

Intérêt des tests physiologiques dans la caractérisation du comportement de différentes variétés de cocotier soumis à la sécheresse(1)

Merits of physiological tests for characterizing the performance of different coconut varieties subjected to drought(1)

A. REPELLIN⁽²⁾, C. DANIEL⁽³⁾, Y. ZUILY-FODIL⁽²⁾

Résumé. — Nous avons étudié les effets d'une sécheresse édaphique sur l'état hydrique (potentiel hydrique foliaire et contenu relatif en eau), les échanges gazeux (transpiration, conductance stomatique et assimilation nette du gaz carbonique atmosphérique) la teneur et la composition en lipides membranaires des feuilles de jeunes cocotiers (*Cocos nucifera* L.). Ces études sont menées dans le but, d'une part d'affiner les connaissances concernant les mécanismes physiologiques mis en oeuvre par le cocotier en réponse à la contrainte hydrique et d'autre part, d'évaluer la validité des paramètres physiologiques étudiés en tant que critères de sélection de génotypes résistants à la sécheresse. Cinq variétés de cocotier ont été étudiées. Leur résistance à la sécheresse au champ est plus ou moins précisément connue : le Nain Jaune de Malaisie, NJM (sensible), le Nain Rouge du Cameroun, NRC (sensible) ; le Grand Ouest Africain, (GOA moyennement résistant) ; le PB 121 (NJM x GOA résistant) et le Nain Jaune de Malaisie, issu d'embryons cultivés *in vitro*, NJM VP (sensibilité inconnue). Les plantes sont âgées de deux ans, cultivées dans des sacs individuels et soumis à une sécheresse édaphique par suspension d'arrosage. Les résultats montrent que les variétés naines se déshydratent plus rapidement que le GOA. Le PB 121 présente un comportement intermédiaire entre celui des deux parents GOA et NJM. La cinétique de diminution des échanges gazeux en réponse à la sécheresse est identique chez les cinq variétés. La suppression des échanges gazeux est due essentiellement à la fermeture des stomates, phénomène dépendant faiblement de l'état hydrique des palmes. Ceci suggère qu'il existe un signal racinaire induisant la diminution de la conductance stomatique. Les teneurs en acides gras des lipides foliaires diminuent en réponse à la contrainte édaphique chez les cinq variétés, notamment dans le compartiment chloroplastique. Les pertes en acides gras sont très importantes pour le NRC, moyennes pour le NJM, le GOA et le NJM VP et faibles pour le PB 121. Ceci suggère qu'il existe des différences intervariétales de tolérance cellulaire à la déshydratation même si, dans l'ensemble, les cinq variétés de cocotier présentent des caractéristiques de forte tolérance. Les différents paramètres employés permettent d'une part, de mettre en évidence des mécanismes physiologiques encore inconnus et d'autre part, de distinguer les variétés d'après leur tolérance cellulaire à la déshydratation.

Abstract. — We studied the effect of edaphic drought on the water status (leaf water potential and relative water content), gas exchanges (transpiration, stomatal conductance and net atmospheric carbon dioxide assimilation) and membrane lipid content and composition in the leaves of young coconut palms (*Cocos nucifera* L.). These studies were carried out with a view to increasing knowledge of the physiological mechanisms brought into play by coconut in response to water stress and to assessing the validity of the physiological parameters studied as breeding criteria for drought resistant genotypes. Five coconut varieties were studied. Their resistance to drought in the field is more or less precisely known: Malayan Yellow Dwarf, MYD (susceptible), Cameroon Red Dwarf, CRD (susceptible), West African Tall, WAT (moderately resistant), PB 121 (MYD x WAT, resistant) and the Malayan Yellow Dwarf obtained from embryos cultured *in vitro*, MYD CE (susceptibility unknown). The plants were two years old, grown individually in polybags and subjected to edaphic drought by suspending watering. The results showed that the dwarf varieties become dehydrated more quickly than the WAT. The performance of PB 121 falls between that of the two parents, WAT and MYD. The reduction in gas exchanges in response to drought occurred identically in all five varieties. The halt in gas exchanges was primarily due to stomatal closure, a phenomenon that only slightly depends on the water status of the coconut palms. This suggests that there is a signal from the roots that induces a reduction in stomatal conductance. The fatty acid content of leaf lipids dropped in all five varieties in response to edaphic drought, especially in the chloroplast compartment. Fatty acid losses were considerable for CRD, average for MYD, WAT and MYD CE and low for PB 121. This suggests differences between varieties for cell tolerance of dehydration, even though the five varieties as a whole revealed strong tolerance characteristics. The different parameters used revealed physiological mechanisms as yet unknown and enabled a distinction to be made between the varieties according to the dehydration tolerance of their cells.

Mots clés. — Cocotier, physiologie, sécheresse, mécanismes de résistance

Key words. — Coconut, physiology, drought, resistance mechanism.

(1) Texte de la conférence donnée lors du congrès Eurococo, 8-10 septembre 1993 à Montpellier (France)

(2) Laboratoire de Biochimie et Physiologie de l'Adaptation Végétale, Université Paris 7, 2 place Jussieu, F75241 Paris Cedex 05 (France)

(3) CIRAD-CP, BP 5035, 34032 Montpellier Cedex 1 (France)

(1) Text of the paper presented at the Eurococo Congress, 8-10 septembre 1993 à Montpellier (France)

(2) Laboratoire de Biochimie et Physiologie de l'Adaptation Végétale, Université de Paris 7, 2 place Jussieu, F75241 Paris Cedex 05 (France)

(3) CIRAD-CP, BP 5035, 34032 Montpellier Cedex 1 (France)

INTRODUCTION

L'expression du potentiel génétique des plantes dépend de facteurs de l'environnement tels que l'éclairement, la température, l'approvisionnement en eau. Ce dernier est, de plus, le principal facteur climatique limitant la croissance et le développement des plantes, en particulier dans les régions semi-arides, Daie (1988). Cependant les plantes résistent au manque d'eau au moyen de mécanismes anatomiques et physiologiques intégrés. Ces mécanismes ont été classés en deux groupes : les mécanismes d'évitement et les mécanismes de tolérance (May et Milthorpe, 1962 ; Levitt, 1972).

Dans le cas des mécanismes d'évitement, la diminution du degré d'hydratation des tissus végétaux est faible en période de sécheresse parce que la plante met en oeuvre différentes stratégies telles que la réduction de son cycle de développement et de la taille de ses surfaces transpirantes, un accroissement du volume racinaire, le contrôle efficace des pertes d'eau par la régulation stomatique.

Dans le cas des mécanismes de tolérance, les plantes maintiennent une activité physiologique normale en dépit de la diminution de l'hydratation des tissus. La tolérance à la sécheresse se situe alors à l'échelle cellulaire (tolérance protoplasmique). Elle peut se traduire par une augmentation de la teneur en acide abscissique dans les tissus foliaires (Wright et Hiron, 1969 ; Beardsell et Cohen, 1975) : cette hormone induit la fermeture des stomates mais elle interviendrait également dans de nombreux processus impliqués dans l'adaptation cellulaire au déficit hydrique (Davies et Zhang, 1991). Un autre mécanisme de tolérance à la sécheresse est l'accumulation de solutés tels que la proline (Stewart et Hanson, 1980 ; Pham Thi et Vieira da Silva, 1980) et les sucres (Vieira da Silva, 1968 ; Vartanian, 1981 ; Vasquez-Tello et al., 1990). Ces solutés participent à l'ajustement osmotique du contenu cellulaire et permettent le maintien de la turgescence des tissus foliaires. Ils contribuent également à la protection directe des structures cellulaires et de leurs activités physiologiques.

Parmi les mécanismes de tolérance cellulaire, certains impliquent les membranes mais ils sont encore mal connus. Il a été montré que la contrainte hydrique provoque une diminution du contenu cellulaire en protéines et en lipides qui sont les principaux constituants membranaires (Dungey et Davies, 1982), phénomène affectant particulièrement les membranes chloroplastiques (Zuily-Fodil et al., 1990).

Dans ce contexte, nous avons entrepris d'étudier plus finement l'impact de la sécheresse sur certains composants membranaires et sur quelques unes des activités enzymatiques pouvant les altérer. Ces travaux initiés sur le cotonnier puis poursuivis sur des légumineuses tropicales, sont soutenus depuis 1988 par la Communauté économique européenne dans le cadre de projets STD1, STD2 et STD3.

Ces recherches ont permis d'une part, d'affiner les connaissances concernant les réponses cellulaires au déficit hydrique. D'autre part, elles ont abouti à la mise au point de tests pour le criblage de génotypes tolérants à la sécheresse. En effet, les phénomènes observés en réponse à la contrainte hydrique sont d'autant plus marqués que les plantes sont sensibles. Ces tests sont actuellement utilisés dans des programmes de sélection en Afrique (arachide), au Brésil (vigna et cotonnier) et en Chine (cotonnier).

Plus précisément, nos travaux ont montré que la sécheresse induit une diminution de la teneur en lipides polaires des membranes cellulaires (Pham Thi et al., 1984) et surtout chloroplastiques (Ferrari-Iliou et al., 1984). Ce phénomène est dû à une inhibition de la synthèse de ces lipides et à une stimulation d'activités lipolytiques enzymatiques (El Hafid et al., 1989) ou peroxydatives (Ferrari-Iliou et al., 1992). En ce

INTRODUCTION

The expression of genetic potential in plants depends on environmental factors, such as light, temperature and water supply. The last is by far the main climatic plant growth and development limiting factor, especially in semi-arid regions (Daie, 1988). Nevertheless, plants withstand a lack of water through integrated anatomical and physiological mechanisms. These mechanisms have been classified into two groups: avoidance and tolerance mechanisms (May and Milthorpe, 1962; Levitt, 1972).

In the case of avoidance mechanisms, the reduction in the degree of plant tissue hydration is low in a drought period because the plant brings different strategies into play, such as reducing its development cycle and the size of its transpiration surfaces, increasing its root volume and effectively controlling water loss through stomatal regulation.

In the case of tolerance mechanisms, plants maintain normal physiological activity despite a reduction in tissue hydration. Drought tolerance thus occurs in the cells (protoplasmic tolerance). It may result in an increase in abscisic acid content in leaf tissues (Wright and Hiron, 1969; Beardsell and Cohen, 1975); this hormone induces stomatal closure but would also seem to play a role in numerous processes involved in cell adaptation to water deficit (Davies and Zhang, 1991). Another drought tolerance mechanism is the accumulation of solutes such as proline (Stewart and Hanson, 1980; Pham Thi and Vieira da Silva, 1980) and sugars (Vieira da Silva, 1968; Vartanian, 1981; Vasquez-Tello et al., 1990). These solutes contribute towards the osmotic adjustment of cell content and enable turgidity maintenance in leaf tissues. They also contribute towards the direct protection of cell structures and of their physiological activities.

Some cell tolerance mechanisms involve membranes, but little is yet known about them. It has been shown that water stress causes a drop in cell protein and lipid contents, which are the main constituents of membrane (Dungey and Davies, 1982), a phenomenon which particularly affects chloroplast membranes (Zuily-Fodil, et al., 1990).

In this context, we undertook to carry out a closer study of the impact of drought on certain membrane components and on some of the enzymatic activities likely to alter them. The work was started on Cotton and later extended to tropical legumes and has been backed by the European Economic Community since 1988 under STD1, STD2 and STD3 projects.

This research led to greater knowledge of cell responses to water deficits. It also led to the development of tests to select drought tolerant parents. In fact, the more susceptible the plant, the more marked are the phenomena observed in response to water stress. These tests are currently being used in breeding programmes in Africa (groundnut), Brazil (Vigna and Cotton) and China (Cotton).

More precisely, our work showed that drought induces a reduction in the polar lipid content of cell membranes (Pham Thi et al., 1984) and particularly chloroplast membranes (Ferrari-Iliou et al., 1984). This phenomenon is due to inhibited synthesis of these lipids and stimulation of enzymatic (El Hafid et al., 1989) or peroxidative (Ferrari-Iliou et al., 1992) lipolytic activities. As regards membrane proteins,

qui concerne les protéines membranaires et, en particulier, celles des membranes chloroplastiques, nous avons également montré que la sécheresse provoque d'une part l'inhibition de leur synthèse (Zuily-Fodil *et al.*, 1990) et d'autre part, une stimulation de l'activité d'enzymes les dégradant (Roy Macauley *et al.*, 1992). Parmi ces enzymes, nous avons mis en évidence l'intervention d'une catégorie particulière de protéases.

Le travail présenté dans le cas du cocotier concerne les effets d'une sécheresse édaphique sur la teneur et la composition des lipides membranaires des feuilles. Parallèlement, nous avons suivi l'évolution de l'état hydrique et des échanges gazeux des plantes. Ces études, menées pour la première fois sur de jeunes cocotiers, ont pour objectif de préciser les connaissances concernant les capacités photosynthétiques et métaboliques de jeunes cocotiers soumis au déficit hydrique. Elles permettent, de plus, d'évaluer l'efficacité des techniques employées pour la sélection de géniteurs performants.

MATERIEL ET METHODES

Les travaux ont été effectués à la station IDEFOR/DPO Marc Delorme en Côte-d'Ivoire et au Laboratoire de Biochimie et Physiologie de l'Adaptation Végétale de l'Université Paris 7.

Matériel végétal et culture des plantes

Les variétés étudiées sont au nombre de cinq : le Grand Ouest Africain (GOA), le Nain Jaune de Malaisie (NJM), le Nain Jaune, issu d'embryons élevés *in vitro* (NJM VP), le Nain Rouge du Cameroun (NRC) et l'hybride NJM x GOA (PB 121).

Les plantes sont âgées de deux ans. Elles sont cultivées, à l'extérieur, dans des sacs individuels en plastique d'une contenance de 50 litres. Le support est constitué d'un mélange de sable et de terre humique. Au cours des six premiers mois passés dans les sacs, les jeunes cocotiers ont reçu une quantité croissante d'engrais contenant tous les minéraux nécessaires à leur développement selon la méthode de Rognon (1971).

Les plantes sont disposées en carré latin 5 x 5 subdivisé en deux traitements : sécheresse et témoin. Les plantes témoins sont maintenues hydratées. Les plantes sont soumises à une contrainte édaphique imposée par suspension d'arrosage pendant 29 jours. Les plantes sont ensuite réhydratées pendant 6 jours.

Paramètres hydriques

Les paramètres relatifs à l'état hydrique et aux échanges gazeux (vapeur d'eau et gaz carbonique) sont mesurés *in situ*, régulièrement au cours du cycle expérimental, quatre heures après le lever du soleil, sur les folioles centrales des palmes de rangs deux et trois.

- Potentiel hydrique (Ψ_h)

Ce paramètre est exprimé en MPa (Slavik, 1974). Il est mesuré au moyen d'une chambre à pression (SKPM 1400, Skye Instrument Ltd, UK).

- Contenu relatif en eau (CRE)

Il est calculé d'après la formule suivante (Weatherley, 1950 : $CRE = (MF-MS)/(Msat-MS) \times 100$; MF = Masse de matière

especially those of chloroplast membranes, we also showed that drought causes inhibition of their synthesis (Zuily-Fodil et al., 1990) and stimulates activity of the enzymes that deteriorate them (Roy Macauley et al., 1992) Among these enzymes, we discovered the involvement of a particular category of proteases

The work described on coconut concerned the effects of edaphic drought on membrane lipid contents and composition in leaves. At the same time, we monitored variations in water status and gas exchanges in the plants. These studies, which were carried out for the first time on young Coconuts, were designed to provide greater knowledge of the carbon assimilation and metabolic abilities of young Coconuts subjected to a water deficit. They also enabled an assessment of the techniques used to select parents that perform well.

MATERIEL AND METHODS

The work was carried out at the IDEFOR/DPO Marc Delorme Station in the Ivory Coast and at the Plant Adaptation Biochemistry and Physiology Laboratory at the University of Paris 7.

Planting material and cultivation

Five varieties were studied: West African Tall (WAT), Malayan Yellow Dwarf (MYD), Yellow Dwarf obtained from embryos grown in vitro (MYD CE), Cameroon Red Dwarf (CRD) and the MYD x WAT hybrid (PB 121).

The plants were two years old and grown outside in individual 50-litre polybags. The medium was a mixture of sand and humic soil. During the first six months spent in the polybags, the young coconuts were given an increasing amount of fertilizer containing all the minerals necessary for their development according to the Rognon method (1971)

The plants were laid out in a 5 x 5 Latin square subdivided into two treatments: drought and control. The control plants were watered. The other plants were subjected to edaphic drought imposed by not watering for 29 days. They were then rehydrated for 6 days.

Water parameters

The parameters relative to water status and gas exchanges (water vapour and carbon dioxide) were measured regularly in situ during the experiment, four hours after sunrise, on the central leaflets of rank two and rank three fronds.

- Water potential (Ψ_h)

This parameter is expressed in MPa (Slavik, 1974). It is measured using a pressure chamber (SKPM 1400, Skye Instruments Ltd., UK).

- Relative Water Content (RWC)

This is calculated using the following formula (Weatherley, 1950): $RWC = (FM-DM)/(Wsat-DM) \times 100$; FM = sample

fraîche de l'échantillon ; MS = Masse de matière sèche de l'échantillon ; Msat = Masse de l'échantillon à la pleine turgescence.

Le contenu relatif en eau a été mesuré *in situ* au cours du cycle de sécheresse et de réhydratation.

- Contenu relatif en eau de folioles détachées

Prélevé sur des plantes hydratées, il a été déterminé au cours d'un dessèchement de 24 heures en conditions d'éclairement, d'humidité relative et de température constante ($200 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, 60 % et 26°C respectivement ; Hygen, 1951).

- Transpiration cuticulaire

Il s'agit de la perte de vapeur d'eau des tissus vers l'atmosphère sans transfert stomatique. La transpiration cuticulaire a été mesurée sur des segments de folioles prélevés sur des plantes hydratées. L'extrémité distale des segments est trempée dans une solution d'acide abscissique à 10^{-3} M pendant 1 heure 30 minutes. La transpiration cuticulaire est ensuite évaluée par les pertes d'eau subies par les segments au cours d'une série de pesées. Elle est exprimée en $\text{mg H}_2\text{O.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$.

- Activité photosynthétique, transpiration et conductance stomatique

Les mesures ont été effectuées dans un système portatif à circuit ouvert de type différentiel (ADC Co Ltd, Herts, England), en conditions de lumière saturante pour la photosynthèse des jeunes cocotiers (Photosynthetic Active Radiation $> 1000 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$). La conductance stomatique à la diffusion de la vapeur d'eau est exprimée en $\text{mol H}_2\text{O.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, la transpiration est exprimée en $\mu\text{mol H}_2\text{O.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, enfin l'activité photosynthétique nette est exprimée en $\mu\text{mol CO}_2.\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (Von Caemmerer et Farquhar, 1981 ; Ball, 1987).

Teneur et composition en acides gras des lipides foliaires

L'extraction des lipides foliaires est effectuée à partir de la partie médiane des folioles centrales des palmes de rang deux. Les folioles prélevées sur les plantes témoins et contraintes sont lavées à l'eau distillée, séchées et broyées immédiatement après leur prélèvement.

Les lipides foliaires totaux sont extraits par broyage dans un mélange de méthanol, de chloroforme et d'eau (1:1:1 v/v/v ; Bligh et Dyer, 1959). La quantité et la nature des acides gras des lipides de l'extrait total sont déterminées par chromatographie en phase gazeuse (chromatographe 3300, Varian, USA). Les catégories lipidiques sont analysées par chromatographie sur couche mince (Lepage, 1967). Pour chacune d'elle, on détermine la quantité et la nature des acides gras.

Les teneurs en acides gras dans l'extrait total ont été mesurées chez les plantes hydratées ($-0,4 \text{ MPa} < \Psi_h < -0,7 \text{ MPa}$), chez les plantes subissant une sécheresse moyenne ($-1,3 \text{ MPa} < \Psi_h < -1,5 \text{ MPa}$) ainsi que chez les plantes sévèrement contraintes ($-1,8 \text{ MPa} < \Psi_h < -2,2 \text{ MPa}$). Les teneurs en acides gras dans les différentes classes lipidiques ont été déterminées dans le cas des plantes hydratées et soumises à une sécheresse sévère.

fresh matter weight; DM = sample dry matter weight; Wsat = weight of fully turgid sample.

The relative water content was measured in situ during the drought and rehydration cycle.

- *Relative water content in detached leaflets*

Taken from the control plants. This was determined during a 24-hour drying out period under constant light, relative humidity and temperature conditions ($200 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, 60% and 26°C respectively; Hygen 1951).

- *Cuticular transpiration*

This is water loss from tissues to the atmosphere without any stomatal transfer. Cuticular transpiration was measured on segments of leaflets taken from the control plants. The distal end of the segments was soaked in a 10^{-3} M abscisic acid solution for 1,5 hours. Cuticular transpiration was then evaluated from the water losses suffered by the segments during a series of weighing operations. It is expressed in $\text{mg H}_2\text{O.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$.

- *Carbon assimilation, transpiration and stomatal conductance*

Measurements were carried out on a portable differential type open circuit system (ADC Co. Ltd., Herts. England), under saturating light conditions for young Coconuts (Photosynthetic Active Radiation $> 1,000 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$). Stomatal conductance to water vapour diffusion is expressed in $\text{mol H}_2\text{O.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, transpiration is expressed in $\mu\text{mol H}_2\text{O.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, and net carbon assimilation is expressed in $\mu\text{mol CO}_2.\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (Von Caemmerer and Farquhar, 1981; Ball, 1987).

Fatty acid content and composition of leaf lipids

Leaf lipids were extracted from the median section of the central leaflets of rank two fronds. The leaflets taken from the control plants and stressed plants were washed in distilled water, dried and ground up immediately after sampling.

The total leaf lipids were extracted by grinding the leaves in a mixture of methanol, chloroform and water (1:1:1 v/v/v, Bligh and Dyer, 1959). The quantity and type of fatty acids from the lipids of the total extract were determined by gas chromatography (3300 chromatograph, Varian, USA). The lipid categories were analyzed by thin layer chromatography (Lepage, 1967). The quantity and type of fatty acids were determined for each of them.

The fatty acid contents in the total extract were measured in the control plants ($-0.4 \text{ MPa} < \Psi_h < -0.7 \text{ MPa}$), in plants subjected to mild stress ($-1.3 \text{ MPa} < \Psi_h < -1.5 \text{ MPa}$) and in plants subjected to severe stress ($-1.8 \text{ MPa} < \Psi_h < -2.2 \text{ MPa}$). The fatty acid contents in the different lipid categories were determined for control plants and those subjected to severe stress.

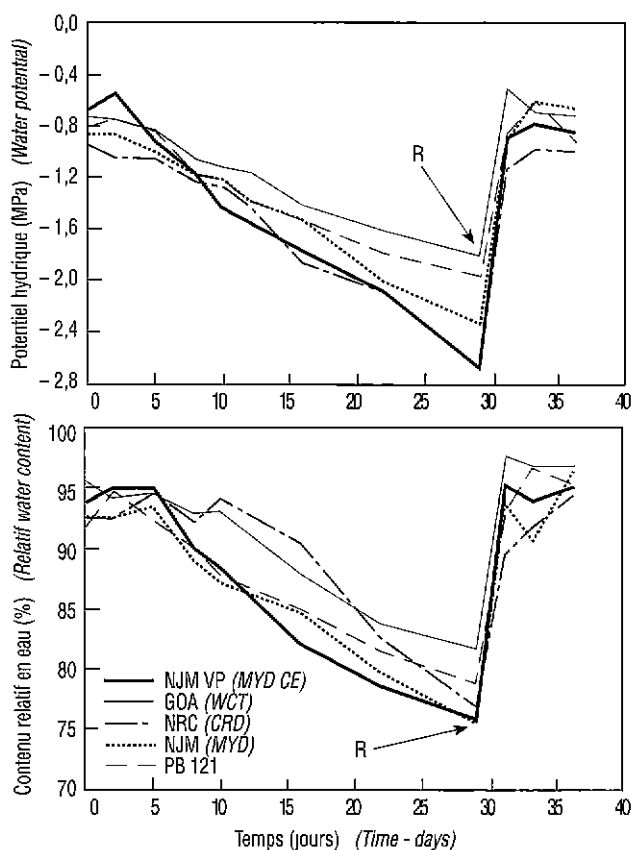


FIG. 1. — Effet de la suspension d'arrosage (j 0 à j 29) et de la réhydratation (R, j 30 à j 36) sur le potentiel hydrique (MPa) et le contenu relatif en eau des palmes (%) — (Effect of halting watering -day 0 to day 29- and rehydrating -R, day 30 to day 36- on the water potential -MPa- and the relative water content of the fronds -%.)

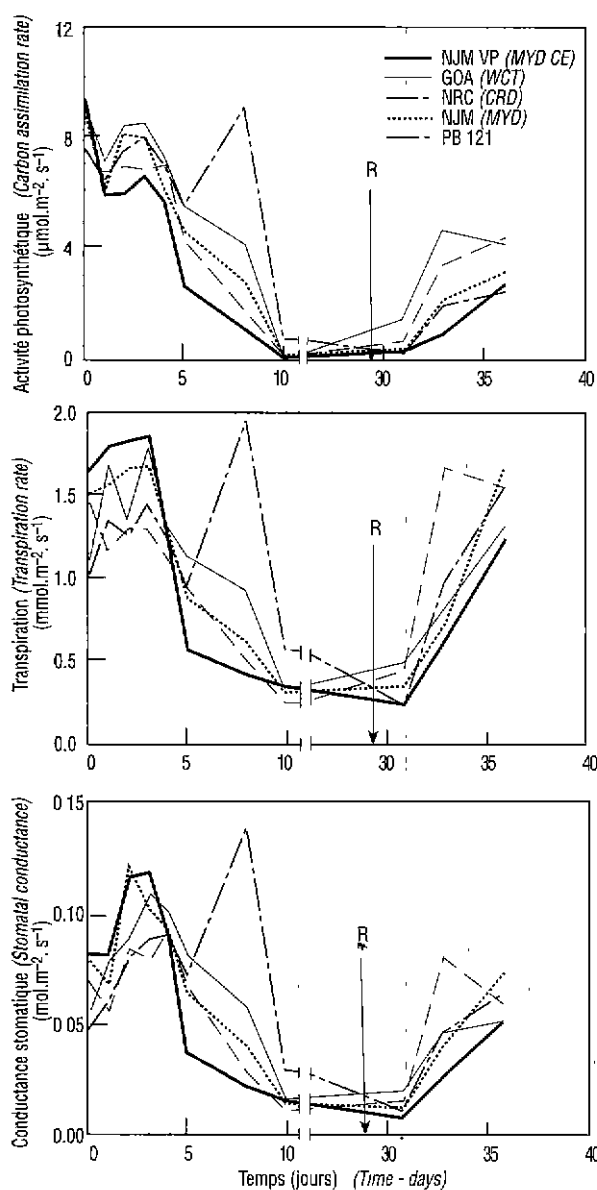


FIG. 2. — Effet de la suspension d'arrosage (j 0 à j 29) et de la réhydratation (R, j 30 à j 36) sur l'activité photosynthétique nette ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), la transpiration ($\text{mmol H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) et la conductance stomatique ($\text{mol H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) — (Effect of halting watering -day 0 to day 29- and rehydrating -R, day 30 to day 36- on net carbon assimilation - $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ -, transpiration - $\text{mmol H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ - and stomatal conductance - $\text{mol H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ -.)

RESULTATS

Evolution du potentiel hydrique et du contenu relatif en eau en fonction de la durée de la sécheresse

Les plantes contraintes ont été soumises pendant 29 jours à une sécheresse expérimentale imposée par suspension d'arrosage. Au cours de l'expérience, on observe pour toutes ces plantes une diminution du potentiel hydrique et du contenu relatif en eau (Fig. 1). Après 29 jours de suspension d'arrosage, les plantes ont été réhydratées pendant 6 jours. Le potentiel hydrique et le contenu relatif en eau des 5 variétés reprennent leur valeur initiale deux jours après la réhydratation.

Durant les 8 premiers jours de traitement, il n'y a pas de différences entre les 5 variétés. Ce n'est que pendant la seconde phase de la contrainte hydrique (du jour 8 au jour 29)

RESULTS

Variations in water potential and relative water content depending on the duration of water stress

The stressed plants were subjected for 29 days to experimental drought imposed by not watering. During the experiment, a drop in water potential and in relative water content were seen for all these plants (Fig. 1). After not watering for 29 days, the plants were rehydrated for 6 days. The water potential and relative water content returned to their initial value in all five varieties two days after rehydration.

There was no difference between the 5 varieties for the first 8 days of the treatment and it was not until the second phase of

que les variétés peuvent être classées en fonction de leur vitesse de déshydratation.

Trois variétés présentent une vitesse de déshydratation rapide. Il s'agit des variétés NJM, NRC et NJM VP. Au sein même de ce groupe, il existe des différences : NRC et NJM VP se déshydratent plus vite que NJM. La variété GOA présente une vitesse de déshydratation faible. Entre ces extrêmes, la variété PB 121 présente une vitesse de déshydratation moyenne. Elle est proche de son parent GOA en ce qui concerne la diminution du potentiel hydrique, par ailleurs la vitesse de diminution de son contenu relatif en eau est intermédiaire entre celle des deux parents GOA et NJM.

Evolution de la conductance stomatique, de la transpiration totale et de l'activité photosynthétique en fonction de la durée de la suspension d'arrosage

Les graphiques de la figure 2 montrent que la sécheresse provoque la diminution des trois paramètres. Après 10 jours de suspension d'arrosage, les plantes des 5 variétés ont cessé de fixer le gaz carbonique et de transpirer car leurs stomates sont fermés. Après la réhydratation, on observe une reprise de la transpiration et de l'activité photosynthétique due au moins en partie à la réouverture des stomates.

Les 3 paramètres étudiés évoluent de manière identique sous l'effet de la contrainte hydrique pour les 5 variétés : ils présentent une phase de maintien puis une phase de déclin. Les différences observées entre les variétés ne sont pas importantes. Cependant, la variété NJM VP se distingue par une transpiration totale et une conductance stomatique élevée et par une activité photosynthétique faible. Cette variété présente donc une plus faible efficacité de l'eau que les autres. La variété NRC présente une reprise de l'activité photosynthétique, de la transpiration et de la conductance stomatique pendant la suspension d'arrosage.

Après la réhydratation, la transpiration et la conductance stomatique retrouvent leur valeur initiale plus rapidement que l'activité photosynthétique. Ceci est très net pour la variété PB 121. Après 7 jours de réhydratation, l'activité photosynthétique moyenne, toutes variétés confondues, est de 40 % inférieure à la moyenne initiale. On observe de plus que les 3 variétés naines présentent une reprise plus lente que celle du GOA et du PB 121.

Corrélation entre les paramètres

Après avoir examiné l'évolution des paramètres au cours de la contrainte hydrique, nous avons recherché les corrélations qui peuvent exister entre eux.

- Evolution de l'activité photosynthétique en fonction du potentiel hydrique

La relation entre les 2 paramètres est de type linéaire (Fig. 3 et Tabl. I). Elle est équivalente pour 4 variétés. Seule la variété NRC présente un comportement particulier : il n'existe pas de relation entre le potentiel hydrique et l'activité photosynthétique.

- Evolution de la conductance stomatique en fonction du potentiel hydrique

La relation entre les 2 paramètres est de type linéaire lorsque les valeurs de conductance stomatique sont inférieures à $0,07 \text{ mol. m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ (Fig. 4 et Tabl. I). Ces résultats montrent que les stomates se ferment dans un premier temps sans que le potentiel hydrique diminue.

water stress (day 8 to day 29) that the varieties could be classified according to their dehydration rate.

Three varieties had a rapid dehydration rate: MYD, CRD and MYD CE. There were differences even within this group: CRD and MYD CE became dehydrated more quickly than MYD. The WAT variety had a slow dehydration rate. PB 121 had a moderate dehydration rate falling between these two extremes. It was similar to its WAT parent as regards the drop in water potential; moreover, the speed of the fall in its relative water content was intermediate between that of the two parents, WAT and MYD.

Variations in stomatal conductance, total transpiration and carbon assimilation depending on how long watering is halted

The graphs in figure 2 show that water stress caused a drop in the three parameters. Ten days after halting watering, the plants of all five varieties stopped fixing carbon dioxide and transpiring, as their stomata were closed. After rehydration, resumed transpiration and carbon assimilation due at least in part to reopening of the stomata were seen.

The three parameters studied changed identically for all five varieties under the effect of water stress: a maintenance phase followed by a decline phase. The differences observed between the varieties were not great. However, the MYD CE variety stood out due to its high total transpiration and stomatal conductance and its low carbon assimilation. This variety therefore has poorer "water efficiency" than the others. The CRD variety resumed carbon assimilation, transpiration and stomatal conductance during the suspended watering period.

After rehydration, transpiration and stomatal conductance returned to their initial value more quickly than carbon assimilation. This was very marked for PB 121. After 7 days of rehydration, mean carbon assimilation for all varieties combined was 40% less than the initial mean. Moreover, the three dwarf varieties were seen to resume carbon assimilation more slowly than the WAT and the PB 121.

Correlation between parameters

After examining the changes in the parameters during water stress, we looked for any correlations that might exist between them.

- Changes in carbon assimilation depending on water potential

The relation between the two parameters was linear (Fig. 3 and Table I). It was the same for 4 varieties. Only the performance of the CRD was different: there was no relation between water potential and carbon assimilation.

- Changes in stomatal conductance depending on water potential

The relation between the two parameters was linear when the stomatal conductance values were less than $0,07 \text{ mol. m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ (Fig.4 and Table I). These results show that the stomata closed initially without any drop in water potential.

TABLEAU I. — Valeur de r^2 des régressions linéaires établies entre les différents paramètres : activité photosynthétique (A) et potentiel hydrique (Ψ_h), conductance stomatique (gs) et potentiel hydrique (Ψ_h), activité photosynthétique (A) et conductance stomatique (gs) — (Value of r^2 of the linear regressions established between the different parameters: carbon assimilation -A- and water potential - Ψ_h -, stomatal conductance -gs- and water potential - Ψ_h -, carbon assimilation -A- and stomatal conductance -gs-).

Hybrides (Hybrids)	GOA (WAT)	PB121	NJM (MYD)	NRC (CRD)	NJM VP (MYD CE)
r^2 (A/ Ψ_h)	0,563	0,387	0,583	0,0008	0,618
r^2 (gs/ Ψ_h)	0,439	0,355	0,527	0,0125	0,563
r^2 (A/gs)	0,390	0,553	0,628	0,493	0,606

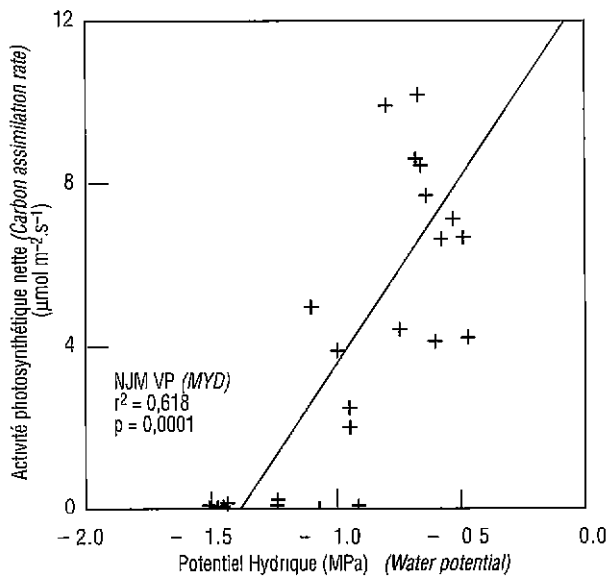


FIG. 3. — Relation entre l'activité photosynthétique nette ($\mu\text{mol CO}_2\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$) et le potentiel hydrique (MPa) de j : 0 à j : 10 de la suspension d'arrosage, pour la variété NJM VP — (Relation between net carbon assimilation - $\mu\text{mol CO}_2\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ - and water potential -MPa- from day 0 to day 10 of no watering, for variety MYD CE)

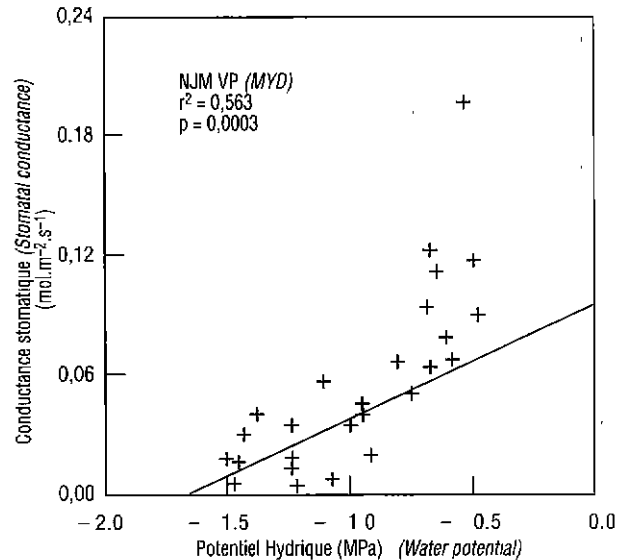


FIG. 4. — Relation entre la conductance stomatique ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$) et le potentiel hydrique (MPa) de j : 0 à j : 10 de la suspension d'arrosage, pour la variété NJM VP — (Relation between stomatal conductance - $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$ - and water potential -MPa- from day 0 to day 10 of no watering, for variety MYD CE)

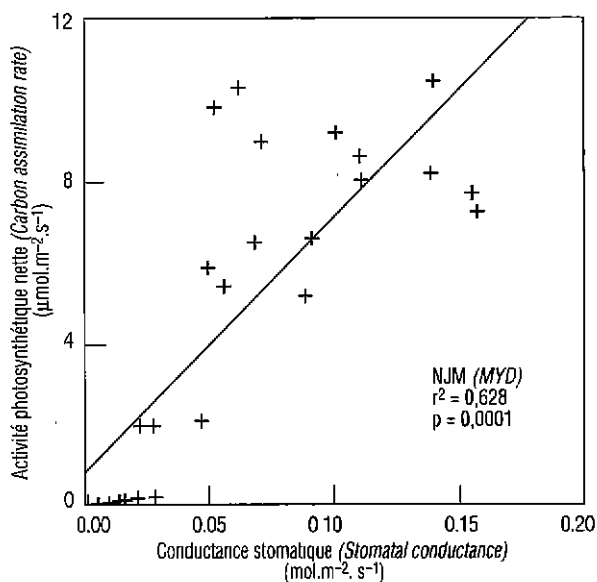


FIG. 5. — Relation entre l'activité photosynthétique nette ($\mu\text{mol CO}_2\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$) et la conductance stomatique (exprimée en $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$) de j : 0 à j : 10 de la suspension d'arrosage, pour la variété NJM — (Relation between net carbon assimilation - $\mu\text{mol CO}_2\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ - and stomatal conductance -expressed in $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$ - from day 0 to day 10 of no watering, for variety MYD)

- Relation entre l'activité photosynthétique et la conductance stomatique

Les courbes de la figure 5 montrent qu'il existe une relation linéaire entre les 2 paramètres. Il semblerait, d'après les résultats, que pendant la contrainte hydrique, le principal facteur de diminution de l'activité photosynthétique soit la fermeture des stomates. Ceci est vrai pour toutes les variétés (Tabl. I).

Diminution du contenu relatif en eau de folioles détachées

Les courbes de la figure 6 montrent le suivi du dessèchement de folioles après leur excision. L'évolution de la teneur relative en eau de chaque variété permet de distinguer 3 types de réponse : NJM VP présente une vitesse de déshydratation élevée, au contraire la variété GOA répond à l'excision par une faible vitesse de déshydratation, enfin des valeurs moyennes sont obtenues pour NJM, NRC et PB 121.

Mesure de la transpiration cuticulaire

La transpiration cuticulaire constitue le seul mécanisme de perte d'eau lorsque les stomates sont fermés. C'est donc un paramètre important puisque les stomates se ferment après quelques jours de suspension d'arrosage. La transpiration cuticulaire a été mesurée sur des segments de folioles traités à l'acide abscissique.

NRC présente la plus forte transpiration cuticulaire ($1.77 \pm 0.14 \text{ mgH}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$). GOA et PB 121 présentent une transpiration cuticulaire faible (1.25 ± 0.27 et $1.24 \pm 0.10 \text{ mgH}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ respectivement). NJM et NJM VP présentent une transpiration cuticulaire moyenne (1.49 ± 0.11 et $1.40 \pm 0.19 \text{ mgH}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ respectivement).

Évolution de la teneur en acides gras totaux au cours de la sécheresse

Les teneurs en acides gras de l'extrait lipidique total ont été mesurées dans le cas des plantes témoins ou soumises à une contrainte hydrique moyenne et sévère. La suspension d'arrosage provoque dans tous les cas la diminution de la teneur totale en acides gras (Fig. 7). Cependant, on observe différents comportements : les variétés PB 121 et NJM VP perdent peu de lipides aussi bien lors de la sécheresse moyenne (18% et 14% de pertes respectivement) que de la sécheresse sévère (0 et 10% respectivement) : les variétés GOA et NRC présentent des pertes importantes lors de la sécheresse moyenne (36% et 42% respectivement), le phénomène s'atténuant par la suite, et enfin, la variété NJM perd peu de lipides lors de la sécheresse moyenne (6%), par contre la perte est de 30% en réponse à la sécheresse sévère.

Les quantités d'acides gras des différentes catégories lipidiques ont été déterminées dans le cas des plantes hydratées ou soumises à une sécheresse sévère. Le monogalactosyldiacylglycérol (MGDG) et le digalactosyldiacylglycérol (DGDG) sont les deux catégories lipidiques les plus représentées (Fig. 8) : le MGDG représente à lui seul environ 30% de la masse totale d'acides gras. Ces catégories lipidiques sont caractéristiques du compartiment chloroplastique.

Le traitement de sécheresse induit une diminution des teneurs en acides gras constitutifs des différentes catégories lipidiques (Fig. 8). Chez les 5 variétés, les teneurs en galactolipides présentent les plus importantes diminutions.

- Relation between carbon assimilation and stomatal conductance

The curves in figure 5 show that there was a linear relation between the 2 parameters. The results would seem to indicate that the main factor reducing carbon assimilation during water stress was stomatal closure. This was true for all the varieties (Table I).

Reduction in the relative water content of detached leaflets

The curves in figure 6 show the gradual drying out of the leaflets after excision. The changes in relative water content for each variety reveal three types of response: MYD CE had a rapid dehydration rate, unlike the WAT variety which responded to excision with a slow dehydration rate, and moderate dehydration rates were obtained for MYD, CRD and PB 121.

Measurement of cuticular transpiration

Cuticular transpiration is the only water loss mechanism when the stomata are closed. It is therefore an important parameter since the stomata closed a few days after watering was halted. Cuticular transpiration was measured on leaflet segments treated with abscisic acid.

CRD had the highest cuticular transpiration ($1.77 \pm 0.14 \text{ mgH}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$). WAT and PB 121 had low cuticular transpiration (1.25 ± 0.27 and $1.24 \pm 0.10 \text{ mgH}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ respectively). MYD and MYD CE had moderate cuticular transpiration (1.49 ± 0.11 and $1.40 \pm 0.19 \text{ mgH}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ respectively).

Changes in total fatty acid content during water stress

The fatty acid contents of the total lipid extract were measured in both control plants and those subjected to mild and severe water stress. Halting watering caused a drop in overall fatty acid content in all cases (Fig. 7). However, different performances were observed: varieties PB 121 and MYD CE lost few lipids during both mild stress (18% and 14% losses respectively) and severe stress (0 and 10% respectively); varieties WAT and CRD revealed substantial losses during mild stress (36% and 42% respectively), which subsequently lessened and, finally, MYD lost few lipids during mild stress (6%), but lost 30% in response to severe stress.

The quantities of fatty acids for the different lipid categories were determined in both control plants and those subjected to severe stress. Monogalactosyldiacylglycerol (MGDG) and digalactosyldiacylglycerol (DGDG) were the two lipid categories most represented (Fig. 8); MGDG alone accounted for 30% of the total mass of fatty acids. These lipid categories are characteristic of the chloroplast compartment.

The water stress treatment induced a reduction in the fatty acid contents of the different lipid categories (Fig. 8). In the 5 varieties, the galactolipid contents underwent the greatest reductions. However, differences were observed, notably as

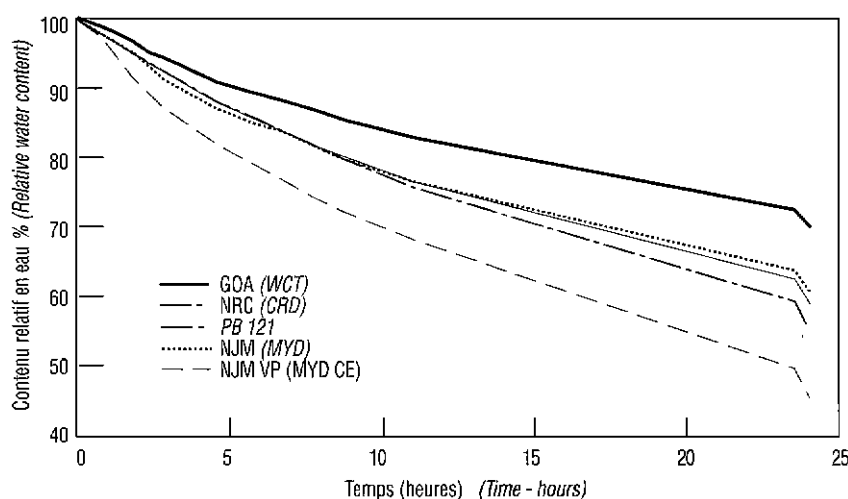


FIG. 6. — Evolution du contenu relatif en eau de folioles détachées, prélevées sur des plantes hydratées puis soumises pendant 24 heures à un dessèchement dans des conditions de lumière ($200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), de température (26°C) et d'humidité relative (60 %) constantes. — (Changes in the relative water content of detached leaflets, taken from control plants then subjected to drying out for 24 hours under constant light $-200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, temperature -26°C - and relative humidity -60% - conditions)

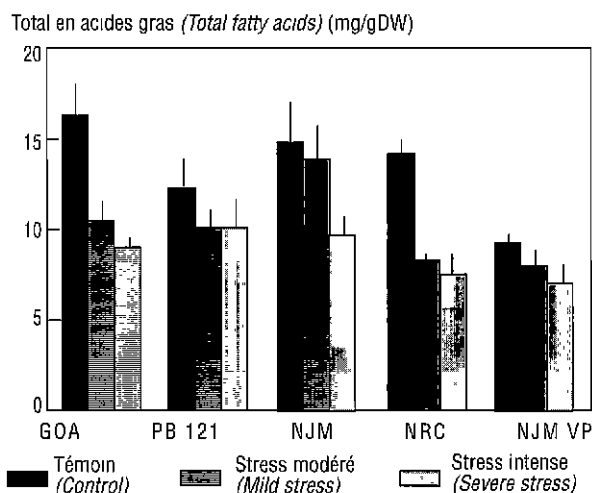


FIG. 7. — Effet de l'intensité de la contrainte hydrique sur les teneurs totales en acides gras des lipides foliaires, témoin, potentiel hydrique compris entre $-0,4$ et $-0,7$ MPa ; stress modéré, potentiel hydrique compris entre $-1,3$ et $-1,5$ MPa ; stress intense, potentiel hydrique compris entre $-1,8$ et $-2,2$ MPa — (Effect of water stress intensity on overall leaf lipid fatty acid contents Control, water potential between $-0,4$ and $-0,7$ MPa, mild stress, water potential between $-1,3$ and $-1,5$ MPa; severe stress, water potential between $-1,8$ and $-2,2$ MPa)

Cependant, on observe des différences notamment en ce qui concerne la diminution de la quantité d'acides gras dans le MGDG. Celle-ci est plus faible chez PB 121 (-24%) que chez les autres variétés : NRC présente une diminution de 61%, GOA présente une diminution moyenne de 39%. Les deux Nains Jaunes NJM et NJM VP présentent des diminutions équivalentes (56 et 55% respectivement).

La réhydratation des plantes entraîne la remontée des teneurs en acides gras des lipides. Ce phénomène témoigne d'une reprise des synthèses et/ou d'un ralentissement des phénomènes dégradatifs. Après 4 jours de réhydratation, les teneurs totales en acides gras représentent chez les 5 variétés 80% des teneurs initiales.

DISCUSSION

La tolérance cellulaire à la déshydratation est un facteur indispensable à l'adaptation à la sécheresse. En effet, elle permet d'une part, de conserver une activité fixatrice de gaz carbonique pendant les périodes de sécheresse (Lopez *et al.*, 1988) et d'autre part, d'assurer une reprise rapide de la croissance et de la production de biomasse lorsque l'eau est à nouveau disponible. Dans le cas des jeunes cocotiers soumis à une contrainte édaphique, la fermeture des stomates semble le

regards la réduction de la quantité de fatty acids in the MGDG, which was lower in PB 121 (-24%) than in the other varieties: 61% drop in CRD, mean drop of 39% in WAT. The two yellow dwarfs MYD and MYD CE revealed equivalent reductions (56 and 55% respectively).

Plant rehydration led to a rise in the fatty acid contents of the lipids. This phenomenon reflects resumed synthesis and/or a slowing down of the deteriorating phenomena. After four days of rehydration, the overall fatty acid contents were 80% of the initial contents in all five varieties.

DISCUSSION

Cellular tolerance of dehydration is an essential factor in adaptation to drought. In fact, it makes it possible to maintain carbon dioxide fixation during periods of water stress (Lopez *et al.*, 1988) and to ensure rapid resumption of growth and biomass production once water is available again. In the case of young coconuts subjected to edaphic water stress, stomatal closure seems to be the main carbon assimilation limiting

principal facteur limitant l'activité photosynthétique : les jeunes cocotiers adoptent donc une stratégie d'évitement de la déshydratation. Une stratégie similaire a été observée dans le cas de cocotiers adultes (Daniel et Ochs, 1978) mais ce résultat n'avait jamais été mis en évidence dans le cas de jeunes cocotiers.

La fixation nette du gaz carbonique atmosphérique est rapidement inhibée par la fermeture des stomates. Ce phénomène limite donc l'observation des effets de la suspension d'arrosage sur les processus photosynthétiques chloroplastiques.

Après la réhydratation, nous avons constaté que la conductance stomatique n'est plus le principal facteur limitant la photosynthèse. Ceci peut s'expliquer par un dysfonction-

factor: young coconuts therefore adopt a dehydration avoidance strategy. A similar strategy has been observed in the case of adult coconuts (Daniel and Ochs, 1978), but this result had never been detected in young coconuts.

Net fixation of atmospheric carbon dioxide is rapidly inhibited by stomatal closure. This phenomenon therefore limits observation of the effect of halting watering on chloroplastic photosynthesis processes.

After rehydration, we noted that stomatal conductance was no longer the main factor limiting photosynthesis. This may be explained by chloroplast malfunctioning after the series of

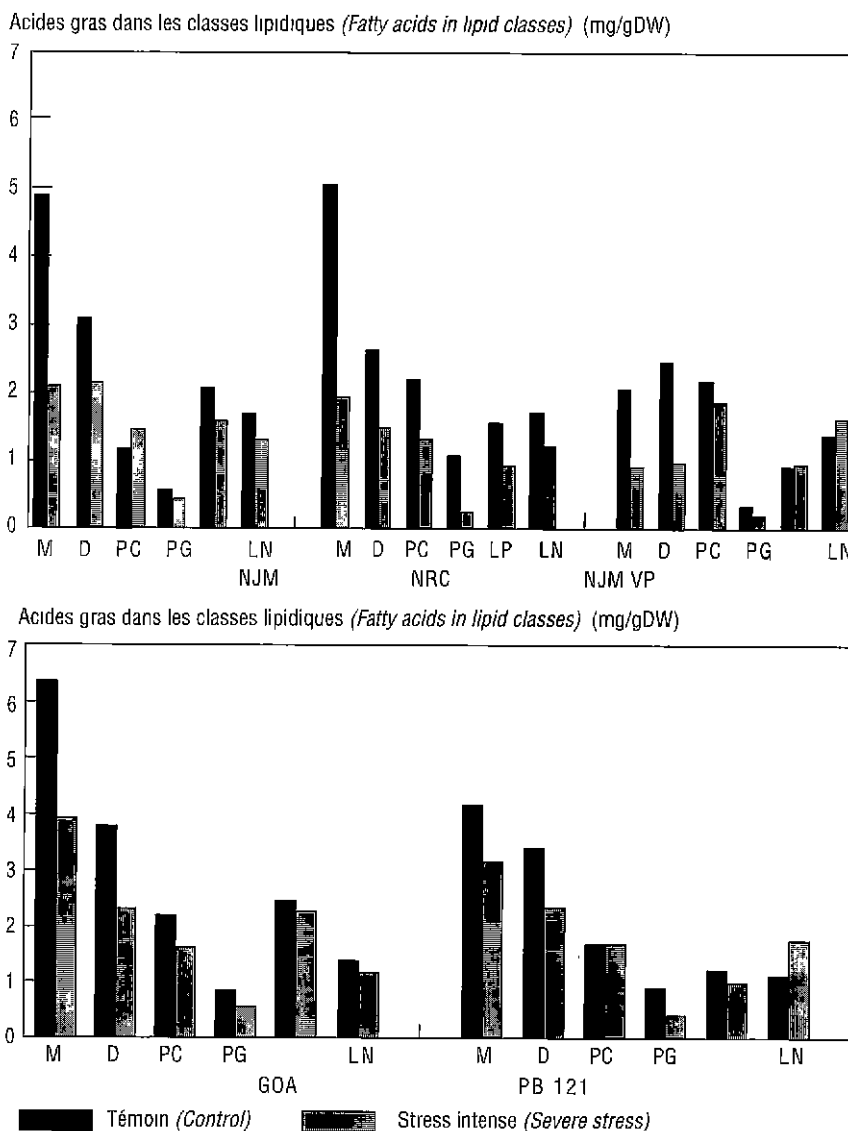


FIG. 8. — Effet de l'intensité de la contrainte hydrique sur les teneurs en acides gras des différentes classes lipidiques. MGDG, monogalactosyldiacylglycérol, DGDG digalactosyldiacylglycérol ; PC phosphatidylcholine ; PG phosphatidylglycérol ; PE, phosphatidylethanolamine ; PL, autres phospholipides (phosphatidylinositol + diphosphatidylglycérol + acide phosphatidique) ; LN lipides neutres. témoin, potentiel hydrique compris entre -0,4 et -0,7 MPa ; stress intense, potentiel hydrique compris entre -1,8 et -2,2 MPa — (Effect of water stress intensity on the fatty acid contents of the different lipid categories MGDG monogalactosyldiacylglycerol, DGDG digalactosyldiacylglycerol, PC phosphatidylcholine, PE, phosphatidylethanolamine, PL, other phospholipids (phosphatidylinositol + diphosphatidylglycerol + phosphatidic acid - NL, neutral lipids. Control, water potential between -0.4 and -0.7 MPa; severe stress, water potential between -1.8 and -2.2 MPa)

nement des chloroplastes consécutif à la cascade de perturbations qui surviennent quand les stomates commencent à se fermer (augmentation de la température foliaire, photo-inhibition, etc, Chaves, 1991). Il semble qu'une contrainte hydrique prolongée provoque l'intervention de facteurs non-stomatiques dans la régulation de la photosynthèse.

Lors de l'installation de la sécheresse, la conductance stomatique détermine l'activité photosynthétique. Il importe donc de déterminer les facteurs responsables de la diminution de la conductance stomatique. Nos résultats ont montré que les premiers mouvements de fermeture des stomates ne dépendent ni du contenu relatif en eau, ni du potentiel hydrique des palmes. L'état hydrique des tissus foliaires n'est donc pas le signal qui déclenche la fermeture des stomates. Ce type de réponse a été observé chez d'autres plantes, et dans ce cas, c'est l'acide abscissique produit par les racines qui provoque la fermeture stomatique (Zhang et Davies, 1990 ; Passioura, 1988).

L'analyse des lipides membranaires montre que la sécheresse induit une diminution de la teneur en lipides foliaires et particulièrement celle des lipides chloroplastiques. Ce phénomène a été observé notamment dans le cas des légumineuses tropicales que nous avons étudiées (Pham Thi *et al.*, 1984 ; Pham Thi *et al.*, 1990). De plus, nous avons montré que la diminution du contenu en acides gras des lipides membranaires est d'autant plus importante que la variété est peu tolérante à la déshydratation. Il semble donc qu'il existe des différences intervariétales de tolérance à la déshydratation chez le cocotier. Il faut cependant remarquer que les 5 variétés de cocotier présentent des teneurs en acides gras membranaires très inférieures à celles des plantes annuelles étudiées et qu'elles sont voisines des teneurs mesurées chez des plantes reviviscentes telles que *Ramonda serbica* (Pham Thi *et al.*, 1990). De plus, les différences observées entre les variétés de cocotier ne sont pas aussi importantes que les différences intervariétales déterminées dans d'autres genres. Ceci suggère que la résistance membranaire au déficit hydrique est élevée chez les 5 variétés de cocotier étudiées.

CONCLUSION

Les résultats obtenus au cours de cette étude permettent d'évaluer l'intérêt des différents paramètres utilisés pour la caractérisation de la résistance à la sécheresse des variétés de cocotier.

Paramètres relatifs aux échanges stomatiques de vapeur d'eau

Chez les 5 variétés, la transpiration et la conductance stomatique diminuent de manière identique sous l'effet de la contrainte hydrique. Ces paramètres ne permettent pas de séparer clairement les variétés les unes des autres. Ils ne constituent donc pas des critères adaptés à la sélection des jeunes cocotiers, comme c'est le cas pour le palmier à huile (Adjahossou, 1984). La conductance stomatique peut cependant être un paramètre discriminant chez les adultes comme l'a montré Rajagopal (1990). Néanmoins, ce type de mesure a permis de mettre en évidence l'existence d'un signal racinaire responsable de la réduction de la transpiration et de la conductance stomatique, surtout chez NRC. Ce signal pourrait être l'acide abscissique.

disruptions that occur when the stomata begin to close (increase in leaf temperature, photoinhibition, etc., Chaves, 1991). It seems that prolonged water stress brings non-stomatal factors into play in photosynthesis regulation.

When water stress sets in, stomatal conductance determines carbon assimilation. It is therefore important to determine the factors responsible for the reduction in stomatal conductance. Our results showed that the first moves to close the stomata depended neither on the relative water content, nor on the water potential of the fronds. The water status of leaf tissues is not therefore the signal that triggers stomatal closure. This type of response has been observed in other plants and, in this case, it is abscisic acid produced by the roots that causes stomatal closure (Zhang and Davies, 1990; Passioura, 1988).

*An analysis of membrane lipids showed that water stress induced a reduction in leaf lipid contents, especially that of chloroplast lipids. This phenomenon was particularly seen in the tropical legumes we studied (Pham Thi et al., 1984, Pham Thi et al., 1990). Moreover, we showed that the reduction in membrane lipid fatty acid content was greater the less the variety was tolerant of dehydration. It therefore seems that there are differences between coconut varieties as regards dehydration tolerance. Nevertheless, it should be noted that the five coconut varieties had membrane fatty acid contents much lower than those of the annual plants studied and they were similar to the contents measured in reviviscent plants such as *Ramonda serbica* (Pham Thi et al., 1990). In addition, the differences observed between the coconut varieties were not as great as the intervarietal differences determined in other genera. This suggests that the membrane resistance to water stress is high in the five coconut varieties studied.*

CONCLUSION

The results obtained during this study can be used to assess the merits of the different parameters used for the characterization of drought resistance in Coconut varieties.

Parameters relative to stomatal water vapour exchanges

In the five varieties studied, transpiration and stomatal conductance diminish identically under the effect of water stress, but these parameters do not provide any clear distinction between the varieties. Hence they are not parameters suitable for the selection of young Coconuts, unlike the case of oil palm (Adjahossou, 1984). However, stomatal conductance can be a discriminative parameter for adult Coconuts, as shown by Rajagopal (1990). Nevertheless, this type of measurement did reveal the existence of a root signal responsible for reduced transpiration and stomatal conductance, especially in CRD. This signal could be abscisic acid.

Paramètres photosynthétiques

La diminution de l'activité photosynthétique survient de la même façon chez toutes les variétés. Ce paramètre n'est donc pas discriminant. Il permet néanmoins de mettre en évidence différents facteurs déterminant l'évolution de l'activité photosynthétique lors d'un déficit hydrique. Ceux-ci semblent être par ordre d'importance : la conductance stomatique, le potentiel hydrique des palmes et, dans une moindre mesure, leur contenu relatif en eau.

Paramètres relatifs à la vitesse de déshydratation

Ces paramètres sont discriminants lorsque la sécheresse imposée est sévère. Les différences entre les vitesses de déshydratation n'apparaissent que lorsque la conductance et la transpiration stomatiques sont nulles. Elles peuvent être dues à la variabilité de la transpiration cuticulaire qui existe dans le genre *Cocos*, variabilité qui a été observée chez les adultes par Rajagopal (1990).

Evolution de la composition lipidique des membranes cellulaires au cours du déficit hydrique

Les mesures ont permis de mettre en évidence des différences concernant la tolérance membranaire à la déshydratation, et en particulier de mettre en exergue la bonne tolérance de PB 121 par rapport à celle de ses parents GOA et NJM et par rapport au NRC, lequel présente la plus faible tolérance membranaire parmi les 5 variétés.

Tableau II. — Influence de la sécheresse sur divers paramètres physiologiques — (Effect of drought on various physiological parameters)

Variétés (Varieties)	Vitesse de déshydratation (Dehydration rate)		Transpiration cuticulaire (Cuticular transpiration)	Diminution des lipides (Lipid reduction)
	<i>in situ</i>	Foioles détachées (Detached leaflets)		
GOA (WAT)	+	+	+	+++
PB121	++	++	+	+
NJM (MYD)	+++	++	++	+++
NJM VP (MYD CE)	++++	++++	++	++
NRC (CRD)	++++	++	++++	++++

L'ensemble des résultats obtenus permet d'ébaucher un portrait de chacune des variétés. Seuls les paramètres discriminants ont été retenus (Tabl. II). Les différentes tendances détaillées apparaissent ainsi clairement :

— GOA conserve efficacement son stock d'eau au cours de la sécheresse. Cependant, il présente une sensibilité membranaire relativement élevée.

— NRC et NJM se distinguent par leurs importantes pertes en eau au cours de la contrainte hydrique. De plus, ils présentent une faible tolérance membranaire au déficit hydrique. Ce trait est encore plus marqué chez NRC. Les deux variétés naines ont donc une faible résistance à la sécheresse, ce qui est en accord avec les données de la littérature (de Nucé de Lamothe et Rognon, 1977).

— NJM VP se déshydrate plus rapidement que NJM. Il présente une tolérance membranaire à la sécheresse équivalente à celle de NJM.

Carbon assimilation parameters

The reduction in carbon assimilation occurs in the same way for all the varieties. Hence, this is not a discriminative parameter. Nevertheless, it does reveal different factors that determine changes in carbon assimilation under water stress. These seem to be as follows, in order of importance: stomatal conductance, water potential of the fronds and, to a lesser degree, their relative water content.

Parameters relative to the dehydration rate

These parameters are discriminative when the imposed water stress is severe. The differences between the dehydration rates do not appear unless stomatal conductance and transpiration are nil. They may be due to the variability in cuticular transpiration that exists in the Cocos genus, variability that was observed in adults by Rajagopal (1990).

Changes in cell membrane lipid composition during water stress

The measurements revealed differences as regards membrane tolerance of dehydration, and highlighted the good tolerance of PB 121 compared to that of its parents, WAT and MYD and compared to CRD, which has the lowest membrane tolerance of the five varieties.

All the results obtained provide a picture of each of the varieties. Only the discriminative parameters were chosen (Table II). The different tendencies listed thus appear clearly:

— *WAT easily conserves its stock of water during water stress, but it has relatively high membrane susceptibility.*

— *CRD and MYD stand out through their high water losses during water stress. In addition, they have low membrane tolerance of water stress. This trait is even more marked in CRD. Both dwarf varieties therefore have low drought resistance, which tallies with the data in the literature (de Nucé de Lamothe and Rognon, 1977).*

— *MYD CE becomes dehydrated more rapidly than MYD. Its membrane tolerance of drought is equivalent to that of MYD.*

Enfin, il faut souligner la position du PB 121 qui présente une tendance à la déshydratation globalement intermédiaire entre celle de ses deux parents GOA et NJM mais qui se distingue de ces derniers par une tolérance membranaire au déficit hydrique élevée. Les bonnes performances du PB 121 semblent se retrouver au champ puisqu'il a été montré, à partir de critères morphologiques, que l'hybride est plus résistant à la sécheresse que son parent GOA (Pomier et de Taffin, 1982 ; de Nuccé de Lamothe et Bénard, 1985).

PERSPECTIVES

Les travaux que nous avons réalisés sur les jeunes cocotiers ont permis d'ébaucher le portrait des variétés et de leur comportement vis-à-vis d'une sécheresse édaphique. Le nombre de paramètres utilisés n'est bien entendu pas exhaustif et il serait tout à fait souhaitable qu'il soit augmenté. Il serait intéressant, par exemple, de mesurer l'activité photosynthétique par des méthodes permettant d'éliminer le facteur stomatique, comme celles qui consistent à travailler en atmosphère enrichie en gaz carbonique (Chaves, 1991). Il serait également intéressant d'étudier les relations qui semblent exister entre le dessèchement racinaire et l'apparition dans les palmes d'un médiateur de la conductance stomatique comme l'acide abscissique. Enfin, l'emploi des techniques de biologie moléculaire appliquées à l'étude des réponses cellulaires à la déshydratation pourrait être très enrichissant. En effet, les récents travaux sur la résistance à la sécheresse ont mis en évidence l'importance de ce type de réponses qui assurent d'une part la continuité des activités physiologiques cellulaires pendant la sécheresse et d'autre part garantissent un redémarrage rapide à la réhydratation. Dans ce contexte, nous avons mis en évidence 2 enzymes hydrolytiques dont l'activité est stimulée en réponse à la sécheresse ; cette stimulation est d'autant plus importante que la variété considérée est sensible au déficit hydrique. Après purification des enzymes, leur microséquençage (qui est en cours pour l'une d'elles) permettra d'obtenir des sondes qui constitueront de puissants outils moléculaires pour :

- la sélection de géniteurs de cocotiers tolérants, présentant peu d'activités dégradatives correspondant à l'une ou l'autre enzyme. Ceci peut être facilement effectué par des tests ELISA réalisés à partir des anticorps monoclonaux,
- l'étude de la régulation de l'expression des gènes codant pour ces enzymes, avec comme but ultime la transformation des cocotiers et l'obtention de clones à faible activité hydrolytique.

Cette stratégie, envisagée ici dans le cas d'une lipase et d'une protéase dont on a montré qu'elles sont des marqueurs moléculaires de la tolérance à la sécheresse, peut être adaptée à toute autre enzyme jouant un rôle dans les réponses cellulaires à la contrainte hydrique.

Les travaux ont été financés par la Communauté Economique Européenne dans le cadre du contrat de recherche TS2A-0238-M (CD)

Lastly, it is important to emphasize the position of PB 121, which has dehydration tendency generally between that of its two parents, WAT and MYD, but it stands out from them through its high membrane tolerance of water stress. The good performance of PB 121 is also found in the field, since it has been shown from morphological criteria that the hybrid is more resistant to drought than its WAT parent (Pomier and de Taffin, 1982, de Nuccé de Lamothe and Bénard, 1985).

PROSPECTS

Our work on young coconuts provided a picture of the varieties and of their performance in relation to edaphic drought. Obviously, the number of parameters used was not exhaustive and it ought to be larger. For example, it would be interesting to measure carbon assimilation using methods that eliminate the stomatal factor, such as working in a carbon dioxide enriched atmosphere (Chaves, 1991). It would also be interesting to study the relations that seem to exist between the drying out of roots and the appearance of a stomatal conductance mediator, such as abscisic acid, in the fronds. Finally, using molecular biology applied to the study of cell responses to dehydration could be very worthwhile. Indeed, recent work on drought resistance has revealed the importance of this type of response, which ensures the continuity of cell physiological activity during drought and guarantees rapid resumption after rehydration. In this respect, we discovered two hydrolytic enzymes whose activity is stimulated in response to drought and the greater the susceptibility to drought of the variety considered, the greater was the stimulation. After purification of the 2 enzymes, their microsequencing (which is under way for one of them) will provide probes that will be powerful molecular tools for:

- selecting tolerant coconut parents, with few deterioration activities corresponding to one or other of the enzymes. This can easily be done with ELISA tests based on monoclonal antibodies;*
- studying the regulation of the expression of genes coding for these enzymes, with the ultimate aim of transforming coconuts and obtaining clones with low hydrolytic activity.*

This strategy, considered here for a lipase and a protease, which have been shown to be molecular markers for drought tolerance, can be adapted to any other enzyme playing a role in cellular responses to water stress.

This work was funded by the European Economic Community under research contract TS2A-0238-M (CD).

BIBLIOGRAPHIE

- [1] ADJAHOSSOU D F, P LOUGUET, J VIEIRA DA SILVA, 1984. Corrélations entre les résistances stomatiques de divers croisements de palmier à huile et la tolérance à la sécheresse. *Acta Oecol Plant*, 3 : 163-178
- [2] BALL J.T., 1987. Calculations related to gas exchange. *In: Stomatal Function*, Zeiger, Farquhar et Cowan Eds, Stanford Uni. Press, California, 445-476.
- [3] BEARDSELL M.F., D. COHEN. 1975. Relationships between leaf water status, abscisic acid levels and stomatal resistance in maize and sorghum *Plant Physiol*, 56 : 207-212.
- [4] BLIGH E.G., W.J. DYER, 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification *Can. J. Biochem. Physiol.*, 37 : 911-917.
- [5] CHAVES M.M., 1991. Effects of water deficit on carbon assimilation *J. Exp. Bot.*, 42 : 1-16.
- [6] DAIE J., 1988. Mechanisms of drought induced alteration in assimilate partitioning and transport in crops. *Critical Reviews in Plant Science*, 7 : 117-137
- [7] DANIEL C., R. OCHS. 1978. Recherches sur l'alimentation en eau de deux oléagineux tropicaux pérennes (palmier à huile et cocotier). *In: Journées de l'hydraulique*, Toulouse, 15 : 1-7.
- [8] DAVIES W.J., J. ZHANG. 1991. Root signals and the regulation of growth and the development of plants in drying soils *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 42 : 55-76.
- [9] DE NUCE DE LAMOTHE M., F. ROGNON, 1977. Les cocotiers nains à Port-Bouet I Nam Jaune Ghana, Nam Rouge Malais, Nam Vert Guinée Equatoriale. *Oléagineux*, 32 : 367-375
- [10] DE NUCE DE LAMOTHE M., G. BENARD, 1985. L'hybride de cocotier PB 121 ou Mawu *Oléagineux* 40 : 261-265
- [11] DUNGEY N.O., D.D. DAVIES, 1982. Protein turnover in isolated barley leaf segments and the effect of stress *J. Exp. Bot.*, 33 : 12-20
- [12] EL-HAFID L., A.T. PHAM THI, J. VIEIRA DA SILVA, 1989. Enzymatic breakdown of polar lipids in cotton leaves under stress ; degradation of monogalactosyl-diacylglycerol. *Plant Physiol Biochem*, 27 : 495-502.
- [13] FERRARI-ILIOU R., A.T. PHAM THI, J. VIEIRA DA SILVA, 1984. Effect of water stress on the lipid and fatty acid composition of cotton (*Gossypium hirsutum*) chloroplasts *Physiol. Plant.*, 62 : 219-224.
- [14] FERRARI-ILIOU R., A.T. PHAM THI, P. MAZLIAK, J. VIEIRA DA SILVA, 1992. Effets de la peroxydation des lipides membranaires sur la physiologie des végétaux. *Année Biologique*, 31 : 1-23.
- [15] HYGES G., 1951. Studies in plant transpiration I *Physiol. Plant.*, 4 : 57-183
- [16] LEPAGE M., 1967. Identification and composition of turnip roots lipids. *Lipids*, 2 : 244-250.
- [17] LEVITT J., 1972. Water stress. *In: Responses of plants to environmental stresses*. Acad. Press, New York pp 322-446.
- [18] LOPEZ F.B., T.L. SETTER, C.R. MACDAVID, 1988. Photosynthesis and water vapor exchange of pigeonpea leaves in response to water deficit and recovery. *Crop Sci.*, 28 : 141-145
- [19] MAY L.H., F.L. MILTHORPE, 1962. Drought resistance of crop plants *Field Crop Abstr.*, 15 : 171-179.
- [20] PASSIOURA J.B., 1988. Water transport in and to roots *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 39 : 245-265.
- [21] PHAM THI A.T., J. VIEIRA DA SILVA, 1980. Influence de la sécheresse sur l'ultrastructure mitochondriale chez le cotonnier. Quelques implications métaboliques. *Z. Pflanzenphysiol.*, Bd 100 : 351-358.
- [22] PHAM THI A.T., 1984. Action de la sécheresse sur les lipides polaires des feuilles de cotonnier (*Gossypium hirsutum* L.). *Bull. Soc. Bot. Fr.*, 131 : 89-97.
- [23] PHAM THI A.T., J. VIEIRA DA SILVA, P. MAZLIAK, 1990. The role of membrane lipids in drought resistance of plants. *Bull. Soc. Bot. Fr.*, 137 : 99-144.
- [24] POMIER M., G. DE TAFFIN, 1982. Tolérance à la sécheresse de quelques hybrides de cocotiers. *Oléagineux*, 37 : 55-62.
- [25] RAJAGOPAL V., K.V. KASTURIBAI, S.R. VOLETI, 1990. Screening of coconut genotypes for drought tolerance. *Oléagineux*, 45 : 215-223.
- [26] ROGNON F., 1971. Les pépinières de cocotiers en sac plastique. Pratique agricole. *Conseils de l'IRHO Oléagineux*, 5.
- [27] ROY MACAULEY H., Y. ZUILY-FODIL, M. KIDRIC, A.T. PHAM THI, J. VIEIRA DA SILVA, 1992. Effect of drought stress on proteolytic activities in *Phaseolus* and *Vigna* leaves from sensitive and resistant plants. *Physiol. Plant.*, 85 : 90-96
- [28] SLAVIK B., 1974. Method of studying plant water relations. *In: Ecological studies*. Vol 9. Penka et Jarvis Ed, Academia, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 449 p.
- [29] STEWART C.R., A.D. HANSON, 1980. Proline accumulation as a metabolic response to water stress. *In: Adaptation of plants to water and high temperature stress*. Ed. Turner N.C. and P.J. Kramer. Wiley-Interscience Publication, Canada : 173-190
- [30] VARTANIAN N., 1981. Some aspects of structural and functional modifications induced by drought in root systems *Plant and Soil*, 63 : 83-92.
- [31] VASQUEZ-TELLO A., Y. ZUILY-FODIL, A.T. PHAM THI, J. VIEIRA DA SILVA, 1990. Electrolyte and Pi leakages and solute sugar content as physiological tests for screening resistance to water stress in *Phaseolus* and *Vigna species* *J. Exp. Bot.*, 41 : 827-832.
- [32] VIEIRA DA SILVA J., 1968. 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*, 167 : 1289-1292
- [33] YVON CAEMMERER S., G.D. FARQUHAR, 1981. Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves *Planta*, 153 : 376-387.
- [34] WEATHERLEY P.E., 1950. Studies in the water relations of the cotton plant I. The field measurements of the water deficits in the leaves *New Phytol.*, 49 : 81-97.
- [35] WRIGHT S.T., R.W.P. HIRON, 1969. (+) Abscisic acid, the growth inhibitor induced in detached wheat leaves by a period of wilting. *Nature*, 224 : 719-720
- [36] ZHANG J., W.J. DAVIES, 1990. Does ABA in the xylem control the rate of leaf growth in soil-dried maize and sunflower plants. *J. Exp. Bot.*, 41 : 1125-1131
- [37] ZUILY-FODIL Y., A. VASQUEZ-TELLO, J. VIEIRA DA SILVA, 1990. Effect of water deficit on cell permeability and on chloroplast integrity *Bull. Soc. Bot. Fr.*, 137 : 115-123

RESUMEN

Interés de las pruebas fisiológicas en la caracterización del comportamiento de diferentes variedades de cocotero sometidos a la sequía

A. REPELLIN, C. DANIEL, Y. ZUILY-FODIL, *Oléagineux*, 1994, 49, N°4, p. 155-169

Hemos estudiado los efectos de una sequía edáfica sobre el estado hídrico (potencial hídrico foliar y contenido relativo de agua), los intercambios gaseosos (transpiración, conductancia estomática y asimilación neta del gas carbónico atmosférico), el contenido y la composición de lípidos membranosos de las hojas de los cocoteros jóvenes (*Cocos nucifera* L.). Se llevan a cabo estos estudios con miras a, por un lado afinar los conocimientos referente a los mecanismos fisiológicos desarrollados por el cocotero como respuesta al apremio hídrico y por otro lado, estimar la validez de los parámetros fisiológicos estudiados como criterios de selección de genotipos resistentes a la sequía. Se estudiaron cinco variedades de cocotero. Con más o menos precisión se conoce su resistencia a la sequía en el campo: el Enano Amarillo de Malasia, EAM (sensible), el Enano Rojo de Camerún, ERC (sensible); el Grande Oeste Africano, GOA (medianamente resistente); el PB 121 (EAM x GOA, resistente) y el Enano Rojo de Malasia, oriundo de embriones cultivados *in vitro*, EAM VP (sensibilidad desconocida). Las plantas tienen dos años de edad, cultivadas en bolsos individuales y sometidas a una sequía edáfica mediante suspensión de riego. Los resultados muestran que las variedades enanas se deshidratan más rápidamente que el GOA. El PB 121 presenta un comportamiento intermediario entre el de los dos padres GOA y EAM. En las cinco variedades es idéntica la cinética de disminución de los intercambios gaseosos como respuesta a la sequía. Se debe esencialmente a la supresión de los intercambios gaseosos al cierre de los estomas, fenómeno que depende poco del estado hídrico de las palmas. Esto sugiere que exista una señal racinar que induce la disminución de la conductancia estomática. Los contenidos de ácidos grasos de los lípidos foliares disminuyen como respuesta al apremio edáfico en las cinco variedades, especialmente en el compartamiento cloroplástico. Las pérdidas de ácidos grasos son muy importantes para el NRC, medias para el EAM, el GOA y el EAM y bajas para el PB 121. Esto sugiere que exista diferencias entre las variedades de resistencia celular a la deshidratación incluso si, en general, las cinco variedades de cocotero presentan características de fuerte resistencia. Los diferentes parámetros empleados permiten por un lado, evidenciar mecanismos fisiológicos aún desconocidos y por otro lado, distinguir variedades según su resistencia celular a la deshidratación.

Palabras claves. — Cocotero, fisiología, sequía, mecanismos de resistencia.