Hétérogénéité enzymatique des sphérosomes. Acta Soc. Bot. Pol., 34, 399-401.
- OPARINE, A. I., 1937 - Richtungseinstellung der Invertasewirkung in der lebenden Pflanzenzelle. Enzymologia, 4, 13-23.
- OPARINE, A. I., 1953 - Variations de l'activité des enzymes dans la cellule végétale sous l'effet des facteurs extérieurs. Bull. Soc. Chim. Biol., 35, 67-82.

- OPARINE, A. I. et KADEN, S. B., 1945 - (La transformation de la beta-amylase dans les graines de blé en germination). Biochimija, 10, 25-36.
- OPPENHEIMER, H. R., 1961 - L'adaptation à la sécheresse: le xérophytisme. In: Unesco, Recherches sur la zone aride, XV, 115-153.
- OPPENHEIMER, H. R. et JACOBY, B., 1963 - Does plasmolysis increase the drought tolerance of plant cells? Protoplasma, 57, 619-627.
- OSBORNE, D. J., 1968 - Hormonal mechanisms regulating senescence and abscission. In: Wightman, F., Setterfield, G. (eds.), Biochemistry and Physiology of Plant Growth substances, 815-840.
- PADAYATTY, J. D., HENSLEY, M. D. et VAN KLEY, H., 1968 - Stabilization of nucleic acids by proteins toward enzymic digestion. Biochim. Biophys. Acta, 161, 51-55.
- PALLAS, Jr., J. E. et HARRIS, D. G., 1964 - Transpiration, stomatal activity and leaf temperature of cotton plants as influenced by radiant energy, relative humidity and soil moisture tension. Plant Physiol., 39, xliii.
- PARKER, J., 1956 - Drought resistance in woody plants. Bot. Rev., 22, 241-289.
- PITOUT, M. J., 1967 - A deoxyribonuclease-resistant polynucleotide from maize. Biochim. Biophys. Acta, 149, 619-621.
- PISEK, A. et WINKLER, E., 1956 - Wassersättigungsdefizit, Spaltenbewegung und Photosynthese. Protoplasma, 46, 597-611.
- PLAUT, Z. et HALEVY, A. H., 1966 - Regeneration after wilting growth and yield of wheat plants as affected by two growth-retarding compounds. Physiol. Plant., 19, 1064-1072.
- PORTSMOUTH, G.B., 1937 - Variation in the leaves of cotton plant grown under irrigation in the Sudan Gezira. Ann. Bot. N. S., I, 277-291.
- POUX, N., 1963 a - Localisation de la phosphatase acide dans les cellules méristématiques de blé (Triticum vulgare, Vill.) J. Microscopie, 2, 285-289.
- POUX, N., 1963 b - 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, 257-268.
- POUX, N., 1965 - Localisation de l'activité phosphatasique acide et des phosphates dans les grains d'aleurone. I. Grains d'aleurone renfermant à la fois globoides et cristalloïdes. J. Microscopie, 4, 771-782.

- PRESLEY, H. J. et FOWDEN, L., 1965 - Acid phosphatase and isocitritase production during seed germination. Phytochemistry, 4, 169-176.
- PUJARNISCLE, S., 1965 - Etude préliminaire sur l'activité enzymatique des lutoïdes du latex d'Hevea brasiliensis: analogie avec les lysosomes. C. R. Acad. Sci., 261, 2127-2130.
- PUJARNISCLE, S., 1966 - Etude préliminaire sur l'activité enzymatique des lutoïdes du latex d'Hevea brasiliensis: Distribution de la phosphatase acide, de la β -glucosidase et de la cathepsine dans le latex. C. R. Acad. Sci., 262, 923-925.
- PUJARNISCLE, S., 1968 - Caractère lysosomal des lutoïdes du latex d'Hevea brasiliensis Mull. Arg. Physiol. Vég., 6, 27-46.
- PUJARNISCLE, S., 1969 - Etudes Biochimiques des lutoïdes du latex d'Hevea brasiliensis, Mull. Arg. Differences et analogies avec les lysosomes. Thèse Doctorat d'Etat n°. 103379. Orsay.
- RAGETLI, H. W. J., 1967 - Ragetli, H. W. J. - Virus-host interactions, with emphasis on certain cytopathic phenomena. Canad. J. Bot. 45, 1221-1234.
- RAGETLI, H. W. J., WEINTRAUB, M. et RINK, U. U., 1966 - Latent acid phosphatase in chloroplasts. Canad. J. Bot. 44, 1723-1725.
- RAVEJA, P. C., 1951 - Recent physiological investigations on drought resistance in crop plants. Indian Journ. Agric. Sci., 21, 335-346.
- RAKHIMOV, A. R., 1964 - (Dynamics of the movement of the stomatal apparatus in different varieties of cotton). Uzbekskii Biol. Zh., 8, 26-30.
- REDDI, K. K., 1958 - Action of tobacco-leaf ribonuclease on polyuridylic and cytidylic acids. Biochim. Biophys. Acta. 30 638.
- RICHARDS, L. A. et OGATA, G., 1958 - Thermocouple for vapour pressure measurements in biological and soil system at high humidity. Science, 128, 1089-1090.
- RIDLEY, S. M., THORNBUR, J. P. et BAILEY, J. L., 1967 - A study of the water-soluble protein of spinach beet chloroplasts with particular reference to fraction I protein. Biochem. Biophys. Acta, 140, 62-79.
- ROBINSON, R. A. et STOKES, R. H., 1955 - Electrolyte solutions. Butterworths Scientific Publications, London.

- RUHLAND, W. (ed.), 1956 - Encyclopedia of plant physiology, III. Water relations of Plants. Springer-Verlag, Berlin.
- RUNYON, E. H., 1934 - The organization of the creosote bush with respect to drought. Ecology, 15, 128-138.
- RUSSEL, E. W., 1963 - Water requirements of the cotton crop. Emp. Cott. Gr. Rev., 40, 246-252.
- RUTTER, A. J. et WHITEHEAD, F. H. (ed.), 1963 - The water Relations of Plants. Symposium of the British Ecological Society., London, 5-8, Avril 1961.
- SAAD, S. I., 1954 a - Studies on the physiology of the cotton plant. IV. Photosynthesis of cotton leaves under natural conditions. Proc. Egyptian Acad. Sc., 10, 73-88.
- SAAD, S. I., 1954 b - Studies on the physiology of the cotton plant. VI. The effect of shading, debudding and watering upon the rate of photosynthesis of cotton leaves. Proc. Egyptian Acad. Sci., 10, 94-106.
- SALISBURY, E. J., 1927 - On the causes and ecological significance of stomatal frequency, with special reference to the woodland flora. Phil. Trans. Roy. Soc., London, 216 b, 1-65.
- SALTER, P. J. et GOODE, J. E., 1967 - Crop responses to water at differen stages of growth. Commonwealth Agricultural Bureaux, Farnham Royal, Buck.
- SANKARAN, R., 1933 - Some aspects of drought resistance with special refence to cotton. Read at the Association of Economic Biologists. Coimbatore, Nov. 1933.
- SANTARIUS, K. A., K. A., 1967 - Das verhalten von CO₂-Assimilation NADP - und PGS - Reduktion und ATP - Synthese intakter Blattzellen in Abhängigkeit vom Wassergehalt. Planta, 73, 228-242.
- SANTARIUS, K. A., 1969 - Der Einfluss von Elektrolyten auf chloroplasten beim Gefrieren und Trocknen. Planta (Berlin). 89, 23-46.
- SANTARIUS, K. A. et ERNST, R., 1967 - Das Verhalten von Hill-Reaktion und Photophosphorylierung isolierter chloroplasten in Abhängigkeit vom Wassergehalt. I. Wasserentzug mittels Konzentrierter Lösungen. Planta, 73, 91-108.
- SANTARIUS, K. A. et HEBER, U., 1967 - Das Verhalten von Hill-Reaktion und Photophosphorylierung isolierter chloroplasten in Abhängigkeit vom Wassergehalt. II. Wasserentzug über CaCl₂. Planta, 73, 109-137.

- SAUNDERS, J. H., 1961 - The wild species of Gossypium and their evolutionary history. Oxford University Press, London.
- SCARTH, G. W. et SHAW, M., 1951 - Stomatal movement and photosynthesis in Pelargonium. II. Effects of water deficit and of chloroform: photosynthesis in guard cells. Plant Physiol., 26, 581-597.
- SCHIMPER, A. F. W., 1898 - Pflanzengeographie auf physiologischer Grundlage. Jena.
- SCHNEPF, E., 1961 - Über Veränderungen der plasmatischen Feinstruktur während des wakens. Planta, 57, 156-175.
- SCHOLANDER, P. F., HAMMEL, H. I., BRADSTREET, E. D. et HEMMINGSEN, E. A., 1965 - Sap pressure in vascular plants (negative hydrostatic pressure can be measured in plants). Science, 148, 339-346.
- SCHOEUW, J. F., 1822 - Grundtræk til en almindelig Plantegeografi. Kjöbenhavn.
- SCHUCHER, R. et HOKIN, L. E., 1954 - The synthesis and secretion of lipase and ribonuclease by pigeon pancreas slices. J. Biol. Chem., 210, 551-557.
- SEMADENI, E. G., 1967 - Enzymatische charakterisierung der lysosomenäquivalente (sphärosomen) von maiskeimlingen. Planta (Berl.), 72, 91-118.
- SHANTZ, H. L., 1927 - Drought resistance and soil moisture. Ecology, 8, 145-157.
- SHARDAKOV, V. S., 1953 - (Regime hydrique du cotonnier et de-termination des heures optimales d'irrigation). Acad. Sci. Uzbek SSR, Tashkent.
- SHARDAKOV, V. S. et ERMOSHENKO, M., 1965 - (Méthodes physiologiques d'étude de l'activité des systèmes radiculaires du cotonnier). Bull. Acad. Sci. RSS, Uzbek, 5, 53-64
- SHIMSHI, D., 1969 - A rapid field method for measuring photosynthesis with labelled carbon dioxide. J. Exp. Bot., 20, 381-401.
- SISAKIAN, N. M. et KOBJAKOVA, A. M., 1940 - (L'effet du flétrissement sur la tendance à l'esterification et à l'hydrolyse des esteres phosphoriques dans les plantes). Biochimija, 5, 225-233.
- SISAKIAN, K. M. et KOBJAKOVA, A. M., 1947 - (Adsorption de l'invertase par les tissus végétaux pendant le flétrissement). Biochimija, 12, 377-382?

- SKOOG, W., BROYER, T. C. et GROSSENBACHER, K. A., 1938 - Effects of auxin on rates, periodicity, and osmotic relations in exudation. Amer. J. Bot., 25, 749-759.
- SLATYER, R. O., 1955 - Studies of the water relations of crop plants grown under natural rainfall in northern Australia. Aust. J. Agr. Res., 6, 365-377.
- SLATYER, R. O., 1956 - Absorption of water from atmospheres of different humidity and its transport through plants. Aust. J. Biol. Sci., 9, 552-558.
- SLATYER, R. O., 1957 - The influence of progressive increase in total soil moisture stress on transpiration, growth and internal water relationships of plants. Aust. J. Biol. Sci., 10, 320-336.
- SLATYER, R. O., 1958 - The measurement of diffusion pressure deficit in plants by a method of vapour equilibration. Aust. J. Biol. Sci., 11, 349-365.
- SLATYER, R. O., 1960 - Aspects of the tissue water relationships of an important arid zone species (Acacia aneura F. Muell) in comparison with two mesophytes. Bull. Res. Council. Israel, 8 D, 159-168.
- SLATYER, R. O., 1966 - An underlying cause of measurement discrepancies in determinations of osmotic characteristics in plant cells and tissues. Protoplasma, 62, 34-43.
- SLATYER, R. O., 1967 - Plant-Water relationships. Academic Press, New York.
- SLATYER, R. O. et BIERHUIZEN, J. F., 1964 a - The effect of several foliar sprays on transpiration and water use efficiency of cotton plants. Agr. Meteorol., 1, 42-53.
- SLATYER, R. O. et BIERHUIZEN, J. F., 1964 b - Transpiration from cotton leaves under a range of environmental conditions in relation to internal and external diffusive resistance. Aust. J. Biol. Sci., 17, 115-130.
- SLATYER, R. O. et BIERHUIZEN, J. F., 1964 c - The influence of several transpiration suppressants on transpiration, photosynthesis and water use efficiency of cotton leaves. Aust. J. Biol. Sci., 17, 131-146.
- SLATYER, R. O. et TAYLOR, S. A., 1960 - Terminology in plant- and soil-water relation. Nature, 187, 922-924.
- SLAVIK, B. (ed.), 1965 - Water stress in plants. Proceedings of a symposium held in Prague, September 3-October 4, 1963. Publishing House of the Czechoslovak Acad. Sci., Prague.
- SOROKIN, H. P., 1967 - The spherosomes and the reserve fat in plant cells. Amer. J. Bot., 54, 1008-1016.

- SOROKIN, H. P. et SOROKIN, S., 1968 - Fluctuations in the acid phosphatase activity of spherosomes in guard cells of Campanula persicifolia. J. Histochem. Cytochem., 48, 791-802.
- SOUZU, H., 1967 - Location of polyphosphate and polyphosphatase in yeast cells and damage to the protoplasmic membrane of the cell by freezing-thawing. Arch. Biochem & Biophys., 120 344-351.
- SPANNER, D. C., 1951 - The peltier effect and its use in the measurement of suction pressure. J. exp. Bot., 2, 145-168.
- SPANNER, D. C., 1954 - The active transport of water under temperature gradients. Symposium Soc. Experim. Biol., 8, 76-93.
- SPENCER, D., 1954 - The effect of molybdate on the activity of tomato acid phosphatases. J. Biol. Sci., 7, 151-169.
- SPOEHR, H. A. et MILNER, H. W., 1939 - Starch dissolution and amylolytic activity in leaves. Proc. Am. Phil. Soc., 81, 37-38.
- STALFELT, M. G., 1955 - The stomata as a hydrophotic regulation of the water deficit of the plant. Physiol. Plant., 8, 572-593.
- STENESH, J. et HOLAZO, A. A., 1967 - Studies of the ribosomal ribonucleic acid from mesophilic and thermophilic bacteria. Biochem. Biophys. Acta, 138, 286-295.
- STENESH, J., ROE, B. A. et SNYDER, T. L., 1968 - Studies of the Deoxyribonucleic acid from mesophilic and thermophilic bacteria. Biochem. Biophys. Acta, 161, 442-454.
- STOCKER, O., 1928 - Der Wasserhaushalt ägyptischer Wüsten- und Salzpflanzen vom Standpunkt einer experimentellen und vergleichenden Pflanzengeographie aus. In: K. Goebel (ed.) Botanische Abhandlungen, 13, Jena.
- STOCKER, O., 1948 - Beiträge zu einer Theorie der Dürresistenz. Planta (Berl.), 35, 445-466.
- STOCKER, O., 1956 - Die Dürresistenz. In: W. Ruhland (ed.), Handbuch der Pflanzenphysiologie, III, 696-741.
- STOCKER, O., 1961 - Les effets morphologiques et physiologiques du manque d'eau sur les plantes. Recherches sur la zone aride XV. Echanges hydriques des plantes en milieu aride ou semi-aride, 69-113. Unesco.
- STONE E. C., WENT, F. W. et YOUNG, C. L., 1950 - Water absorption from the atmosphere by plants growing in dry soil. Science, 111, 546-548.

- STUTTE, C. A. et TODD, G. W., 1968 - Ribonucleotide composition changes in wheat leaves caused by water stress. Crop. Sci., 8, 319-321.
- STUTTE, C. A. et TODD, G. W., 1969 - Some enzyme and protein changes associated with water stress in wheat leaves. Crop. Sci., 9, 510-512.
- SUBRANIANIAN, V. K., 1953 - Drought resistance of cotton. Ind. Cott. Grow. Res., 7, 279.
- TADROS, T. M. et SAAD, S. I., 1950 - Studies on the physiology of the cotton plant. I. Proc. Egypt. Acad. Sci. 6, 1-25.
- TADROS, T. M. et SAAD, S. I., 1951 - Studies on the Physiology of the cotton plant. II. The water content of the cotton leaves. Proc. Egypt. Acad. Sci., 7, 34-44.
- TEN EYCK, A. M., 1910 - Drought resistant crops. Dry farming Congress Bull., 3, 369.
- THARP, W. H., 1960 - The cotton plant. U.S.D.A. Handbook 178.
- THOMSON, J. F. et KLIPFEL, F. J., 1958 - Fractionation of rat liver particulates using polyvinylpyrrolidone gradients. Exper. Cell Res., 14, 612-614.
- TODD, G. W. et BASLER, E., 1965 - Fate of various protoplasmic constituents in droughted wheat plants. Phyton, 22, 79-85.
- TOLBERT, N. E., OESER, A., KISAKI, T., HAGEMAN, R. H. et YAMAZAKI, R. K., 1968 - Peroxisomes from spinach leaves containing enzymes related to glycolate metabolism. J. Biol. Chem., 243, 5179-5184.
- TOLBERT, N. E., OESER, A., YAMAZAKI, R. K., HAGEMAN, R. H. et KISAKI, T., 1969 - A survey of plants for leaf peroxisomes Plant Physiol., 44, 135-147.
- TREBST, V. A. et WAGNER, S., 1962 - Uber die photooxidation von Hydrochinonen und Uber eine latent Polyphenoloxydase in chloroplastes. Z. Naturforsch., 17, 396-400.
- TROUGHTON, J. H., 1969 - Plant water status and carbon dioxide exchange of cotton leaves. Aust. J. Biol. Sci., 22, 289-302.
- TROUGHTON, J. H. et COWAN, I. R., 1968 - Carbon dioxide exchange in cotton: some anomalous fluctuations. Science, 161, 281-283.
- TROUGHTON, J. H. et SLATYER, R. O., 1969 - Plant water status, leaf temperature, and the calculated mesophyll resistance to carbon dioxide of cotton leaves. Aust. J. Biol. Sci., 22, 815-827.

- TURINA, M. M., 1957 - Determination of the water retaining capacity of the plant tissues by measurement of suction-pressure in relation to water content. Fiziol. Rast., 4, 378-384.
- UNESCO, 1960 - Recherches sur la zone aride. XV. Echanges hydriques des plantes en milieu aride ou semi-aride. Compte rendu de recherches.
- UNESCO, 1961 - Recherches sur la zone aride. XVI. Echanges hydriques de plantes en milieu aride ou semi-aride. Actes du Colloque de Madrid.
- UNESCO, 1962 - Recherches sur la zone aride. XVIII. Les problèmes de la zone aride. Actes du Colloque de Paris.
- UNESCO, 1965 - Recherches sur la zone aride. XXV. Méthodologie de l'éco-physiologie végétale. Actes du Colloque de Montpellier.
- UPCHURCH, R. P., PETERSON, M. L. et HAGAN, R. M., 1955 - Effect of soil-moisture content on the rate of photosynthesis and respiration in ladino clover (Trifolium repens, L.). Plant Physiol., 30, 297-303.
- VAADIA, Y., RANEY, F. C. et HAGAN, R. M., 1961 - Plant water deficits and physiological processes. Ann. Rev. Plant Physiol., 12, 265-292.
- VALLADE, J., 1965 - L'abscission foliaire chez quelques plantes tropicales (cotonnier, citrus, caféier). ORSTOM, Paris.
- VAN SLYKE, D. D. et FOLCH, J., 1940 - Manometric carbon determination. J. Biol. Chem., 136, 509-541.
- VARTANIAN, N. et VIEIRA DA SILVA, J. B., 1968 a - Evolution du potentiel hydrique dans la plante en relation avec le potentiel du sol et l'humidité atmosphérique. C. R. Acad. Sc. Paris, 266, 2341-2344.
- VARTANIAN, N. et VIEIRA DA SILVA, J. B., 1968 b - Mise en évidence d'un gradient inversé de potentiel hydrique dans la plante en atmosphère saturée d'humidité. C. R. Acad. Sc. Paris, 267, 1098-1101.
- VASSILIEV, I. M. et VASSILIEV, M. G., 1936 - Changes in carbohydrate content in wheat plant during the process of hardening for drought resistance. Plant Physiol., 2, 115-125.
- VELOSO, U. D., 1957 - O algodão Mocc. Bases para o seu melhoramento e sua expansão no Nordeste. Ministério da Agricultura do Brasil. Série Estudos Técnicos, nº 11.

- VIEIRA DA SILVA, J. B., 1956 - Some physiological aspects of plant and soil water relationships. Rev. Biol., 1, 1-20.
- VIEIRA DA SILVA, J. B., 1965 - Sur un indice de stabilité de la catalase, utilisable comme critère de sélection pour la tolérance à la sécheresse des cotonniers. C. R. Acad. Sc. (Paris), 261, 2709-2711.
- VIEIRA DA SILVA, J. B., 1967 - Contribution à l'étude de la résistance à la sécheresse dans le genre Gossypium. I. Transpiration de feuilles détachées et notion d'un indice de contrôle de la transpiration. Cot. Fib. Trop., 22, 197-204.
- VIEIRA DA SILVA, J. B., 1968 a - 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., 1968 b - 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., 1968 c - 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 a - Influence d'un réducteur de croissance, le chlorure de (2-chloroéthyl) triméthylammonium, sur la résistance à la carence hydrique chez le cotonnier. C. R. Acad. Sci. (Paris), 270, 2085-2087.
- VIEIRA DA SILVA, J. B., 1970 b - Contribution à l'étude de la résistance à la sécheresse dans le genre Gossypium. II. La variation de quelques activités enzymatiques. Phys. Vég. (sous presse).
- VIEIRA DA SILVA, J. B. et POISSON, Ch., 1969 - Solubilisation d'enzymes hydrolytiques chez Gossypium hirsutum, G. anomalum et des dérivés de l'hybridation entre ces deux espèces. Canad. J. Genetics Cyt., 11, 582-586.
- VIRGIN, H. I., 1965 - Chlorophyll formation and water deficit. Physiol. Plantarum, 18, 994-1000.

- WALEK-CZERNECKA, A., 1962 - Mise en évidence de la phosphatase acide (monophosphoestérase II) dans les sphérosomes des cellules épidermiques des écailles bulbaires d'Allium cepa Acta Soc. Bot. Polon., 31, 541-543.
- WALEK-CZERNECKA, A., 1963 - Note sur la détection d'une estérase non spécifique dans les sphérosomes. Acta Soc. Bot. Polon. 32, 405-408.
- WALEK-CZERNECKA, A., 1965 - Histochemical demonstration of some hydrolytic enzymes in the sphérosomes of plant cells. Acta Soc. Bot. Polon., 34, 573-588.
- WALTER, H., 1955 - The water economy and the hydrature of plants. Ann. Rev. Plant. Physiol., 6, 239-251.
- WALTER, H. et THREN, R., 1934 - Die Berechnung des osmotischen Wertes auf Grund von Kryoskopischen Messungen und der Vergleich mit Saugkraftbestimmungen. Jahr. wiss. Bot., 80, 20-35.
- WARDLAW, I. F., 1968 - The control and pattern of movement of carbohydrates in plants. Bot. Rev., 34, 79-105.
- WEATHERLEY, P. E. et SLATYER, R. O., 1957 - The relationships between relative turgidity and diffusion pressure deficit in leaves. Nature, 179, 1085-1086.
- WEBB, S. J., 1965 - Bound water in biological integrity. Charles C. Thomas, Springfield.
- WEBBER, I. R., 1938 - Anatomy of the leaf and stem of Gossypium. Jour. Agr. Res., 57, 269-283.
- WEINMANN, H. et LE ROUX, M., 1946 - A critical study of the torsion balance methode of measuring transpiration. S. Afr. J. Sci., 24, 147-153.
- WHATLEY, T. A., 1966 - The vapour pressure osmometer: transport or thermodynamic process? Facts & Meth. Sci. Res., 7, 10-12.
- WILDMAN, S. G. et BONNER, J., 1947 - The protein of green leaves. I. Isolation, enzymatic properties and auxin content of spinach cytoplasmic proteins. Arch. Biochem. Biophys., 14, 381-413.
- WILSON, C. C., 1948 - The effect of some environmental factors on the movements of the guard cells. Plant Physiol., 23, 5-37.
- WOOD, J. G., 1934 - The physiology of xerophytism in Australian plants. The stomated frequencies, transpiration and osmotic pressures of sclerophyll and tomentose-succulent leaved plants. J. Ecol., 22, 69-87.

- YAMAZAKI, R. K et TOLBERT, N. E., 1969 - Malate dehydrogenase in leaf peroxisomes. Biochim. Biophys. Acta, 178, 11-20.
- YAROSH, N. P., 1958 - Effect of water supply on biochemical changes in cotton leaves and seeds. Fiziol. Rastenii, 6, 211-214.
- YATSU, L. Y. et JACKS, T. J., 1968 - Association of lysosomal activity with alcurone grains in plant seeds. Arch. Biochem. Biophys., 124, 466-471.
- YIN, H. C., 1945 - A histochemical study of the distribution of phosphatase in plant tissues. New Phytol., 44, 191-195.
- YOUNG, J. L. et VARNER, J. E., 1959 - Enzyme synthesis in the cotyledons of germinating seeds. Arch. Biochem. Biophys., 84, 71-78.
- ZELITCH, I., 1967 - Water and CO₂ transport in the photosynthetic process. In: San Pietro, A., Greer, F. A. et Arny, T. (ed.), Harvesting the Sun, Photosynthesis in Plant Life, 231-248. Academic Press, New York.
- ZELITCH, I., 1969 - Stomatal control. Ann. Rev. Plant Physiol., 20, 329-350.
- ZHOLKEVICH, V. V. et KORETSKAYA, T. F., 1959 - Metabolism of pumpkin roots during soil drought. Fiziol. Rasten., 6, 690-700.