

O. R. S. T. O. M

OBSERVATIONS RELATIVES A L'INFLUENCE  
DE LA TOXICITE MANGANIQUE SUR LA  
REPARTITION DES CONSTITUANTS  
PHOSPHORES DU COTONNIER

J. Didier de Saint Amand  
L. Zuckerman.

- O R S T O M -

1967

OBSERVATIONS RELATIVES A L'INFLUENCE  
DE LA TOXICITE MANGANIQUE  
SUR LA REPARTITION DES CONSTITUANTS PHOSPHORES  
DU COTONNIER.

---

J. DIDIER DE SAINT-AMAND

L. ZUCKERMAN

## PLAN DE L'ETUDE

### I. INTRODUCTION

### II. CONDITIONS EXPERIMENTALES

- Définition du milieu nutritif
- Description du dispositif expérimental
- Variétés testées.

### III. METHODES ANALYTIQUES UTILISEES

- Pour le fractionnement des constituants phosphorés
- Pour l'analyse biométrique
- Pour la correction des termes fractionnaires d'un tout

### IV. RESULTATS ANALYTIQUES

### V. INTERPRETATION

### VI. CONCLUSION

OBSERVATIONS RELATIVES A L'INFLUENCE  
DE LA TOXICITE MANGANIQUE  
SUR LA REPARTITION DES CONSTITUANTS PHOSPHORES  
DU COTONNIER.

---

I. INTRODUCTION

L'étude de la toxicité du manganèse chez le cotonnier, et plus particulièrement de la résistance variétale à cet oligo-élément, a soulevé le problème des relations entre nutrition phosphorée et manganique. Quelques résultats expérimentaux ont mis en évidence une interaction de ces deux éléments minéraux dans la croissance du cotonnier, si bien qu'il a semblé intéressant d'étudier les conséquences de "l'état de toxicité" apporté dans le milieu nutritif par un taux élevé de manganèse sur la répartition des constituants organiques et minéraux comportant du phosphore. Cette étude, basée au départ sur l'hypothèse d'une action éventuelle du manganèse, a finalement mis en évidence des différences dans la répartition spatiale et quantitative des constituants phosphorés chez le cotonnier. Ces différences se sont parfois trouvées être hautement significatives.

Les composés phosphorés du coton ont été assez fréquemment étudiés, les travaux s'attachent surtout à préciser leur répartition et leur détermination dans les graines ou les embryons.

De 1913 à 1918 ANDERSON et RATHER ont démontré que, chez les embryons de cotonnier, l'acide phytique est la forme essentielle de tous les composés phosphorés. ANDERSON par la suite a mis en évidence la présence d'hexaphosphate d'inositol RATHER, celle d'acide pentaphosphorique, estimés être des corps donnés par l'action de la phytase sur l'acide phytique.

FONTAINE, T.D. - PONS, W.A. ont présenté des résultats montrant un accroissement du phosphore sous sa forme minérale, au cours de la germination, en relation avec la disparition rapide de l'acide phytique.

PONS, W.A. et ses collaborateurs ont par la suite, étudié un système d'analyses des fractions du phosphore dans les plantes et, en 1953-ils ont indiqué des valeurs du phosphore phytique, minéral, lipidique, des esters phosphorés, et du phosphore nucléique dans les embryons de coton.

Plus récemment ERGLE, D.R. et EATON ont fourni des estimations sur ces mêmes fractions complétées par celles du phosphore protéique, dans des tissus variés de cotonnier et dans des embryons mûrs.

En 1959 ERGLE, D.R. et GUINN, G., font des estimations de toutes ces formes de composés au cours de la germination des graines de 3 variétés de cotonniers. Ils donnent pour les 3 embryons les proportions suivantes :

- 83 % de phosphore phytique
- 4 % de phosphore minéral
- 7 % de phosphore lipidique
- 3 % d' esters phosphoriques
- 1 % de phosphore protéique et nucléique

Ils notent quelques différences variétales, essentiellement dans le phosphore phytique qui se trouve être plus abondant chez les variétés tardives que chez les variétés précoces.

ERGLE, D.R., FRANCK, R.H. et KATTERMAN ont présenté en 1961, les résultats d'une étude sur la composition des acides désoxyribonucléiques de 9 génotypes de *Gossypium*. Ils précisent la teneur de 9,2 % en phosphore, du produit purifié, dont le caractère fibreaux est mis en évidence.

L'étude réalisée ici se propose d'exposer les résultats obtenus pour les composés phosphorés suivants :

- 1) Formes solubles dans l'acide trichloracétique (ATC) :  
minérales  
organiques : esters, phosphoglucides etc...
- 2) Formes non solubles dans l'ATC :  
phosphore lipidique
- 3) Phosphore protéique
- 4) Phosphore nucléique :  
P - ARN (= lié aux acides ribonucléiques)  
P - ADN (= lié aux acides désoxyribonucléiques)

Les dosages sont réalisés sur des tissus chlorophylliens et radiculaires de plantes adultes, âgées de 3 mois et ayant été soumises 1 mois et demi à un traitement susceptible d'induire un état toxique.

## II. CONDITIONS EXPERIMENTALES

### A) - INSTALLATION MATERIELLE

Le matériel utilisé pour les cultures est constitué de pots de polyéthylène de type "Riviera", comportant, à la base une réserve liquide qui, après vidange des pots, constitue un volume d'air en contact avec le système racinaire, et du sable saturé de solution nutritive. Un système d'écoulement est aménagé à la base afin de permettre une vidange complète des pots. Les pots sont remplis de sable quartzéux préalablement lavé à l'HCl, ce sable servant exclusivement de support aux plantes. L'ensemble est disposé dans une serre dont le minimum thermique est d'environ 22-23°, avec un degré hygrométrique moyen de 55°-60°. Chaque pot comporte 12 Kg de sable et a une réserve liquide de 6 litres de solution nutritive.

### - MILIEU NUTRITIF

La solution nutritive utilisée a la composition suivante :

#### - Eléments majeurs (en g par litre).

$PO_4 H_2 K$	0,162
$SO_4 Mg$	0,324
$NO_3 K$	0,566
$(NO_3)_2 Mg$	0,148
$(NO_3)_2 Ca$	0,912

Soit une concentration totale de 2,1 g par litre environ, en sels anhydres

La répartition anionique et cationique est la suivante, exprimée en pourcentage de chaque somme indépendante.

$NO_3$	$SO_4$	$PO_4$	K	Ca	Mg
67	20	13	27	44	29

La somme Anions + Cations correspond à 50 milliéquivalents.

Le rapport  $\frac{\text{Anions}}{\text{Cations}} = 1,1$

Le pH des solutions est ajusté à 4,8.

- Oligo-éléments.

a) dans les solutions-témoins.

1 - en mg par litre

$\text{SO}_4\text{Zn}$	0,85
$\text{SO}_4\text{Cu}$	0,18
$\text{BO}_3\text{H}_3$	0,85
$(\text{NH}_4)_6\text{MO}_7\text{O}_{24}$	0,10
$\text{Cl}_2\text{Mn}$	0,65

2 - Citrate ferrique ammoniacal

suivant composition q.s.p. 10 mg/l de fer ( $\text{Fe}^{+++}$ )

b) dans les solutions traitements

Le traitement comporte 60 mg/litre de Mn, sous forme de chlorure de manganèse. Le volume total de solution, par pot, étant maintenu à 6 litres, le manganèse introduit correspond donc à 100 ppm. Une aération journalière du système racinaire est opérée par descente des solutions durant quelques heures, la nuit.

Les montées et descentes des solutions sont entièrement automatisées.

B) - CONDUITE DE L'EXPERIENCE

Les graines ont été disposées dans les pots en semis direct, afin d'éviter, avec leur repiquage, des différences dans la profondeur du développement des racelles. La hauteur du plan de liquide au niveau des plantules est en effet extrêmement importante. Un ennoyage trop profond des jeunes racines aurait pour effet rapide une asphyxie susceptible de freiner de façon importante le démarrage de la croissance.

Le semis direct permet en prenant quelques soins d'homogénéiser avec précision la profondeur de l'emplacement des graines et de contrôler le niveau du liquide nutritif.

Après la levée, 6 plantes seulement sont conservées. Durant les 6 à 7 premiers jours les plantules sont alimentées par de l'eau permutée, puis durant les 8 jours suivants, avec la solution nutritive diluée par moitié. Les cultures sont ensuite alimentées avec la solution normale. Les pots destinés à l'étude du traitement manganique reçoivent 100 ppm de manganèse, en 2 à 3 fois, suivant l'aspect des plantes, et ceci, environ 3 semaines après le semis. Le traitement est poursuivi environ 45 jours. Les plantes sont alors récoltées, elles ont 2 mois et demi, et sont au stade du début de capsulaison. Dans le dispositif expérimental utilisé ici il a été prévu un échantillonnage moyen de feuilles et de racines sur 6 plantes témoins et sur 12 plantes intoxiquées, ceci en raison de l'importante différence de poids frais de matériel récolté suivant que les plantes ont reçu ou non le traitement manganique.

Sept variétés ont été mises en culture, dans les conditions qui viennent d'être décrites.

### C) - TRAITEMENT DES RECOLTES

Toutes les opérations sont effectuées dans le minimum de temps :

- Les plantes entières sont essuyées au papier Joseph puis séparées en feuilles, et racines.

- L'ensemble des feuilles d'une part, des racines d'autre part, est découpé grossièrement ou tronçonné.

- Sur le stock total de matière fraîche bien mélangée, on prélève un échantillon moyen de 200 à 300 g que l'on traite par lyophilisation à  $-60^{\circ}$  C.

- La matière cryodéséchée est réduite en poudre et conservée à  $-10^{\circ}$  C.

D) - VARIETES MISES EN CULTURE

Ces variétés nous ont été obligeamment fournies par les stations de recherche de l'I.R.C.T.

P. 14 T 129

- Sélectionné à la station de Bebedjia Moundou - Tchad.  
C'est un hybride complexe issu de panmixie réalisée à Bebedjia.  
C'est un cotonnier végétativement développé, à capsulation de tête importante, à grandes feuilles de couleur vert-jaune.  
Floraison tardive.

108 F

- Sélectionné à la station I.R.C.T. de Bône (Rép. algérien)  
Bon développement végétatif, caractères proches de P.14.T.129.

Deltapine

- Sélectionnée à la station I.R.C.T. de Bône.  
Développement végétatif moyen.

Coker 100 Wilt

- Sélectionné à la station I.R.C.T. de Bône.  
Variété introduite des Etats-Unis, caractérisée par sa résistance à la fusariose.

M 6 . S 306

- Sélectionnée à la station I.R.C.T. de Bebedjia-Moundou.  
C'est une variété voisine de Allen, présentant des branches fructifères et des entre noeuds courts.

Allen 151

- Cette variété a été sélectionnée à la station de Tiken (Rép. du Tchad) à partir de semences provenant de Nigeria

Acala 442

- Sélectionné à la station I.R.C.T. de Bône.  
Variété à floraison précoce.

### III. METHODES ANALYTIQUES UTILISEES

#### A - METHODE DE FRACTIONNEMENT DES COMPOSES PHOSPHORES

La méthode utilisée est publiée en détail dans la série O.R.S.T.O.M. "Initiation à la documentation Technique" (Méthodes de fractionnement et de dosage des constituants phosphorés végétaux, appliquées au Laboratoire de Diagnostic Foliaire de l'O.R.S.T.O.M. - J. DIDIER DE SAINT-AMAND, L. ZUCKERMAN, 1967).

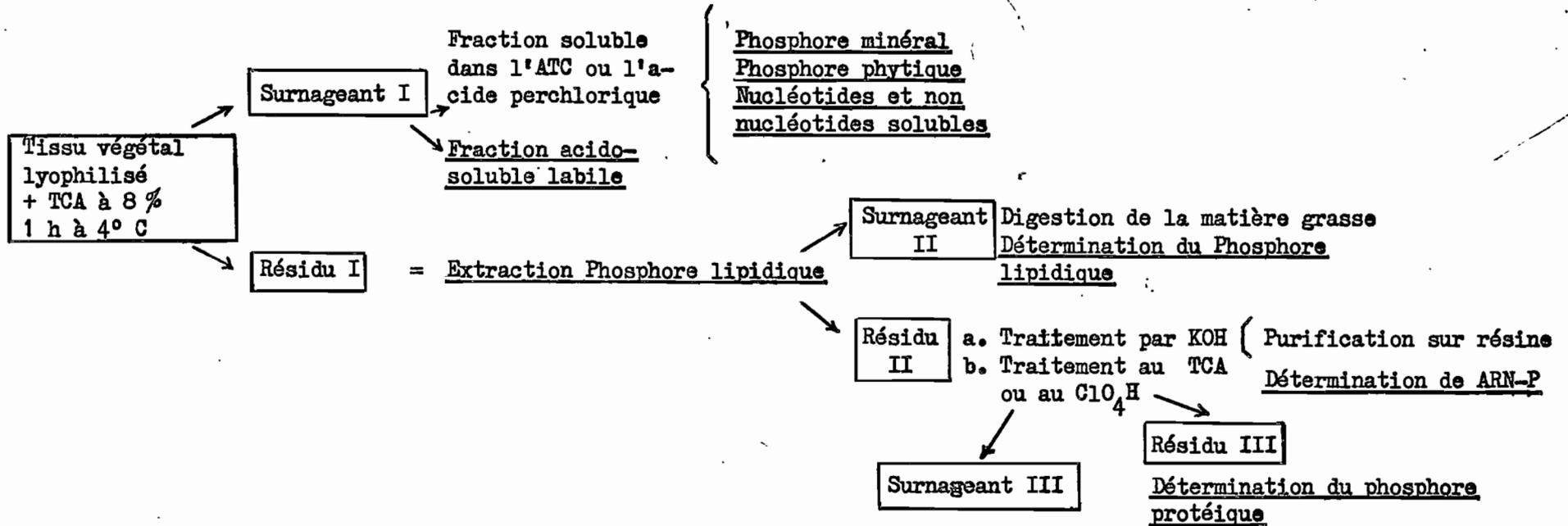
La détermination des constituants solubles dans l'acide trichloracétique : phosphore minéral acido-soluble - phosphore organique acido-soluble (Nucléotides solubles, nucléosides di et triphosphate labiles), ainsi que celle du phosphore lipidique font appel aux techniques Classiques de MARTIN, J.B. et DOTY, D.M. - 1949, de PONS et al - 1953, de INGLE, J. et BEEVERS, L. - 1964.

En ce qui concerne le phosphore nucléique, le P.ADN est déterminé par colorimétrie suivant les méthodes préconisées par BURTON, K. - 1956 et WEBB, J.M. et LEVY, H.B. - 1955, et le P-ARN est dosé par spectrophotométrie dans l'ultraviolet par application des méthodes de SMILLIE, R.M. et KROTKOV, G. - 1960, INGLE, J. - 1963, WEBB, J.M. - 1956, etc...

Enfin le phosphore protéique est déterminé par les méthodes de FISKE, C H. et SUBBAROW, Y. - 192 , de LOURY, O.H. - 1951, etc...

Le tableau résume l'ensemble des opérations de fractionnement qui sont réalisées.

SCHEMA DU FRACTIONNEMENT DES CONSTITUANTS PHOSPHORES  
DANS LA MATIERE VEGETALE



Détermination de l'ADN-P

- méthode à la diphénylamine
- méthode à la p-nitro-phénylhydrazine

## B - METHODE DE CORRECTION DES DONNEES

Les résultats exprimés ci-après concernent nous l'avons dit plus haut 7 variétés cultivées dans les mêmes conditions. Dans l'interprétation statistique qui en a été faite, chaque variété a été considérée comme une répétition dans un ensemble de blocs randomisés complets, à 2 traitements, (traitement Témoin (To) et traitement à 100 ppm de manganèse (TMn), et à 7 répétitions.

Les chiffres qui figurent dans les tableaux des pages 12 à 21 représentent des valeurs modifiées d'un coefficient de correction, afin que la somme des diverses fractions isolées soit égale à la valeur correspondant au phosphore total rapportée à 100.

En effet si l'on dose un tout globalement et que l'on dose séparément les fractions qui le constituent, les résultats des dosages particuliers ne cumulent qu'exceptionnellement au résultat du dosage du total. Ceci est dû, entre autre, à la variabilité analytique, au fait, par exemple, que les méthodes appliquées pour le fractionnement présentent un gradient de difficultés d'exécution en fonction de la nature du composant dosé. Le problème de la correction des résultats doit donc être posé.

Une méthode a été récemment proposée par DEJARDIN, J., elle est publiée dans la série O.R.S.T.O.M. "Initiation à la Documentation Technique" - 1967 J. DEJARDIN - R. CHAUME. C'est elle que nous avons appliquée. Elle repose sur le fait que la précision d'un dosage est caractérisé par sa variance, et le "poids" qu'on lui attribue est l'inverse de cette dernière.

Cependant dans la pratique, certains dosages, peuvent être plus ou moins longs et coûteux. Il s'ensuit des difficultés d'estimation de variance. Heureusement dans la quasi totalité des dosages les variances ne sont pas quelconques, elles sont fonction des moyennes, et on peut considérer 2 relations : moyenne/variance : variance proportionnelle à la moyenne, et, relation plus fréquemment observée, variance proportionnelle au carré de la moyenne. C'est cette dernière relation qui est retenue, pour la correction des termes fractionnaires mesurés.

La relation entre la variance et la moyenne s'exprime alors par  $\sigma_i^2 = K y_i^2$ .  
 Si  $y_t$  est la valeur donnée au total,  $y_i$  les valeurs des différentes fractions,  
 l'expression des correction des fractions et du total devient :

$$C_i = \frac{D}{\sum y_i^2 + y_t^2} y_i^2 \quad \text{et} \quad C_t = \frac{-D}{\sum y_i^2 + y_t^2} y_t^2$$

- Calcul de D :  $D = y_t - \sum_{i=1}^n y_i$ , de la somme des carrés de tous les dosages, y compris celui du total,  $S = \sum_{i=1}^n y_i^2 + y_t^2$  et du facteur constant  $C = D/S$ .

- Pour chaque  $y_i$ , obtention de  $Cy_i \cdot 1 + Cy_i$  et enfin de  $t_i = (1 + Cy_i) y_i$ .

- Pour  $y_t$ , obtention de  $Cy_t \cdot 1 - Cy_t$  et  $t_t = (1 - Cy_t) y_t$ .

Les corrections ont été opérées en utilisant le tableau ci-après :

Teneur en Total	Teneurs en Fraction	1 - tot 2	Poids Dosage Total	Poids Dosage Fractions	$\frac{1}{(4)}$	$\frac{1}{(5)}$	6 + tot 7	$\frac{(3)}{(8)}$	(7) x (9)	-(6) x (9)
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	(10)	(11)
$y_t$	$y_i$	D	$W_t$	$W_i$	$\frac{1}{W_t}$	$\frac{1}{W_i}$	P	$\frac{D}{P}$	$C_i$	$C_t$
	$y_1$			$W_1$		$\frac{1}{W_1}$			$C_1$	
	$y_2$			$W_2$		$\frac{1}{W_2}$			$C_2$	
	⋮			⋮		⋮			⋮	
	$y_n$			$W_p$		$\frac{1}{W_n}$			$C_n$	
$y_t$			$W_t$		$\frac{1}{W_t}$					$C_t$
	$\sum_i y_i$	D				$\sum_i \frac{1}{W_i}$				

Ce tableau est le modèle d'utilisation générale. Dans le cas particulier du fractionnement que nous avons opéré, les colonnes (4) et (5), respectivement "poids" attribué au dosage de P total et "poids" attribué aux dosages des différentes fractions, ont été supprimées et les colonnes (6) et (7), remplacées par  $y_t^2$  pour  $\frac{1}{W_t}$  et  $y_i^2$  pour  $\frac{1}{W_i}$ .

## IV. RESULTATS ANALYTIQUES

### A - DANS LES FEUILLES

#### 1 - Teneurs en phosphore total

Variétés Trait.	P. 14	108 F.	Delt.	Coker	M 6 S.	Allen	Acala
To	5.384	4.334	3.274	4.154	3.952	3.667	3.010
TMn	3.981	4.283	3.708	4.246	5.366	5.439	7.429

Teneurs exprimées en mg/g de matière sèche

L'effet du traitement manganique n'est pas significatif pour les teneurs en phosphore total, au niveau des feuilles. Cependant pour 5 sur 7 des variétés étudiées on peut observer une élévation, parfois très importante comme chez Allen ou Acala, chez les plantes intoxiquées. Ainsi, pour Allen, les taux de P total passent de 3,667 chez les témoins à 5,439 ce qui représente une augmentation de 60 %, tandis que les taux passent du simple à plus du double chez Acala.

On peut ainsi admettre qu'il y a bien une élévation du phosphore total liée à l'effet de la toxicité du manganèse.

#### 2 - Teneurs en formes solubles

. Phosphore Minéral .

Variétés Trait.	P. 14	108 F.	Delta.	Coker	M 6S.306	Allen	Acala
To	2.383	1.597	0.945	1.726	1.832	1.477	0.942
TMn	1.500	1.569	1.457	1.768	2.950	3.046	4.600

. Phosphore organique

- TABLEAU 3 -

Variétés Trait.	P. 14	108 F.	Delta	Coker	M 6S. 306	Allen	Acala
To	0.540	0.577	0.410	0.625	0.359	0.444	0.456
TMn	0.393	0.645	0.272	0.616	0.605	0.663	0.890

Teneurs exprimées en mg/g de matière sèche

- Il n'y a pas d'effet significatif du traitement sur les teneurs en P des fractions acido-solubles tant minérales qu'organiques, au niveau des feuilles. Cependant si l'on se reporte aux graphiques ci-après, on est frappé par la parfaite concordance des variations, observées sur le phosphore total et le phosphore minéral, pour les 7 variétés.

- Comme pour le phosphore total, 5 sur 7 des variétés présentent une élévation des valeurs du phosphore minéral acido-soluble dans les plantes intoxiquées. Cette augmentation est particulièrement remarquable chez M 6 S. 306, Allen et Acala où les valeurs passent respectivement de 1,832 à 2,950  
de 1,477 à 3,046  
de 0,942 à 4,000

Ainsi l'effet de la toxicité se traduit dans la majorité des cas par une augmentation du phosphore total, et cette augmentation est en relation directe avec celle de la fraction minérale.

- La fraction organique acido-soluble présente une plus grande stabilité. Cependant elle tend, elle aussi, à augmenter chez les variétés où apparaît une forte élévation du phosphore total dans les plantes intoxiquées.

### 3 - Teneurs en phosphore Lipidique

- TABLEAU 4 -

Variétés Trait.	P. 14	108 F.	Delta	Coker	M 6S. 306	Allen	Acala
To	0,855	0,643	0.450	0.544	0.740	0.666	0.662
TMn	0.740	0.988	0.688	0.745	0.888	0.770	1.017

Teneurs exprimées en mg/g de matière sèche

Ici, l'analyse biométrique des données indique que le traitement toxique élève significativement les teneurs en phosphore lipidique dans les feuilles.

Cette augmentation est dans les mêmes proportions pour 108 F., Deltapine, Coker, Acala, elle est un peu plus faible chez M 6S. 306 et Allen. Seule la variété P. 14 présente une inversion des valeurs, sans toutefois infirmer l'effet du traitement.

### 4 - Teneurs en phosphore protéique

- TABLEAU 5 -

Variétés Trait.	P. 14	108 F.	Delta	Cocker	M 6S.306	Allen	Acala
To	0.523	0.518	0.480	0.483	0.142	0.149	0.151
TMn	0.487	0.205	0.372	0.225	0.118	0.138	0.131

Teneurs exprimées en mg/g de matière sèche

L'analyse biométrique indique un effet significatif du traitement manganique, sur une diminution des quantités de phosphore protéique. Cette abaissement des taux est observé pour toutes les variétés. Il est représenté sur le graphique 3.

Les résultats figurant dans le tableau 5 montrent qu'il y a des différences souvent importantes dans les quantités de phosphore protéique trouvées chez les 7 variétés, avec un maximum de 0,523 mg/g chez P. 14, et un minimum de 0,149 mg/g chez Allen.

5 - Teneurs en phosphore nucléique

. P. ARN

- TABLEAU 6 -

Variété Trait.	P. 14	108 F.	Delta.	Coker	M 6S. 306	Allen	Acala
To	0.943	0.874	0.882	0.635	0.795	0.847	0.681
TMn	0.773	0.734	0.770	0.784	0.732	0.750	0.670

. P. ADN

- TABLEAU 7 -

To	0.141	0.127	0.108	0.140	0.080	0.087	0.139
TMn	0.086	0.145	0.147	0.109	0.075	0.074	0.119

Résultats exprimés en mg/g de matière sèche

Il n'y a pas d'effet significatif du traitement toxique sur ces deux fractions de phosphore nucléique. Cependant, si l'on considère, la proportion du P.ARN par rapport au phosphore total on remarque qu'elle correspond pour plusieurs variétés à une diminution dans le cas des cultures intoxiquées.

Ainsi le P.ARN passe de: 20 % (du P. total) à 17 % chez 108 F.  
 26 % " " 20 % " Deltapine  
 20 % " " 13 % " M 6S. 306  
 23 % " " 13 % " Allen  
 22 % " " 9 % " Acala

Il y a, par conséquent, une assez grande élasticité dans les proportions de cette forme phosphorée, alors que celles du P. ADN présentent une plus grande plasticité.

B - DANS LES RACINES

1 - Teneurs en phosphore total

- TABLEAU 8 -

Variété Trait.	P.14	108 F	Delta.	Coker	M 6 S 306	Allen	Acala
To	3.402	2.922	2.702	3.221	4.195	3.398	2.791
T <sub>Mn</sub>	3.856	3.932	3.237	4.171	4.322	4.674	4.109

(mg/g de matière sèche)

L'effet du traitement manganique est hautement significatif sur l'élévation des teneurs en phosphore total au niveau des racines.

2 - Teneurs en formes acidosolubles.

- Phosphore minéral

- TABLEAU 9 -

Variété Trait.	P.14	108 F	Delta.	Coker	M 6 S 306	Allen	Acala
To	1.717	1.696	1.562	1.780	2.270	1.511	1.152
T <sub>Mn</sub>	1.990	1.899	1.712	1.966	2.574	2.466	2.229

(mg/g de matière sèche)

Le traitement manganique élève ici aussi, significativement la forme minérale du phosphore.

- Phosphore organique

- TABLEAU 10 -

Variété Trait.	P.14	108 F	Delta	Coker	M 6 S 306	Allen	Acala
To	0.701	0.150	0.211	0.474	0.733	0.698	0.561
T <sub>Mn</sub>	0.187	0.258	0.300	0.738	0.613	0.857	0.777

Il n'y a pas d'effet significatif du traitement sur les formes organiques solubles dans l'acide trichloracétique.

### 3 - Teneurs en formes non acidosolubles

#### - Phosphore lipidique

- TABLEAU 11 -

Variété Trait.	P.14	108 F	Delta	Coker	M 6 S 306	Allen	Acala
To	0.305	0.297	0.191	0.290	0.576	0.445	0.307
T <sub>Mn</sub>	0.541	0.620	0.333	0.370	0.564	0.613	0.380

(mg/g de matière sèche)

Il y a une augmentation significative de la forme lipidique du phosphore dans les cultures intoxiquées. C'est donc essentiellement sous cette forme et sous celle de phosphore minéral que se justifie l'augmentation du phosphore total résultant de l'effet du traitement manganique.

#### - Phosphore protéique

- TABLEAU 12 -

Variété Trait.	P.14	108 F	Delta	Coker	M 6 S 306	Allen	Acala
To	0.141	0.310	0.323	0.268	0.064	0.068	0.070
T <sub>Mn</sub>	0.708	0.629	0.496	0.530	0.067	0.081	0.077

(mg/g de matière sèche)

La fraction de phosphore protéique n'a pas de relation avec l'effet du traitement. Les chiffres montrent qu'il y a un "décrochement" des valeurs pour quelques unes des variétés, M 6 S 306, Allen et Acala.

### 4 - Fractions nucléiques

#### - P - A R N

- TABLEAU 13 -

Variété Trait.	P.14	108 F	Delta	Coker	M 6 S 306	Allen	Acala
To	0.490	0.380	0.333	0.366	0.497	0.625	0.639
T <sub>Mn</sub>	0.371	0.463	0.363	0.519	0.496	0.594	0.598

(mg/g de matière sèche)

- TABLEAU 14 -

Variété Trait.	P.14	108 F	Delta	Coker	M 6 S 306	Allen	Acala
To	0.047	0.088	0.082	0.045	0.056	0.055	0.062
T <sub>Mn</sub>	0.051	0.064	0.030	0.046	0.059	0.063	0.060

(mg/g de matière sèche)

Comme dans les feuilles il n'y a pas d'effet significatif du traitement manganique sur des variations des fractions nucléiques du phosphore. Les valeurs observées présentent ici aussi, au niveau des racines une remarquable homogénéité entre plantes témoins et plantes intoxiquées.

## V. INTERPRETATION DES DONNEES

### A - FORMES SOLUBLES DANS L'ACIDE TRICHLORACETIQUE

#### - Fractions organiques et minérale des racines et des feuilles

a) Les graphiques n° (1-2-3-4) montrent la répartition du phosphore total et de ses fractions acidosolubles, organique et minérale. Il y a une remarquable homogénéité entre les valeurs du phosphore total et celles du phosphore minéral, en particulier. Les 2 courbes représentatives sont à peu près parfaitement superposables. On peut donc supposer que, sur la quantité de phosphore introduite au niveau des racines, une fraction toujours proportionnelle reste sous la forme minérale et ce à la fois au niveau de la racine mais également au niveau de la feuille.

La migration du phosphore s'effectue donc à travers la plante de façon exactement semblable quantitativement, à la fois chez les cultures témoins et chez les cultures intoxiquées. Ceci est un premier point : Il y a une remarquable proportionnalité entre les valeurs absolues du phosphore total et celles du phosphore minéral acidosoluble.

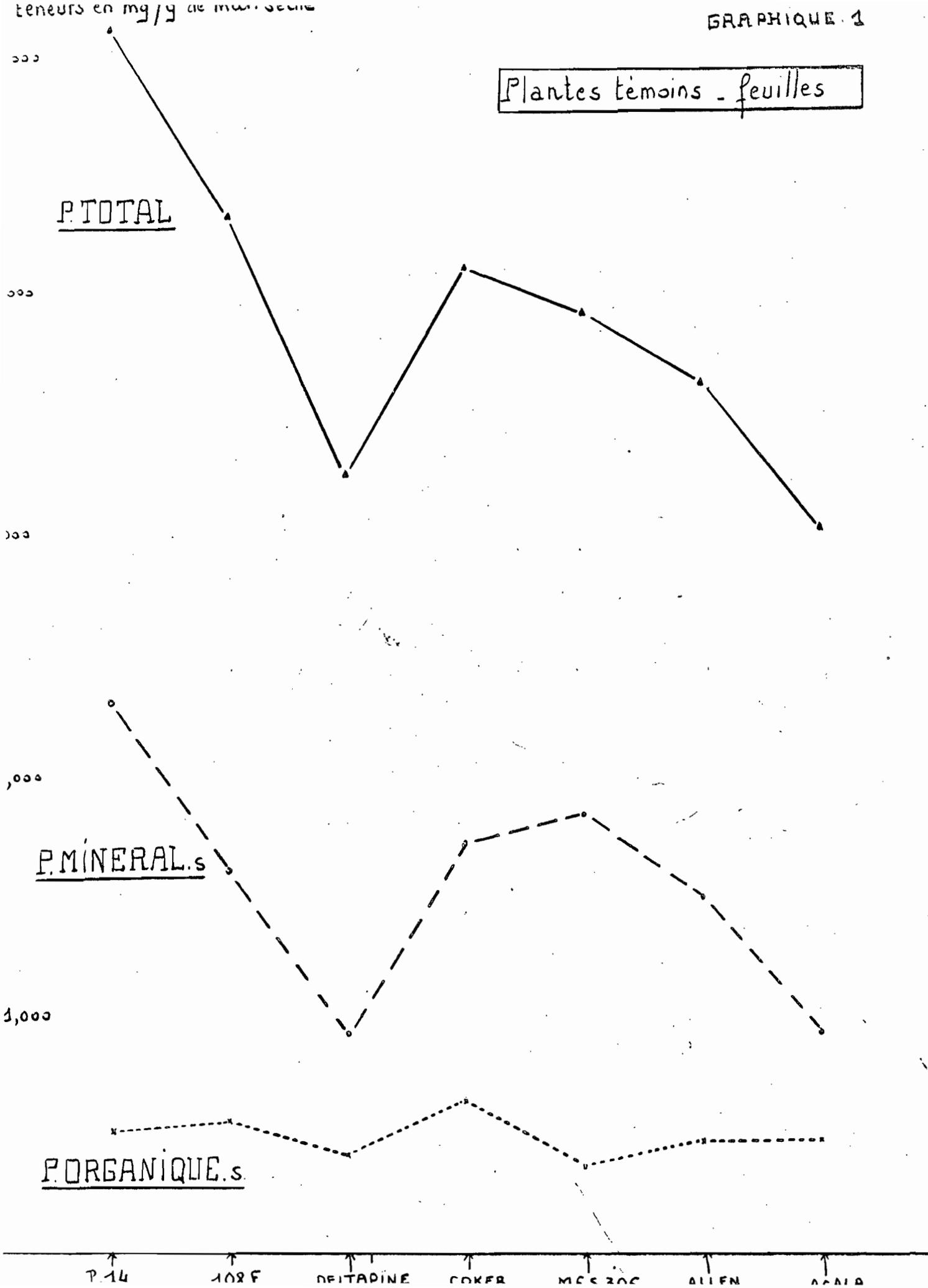
b) Les mêmes graphiques montrent que les valeurs enregistrées pour le phosphore organique acidosoluble suivent de façon moins sensible les valeurs du P. total, surtout au niveau des feuilles où les courbes apparaissent, à la fois sur les plantes témoins et sur les plantes intoxiquées, assez proches d'une droite. Dans les racines, les courbes traduisant les teneurs en phosphore organique suivent avec un peu plus de fidélité celles du phosphore total.

La forme organique acidosoluble, constituée essentiellement par les nucléotides, le phosphore glucidique, les esters phosphoriques etc., représente donc une fraction relativement stable en valeur absolue.

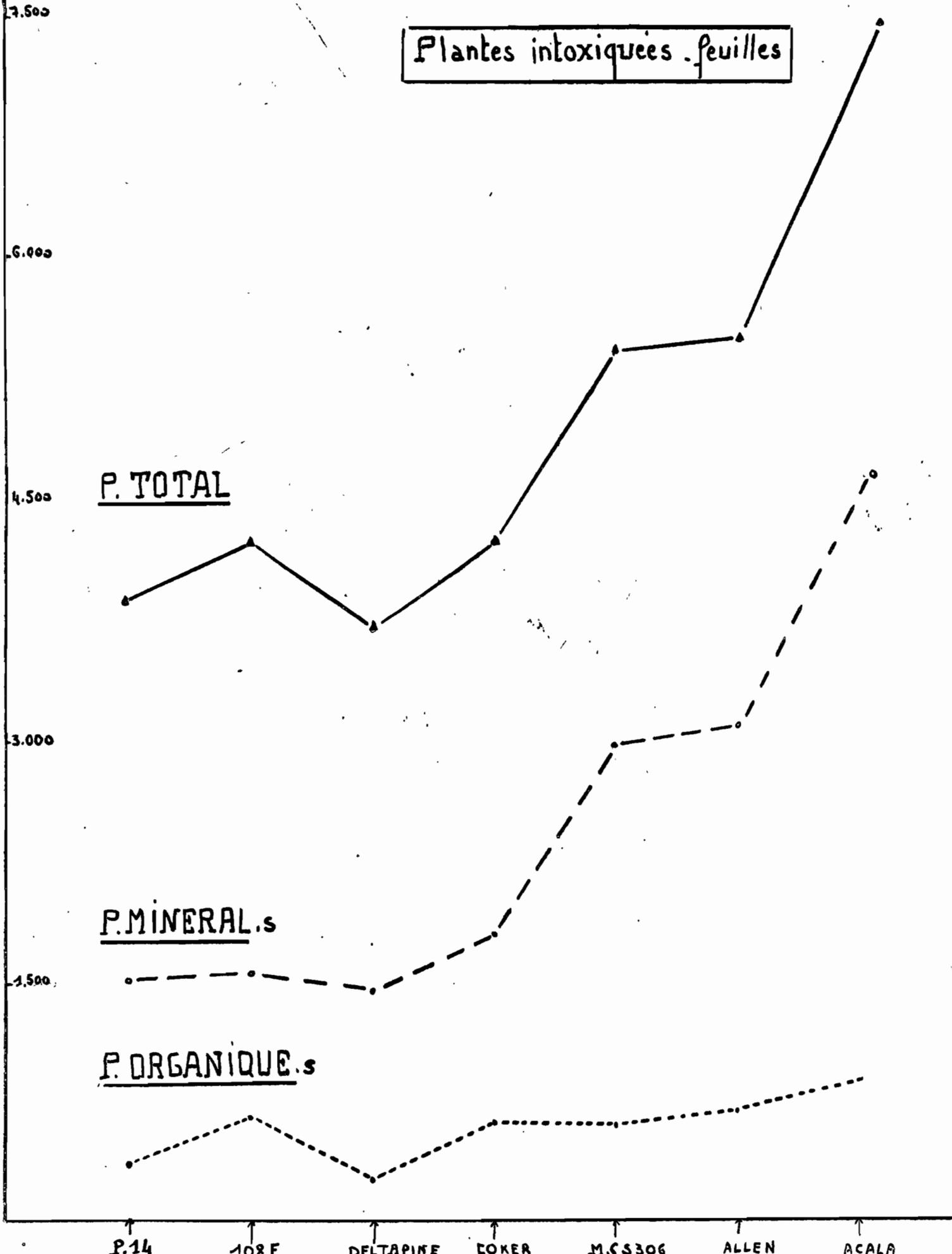
c) Sur les graphiques 1-2-3-4, toujours, on peut faire les observations suivantes :

- Les teneurs propres à chaque variété suivent les mêmes variations, c'est-à-dire sont, tantôt plus faibles d'une variété à l'autre, tantôt plus fortes d'une variété à l'autre, à la fois dans les plantes intoxiquées et dans les plantes témoins au niveau des 2 organes analysés.

Plantes témoins - feuilles

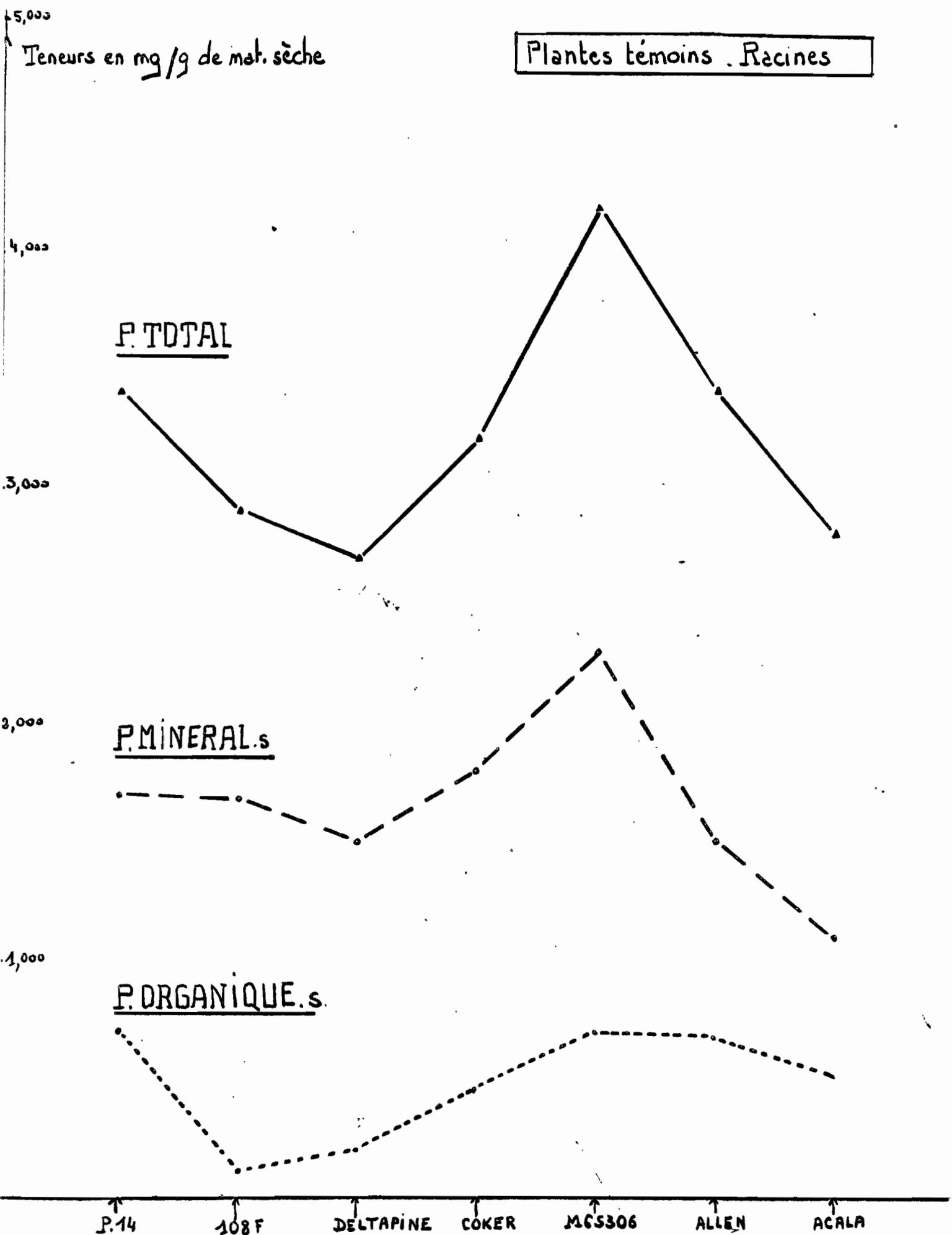


Plantes intoxiquées feuilles



Teneurs en mg/g de mat. sèche

Plantes témoins . Racines



Plantes intoxiquées . Racines

5.000

Teneurs en mg / g de mat. sèche

P. TOTAL

4.000

3.000

P. MINERAL. s

2.000

1.000

P. ORGANIQUE. s

P.14

108F

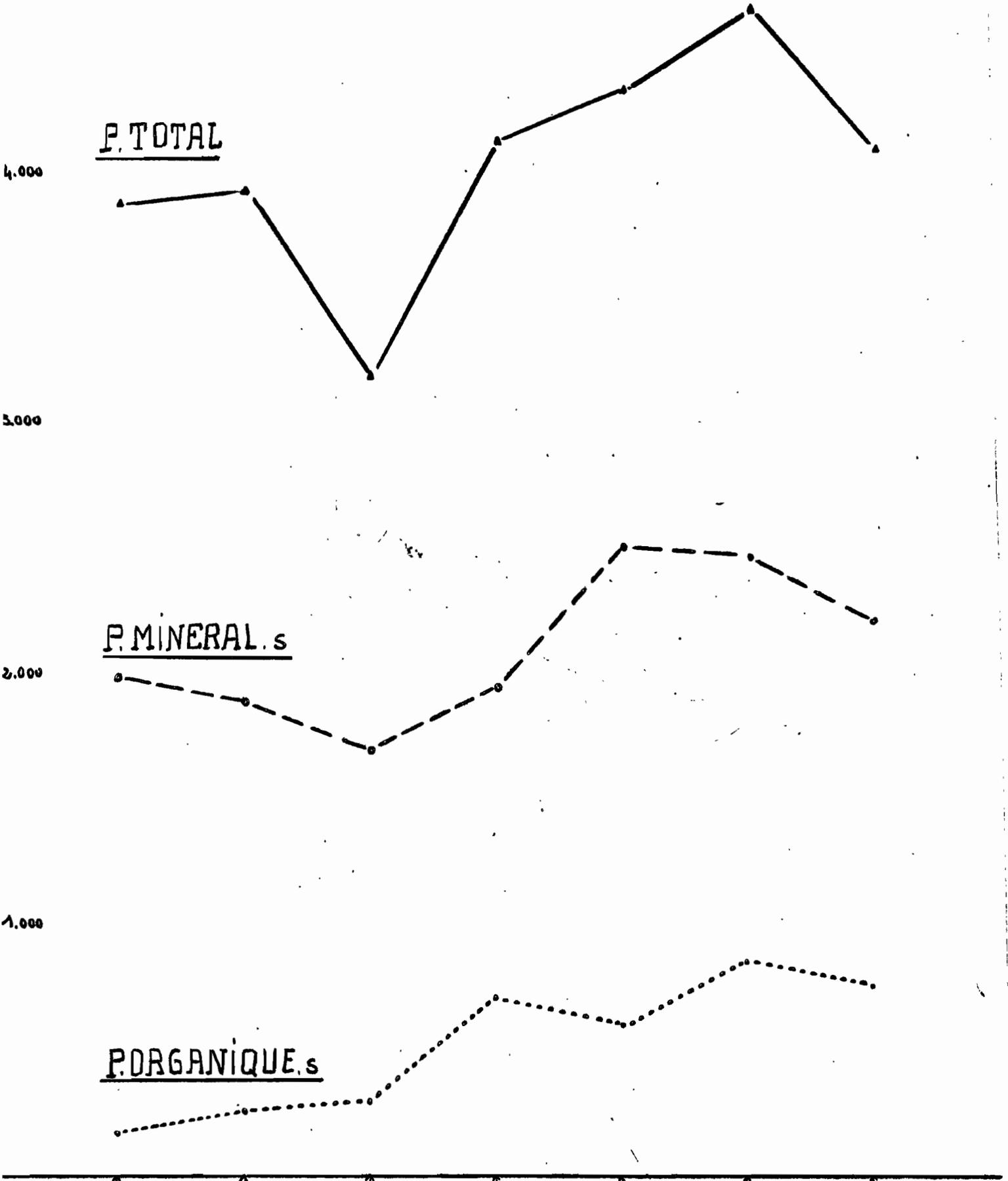
DELTAPINE

LOKER

M.65306

ALLEN

ACALA



Ainsi, pour illustrer cette observation, nous constatons que les plus basses teneurs en P. total dans les racines de la variété Deltapine, correspondent également aux plus basses teneurs chez les cultures intoxiquées, et que les plus hautes teneurs en P. total de la variété M6S 306, sont également les plus élevées chez les plantes intoxiquées (ceci n'exclut pas évidemment, l'augmentation en valeur absolue du phosphore total, significative nous l'avons vu, dans les cultures intoxiquées). Cette observation peut se matérialiser facilement, en "superposant" par exemple les graphiques 3 et 4.

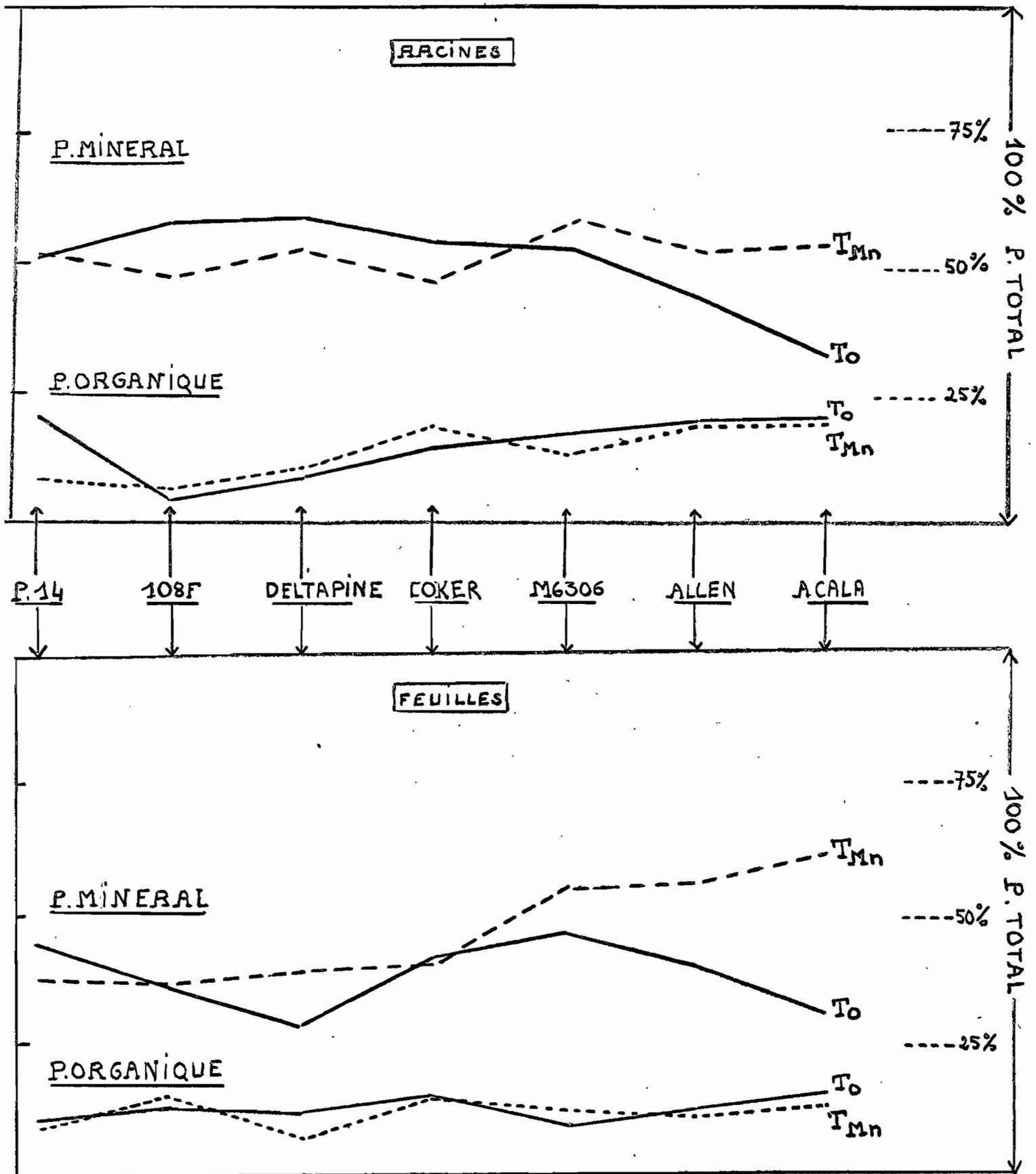
- En observant, les variations des teneurs au niveau des feuilles, (graphique 1 et 2) on constate, au contraire, pour la majorité des variétés que, les courbes qui traduisent les différences de teneurs pour les 7 cas envisagés ont des pentes de sens inverse entre les cultures témoins et les cultures intoxiquées : ainsi, par exemple, la variété Acala ayant, chez les témoins, des teneurs en phosphore total plus basses que celles observées chez P-14, présente, dans les plantes intoxiquées des valeurs beaucoup plus élevées, que chez cette dernière. L'effet de toxicité apporte donc des perturbations plus importantes des formes de P. total, et de P. minéral acidosolubles (puisque les 2 formes suivent les mêmes variations) au niveau des feuilles qu'au niveau des racines. Cette observation se schématise, bien également, en "superposant" les graphiques 1 et 2.

Ce qui résulte aussi de cette constatation, et en est une conséquence, c'est que l'état de toxicité ne gêne pas en quelque sorte la "migration" du phosphore minéral vers les feuilles. En fait, paradoxalement celle tendrait même à l'accélérer et l'intensifier, puisque en valeur absolue, c'est au niveau des feuilles des cultures intoxiquées que sont observées les teneurs les plus élevées (de l'ordre de 0,750 g/100g de matière sèche par exemple, chez Acala).

d) Il faut noter, aussi que la forme minérale du phosphore est celle qui est la moins abondante chez les végétaux en général. En effet la formation de l'ensemble des composés organiques qui comportent du phosphore, oriente rapidement les ions phosphoriques vers les voies du métabolisme.

Dans cette expérience on constate, à l'encontre de cette observation qu'une importante fraction de phosphore demeure sous la forme minérale.

PROPORTIONS DES FRACTIONS DE PHOSPHORE ACIDOSOLUBLE



On sait depuis longtemps qu'il se produit, peu après la germination, chez le cottonnier comme d'ailleurs chez la plupart des plantes à graines une disparition de la forme phytique qui est celle représentant la plus forte proportion du phosphore total chez l'embryon, où elle est de l'ordre de 83 % d'après ERGLE D.R. et GUINN Q. Cette transformation s'accompagne, généralement dans les premiers jours qui suivent la germination, d'une augmentation des valeurs du phosphore minéral. Ainsi, toujours d'après les mêmes auteurs, les valeurs en mg/g de matière sèche, du phosphore minéral, passent de 0,43 au jour 0, à 6,26 au 6ème jour, dans la variété Acala, et de 0,29 au jour 0, à 4,92 au 6ème jour chez la variété Deltapine. Parallèlement, les valeurs du phosphore phytique vont chez Acala de 9,58 mg/g à 3,40 mg/g et de 6,49 à 1,29 mg/g chez Deltapine durant les mêmes périodes.

On voit donc que les teneurs observées dans l'expérience décrite ici, pour le phosphore minéral, et qui sont voisines de 1 à la fois pour Acala et pour Deltapine, peuvent correspondre aux données de ERGLE et GUINN. Mais, alors que le pourcentage de phosphore minéral par rapport au phosphore total, est estimé chez ces auteurs à 4 % chez l'embryon, à 20 % chez la plantule âgée de 6 jours, il atteint dans nos cultures :

41 à 57 % dans les racines témoins  
30 à 44 % dans les feuilles témoins  
48 à 59 % dans les racines intoxiquées  
37 à 61 % dans les feuilles intoxiquées

L'influence de la toxicité manganique paraît donc être elle aussi manifeste sur l'augmentation de la proportion de la fraction minérale, qui correspond à une perturbation dans le métabolisme de l'ion et à son accumulation anormale, plus particulièrement marquée au niveau des feuilles. Le graphique 5 montre les variations observées sur les 7 variétés dans la proportion des formes acidosolubles pour les 2 traitements. On voit qu'en fait c'est, plus par les différences en valeurs absolue des fractions acidosolubles exprimées en g pour 100 g de matière sèche, que par les différences dans les proportions de ces fractions par rapport au phosphore total, que l'effet de toxicité est marqué.

## B - FORMES ORGANIQUES NON ACIDO SOLUBLES.

### 1. - Phosphore lipidique

- L'analyse biométrique a, nous l'avons vu plus haut, indiqué que le traitement man-

organique élève significativement les teneurs en phosphore lipidique tant au niveau des feuilles qu'au niveau des racines.

- La forme lipidique du phosphore est, le plus souvent, variable d'un végétal à l'autre. JAVILLIER signale qu'elle représente 12 % du P. total chez la lentille, et seulement 2 % chez le tournesol. Il précise que cette forme de phosphore se caractérise par des taux stables, propres aux espèces et qu'elle est peu soumise à des différences quantitatives, au cours de la vie de la plante.

- Dans son étude sur les changements qui interviennent dans la répartition des constituants phosphorés au cours de la germination des graines, ERGLE D.R. donne les indications suivantes : le phosphore lipidique correspond pour la variété Acala à :

0,73 mg/g	de matière sèche	au jour	0
0,89	" "	" "	2
0,87	" "	" "	6

pour la variété Deltapine à :

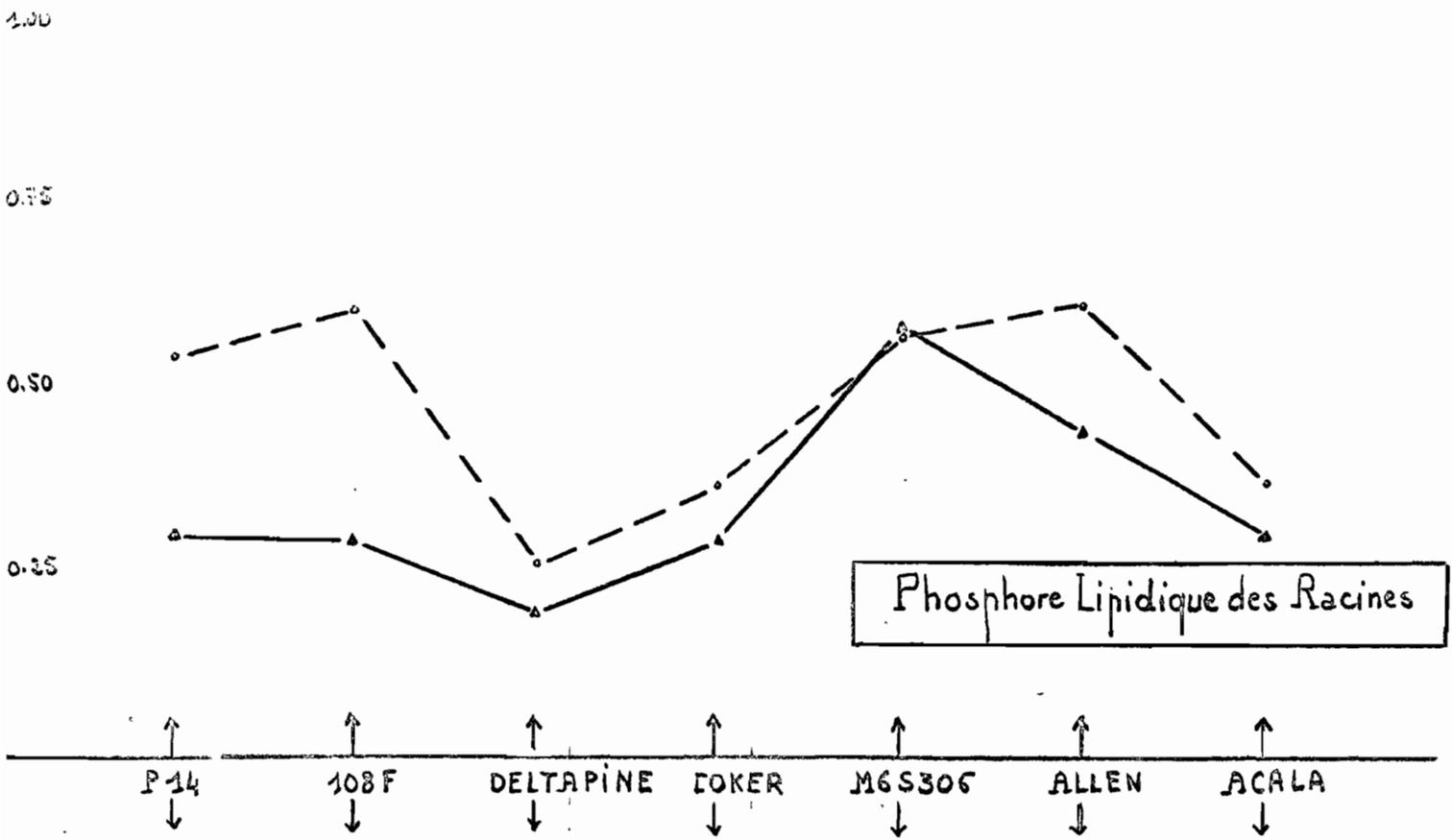
0,71 mg/g	de matière sèche	au jour	0
0,80	" "	" "	2
0,80	" "	" "	6

Ces chiffres représentent pour les 2 mêmes variétés des valeurs un peu plus élevées que celles que nous observons dans les cultures témoins : ainsi on retrouve 0,64 mg/g de matière sèche chez Acala et 0,45 mg/g de matière sèche chez Deltapine au niveau des feuilles (tableau 4), quelques variétés cependant présentent des teneurs de 0,86 et 0,75 mg/g de matière sèche.

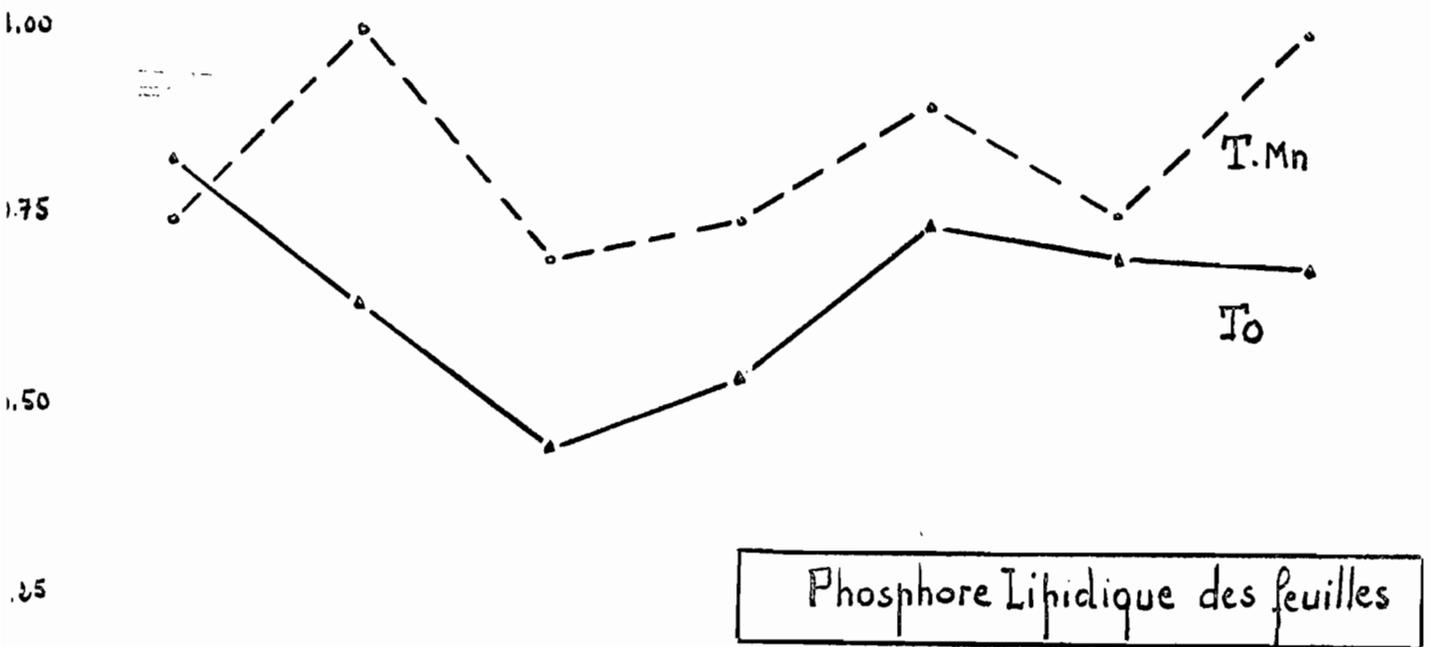
- Le graphique 6 représente la répartition chez les 7 variétés, de cette forme organique non acidosoluble dans les feuilles et dans les racines. Il apparaît, en premier lieu, que les feuilles en sont le plus abondamment pourvues. Les courbes indiquent aussi l'élévation très remarquable des teneurs chez les cultures intoxiquées (à une exception près).

- On peut conclure de l'examen de ce graphique que l'état de toxicité ne paraît pas affecter la présence du phosphore lié aux lipides, au niveau des feuilles. Il s'y

Teneurs en mg / g de mat. sèche



Teneurs en mg / g mat. sèche



retrouve en quantité proportionnellement égales, par rapport aux teneurs observées dans les racines tant dans les plantes témoins que dans les plantes intoxiquées. En d'autres termes, il y a plus de phosphore lipidique au niveau des feuilles qu'au niveau des racines, et ce, que la plante soit ou non soumise à la toxicité manganique.

- On remarque, par ailleurs, qu'il y a une analogie de disposition dans l'allure générale des courbes qui représentent des teneurs en phosphore lipidique dans les racines et dans les feuilles. Ainsi la variété Deltapine est, des 7 étudiées, celle qui comporte les plus faibles quantités de ce constituant phosphoré, et ceci à la fois au niveau de la racine et au niveau de la feuille. On retrouve ainsi pour les 7 variétés une répartition harmonieuse du phosphore lipidique entre les éléments verts et radiculaires, à la fois chez les plantes témoins et chez les plantes soumises à la toxicité manganique.

En d'autres termes, le rapport phosphore lipidique des feuilles sur phosphore lipidique des racines est toujours supérieur à 1 et présente une assez bonne similitude pour les 7 variétés étudiées, et pour les 2 traitements  $T_0$  et  $T_{Mn}$ .

## 2 - Phosphore protéique

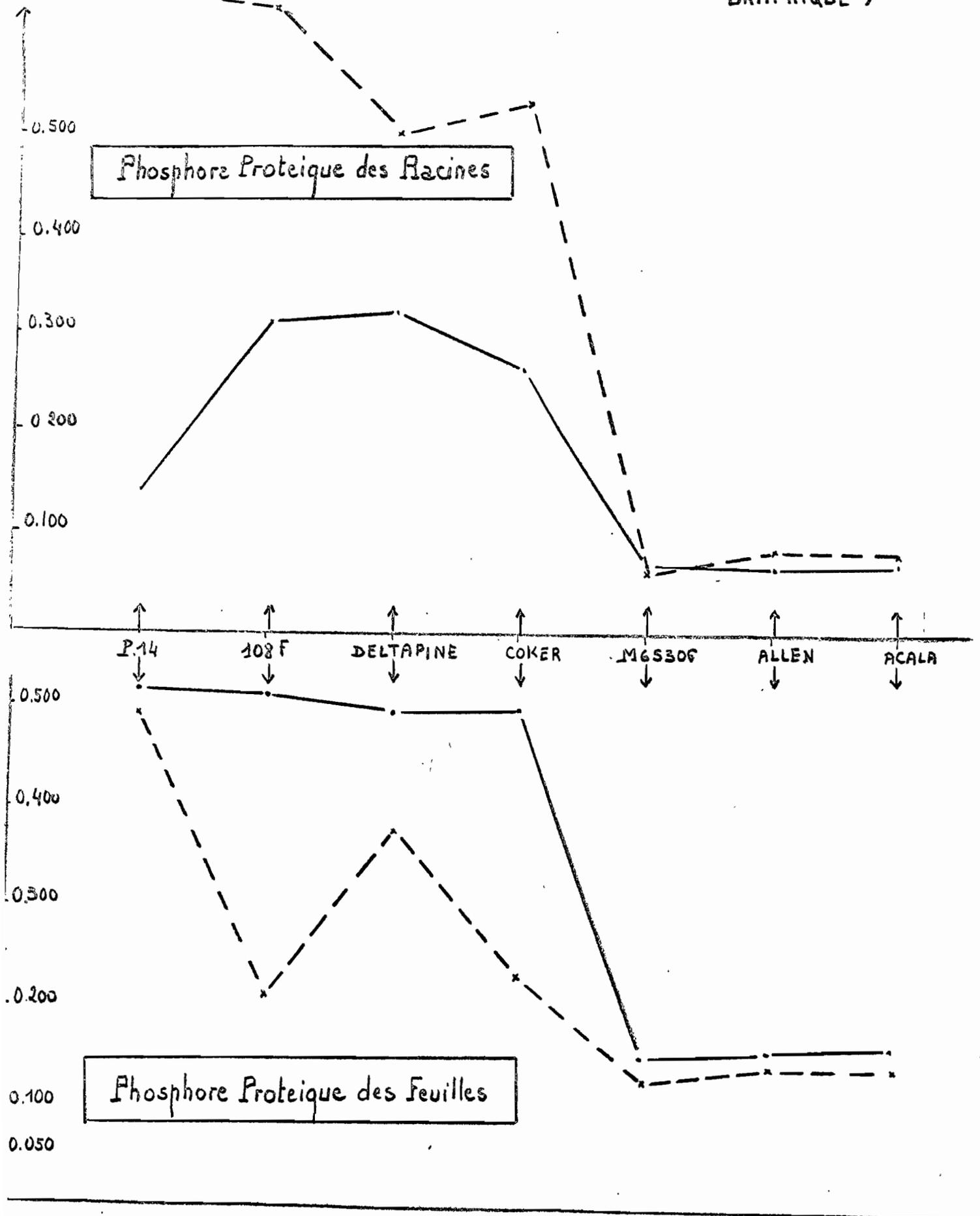
L'analyse statistique des résultats a indiqué que le traitement manganique abaisse significativement les teneurs en phosphore protéique au niveau des feuilles, mais ne joue pas sur ces teneurs dans les racines.

L'examen du graphique 7 amène les considérations suivantes :

- Tout d'abord, apparaissent d'importantes différences dans les valeurs absolues des teneurs. Ainsi au niveau des racines des cultures témoins les taux extrêmes, exprimés en mg/g de matière sèche, sont de 0,323 chez Deltapine et de 0,064, soit 4 fois plus faibles, chez MGS 306. Cette différence se traduit encore mieux si nous exprimons ces valeurs en pourcentage du phosphore total, dont elles représentent alors, respectivement, 12 % et 1,5 %. Ce "décrochement" qui paraît caractéristique de certaines variétés se retrouve d'ailleurs aussi chez les plantes intoxiquées. Le taux du phosphore protéique, paraît ainsi présenter des variations élevées d'ordre de grandeur d'une variété à l'autre.

teneurs en mg / g de matière sèche

GRAPHIQUE 7



Dans les feuilles on observe, aussi, pour les mêmes variétés, ce "décrochement" dans les teneurs. Ainsi, les taux extrêmes observés chez les plantes témoins, exprimés en mg par g de matière sèche sont de 0,523 chez P-14 et de 0,142 chez M6S 306, soit, comme dans le cas des racines, environ 4 fois plus faibles. Notons que ces différences extrêmes correspondent, en pourcentage du phosphore total, respectivement à 9 % et 3,5 %.

- L'examen des courbes représentant les teneurs en phosphore protéique, dans les plantes témoins, montre aussi une assez bonne concordance entre les teneurs des feuilles et celles des racines à trois des variétés, 108 F, Deltapine et Coker présentent les valeurs les plus élevées, à la fois dans les feuilles et dans les racines tandis que les chiffres les plus faibles, pour ces deux catégories de tissus, sont représentés chez M6S 306, Allen et Acala, P-14 fait exception, en présentant des teneurs basses au niveau des racines et élevées au niveau des feuilles.

- Un fait important est à noter sur le graphique 7 : la toxicité manganique joue de façon inverse au niveau radicaire et au niveau foliaire. Le traitement correspond ainsi à l'augmentation du phosphore protéique dans les racines (non significative) et à sa diminution dans les feuilles.

C'est la seule fraction qui subit ainsi des influences contraires sous l'effet de la toxicité. Il semble donc qu'il y a un stockage de phosphore protéique très localisé alors que les synthèses sont plus ou moins inhibées dans les feuilles, probablement au profit de l'accumulation d'une forme organique lipidique. Ceci n'existerait pas au niveau des racines où la formation de deux formes organiques, protéique et lipidique, serait accrue sous l'effet du traitement.

Toutefois l'augmentation de cette forme de phosphore n'est pas significative dans les racines, alors que la diminution l'est, dans les feuilles.

La comparaison des graphiques 6 et 7 met lieu en évidence un antagonisme assez remarquable des formes lipidiques et protéiques dans les feuilles que l'on peut

schématiser ainsi, par les 2 traitements :

	P. LIPIDIQUE		P. PROTEIQUE	
	To	T <sub>Mn</sub>	To	T <sub>Mn</sub>
P. 14	-	-	+	+
108 F	-	+	+	-
Deltapine	-	-	+	+
Coker	-	+	+	-
M 6 S 306	+	+	-	-
Allen	+	+	-	-
Acala	+	+	-	-

- TABLEAU 15 -

Cet antagonisme apparait également au niveau des racines témoins, mais pas dans celles des plantes intoxiquées.

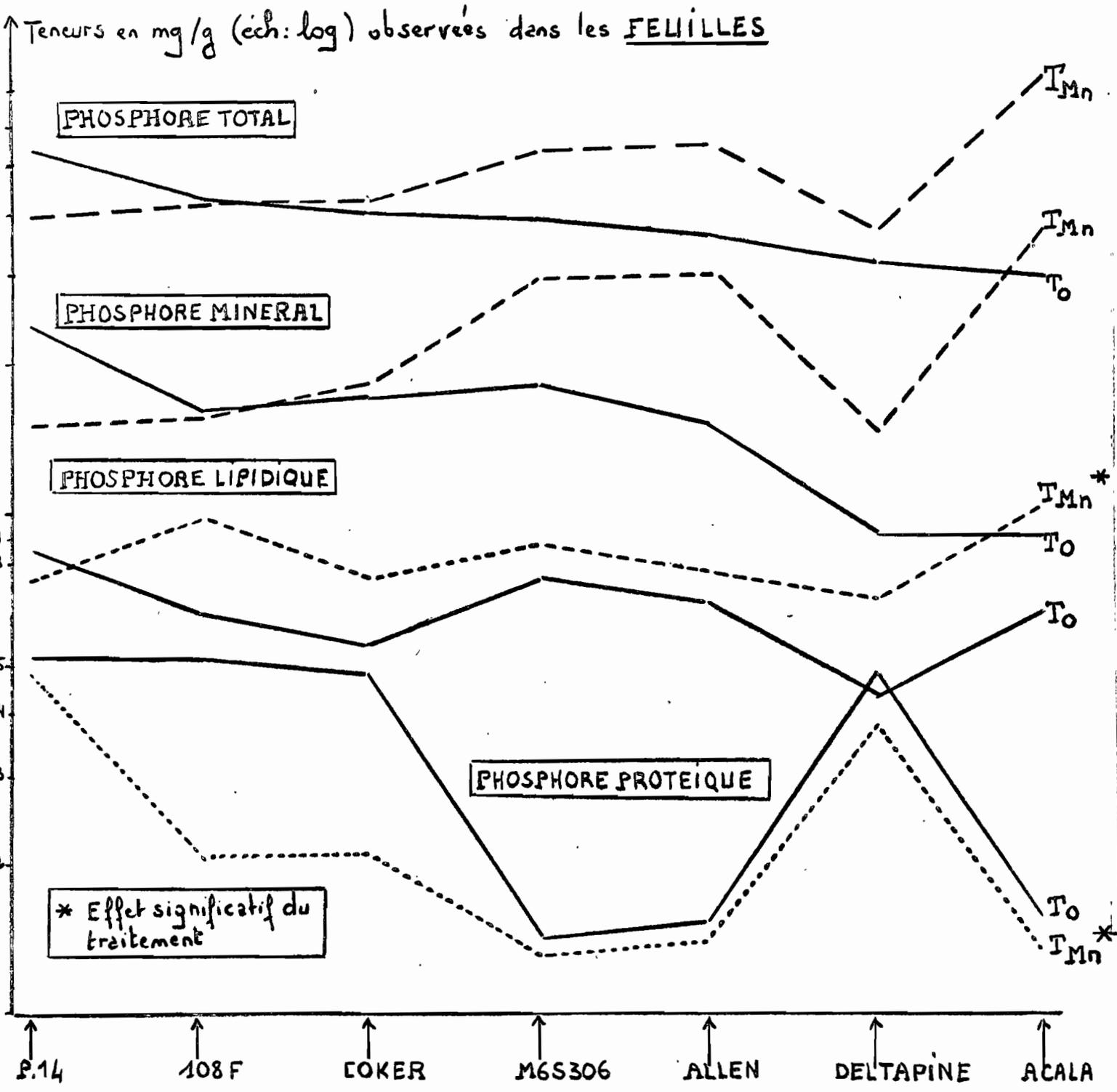
Pour mieux fixer une idée d'ensemble des variations subies par les différentes fractions, minérale, lipidique et protéique, ainsi que par le phosphore total, les courbes les traduisant, ont été réunies sur les graphiques 8 et 9. Afin de pouvoir faire figurer des données, d'ordre de grandeur très différents, l'échelle des ordonnées, s'y trouve logarithmique. Sur ces deux graphiques figurent des astérisques (\*) qui affectent les fractions correspondant à un effet significatif du traitement manganeux, ils résument l'ensemble des observations détaillées ci-dessus.

#### C - FRACTIONS DE PHOSPHORE NUCLEIQUE

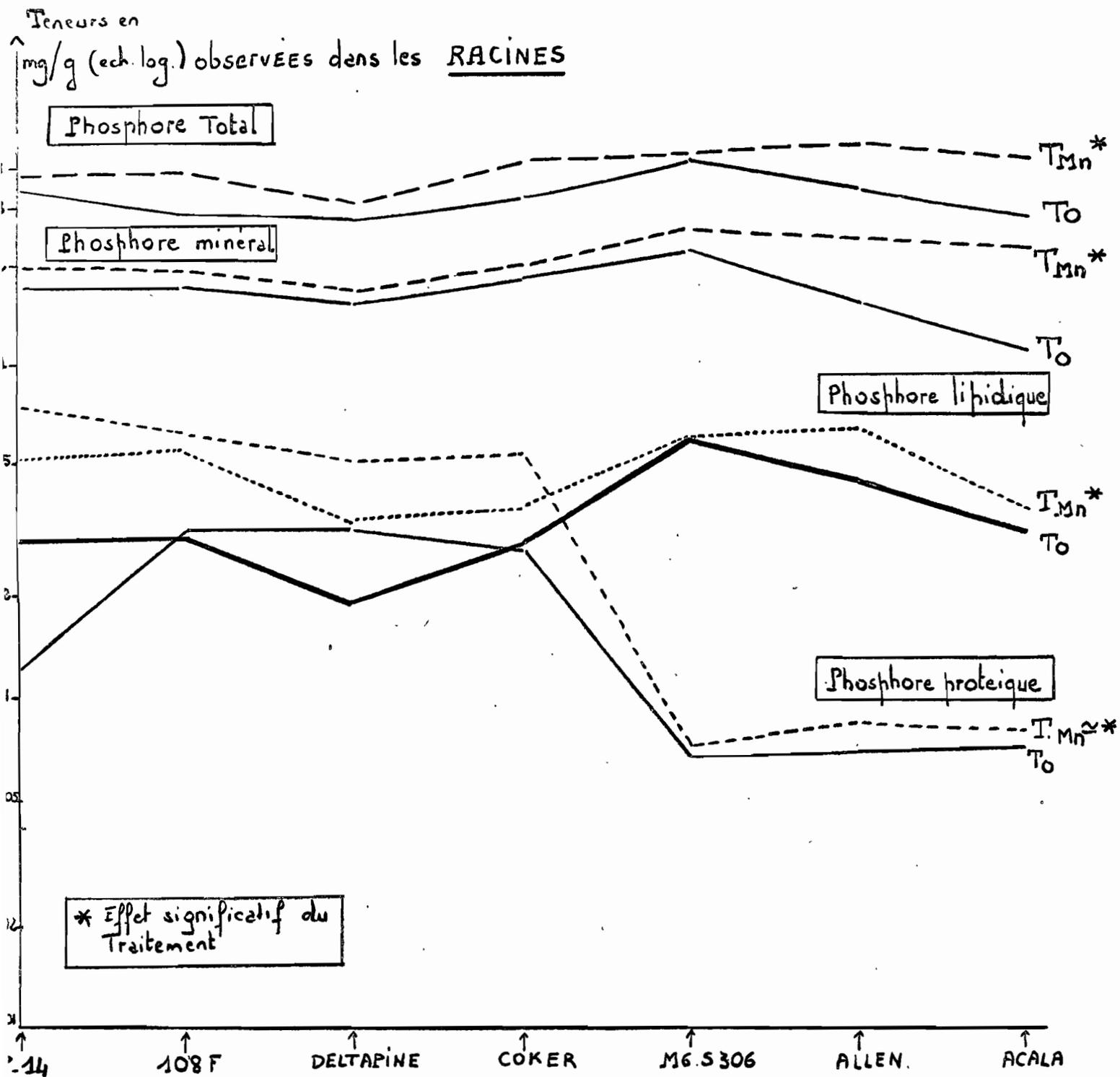
##### - P - A R N et P - A D N

L'analyse biométrique n'a pas indiqué d'effet significatif du traitement manganeux sur des modifications dans les valeurs des 2 formes de phosphore nucléique isolées.

Si nous nous référons aux données rapportées par ERGLE sur les quantités de P.RNA et P.DNA présentes au cours des premiers jours de germination des graines de cotonnier nous constatons que les quantités présentes du jour 0 au jour 6 de la ger-



EFFETS DE LA TOXICITÉ SUR LES VALEURS DU PHOSPHORE TOTAL, MINERAL, LIPIDIQUE ET PROTEIQUE CHEZ SEPT VARIETES DE COTONNIER



EFFETS DE LA TOXICITE SUR LES VALEURS DU PHOSPHORE TOTAL, MINERAL, LIPIDIQUE ET PROTEIQUE CHEZ SEPT VARIETES DE COTONNIER.

mination sont assez analogues pour ces deux formes de phosphore.

Ainsi, pour la variété Deltapine, au jour 0, le P.RNA et le P.DNA ont la même valeur de 0,11 mg/g de matière sèche, et passent respectivement à 0,42 et 0,46 au 6ème jour. Il y a donc une augmentation assez rapide de ces teneurs dès les premiers stades de la germination, pour les deux formes.

Les résultats que nous avons obtenus précisent cette augmentation en ce qui concerne le P.ARN, les valeurs que nous retrouvons sont assez remarquablement homogènes surtout au niveau des feuilles, ainsi :

- Chez les témoins, le minimum est de 0,7 (Acala), le maximum de 0,9 (CP.14)
- Chez les plantes intoxiquées, le minimum est de 0,67 (Acala), le maximum de 0,78 (coker)

au niveau des Racines :

- Chez les plantes témoins le minimum est de 0,33 (Deltapine), le maximum de 0,63 (Acala)
- Chez les plantes intoxiquées le minimum est de 0,36 (Deltapine), le maximum, de 0,59

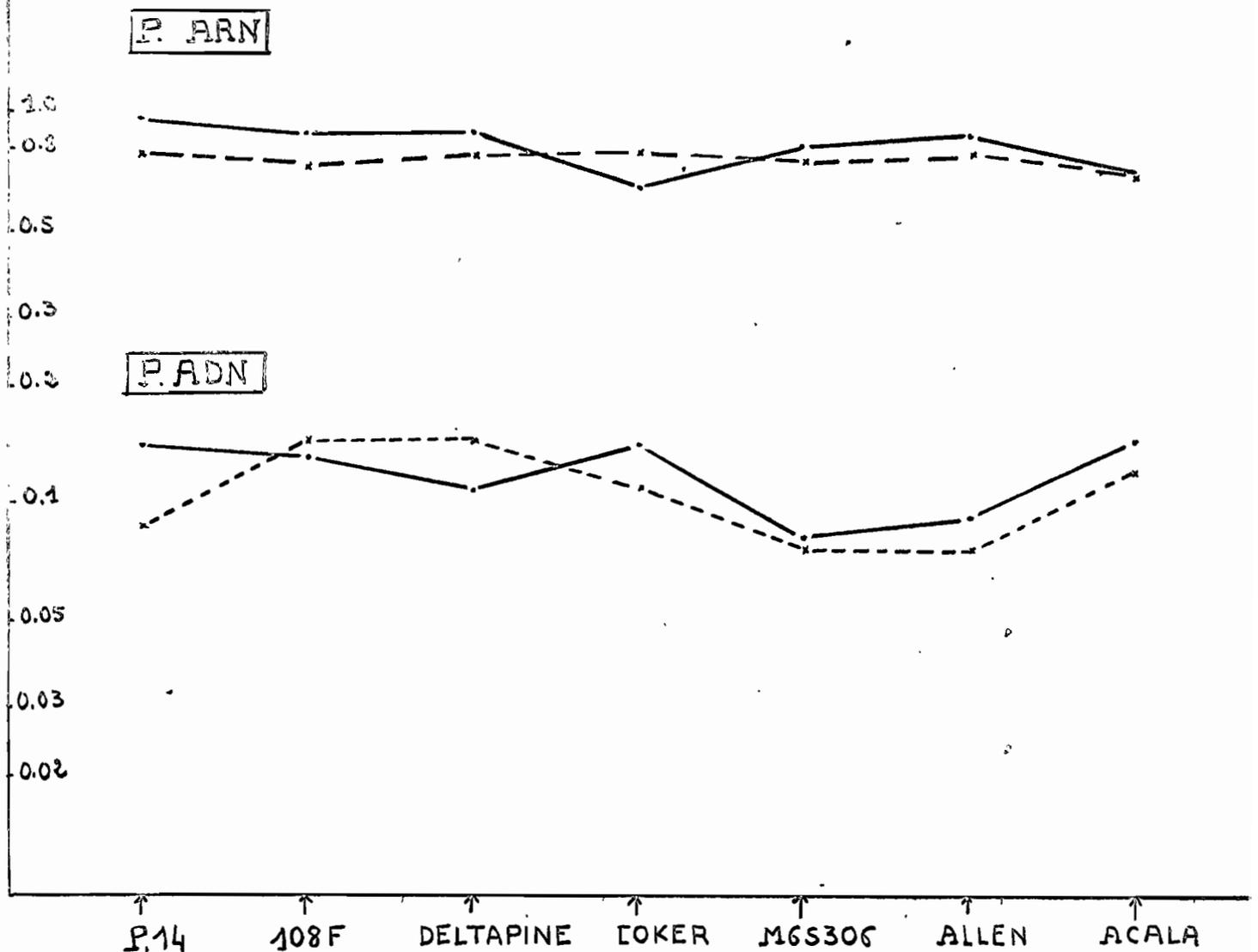
On observe donc, essentiellement dans les feuilles, une certaine constance des teneurs pour le P.ARN, tant chez les plantes témoins que chez les plantes intoxiquées.

Cette remarque est moins valable, en ce qui concerne les racines.

Le graphique 10 illustre ces observations.

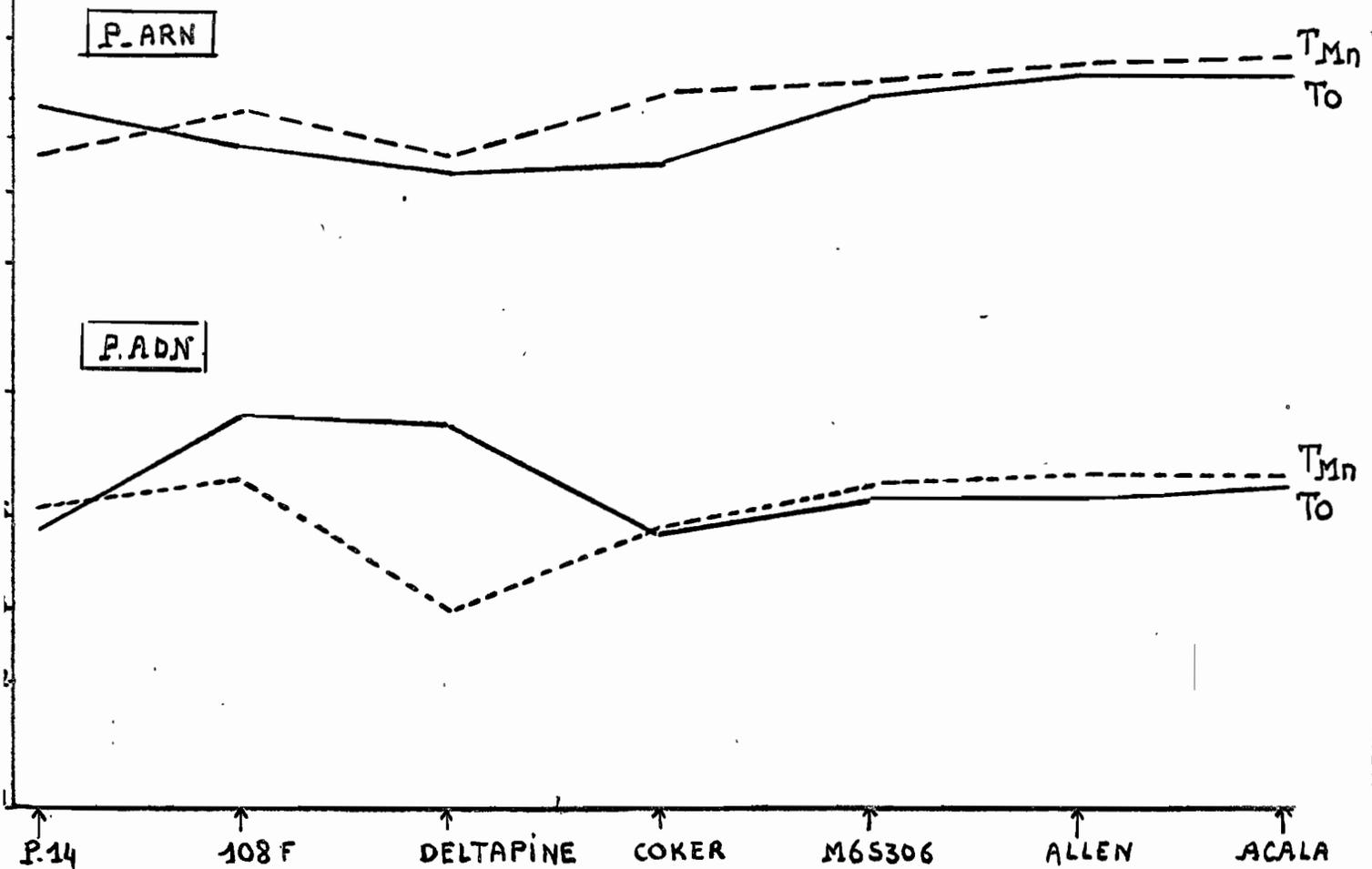
- Sur 6, des 7 variétés analysées, les teneurs en P.ARN sont plus élevées en valeur absolue chez les plantes intoxiquées que chez les témoins au niveau des racines.
- Cependant si l'on considère non plus les valeurs absolues, mais les proportions du P.ARN par rapport au phosphore total représentant la valeur 100 on peut constater, ainsi que le montre le tableau ci-dessous, qu'à 1 ou 2 exceptions près, elles sont moindres chez les plantes intoxiquées que chez les témoins.

Teneurs en  
 ↑ mg/g matière sèche (éch. log.) observées dans les FEUILLES



EFFETS DE LA TOXICITÉ SUR LES VALEURS  
 DU PHOSPHORE NUCLEIQUE CHEZ SEPT  
 VARIETES DE COTONNIER

teneurs en  
mg/g (éch. log) observées dans les RACINES



EFFETS DE LA TOXICITÉ SUR LES VALEURS DU PHOSPHORE NUCLEIQUE CHEZ SEPT VARIETES DE COTONNIER

% de P. A R N				
	PLANTES TEMOINS		PLANTES INTOXIQUÉES	
	Feuilles	Racines	Feuilles	Racines
P.14	17	14	18	9
108 F	20	13	17	11
Deltapine	27	13	20	11
Coker	15	12	18	12
M 6 S 306	20	12	13	11
Allen	23	18	13	12
Acala	23	23	9	14

- TABLEAU 16 -

b) Pour le P.DNA, les valeurs que nous avons obtenues sont nettement inférieures à celles proposées par ERGLE pour les plantules âgées de 6 jours.

Elles se situent pour les feuilles :

- entre 0,090 et 0,140 mg/g de matière sèche chez les témoins
- entre 0,080 et 0,140 mg/g de matière sèche chez les plantes intoxiquées

au niveau des racines, les chiffres extrêmes sont les suivants :

- 0,050 à 0,080 mg/g de matière sèche chez les témoins
- 0,030 à 0,060 mg/g de matière sèche chez les plantes intoxiquées.

D'une manière générale toutes les valeurs sont homogènes et représentent ainsi, en proportion du phosphore total, des taux situés en moyenne entre 1,5 et 3,5 %. La proportion de P.ADN est toutefois toujours un peu inférieure chez les plantes intoxiquées.

## V. CONCLUSION

La toxicité manganique induite, dans des conditions de culture en solution nutritive a eu pour effet d'élever significativement les teneurs en phosphore total dans les cultures intoxiquées.

Les différentes fractions phosphorées isolées ont permis de déceler celles d'entre elles dont les quantités augmentent plus particulièrement.

### 1°) Phosphore minéral

C'est la fraction dont les modifications, sous l'effet du traitement manganique, suivent avec le plus de fidélité celles du phosphore total. Que ce soit dans les tiges ou dans les racines il y a une élévation significative des quantités de phosphore minéral dans les plantes intoxiquées.

Cette augmentation se traduit toujours par une augmentation de la proportion de cette fraction dans la valeur rapportée à 100, du phosphore total, ainsi que le présentent les graphiques 11 et 12.

### 2°) Phosphore organique acidosoluble

Il subit relativement peu de variations dans les cultures intoxiquées. Le traitement n'est pas significatif. Cette fraction représente une forme dont la représentation proportionnelle est stable.

### 3°) Phosphore lipidique

C'est la fraction qui, avec le phosphore minéral, est responsable de l'augmentation observée pour le phosphore total. Il y a dans les cultures intoxiquées tant au niveau des feuilles, qu'au niveau des racines une augmentation significative des teneurs.

Les feuilles sont beaucoup plus riches que les racines en phospholipides, et, ceci, dans les cultures intoxiquées comme dans les témoins, le rapport phosphore lipidique-feuilles sur phosphore lipidique-racines est toujours supérieur à 1.

#### 4°) Phosphore protéique

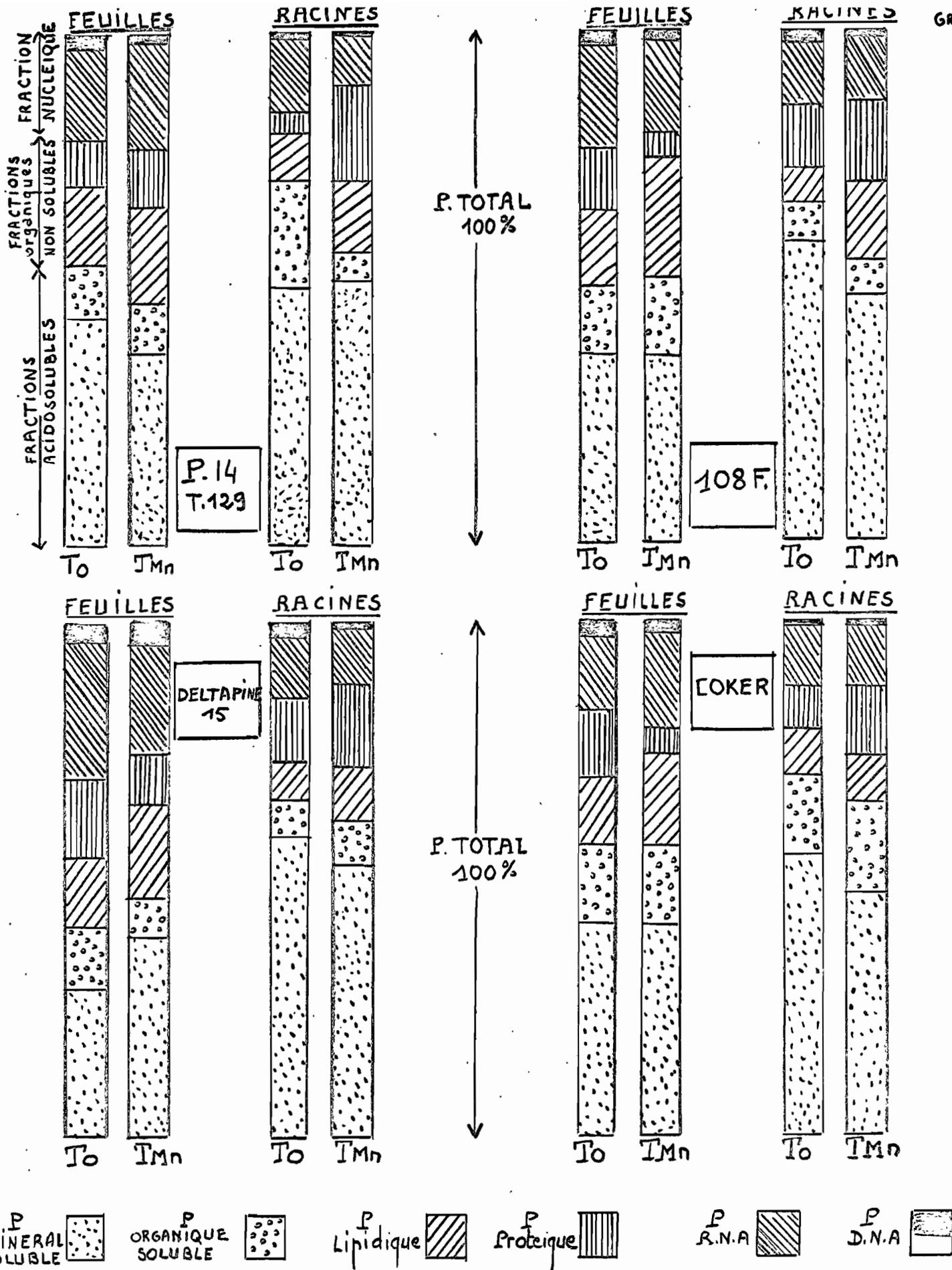
L'effet du traitement est perceptible au niveau des feuilles seulement, chez lesquelles on observe une diminution significative des teneurs.

On note, dans les feuilles essentiellement, un antagonisme dans la coexistence des formes lipidiques et protéiques.

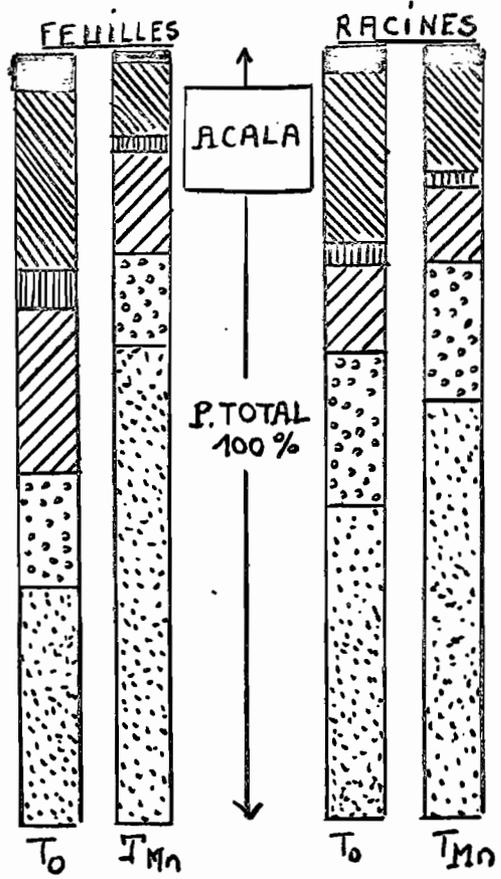
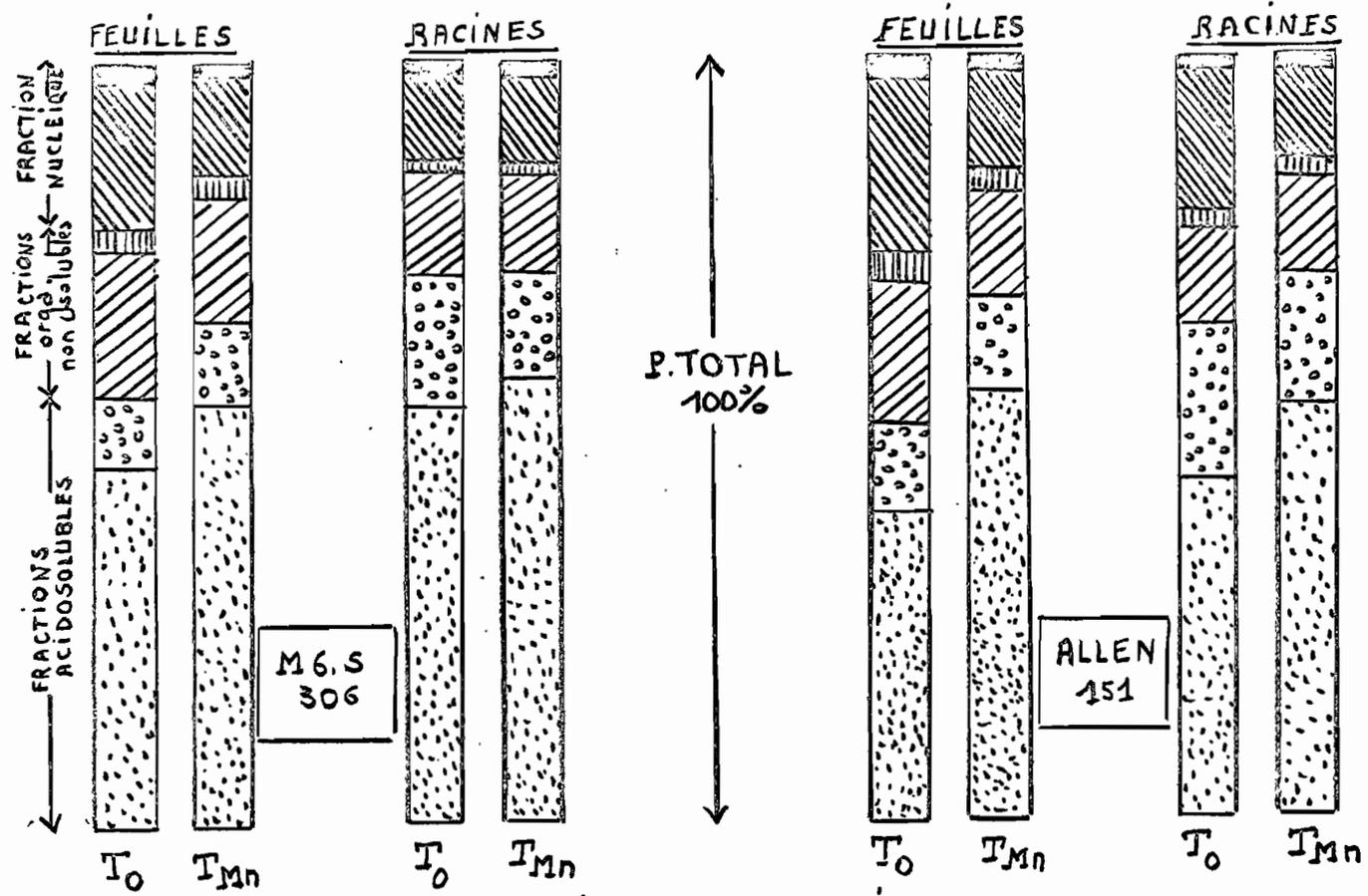
#### 5°) Phosphore nucléaire

Il n'y a pas d'effet significatif du traitement sur les teneurs en P.ARN et en P.ADN.

Toutefois, le P.ARN, diminue en proportion du phosphore total (représentant 100) chez les plantes intoxiquées.



VARIATIONS DES PROPORTIONS DES CONSTITUANTS PHOSPHORÉS CHEZ LE COTONNIER SAIN ET INTOXIQUÉ PAR LE MANGANESE



VARIATIONS DES PROPORTIONS DES CONSTITUANTS PHOSPHORÉS CHEZ LE COTONNIER SAIN ET INTOXIQUE PAR LE MANGANESE.

## BIBLIOGRAPHIE

- BEASLEY, J.O. - 1940 - The origine of the American tetraploid species Nature 47, 286-286.
- BURTON, K. - 1956 - A study of the condition and mechanism of the diphenylamine reaction for the colorimetric estimation of desoxyribonucleique acid. Bioch. J. 62, pp. 315-323.
- COHEN, W. - 1950 - J. Amer. Chem. Soc. 72, 1471.
- DIDIER DE SAINT-AMAND, J., CAS, G. - 1966 - Dosage des éléments majeurs chez les végétaux. Méthodes utilisées au Laboratoire de Diagnostic Foliaire de l'ORSTOM. ORSTOM Bondy, 40 p. multig.
- DIENER, T.O., LASHEEN, A.M. - 1960 - The determination of nucleic Acid content and composition of fruit tree and other plant leaves. Soc. for Horticultural Science, vol. 75, pp. 195-206.
- ERGLE, D.R., GUINN, G. - 1959 - Phosphorus compounds of cotton embryos and their changes during germination. Plant Physiology, 34, 476-82.
- ERGLE, D.R., KATTERMANN, R.H. - 1961 - Desoxyribonucleic acid of cotton. Plant Physiology, 36, 311-815.
- ERGLE, D.R., KATTERMAN, F.R.H., - 1961 - Desoxyribonucleic acid of cotton. Plant Physiology, 36, 811-815.
- ERGLE, D.R., KATTERMAN, R.F.H., RICHMOND, T.R. - 1964 - Aspects of nucleic Acid composition in gossypium. Plant Physiology, 39, 145-150.
- FISKE, CH., SUBBAROW, Y. - 1925 - The colorimetric determination of phosphorous. Journal of Biochemistry, vol. 66, p. 375.
- FONTAINE, T.D, PONS, W.A Jr and IRVING, G.W. Jr - 1946 - Protein phytic acid relationships in plants and cotton seed. Jour. Biol. Chem. 164, 487-507.
- HURLBERT, R.B., SCHMITZ, H., BRUMM, A.F., POTTER, V.R. - 1954 - Nucleotide metabolism. J. Biol. Chem. 204, 23-39.
- INGLE, J. - 1963 - The extraction and estimation of nucleotides and nucleic acids from plant material. Phytochemistry, vol. a, pp. 353-370.

- INGLE, J., BEEVERS, L., HAGEMAN, R.H. - 1964 - Plant Physiol., vol. 39, n° 5.
- KUNITZ, M. - 1940 - J. Gen. Physiol. 24, p. 31.
- KATTERMANN, F.R.H., ERGLE, D.R. - 1952 - Isolation and composition studies of cotton RNA. Proc. Assoc. South. Agr. Workers. 230-231.
- LOURY, O.H., ROSEBROUGH, N.J., FAIR, A.L., RANDALL, R.J. - 1951 - Protein measurement with Folin-phenol reagent. J. Biol. Chem., 193, pp. 265-275.
- MARKHAM, R. - 1955 - Nucleic Acids. Modern methods of plant analysis. Vol. IV, p. 291.
- MARTIN, J.B., DOTY, D.M. - 1949 - Determination of inorganic phosphate. Analyt. Chemistry, vol. 21, pp. 965-967.
- OGUR, M., ROSEN, G. - 1930 - The nucleic acids of plant tissues - I - The extraction and estimation of deoxy-pentose nucleic acid and pentose nucleic acid. Arch. Bioch. 25, 262-76.
- PONS et al - 1953 - AOAC Jour., vol. 36, n° 2.
- SCHMIDT, B., THANNHAUSER, S.J. - 1945 - A method for the determination of desoxyribonucleic acid, and phosphorproteins in animal tissues. J. Biol. Chem. 616, 83-89
- SMILLIE, R.M., KROTKOV, G.- 1960 - The estimation of nucleic acids in some Algae and higher plants. Can. J. Botany, vol. 38.
- URYSON, S.O., BELOKERSKII, A.N. - 1959 - The nucleotide composition of the desoxyribonucleic and ribonucleic acids of some higher plants. Dor. P. Akad. Nauk. SSSR. Biochem Seet. 125. 116-119.
- WEBB, J.M., LEVY, H.B. - 1955 - A sensitive method for the determination of desoxyribonucleic acid in tissues and microorganisms. J. Biol. Chem. 213, pp. 107-117.
- WEBB, J.M. - 1956 - A sensitive method for the determination of ribonucleic acid in tissues and microorganisms. J. Biol. Chim. 221, 635-649.