

Endurcissement à la sécheresse et accumulation de glucides solubles et d'acides aminés libres dans les phyllodes d'*Acacia cyanophylla* Lindl

A Albouchi^{1*}, R Ghrir², MH El Aouni³

¹ Institut national de recherches en génie rural, eaux et forêts, BP 2, Ariana 2080;

² Institut national de recherches scientifique et technique, BP 95, Hammam Lif 2050;

³ Faculté des sciences de Bizerte, Jarzouna 7021, Tunisie

(Reçu le 25 septembre 1995; accepté le 3 avril 1996)

Summary – Drought hardening, soluble carbohydrates and free amino acid accumulation in *Acacia cyanophylla* Lindl phyllodes. Two plots of 8-month-old plants of *Acacia cyanophylla* Lindl grown in the greenhouse have been subjected to two contrasting water feedings. The first was nearly maximum evapotranspiration (D) and the second was D/6. Three plants of each water feeding were subjected to a drying cycle by water withholding after 1, 3, 5 and 13 months in order to allow the emergence of adaptive mechanisms in hard drought. At the beginning of each drying cycle, water potential component had been measured at 1 Pm in order to evaluate the effect of drought preconditioning duration on the D/6 plants. At the end of each cycle, marked by zero turgor, the same measures had been made and the remaining phyllodes were used to determine the concentration of free amino acids, soluble sugars and starch. We noted at the beginning of the cycles that D plants had a slight decrease in osmotic potential and a slight increase in the turgor; these variations seemed to be related to age. The response of D/6 plants varied with the duration of preconditioning. After 1 month, at the beginning of the cycle, their turgor was less than that of D plants. At the end of the cycle, they had a less negative osmotic potential and lower contents of free amino acids as compared to D plants. This suggests that a 1 month preconditioning to D/6 treatment was insufficient to induce hardening mechanisms. After 3 months and at the beginning of the cycles, we noted a higher turgor and a lower osmotic potential in the D/6 plants with an increasing difference in osmotic potential between D and D/6 over time (from 0.15 to 0.47 MPa). At the end of the fourth cycle, D/6 plants maintained a positive turgor at water potentials near -4.50 MPa. The difference of osmotic potential between D and D/6 plants was significant (from 0.40 to 1.60 MPa) and was accompanied by an increasing accumulation of soluble sugars and free amino acids, especially proline. Concomitantly, a reduction in starch concentration was observed. This could in part explain the accumulation of soluble sugars. These results attest to an acquired hardening by D/6 plants subsequent to a preconditioning of more than 3 months.

* Correspondance et tirés à part
Tél : (216) 1 230 039; fax : (216) 1 717 951

This hardening was expressed at the end of the drying cycles by increasing osmotic adjustment ability over time.

***Acacia cyanophylla* / preconditioning / duration / water potential / organic solutes**

Résumé – Deux lots d'*Acacia cyanophylla* Lindl cultivés en pots, sous serre, ont été soumis à l'âge de 8 mois à deux alimentations hydriques très contrastées : une dose d'irrigation proche de l'évapotranspiration maximale (D) et D/6. Au bout de 1, 3, 5 et 13 mois, trois plants de chaque lot ont été soumis à un cycle de dessèchement par privation d'eau afin de permettre aux mécanismes adaptatifs de s'exprimer en condition de sécheresse extrême. Au début de chaque cycle, les composantes du potentiel hydrique du phyllode ont été mesurées à 13 heures, afin d'évaluer l'effet de la durée du préconditionnement à la sécheresse sur les plants D/6. À la fin de chaque cycle, marquée par une turgescence nulle, des mesures analogues ont été effectuées et les phyllodes restants ont servi à la détermination des acides aminés libres, des sucres solubles et de l'amidon. Chez les plants D, on a noté au début des cycles une légère baisse du potentiel osmotique et une légère augmentation de la turgescence au cours du temps ; ces variations semblent être liées à l'âge. La réponse des plants D/6 a varié selon la durée du préconditionnement. Après 1 mois, leur potentiel de turgescence, au début du cycle, a été inférieur à celui des plants D ; à la fin du cycle, ils ont eu un potentiel osmotique moins négatif et des teneurs plus faibles en acides aminés libres en comparaison avec les plants D. Cela semble indiquer que 1 mois de préconditionnement à la dose D/6 a été insuffisant pour induire des mécanismes d'endurcissement. À partir du troisième mois, on a noté, au début des cycles, une turgescence plus élevée et un potentiel osmotique plus bas chez les plants D/6 avec une différence de potentiel osmotique entre D et D/6 croissante dans le temps (de 0,15 à 0,47 MPa). À la fin du quatrième cycle, les plants D/6 ont conservé une turgescence positive à des potentiels hydriques voisins de $-4,50$ MPa. La différence de potentiel osmotique entre D et D/6 s'est accentuée (de 0,40 à 1,60 MPa) et a été accompagnée d'une accumulation croissante de sucres solubles et d'acides aminés libres, essentiellement de proline. Parallèlement, on a enregistré une diminution de la teneur en amidon qui n'explique qu'en partie l'accumulation des sucres solubles. Ces résultats témoignent d'un endurcissement acquis par les plants D/6 suite à un préconditionnement de 3 mois ou plus. Cet endurcissement s'est traduit à la fin des cycles de dessèchement par une capacité d'ajustement osmotique croissante au cours du temps.

***Acacia cyanophylla* / préconditionnement / durée / potentiel hydrique / solutés organiques**

INTRODUCTION

L'espèce *Acacia cyanophylla* Lindl ou *A saligna* (Labill) H Wendel ou *A glauca* Hort, originaire du sud-ouest de l'Australie, a été introduite en Tunisie depuis le début du siècle pour la fixation des dunes littorales de l'étage subhumide. Elle fut ensuite étendue aux étages humide, semi-aride et aride et cela à des fins multiples (conservation des eaux et du sol, brise-vent et plantations pastorales). Toutefois, son implantation dans l'étage aride pose toujours des problèmes en raison du changement brusque dans les conditions hydriques subies avant et après transplantation. Le

choc peut être évité grâce à un préconditionnement à la sécheresse car la capacité d'adaptation à la carence en eau pourrait être accrue par un endurcissement acquis suite à un tel traitement (Kaushal et Aussejac, 1990). L'un des effets d'endurcissement peut s'exprimer par le biais d'un ajustement osmotique permettant aux cellules de conserver une turgescence positive à des potentiels hydriques très bas à la suite d'une accumulation active de solutés (Zwiasek et Blake, 1989 ; Blake et al, 1991). Cet aspect particulier fera l'objet du présent travail.

Les sucres solubles et les acides aminés libres figurent parmi les composés osmotiques les plus fréquemment accumulés en

cas de carence hydrique (Morgan, 1984). L'accumulation de sucres solubles peut être attribuée à une hydrolyse de l'amidon (Zhang et Archbold, 1993) et à l'inhibition de certaines voies métaboliques de synthèse (Imamul Huq, 1984). Ils seraient responsables du maintien de l'intégrité des structures membranaires, chloroplastiques et mitochondriales en particulier (Hoekstra et al, 1991). Les acides aminés libres dominants sont variables selon l'espèce végétale, l'organe, le stade phénologique et l'intensité du déficit hydrique. Leur accumulation sous l'effet du stress hydrique semble résulter de la combinaison de plusieurs phénomènes, à savoir, une stimulation de la protéolyse et/ou un ralentissement de la synthèse protéique (Good et Zaplachinski, 1994), une interconversion d'acides aminés ou leur synthèse à partir d'acides organiques (Venekamp, 1989; Good et Zaplachinski, 1994) et enfin une migration à partir des racines (Hanower et Brzozowska, 1975). Il a été établi que la proline, la plus abondante en général, joue des rôles adaptatifs tels que le maintien de la respiration et le contrôle du pH cellulaire au cours du stress (Venekamp, 1989), le stockage d'azote utilisable après réhydratation (Stewart et Hanson, 1980).

Certains travaux ont abordé l'effet du préconditionnement à la sécheresse sur l'endurcissement des essences forestières et l'accumulation de ces solutés organiques. En effet, l'application d'un ou de plusieurs cycles de dessèchement a induit une accumulation active de sucres solubles chez *Pinus banksiana*, *Picea glauca* (Koppelaar et al, 1991) et divers clones de peuplier (Tschaplinski et Blake, 1989; Gebre et al, 1994) ou une accumulation de sucres solubles et d'acides aminés libres chez *P. mariana* (Tan et al, 1992). Dans le présent travail, nous avons soumis, durant 13 mois, un lot de plants d'*A. cyanophylla* à une dose d'irrigation optimale et un second lot à une dose déficiente, destinée à développer chez ce dernier des phénomènes

d'endurcissement à la sécheresse. Des mesures de biomasse totale, de potentiel hydrique total du phyllode et de sa composante osmotique ont été effectuées sur les deux lots, à différentes périodes, afin d'évaluer l'effet de la durée du préconditionnement. D'autre part, des plants des deux traitements ont été soumis, après une durée plus ou moins longue, à un cycle de dessèchement par arrêt de l'irrigation afin de permettre, éventuellement, aux phénomènes d'accommodation de s'exprimer en condition de sécheresse extrême. À la fin de chaque cycle, des dosages d'acides aminés libres, de sucres solubles et d'amidon ont été effectués afin de mettre en évidence les différences éventuelles entre les deux traitements.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Protocole expérimental

Les plants d'*A. cyanophylla* ont été élevés sous serre vitrée et aérée. Le semis a été effectué dans des pots en plastique de 50 cm de diamètre et 60 cm de profondeur, remplis d'un mélange contenant un tiers de terreau de pépinière et deux tiers de sable. Ces pots ont été enfoncés dans le sol de telle sorte que la surface du mélange qu'ils contiennent soit au même niveau que celui du sol environnant. Au bout de 6 mois, il a été procédé à une opération de démariage laissant un plant par pot. Ces plants ont été conduits durant 2 mois sous condition hydrique non contraignante puis deux lots, de 24 plants chacun, ont été soumis durant 13 mois à deux doses contrastées d'irrigation : une dose D, restituant la totalité de l'eau évapotranspirée, et D/6.

Au cours de la période de traitement, l'évolution de la biomasse totale a été suivie par détermination de la matière sèche sur trois plants de chaque lot, dans le but d'évaluer l'effet de la dose D/6 sur la croissance. Ces mesures ont eu lieu aux mois de juillet, septembre et novembre 1992 et de juillet 1993, soit au bout de 1, 3, 5 et 13 mois. Au cours de la même période, trois autres plants de chaque lot ont été soumis, à chaque fois, à un cycle de dessèchement par arrêt de l'irrigation, dans le but de per-

mettre aux mécanismes d'accommodation de s'exprimer en condition de sécheresse prononcée. Au début de chaque cycle de dessèchement, des mesures du potentiel hydrique total du phylode (Ψ_{wd}) et de sa composante osmotique ($\Psi_{\pi d}$) ont été réalisées, à 13 heures, sur les plants D et D/6 irrigués la veille, dans le but d'évaluer l'effet de la durée du préconditionnement sur les plants D/6. Le potentiel de turgescence (Ψ_{pd}) a été calculé par différence ($\Psi_{pd} = \Psi_{wd} - \Psi_{\pi d}$). Des mesures analogues ont été effectuées à 13 heures, à la fin de chaque cycle, marquée par l'égalisation de ces deux paramètres ($\Psi_{wf} = \Psi_{\pi f}$ et $\Psi_{pf} = 0$). Les différences de Ψ_{π} entre les plants D et D/6, enregistrées au début et à la fin des cycles, couvrent à la fois des variations passives (dues à des changements de l'état d'hydratation) et actives (dues à une accumulation de solutés osmotiques) car les mesures de Ψ_{π} ont été faites en milieu de journée et non à la turgescence maximale. La durée des cycles a varié selon la dose d'irrigation et la saison (9 à 59 jours et 6 à 29 jours pour les doses D et D/6, respectivement).

Système d'irrigation

L'irrigation a été assurée par un système automatique au goutte-à-goutte, comparable à celui utilisé par Rouy (1980), composé d'une unité électronique de pilotage reliée à un robinet par un détendeur de pression, d'un bac d'évaporation alimenté en eau par N goutteurs et d'une tuyauterie destinée à alimenter les pots à l'aide de six ou un goutteur selon la dose d'irrigation (fig 1). L'unité de pilotage était reliée à trois électrodes plongeant à différents niveaux dans le bac d'évaporation. Ce système permet le déclenchement simultané de l'irrigation et de l'alimentation du bac lorsqu'une hauteur d'eau (h) dans ce dernier a été évaporée et son arrêt une fois que le niveau initial, dans le bac, a été atteint. La dose optimale d'irrigation (D) a été déterminée tous les 15 à 20 jours en raison de la croissance de la biomasse. Pour ce faire, six plants supplémentaires du lot D ont été soumis, à chaque fois, à un arrosage à saturation suivi d'un ressuyage pendant 48 heures. Puis, l'évapotranspiration moyenne journalière par pot a été calculée à partir des pesées effectuées au début et après 24 heures. La détermination de l'évaporation journalière par le bac (E) a été répétée en même temps que D en raison des variations climatiques. La quantité (E) a été calculée, à chaque fois, à partir de la

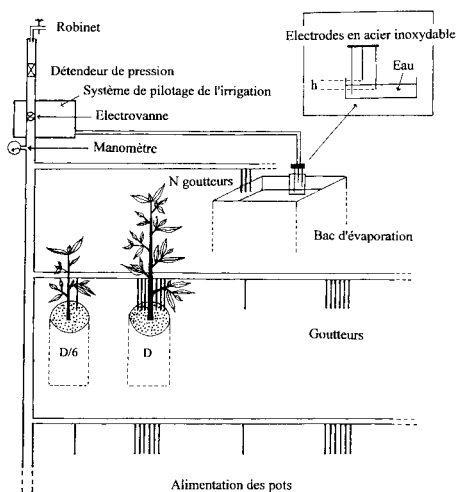


Fig 1. Système automatique d'irrigation au goutte-à-goutte.

hauteur évaporée et des dimensions du bac. Étant donné que l'alimentation du bac et de chaque pot a été simultanée, le volume d'eau restitué, à chaque fois, au bac ou à chaque plant a été proportionnel au nombre de goutteurs qui l'alimentaient. Ainsi la relation entre le volume d'eau (E) restitué au niveau du bac et celui évapotranspiré par pot irrigué à la dose D était :

$$\frac{E}{N} = \frac{D}{6} \quad (1)$$

Cela nous a permis d'adapter tous les 15 à 20 jours le nombre de goutteurs N alimentant le bac selon le niveau de l'évapotranspiration. La hauteur (h) a été réglée de telle sorte que l'irrigation ait lieu tous les 3 à 4 jours durant les mois d'été. Le déclenchement de l'arrosage a été fixé à 21 heures grâce à une minuterie combinée au système de pilotage.

Mesures de biomasse

La biomasse totale, exprimée par la matière sèche des phylloides, tiges et racines de chaque plant a été déterminée par pesées, après passage à l'étuve à 80° jusqu'à l'obtention d'un poids constant.

Mesures de Ψ_w et Ψ_π

Les mesures de Ψ_w et Ψ_π ont porté, à chaque fois, sur un phyllode ayant atteint les deux tiers de sa taille maximale et situé au milieu de la couronne de chaque plant. Deux fragments contigus ont servi à ces mesures : l'un fraîchement prélevé (Ψ_w), l'autre préalablement enveloppé d'un papier d'aluminium et placé dans un congélateur à -30°C pendant 24 heures (Ψ_π).

Les mesures proprement dites ont porté sur des disques de 6 mm de diamètre prélevés au centre du phyllode à l'aide d'un emporte-pièce. Elles ont été effectuées à l'aide d'un système comportant un hygromètre à échantillon (type C-52, Wescor, Inc) combiné à un microvoltmètre à point de rosée (type HR-33T, Wescor, Inc). Pour les mesures de Ψ_w , le temps d'équilibre dans la chambre psychrométrique a été évalué à 180 minutes à partir de mesures préliminaires. Les mesures de routine ont été réalisées au bout de 30 minutes et corrigées à l'aide d'une relation préétablie entre ces mesures et celles obtenues à l'équilibre. Les mesures de Ψ_π ont été réalisées à l'équilibre, obtenu au bout de 40 minutes étant donné l'absence de résistance à la circulation de l'eau dans les échantillons de phyllodes précongelés.

Dosage des composés organiques

À la fin de chaque cycle de dessèchement, les phyllodes restants ont été lyophilisés et réduits en poudre servant aux analyses biochimiques. La technique utilisée pour la détermination des sucres solubles et de l'amidon a été inspirée des méthodes décrites par McCready et al (1950) et Staub (1963). L'extraction a été faite sur 100 mg de poudre lyophilisée en présence d'éthanol à 80 % et le dosage a été effectué à l'antrone sur spectrophotomètre (type Perkin-Elmer 295 E) à 640 nm. La méthode d'extraction des acides aminés a été inspirée de celle décrite par Hubac et al (1969). Le dosage a été effectué à l'aide d'un analyseur d'acides aminés (type Beckman-System 6300).

Analyse statistique

La comparaison des moyennes relatives aux deux traitements hydriques, pour les quatre cycles de dessèchement, a été effectuée grâce aux tests de

Student-Newman-Keuls et de la ppds (plus petite différence significative) au seuil de 1 % à l'aide du programme "General linear model Sas".

RÉSULTATS

La figure 2 montre une variation significative, au cours des traitements hydriques, du potentiel hydrique total et de ses composantes osmotique et de turgescence mesurés au début des cycles de dessèchement (Ψ_{wd} , $\Psi_{\pi d}$ et Ψ_{pd}). Toutefois, les taux de variation ont été différents selon le paramètre et la dose d'irrigation. Chez les plants D, Ψ_{wd} et $\Psi_{\pi d}$ sont passés, respectivement, de $-0,76$ à $-1,30$ MPa et de $-1,28$ à $-1,93$ MPa; Ψ_{pd} a accusé une légère augmentation, passant de $0,52$ à $0,63$ MPa. Dans le cas des plants D/6, la baisse de $\Psi_{\pi d}$ (de $-1,23$ à $-2,40$ MPa) a été sensiblement plus rapide que celle de Ψ_{wd} (de $-0,94$ à $-1,46$ MPa), entraînant une augmentation de Ψ_{pd} qui est passé de $0,29$ à $0,94$ MPa. La comparaison des plants D et D/6 révèle un changement de comportement chez ces derniers, à partir du troisième mois. En effet, à 1 mois, leurs Ψ_{pd} et Ψ_{wd} ont été significativement inférieurs à ceux des plants D, et à partir du troisième mois, leurs Ψ_{wd} et $\Psi_{\pi d}$ sont devenus significativement plus négatifs en comparaison avec les plants D et ont diminué plus vite au cours du temps. Il en a résulté des Ψ_{pd} significativement plus élevés et croissant plus rapidement par rapport aux plants D. La différence de turgescence entre les plants soumis aux deux traitements a atteint $0,31$ MPa au bout de 13 mois. L'évolution des différences de potentiel osmotique entre les plants D et D/6 montre qu'elles ont été négatives à 1 mois puis sont devenues positives et croissantes à partir du troisième mois, atteignant $0,47$ MPa à la fin des traitements.

L'évolution de la biomasse totale au cours du traitement (fig 3) montre une différence très nette d'accroissement entre D et D/6. La matière sèche produite chez les

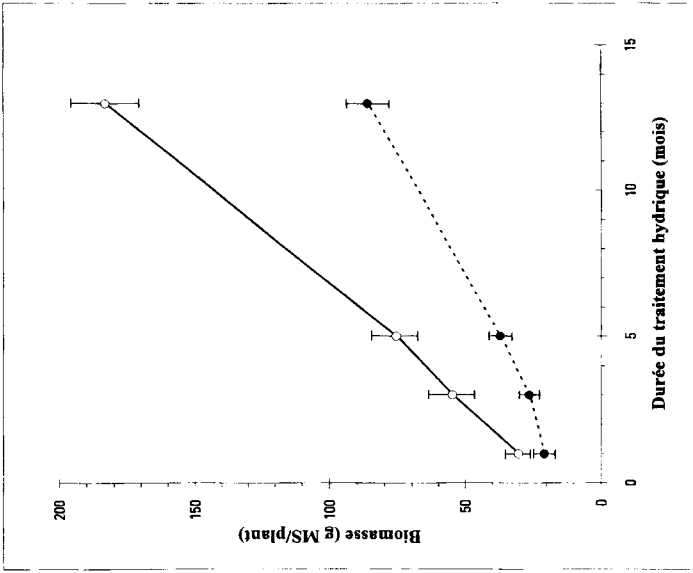


Fig 3. Influence de la durée du traitement hydrique à la dose optimale D (—) ou déficitaire D/6 (---) sur la croissance en biomasse totale de plants d'*Acacia cyanophylla* Lindl. Chaque point représente la moyenne de trois mesures.

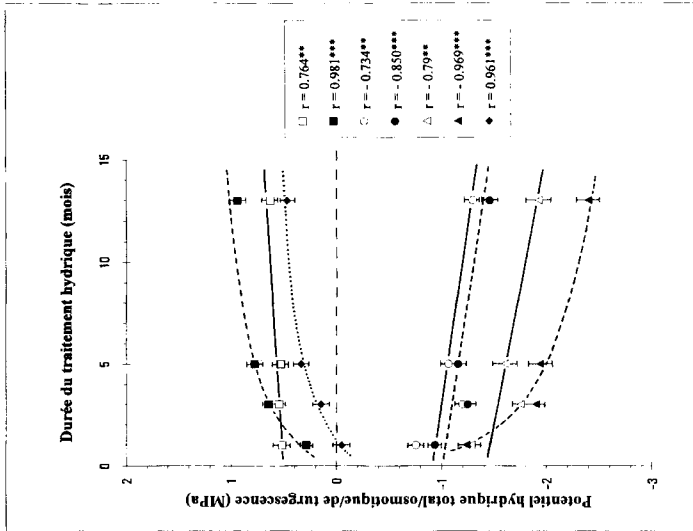


Fig 2. Influence de la durée du traitement hydrique à la dose optimale D (—) ou déficitaire D/6 (---) sur le potentiel hydrique total Ψ_{wd} (□, ●) et ses composantes osmotique $\Psi_{\pi d}$ (△, ▲) et de turgescence Ψ_{pd} (○, ■) et sur la différence de $\Psi_{\pi d}$ entre plants D et D/6 (◆). Mesures réalisées en milieu de journée, au début des cycles de dessèchement sur phylloides d'*Acacia cyanophylla* Lindl. Chaque point représente la moyenne de trois mesures. Le degré de signification des corrélations est indiqué par *** ($\alpha = 0,001$) et ** ($\alpha = 0,01$).

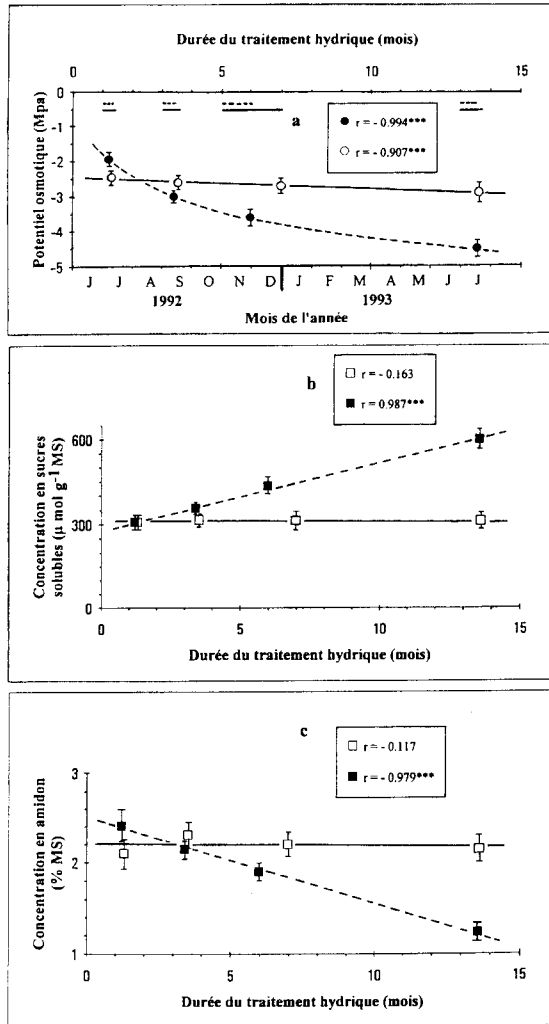


Fig 4. Influence de la durée du traitement hydrique à la dose optimale D (—) ou déficiente D/6 (----) sur le potentiel osmotique $\Psi_{\pi f} = \Psi_{w f}$ (a) et les concentrations en sucres solubles (b) et en amidon (c) de phylloides d'*Acacia cyanophylla* Lindl en fin des cycles de dessèchement ($\Psi_{\pi f} = 0$). Chaque point représente la moyenne de trois mesures. Le degré de signification des corrélations est indiqué par *** ($\alpha = 0,001$). La durée des cycles de dessèchement est indiquée sous l'échelle des temps de la figure (a) par des traits continus (D) ou discontinus (D/6).

plants D a augmenté de manière significative durant les 13 mois. Chez les plants D/6, on a noté un accroissement non significatif au cours des 3 premiers mois du traitement, suivi d'une reprise significative de la croissance avec cependant un taux nettement inférieur à celui des plants D. La différence de biomasse entre les plants D et D/6 s'est accentuée au cours du temps, passant de 32 à 54 % de D entre 1 et 13 mois.

Les résultats de mesures effectuées à la fin des cycles de dessèchement montrent que le potentiel osmotique correspondant à la turgescence nulle ($\Psi_{\pi f} = \Psi_{w f}$ et $\Psi_{\pi f} = 0$) a subi, au cours des traitements, une baisse légère mais significative chez les plants D et très prononcée chez les plants D/6 (fig 4a). À la fin du premier cycle, les plants D/6 ont perdu totalement leur turgescence à des $\Psi_{\pi f}$ moins négatifs en comparaison avec les

plants D. En revanche, à partir du second cycle, cette perte de turgescence a eu lieu pour des valeurs de $\Psi\pi f$ plus basses chez les plants D/6. La différence de $\Psi\pi f$ observée entre les plants D et D/6 (tableau I) a été négative à la fin du premier cycle puis elle est devenue positive et croissante pour les trois cycles suivants, passant de 0,40 à 1,60 MPa. L'évolution au cours du temps, des concentrations des phyllodes en solutés organiques dosés (figs 4b, c et 5) a été différente chez les plants D et D/6. Chez les premiers, ces teneurs n'ont pas subi de variations significatives : en moyenne 2,19 % de la matière sèche pour l'amidon et 312 et 22,53 $\mu\text{mol g}^{-1}$ MS pour les sucres solubles et les acides aminés libres, respectivement. Les acides aminés libres (tableau II) ont été dominés par la proline (35 %), suivie des acides aspartique (20 %) et glutamique (10 %). Chez les plants D/6, on a noté un accroissement très hautement significatif des sucres solubles (de 308,89 à 601,11 $\mu\text{mol g}^{-1}$ MS, soit de 5,56 à 10,82 % de la matière sèche), des acides aminés libres (de 15,20 à 123,87 $\mu\text{mol g}^{-1}$ MS) et une baisse de l'amidon (de 2,41 à 1,24 % de la matière sèche). La proline, les acides aspartique et glutamique ont été encore dominants mais leurs pourcentages ont augmenté entre le premier et le quatrième cycle de dessèchement, passant de 28 à 58 % pour la proline,

de 15 à 20 % pour l'acide aspartique et de 5 à 10 % pour l'acide glutamique (tableau II). Cependant, on a noté, à la fin du premier cycle de dessèchement, que les phyllodes des plants D/6 ont été significativement moins riches en acides aminés libres et significativement plus riches en amidon que ceux des plants D, avec des teneurs identiques en sucres solubles (tableau III). Cela, joint à la différence négative de $\Psi\pi f$ (tableau I), témoigne qu'*A cyanophylla*, passant d'une irrigation optimale (avant l'application du traitement) à la dose D/6, n'a pas développé, au bout de 1 mois, de mécanismes d'endurcissement face à une sécheresse prononcée. En revanche, à partir du second cycle, les phyllodes des plants D/6 sont devenus significativement plus riches en acides aminés libres et en sucres solubles et significativement plus pauvres en amidon que ceux des plants D : les rapports des concentrations des plants D/6 à celles des plants D sont passés de 1,60 à 5,73 pour les acides aminés libres, de 1,13 à 1,94 pour les sucres solubles et de 0,93 à 0,58 pour l'amidon (tableau III). En outre, la forte corrélation entre les différences de concentration en sucres solubles ou en acides aminés libres et les différences de $\Psi\pi f$ (fig 6) atteste le rôle joué par ces composés dans la diminution importante de $\Psi\pi f$ chez les plants D/6. La différence de $\Psi\pi f$ observée est certes due à une différence

Tableau I. Évolution, au cours des traitements hydriques, de la différence de potentiel osmotique ($\Psi\pi f$) entre les phyllodes d'*Acacia cyanophylla* Lindl irrigués à la dose D ou D/6 et soumis à quatre cycles de dessèchement, de la différence de concentration globale en sucres solubles (SS) et en acides aminés libres (AAL) entre les plants D/6 et D (A) et des pourcentages respectifs de ces deux composés. Mesures effectuées en fin de cycles ($\Psi_{wf} = \Psi\pi f$ et $\Psi_{pf} = 0$).

Durée (mois)	$\Psi_{\pi f}^D - \Psi_{\pi f}^{D/6}$ (MPa)	A = $\Delta(SS + AAL)$ ($\mu\text{mol g}^{-1}$ MS)	ΔSS (% A)	ΔAAL (% A)
1	- 0,50 ± 0,05	- 9,52	-	-
3	0,40 ± 0,06	55,84	74,6	25,4
5	0,90 ± 0,04	155,03	79,6	20,4
13	1,60 ± 0,06	392,80	74,0	26,0

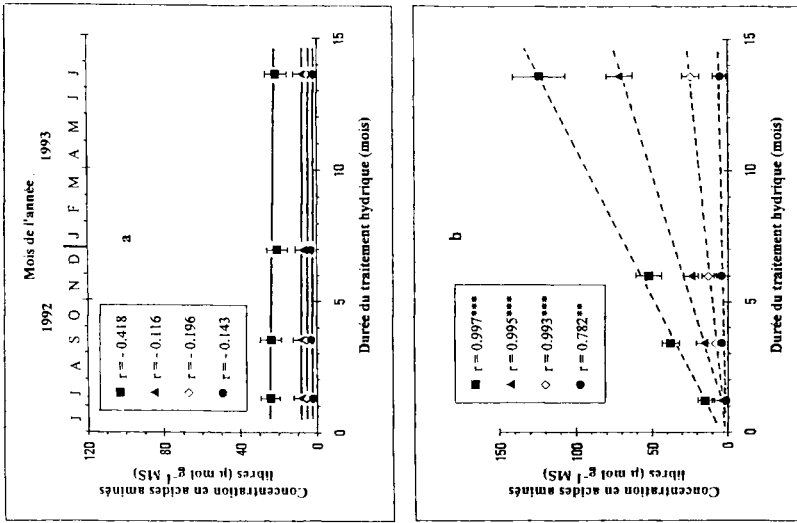


Fig 5. Influence de la durée du traitement hydrique à la dose optimale D (a) ou déficiente D/6 (b) sur les concentrations en acides aminés libres totaux (■), en proline (▲) et en acides aspartique (◇) et glutamique (●) de phylloides d'*Acacia cyanophylla* Lindl à la fin des cycles de dessèchement ($\Psi_{\pi f} = \Psi_{\pi f}$ et $\Psi_{pf} = 0$). Chaque point représente la moyenne de trois mesures. Le degré de signification des corrélations est indiqué par *** ($\alpha = 0,001$) et ** ($\alpha = 0,01$).

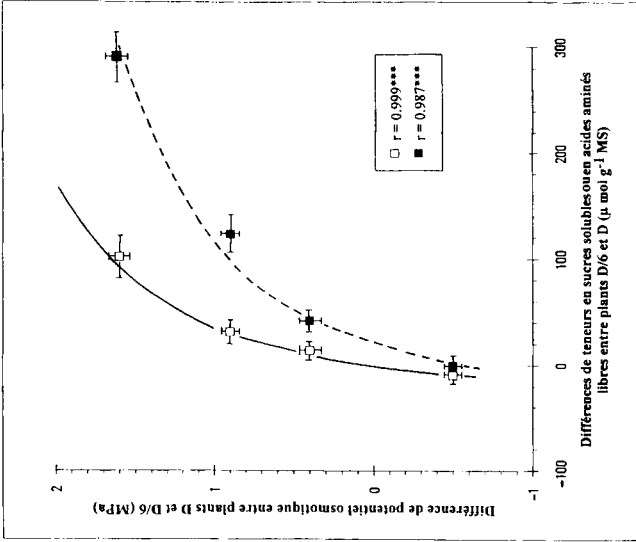


Fig 6. Relation entre la différence de potentiel osmotique $\Psi_{\pi f}$ entre phylloides de plants D et D/6 et les différences de teneurs en sucres solubles (■) ou en acides aminés libres (□) entre les phylloides d'*Acacia cyanophylla* Lindl conduits sous irrigation déficiente (D/6) ou optimale (D) et soumis à quatre cycles de dessèchement. Mesures effectuées en fin de moyenne de trois répétitions. Le degré de signification des corrélations est indiqué par *** ($\alpha = 0,001$).

Tableau II. Variations au cours des traitements hydriques des teneurs en acides aminés libres (en $\mu\text{moles g}^{-1}$ MS) dans les phylloides d'*Acacia cyanophylla* Lindl. irrigués à la dose optimale (D) ou déficiente (D/6) et soumis à quatre cycles de dessèchement. Mesures effectuées en fin de cycles ($\Psi_{wf} = \Psi_{rf}$ et $\Psi_{pf} = 0$).

Acides aminés	Durée du traitement hydrique (mois)											
	1			3			5			13		
	D	D/6	D	D	D/6	D	D	D/6	D	D/6	D	D/6
Acide aspartique	5,21 ± 1,50	2,31 ± 0,63	5,26 ± 1,20	8,17 ± 1,15	2,31 ± 1,45	12,77 ± 2,25	4,86 ± 1,74	24,35 ± 4,52				
Acide glutamique	1,77 ± 0,40	0,82 ± 0,30	2,49 ± 0,45	3,70 ± 1,20	3,02 ± 0,90	3,91 ± 0,96	1,75 ± 0,38	4,70 ± 0,45				
Alanine	2,07 ± 0,30	2,01 ± 0,20	1,31 ± 0,54	1,91 ± 0,48	1,55 ± 0,20	2,44 ± 0,70	1,61 ± 0,20	2,13 ± 0,80				
Arginine	0,14 ± 0,08	0,16 ± 0,10	0,20 ± 0,12	0,23 ± 0,15	0,12 ± 0,06	0,32 ± 0,14	0,06 ± 0,03	1,14 ± 0,10				
Cystéine	0,09 ± 0,04	0,10 ± 0,05	-	-	-	-	-	-				
Glycétine	1,82 ± 0,50	0,82 ± 0,20	1,79 ± 0,23	1,35 ± 0,78	2,17 ± 0,11	2,33 ± 0,88	1,04 ± 0,60	2,47 ± 0,70				
Histidine	0,62 ± 0,34	0,70 ± 0,47	-	-	-	-	-	-				
Isoleucine	0,28 ± 0,13	0,23 ± 0,10	0,27 ± 0,18	0,48 ± 0,28	0,21 ± 0,07	0,45 ± 0,25	0,17 ± 0,03	0,36 ± 0,24				
Lysine	0,21 ± 0,15	0,19 ± 0,10	0,18 ± 0,03	0,16 ± 0,10	0,20 ± 0,04	0,31 ± 0,20	0,20 ± 0,06	0,41 ± 0,22				
Méthionine	0,03 -	0,02 -	0,03 -	-	0,09 ± 0,03	0,09 ± 0,03	0,06 ± 0,02	0,76 ± 0,68				
Phénylalanine	0,51 ± 0,20	0,46 ± 0,12	0,58 ± 0,22	1,05 ± 0,80	0,31 ± 0,10	0,67 ± 0,30	0,61 ± 0,08	3,00 ± 2,30				
Proline	8,11 ± 1,60	4,28 ± 0,46	8,00 ± 2,10	15,88 ± 3,12	7,34 ± 0,12	24,30 ± 3,50	8,04 ± 0,90	72,11 ± 12,41				
Sérine	1,70 ± 0,30	1,50 ± 0,24	1,58 ± 0,20	2,07 ± 0,78	1,64 ± 0,10	2,24 ± 0,96	1,44 ± 0,20	2,96 ± 1,20				
Thréonine	0,93 ± 0,38	0,95 ± 0,22	0,95 ± 0,26	1,25 ± 0,60	0,93 ± 0,12	1,06 ± 0,56	1,24 ± 0,21	7,11 ± 4,85				
Tyrosine	0,24 ± 0,10	0,19 ± 0,12	0,22 ± 0,04	0,24 ± 0,10	0,08 ± 0,04	0,16 ± 0,06	0,16 ± 0,06	0,63 ± 0,48				
Valine	0,15 ± 0,05	0,17 ± 0,08	0,47 ± 0,12	0,87 ± 0,50	0,45 ± 0,15	0,71 ± 0,50	0,10 ± 0,10	1,43 ± 0,96				
Total	24,16 ± 4,68	15,20 ± 2,26	23,63 ± 5,20	37,80 ± 2,54	20,68 ± 2,54	52,38 ± 8,34	21,63 ± 3,80	123,87 ± 21,37				

Tableau III. Variations au cours des traitements hydriques des rapports [(D/6)/D] des teneurs en acides aminés libres, en sucres solubles et en amidon accumulés dans les phyllodes d'*Acacia cyanophylla* Lindl irrigués à la dose déficiente (D/6) ou optimale (D) et soumis à quatre cycles de dessèchement. Mesures effectuées en fin de cycles ($\Psi_{wf} = \Psi_{\pi f}$ et $\Psi_{pf} = 0$).

Nature des composés osmotiques	Durée des traitements hydriques (mois)			
	1	3	5	13
Acides aminés libres	0,63	1,60	2,53	5,73
Acide aspartique	0,44	1,55	5,53	5,00
Acide glutamique	0,46	1,49	1,29	2,69
Proline	0,53	2,00	3,31	9,00
Sucres solubles	1,00	1,13	1,39	1,94
Amidon	1,15	0,93	0,86	0,58

de concentration en solutés organiques et minéraux entre les plants D/6 et D. Néanmoins, la contribution des composés organiques dosés, à la différence de $\Psi_{\pi f}$, peut être attribuée pour 76 %, en moyenne, aux sucres solubles contre 24 % pour les acides aminés libres (tableau I). L'ensemble de ces résultats tend à prouver que le préconditionnement à la dose D/6 durant 3 mois ou plus a accru la capacité d'accommodation d'*A cyanophylla* à la sécheresse.

DISCUSSION

Les résultats de mesures effectuées au début des cycles de dessèchement subis par les plants d'*A cyanophylla* traduisent la réponse des phyllodes à la dose d'irrigation et son évolution dans le temps. Chez les plants D, la légère baisse de Ψ_{wd} et $\Psi_{\pi d}$ accompagnée d'une légère augmentation de la turgescence (fig 2) est liée à l'âge. Chez les plants D/6, la forte diminution de $\Psi_{\pi d}$ accompagnée d'un accroissement important de la turgescence est due, en partie, à l'âge mais surtout à l'effet de l'alimentation hydrique déficiente. Toutefois, le préconditionnement à la sécheresse ne semble avoir d'effet qu'à partir du troisième mois,

comme le suggèrent les résultats de la figure 2. Les valeurs plus faibles de Ψ_{wd} et Ψ_{pd} enregistrées chez les plants D/6 à 1 mois pourraient ainsi être liées au passage brutal d'une alimentation hydrique non limitante (avant l'application du traitement) à la dose D/6. Ce passage a été accompagné, chez ces plants, d'un fort ralentissement de la croissance, durant les 3 premiers mois, contrairement aux plants D (fig 3). Cela semble indiquer que 1 mois de traitement à la dose D/6 a été insuffisant pour induire chez cette espèce un durcissement à la sécheresse. À partir de 3 mois, les différences croissantes de $\Psi_{\pi d}$ en faveur des plants D/6 témoignent d'un durcissement, acquis par ces derniers sous l'effet de l'alimentation hydrique déficiente. Cette accommodation s'est accompagnée, du reste, d'une reprise significative de la croissance par rapport aux 3 premiers mois. Toutefois, la carence en eau a occasionné chez ces plants une forte réduction de la biomasse totale (32 à 54 %) par comparaison avec les plants D. Les mêmes effets ont été signalés chez d'autres essences forestières avec, cependant, des taux de réduction variables selon l'espèce et l'intensité du déficit hydrique : 18 % chez *Quercus stellata*, 30 % chez *Acer saccharum* et 39 % chez *Juglans nigra* (Pal-

lardy et Rhoads, 1993), 21 à 46 % chez *Q rubra* et 49 à 60 % chez *Q palustris* (Timbal et Lefebvre, 1995).

Les valeurs relativement basses de $\Psi_{wf} = \Psi_{\pi f}$ enregistrées chez les plants D, à la fin des cycles de dessèchement, coïncident avec leur seuil de fermeture stomatique (Albouchi et El Aouni, 1988). Elles sont comparables à celles signalées chez certaines essences forestières adaptées à la sécheresse telles que *P pinea* (El Aouni, 1980), *Q ilex* (Dreyer et al, 1990) ou *Ceratonia siliqua* (Rejeb, 1992) et s'expliquent par leurs teneurs relativement élevées en solutés organiques, et notamment en sucres solubles (tableau III). Ces résultats semblent témoigner chez *A cyanophylla* d'une bonne prédisposition génotypique vis-à-vis de la sécheresse.

Lorsqu'il est soumis, durant 1 mois, à la dose D/6 après une alimentation hydrique non déficiente (avant l'application du traitement), *A cyanophylla* semble faire preuve d'un manque de tolérance en cas de sécheresse accusée ($\Psi_{\pi f}$ plus élevé et teneurs en acides aminés libres plus faibles en comparaison avec les plants D). En contrepartie, il semble, dans ces conditions, réagir par une fermeture stomatique précoce pour des $\Psi_w = -1,75$ MPa (Albouchi et El Aouni, 1988). Des comportements analogues ont été enregistrés chez certaines essences forestières aptes à éviter la sécheresse telles que *P nigra* (Braesco, 1980), *P sylvestris* et *P pinaster* (Aussenac et Valette, 1982) ou *Abies alba* (Guicherd, 1993).

À partir de 3 mois de préconditionnement à la dose D/6, *A cyanophylla* montre des signes d'un durcissement croissant à la sécheresse, marqué par la baisse prononcée de $\Psi_{\pi f}$. Le même comportement a été observé sur le cotonnier (Cutler et Rains, 1978). Il peut être attribué à une augmentation du contenu en eau de l'apoplasme (Cutler et al, 1977) ou de l'élasticité des parois cellulaires (Fan et al, 1994) et/ou au mécanisme d'ajustement osmotique par

accumulation active de solutés organiques et minéraux, notamment les sucres solubles et les acides aminés libres (Morgan, 1984; Gebre et al, 1994). Des plants d'*A cyanophylla* préconditionnés à la dose D/6 durant 5 mois avaient un module d'élasticité volumique supérieur à celui des plants D (20 contre 4 MPa) et une teneur en eau apoplastique comparable (28 contre 29 %) (Albouchi et El Aouni, 1988). Par conséquent, les deux premières hypothèses ne peuvent être retenues. Ainsi l'accroissement de la différence de $\Psi_{\pi f}$ entre plants D et D/6 observé chez *A cyanophylla* peut être attribué, en partie, à un ajustement osmotique par accumulation croissante de sucres solubles et d'acides aminés libres (fig 6). Cela rejoint les résultats de plusieurs travaux qui montrent que les sucres solubles et les acides aminés libres forment la majeure partie des solutés accumulés en cas de sécheresse chez diverses espèces végétales (Grieu et al, 1988; Tan et al, 1992). En effet, chez *P mariana*, 60 % de l'abaissement de Ψ_{π} sont attribués aux sucres solubles (Tan et al, 1992). Chez *A cyanophylla*, la contribution des solutés organiques dosés à la différence de $\Psi_{\pi f}$ est due aux sucres solubles (76 %) et aux acides aminés libres (24 %). Toutefois, d'autres composés tels que les acides organiques (Gebre et al, 1994) et les ions minéraux (Tschaplinski et Tuskan, 1994) peuvent jouer un rôle non négligeable.

L'accumulation des sucres solubles peut être attribuée à une hydrolyse de l'amidon, comme le suggère la diminution des concentrations en ce composé (fig 4c). Ces résultats sont comparables à ceux observés par Zhang et Archbold (1993) sur *Fragaria chiloensis*. Toutefois, la dégradation de l'amidon n'explique qu'en partie l'accumulation des sucres solubles car, chez les plants D/6, l'amidon a diminué de 1,2 % de la matière sèche entre le premier et le quatrième cycle de dessèchement, suggérant qu'un accroissement équivalant en sucres solubles pourrait être attribué à l'hydrolyse de l'amidon.

Or les sucres solubles ont augmenté de 5,3 % de la matière sèche au cours de la même période. Cela tend à prouver l'existence d'autres mécanismes d'accumulation de sucres solubles en cas de déficit hydrique tels que leur transfert vers les feuilles (Daie et Wyse, 1985) et/ou leur faible utilisation à ce niveau (Turner et al, 1978).

Le principal acide aminé libre accumulé a été la proline dont la concentration chez les plants D/6 a été multipliée par 9 par rapport au plants D, au bout de 13 mois (tableau III). Cela rejoint les résultats de Grieu et al (1988) sur *Pseudotsuga menziesii* et de Tan et al (1992) sur *P. mariana* et souligne le rôle osmotique que joue la proline dans l'abaissement de $\Psi\pi$.

En conclusion, la capacité d'accumulation de solutés acquise à la suite d'une irrigation à la dose D/6 confère aux phyllodes d'*A. cyanophylla* un haut degré d'ajustement osmotique lors de cycles de dessèchement, permettant le maintien d'une turgescence cellulaire positive à des potentiels hydriques très bas. Cette capacité d'ajustement osmotique s'accroît avec la durée du préconditionnement, soulignant le rôle de ce mécanisme adaptatif à long terme. La forte accumulation de proline et de sucres solubles, induite par le stress hydrique, contribuerait à la protection des systèmes enzymatiques et membranaires, ce qui permettrait la poursuite des processus physiologiques et biochimiques en condition de sécheresse sévère.

RÉFÉRENCES

- Albouchi A, El Aouni MH (1988) Étude des réponses à la contrainte hydrique de phyllodes d'*Acacia cyanophylla* Lindl cultivés sous irrigation optimale ou déficiente. In : *Time Scales and Water Stress* (F di Castri, C Floret, S Rambal, J Roy, eds), UIBS, Paris, 63-72
- Aussenac G, Valette JC (1982) Comportement hydrique estival de *Cedrus atlantica*, *Quercus ilex*, *Quercus pubescens* et de divers pins dans le Ventoux. *Ann Sci For* 39, 41-62
- Blake TJ, Bevilacqua E, Zwiazek JJ (1991) Effects of repeated stress on turgor pressure and cell elasticity changes in black spruce seedlings. *Can J For Res* 21, 1329-1333
- Braesco A (1980) *Potentiels de sève et réaction à la sécheresse des cèdres, pins et chênes en Provence calcaire*. Inra, Avignon, 29 p
- Cutler JM, Rains DW (1978) Effects of water stress and hardening on the internal relations and osmotic constituents of cotton leaves. *Physiol Plant* 42, 261-268
- Cutler JM, Rains DW, Loomis RS (1977) The importance of cell size in the water relations of plants. *Plant Physiol* 40, 255-260
- Daie J, Wyse RE (1985) Evidence on the mechanism enhanced sucrose uptake at low turgor in *Phaseolus neus* discs. *Physiol Plant* 64, 547-552
- Dreyer E, Bousquet F, Ducrey M (1990) Use of pressure volume curves in water relations analysis on woody shoots: influence of rehydration and comparison of four European oak species. *Ann Sci For* 47, 285-297
- El Aouni MH (1980) *Processus déterminant la production du pin d'Alep Pinus halepensis Mill : photosynthèse, croissance et répartition des assimilats*. Thèse de doctorat d'État, université Paris-VII, 164 + 70 p
- Fan S, Blake TJ, Blumwald E (1994) The relative contribution of elastic and osmotic adjustments to turgor maintenance of woody species. *Physiol Plant* 90, 408-413
- Gebre GM, Kuhns MR, Brandle JR (1994) Organic solute accumulation and dehydration tolerance in three water-stressed *Populus deltoides* clones. *Tree Physiol* 14, 575-587
- Good AG, Zaplachinski ST (1994) The effects of drought stress on free amino acid accumulation and protein synthesis in *Brassica napus*. *Physiol Plant* 90, 9-14
- Grieu P, Aussenac G, Larher F (1988) Sécheresse édaphique et concentrations en quelques solutés organiques des tissus foliaire et racinaire de trois espèces de conifères : *Cedrus atlantica* Manetti, *Pseudotsuga macrocarpa* (Torr) Mayr, *Pseudotsuga menziesii* (Mirb) Franco. *Ann Sci For* 45, 311-322
- Guicherd P (1993) *Écophysiologie du sapin (Abies alba Mill) dans les Alpes françaises*. Comportement hydrique, activité photosynthétique et composition biochimique des aiguilles. Thèse de doctorat, université de Grenoble-I, France, 139 p
- Hanower P, Brzozowska J (1975) Influence d'un choc osmotique sur la composition des feuilles de cotonnier en acides aminés libres. *Phytochem* 14, 1691-1694
- Hoekstra FA, Crowe JH, Crowe LM (1991) Effect of sucrose on phase behavior of membranes in intact pollen of *Typha latifolia* L., as measured with Fourier transform infrared spectroscopy. *Plant Physiol* 97, 1073-1079

- Hubac C, Guerrier D, Ferran J (1969) Résistance à la sécheresse du *Carex pachystylis* (J Gay) plante du désert du Negev. *Oecol Plant* 4, 325-346
- Imamul Huq SM (1984) Comparaison de la résistance au stress salin de *Vigna sinensis* L et de *Phaseolus aureus* Roxb. Thèse de docteur ingénieur, université de Nancy-I, France, 185 p
- Kaushal P, Aussenac G (1990) Drought preconditioning of Corsican Pine and Cedar of Atlas seedlings: photosynthesis, transpiration and root regeneration after transplanting. *Acta Oecologica* 11, 61-78
- Koppelaar RS, Tschaplinski TJ, Colombo SJ (1991) Carbohydrate accumulation and turgor maintenance in seedling shoots and roots of two boreal conifers subjected to water stress. *Can J Bot* 69, 2522-2528
- McCready RM, Guggolz J, Silviera V, Owes HS (1950) Determination of starch and amylase in vegetables. Application to peas. *Annal Chem* 22, 1156-1158
- Morgan JM (1984) Osmoregulation and water stress in higher plants. *Annu Rev Plant Physiol* 35, 299-319
- Pallardy SG, Rhoads JL (1993) Morphological adaptations to drought in seedlings of deciduous angiosperms. *Can J For Res* 23, 1766-1774
- Rejeb MN (1992) *Étude des mécanismes de résistance à la sécheresse du caroubier* (*Ceratonia siliqua* L) en Tunisie. Thèse de doctorat d'État, université de Tunis, 199 p
- Roy J (1980) Comportement photosynthétique et hydrique de la feuille chez *Dactylis glomerata* L. Adaptation phénotypique et génotypique à la sécheresse. Thèse de 3^e cycle, univ Sci Techn du Languedoc, 118 p + 153
- Staub AM (1963) Extraction, identification et dosages des glucides dans les extraits d'organes et les corps bactériens. In : *Techniques de laboratoire*, tomes 1 et 2, Masson, Paris, 1307-1366
- Stewart CR, Hanson AD (1980) Proline accumulation as a metabolic response to water stress. In : *Adaptation of Plants to Water and High Temperature Stress* (NC Turner, PJ Kramer, eds), Wiley-Interscience, New York, 173-189
- Tan W, Blake TJ, Boyle TJB (1992) Drought tolerance in faster- and lower-growing black spruce (*Picea mariana*) progenies. II. Osmotic adjustment and changes of soluble carbohydrates and amino acids under stress. *Physiol Plant* 85, 645-651
- Timbal J, Lefebvre C (1995) Évolution saisonnière du potentiel hydrique et de la croissance de jeunes plants de *Quercus rubra* et de *Quercus palustris* au cours d'une sécheresse édaphique. *Ann Sci For* 52, 67-79
- Tschaplinski TJ, Blake TJ (1989) Water-stress and late-season organic solute accumulation in hybrid poplar. *Can J Bot* 67, 1681-1688
- Tschaplinski TJ, Tuskan GA (1994) Water-stress tolerance of black and Eastern cottonwood clones and four hybrid progeny. II. Metabolites and inorganic ions that constitute osmotic adjustment. *Can J For Res* 24, 681-687
- Turner NC, Begg JE, Tonnet ML (1978) Osmotic adjustment of sorghum and sunflower crops in response to water deficits and its influence on the water potential at which stomata close. *Aust J Plant Physiol* 5, 597-608
- Venkamp JH (1989) Regulation of cytosol acidity in plants under conditions of drought. *Physiol Plant* 76, 112-117
- Zhang B, Archbold DD (1993) Solute accumulation in leaves of *Fragaria chiloensis* and *F Virginiana* selection responds to water deficit stress. *J Am Soc Hortic Sci* 118, 280-285
- Zwiasek JJ, Blake TJ (1989) Effects of preconditioning on subsequent water relations, stomatal sensitivity, and photosynthesis in osmotically stressed black spruce. *Can J Bot* 67, 2240-2244