

Zeitschrift: Mémoires de la Société Vaudoise des Sciences Naturelles
Herausgeber: Société Vaudoise des Sciences Naturelles
Band: 13 (1963)
Heft: 1

Artikel: Métabolisme azoté croissance et catabolisme auxinique des plantules du "Lens"
Autor: Siegenthaler, Paul-André
DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-258308>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. [Mehr erfahren](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. [En savoir plus](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. [Find out more](#)

Download PDF: 28.11.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

**Métabolisme azoté
croissance et catabolisme auxinique
des plantules du « Lens »**

PAR

PAUL-ANDRÉ SIEGENTHALER

Laboratoire de Physiologie végétale (Dir. Prof. P. E. Pilet)
Université de Lausanne

AVANT-PROPOS

Depuis une douzaine d'années, les recherches qui se poursuivent au Laboratoire de Physiologie végétale de l'Université de Lausanne sont consacrées essentiellement à l'étude de la physiologie des racines du *Lens* en rapport avec le métabolisme auxinique.

En 1951, M. le professeur P. E. Pilet démontrait l'intérêt que présente l'analyse des variations des propriétés morphologiques, physiologiques et biochimiques tout au long de l'axe radiculaire du *Lens*. Ces variations permettent d'établir des gradients donnant de nombreux renseignements relatifs au métabolisme des divers tissus dont on étudie les phénomènes de croissance. Jusqu'en 1958, M. Pilet et ses collaborateurs analysèrent un certain nombre de gradients parmi lesquels on peut citer la teneur en auxines, l'activité auxines-oxydasi-que, la concentration en sucres réducteurs et en amidon, la polarité bioélectrique et la teneur en fonctions thiols.

C'est alors que M. le Professeur Pilet nous confia le soin de compléter ces résultats par la recherche des gradients azotés. Ce fut le point de départ de toute une série d'expériences en vue d'établir les relations qui peuvent exister entre les hormones de croissance et le métabolisme azoté.

Ainsi est-ce pour nous un agréable devoir que d'exprimer notre vive gratitude à M. P. E. Pilet pour le sujet riche et passionnant qu'il nous a inspiré. Durant l'élaboration de ce travail, M. Pilet fut pour nous un guide éclairé autant qu'enthousiaste et nous a constamment fait bénéficier de ses conseils avec compétence et générosité. Nous avons été très sensible aux nombreux entretiens qu'il nous a accordés, entretiens toujours féconds, témoignant de l'intérêt porté à nos recherches et débordant souvent le cadre de cette étude. Que

M. le Professeur P. E. Pilet veuille bien accepter l'expression de notre profonde reconnaissance.

Qu'il nous soit permis de présenter à M. le Professeur F. Cosandey notre sincère gratitude pour l'accueil chaleureux qu'il nous a réservé. Nous le remercions vivement de l'honneur qu'il nous fait en acceptant de juger notre thèse.

Nous ne saurions manquer d'évoquer toute la cordialité et l'esprit d'amicale émulation régnant dans ce Laboratoire où plusieurs de nos camarades ont travaillé ou travaillent encore sur des sujets voisins du nôtre.

Notre gratitude s'adresse enfin à tout le personnel technique de notre Laboratoire qui, par son aide et son dévouement, nous a permis de mener à bien le présent travail.

PREMIERE PARTIE : METHODES ET TECHNIQUES

1. LE MATÉRIEL

1.1. *Choix du matériel*

D'emblée, il nous a paru avantageux de travailler sur un matériel dont nous connaissions déjà certaines propriétés physiologiques et caractéristiques biochimiques (PILET, 1951 a, 1953 a, 1961 a; MARGOT (1956).

De plus, les plantules du *Lens culinaris* MEDIKUS, notre matériel biologique, présentent un certain nombre d'avantages : 1) la croissance des racines est rectiligne; 2) le pourcentage des germinations est relativement élevé; 3) la culture des plantules est aisée; 4) la croissance des racines est très sensible à l'action des substances de croissance; 5) et l'activité des auxines-oxydases est élevée.

Relevons toutefois un inconvénient majeur. En dépit des sélections (une ou deux suivant les cas), la variabilité du matériel au cours de la croissance (de la longueur des racines en particulier) s'est révélée relativement grande (*tableau I*). On peut attribuer cette variabilité au fait qu'il est pratiquement impossible de se procurer des clones de graines du *Lens*. Au cours de nos essais, nous avons changé trois fois de fournisseur, ce qui nous a obligé à modifier, suivant les lots, le temps d'imbibition, le temps de croissance, etc.

1.2. *Technique de culture*

Nos essais ont porté essentiellement sur des racines. Toutefois, pour compléter les données relatives à la croissance et au métabolisme de ces organes, nous avons réalisé un certain nombre d'analyses sur les épicotyles et les cotylédons.

Les semences sont imbibées 4 ou 12 heures suivant les lots, dans de l'eau déionisée ou distillée, puis mises à germer en boîtes de Petri (diamètre : 17 cm) sur papier filtre, dans une étuve à 25° C, à l'obscurité. Après 24 heures environ,

on trie les graines et ne conserve que les plantules dont les racines mesurent $3 \text{ mm} \pm 0,5$. Ces germinations sont placées dans de petites boîtes de Petri (diamètre : 10 cm), contenant 5 ml de solution. On arrange 10 graines par boîte sur un papier filtre, en prenant soin de diriger les racines vers le centre et de les baigner le mieux possible dans la solution. Lorsque les racines mesurent 18 mm, on les récolte pour en préparer les extraits.

Cette technique de base a été souvent modifiée au cours de nos essais. Nous précisons, pour chacun d'eux, les nouvelles conditions.

TABLEAU I

Recherche des valeurs statistiques

Longueur des racines du *Lens* traitées à l'obscurité par de l'ABIA (concentrations variables) et à la lumière sans ABIA.

Concentrations d'ABIA 1.10^{-x} M		Heures	M	N	σ	$EM = \frac{\sigma}{\sqrt{N}}$	
OBSCURITE	$x = \infty$	24	26,1	18	3,3	0,78	
		48	37,0	18	4,1	1,3	
	$x = 8$	24	24,2	13	2,7	0,75	
		48	34,0	13	3,4	1,7	
	$x = 6$	24	19,8	15	3,2	0,83	
		48	28,3	15	6,8	2,0	
	$x = 4$	24	15,2	14	2,3	0,60	
		48	19,3	14	4,3	1,4	
	LUMIERE	$x = \infty$	24	21,2	13	2,8	0,78
			48	27,4	13	5,0	1,3

M : moyenne arithmétique (en mm) des longueurs de N lots de 30 racines chacun.

$$\sigma : \sqrt{\frac{y_i \cdot L_i^2}{N - 1}} \quad \text{où } L = \text{erreur apparente} = X_n - M$$

$x = \text{variants}$
 $y = \text{fréquence du même variant.}$

1 σ et 1 EM représentent le 65 % des cas, 2 σ et 2 EM, le 95 % des cas.

1.3. Récolte du matériel

Pour éviter les dégradations (protéines, etc.) et les effets traumatiques provoqués par la coupe des organes ou des sections, il importe d'opérer dans le minimum de temps. Nous avons pris, dans tous les cas, des précautions dont voici les principales :

Un organe ou un tissu coupé, prêt à l'analyse, est toujours entreposé pendant un temps minimum et dans des conditions physiologiques (isotonie). Pour les

essais à l'obscurité, la préparation du matériel se fait à la lumière verte, la moins active sur les systèmes enzymatiques étudiés.

Les organes entiers (racines, épicotyles et cotylédons) sont séparés les uns des autres à l'aide d'une lame de rasoir. Pour l'étude des gradients radiculaires, les sections de 3 mm sont coupées à l'aide d'une guillotine dont le principe a été donné ailleurs (PILET, 1959 a). Les fragments mesurent $3,05 \pm 0,25$ mm. La longueur des racines est mesurée à l'aide d'une règle graduée à $\pm 0,5$ mm près pour des racines de 18 mm et à $\pm 1,0$ mm près pour des racines supérieures à 36 mm. Nous avons utilisé un magnétophone pour abréger le temps de mesure. Les pesées sont faites à la balance Mettler (Zurich), à la précision de 0,1 mg. La teneur en eau est obtenue, après dessiccation, par différence du poids frais et du poids sec.

1. 4. *Traitements*

Les traitements ont été effectués à l'acide β -indolylacétique (ABIA). Les concentrations et les applications ayant varié, nous précisons par la suite les conditions propres à chacun des essais.

Un certain nombre de méthodes sont actuellement préconisées pour préparer l'ABIA en solution.

La première repose sur la propriété de l'ABIA de former des sels hydrosolubles avec NaOH, KOH et NaHCO₃, etc. Pour éviter la présence, dans nos milieux, d'ions étrangers qui pourraient modifier la perméabilité des membranes et certains processus métaboliques, nous avons renoncé à utiliser cette méthode.

La constante de solubilité de l'ABIA dans l'eau (obscurité, à 26° C, après 6 h.), déterminée par PILET et ATHANASIADES-MERCANTON (1959) est de 1,6 mg/ml, soit de $9,14 \cdot 10^{-3} M$. Il est donc facile de préparer, par dilutions successives dans des ballons jaugés, les solutions aqueuses d'ABIA dont nous avons besoin ($1 \cdot 10^{-9}$ à $1 \cdot 10^{-3} M$), à partir d'une solution-mère concentrée (agitation électro-magnétique pendant 4 h., à l'obscurité).

Le PM de l'ABIA est de 175,18 exactement, mais dans nos recherches nous avons adopté le PM de 175,00.

Notons enfin que les milieux de culture ne sont pas tamponnés. La présence des ions phosphates, sodiques et potassiques du tampon de Mac Ilwaine (généralement utilisé dans le test R) aurait pu perturber le métabolisme des plantules dont nous voulions étudier la croissance et le métabolisme azoté sans apport extérieur. Il est évident que le pH des différentes solutions aqueuses d'ABIA peut modifier la pénétration des substances de croissance (v. PILET, 1961a, p. 419). Mais une étude comparée des effets d'un traitement auxinique à plusieurs concentrations sur la croissance de pointes de racines (test R, en milieu tamponné) et de racines entières (en milieu non tamponné) a montré que l'on pouvait négliger ce facteur.

2. ANALYSE DES COMPOSÉS AZOTÉS

2. 1. *Introduction*

Les méthodes suivies dérivent, pour la plupart, du procédé de Kjeldahl; cette technique a subi de nombreuses améliorations (CHIBNALL, 1922-1943; VICKERY, VICKERY et coll., 1924-1946; PUCHER et coll., 1935-1949; BRUNEL, 1949, Vol. II, p. 441; MOYSE, 1950, où l'on trouvera une bibliographie détaillée) mais le principe en est toujours le même.

Les organes ou tissus végétaux (ou les fractions d'azote soluble ou protéinique) sont attaqués par de l'acide sulfurique concentré, à chaud, en présence de divers catalyseurs. L'azote des composés

minéraux et organiques est transformé en sulfate d'ammonium. Par distillation avec un excès de soude, l'ammoniaque est mise en liberté, recueillie dans un acide et titrée (v. détails plus bas).

KIRK (1950) propose une autre méthode. Les fractions d'azote soluble ou protéinique (obtenues par précipitation à l'acide trichloracétique 0,5 M) sont minéralisées dans des tubes de Folin-Wu par H_2SO_4 conc. et quelques gouttes de H_2O_2 , en présence d'un catalyseur (acétate de Hg et de SeO_2). Avec le réactif de Nessler, la solution prend une coloration que l'on apprécie à l'aide d'un photolorimètre. Une courbe standard permet de calculer la quantité d'azote.

Cette dernière technique a été adoptée, entre autres, par GALSTON et DALBERG (1954), PILET et GALSTON (1955), puis par PILET (1957 e). En utilisant le même matériel, nous avons comparé ailleurs (PILET et SIEGENTHALER, 1959) les résultats obtenus pour chacune de ces méthodes. La technique de Kjeldahl-Brunel que nous avons adoptée semble plus sensible, bien que pour les fragments de la zone basale les différences observées ne soient pas significatives.

2.2. Dessiccation des organes

Le matériel récolté (racines, épicotyles ou cotylédons) est débarrassé de l'eau de lavage au moyen de papiers filtres (Schleicher et Schuell, N° 595), pesé à l'état frais, puis desséché.

Une étude antérieure (PILET et SIEGENTHALER, 1959) nous a fait adopter la méthode suivante : les flacons à peser contenant le matériel frais sont placés dans un dessiccateur, sous vide et en présence de $CaCl_2$ (v. BRUNEL, Vol. I, p. 54-56). Au bout de 4 à 7 jours, suivant le matériel, on obtient le poids constant.

Plus récemment, nous avons remplacé la dessiccation sous vide par un séchage plus rapide dans une étuve, dont la température est réglée à 70° C pendant une heure, puis maintenue entre 50° et 60° C jusqu'à poids constant. Cette méthode présente l'avantage de coaguler et stabiliser plus vite les protéines. De même à 70° C, les enzymes sont inactivées. Au bout de 24 h. en général, le poids constant est atteint.

Bien que nous n'ayons pas remarqué, dans les résultats, de différences significatives entre ces deux méthodes de dessiccation, nous savons toutefois (MOYSE, 1950, p. 16) que quelques amino-acides (la glutamine surtout) sont des composés très instables. D'autre part, cette dernière méthode conduit à une certaine perte de glucides endogènes (BRUNEL, 1949, Vol. I, p. 343). Il est donc probable que nos résultats soient entachés d'un certain nombre d'erreurs ; mais notre propos n'étant pas de faire une analyse détaillée des différents composés azotés (des amides par exemple), nous n'avons pas jugé utile d'étudier systématiquement l'influence du séchage sur la concentration des différents composés azotés. D'une façon générale, ces méthodes provoquent le départ de 90 à 95 % d'eau.

2.3. Précipitation des protéines

Pour faciliter l'extraction, le matériel séché est réduit, dans un mortier, en une fine poudre. Après adjonction d'eau distillée, on transvase le mélange quantitativement dans de petits béchers que l'on place 30 mn dans un BM maintenu à une température de 60° C (cette méthode peut toutefois provoquer la dégradation de substances thermolabiles comme la glutamine). On refroidit le mélange auquel on ajoute une solution aqueuse d'acide trichloracétique (ATAc) à 10 % et on laisse reposer pendant 12 h.

L'ATAc permet une très bonne extraction des composés azotés solubles (acides aminés et peptides). Le résidu insoluble comprend essentiellement les protéines (qui sont complètement dénaturées et rendues insolubles), les acides nucléiques, les produits membranaires, etc.

Toutefois, une faible quantité de protéines, d'ailleurs assez difficile à estimer, peut s'hydrolyser en milieu acide (BERTHELOT et ANDRÉ, 1886, cités par MOYSE, 1950). Ce déféquant est plus actif que l'alcool ajouté postérieurement à l'extraction aqueuse par exemple, ainsi que le montre VICKERY (1924, cité par MOYSE, 1950).

La précipitation, par l'ATAc, des protéines de broyats de cotylédons (contenant des matières gélinifiables et de l'amidon en abondance) s'est révélée assez difficile. Souvent, nous avons dû filtrer plusieurs fois pour obtenir un filtrat suffisamment limpide. La précipitation par de l'alcool à 50°, préconisée par OSBORNE et coll. (1922) et DENNY (1929, v. MOYSE, 1950) ne s'est pas montrée plus efficace. Après 12 h, la solution se décante et le liquide est filtré sur papiers filtres avec une légère aspiration dans des fioles à filtrer. Le résidu est lavé trois fois avec une solution d'ATAc à 2,5 %.

2.4. Minéralisation

Le résidu insoluble (filtre y compris) et le filtrat sont traités, dans des matras de Kjeldahl, par de l'acide sulfurique concentré (en général, 4 ml pour 30 racines et épicotyles et 10 ml pour 18 cotylédons), en présence d'un catalyseur au sélénium (5 p. de SO₄Cu cristallisé + 5 p. de SO₄K₂ cristallisé + 1 p. de Se). Le chauffage sur une rampe à gaz, est poursuivi 6 heures après la décoloration (CHIBNALL, REES et WILLIAMS, 1943). Cette méthode ne tient pas compte des ions nitriques contenus dans le filtrat. Ne procédant pas à une étude séparée des différents composés azotés, nous n'avons pas jugé utile d'assurer leur réduction par l'acide phényl-sulfurique en présence de poudre de zinc.

2.5. Dosage de l'azote protéinique et soluble

La distillation de la liqueur contenue dans les matras est faite dans l'appareil de Parnas et Wagner. L'ammoniaque est mise en liberté par un excès de NaOH (30 à 40 %), entraînée par la vapeur d'eau et recueillie dans de l'acide borique à 2 %, contenant déjà l'indicateur de Taschiro. (*Préparation* : 10 mg de bleu de méthylène dissous dans 10 ml d'alcool à 95° ; 20 mg de rouge de méthyle dissous dans 10 ml d'alcool à 95° ; mélanger les deux solutions et conserver à l'obscurité). On procède alors à la titration directe de l'ammoniaque par une solution d'HCl n/50 dont on connaît le facteur exact.

La détermination de l'azote total se fait selon le même principe, mais sans précipitation par l'acide trichloracétique ; après séchage, le matériel est introduit directement dans les matras de Kjeldahl.

2.6. Expression des résultats

L'azote insoluble, contenu dans le résidu, provient de polypeptides insolubles et de protéines essentiellement, mais aussi des acides nucléiques et des substances membranaires : nous l'appellerons *l'azote protéinique*, NP (ou protéique). L'azote contenu dans le filtrat provient des combinaisons inorganiques (composés ammoniacaux, etc.) et organiques (amino-acides, amides, peptides, etc.). La quantité des composés inorganiques, dans les organes d'une plantule non traitée, est faible en regard de la concentration des combinaisons organiques. C'est pourquoi, cet *azote soluble*, NS, représente les protides solubles essentiellement. *L'azote total*, NT, est la somme de l'azote protéinique et de l'azote soluble.

Ces différentes formes d'azote sont exprimées en γ par rapport à un nombre fixe d'organes, par rapport à l'unité de poids frais, de poids sec, de teneur en eau et s'il y a lieu de longueur. Nous discuterons plus loin la valeur de chacun de ces critères de référence (v. p. 8). La quantité d'N exprimée en γ par unité de poids frais (10 mg) est donnée par la formule suivante :

$$\gamma \text{ N/10 mg PF} = \frac{(N)}{50\,000} \cdot 10^6 \cdot (a-b) \cdot f_{\text{HCl}} \cdot \frac{10}{\text{PF}}$$

où

(N)	=	poids atomique de l'N (= 14,008 g.)
a	=	ml HCl n/50 employé pour doser l'ammoniaque
b	=	ml HCl n/50 utilisé dans l'essai à blanc (filtre seul)
f	=	facteur de HCl n/50
PF	=	poids frais en mg.

La teneur en protéines correspondant en poids à l'azote protéinique trouvé est obtenue en multipliant NP par le coefficient 6,25 (CHIBNALL, 1939). Il nous

a paru inutile d'effectuer ce calcul pour chacun de nos résultats. Il suffit de faire remarquer que les courbes ainsi obtenues sont tout simplement parallèles à celles que nous discuterons.

2. 7. Valeurs des résultats

Des essais préliminaires à partir de sels azotés (sulfate d'ammonium, phénacétine, etc.) nous ont donné, après distillation, des valeurs d'N très satisfaisantes (erreurs $\pm 0,5\%$). Mais il va sans dire qu'en tenant compte des erreurs dues à la précipitation par l'ATAc et surtout aux variations individuelles (v. PILET et SIEGENTHALER, 1959), nous obtenons des résultats variant à $\pm 7\%$ (MOYSE, 1950, admet 5%).

3. ANALYSE DE L'ACTIVITÉ DES SYSTÈMES AUXINES-OXYDASIQUES

3. 1. Les techniques

Quelques techniques permettant la détermination de l'activité des systèmes auxines-odasiques sont proposées dans la littérature (v. PILET, 1961 a, p. 302 à 319). Rappelons-en les principales :

Analyse directe de l'ABIA détruit : 1) technique colorimétrique ; 2) technique spectrophotométrique ; 3) technique biochromatographique ; 4) technique radiochromatographique ;

Analyse indirecte de l'ABIA détruit : 1) technique manométrique.

Toutes ces techniques présentent à la fois des avantages et des inconvénients et permettent de fournir des renseignements particuliers. A la suite de l'étude critique de PILET (1961 a, p. 316 à 319), et dans l'impossibilité d'appliquer parallèlement toutes ces méthodes, nous avons adopté la technique colorimétrique, la plus rapide, qui suffit largement à notre étude.

3. 2. La technique colorimétrique

Cette technique (PILET, 1957 c) a fait récemment l'objet d'une mise au point et d'un examen critique (PILET et COLLET, 1962). Notre méthode est empruntée à ces études ; rappelons-en les principales étapes :

1. Le matériel frais (racines) est pesé, puis broyé dans un mortier conservé jusqu'à l'emploi dans un congélateur (-23°C). Au besoin, on ajoute du SiO_2 pour faciliter la formation d'une pâte homogène et l'on ajoute, le plus tard possible, quelques ml d'une solution tampon phosphate (pH 6,1). L'extrait est alors centrifugé (ultracentrifugeuse à congélation, à $-4^{\circ}\text{C} \pm 2$) une première fois à 5000 tours/mn pendant 20 mn. La solution surnageante est décantée dans un ballon jaugé de 20 ml. On rince consciencieusement le mortier avec la solution tampon. Les eaux de lavage et le culot (homogénéisé dans la solution par agitation) sont soumis à une deuxième centrifugation à 10 000 tours/mn pendant 10 mn. La solution surnageante est alors versée dans le ballon qui est complété jusqu'au trait de jauge. L'extrait peut être conservé au maximum 24 h au frigo.

2. On prépare une batterie de tubes à essais (deux par extrait) contenant : 4 ml H_2O + 4 ml extrait. Au temps 0 de l'incubation, on ajoute 2 ml d'ABIA (50 γ /ml) dans la série des premiers tubes (I), tandis que la série des deuxièmes tubes (I') est incubée sans ABIA. On agite, et les tubes sont incubés dans une étuve, munie d'un dispositif d'agitation, à 25°C , pendant 1 et 2 heures.

3. A la fin de l'incubation, 2 ml du mélange I sont pipetés dans les tubes colorimétriques de Klett contenant 8 ml de réactif de Salkowski modifié (PILET, 1957 c.) La composition de ce réactif est la suivante :

- 3 ml $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (pro anal., PM 270,32) 1,5 M. (eau distillée)
- 60 ml H_2SO_4 (1,84 ; PM 98,08 ; 85-97 %)
- 100 ml H_2O distillée.

On mélange quatre fois le contenu des tubes, dans un ordre et un temps déterminés. Simultanément, on ajoute 2 ml d'ABIA (50 γ /ml) aux extraits I' que l'on mélange énergiquement ; on prélève tout de suite 2 ml que l'on verse dans un tube de Klett contenant 8 ml de réactif et l'on mélange quatre fois.

4. On détermine, au cours du temps, la variation du coefficient d'extinction, pour chacune de ces solutions, à l'aide du colorimètre Klett-Summerson (filtre vert, N° 54, $535 \pm 25 m\mu$) dont on cherche préalablement (et avant chaque série de mesures) le zéro (tube contenant 8 ml de réactif et 2 ml de tampon phosphate). On établit généralement les calculs à partir des indices colorimétriques trouvés au bout de 1200 secondes de réaction.

5. La formule suivante (COLLET, thèse, 1962) permet de calculer l'activité auxines-oxydasique (ABIA OX) exprimée en γ d'ABIA détruit pendant 60 ou 120 mn par rapport à 100 mg de poids frais (PF).

$$\text{ABIA OX} = \frac{I'_c - I_c}{I'_c} \cdot 500 \cdot \frac{100}{\text{PF}}$$

où I'_c = Indice colorimétrique, au bout de 1200 sec., de l'extrait incubé sans ABIA

I_c = Indice colorimétrique, après 1200 sec., de l'extrait incubé avec ABIA.

3. 3. Valeur des résultats

Le choix du réactif (qualité, quantité, sensibilité, spécificité) et certaines conditions expérimentales (température, pH du tampon) ont été mis au point ailleurs (PILET, 1957 c). De même, l'importance de l'opacité de l'extrait qui augmente avec la concentration du substrat, l'établissement et l'approximation de la courbe standard et les erreurs de manipulation ont fait l'objet d'une étude critique particulière (PILET et COLLET, 1962). Toutefois, relevons ici l'approximation des résultats : erreurs de manipulation, 0,5 à 1,5 % ; l'erreur de la préparation de l'extrait est difficile à estimer ; d'autres composés indoliques (résultant en particulier de la dégradation de l'ABIA) donnent une coloration positive avec le réactif de Salkowski. Les variations, sur l'indice colorimétrique, sont de l'ordre de 3 %.

4. AUTRES MÉTHODES D'ANALYSE

A maintes reprises, nous établirons des comparaisons entre la teneur en composés azotés et d'autres composés biochimiques analysés sur le même matériel.

Nous nous bornerons à citer ici les références des travaux où sont décrites et discutées en détail ces techniques :

teneurs en auxines endogènes par le test *Avena* (PILET, 1951 a), par biochromatographie et le test R (PILET, 1958 d), enfin par le test T (PILET et COLLET, 1959) ; *teneur en amidon* (PILET et MARGOT, 1953) ; *polarité bioélectrique* (PILET et MEYLAN, 1953) ; *teneur en glucides* (PILET et MEYLAN, 1953) ; *activité des peroxydases et genèse des peroxydes* (PILET et GALSTON, 1955) ; *teneur en groupes —SH* (PILET, 1957 e) et *mesures respirométriques* (PILET et KOBR, 1959 et KOBR, thèse, 1962).

5. LES CRITÈRES DE RÉFÉRENCE

5. 1. Le problème

Lorsqu'on exprime la concentration d'un composé contenu dans un tissu ou un organe, on la rapporte à une unité déterminée (nombre

d'organes, poids frais, poids sec, teneur en eau, nombre de cellules, azote protéinique, etc.). On se trouve alors en présence de trois difficultés :

- 1) Le critère de référence choisi est toujours discutable ;
- 2) Suivant le critère de référence, les courbes obtenues peuvent être très différentes. Les valeurs trouvées dépendent essentiellement du mode d'expression adopté ;
- 3) Si l'on désire comparer les composés chimiques (auxines, glucides, protéines...) d'un tissu témoin et traité (par de l'ABIA par exemple), le facteur de référence adopté, lui aussi, des modifications dues au traitement auxinique ou à la croissance.

A maintes reprises, nous avons insisté sur l'importance qu'il faut attacher aux modes d'expression des résultats (PILET et SIEGENTHALER, 1959 et 1961). Nous consacrons ce chapitre à l'étude critique des critères de référence généralement utilisés, en illustrant chacun des cas par des exemples pris dans nos expériences.

5. 2. Définitions

Un tissu ou un organe est caractérisé par un certain nombre de grandeurs que l'on peut classer « grosso modo » de la façon suivante :

1. *Les données expérimentales immédiates*, directement mesurables ; les *données macrophysiologiques* (poids frais ou sec, teneur en eau, nombre de fragments ou d'organes, longueur, volume, etc.) ; les *données cytologiques* (nombre de cellules, etc.).

2. *Les données expérimentales plus difficiles à déterminer* ou *données microphysiologiques* qui requièrent une analyse plus complexe :

- a) *Les données biochimiques* (teneur en azote total, protéinique et soluble, en glucides, en lipides, en auxines, échanges respiratoires, etc.) ;
- b) *Les données biophysiques* (polarité électrique, conductivité, extension des membranes, etc.) ;
- c) *Les données enzymatiques* (activité auxines-oxydasique, protéolytique, etc.).

Les données fournies directement par l'expérience sont des *valeurs absolues*. Chacune de ces valeurs peut être utilisée comme *unité* ou *critère* de référence. Une valeur absolue quelconque exprimée en fonction d'une unité de référence devient une *valeur relative*.

Les données expérimentales immédiates sont les critères de référence les plus souvent utilisés. En effet, on cherche généralement à exprimer une donnée biochimique, qui constitue une des nombreuses composantes d'un tissu, en fonction d'une valeur plus générale. Nous exprimerons ainsi l'azote protéinique (la partie) par rapport au poids sec (le tout).

5.3. Quelques critères de référence.

L'unité d'individu (d'organe, de section, de fragment). C'est un critère de référence souvent utilisé qui permet de suivre (au cours de la croissance par exemple) les variations d'un facteur endogène, à l'exclusion de toute autre modification que peut entraîner la croissance ou un traitement (auxinique par exemple). Mais ce critère de référence ne tient par compte des variations réciproques des autres facteurs endogènes. D'autre part, si l'on veut comparer entre elles des données microphysiologiques d'organes dont les longueurs sont différentes, ce mode d'expression est nettement incomplet et il est indispensable d'utiliser d'autres unités. (Exemples, v. *tableau V*).

L'unité de poids (frais, sec ou teneur en eau). Un premier point nous paraît essentiel. Les différents composés chimiques endogènes étudiés (au cours de la croissance par exemple) (v. *tableau XVI*) sont rapportés au poids frais ou sec des tissus au moment de la récolte du matériel et non pas, comme le préconisent certains auteurs (CHRISTIANSEN et THIMANN, 1950; THIMANN et LOOS, 1957) au poids initial de l'individu. Un individu subit, au cours du temps, des variations de poids dont il faut tenir compte. Ce critère de référence est sans doute l'un des plus valables par le fait qu'il tient compte de l'ensemble des autres variations de l'individu.

Discutons, à titre d'exemple, un cas précis (v. *fig. 9* et *tableau XVII*). Au fur et à mesure que la racine s'allonge, on assiste à une accumulation des protéines. Il y a donc protéosynthèse au cours de la croissance. Mais cette première conclusion ne s'avère pas suffisante et ne met en évidence qu'un seul aspect du phénomène réel. En effet, au cours du temps, la teneur en protéines par rapport au poids sec diminue. En d'autres termes, la teneur en protéines décroît par rapport à l'ensemble des autres composés, soit par diminution de l'activité protéosynthétique, soit par intensification de la protéolyse, soit aussi par augmentation relative de la concentration en substances ternaires (non azotées). Il pourrait y avoir simultanément : protéogenèse et protéolyse (?). D'autres données sont évidemment nécessaires pour le prouver définitivement. Mais cet exemple nous montre que l'emploi de plusieurs critères de référence, loin d'apporter des contradictions entre les résultats obtenus, les explicite et peut suggérer des hypothèses de travail fructueuses.

L'unité de cellule. On considère généralement la cellule comme l'unité fondamentale d'un tissu. Aussi, la méthode qui consiste à rapporter une donnée expérimentale à l'échelle cellulaire apporte un élément nouveau, qui tient compte par exemple de la prolifération (mérésis) et de l'élongation (auxésis) cellulaires. Mais il faut se gar-

der d'interpréter trop hâtivement et de généraliser les résultats ainsi obtenus. En effet, on compare souvent des cellules dont la fonction physiologique, la taille, le volume cytoplasmique et vacuolaire sont très différents. D'autre part, la fonction physiologique d'une cellule est loin d'être autonome; elle dépend, dans une large mesure, de la présence des cellules voisines.

Prenons, à titre d'exemple, un cas précis relatif aux gradients radiculaires (v. *tableau V*). Le nombre de cellules (par section unité; PILET, 1959 b) est environ six fois plus élevé dans la zone de division que dans la zone d'élongation. Ce rapport explique pourquoi la plupart des composés biochimiques (en particulier les protéines) exprimés en fonction du nombre des cellules, sont moins concentrés dans la zone de division que dans la zone d'élongation. Il est certes intéressant de savoir que les cellules de grande taille et de grand volume contiennent davantage de protéines mais il ne suffit pas de connaître ce seul renseignement. En fait, les variations des protéines par rapport aux autres substances fondamentales de la cellule sont plus riches en enseignements (NP/PS) et complètent les données précédentes. On trouve alors que la zone méristématique est la plus riche en protéines.

Il n'est donc pas surprenant, suivant le critère de référence, d'obtenir des résultats apparemment divergents. Plusieurs valeurs relatives sont autant de résultats complémentaires qui permettent de cerner plus facilement les problèmes que pose l'étude d'un phénomène déterminé.

L'unité d'azote protéinique (d'azote total ou soluble). On a parfois adopté ce critère de référence parce que les protéines représentent une partie fondamentale et plus ou moins constante du cytoplasme et le substrat indispensable à toute vie. Mais, nous avons montré (v. p. 20) que le long d'un axe radiculaire, par exemple, la teneur en azote total et protéinique, loin d'être uniforme, variait considérablement suivant la zone étudiée (v. *tableau V*). C'est pourquoi tout en reconnaissant la valeur de ce critère de référence, nous pensons qu'il est utile de comparer les résultats à d'autres valeurs relatives.

L'unité de longueur et de surface. Ce nouveau mode d'expression ne peut être utilisé que dans la mesure où l'organe ou le fragment étudié est homogène. Il est évident qu'un millimètre au niveau de la zone de division d'une racine est loin d'être l'équivalent de celui de la zone de différenciation. Le diamètre, la section sont différents. Néanmoins, à défaut de pouvoir rapporter certaines données aux volumes cellulaires, ces critères de référence nous permettent de parler, dans une certaine mesure, de concentration ou de densité

par unité de longueur ou de surface, et nous renseignent indirectement sur l'épaisseur ou le volume du fragment (exemple, v. *tableau X*). Il est évident que *l'unité de volume*, qui se rapproche de l'unité de poids, est meilleure.

Autres unités de référence. D'une façon générale, toutes les combinaisons entre les différentes données expérimentales sont possibles. Ainsi, par exemple, l'étude de la teneur en ABIA endogène, en relation avec les phénomènes d'absorption d'eau, nous autorise à utiliser le rapport ABIA/T.eau ou T.eau/ABIA. On pourrait citer de nombreux exemples semblables.

En conclusion, chaque critère de référence n'envisage qu'un seul aspect du problème. C'est pourquoi, il nous paraît indispensable de représenter une même série de données en fonction de plusieurs critères de référence. L'analyse approfondie des valeurs relatives ainsi obtenues nous paraît la seule façon de se faire une idée exacte des processus étudiés.

5.4. Expression des résultats

Dans de nombreux cas, il est possible de présenter les résultats obtenus en $\%$. Nous rappellerons brièvement les principales formules utilisées dans ce travail.

Supposons que nous ayons deux séries de données relatives correspondant à deux lots différents : un lot témoin (TE) et un lot traité (TR), (*tableau II*) :

TABLEAU II

<i>Au temps 0</i>		<i>Au temps t</i>	
lot 1	$Q_{(0)TE}$	lot 1	$Q_{(t)TE}$
lot 2	$Q_{(0)TR}$	lot 2	$Q_{(t)TR}$

Variations relatives en $\%$:

p pour le témoin ; p' pour le traité.

$$p \ \% = \frac{Q_{(t)TE} - Q_{(0)TE}}{Q_{(0)TE}} \cdot 100 \quad p' \ \% = \frac{Q_{(t)TR} - Q_{(0)TR}}{Q_{(0)TR}} \cdot 100$$

On voit que si

$p = 0$	$Q_{(t)} = Q_{(0)}$	(effet nul)
$p > 0$	$Q_{(t)} > Q_{(0)}$	(stimulation)
$p < 0$	$Q_{(t)} < Q_{(0)}$	(inhibition)

Les valeurs de $p \%$ et $p' \%$ dépendent de $Q_{(0)TE}$ et $Q_{(0)TR}$.

Il serait donc faux de comparer p et p' si $Q_{(0)TE} \neq Q_{(0)TR}$.

Dans certains cas, les valeurs initiales du témoin et du traité peuvent être identiques. Dans le cas contraire, il faut faire intervenir une nouvelle expression où cet inconvénient disparaît.

TABLEAU III

$$\Delta Q_{TE} \doteq Q_{(t)TE} - Q_{(0)TE} \quad \text{et} \quad \Delta Q_{TR} = Q_{(t)TR} - Q_{(0)TR}$$

Au cours de nos essais, nous avons rencontré deux genres de cas :

Cas I (exemple : v. fig. 11) $\Delta Q_{TE} > 0$

Expression (en %) de la variation de la grandeur Q du traité par rapport à celle du témoin :

$$p'' = \frac{\Delta Q_{TR} - \Delta Q_{TE}}{\Delta Q_{TE}} \cdot 100$$

On voit que si

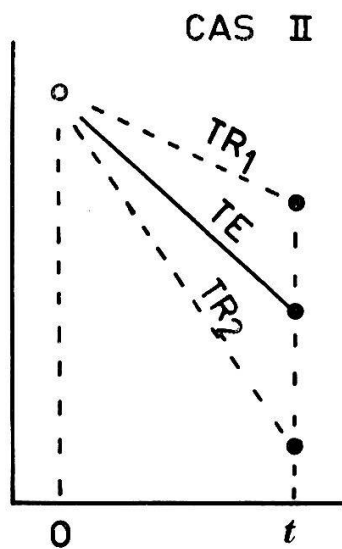
$$p'' = 0 \quad \Delta Q_{TR} = \Delta Q_{TE} \quad (\text{effet nul})$$

$$p'' > 0 \quad \Delta Q_{TR} > \Delta Q_{TE} \quad (\text{stimulation})$$

$$p'' < 0 \quad \Delta Q_{TR} < \Delta Q_{TE} \quad (\text{inhibition})$$

Cas II $\Delta Q_{TE} < 0$

On voit que : $p'' \text{ \%} < 0$ pour TR_1
 $p'' \text{ \%} > 0$ pour TR_2



Cherchons les variations absolues du témoin et du traité (*tableau III*) :

Nous avons utilisé un autre mode d'expression tenant compte de l'inhibition de la longueur. Prenons un exemple et supposons que l'inhibition ($p \text{ \%}$) de la longueur des racines traitées (TR) soit de $a \text{ \%}$ et qu'une grandeur quelconque (poids frais ou sec, protéines, auxines, etc.) caractérisant ces organes soit égale à Q . Nous cherchons quelle serait la valeur de Q s'il n'y avait pas eu d'inhibition. La variation de TR représente le $100-a/100$ de celle des racines témoins. S'il n'y avait pas eu d'inhibition, la valeur Q des racines traitées serait égale à :

$$\frac{100 \cdot Q}{100-a} = Q' \quad \text{pour le lot témoin : } a = 0 \text{ d'où } Q = Q'$$

Nous avons rapporté un exemple dans le *tableau IV*.

Un autre mode d'expression consiste à comparer — lors d'un traitement ou au cours de la croissance — les résultats obtenus à une valeur témoin fixée arbitrairement à 100. L'analyse des variations enregistrées est plus facile à lire comme le montre l'exemple reporté dans le *tableau XVII*.

5. 5. Quelques abréviations

Pour alléger notre texte, nous avons utilisé un certain nombre d'abréviations, dont voici les principales :

ABIA :	acide β -indolylacétique	PF :	poids frais
ABIA OX :	activité des auxines-oxydases	PS :	poids sec
2,4-D :	acide 2,4-dichlorophénoxyacétique	QR :	quotient respiratoire
IR :	intensité respiratoire	SH :	fonction thiol
L :	longueur	Te :	teneur en eau
NP :	azote protéinique	TE :	témoin
NS :	azote soluble	TR :	traité
NT :	azote total		

TABLEAU IV

Etude comparative de deux modes d'expression

Valeurs de la teneur en eau et du poids sec de racines du *Lens* en fonction de la durée et de la concentration de traitements par de l'ABIA.

Heures	Données		Concentrations d'ABIA 1.10^{-x} M			
			$x = \infty$	$x = 8$	$x = 6$	$x = 4$
24	Te	mg/30 R	752,8	748,6	671,0	484,7
		Q'	752,8	824,4	981,0	2011,2
	PS	mg/30 R	72,5	68,7	65,3	52,3
		Q'	72,5	75,7	95,5	217,0
48	Te	mg/30 R	1049,9	—	865,7	616,3
		Q'	1049,9	—	1627,2	2379,5
	PS	mg/30 R	99,8	—	83,5	65,8
		Q'	99,8	—	157,0	254,0

DEUXIÈME PARTIE : GRADIENTS DES RACINES DU *LENS**Problème général*

L'analyse de la variation des propriétés morphologiques, physiologiques et biochimiques, tout au long de l'axe d'un organe déterminé, permet d'établir des gradients qui peuvent fournir des renseignements relatifs au métabolisme des divers tissus dont on étudie la croissance.

Un gradient biochimique donné présente un intérêt non seulement parce qu'il nous renseigne sur la répartition d'un composé endogène dans un organe mais aussi parce qu'il peut être comparé à d'autres gradients. Dans la comparaison de gradients d'organes de longueurs différentes, PILET a introduit, en les opposant, les notions de *gradients statiques* et de *gradients dynamiques*. Dans le cas d'organes de même longueur, nous parlerons de *gradients statiques* (PILET, 1960 f). Il est plus difficile de comparer des gradients sur des organes d'inégales longueurs. PILET (1961 c) a montré que « tout au long de l'axe d'une racine en voie d'élongation, le gradient de croissance est loin d'être uniforme; de plus, il se modifie au cours du temps ». Ainsi l'étude d'un gradient sur des racines de longueurs différentes « oblige, si l'on veut rester dans les zones physiologiquement équiva-

lentes, à tenir compte des variations des gradients de croissance ». Dans ce cas, il convient de parler de *gradients dynamiques*.

Un certain nombre de gradients statiques ont déjà été établis dans notre Laboratoire sur des racines du *Lens* de 18 mm de longueur. Nous ne citerons que les principaux, nous réservant d'en reparler dans la discussion de nos résultats : la répartition du potentiel bio-électrique, du nombre de cellules et des sucres réducteurs (PILET et MEYLAN, 1953), la distribution de l'amidon radiculaire (PILET et MARGOT, 1953), l'activité auxines-oxydasique (PILET et GALSTON, 1955 ; PILET, 1955 a et 1957 c), la teneur en groupes sulfhydryles (PILET, 1957 e), les auxines, l'inhibiteur β et l'accélérateur α (PILET, 1951 a, 1958 d), les composés azotés (PILET et SIEGENTHALER, 1959), les échanges respiratoires (PILET et KOBR, 1959). La possibilité de comparer, sur un matériel rigoureusement identique, plusieurs gradients biochimiques présente un intérêt qu'il n'est plus nécessaire de démontrer.

Dans cette deuxième partie, nous nous attacherons principalement à mettre en évidence les gradients statiques (racines du *Lens* de 18 mm de longueur) des composés azotés que nous étudierons sous trois angles différents. Tout d'abord, nous établirons des comparaisons entre les gradients azotés (NP, NS et NT) pour différentes régions physiologiques de la racine (zones de division, d'élongation et de différenciation). Puis nous reprendrons d'autres gradients, précédemment établis sur le même matériel, afin de mettre en évidence, pour chacune des zones physiologiques de la racine et pour des tissus différents, les interactions probables entre les composés azotés et d'autres facteurs endogènes. Enfin, comme l'ont fait remarquer PILET et GALSTON (1955) et PILET (1959 b, 1961 a), la pointe de la racine comprend deux types de tissus bien distincts : la zone de 0,0 à 0,5 mm (coiffe), constituée par de vieilles cellules et la zone de 0,5 à 3,0 mm, formée de jeunes cellules. Il sera donc intéressant d'analyser les caractéristiques biochimiques de ces deux genres de tissus (étude de la sénescence cellulaire).

I. LES GRADIENTS AZOTÉS

1. QUELQUES TRAVAUX

Une question importante et très controversée actuellement est de savoir si l'augmentation du volume et de la longueur d'une cellule en voie d'élongation est accompagnée d'un accroissement correspondant de la teneur en azote protéinique. En d'autres termes, la protéosynthèse est-elle liée à l'allongement ?

D'une façon générale, ce problème a fait l'objet de deux genres d'expériences. Tout d'abord, on traite un organe ou un fragment d'organe par une substance qui stimule la croissance et on observe parallèlement les variations des composés azotés (CHRISTIANSEN et THIMANN, 1950 ; BURSTRÖM, 1951 ; THIMANN et LOOS, 1957, etc., v. p. 94). On peut également déterminer la distribution des composés azotés et l'activité de certains systèmes enzymatiques (*dipeptidases*: LINDERSTRÖM-LANG et HOLTER, 1932 ; AVERY et LINDERSTRÖM-LANG, 1940 ; BOTTELIER et coll., 1943 ; ROBINSON et BROWN, 1952 ; *protéases* : ROBINSON, 1956) le long de l'axe d'un organe (racine, tige, coléoptile) dont on connaît les caractéristiques physiologiques et la vitesse de croissance partielle.

Une des premières questions à résoudre est de choisir le meilleur critère de référence. L'unité de poids frais, de longueur et d'organe ne semble pas être la meilleure expression, en raison de la forte absorption d'eau dans les cellules de la zone d'élongation (dans tous les cas, la teneur en protéines est la plus forte dans le méristème). D'après ZIEGLER (1961), il est préférable d'adopter, comme unité de référence, le poids sec ou l'unité cellulaire (v. p. 10).

Gradients des composés azotés

De nombreux travaux, réalisés sur des matériaux très divers (feuilles, coléoptiles, tiges, racines : v. ZIEGLER, 1961, p. 278) ont montré que la phase d'allongement est accompagnée d'une augmentation de la teneur en protéines (généralement exprimée en fonction de l'unité cellulaire). Nous n'en citerons que quelques-uns : BLANK et FREY-WYSSLING (1940, 1941 et 1944), sur des coléoptiles du *Zea Mays*; BONNER (1949) et AVERY et ENGEL (1954), sur des coléoptiles d'*Avena*; CHRISTIANSEN et THIMANN (1950), sur des sections de tiges du *Pisum*; KOPP (1948) et WANNER (1950), sur des racines d'*Allium*; BROWN et BROADBENT (1950), sur des racines du *Pisum*; ERICKSON et GODDARD (1951) et BALDOVINOS (1953), sur des racines du *Zea Mays*; ROBINSON et BROWN (1952), sur des racines du *Vicia Faba*. On a souvent remarqué qu'à la fin de la phase d'allongement, il y a une diminution de la concentration en protéines (BALDOVINOS, ERICKSON et GODDARD, BROWN et BROADBENT, ROBINSON et BROWN). L'accroissement parallèle de la teneur en protéines, du volume et de la longueur cellulaire est rare.

D'une façon générale, la teneur en azote total par unité de poids sec est élevée dans la zone de division, puis diminue dans la zone d'allongement; par rapport au nombre cellulaire, on observe la courbe inverse (REID, 1941, sur des racines du *Pisum*; BALDOVINOS et WANNER).

Pendant l'augmentation du taux en protéines, les composés azotés solubles peuvent subir, soit un accroissement (BLANK et FREY-WYSSLING, MORGAN et REITH), soit une diminution (CHRISTIANSEN et THIMANN, THIMANN et LOOS, 1957) ou rester en quantité constante (BLANK et FREY-WYSSLING). MORGAN et REITH (1954) observent que les cellules en voie d'élongation contiennent trois fois plus de protéines, vingt fois plus de peptides et dix fois plus d'acides aminés.

libres que les cellules en voie de division. Ils constatent en outre, une modification importante de la nature des amino-acides entre ces deux régions. Les protéines des tissus méristématiques contiennent davantage de cystéine et d'arginine que celles des tissus en voie d'élongation. Les auteurs suggèrent que, suivant la fonction d'un tissu, la nature de ses protéines est différente.

Si d'une façon générale, on observe un accroissement des protéines pendant la phase d'allongement, JENSEN (1955) et RAMSHORN (1958) observent, par contre, une diminution de la teneur en protéines par unité cellulaire dans la zone d'élongation des racines du *Vicia Fabia*. Les composés azotés solubles augmentent aux dépens de l'azote insoluble, de telle sorte que l'azote total reste constant (RAMSHORN). JENSEN étudie plus particulièrement le développement d'une cellule depuis le moment où elle se divise jusqu'au stade de l'élongation maximale. Il définit quatre phases distinctes qui correspondent à des zones plus ou moins bien définies de la pointe de la racine. Dans la phase de division où la fonction cellulaire est de produire des composés nucléaires, les protéines et la cellulose sont peu abondantes et l'absorption d'oxygène est faible. L'énergie nécessaire aux synthèses serait fournie par la glycolyse. La phase d'élargissement radial, où la respiration reste à peu près constante, est caractérisée par une forte augmentation de la teneur en protéines et en cellulose. Dans la phase de transition (ou début de l'élongation) la teneur en protéines diminue et la formation de cellulose cesse, tandis que l'absorption d'oxygène et d'eau augmente. L'arrêt de l'activité synthétique pourrait indiquer que l'élongation demande une grande quantité d'énergie, soit pour la synthèse des parois cellulaires, soit pour l'élaboration de composés à grande énergie, nécessaires à la cellule pour les phases ultérieures de son développement. La phase d'élongation est caractérisée par une nette diminution de la teneur en protéines et une augmentation de l'intensité respiratoire.

Par des méthodes d'investigation différentes, BURSTRÖM (1951), BOROUGHS et BONNER (1953), etc. (v. p. 23) montrent que des phénomènes de protéosynthèse n'accompagnent pas nécessairement la phase d'allongement. Mais il convient de souligner combien il est difficile de comparer, pour des tissus déterminés, les gradients obtenus (v. PILET et SIEGENTHALER, 1959, p. 67).

Activité enzymatique

Nous aurons l'occasion, au cours de ce chapitre, d'émettre certaines hypothèses relatives à l'activité des enzymes protéolytiques. Aussi voulons-nous donner brièvement quelques indications à ce sujet.

ROBINSON et BROWN (1952, 1954), BROWN, REITH et ROBINSON (1952) et BROWN et ROBINSON (1955) suggèrent que, parallèlement à l'augmentation des protéines (v. plus haut), les enzymes responsables de ces changements et les métabolites contenus dans les cellules en voie de croissance peuvent subir de nombreuses modifications. Ils observent que l'activité de certaines enzymes (dipeptidases, phosphatases, glycine-oxydases et invertases) varie en liaison étroite avec la teneur en protéines et semble déterminée, en partie au moins, par la concentration des composés azotés insolubles. En outre, les constituants enzymatiques paraissent représenter une large proportion de la quantité totale des protéines. Ainsi, les protéines ont un effet indirect sur la croissance par l'intermédiaire de l'activité enzymatique. En 1956, ROBINSON met en évidence deux groupes de systèmes protéolytiques, le premier (pH optimum : 3,0) est présent dans toutes les cellules, le second (pH optimum : 7,0) est absent dans les tissus de la pointe de la racine. Tandis que les cellules croissent de la zone méristématique à la zone adulte, il y a une augmentation graduelle des enzymes protéolytiques et il est probable que l'équilibre entre la synthèse et la dégradation des protéines varie graduellement. A un certain point (à 8 mm du sommet) les deux phénomènes se compensent et la synthèse des protéines cesse. L'activité protéolytique continue à augmenter, le niveau des protéines baisse et finit par affecter les enzymes protéolytiques elles-mêmes.

A l'exception de ces quelques travaux (v. aussi p. 64), nos connaissances actuelles sur la répartition et la nature des peptidases et des protéines, et leur rôle dans les phénomènes de croissance sont pratiquement inexistantes.

2. REMARQUES PRÉLIMINAIRES

(a) La valeur d'un gradient dépend non seulement de l'état physiologique du tissu au moment de sa récolte mais aussi du métabolisme cellulaire antérieur de la zone envisagée. En d'autres termes, la validité d'un gradient (ici, pourtant statique, v. p. 14) s'inscrit inévitablement dans l'évolution vitale de la cellule et du tissu.

b) Suivant le critère de référence adopté pour exprimer la concentration d'un composé chimique contenu dans un tissu, les courbes obtenues peuvent être très différentes (v. p. 8). En définitive, seule une analyse nuancée permet de les interpréter.

c) Enfin, il est indispensable de connaître les caractéristiques histologiques et physiologiques des zones que nous nous proposons d'étudier. Nous relèverons brièvement quelques observations personnelles ou empruntées ailleurs (PILET et MEYLAN, 1953 ; MARGOT, 1956 et v. p. 45). La zone 1 (de 0 à 3 mm), comprenant la coiffe (0,25 mm environ) est formée essentiellement de cellules en voie de division (méristème y compris) ; elle est constituée également par un nombre variable de cellules en voie d'élargissement ou d'élongation. Cette zone est donc hétérogène mais elle est tout de même représentative des cellules en voie de division, ceci d'autant plus que les composés biochimiques analysés présentent, dans la plupart des cas, des variations suffisamment significatives par rapport à la zone suivante. La zone 2 (de 3 à 6 mm) est formée essentiellement de cellules en voie d'élongation. Les zones 3 et 4 (respectivement de 6 à 9 mm et de 9 à 12 mm) sont des zones d'allongement contenant déjà un nombre variable de cellules différenciées. Les zones 5 et 6 (de 12 à 15 et de 15 à 18 mm) sont des régions formées de tissus en voie de différenciation, caractérisées en outre par une faible activité péricyclique (zone rhizogène).

d) Un point nous paraît essentiel et il convient de le mentionner au début de ce travail. Le poids sec comprend celui des *matières minérales* (sels minéraux) et des *matières organiques* (protides, glucides et lipides). Les composés azotés (constituants essentiels du cytoplasme cellulaire) et les composés glucidiques (oses, polyholsides, amidon, composés cellulosiques et pectiques, etc.) constituent à eux seuls la partie la plus importante du poids sec. C'est pourquoi, il nous a paru possible d'établir une équation simple, très approximative, mais qui a l'avantage de donner des indications utiles quant aux variations relatives des deux

principaux genres de métabolites : la différence entre le poids sec et la concentration des composés azotés est approximativement égale à la concentration des composés glucidiques.

TABLEAU V

Gradients azotés de racines du « Lens » de 18 mm de longueur

Valeurs rapportées en fonction de divers critères de référence.

Données biochimiques	Critères de référence	Zones en mm					
		0 - 3	3 - 6	6 - 9	9 - 12	12 - 15	15 - 18
PF (en mg)	100 F	125,6	194,2	243,0	260,8	294,2	349,8
PS (en mg)	100 F	18,0	16,0	17,8	20,6	23,8	29,0
T. eau (en mg)	100 F	107,6	178,2	225,2	240,2	270,4	320,8
% T. eau	PF	85,7	91,8	92,7	92,1	91,9	91,7
Azote total	100 F	1496	762	748	923	1089	1576
en γ	10mg PF	120,4	44,6	39,6	39,2	42,7	48,7
	10mg PS	799	571	520	487	522	502
	10mg Te	134,9	49,6	44,7	43,8	47,9	53,4
en mg	10 ⁸ C*	4,59	13,61	14,38	—	—	—
Azote protéinique	100 F	979	356	365	405	420	587
en γ	10mg PF	75,8	16,7	15,4	14,1	13,1	15,0
	10mg PS	450	198	193	170	146	159
	10mg Te	91,2	18,2	16,8	15,4	14,5	16,5
en mg	10 ⁸ C*	3,00	6,36	7,02	—	—	—
Azote soluble	100 F	517	406	383	518	669	989
en γ	10mg PF	44,6	27,9	24,2	25,1	29,6	33,7
	10mg PS	349	373	327	317	376	343
	10mg Te	43,7	31,4	27,9	28,4	33,4	36,9
en mg	10 ⁸ C*	1,59	7,25	7,36	—	—	—
NP (%)	NS	189	88	95	78	63	59
NP (%)	NT	65,4	46,7	48,8	43,9	38,6	37,2
PS-P (mg)**	10 ⁶ C*	36,45	42,25	47,60	—	—	—

* C = Cellules

** Différence en mg entre le poids sec et les protéines (NP . 6,25)

3. RÉSULTATS

L'examen du *tableau V* et de la *figure 1* permet de faire les observations suivantes :

- 1) PF augmente régulièrement tout au long de l'axe racinaire, tandis que PS diminue de la zone de division à la première zone d'élongation, puis augmente régulièrement jusqu'à 18 mm.

La teneur relative en eau passe par un maximum dans la zone d'élongation ;

- 2) Par rapport à 100 fragments, la teneur en composés azotés (NP, NS et NT), élevée dans la zone de division, devient minimale dans la zone d'élongation, puis augmente fortement en direction du collet. Par rapport à l'unité de poids (PF, PS et Te), la concentration en substances azotées, maximale dans la pointe de la racine, diminue le long de l'axe radulaire, passe par un minimum dans la zone d'élongation, puis augmente légèrement, suivant le critère de référence, en direction de la base (à l'exception de NS/PS). Au contraire, si l'on se rapporte au nombre de cellules, la concentration de tous les composés azotés (surtout de l'azote soluble) augmente de la zone de division à la zone d'élongation ;

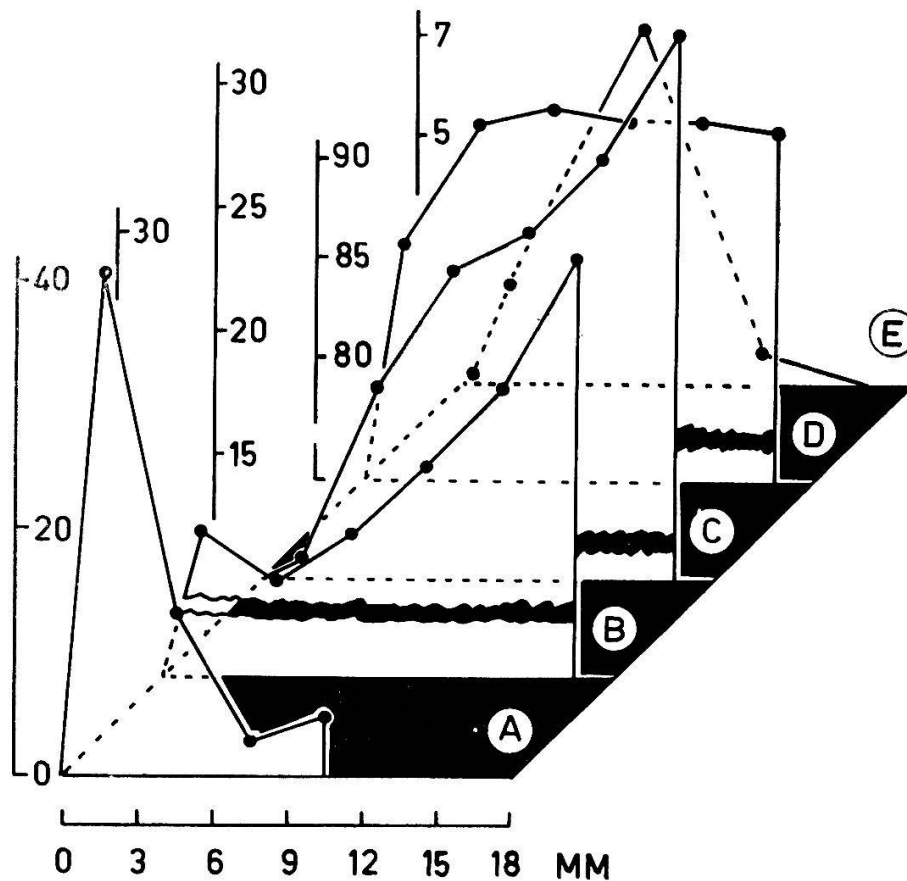


FIG. 1 : Quelques gradients des racines du « Lens » (18 mm de longueur)
 (A) Nombre de cellules (à multiplier par 10^4) pour 100 fragments, d'après PILET et MEYLAN (1953); (B) poids sec exprimé en mg pour 100 fragments; (C) teneur en eau, exprimée en mg ($\cdot 10$) pour 100 fragments; (D) teneur en eau relative (% de teneur en eau par rapport au poids frais); (E) vitesse de croissance partielle calculée en mm par rapport au temps nécessaire à la croissance d'une racine pour que sa longueur passe de 8 à 18 mm, d'après PILET (1960 h).

- 3) Les rapports NP/NT et NP/NS diminuent tout au long de l'axe racinaire ;
- 4) Certains auteurs (BROWN et BROADBENT, 1950) utilisent la différence entre le poids sec et la teneur en protéines pour exprimer approximativement l'importance des matériaux constituant les parois cellulaires (v. p. 18, remarque d). Cette méthode (dont on peut discuter la signification), appliquée à nos résultats, montre que les matériaux des membranes cellulaires sont en quantité plus grande dans la zone d'élongation que dans la zone de division.

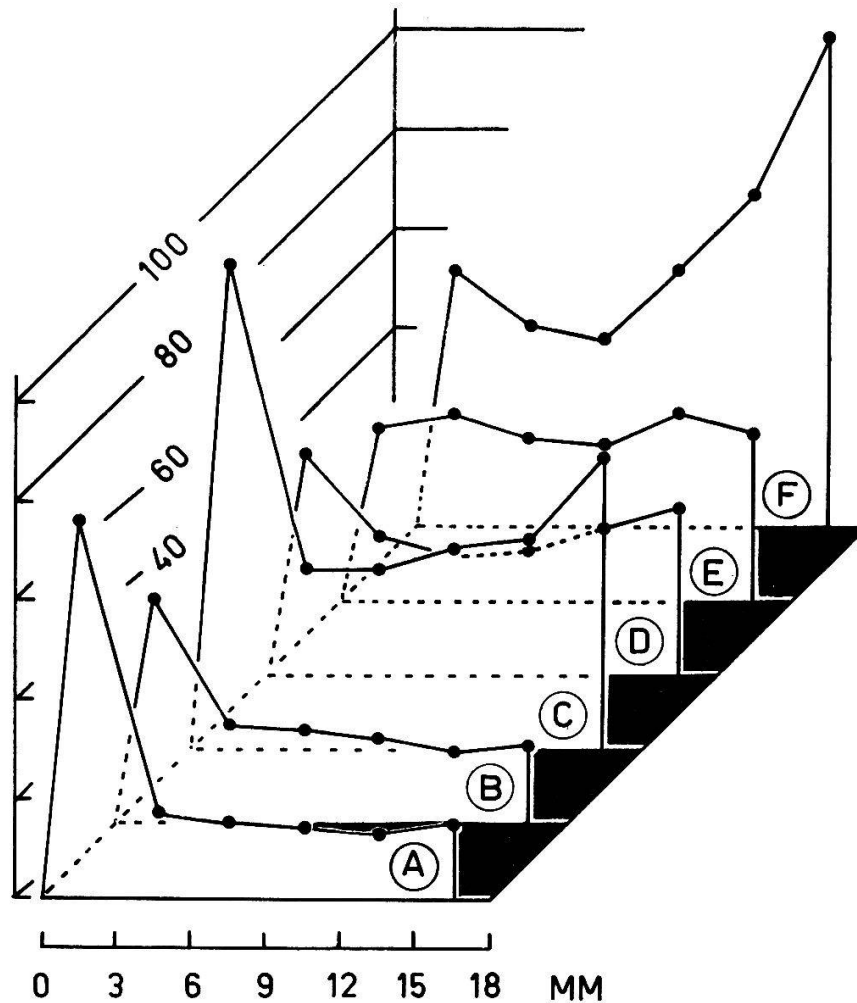


FIG. 2. — Gradients azotés des racines du « Lens » (18 mm de longueur)
 Teneur en azote protéinique exprimée en γ pour 10 mg de poids frais, (B) en γ (. 10) pour 10 mg de poids sec, (C) en γ (. 10) pour 100 fragments.
 Teneur en azote soluble exprimée (D) en γ pour 10 mg de poids frais, (E) en γ (. 10) pour 10 mg de poids sec, (F) en γ (. 10) pour 100 fragments.

4. DISCUSSION

Le choix des trois principales zones de l'axe racinaire du *Lens* (zone de division, d'élongation et de différenciation) a été dicté par

des recherches histo-physiologiques. Nous nous référons, en particulier, au travail de MARGOT (1956) et à l'étude des gradients de croissance de PILET (1960 f, 1961 c) qui a permis d'établir la vitesse de croissance partielle de chacune de ces zones (*fig. 1, E*). Nous les examinerons séparément en cherchant à résoudre trois genres de problèmes : 1) dans quelle zone de la racine a lieu la protéosynthèse ? 2) quels sont les rapports entre l'azote protéinique et l'azote soluble ? 3) quels sont les échanges possibles des composés azotés entre les différentes zones de la racine ?

La *zone de division* est le siège d'une intense activité mitotique. La pénétration de l'eau relativement faible, le lent accroissement du volume (BROWN et BROADBENT, 1950) et de la surface des membranes cellulaires (PRESTON, 1961) confèrent à cette zone une faible vitesse de croissance. La densité élevée des constituants cellulaires (cf. les variations du poids sec) permet d'entrevoir des bouleversements biochimiques où les processus anaboliques l'emporteront sur ceux du catabolisme.

En effet, * la teneur en composés azotés est très élevée, quel que soit le critère de référence adopté (à l'exception de l'expression cellulaire et de NS/PS). En fonction de l'unité cellulaire, il serait difficile de conclure que la protéosynthèse a lieu dans la zone de division. Par contre, si l'on se réfère à l'unité de poids, cette zone est sans doute le centre principal de l'anabolisme des protéines. Nous avons déjà expliqué en détail pourquoi cette dernière solution nous paraît la meilleure (v. p. 11). Nous pouvons ajouter que chaque cellule méristématique doit assurer la construction non seulement de ses propres protéines mais, en partie du moins, des protéines de ses descendantes. Une cellule en voie d'élongation, au contraire, élabore son cytoplasme sans risque de division et atteint l'état adulte avec une large partie de son potentiel énergétique et de ses réserves. En outre, depuis les recherches de BOROOK et coll. (1950), WEBSTER (1955, 1957), LITTLEFIELD et coll. (1955), puis BONNER (1959) et BRACHET (1961), nous savons que les microsomes, fabriqués dans le noyau, contiennent 50 à 70 % de l'ARN cellulaire. Grâce à leurs acides nucléiques, ces particules cytoplasmiques assemblent les amino-acides en chaînes peptidiques et sont directement responsables de la formation des molécules de protéines. Ces éléments qu'on a considérés parfois comme les porteurs de l'hérédité cytoplasmique (plasmagène) sont en nombre égal dans chacune des cellules. Il nous paraît désormais probable, contrairement à l'avis de la plupart des auteurs cités plus haut (v. p. 16), que la zone de division, où le nombre des cellules et par conséquent le nombre des microsomes est le plus élevé, soit le siège d'une intense activité protéosynthétique. A ce propos, notons que l'activité des enzymes protéolytiques (ROBINSON, 1956), des désoxyribonucléases et des ribonucléases (ROBINSON et CARTWRIGHT, 1958) est la plus faible dans la zone de division.

Les *zones 2, 3 et 4* sont caractérisées par une forte élongation cellulaire, due essentiellement à des phénomènes d'absorption d'eau. La faible densité des constituants cellulaires (cf. le poids sec de la zone 2) laisse entrevoir des processus où les phénomènes cataboliques l'emporteront sur ceux de l'anabolisme.

En effet *, quel que soit le critère de référence (à l'exception de l'expression cellulaire et de NS/PS), la concentration des composés azotés est beaucoup plus

* (*fig. 2 et tableau V*).

faible que dans la zone de division. Les cellules qui s'allongent contiennent davantage de composés ternaires (par rapport aux composés quaternaires) que les cellules en voie de prolifération. En appliquant la méthode de BROWN et BROADBENT, il est intéressant de constater que la concentration cellulaire en composés pectiques et cellulosiques (constituants principaux de la membrane) augmente sensiblement. La diminution et l'arrêt de la division cellulaire, au profit de l'élongation, entraînent non seulement une baisse importante du nombre de cellules par unité de surface mais, en tenant compte de l'hypothèse de BONNER, une protéogenèse moins forte. La diminution des rapports NP/NS et NP/NT traduit même une protéolyse dominante au profit des composés azotés solubles qui s'accumulent dans les tissus, ce que confirme ROBINSON (1956) lorsqu'il constate que l'activité protéolytique est la plus forte dans cette région. Il nous paraît donc difficile de souscrire aux conclusions de la plupart des auteurs cités plus haut (v. p. 16) qui admettent une protéosynthèse maximale dans la zone d'élongation. Cette interprétation qui se rapproche de celle de JENSEN (1955) provient, semble-t-il, des différents critères de référence adoptés. Nous pensons, comme LAWRENCE, DAY et STEPHENSON (1959), que la forte teneur en protéines dans la pointe de la racine est en relation directe avec la protéosynthèse dans les cellules méristématiques. Il n'est d'ailleurs pas étonnant, comme le font remarquer STEWARD, WETMORE, THOMPSON et NITSCH (1954) que la protéosynthèse soit la plus forte dans les méristèmes où la multiplication des chromosomes et la synthèse des nucléoprotéines sont les plus intenses.

Des méthodes indirectes permettent de confirmer ce point de vue. CHRISTIANSEN et THIMANN (1950) constatent, sur des sections de tiges du *Pisum*, qu'un allongement de 50 % provoqué par un traitement à l'ABIA ne provoque qu'un accroissement de 10 % seulement de la teneur en protéines. BURSTRÖM (1951), étudiant la croissance et le métabolisme des racines de blé, constate que l'acide p-chloro-phénoxy-isobutyrique et l'acide β -indolyl-isobutyrique, qui, à la concentration de 1.10^{-6} M, déterminent un accroissement de l'élongation pouvant atteindre 100 %, n'ont qu'un effet très réduit sur l'accroissement des protéines. De même, nous constaterons (v. p. 71) qu'un traitement auxinique stimulant la croissance de racines entières du *Lens* ne provoque aucune élévation du taux en azote.

Des phénomènes d'absorption d'eau (v. fig. 1, D et E et PILET, 1961 f, p. 784 à 806) accompagnent ces transformations physiologiques et métaboliques (protéolyse) et sont précisément les plus intenses dans les zones où la vitesse de croissance est la plus élevée. On peut donc admettre, comme l'ont fait plusieurs auteurs (v. p. 72), que les processus qui règlent la croissance sont non seulement intimement liés à des remaniements physiques et chimiques de la paroi cellulaire mais également à des échanges d'eau.

La faible augmentation de la teneur en protéines observée dans la zone des tissus différenciés peut provenir de l'élaboration du cytoplasme des cellules qui, pendant la phase précédente, s'allongent surtout par absorption d'eau et par des remaniements de leurs parois cellulaires. Il est probable aussi que l'activité péricyclique soit l'une des causes de cet accroissement. Cependant, le rapport NP/NS qui continue à diminuer traduit encore une prédominance de la pro-

téolyse sur les phénomènes de protéogenèse. L'absorption d'eau diminue légèrement, ce qui permet au volume cellulaire de se stabiliser tandis que le poids sec relatif augmente faiblement.

Un dernier point reste à discuter. Il est évident que les zones que nous venons d'étudier séparément ne constituent pas un tout en elles-mêmes. Il doit donc exister entre les différents composés azotés des rapports que nous nous proposons d'étudier maintenant.

L'équilibre entre les amino-acides et le taux en protéines est difficile à mettre en évidence. Il ne semble pas qu'on puisse l'exprimer par la loi d'action de masse comme le suggèrent WALKLEY et coll. (1941). Pourtant certains amino-acides sont synthétisés plus lentement que d'autres et l'on pourrait admettre (WOOD et coll., 1942) que la vitesse de biogenèse d'un amino-acide puisse jouer le rôle de facteur limitant de la protéosynthèse. Citons à ce propos une observation intéressante de WOOD et coll. (1939) sur des feuilles de *Lolium* inanitiées à l'obscurité. Ces auteurs constatent une oxydation plus rapide de la cystine que des autres amino-acides, d'où accentuation du déséquilibre entre les amino-acides et les protéines et poursuite de la protéolyse alors même que le taux des amino-acides ne cesse de s'élever. Un autre point doit encore être signalé. Comme le dit MOYSE (1951 b) « il est permis de penser que la protéogenèse et la protéolyse sont des phénomènes continus, intéressant à un même moment les mêmes organes, les mêmes tissus. Le taux protéinique mesuré correspond au bilan entre les deux processus inverses et sa constance même n'est que le reflet de leur équilibre ». Mais les phénomènes de transport qui se manifestent dans la racine peuvent bouleverser le rapport entre ces deux formes azotées. Il est difficile, en effet, de savoir si l'azote soluble, présent dans une zone de la racine, résulte des phénomènes de la protéolyse, de la migration ou de la biosynthèse sur place.

La transition de la zone de division à la zone d'élongation s'accompagne de changements dans la répartition des composés azotés (v. fig. 2) :

Par rapport au nombre de cellules, la teneur en protéines augmente surtout au début de la phase d'élongation. Par rapport au poids sec, l'azote soluble s'accumule aux dépens des protéines. De plus, le rapport NP/NS diminue fortement. Ces faits démontrent clairement que si la zone d'élongation est encore le siège de l'élaboration des protéines, elle se caractérise surtout par une forte protéolyse. L'équilibre protéinique est donc modifié et, contrairement à la zone de division, les phénomènes de protéolyse l'emportent sur ceux de la protéosynthèse ;

Mais, parallèlement à ces transformations, la teneur en azote total diminue. Une diffusion dans le milieu extérieur, un dégagement sous forme d'ammoniac ne semblent pas suffisants pour rendre compte de cette réduction. Il est donc probable que les composés azotés, résultant de la protéolyse, sont véhiculés en direction des cellules en voie de division (méristème et péricycle, BROWN et WIGHTMAN, 1952) ou dégradés sur place (à moins que les deux phénomènes ne se produisent simultanément). VIETS et coll. (1946) ont mis en évidence l'aptitude des racines de maïs à effectuer la synthèse d'acides-amino (glutamine et asparagine) qui émigrent dans les méristèmes des orga-

nes aériens. Ces expériences prouvent donc la très grande mobilité de certains amino-acides et il est possible que nous soyons en présence d'un tel phénomène. D'autre part, nous verrons plus loin (v. p. 30) que les amino-acides pourraient aussi, à ce stade de la croissance, fonctionner en partie comme substrat respiratoire. Cette explication rejoindrait les conceptions de STEWARD, BIDWELL et YEMM (1958) qui, sur un matériel différent (cultures de tissus de carotte), ont confirmé le cycle protéinique et ont mis en évidence la production de gaz carbonique par oxydation des produits de dégradation des protéines.

Dans la zone basale d'une racine de 18 mm, les rapports NP/NT et NP/NS continuent à diminuer non pas seulement par dégradation des protéines, comme c'était le cas dans la zone d'élongation, mais par une accumulation de composés azotés solubles en provenance essentiellement des cotylédons et, en partie aussi, de la zone d'élongation (protéolyse). La zone basale d'une racine se comporte donc comme un lieu de passage, caractérisé par une grande quantité de composés solubles. LAWRENCE, DAY et STEPHENSON (1959) arrivent aux mêmes conclusions en montrant que les racines et les tiges fonctionnent comme des voies de « transit » entre les cotylédons et les zones méristématiques.

5. PREMIÈRES CONCLUSIONS

Nous ne reviendrons pas sur les caractéristiques macrophysiologiques et biochimiques radiculaires que nous venons de mettre en évidence (ces données sont groupées dans les *figures 1* et *2*). Tout au plus voulons-nous rapporter ici les conclusions et les hypothèses principales, utiles à la compréhension et à la comparaison des autres gradients.

Les tissus en voie de division sont constitués par de nombreuses petites cellules où les processus anaboliques sont plus intenses que ceux du catabolisme. Ces tissus, où les phénomènes de mérisis l'emportent sur ceux de l'auxésis (index mitotique élevé), sont caractérisés par une vitesse de croissance pratiquement nulle (dont l'une des causes pourrait être la faible absorption d'eau) et surtout par une teneur élevée en protéines. Tout se passe comme si les phénomènes de protogénèse étaient plus intenses que ceux de protéolyse.

Dans les tissus en voie d'élongation, les phénomènes d'auxésis l'emportent sur ceux de mérisis. Ces tissus sont caractérisés par une forte absorption d'eau qui provoque tout d'abord un accroissement du volume cellulaire et une « dilution des constituants cytoplasmiques ». Ces variations semblent être à l'origine de l'augmentation de la vitesse de croissance. Le cycle protéinique est profondément modifié. Tout se passe comme si les phénomènes de protéolyse l'empor-

taient sur ceux de protéogenèse. Les protéines diminuent au profit des composés azotés solubles qui peuvent emprunter des voies différentes : 1) accumulation dans les tissus; 2) oxydation sur place; 3) migration dans d'autres régions de la racine; 4) ces trois possibilités à la fois. Dans l'ensemble, la synthèse des composés ternaires est supérieure à celle des composés quaternaires (par rapport à la zone de division).

Les tissus différenciés dont la vitesse de croissance est nulle apparaissent comme des zones de réserve et de transition. Les phénomènes anaboliques et cataboliques tendent à s'équilibrer (NT/PS est pratiquement constant), en particulier au niveau du cycle protéinique (le rapport NP/NS tend vers une valeur constante).

II. GRADIENTS AZOTÉS ET AUTRES GRADIENTS BIOCHIMIQUES

1. INTRODUCTION

A maintes reprises, PILET et coll. ont insisté sur la relation qui existe entre la répartition des auxines endogènes et le gradient de l'activité auxines-oxydasique. Ils ont observé que les tissus riches en auxines présentaient généralement une faible activité auxines-oxydasique, tandis que les tissus pauvres en hormones endogènes avaient une forte activité. Nous ne discuterons ces résultats que dans la mesure où ils pourront intéresser les gradients azotés.

En outre, d'autres relations ont déjà été établies sur des racines du *Lens* entre l'état auxinique endogène et l'amidon, le nombre des cellules, la teneur en glucides et la polarité bioélectrique, la teneur en fonctions thiols, la teneur en azote total et protéinique et l'intensité respiratoire (v. p. 15).

Mais il est évident que nous ne pourrions pas toujours établir un lien satisfaisant entre ces différents gradients. Toutefois, il nous a paru utile, sur la base des résultats actuels, d'envisager les mécanismes qui caractérisent la croissance des différentes zones de la racine.

2. GRADIENTS AZOTÉS, RESPIRATOIRES ET GLUCIDIQUES

2.1. Historique

Comme nous l'avons déjà remarqué à propos des gradients azotés (v. p. 16), les courbes traduisant les variations de l'intensité respiratoire (IR) vont dépendre du critère de référence adopté.

Presque tous les travaux consacrés à l'étude des gradients respiratoires d'un axe radulaire s'accordent à montrer qu'une cellule de la zone d'élongation absorbe davantage d'oxygène qu'une cellule méristématique (LUND et KENYON, 1927; PREVOT et STEWARD, 1936; KOPP, 1948; WANNER, 1950; BROWN et BROADBENT, 1950; BALDOVINOS, 1950; JENSEN, 1955; KARLSEN et ELIASSON, 1955; RAMSHORN, 1958;

PILET et KOBR, 1959; etc.). Par rapport au poids frais, au contraire, l'intensité respiratoire est la plus élevée dans la pointe de la racine (MACHLIS, 1944; GODDARD et MEEUSE, 1950; ELIASSON, 1955; et la plupart des auteurs cités plus haut). Une analyse plus détaillée de la racine du *Vicia Faba* (RAMSHORN, 1958) a montré que l'IR est la plus élevée à 2 ou 3 mm du sommet; PILET et KOBR, sur des racines du *Lens*, trouvent qu'elle est maximale dans l'extrême pointe. Nous pensons que ces différences proviennent de la localisation du méristème, variable suivant les racines étudiées. Notons enfin que les échanges respiratoires exprimés en fonction de l'azote protéinique sont les plus intenses au niveau de la zone d'élongation (KOPP, GODDARD et MEEUSE, ELIASSON, PILET et KOBR, etc.).

Le quotient respiratoire (QR) présente un grand intérêt parce qu'il est le reflet des processus d'oxydation et de réduction des tissus vivants. D'une façon générale, le QR est le plus élevé (valeur supérieure à 1) dans la zone méristématique (RUHLAND et RAMSHORN, 1938; KANDLER, 1953; RAMSHORN, 1958; KOBR, thèse 1962). Tandis que dans les racines du *Lens* (KOBR), la valeur du QR devient inférieure à l'unité dans les zones d'élongation et de différenciation, pour RAMSHORN (1958), la variation du QR le long d'une racine du *Vicia Faba* présente deux optima, l'un à 2 mm (QR = 1,25), l'autre à 8 mm (QR = 1,12) de la pointe. Pour KARLSSON et ELIASSON (1955), le QR est le plus élevé dans la zone d'élongation de la racine du *Triticum*, alors que la sensibilité de l'intensité respiratoire à un apport extérieur de glucose y est la plus faible.

Dans les tissus végétaux, GREGORY et SEN (1937), STEWARD et STREET (1946) et de nombreux autres chercheurs (STEWARD, BIDWELL et YEMM, 1958; STEWARD et BIDWELL, 1958; v. aussi discussion et bibliographie de ces travaux) ont montré que le métabolisme des protéines est lié étroitement aux activités respiratoires et au métabolisme glucidique. Les tissus constituent un système dynamique qui présente une dégradation et une synthèse continues des protéines. Même dans les conditions où l'on constate une nette perte de protéines, il a été possible, grâce à l'emploi de N¹⁵ de mettre en évidence une activité synthétique appréciable (v. YEMM, 1958). Cet équilibre entre la protéolyse et la protéogenèse dépend dans une large mesure du taux glucidique et de l'intensité respiratoire. « Le gaz carbonique émis provient pour une part importante des chaînons carbonés protidiques, tandis qu'à la reconstruction protéique participeraient les chaînons carbonés d'origine glucidique » (v. MOYSE, 1951 b, p. 635; STEWARD, BIDWELL et YEMM, 1958).

2. 2. Gradients de référence

Pour étayer notre discussion, nous nous référerons aux résultats obtenus par PILET et KOBR (1959) et KOBR (thèse, 1962), que nous rapporterons brièvement (v. fig. 3, E) : 1. l'IR rapportée au poids frais, au poids sec et au nombre de fragments, est maximale dans la pointe de la racine (zone 1), puis diminue tout au long de l'axe radiculaire ; 2. par rapport à l'expression cellulaire et à l'azote protéinique, l'IR augmente de la zone 1 à la zone 2 ; 3. le QR (en milieu saccharosé et au bout de 270 mn) est supérieur à 1 (1,04) dans la zone de division et

inférieur à 1 (0,95) dans les zones 2 et 3 ; 4. la sensibilité de l'IR au saccharose exogène, maximale dans la pointe de la racine, diminue asymptotiquement en direction du collet.

Les teneurs en glucides (PILET et MEYLAN, 1953) et en amidon (PILET et MARGOT, 1953) sont reproduites dans la figure 3 F et G.

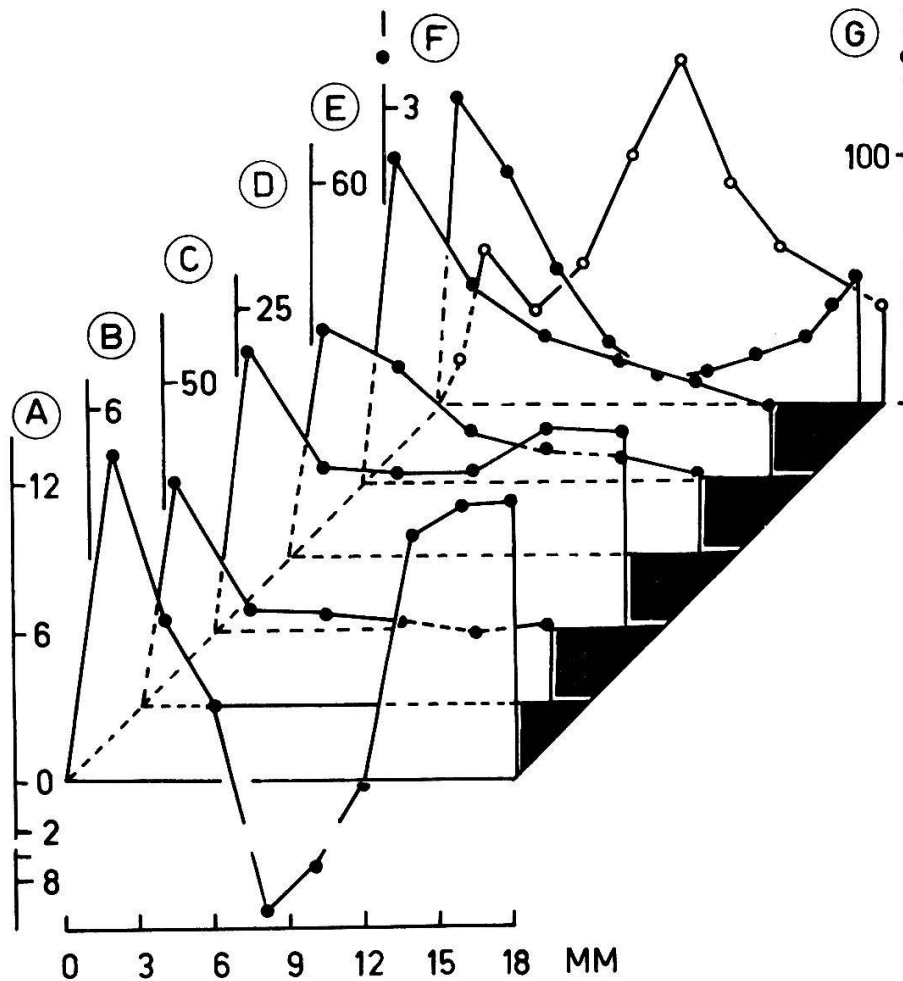


FIG. 3. — Gradients biochimiques des racines du « Lens » (18 mm de longueur) (A) Distribution des potentiels bioélectriques (différence de potentiel exprimée en mV), d'après PILET et MEYLAN (1953); (B) teneur en azote protéinique exprimée en γ ($\cdot 10$) pour 10 mg de poids sec; (C) valeur mésoxalique (VM) exprimant la teneur en fonctions thiols, pour 100 fragments (à multiplier par $1 \cdot 10^{-3}$) d'après PILET (1957); (D) VM pour 10 g de poids sec; (E) quantité d'oxygène absorbé exprimée en $\mu l O_2/60 \text{ mn}/10 \text{ mg}$ de poids sec, d'après PILET et KOBR(1959); (F) teneur en sucres réducteurs calculée en mg de glucose pour 100 mg d'eau, d'après PILET et MEYLAN (1953); (G) nombre moyen des grains d'amidon par cellule multiplié par le diamètre moyen de ces grains, d'après PILET et MARGOT (1953).

2. 3. Discussion

Les courbes représentant les variations de l'intensité respiratoire et de la teneur en protéines sont du même type. Au premier abord, on pourrait trouver une relation simple entre ces données. Rappelons auparavant quelques-uns des liens déjà connus entre l'intensité respiratoire, le taux en protéines et en amino-acides (GREGORY et

SEN, 1937; RICHARDS, 1938; v. MOYSE, 1951 b; WEBSTER et VARNER, 1954; STEWARD et BIDWELL, 1958; v. YEMM, 1958) :

1. Il y a une relation directe entre l'IR et la teneur en protéines et en amino-acides ;

2. Lorsque le taux protéinique demeure constant, c'est-à-dire lorsqu'il y a simultanément protéogenèse et protéolyse, le gaz carbonique émis provient pour une part importante des chaînons carbonés protidiques. A la reconstruction protéinique participeraient les chaînons carbonés d'origine glucidique par l'intermédiaire d'une synthèse d'amino-acides neufs ;

3. Pour ces auteurs, le cours des oxydations respiratoires est réglé par la vitesse de protéolyse et d'intervention des glucides dans la régénération des protéines ;

4. Certains acides α -cétoniques, produits intermédiaires de l'oxydation des glucides, peuvent être à l'origine des acides aspartique, glutamique et des amides correspondantes ainsi que de l'alanine ;

5. La phosphorylation est un processus fondamental dans l'élaboration des amides et des liaisons peptidiques ainsi que dans les échanges énergétiques du métabolisme cellulaire. L'ATP et certains systèmes enzymatiques jouent un rôle primordial dans la synthèse de la glutamine à partir de l'acide glutamique, etc.

Ces quelques points suffisent à montrer que les phénomènes qui lient la respiration et le taux en protéines sont complexes. Cependant, la connaissance des variations de l'intensité et du quotient respiratoires, qui vient s'ajouter à ce que nous savons déjà sur la répartition de l'azote dans la racine, représente une base suffisante pour apprécier l'importance relative de ces phénomènes et leur action réciproque.

Dans la zone de division, la forte absorption d'oxygène correspond à une intense activité métabolique, précisément là où le taux en protéines est le plus élevé. Or, nous savons que la formation des premiers peptides nécessite davantage d'énergie que l'adjonction des amino-acides sur des chaînes polypeptidiques ou protéiniques déjà constituées. Ces faits complètent nos premières observations et vérifient l'hypothèse selon laquelle la zone de division est l'un des principaux centres de la synthèse des protéines et surtout des peptides (v. gradients des fonctions thiols). De plus, le QR dont la valeur est supérieure à l'unité révèle que la biosynthèse des protides, vraisemblablement aussi des polyholosides et des lipides, peut se réaliser aux dépens des glucides.

Comme le fait remarquer MOYSE (1951 b), la teneur en glucides d'un organe joue un rôle important non seulement dans le maintien de l'équilibre entre la protéolyse et la protéogenèse, mais aussi dans l'accroissement des protéines. Or, la forte teneur en glucides dans la pointe de la racine est sans doute l'une des causes de la prédominance des phénomènes de protéogenèse sur ceux de protéolyse.

La biogenèse des protéines pourrait emprunter des voies différentes :

- 1) L'oxydation des glucides pourrait tout d'abord fournir une partie des chaînons carbonés (v. p. 27), surtout des acides organiques tétracarbonés (hypothèse de CHRISTIANSEN et THI-

MANN, 1950) auxquels viendraient s'ajouter des groupements azotés par l'intermédiaire de transporteurs d'azote, comme la glutamine, l'asparagine et les acides correspondants. Ces aminoacides d'origine secondaire peuvent ensuite se transformer en peptides et en protéines caractéristiques de ces tissus en utilisant, pour une part, l'énergie fournie par la dégradation des glucides. Ces transporteurs d'azote peuvent provenir, soit des cotylédons (protéolyse des réserves), soit de la zone d'élongation (v. plus loin) ;

- 2) Les produits de la protéolyse des réserves cotylédonaires qui émigrent dans les organes en voie de croissance peuvent être aussi directement utilisables pour la régénération des protéines.

Sur la base des résultats obtenus, on peut affirmer que la première voie est effectivement empruntée, sans qu'il soit possible de fixer l'importance de la seconde. Un autre fait encore vient confirmer le rôle des glucides dans la biogenèse des protéines. La zone de division est caractérisée par une forte sensibilité de l'IR au saccharose exogène, ce qui permet de faire un certain nombre de remarques. On pourrait tout d'abord se demander pourquoi, dans la pointe de la racine, riche en sucres réducteurs, la respiration exogène est très intense. Ces observations, faites sur des sections isolées, montrent clairement que dans un organe intact, où les échanges sont possibles, les glucides sont indispensables pour assurer d'une part la biosynthèse des protéines et d'autre part, comme substrat respiratoire, l'énergie nécessaire à cette régénération. Ces conclusions impliquent, comme nous le montrerons par la suite (v. p. 83), une migration des glucides à partir des cotylédons. D'autre part, les grains d'amidon, moins abondants dans cette zone, pourraient être aussi à l'origine de la production des glucides.

Le passage de la zone de division à la zone *d'élongation* est accompagné non seulement d'une réduction du taux en protéines et en glucides, mais d'une baisse de l'intensité et du quotient respiratoires ($QR = 0,95$). La diminution de la protéogenèse (v. p. 24) et la synthèse des composés nécessaires à l'élaboration des membranes (v. p. 84) sont à l'origine de ces transformations. Dans cette zone, on assiste, semble-t-il, à la compétition de deux processus inverses dont l'action sur la valeur du QR est opposée : 1) la transformation des glucides en composés pectiques, cellulosiques et, dans une moindre mesure que dans la zone de division, en protéines contribue à élever le QR ; 2) la dégradation oxydative des protides, vraisemblablement aussi des lipides, tend à l'abaisser. Ce dernier phénomène semble l'emporter.

Nos résultats corroborent ainsi l'idée, généralement admise, que l'appauvrissement en glucides est suivi d'une protéolyse intense (v.

MOYSE, 1951 b). La forte diminution de la sensibilité de l'IR au saccharose exogène prouve également que les glucides, à ce stade de la croissance, ont perdu leur importance énergétique au profit des amino-acides.

L'équilibre entre ces phénomènes se maintient dans *la zone des tissus différenciés*. Toutefois, l'augmentation des amino-acides et des glucides, sans variation de QR, laisse supposer, comme nous l'avons dit précédemment, que la base de la racine fonctionne comme lieu de passage et *organe de réserve*.

En conclusion, les données relatives aux échanges respiratoires confirment que, dans la zone d'élongation, le substrat respiratoire est assuré davantage par les produits de dégradation des protéines que par les glucides, que les phénomènes de la protéolyse l'emportent sur ceux de la protéogenèse et que les glucides contribuent essentiellement à l'élaboration des constituants de la membrane. Dans la zone de division, au contraire, les glucides assurent non seulement l'énergie nécessaire à la prolifération cellulaire et à la biogenèse des protéines, mais fournissent en grande partie les chaînons carbonés indispensables à cette régénération.

3. GRADIENTS AZOTÉS ET AUXINIQUES

3.1. *Historique*¹

La plupart des auteurs qui se sont préoccupés du métabolisme azoté en relation avec les auxines se sont bornés à déterminer l'effet d'un traitement par de l'ABIA ou d'autres substances de croissance sur la répartition des composés azotés (v. p. 61). Pourtant l'étude comparée des gradients auxiniques et des gradients azotés est l'une des meilleures voies pour comprendre le contrôle qu'exercent ces hormones sur la croissance et le métabolisme de l'azote. Il était donc intéressant de comparer, dans différentes zones de la racine, la répartition de ces substances *in vivo* (et sans traitement).

Peu de publications sont consacrées à ce genre de problèmes (v. PILET et SIEGENTHALER, 1959) ; par contre, la littérature fait mention de quelques travaux relatifs à la localisation des auxines dans la racine. Les expériences de CHOLODNY (1924 à 1934) sur *Zea Mays* et *Lupinus*, de HAWKER (1932) et de BOYSEN-JENSEN (1933) sur *Vicia Faba* et de RAMSHORN (1934) sur *Lupinus* montrent que les auxines sont concentrées plutôt dans la pointe de la racine. En utilisant des méthodes d'extraction au chloroforme ou à l'alcool, THIMANN (1934) sur *Avena*, FIELDER (1936) sur *Vicia Faba* et PILET (1951a) sur *Lens* trouvent le maximum d'hormones à une distance variable du sommet de la racine. Mais dans ces premières expériences, la détermination des hormones (par des tests non sélectifs) à partir d'extraits est compliquée par la présence d'autres substances dont les effets interfèrent avec ceux des auxines dans les tests biologiques.

¹ La plupart des références bibliographiques des auteurs cités dans cet historique se trouvent dans les mises au point de ABERG (1957) et PILET (1951 a, 1958 d).

L'introduction par BENNET-CLARK et KEFFORD (1953, 1955), par LEXANDER (1953) et AUDUS et TRESCH (1956) des méthodes chromatographiques pour séparer les différents régulateurs de croissance présents dans les extraits a donné une impulsion nouvelle à ces recherches. D'une façon générale, les fractions acides d'extraits étherés de racines du *Pisum* (AUDUS et TRESCH, 1953, 1956), du *Triticum* (LEXANDER, 1953), du *Lens* (PILET, 1958 b, d, e) et du *Vicia Faba* (LAHIRI et AUDUS, 1961) contiennent au moins trois types de régulateurs de croissance :

- 1) Un composé dont l'activité sur la croissance est la plus forte et qui a le même Rf que l'ABIA ;
- 2) Un accélérateur de croissance (α) qu'on a parfois identifié à de l'acide 3-indolyl-pyruvique (STOWE et THIMANN, 1953; BENNET-CLARK et KEFFORD, 1953). Cette substance a un Rf plus petit que celui de l'ABIA ;
- 3) Un troisième composé, dont le Rf est plus élevé que celui de l'ABIA, inhibe la croissance. C'est l'inhibiteur β ainsi nommé par BENNET-CLARK et KEFFORD (1953) ;
- 4) Signalons enfin un deuxième inhibiteur, trouvé en petites quantités dans les racines du *Pisum* (TORREY, 1959) et dans les racines du *Lens* (PILET, 1961 h). Cette substance, dont le Rf est de 0,15 à 0,30, se distingue toutefois de l'accélérateur α .

A notre connaissance, il n'existe pas de travaux établissant des relations directes entre les gradients auxiniques et azotés.

3. 2. Gradients de référence.

La détermination quantitative des auxines endogènes est généralement effectuée en trois étapes : 1. la diffusion ou l'extraction des auxines (v. PILET, 1961 a, p. 21 à 45) : ces techniques sont le plus souvent critiquables ; 2. la purification des extraits, par des techniques chromatographiques par exemple (v. PILET, 1961 a, p. 113 à 148) ; 3. le dosage des auxines, par voie chimique ou biologique (test *Avena*, test R, etc.).

En 1951 (a), PILET établit le gradient auxinique de racines du *Lens* en procédant à l'extraction des auxines par le chloroforme et utilisant, pour le dosage, le test *Avena*. Pour des racines de 18 mm de longueur, la concentration des auxines est faible dans la coiffe, passe par une valeur maximale entre 4 et 6 mm à partir de la pointe, puis diminue régulièrement jusque dans la région du collet. Mais à partir de l'extrait utilisé, cette méthode met en évidence l'action combinée de l'ABIA et d'autres effecteurs (précurseurs, accélérateurs et inhibiteurs) sur la croissance. Pour éviter cet inconvénient et compléter ses résultats, PILET (1958 d) sépare les différents régulateurs de croissance par chromatographie et utilise, pour les doser, un matériel biologique identique à celui dont sont extraites les auxines (test R). Sur la base de ces « analyses biochromatographiques » les gradients auxiniques sont les suivants :

1. Par rapport à 100 fragments, à l'azote protéinique et au poids sec, la teneur en ABIA endogène (Rf : 0,40 à 0,55), relativement faible dans la zone 1, passe par un maximum dans la zone d'élongation, puis diminue en direction de la base de la racine ; par rapport à l'unité de poids frais, la concentration en ABIA endogène diminue tout au long de l'axe radulaire (v. tableau VI, A et fig. 4, E) ;

2. L'accélérateur α (Rf : 0,40 à 0,55), inexistant dans l'extrême pointe de la racine, est plus abondant dans les zones suivantes où il demeure constant (fig. 4, B) ;

3. La concentration en inhibiteur β (Rf : 0,70 à 0,85), pratiquement nulle dans la coiffe, est de plus en plus forte à mesure qu'on s'approche du collet (fig. 4, C).

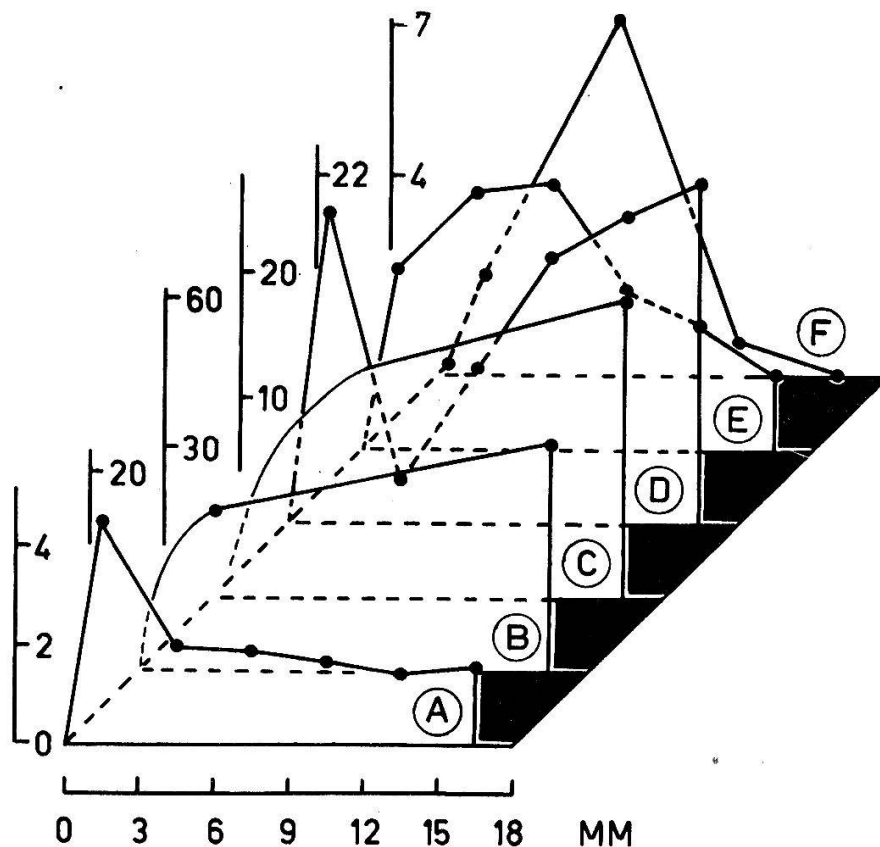


FIG. 4. — Gradients biochimiques des racines du « Lens » (18 mm de longueur)

(A) Teneur en azote protéinique exprimée en γ ($\cdot 10^3$) pour 10 mg de poids sec ; (B et C) activités de l'accélérateur α et de l'inhibiteur β , exprimées en % de stimulation et d'inhibition de croissance (test R), d'après PILET (1958 d) ; (D) activité auxines-oxydasique exprimée en γ d'ABIA détruits/60 mn pour 10 mg de poids sec, adapté de PILET et GALSTON (1955) ; (E) teneur en ABIA endogène exprimée en équivalents γ ($\cdot 10^{-3}$) d'ABIA pour 10 mg de poids sec, adapté de PILET (1958 d) ; (F) vitesse de croissance partielle (v. Fig. 1, E).

Il nous paraît clairement établi, contrairement à l'avis de quelques auteurs (v. p. 31), que la zone d'élongation de la racine est la plus riche en auxines. Par rapport aux critères de référence adoptés, y compris l'expression cellulaire (à l'exception toutefois du poids frais), la teneur en hormones endogènes du type ABIA est incontestablement la plus élevée dans cette zone. On peut cependant facilement expliquer la courbe de l'ABIA endogène par rapport au poids frais en tenant compte de la forte absorption d'eau dans les tissus en voie d'allongement.

Ces constatations n'excluent pas une biogenèse des auxines dans la pointe de la racine et un transport polarisé de ces hormones (v. p. 71) en direction de la zone d'élongation, où elles activeraient les phénomènes de la croissance (ABERG, 1957).

3. 3. Discussion

Nous pouvons maintenant établir de nouvelles relations entre la distribution des régulateurs de croissance, les gradients azotés et la vitesse de croissance partielle de chacune des zones principales de l'axe radriculaire.

Dans la zone de division, la quantité d'ABIA endogène, relativement petite, semble favoriser plutôt la mérisis que l'auxésis (v. PILET, 1961 a, p. 460) et confère à cette région une vitesse de croissance pratiquement nulle. L'accélérateur α et l'inhibiteur β , dont les activités encore faibles pourraient s'opposer, ne jouent que peu de rôle. Il semble qu'une intense activité métabolique (v. p. 29), favorisant en particulier la protéosynthèse, soit absolument indispensable avant que les auxines puissent exercer leur rôle de stimulateur de croissance. En d'autres termes, la croissance des cellules est assurée au cours de plusieurs étapes. Pendant la première, la structure fondamentale du cytoplasme (les protéines) et les auxines sont élaborées. Les hormones de croissance peuvent agir, au cours d'une deuxième étape, sur les membranes de cellules préparées à leur nouvelle fonction (allongement). En effet, dans la zone d'élongation, la concentration d'ABIA endogène est la plus élevée (voisine de la dose optimale) et provoque une vitesse de croissance maximale. Cette relation, déjà maintes fois établie, correspond à la définition des auxines dont la propriété fondamentale est de stimuler les phénomènes d'élongation cellulaire.

Dans la zone de différenciation, la teneur en ABIA endogène diminue et semble, du moins en partie, responsable de la réduction de la croissance que l'on ne peut en aucun cas interpréter comme la conséquence d'une dose sus-optimale d'auxines. Mais à mesure qu'on s'éloigne de la pointe de la racine, l'effet de l'inhibiteur β sur la croissance (2 à 3 fois supérieur à celui de l'accélérateur α) s'accroît et pourrait bien être l'un des facteurs responsables de l'arrêt de la croissance. D'après TORREY (1959) et PILET (1961 h), cet inhibiteur, qui agirait sur la croissance en intervenant dans certains processus de dégradation des hormones, pourrait provenir de la dégradation enzymatique (v. p. 111) de l'ABIA endogène.

Un dernier point reste à discuter, celui de la relation entre les gradients protéiniques et auxiniques. SIEGEL et GALSTON (1953) en utilisant de l'ABIA, puis MARRÉ (1955) avec de l'acide α -naphtylacétique, mettent en évidence, à partir d'extraits de racines de pois, l'existence d'un complexe protéines-auxines (v. aussi GORDON, 1954, p. 365). Selon SIEGEL et GALSTON :

- 1) Le complexe ABIA-protéines se forme uniquement dans des conditions d'intense respiration et en rapport avec la synthèse de composés riches en énergie, comme l'ATP ;
- 2) Les inhibiteurs respiratoires (comme le 2,4-dinitrophénol, à concentrations convenables) et d'autres molécules du type auxines (comme l'acide α -naphtylacétique) empêchent la formation du complexe ABIA-protéines ;
- 3) *In vitro*, l'ATP favorise la formation du complexe, tandis que la coenzyme A active plutôt la dissociation de ce complexe en protéines et en ABIA libre ou lié à un peptide (court), comme l'acide β -indolyl-acétylaspartique (ANDREAE et GOOD, 1955; GOOD et ANDREAE, 1956; ANDREAE et VAN YSSELSTEIN, 1956).

Quelle est la signification physiologique de ces faits ? Certains auteurs, comme HANTSCH, MUIR et METZENBERG (1951), etc. (v. PILET, 1961 a, p. 242) ont émis l'hypothèse des substrats protéiniques,

sur lesquels se fixent les auxines et qui sont responsables de leur activité. Il est évidemment tentant de considérer l'association ABIA-protéines comme un système capable de régler les phénomènes de la croissance.

D'autres auteurs (GALSTON, 1956) suggèrent que le complexe ABIA-protéines pourrait, au contraire, constituer une forme de réserve des auxines qui, physiologiquement, seraient inactives. Les auxines-oxydases n'ont aucune action sur ce complexe, tandis que les protéases semblent pouvoir libérer les auxines liées (v. BENTLEY, 1958; 1961, p. 614).

Sur la base de la première hypothèse, il ne serait pas surprenant de trouver beaucoup d'auxines dans les tissus où la teneur en protéines est élevée. Toutefois, il est difficile d'admettre une telle relation : ce rapport, valable dans la zone de division, ne l'est plus dans la zone d'élongation; — les régulateurs de croissance dosés dans les essais de PILET sont des auxines libres (et non liées); — le substrat protéinique en question représente une petite partie des protéines cellulaires que l'on ne saurait identifier à celles que nous dosons; — enfin, le mode d'action des auxines sur des phénomènes tels que la division, l'élongation, la différenciation et l'organisation des tissus est si différent que l'on ne saurait décider à quel endroit ces composés ont le plus d'efficacité. Dans la zone d'élongation par exemple, la vitesse de croissance est maximale et les auxines sont abondantes; mais la teneur en protéines y est faible.

La deuxième hypothèse, par contre, nous paraît plus en accord avec les gradients protéiniques et auxiniques des racines.

On admet généralement que la biogenèse des auxines a lieu dans la pointe de la racine (v. ABERG, 1957). Cette biosynthèse semble liée à celle des protéines. Il est probable, en effet, que dans la zone de division la teneur élevée en protéines et en amino-acides (particulièrement en tryptophane qui est le précurseur le plus important de l'ABIA) soit à l'origine de la biosynthèse des hormones endogènes. Dans les tissus, ces auxines seraient présentes sous deux formes et auraient des fonctions physiologiques différentes : d'une part, *les auxines libres* (celles que nous dosons) activeraient directement ou indirectement (l'ABIA peut être un cofacteur de la cinétine par exemple) la prolifération cellulaire; d'autre part, le reste des auxines pourrait s'accumuler sous forme de *complexe ABIA-protéines*, grâce à la présence d'ATP et à l'intense activité respiratoire de la zone de division.

Comme nous l'avons déjà mentionné, il existe, dans chaque organe, un cycle protéinique. Le taux en protéines correspond au bilan de deux processus inverses (la protéogenèse et la protéolyse), sa constance n'étant que le reflet de leur équilibre. Dans la zone d'élonga-

tion, on pourrait penser que les auxines agissent sur cet équilibre en favorisant la protéolyse (nous reparlerons de cette hypothèse à propos de l'action de l'ABIA sur la croissance et les composés azotés (v. p. 101) et nous verrons que l'ABIA, suivant sa concentration, agit différemment sur cet équilibre). Mais à la suite de l'hypothèse de GALSTON, il nous semble plutôt que, dans la zone d'élongation, la teneur élevée en auxines extractibles est une conséquence de la protéolyse qui libère les auxines de leur substrat. Cette dissociation est indépendante de l'activité auxines-oxydasique: l'activité protéolytique en serait seule responsable (v. p. 17).

En conclusion, les protéines jouent un rôle capital non seulement dans la biogenèse des hormones de croissance mais aussi comme substrat auxinique. Le complexe ABIA-protéines pourrait régler l'approvisionnement en auxines libres, par l'intermédiaire de l'activité protéolytique (ce point particulier fera l'objet de recherches ultérieures) tandis que les auxines-oxydases règlent uniquement le taux en auxines libres.

4. GRADIENTS AZOTÉS ET ACTIVITÉ AUXINES-OXYDASIQUE

4.1. *Historique*

THIMANN est l'un des premiers chercheurs à observer que les auxines peuvent être inactivées autrement que sous l'action de la lumière. Cette observation fut à l'origine d'un nombre considérable de travaux (v. LARSEN, 1951; v. GORDON, 1954; v. PILET, 1961 a, p. 301 et v. p. 104) qui ont abouti à la découverte des auxines-oxydases dans les tissus d'ananas (GORTNER et KENT, 1953). Ce système enzymatique de nature oxydasique, présent dans la plupart des tissus végétaux, s'est révélé le responsable de la dégradation *in vivo* des auxines endogènes. Mais, comme le fait remarquer PILET, il serait faux d'admettre une stricte correspondance entre la distribution des auxines et les variations de l'activité auxines-oxydasique le long de l'axe racinaire. La destruction *in vitro* de l'ABIA ne saurait être l'image exacte de l'état auxinique endogène. Il faut tenir compte encore d'autres processus tels que la biogenèse et le transport des auxines, l'adaptation enzymatique (v. p. 111), la présence des complexes auxines-protéines ou auxines-peptides qui sont insensibles à l'action des auxines-oxydases (v. BENTLEY, 1961, p. 614).

4.2. *Gradient de référence*

Dans notre discussion, nous nous référerons au gradient auxines-oxydasique proposé par PILET et GALSTON (1955) sur des racines du *Lens* de 18 mm de longueur. Quel que soit le critère de référence adopté (*tableau VI, B*), l'activité est forte dans la zone de division, la plus faible dans la zone d'élongation, puis augmente fortement en direction du collet.

Les tissus de la zone d'élongation, riches en hormones endogènes, présentent une faible activité auxines-oxydasique. Les zones de division et de différenciation,

moins riches en auxines, présentent une activité auxines-oxydasique plus élevée.

En conclusion, dans la racine du *Lens*, l'activité auxines-oxydasique règle en premier lieu le taux en ABIA endogène, puis influence indirectement la croissance. Mais nous avons vu que les phénomènes de croissance dépendent aussi de l'intervention d'autres effecteurs (v. p. 32) et de l'intensité des processus métaboliques (v. p. 28).

TABLEAU VI

Gradients auxiniques et auxines-oxydasiques de racines du « Lens » de 18 mm de longueur

Valeurs rapportées en fonction de divers critères de référence.
A: d'après PILET (1958 d); B: d'après PILET et GALSTON (1955).

Zones mm	A Teneur en ABIA endogène exprimée en équivalents $\gamma \cdot 10^{-3}$ ABIA **				B Activité auxines-oxydasique exprimée en γ d'ABIA détruits/60 mn **			
	/100mg PF	/mg NP	/100 F*	/10mg PS	/100mg PF	/mg NP	/100 F*	/10mg PS
0-3	20,65	26,45	25,9	14,38	35,8	45	45,0	25,00
3-6	17,00	50,32	33,0	20,62	3,0	30	5,8	3,62
6-9	15,73	30,17	38,2	21,46	9,0	65	21,9	12,30
9-12	10,08	21,40	26,3	12,77	17,0	95	44,3	21,50
12-15	8,07	17,12	23,7	9,96	20,0	105	58,8	24,71
15-18	5,12	12,09	17,9	6,17	23,0	115	80,5	27,76

* F = fragments

** Ces valeurs sont calculées à partir du poids frais, du poids sec et de l'azote protéinique trouvés dans nos essais personnels.

4.3. Discussion

De ce qui précède, nous retiendrons et examinerons successivement deux séries de problèmes : les relations qui existent entre les variations des régulateurs de croissance et le gradient auxines-oxydasique (v. fig. 4, D); — les rapports entre ces phénomènes et les gradients azotés.

Des expériences déjà anciennes (v. p. 31) montrent que le méristème pourrait être l'un des sièges importants de la biogenèse auxinique (v. discussion 3.3.). Mais il est difficile d'apprécier, d'une part, la quantité d'auxines nécessaire à l'activité mitotique et, d'autre part, celle qui est véhiculée dans d'autres régions de la racine. Depuis quelques années (1952) on pense que la division cellulaire est plutôt induite par la cinétine, alors que l'ABIA, à faibles concentrations, agirait comme cofacteur. Dans cette nouvelle perspective, la plus grande partie des auxines élaborées dans cette région serait destinée à alimenter la zone d'allongement. En effet, les travaux de BOYSEN-JENSEN cités par PILET (1951 b), ont mis en évidence, dans les racines du *Vicia Faba*, un courant auxinique basipète, tandis que PILET, tout en confirmant ces expériences, révèle, dans les racines du *Lens*, l'existence d'une circulation basifuge et latérale.

On peut être surpris de trouver dans la pointe de la racine, relativement riche en auxines, une activité auxines-oxydasique si élevée. De même, en passant de la zone 1 à la zone 2, la teneur en ABIA endogène (par rapport au poids sec) augmente de 0,4 fois environ, tandis que l'activité auxines-oxydasique diminue de 7 fois environ. Ces faits montrent bien que si, au premier abord, il existe un rapport inverse entre la teneur en ABIA et l'activité des enzymes qui détruisent ces molécules, d'autres processus plus complexes doivent intervenir dans la régulation de la croissance.

A ce propos, on peut faire un certain nombre de suggestions :

1. Dans la pointe de la racine, on pourrait envisager comme l'ont proposé GALSTON et DALBERG (1954) et comme nous le discuterons plus loin (v. p. 111) un mécanisme d'adaptation enzymatique en présence d'une concentration élevée de substrat. La forte teneur en protéines permettrait même de supposer qu'il y a une synthèse adaptative de ces enzymes. Mais on peut se demander pourquoi, dans les autres zones de la racine, les rapports entre les auxines et leurs enzymes sont différents ;

2. Il est probable aussi que les inhibiteurs β et I, et l'accélérateur α dont on ne connaît pour l'instant que le Rf et leurs effets sur la croissance, soient à l'origine de ces contradictions apparentes. De nombreuses expériences devront être encore faites pour mettre en évidence leur véritable rôle dans les processus de la croissance ;

3. Nous avons vu également que le taux en auxines ne dépendait pas seulement de l'activité auxines-oxydasique, mais aussi des enzymes protéolytiques qui règlent la libération des hormones en réserve dans des complexes protéiniques.

Ces arguments pourraient expliquer, nous semble-t-il, ces contradictions.

Les courbes, traduisant la teneur en protéines et en composés azotés d'une part et l'activité auxines-oxydasique d'autre part, sont voisines pour les deux premières zones. On en pourrait facilement conclure qu'il y a une dépendance directe entre la teneur en protéines et l'activité auxines-oxydasique. Mais, dans la zone de différenciation, cette relation est mise en défaut, comme le prouve la forte augmentation du rapport ABIA OX/NP. Les deux phénomènes sont en opposition et il semble difficile d'établir une relation simple entre ces deux gradients. Toutefois, les variations de l'azote soluble sont beaucoup plus proches de celles qui traduisent l'activité des auxines-oxydases. Il serait prématuré de voir ici la preuve que l'apoenzyme du système enzymatique étudié n'est pas une protéine complexe et insoluble. Nous ne sommes pas en mesure de dire, comme l'ont suggéré ROBINSON (1956), sur des racines de fèves, et THIMANN et LOOS (1957), sur des disques de pommes de terre, que la teneur en protéines peut être un facteur limitant de l'activité des systèmes enzymatiques. Nous reprendrons plus loin ce problème (v. p. 112).

5. GRADIENTS AZOTÉS ET TENEUR EN GROUPES SULFHYDRYLÉS

5.1. Historique

Les méthodes généralement utilisées pour déterminer la teneur en fonctions thiols sont basées sur l'ampérométrie, sur la réaction colorée au nitroprussiate ou sur l'action décarboxylante (BRUNEL-CAPELLE, 1955, méthode reprise par PILET en 1957 e) attribuables aux thiols solubles (glutathion, cystéine, acides thioglycoliques et thiomaliques, dimercaptopropanol) et aux thiols-protéines.

Depuis la découverte du glutathion et de quelques-unes de ses propriétés par HOPKINS (1921), on s'est vite rendu compte que la plupart des groupes SH rencontrés dans les tissus provenaient de la cystéine, l'un des trois amino-acides constituant ce tripeptide. Grâce à sa large distribution dans les cellules vivantes, le glutathion et son rôle métabolique ont fait l'objet de nombreuses investigations.

Quelques auteurs (HANES, HIRD et ISHERWOOD, (1950) ont suggéré que seuls quelques peptides simples, comme le glutathion, pouvaient être synthétisés directement à partir d' amino-acides et que les autres peptides et les protéines se formaient à partir d'eux par transpeptidation.

HOPKINS et MORGAN (1943), puis SPRAGG et YEMM (1954) montrent que l'augmentation rapide du glutathion pendant les premières phases de la germination est due principalement à une conversion de la forme oxydée (GS-SG) en forme réduite (GSH) plutôt qu'à une synthèse active de ce peptide. La réduction, localisée principalement dans les cotylédons, est en relation directe avec une reprise de la respiration et des activités métaboliques des semences. A l'aide d'une méthode moins précise (nitroprussiate), HAMMETT et CHAPMAN (1938) dans les racines du *Phaseolus vulgaris*, GOAS (1955, 1956) dans des coléoptiles et des racines du *Vicia Faba*, puis PILET (1957 e) dans des racines du *Lens* (ce travail sera discuté plus bas) observent un taux particulièrement élevé de composés sulfhydrylés dans les zones de prolifération (méristème). De même une augmentation du taux en fonctions thiols a été mise en évidence dans les premières étapes du développement des semences de froment et d'orge (v. YEMM, 1958).

Les groupes thiols représentent l'un des mécanismes régulateurs les plus souples de la respiration cellulaire; ils jouent un rôle dans la formation des peptides et dans l'activité de certaines enzymes; ils permettent d'établir des ponts entre les protéines et d'autres groupes prostéthiques (par exemple ABIA-S-Protéine, HANTSCH, MUIR et METZENBERG, 1951; BONNER, 1953; MARRÉ, 1955) et pourtant le mécanisme de l'action des thiols dans la division cellulaire et la croissance n'en demeure pas moins inconnu. RAPKINE (v. BARRON, 1951) cependant postule que l'accélération des processus de division cellulaire et de la croissance est due à une diminution du potentiel d'oxydo-réduction dans la cellule. Il suppose d'autre part que l'augmentation des groupes SH provient d'une dénaturation (?) réversible des protéines intracellulaires qui transforme les groupes thiols masqués et non réactifs en groupes réactifs. Mais il faudrait encore préciser ce que l'on entend par dénaturation des protéines. Cette hypothèse ne présente qu'un aspect de la question et beaucoup de mécanismes sont à découvrir dans ce domaine.

5.2. Gradient de référence

Nous avons repris les résultats publiés par PILET (1957 e) à propos d'une étude qu'il a consacrée à la distribution des groupes sulfhydryles, à l'activité des auxines-oxydases et à la teneur en auxines des racines du *Lens*. La méthode de détermination de la teneur en fonctions thiols (BRUNEL-CAPELLE, 1955) est basée sur le fait que l'acide mésoxalique peut subir, en présence de composés sulfhydrylés de faibles poids moléculaires, une série de transformations passant de l'hémimercaptone à l'hémimercaptal et donnant finalement l'acide glyoxylique et l'hydrate correspondant avec régénération du catalyseur. La valeur mésoxalique ainsi obtenue (VM) est le reflet des propriétés décarboxylantes attribuables aux thiols solubles et aux thiols protéines. Par rapport au poids sec la teneur en groupes SH diminue de la pointe à la base de la racine. Par rapport au nombre de fragments, les propriétés décarboxylantes sont maximales dans la zone de division, diminuent fortement dans les zones d'élongation puis augmentent au niveau des tissus différenciés (v. fig. 3 C et D).

Nous ne reviendrons pas sur les conclusions de ce travail. Notons toutefois que l'auteur émet l'hypothèse que les groupes thiols agiraient peut-être comme inhibiteurs des auxines-oxydases. Ceci paraît vraisemblable si l'on tient compte des travaux ayant montré l'action inhibitrice des composés SH (du glutathion en particulier) sur les oxydases (PILET, 1958 c). Ces expériences montrent en effet que le glutathion provoque une inhibition *in vivo* et *in vitro* de l'activité auxines-oxydasique des néoformations primaires de tissus de carotte cultivés *in vitro*.

5.3. Discussion

Les composés à fonctions thiols sont directement liés à la division cellulaire. La teneur en SH est la plus élevée dans la zone de multiplication cellulaire et diminue tout au long de l'axe radicaire, ce que confirment les travaux de HAMMETT et CHAPMAN (1938) et de GOAS (1955 et 1956).

La teneur en groupes sulfhydryles est maximale dans les tissus où la biosynthèse des protéines l'emporte sur les phénomènes de protéolyse. On pourrait penser, comme le suggèrent HANES et coll. (1950), que les premiers peptides simples synthétisés contiennent des groupes SH (comme le glutathion) et sont les seuls intermédiaires entre les amino-acides et les protéines. A ce point de vue, l'importance des amino-acides soufrés (cystéine surtout) expliquerait leur concentration élevée dans les tissus où les phénomènes de protéosynthèse sont dominants. Comme nous le montrerons plus loin (v. p. 82), la forte diminution des composés azotés pendant les premières phases de la germination, dans les cotylédons, permet d'envisager un transport actif des amino-acides soufrés sous forme réduite vraisemblablement (SPRAGG et YEMM, 1954).

Le passage dans la zone d'élongation est suivi d'une baisse de la valeur mésoxalique. Cette diminution est à mettre en relation avec la protéolyse. BRUNEL-CAPELLE (1955) fait la même constatation sur un autre matériel (feuilles étiolées ou en fin de végétation). Les composés thiols simples résultant de la dégradation des protéines pourraient être transportés, soit dans la zone de division où ils participeraient à nouveau à la protéosynthèse, soit dans les tis-

sus différenciés où ils pourraient jouer un rôle dans l'activité péryclicque. Il est probable en outre que, dans la zone d'élongation, le manque d'acides aminés soufrés disponibles soit un des facteurs limitants de la protéosynthèse et la cause (ou l'effet ?) de la plus faible teneur en protéines (WOOD et coll., 1939, 1942). Il est frappant de constater que les zones de la racine pauvres en fonctions thiols sont caractérisées par un certain nombre de réactions métaboliques identiques à celle d'une plante déficiente en soufre. Une plante privée de soufre se comporte comme si elle était déficiente en azote. La protéosynthèse est ralentie, voire inhibée, et la concentration des composés azotés solubles s'accroît fortement. En outre, on constate une augmentation de l'amidon et de l'hémicellulose et une baisse des sucres réducteurs (THOMAS, 1958; p. 55 à 57).

De nombreux auteurs (BARRON, 1951 et v. Historique 5. 1.) ont montré l'importance des fonctions thiols dans les dégradations enzymatiques des glucides. Mais il nous paraît prématuré de voir ici un rapport étroit entre l'intensité respiratoire (IR) et la teneur en groupes sulfhydrylés des enzymes respiratoires. Nous savons que les enzymes n'agissent généralement pas par effet de concentration et qu'une forte activité enzymatique, nécessitant la présence de SH, n'entraîne pas forcément une teneur élevée en fonctions thiols. Il est probable plutôt que la présence de groupes sulfhydrylés favorisant la protéosynthèse provoque une augmentation de l'IR (v. aussi fin de la discussion).

Les relations entre gradients auxiniques, sulfhydrylés et azotés sont plus difficiles à comprendre. Par rapport à l'unité d'organe, il y a beaucoup d'auxines et peu de composés à fonctions thiols dans la zone d'élongation, tandis que dans les zones voisines, on observe l'inverse. Par rapport au poids frais, les courbes décroissent de la pointe à la base de la racine. Ces faits montrent bien que, sur la base des gradients, on ne saurait prendre position définitivement sur les travaux de HANTSCH et coll., BONNER et MARRÉ et que d'autres expériences (et une meilleure méthode aussi) devraient permettre de trouver des rapports plus évidents.

En conclusion, les composés azotés solubles, en provenance des cotylédons ou issus de la protéolyse dans les zones voisines, seraient véhiculés jusqu'aux centres de la protéosynthèse. Là, les réactions exergoniques de la dégradation des glucides fournissent l'énergie nécessaire à la synthèse des premiers peptides dont la plupart contiendraient un ou plusieurs acides aminés soufrés, intermédiaires indispensables à la régénération des protéines.

6. GRADIENTS AZOTÉS ET POLARITÉ BIOÉLECTRIQUE

6. 1. *Historique*

Les données relatives à la polarité électrique des racines sont peu précises et souvent contradictoires. C'est pourquoi il nous paraît inutile (ce sujet dépassant le cadre de nos propres recherches) d'en rappeler ici les controverses. Nous renvoyons à des travaux où figurent des discussions et des analyses bibliographiques plus détaillées (PILET et MEYLAN, 1953; v. SCHRANK, 1951, p. 123 à 140; v. LEOPOLD, 1961, p. 671 à 682; v. PILET, 1961, p. 426, 440, 476 et 551).

L'étude de la polarité bioélectrique, généralement liée aux problèmes du transport des substances à l'intérieur de la plante, rencontre de nombreuses difficultés :

1. Tout d'abord, les différences de techniques, souvent délicates, le choix du point de référence, peuvent être à l'origine des discordances des résultats. Une autre difficulté réside dans les variations spontanées de la polarité ;

2. Certains auteurs admettent que la polarité interne d'un tissu pourrait être la même que celle mesurée en surface. Cet avis ne semble pas être partagé par la majorité des auteurs qui pensent que la polarité interne et la polarité superficielle sont de signes opposés ;

3. Il est difficile de savoir si la polarité électrique est le phénomène primaire dont le déplacement des ions, des métabolites et des auxines serait la conséquence ou si au contraire elle résulte de la distribution de ces substances. A ce propos, FENSOM (1959) développe une hypothèse basée sur la migration des ions H_3O^+ en relation avec les fonctions mêmes de la plante.

6.2. Gradient de référence

Nous nous référerons aux observations de PILET et MEYLAN (1953) qui établissent des comparaisons entre la polarité électrique des racines de 18 mm et différents gradients (croissance, auxines, glucides et amidon). Comme le montre la *fig. 3 A*, la polarité superficielle de la racine est positive jusqu'à 5 mm à partir de l'extrême pointe (prise comme point de référence), devient négative de 5 à 13 mm, puis devient à nouveau positive au niveau des tissus différenciés.

De la discussion de ces résultats, nous ne retiendrons que les points suivants :

1. Les zones de l'axe radiculaire, définies par les courbes traduisant la polarité électrique sont pratiquement les mêmes que celles que nous avons adoptées initialement (v. p. 18) : *a*) la zone de division (électropositive) ; *b*) la zone d'élongation (électronégative) ; *c*) la zone des tissus différenciés (électropositive). Seule la zone de 3 à 5 mm ne correspond pas à ce schéma ;

2. La première zone électropositive coïncide avec la région où le déplacement latéral des auxines actives est le plus prononcé (autour du troisième mm à partir de la coiffe) ;

3. Il existe, dans la racine, un nombre élevé de circuits locaux et restreints et de forces électromotrices élémentaires dont nous ne pouvons que mesurer les résultantes. Le déplacement des hormones de croissance serait provoqué par une polarité de base, mais entraînerait à son tour une nouvelle polarité qui se combinerait à la précédente.

6.3. Discussion

Il n'existe, à notre connaissance, aucun travail mettant en relation la polarité bioélectrique et le métabolisme des composés azotés. Toutefois, LUND et coll. (1927, 1947) insistent sur le caractère dynamique des champs bioélectriques qui changent au cours du développement de la plante et ne tendent à se stabiliser que là où la croissance est achevée. En outre, quelques auteurs mettent en évidence des rapports entre polarité, réserves glucidiques et respiration (v. LÉOPOLD, 1961, p. 675). D'une façon générale, ces chercheurs s'accordent à dire que les tissus électropositifs sont caractérisés par une respiration intense. En 1932 et 1939 déjà, WENT pensait que le transport des auxines s'effectue dans un champ électrique et que ces phénomènes sont placés sous la dépendance du métabolisme de la plante.

Les données dont nous disposons sont insuffisantes pour discuter le problème des relations entre les composés azotés et la polarité bioélectrique. Tout au plus pouvons-nous établir des rapports entre ces deux genres de gradients, sans pouvoir les interpréter.

Les trois principales zones de l'axe racinaire sont définies par des gradients biochimiques déterminés qui, pour une raison encore mal connue, sont vraisemblablement à l'origine de la polarité observée. Si des relations plus ou moins directes semblent lier la polarité bioélectrique avec la croissance, la teneur en auxines, l'activité auxines-oxydasique, la répartition des sucres et de l'amidon (PILET et MEYLAN, 1953), il n'apparaît pas de rapport évident entre les gradients azotés et la distribution des charges. Notons cependant que la zone de forte protéosynthèse est électropositive, tandis que les tissus en voie d'élongation, caractérisés par des phénomènes de protéolyse, sont négatifs. Par rapport aux gradients azotés, le brusque changement de polarité dans la zone de différenciation reste inexpliqué.

En conclusion, l'ensemble des processus anaboliques et cataboliques caractérisant chacune des zones de la racine semble jouer un rôle dans la répartition des charges à la surface de cet organe. Mais on n'en peut encore donner une explication satisfaisante.

7. CONCLUSIONS

Les relations que l'on peut établir entre les divers gradients biochimiques de l'axe racinaire et la répartition des composés azotés ont fait l'objet de discussions et de conclusions partielles au fur et à mesure de l'avancement de ce travail. En guise de conclusion générale, nous présenterons les principaux faits et hypothèses, sans nuancer notre point de vue comme nous l'avons fait dans chacune des discussions.

Nous avons tout d'abord mis en évidence que dans *les tissus en voie de division*, la protéosynthèse est la plus active le long de l'axe racinaire. Ces phénomènes de biogenèse l'emportent sur ceux de la protéolyse et ceci pour plusieurs raisons : la teneur en protéines et le rapport NP/NS sont les plus élevés ; — l'intensité respiratoire est maximale et le quotient respiratoire est supérieur à l'unité.

Les faits suivants permettent de conclure qu'une partie des glucides participe à la biogenèse des protéines : la valeur du QR est supérieure à 1 ; — la respiration est la plus sensible à un apport de saccharose ; — la teneur en glucides est la plus élevée (l'amidon, en petite quantité, pourrait être l'une des sources de glucides, la dégradation et la migration des réserves glucidiques cotylédonaires restant la principale, v. p. 74).

Nous avons interprété la forte teneur en composés azotés comme la preuve d'une part de la biosynthèse d'acides-amino et de peptides secondaires à partir de chaînons carbonés glucidiques et de transporteurs d'azote, d'autre part de la migration de ces composés à partir des cotylédons (v. p. 83). L'énergie disponible, fournie es-

sentiellement par les glucides, est utilisée davantage pour assurer l'anabolisme de nouvelles substances que pour induire les phénomènes de la croissance. Les fonctions thiols sont liées à la mérisis et à la protéosynthèse. Les groupes SH pourraient fonctionner soit comme des constituants enzymatiques indispensables à ces processus, soit comme des éléments nécessaires à la synthèse des premiers peptides comme le glutathion, qui serait l'un des seuls intermédiaires entre les amino-acides et les protéines.

L'anabolisme protidique (par l'intermédiaire du tryptophane par exemple) semble intimement lié à la biogenèse des auxines. Si une faible partie des auxines agit directement ou indirectement sur la mérisis, une plus grande quantité d'hormones paraît s'associer à un substrat protéinique pour former un complexe inactif. L'activité des auxines-oxydases, relativement élevée, peut être considérée comme une adaptation de ces enzymes aux auxines avant que celles-ci ne se fixent sur leur substrat protéinique.

Lorsque les phénomènes d'auxésis l'emportent sur ceux de la mérisis (*zone d'élongation*), le métabolisme général subit de profonds changements. Tout d'abord, les phénomènes de protéolyse l'emportent sur ceux de la protéogénèse et les glucides participent dans une moins large mesure à la synthèse des protéines : l'IR diminue et devient moins sensible au saccharose exogène; — la valeur du QR est inférieure à 1; — la teneur en protéines diminue; — la teneur en glucides disponibles est réduite, ce qui pourrait être l'une des causes de la protéolyse.

Les composés solubles résultant de la dégradation des protéines sont accumulés sur place et en partie dégradés (NT/PS diminue). L'énergie disponible, fournie plutôt par l'oxydation des produits de dégradation des protéines que par les glucides, est utilisée davantage pour induire des phénomènes de croissance et élaborer les composés membranaires que pour synthétiser les substances cytoplasmiques. Les glucides seraient utilisés comme précurseurs des composés pectiques et cellulosiques. Les fonctions thiols, dont la concentration diminuée est à mettre en rapport avec la protéolyse, pourraient être aussi un facteur limitant de la protéosynthèse.

Les cellules en voie de division contiennent le complexe ABIA-protéines qui est dissocié, semble-t-il, en même temps que commencent les phénomènes de protéolyse. Tout se passe comme si le mécanisme réglant l'approvisionnement en auxines libres était dirigé par les mêmes systèmes enzymatiques (protéases) qui sont responsables de la protéolyse. Tandis que l'activité auxines-oxydasique (qui règle le taux en hormones libres) est faible, les auxines libres stimulent la croissance des cellules dont les réserves élaborées antérieurement suffisent à assurer le métabolisme basal.

Dans *les tissus différenciés* (que l'on peut considérer comme des zones de réserve et de transition), les phénomènes cataboliques et anaboliques sont pratiquement en équilibre (les rapports NP/NS et NP/NT tendent à être constants).

La teneur en auxines libres diminue tandis que s'accroît l'activité auxines-oxydasique. L'inhibiteur β (dont l'activité sur la croissance augmente) et l'ABIA endogène (dont la concentration diminue sous l'action de l'activité auxines-oxydasique) sont responsables de la forte diminution de la croissance.

Sans qu'il soit possible d'en donner les causes, l'ensemble de ces réactions métaboliques et la distribution des régulateurs de croissance dans la racine déterminent des migrations de métabolites et d'auxines qui sont vraisemblablement à l'origine des potentiels bio-électriques observés.

III. LA SÉNESCENCE DES RACINES

1. INTRODUCTION

Comme nous l'avons déjà mentionné (v. p. 18), la pointe de la racine (de 0 à 3 mm) est constituée par des tissus hétérogènes. Pour mieux connaître la répartition de certains composés biochimiques (auxines, fonctions thiols et composés azotés), l'activité de quelques enzymes (auxines-oxydases et peroxydases) et les échanges respiratoires (absorption d'oxygène), PILET et ses collaborateurs ont séparé cette zone en deux fragments : le premier de 0,0 à 0,5 mm, le deuxième de 0,5 à 3,0 mm.

2. LE PROBLÈME

Dès 1955, PILET et GALSTON considèrent que ces deux fragments sont un matériel de choix pour étudier certains aspects biochimiques de la sénescence cellulaire. En effet, le fragment 1 est formé de cellules vieilles (tissus âgés) et le fragment 2, de cellules jeunes (tissus jeunes).

Or, l'examen cytologique de l'extrême pointe de la racine (*fig. 5*) montre qu'elle est constituée non seulement par des cellules de la coiffe (de 0,00 à 0,25 mm) mais aussi par des cellules isodiamétriques (de 0,25 à 0,50 mm) correspondant à la définition qu'on donne généralement du méristème. La pointe de la racine ayant la forme d'un cône (PILET, 1959 b), il est évident que le volume occupé par les cellules méristématiques est bien supérieur à celui des cellules de la coiffe. Le fragment 2 est constitué par une couronne de cellules isodiamétriques (de 0,50 à 1,20 mm environ), par des cellules en voie de division (de 0,50 à 2,30 mm) et par des cellules en voie d'élongation (de 2,30 à 3,00 mm). Les limites topographiques

de ces divers tissus sont variables d'une racine à l'autre et il est difficile d'établir une règle générale de répartition (de plus la technique de coupe est délicate et présente des variations non négligeables).

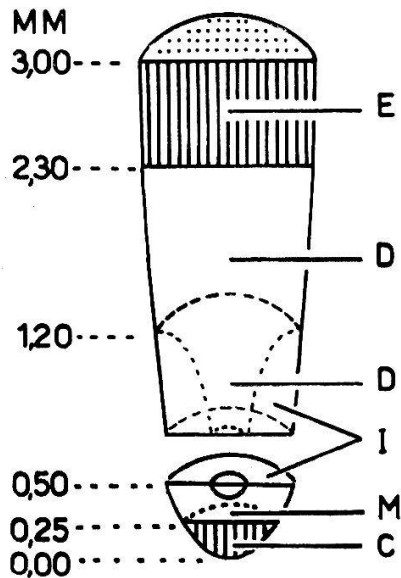


FIG. 5. — Différents tissus de la pointe de racine du « Lens » (de 0,00 à 3,00 mm)

Schéma établi d'après les données de MARGOT (1956) et de SIEGENTHALER et KOBR (non publ.)
E: zone d'élongation ; D: zone de division constituée par des cellules non isodiamétriques ; I: cellules isodiamétriques ; M: méristème ; C: coiffe.

Dans ce chapitre, nous nous proposons d'étudier tout d'abord, en relation avec le vieillissement, la teneur en composés azotés 1) de racines intactes d'inégales longueurs ayant des âges chronologiques et physiologiques différents, 2) de racines intactes d'inégales longueurs ayant un âge chronologique identique mais des âges physiologiques différents. Puis, sur la base de ces premiers résultats et des gradients radiculaires établis précédemment (v. p. 14), nous chercherons à confirmer, du point de vue biochimique, nos observations cytologiques relatives à la répartition des tissus jeunes et vieux dans la pointe de la racine.

3. QUELQUES TRAVAUX

Le vieillissement des végétaux est la conséquence d'un certain nombre de processus où les auxines (et par conséquent l'activité auxines-oxydasique), le métabolisme azoté et glucidique et les échanges respiratoires jouent un rôle déterminant. Nous examinerons séparément quelques-uns des facteurs du vieillissement (v. VARNER, 1961).

Sénescence et auxines

En 1935 déjà, WENT pressent que les auxines jouent un rôle dans les phénomènes du vieillissement des tissus. Puis SACHER (1957) précise que les changements accompagnant la sénescence des fruits et des feuilles sont provoqués par une modification de la structure des membranes résultant d'une hypoauxinie. La diminution de la perméabilité des membranes est un des premiers effets observés chez les cellules âgées et un traitement à l'ABIA peut prévenir le vieillissement pendant un certain temps. OSBORNE (1959) montre également que les symptômes de la

sénescence de feuilles attachées ou détachées peuvent être retardés par une application de substances de croissance (2,4-D ou 2,4-T). De même, dans les racines du *Lens*, les tissus en voie de différenciation, que l'on peut considérer comme des tissus âgés, sont relativement pauvres en auxines (v. fig. 4 E).

D'une façon générale, les tissus âgés contiennent peu d'auxines.

Sénescence et activité enzymatique

L'activité des *auxines-oxydases* joue un rôle dans la sénescence en réglant la teneur en hormones endogènes des tissus. Pour la première fois, GALSTON et DALBERG (1954) montrent que la destruction de l'ABIA (*in vitro*) est plus grande lorsqu'il s'agit d'extraits enzymatiques obtenus à partir de tissus âgés (épicotyles de *Pisum*). PILET et GALSTON (1955) puis PILET (1957 b, f, g) confirment ces résultats sur des racines du *Lens* (v. discussion p. 53).

PILET et GALSTON (1955), sur des racines du *Lens*, montrent que l'activité des *peroxydases* (basée sur la formation de purpurogalline à partir de pyrogallol en présence de H₂O₂) est élevée dans les tissus jeunes (0,5 à 3,0 mm) mais beaucoup plus faible dans les tissus âgés (0,0 à 0,5 mm). La *genèse in vivo des peroxydases* est faible dans le méristème mais élevée dans l'extrême pointe (0,0 à 0,5 mm) de la racine.

Dans une certaine mesure, le vieillissement des tissus peut être réversible, et l'un des facteurs responsables de cet équilibre biologique (les systèmes oxydasiques) peut être modifié *in vitro* et vraisemblablement *in vivo*. En effet, l'activité des auxines-oxydases peut être stimulée par du 2,4-dinitrophénol, du 2,4-dichlorophénol (DCP), du 2,4-dinitro-o-crésol, du Mn⁺⁺ ajouté à de fortes doses de DCP, ou, inhibée par du Mn⁺⁺ seul (PILET 1958 a). De plus, l'action de l'indole (PILET 1958 a) sur la destruction *in vitro* de l'ABIA dépend de la sénescence des tissus étudiés. L'indole freine la destruction des auxines lorsque les tissus sont âgés, son application demeure sans effet sur les tissus jeunes.

L'activité des *pectines-méthyl-estérases* (PME) joue également un rôle dans le métabolisme des plantes en voie de sénescence. OSBORNE (1958) montre ainsi que l'activité des PME, relativement élevée dans les pétioles et les très jeunes feuilles du *Phaseolus vulgaris*, diminue progressivement avec l'âge.

Lorsque les tissus de racines de fève vieillissent, l'activité des *enzymes protéolytiques* des cellules augmente (ROBINSON, 1956) de même que l'activité des dipeptidases dans l'élodée (PALMCRANTZ, 1958). Mais la destruction accrue des protéines est accompagnée d'une protéosynthèse *de novo* et on ne constate pas toujours une nette variation de la teneur en protéines.

Sénescence et métabolisme azoté

On admet généralement que le vieillissement des tissus est accompagné d'une dégradation des protéines. Dans des feuilles détachées d'orge, la protéolyse ne diminue pas en présence de sels minéraux, de glucides ou de composés azotés mais est ralentie par un traitement au 2,4-D. YEMM (1949) observe que la quantité d'amides (glutamine essentiellement) qui s'accumule dans les feuilles d'orge que l'on vient de détacher, excède la quantité qui pourrait provenir directement de la protéolyse, ce qui prouve que les amino-acides sont entraînés rapidement dans des transformations secondaires. L'accumulation rapide des amides dans les tissus en voie de sénescence indique que la balance entre les processus de synthèse et de dégradation des protéines est modifiée. Toutefois, les protéines se maintiennent dans un équilibre dynamique continu. De nombreuses observations en effet (BONNER, 1958 ; FOLKES et YEMM, 1958 ; v. PIRIE, 1959 ; MOTHES, 1960) permettent d'admettre que dans les tissus âgés, le métabolisme des protéines reste très actif. CHIBNALL et WILTSHIRE (1954) et YEMM (1956) montrent également que les feuilles détachées (ou en voie de sénescence), où le taux en protéines est réduit (20 %), présentent une activité synthétique appréciable. (Les protéines

incorporent de l'azote marqué $^{15}\text{NH}_3$). Mais VICKERY (1956) montre qu'à partir d'une certaine concentration en protéines, les processus de protéolyse sont irréversibles, peut-être à la suite d'une perte irrémédiable d'enzymes indispensables.

AVERY et ENGEL (1954) montrent que l'azote total des coléoptiles d'avoine (rapporté au nombre de cellules) augmente avec l'âge. Par rapport au volume cellulaire, au contraire, l'azote total diminue avec l'âge.

Si, d'une façon générale, les tissus en voie de sénescence sont caractérisés par des phénomènes de protéolyse, la biosynthèse des protéines, quoique réduite, persiste.

Sénescence et fonctions thiols

Comme nous l'avons vu précédemment (v. p. 38), les fonctions thiols sont liées aux phénomènes de la mérisis et à la biogenèse des protéines. Les tissus âgés seront donc caractérisés par une faible teneur en groupes sulfhydryles (GOAS, 1955 et 1956 ; PILET, 1957 e, dont le matériel est le même que le nôtre).

Sénescence, respiration et métabolisme azoté

D'une façon générale, les processus cataboliques dans les plantes en voie de sénescence, sont communément associés à une respiration cellulaire intense. La respiration (mesurée par l'absorption de l' O_2) est un reflet du travail fourni par les cellules où l'ATP joue un rôle essentiel. EBERHARDT (1955) établit que les mitochondries des cellules sénescents sont encore capables de phosphorylation oxydative et possèdent encore des fonctions anaboliques comme la synthèse des protéines et des pigments. Il est possible d'admettre qu'une partie au moins de l'augmentation de la respiration des tissus en voie de vieillissement est due à une diminution du rapport ATP/ADP résultant de synthèses accrues utilisant l'ATP. HULME (1958) montre alors qu'une augmentation de la vitesse du cycle protéinique est la source d'une demande d'énergie et par conséquent favorise l'absorption d'oxygène, souvent sans augmentation notable des protéines totales.

Dans des feuilles détachées d'orge (YEMM, 1956), des analyses chimiques indiquent que, pendant leur jaunissement, une partie importante du CO_2 dégagé à l'obscurité provient de l'oxydation des squelettes carbonés des amino-acides. Dans des feuilles en voie de sénescence, le taux élevé de la respiration est dû pour une part à la dégradation des protéines en métabolites solubles qui deviennent un des substrats respiratoires.

Un autre aspect de la sénescence est donné par l'action du 2,4-dinitrophénol (DNP) qui provoque des changements métaboliques voisins de ceux que l'on peut observer lors du vieillissement. En effet, les phénomènes de phosphorylation régulent l'IR et dépendent, dans une certaine mesure, de la présence d'agents de découplage, comme le DNP. En présence de DNP, on assiste à un découplage de la phosphorylation oxydative où les oxydations du cycle tricarboxylique suivent leur cours, tandis que la phosphorylation est ralentie, voire même arrêtée. Les activités synthétiques, particulièrement la protéogenèse, sont inhibées alors que la respiration cellulaire se maintient ou augmente. Ces observations ont permis de considérer le vieillissement des tissus comme l'effet d'un manque de couplage entre les oxydations et la phosphorylation oxydative. L'action régulatrice de la respiration est réduite et provoque une diminution des activités de synthèse.

4. TECHNIQUES

Nos essais ont porté sur des racines du *Lens*. Les trois méthodes de préparation du matériel diffèrent suivant les essais.

Méthode I

Après 4 h. d'imbibition, les semences sont mises à germer sur papier filtre dans de grandes boîtes de Petri (à l'obscurité et à 25°C). Au bout de 36 h. environ, on sélectionne les graines dont les racines mesurent $11\text{ mm} \pm 0,5$. Après repiquage dans des petites boîtes de Petri, sur un papier filtre imbibé de 5 ml d'eau distillée (à l'obscurité et à 25°C), on procède, après 24 et 48 h., aux mesures de longueur des racines, de poids frais et sec (et de teneur en eau), à

l'analyse des composés azotés (NP et NS, v. p. 4) et de l'activité auxines-oxydasique (v. p. 7). Nous reprendrons cette méthode à propos de l'étude détaillée de la croissance (v. p. 76). Nous avons procédé à 7 essais de 30 racines par lot.

Méthode II

Après l'imbibition et la première germination, nous sélectionnons les plantules dont les racines mesurent $2,5 \pm 0,5$ mm de longueur. Elles sont placées ensuite dans des petites boîtes de Petri (10 par boîte) sur un papier filtre imbibé de 5 ml d'eau (à l'obscurité et à 25° C). Chacun de nos 7 essais utilise 10 boîtes, soit 100 plantules. Au bout de 48 h. nous récoltons et groupons les racines par classes, suivant leur longueur. Nous avons pu former six classes, s'étendant de 0 à 36 mm. Les racines sont alors séparées de leur graine et soumises aux mêmes analyses que précédemment (v. Méthode I).

Méthode III

Après l'imbibition et la première germination, nous sélectionnons des racines de $18 \text{ mm} \pm 1$ et nous conservons les sections de 0,0 à 3,0 mm que nous coupons, à l'aide d'une lame de rasoir, en deux fragments : le premier mesurant $0,5 \text{ mm} \pm 0,15$ à partir du sommet et le second $2,5 \text{ mm} \pm 0,2$. Ces segments sont soumis aux mêmes analyses que nous avons décrites antérieurement (v. Chap. I et II). Les expériences ont été répétées 5 à 7 fois et ont porté sur des lots de 100 fragments.

5. SÉNESCENCE ET CROISSANCE

5.1. Les résultats : v. figures 8 et 9 (v. Méthode I).

Les données relatives aux variations de la croissance et des composés azotés feront l'objet d'une analyse plus détaillée ailleurs (v. p. 79). Nous en relèverons ici quelques points particuliers seulement :

- 1) Au cours de la croissance des racines, l'augmentation du poids frais et de la longueur est plus rapide que celle du poids sec ; la teneur en eau s'accroît sensiblement pendant les 24 premières heures puis se stabilise ;
- 2) Par rapport au poids frais, NP et NS diminuent au cours de la croissance. Par rapport au poids sec, NP décroît tandis que NS augmente surtout pendant les 24 premières heures. Le rapport NP/NS diminue au cours de la croissance.

A la suite des travaux de PILET (1951 a, 1961 h), nous connaissons la teneur en auxines de racines d'âges différents : la concentration des auxines endogènes (équivalentes à l'ABIA) augmente avec la longueur des racines quel que soit le solvant d'extraction utilisé.

5.2. Discussion

Comme nous l'avons montré ailleurs (PILET et SIEGENTHALER, 1962), l'analyse des gradients radiculaires peut se comparer à celle des différentes phases de la croissance des racines intactes. La succession topographique des principales zones le long d'un axe radiculaire (zones de division, d'élongation et de différenciation) est la « récapitulation » des trois premiers stades de la croissance des racines (v. p. 59) : *phase 1*, croissance faible ; *phase 2*, accélération de croissance jusqu'à un optimum ; *phase 3*, réduction de croissance

(par exemple, la courbe de teneur en protéines de racines entières de plus en plus âgées est semblable à celle des gradients radiculaires). Ainsi les tissus différenciés d'un axe radiculaire (dont les cellules ont cessé de croître : cellules adultes) et les racines entières dont la vitesse de croissance diminue sont caractérisés par des données biochimiques semblables à celles de tissus âgés :

1) La protéosynthèse est moins intense que dans les tissus jeunes; les phénomènes de protéolyse l'emportent sur ceux de protéogenèse. Nous pouvons donc admettre, comme la plupart des auteurs cités plus haut (v. p. 47) que la sénescence se caractérise, entre autres, par l'intensification du catabolisme des protéines ;

2) Les tissus différenciés d'un axe radiculaire sont relativement pauvres en auxines. Ces résultats sont en accord avec ce qu'ont trouvé généralement les auteurs (v. p. 46). Cependant, on pourrait se demander pourquoi les racines entières (dont la longueur est voisine de celle que nous utilisons : 36 mm) contiennent encore beaucoup d'auxines. La vitesse de croissance de ces racines, proche de l'optimum, prouve qu'elles sont constituées par des tissus en pleine élancement qui ne sauraient être comparés aux tissus plus âgés de la zone de différenciation.

Il est donc difficile de caractériser définitivement un tissu âgé puisqu'il existe de nombreux stades intermédiaires entre les cellules qui viennent de se diviser et celles qui ne croissent plus. Il faudrait définir, nous semble-t-il, les limites de la sénescence en admettant par exemple, qu'un tissu dont les cellules ont perdu la capacité de se diviser commence à vieillir.

On pourrait ainsi caractériser la sénescence par un certain nombre de phases qui rappelleraient, du moins dans les premiers stades, celles que nous avons définies pour la croissance.

6. SÉNESCENCE, AGES CHRONOLOGIQUE ET PHYSIOLOGIQUE

6.1. *Les résultats : tableau VII* (v. Méthode II).

1) Quelles que soient leurs longueurs, toutes les racines ont le même âge chronologique (temps de croissance identique). Au bout de 48 heures, nous avons groupé les racines par classes, suivant leur longueur. Chacune des classes (I à VI) correspond à un âge physiologique différent qui est d'autant plus grand que le numéro de la classe est plus élevé.

2) Le poids frais, le poids sec et la teneur relative en eau augmentent avec l'âge physiologique, particulièrement entre les classes I et II.

3) L'azote protéinique et l'azote soluble diminuent avec l'âge, surtout dans les deux premières classes. Seuls les composés azotés

solubles, dont la teneur est exprimée par rapport au poids sec, enregistrent une augmentation entre les classes I et II.

4) Le rapport NP/NS diminue fortement au début, puis se stabilise au niveau de la classe V.

TABLEAU VII

Quelques données macrophysiologiques et teneur en composés azotés de classes de racines (R)

Valeurs rapportées en fonction de divers critères de référence et pour 6 classes de racines (de 1 à 36 mm).

Données	Critères de référence	Classes de racines (en mm)					
		1 - 6 I	7 - 12 II	13 - 18 III	19 - 24 IV	25 - 30 V	31 - 36 VI
Poids frais (mg)	/ 10 R	44,1	117,7	179,1	252,7	327,6	370,6
Poids sec (mg)	/ 10 R	5,7	10,9	15,8	21,9	27,5	32,0
Teneur en eau (mg)	/ 10 R	38,4	106,8	163,3	230,8	300,1	338,6
% T. eau	/ PF	87,1	90,7	91,2	91,3	91,6	91,4
Azote protéinique (γ)	/ PF	64,2	31,7	24,6	21,0	19,0	19,2
	/ PS	446	316	269	239	221	222
Azote soluble (γ)	/ PF	73,2	53,2	44,2	40,7	38,9	39,5
	/ PS	510	533	483	464	452	454
NP %	NS	87,7	59,6	55,6	51,6	48,8	48,6

6. 2. Discussion

Les courbes traduisant la teneur en protéines et en composés azotés solubles sont pratiquement les mêmes que celles que nous avons décrites précédemment (gradients, v. *fig. 2*; croissance, v. *fig. 9*. Nous ne reviendrons pas sur la signification détaillée que l'on en peut donner. Remarquons toutefois, que les racines de la classe I, dont la teneur en composés azotés est la plus élevée, sont comparables à la zone de division de l'axe racinaire. Il nous paraît justifié, une fois de plus, d'établir certaines relations biochimiques entre les tissus d'un axe racinaire et les organes dont la fonction essentielle est la même. La classe II, comparable au fragment 2 (de 0,50 à 3,00 mm) d'une racine de 18 mm, est cal-

ractérisée par la teneur la plus forte en composés azotés solubles, ce qui indique clairement une protéolyse dominante au niveau des tissus dont la fonction méristématique diminue d'importance au profit d'une fonction d'élongation. Ces variations correspondent à la plus forte diminution du rapport NP/NS. L'identité de ces variations avec celles que nous avons signalées à propos des gradients (v. *tabl. V*) nous permet d'admettre que la baisse de la concentration des composés azotés solubles entre les classes III et VI et la diminution du rapport NP/NS indiquent que, dans un organe en voie de sénescence (dont l'âge physiologique s'accroît), une partie des amino-acides, résultant de la dégradation des protéines, est utilisée comme substrat respiratoire. Les classes IV à VI enfin, comparables à la zone de 12,0 à 18,0 mm (v. p. 25), présentent tous les caractères d'une zone de différenciation, dont nous avons déjà noté les propriétés de sénescence (v. p. 47).

Ainsi, le temps pendant lequel croissent des organes ne peut déterminer à lui seul la marche du développement. D'autres facteurs interviennent où l'individualité physiologique et génétique de chaque organe ou de chaque plantule joue un rôle prépondérant. Notons que cette expérience eût été irréalisable si nous avions eu au départ des graines faisant partie d'un même clône (v. p. 2). Nous sommes en présence d'un phénomène tout à fait général où les racines se développent selon un modèle fixe (plan établi), indépendamment de leur âge chronologique.

7. ANALYSE DE LA POINTE DE LA RACINE

7.1. *Les résultats : tableau VIII* (v. Méthode III).

- 1) Les données rapportées à 100 fragments ne présentent pas d'intérêt puisque les deux fragments étudiés n'ont pas la même longueur.
- 2) Te (en %), plus faible dans le fragment 1, s'accroît à mesure qu'on s'approche de la zone d'élongation.
- 3) Quel que soit le critère de référence adopté, NT et NP sont plus élevés dans l'extrême pointe de la racine.
- 4) NS varie suivant le critère de référence; par rapport au poids sec, NS augmente en direction de la zone d'élongation.
- 5) Les rapports NP/NT et NP/NS sont maxima dans l'extrême pointe de la racine.

Les autres données biochimiques déterminées sur le même matériel sont groupées dans le *tableau IX*.

7.2. Discussion

La séparation de la pointe de la racine en deux fragments et l'analyse de leur teneur en composés azotés permet de préciser la nature biochimique et le métabolisme de ces tissus.

TABLEAU VIII

*Quelques caractéristiques de la pointe de racine du « Lens »
(de 0 à 6 mm)*

Valeurs rapportées en fonction de divers critères de référence.

Caractéristiques	Critères de référence	Zones en mm		
		0,0 - 0,5	0,5 - 3,0	3,0 - 6,0
Poids frais (mg)	100 F	25,2	123,4	194,2
Poids sec (mg)	100 F	4,8	14,4	16,0
Teneur en eau (mg)	100 F	20,4	109,0	178,2
% teneur en eau	PF	81,7	88,3	91,8
Azote total en γ	100 F	262	1075	762
	10mg PF	185,3	97,9	44,6
	10mg PS	754	744	571
	10mg Te	246,0	112,8	49,6
en mg	10 ⁸ cellules	10,08	3,58	13,61
Azote protéinique en γ	100 F	225	582	356
	10mg PF	89,7	47,4	16,7
	10mg PS	514	411	198
	10mg Te	112,7	53,9	18,2
en mg	10 ⁸ cellules	8,12	1,22	6,36
Azote soluble * en γ	100 F	37	493	406
	10mg PF	95,6	50,5	27,9
	10mg PS	240	333	373
	10mg Te	133,3	58,9	31,4
en mg	10 ⁸ cellules	1,96	2,36	7,25
% NP	NT	85,8	54,1	46,7
	NS	605	118	88

* NS = NT — NP

Nous distinguerons quatre genres de problèmes que nous examinerons séparément pour chacun de ces fragments :

- 1) Le métabolisme azoté ;
- 2) Les régulateurs de croissance ;

- 3) L'examen plus détaillé de la pointe de la racine confirme-t-il les conclusions relatives aux gradients radiculaires (v. p. 43) ?
- 4) Du point de vue biochimique peut-on considérer la comparaison des fragments 1 et 2 comme une étude de la sénescence cellulaire ?

Le fragment 1 (de 0,0 à 0,5 mm) constitué essentiellement par des cellules méristématiques est, semble-t-il, le siège de la protéosynthèse :

- 1) Le taux en azote protéinique y est très élevé (cette région est la plus riche en protéines de tout l'axe radiculaire) ;
- 2) Les composés azotés solubles (amino-acides et peptides) sont en faible quantité et se comportent comme les précurseurs immédiats des protéines. Le rapport NP/NS, nettement supérieur à celui des autres régions de la racine, traduit une prédominance des phénomènes de la protéogenèse sur ceux de la protéolyse (ce que confirme d'autre part la faible pénétration d'eau) ;
- 3) Par rapport aux composés ternaires, les substances azotées sont les plus abondantes le long de l'axe radiculaire (cf. les variations du rapport NT/PS) ;
- 4) L'intense activité respiratoire (par rapport au poids frais) fournit (par l'intermédiaire de la phosphorylation oxydative qui régénère l'ADP en ATP au niveau du cycle tricarboxylique) l'énergie nécessaire à la formation des peptides. La synthèse endergonique des liaisons peptidiques est couplée aux réactions exergoniques du catabolisme des glucides.

Les données complémentaires telles que la teneur en glucides, le QR et la sensibilité de l'IR au saccharose exogène, qui seraient indispensables pour étayer ces résultats, n'ont pas été déterminées séparément pour ces deux fragments. Nos connaissances actuelles sont donc insuffisantes pour affirmer que la protéogenèse a lieu dans le fragment 1 et par conséquent dans le méristème. En outre, sans en comprendre les causes, bornons-nous à relever que l'extrême pointe de la racine est pauvre en groupes SH ce qui est en désaccord avec les conclusions relatives aux fonctions de ces composés dans la biogenèse des protéines (v. p. 40).

Les variations biochimiques qui accompagnent la transition du fragment 1 au fragment 2 sont proches de celles qu'on a observées dans les gradients radiculaires (de la zone 1 à la zone 2; v. p. 24). La teneur en protéines diminue au profit des composés azotés mais ceux-ci s'accumulent dans les tissus sans être dégradés (ce qui n'était pas le cas lors du passage de la zone de division à la zone d'élongation). En effet, l'azote total par rapport au poids sec demeure constant et la diminution du taux en protéines correspond approximativement à l'augmentation de l'azote soluble résultant de la protéolyse. L'analyse plus détaillée de la pointe de la racine permet de préciser que : le méristème est vraisemblablement le siège de la protéosynthèse; — la zone de transition, comprise entre le méristème

et les tissus en voie d'élongation, est caractérisée par une protéolyse (ce que confirment encore l'augmentation de la teneur en eau et la baisse rapide du rapport NP/NS); les composés azotés solubles sont accumulés sans être dégradés; — dans les tissus en voie d'élongation, les produits de dégradation des protéines sont en partie oxydés (substrat respiratoire).

Notons enfin que dans le fragment 2, la construction des protéines est réalisée surtout par l'adjonction directe des amino-acides sur des polypeptides et des protéines déjà constitués, ce qui entraîne une réduction de la demande en énergie. L'IR (par rapport au poids frais) diminue en effet et ces phénomènes s'accroissent à mesure que les tissus deviennent plus âgés. Le rôle énergétique des glucides diminue au profit des amino-acides (v. p. 30). Ces résultats confirment et précisent les conclusions relatives aux gradients azotés (v. p. 26).

TABLEAU IX

*Quelques caractéristiques de la pointe de racine du « Lens »
(de 0 à 3 mm)*

Valeurs rapportées en fonction de divers critères de référence.

Caractéristiques	Critères de référence	Zones en mm		Références
		0,0 - 0,5	0,5 - 3,0	
Nombre de cellules		26 000	300 000	PILET et MEYLAN (1953)
Teneur en auxines γ équiv. d'ABIA	100 F	0,03	25,91	PILET (1958 d) PILET et SIEGENTHALER (1959, 1961)
	10mg PF	0,013	2,10	
	10mg PS *	0,06	17,99	
	1mg NP	0,15	44,30	
	10^8 cellules	1,26	86,38	
Activité auxines- oxydasique en γ d'ABIA détruits /60 mn	100 F	19,0	26,0	PILET (1957 a, b) PILET et SIEGENTHALER (1959, 1961)
	10mg PF	7,5	2,1	
	10mg PS *	39,6	18,05	
	1mg NL	84,0	44,5	
	10^8 cellules	73,3	8,6	
Teneur en fonc- tions thiols (VM)	10 g PS	3,7	27,6	PILET (1957)
Q_{O_2} en γO_2 absorbé / 60 mn	10 F	0,1	1,7	PILET et KOBR (1959)
	10mg PF	13,4	10,0	
	10mg PS *	2,08	11,80	
	10 γ NP	1,5	2,1	

* Les données sont calculées à partir du poids sec obtenu dans nos essais.

La répartition des auxines et des auxines-oxydases dans la pointe de la racine (*tableau IX*) est en accord également avec nos conclusions précédentes (v. p. 35) et nous pouvons préciser notre hypothèse de la façon suivante :

La biogenèse des hormones de croissance aurait lieu dans le méristème (fragment 1) et serait liée à la protéogenèse. Les auxines natives provoqueraient tout d'abord, par des phénomènes d'adaptation enzymatique, une augmentation de l'activité auxines-oxydasique, puis se fixeraient sur un substrat protéinique. Le complexe inactif ABIA-protéines (sur lequel les auxines-oxydases n'ont pas d'action) serait dissocié par des protéases en auxines libres et en protéines dans les tissus où les phénomènes de protéolyse l'emportent sur ceux de protéogenèse (fragment 2). Ces auxines, libérées de leur substrat, pourraient dès lors induire la croissance (zone d'élongation).

Toutefois, il est encore difficile de fixer le « lieu » de la biosynthèse auxinique, d'autant plus qu'il faudrait tenir compte des échanges qui s'établissent entre les différentes zones de la racine et entre la racine et les autres organes de la plantule. Il est d'autant plus délicat de résoudre ce problème que les tissus qui élaborent les auxines ne sont pas forcément ceux qui en contiennent le plus. L'état auxinique d'un tissu (v. p. 59) est la conséquence de nombreuses variations (biosynthèse, transport, activité enzymatique, etc.). D'autre part, l'âge de la plante semble jouer un rôle non négligeable dans la formation des auxines (v. p. 46 et PILET, 1961 a, p. 425). Pour l'instant, nous retiendrons que la teneur en auxines est faible dans le méristème proprement dit et que l'activité des auxines-oxydases y est forte. Dans les tissus en voie de division, la concentration en hormones endogènes augmente fortement et semble passer par un maximum au niveau des cellules qui commencent à s'allonger tandis que l'activité auxines-oxydasique atteint sa valeur minimale. Dans la zone d'élongation, la concentration auxinique diminue à mesure qu'augmente l'activité des enzymes.

Un autre mécanisme difficile à élucider est l'enchaînement des processus métaboliques dont nous ne connaissons souvent que les résultantes. Les auxines agissent sur le métabolisme azoté (v. p. 61) et inversement les variations des composés azotés influencent celui des auxines (AVERY et COLL., 1937 ; BOSEMARK, 1954). Il est donc difficile de déterminer quels sont les phénomènes primaires et secondaires de ces variations. Il est probable que les deux métabolismes agissent constamment et progressivement l'un sur l'autre sans qu'il soit possible, sauf dans les cas extrêmes (traitements à concentrations élevées de substances de croissance ou de composés azotés ou privation de source azotée, etc.), d'en définir avec précision les causes et les effets. Notons pour l'instant que la forte teneur d'un tissu en hormones de croissance semble liée à la protéolyse et à l'accumulation des composés azotés solubles (v. p. 36). Le problème est complexe et si on a pu mettre en évidence certains chaînons de cause à effet, on est loin d'avoir compris, dans leur ensemble, les mécanismes biochimiques de la croissance et de la sénescence.

8. CONCLUSIONS

Primitivement, nous nous proposons de mettre en évidence quelques caractéristiques biochimiques des tissus âgés. L'étude de la pointe de la racine a permis surtout de confirmer et préciser les résultats antérieurs relatifs aux gradients radiculaires. Nous avons montré qu'il existait une zone de transition où les cellules se divisent plus qu'elles ne s'allongent et présentent des valeurs biochimiques inter-

médiaires entre celles qui caractérisent le méristème et la zone d'élongation proprement dite. D'autre part, du point de vue biochimique et cytologique, les caractéristiques de l'extrême pointe de la racine (fragment 1 : de 0,0 à 0,5 mm) s'identifient davantage à celles des tissus méristématiques qu'à celles de la coiffe. L'étude de la sénescence cellulaire dans la pointe de la racine nécessiterait des techniques plus précises pour séparer la coiffe (0,00 à 0,25 mm) des tissus méristématiques.

En définitive, seules les expériences relatives à la croissance et aux classes de racines ont permis d'aborder les problèmes du vieillissement. Comme la plupart des auteurs (v. p. 47), nous avons montré que les tissus âgés sont caractérisés par des phénomènes de protéolyse qui l'emportent sur ceux de protéogenèse.

TROISIÈME PARTIE : ACTION DE L'ABIA SUR LA CROISSANCE ET LE MÉTABOLISME DE L'AZOTE

INTRODUCTION

Dans cette partie, nous analyserons essentiellement les répercussions d'un traitement auxinique (concentrations variables d'ABIA) sur la croissance, la concentration de divers composés azotés endogènes et l'activité auxines-oxydasique de racines appartenant à des plantules complètes. Ces questions ont déjà tenté quelques chercheurs parmi lesquels nous mentionnerons CHRISTIANSEN et THIMANN (1950), BURSTRÖM (1951), THIMANN et LOOS (1957), etc.

LE PROBLÈME GÉNÉRAL

Il est généralement admis que les auxines agissent sur les processus d'allongement cellulaire. Mais il est difficile, le plus souvent, de savoir dans quel ordre les diverses phases d'action des phénomènes observés se succèdent et d'établir leur importance relative. Chaque chercheur, en effet, étudie un seul type de phénomène pour un tissu donné et il est souvent délicat d'établir une théorie générale. Toutefois, nous connaissons quelques-uns des chaînons d'action des auxines (v. PILET, 1961 f); nous en relèverons ici les principaux, nous réservant d'en parler plus en détail dans la discussion de nos résultats et dans l'analyse bibliographique.

Un traitement auxinique se traduit par une perturbation des «facteurs endogènes propres à chaque type de cellule comme le cytoplasme que l'on peut considérer comme un substrat spécifiquement réceptif» (v. PILET, 1961 f). De nombreux auteurs ont montré que

la croissance des racines était modifiée par des traitements auxiniques. Leur réponse physiologique (croissance) dépend dans une large mesure de la concentration des substances de croissance et de l'état auxinique endogène.

Les auxines peuvent aussi modifier le fonctionnement des enzymes responsables de la synthèse des composés chimiques constituant le cytoplasme (protéines, glucides, etc.) ou les parois cellulaires (pectines, hémicelluloses, celluloses). Elles agissent sur les pectines-méthyl-estérases et le catabolisme auxinique (activité des auxines-oxydases). Suivant leur concentration, elles stimulent ou inhibent les échanges respiratoires.

Les auxines modifient également la constitution chimique des parois et perturbent les propriétés d'extensibilité des membranes. Elles jouent enfin un rôle dans les phénomènes d'absorption d'eau.

Sur la base des connaissances acquises dans ce domaine, nous nous proposons, dans la troisième partie de ce travail, d'établir quelques-unes des relations qui existent entre la croissance et certains facteurs endogènes (composés azotés, auxines-oxydases réglant le catabolisme auxinique) à la suite de *traitements inhibiteurs à l'ABIA*. Il est intéressant de noter que la plupart des auteurs, qui ont abordé les problèmes auxiniques en relation avec le métabolisme azoté, ont effectué des traitements à l'ABIA ou d'autres substances qui activent la croissance.

Il pouvait être intéressant, en outre, d'étudier le rôle d'autres facteurs d'inhibition de la croissance. Aussi consacrons-nous quelques expériences à l'analyse de l'action de la lumière sur la croissance des racines afin d'en comparer les résultats avec ceux obtenus pour des traitements à l'ABIA. Nous insisterons surtout sur *l'action inhibitrice* de ces traitements et leurs répercussions sur la croissance, le métabolisme azoté et le catabolisme auxinique.

I. ETUDE PRÉLIMINAIRE

A. ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE¹

1. ACTION DES AUXINES SUR LA CROISSANCE

L'étude de l'allongement des racines sous l'action des auxines a fait l'objet de très nombreux travaux et de mises au point parmi lesquels nous citerons ceux de BURSTRÖM (1951 b, 1953 a, 1957), de TORREY (1956), d'ABERG (1957) et de PILET (1953 a, 1961 a). Nous en dégagerons ici l'essentiel.

¹ Pour éviter de surcharger cette analyse, nous ne donnerons que les références des travaux de portée générale. Les autres publications sont citées dans les articles de PILET (1961 a et f), de CLELAND (1961) et de WORT (1961).

BURSTRÖM suggère que la croissance des racines passe par deux phases distinctes : la première, durant laquelle les parois cellulaires subissent surtout des modifications plastiques, est caractérisée par une teneur en auxines qui stimule l'élongation; la seconde phase correspond tout d'abord à une croissance des parois cellulaires mobilisant du calcium, puis à une réduction de l'allongement que peut expliquer soit une diminution de la concentration des auxines endogènes, soit l'apparition d'un facteur limitant, encore peu connu.

PILET envisage pour sa part quatre phases, caractérisées par une dose d'auxines de plus en plus élevée : croissance faible (peu d'auxines; dose sous-optimale); — accélération de croissance jusqu'à un optimum (dose optimale des hormones); — réduction de croissance (dose sus-optimale d'auxines); — apparition de radicules qu'on ne peut considérer comme une phase de la croissance proprement dite (dose sus-optimale).

Suivant la concentration auxinique du traitement et l'état auxinique endogène, la croissance des racines est activée ou inhibée.

Or nous savons que les racines présentent à l'égard des auxines une sensibilité plus grande que celle des tiges. En effet, un traitement par des substances de croissance provoque généralement une inhibition de leur allongement. Plusieurs auteurs ont tenté, sans succès définitif d'ailleurs, d'expliquer le mécanisme de cette inhibition :

- 1) La théorie de WENT-CHOLODNY (expériences sur des coléoptiles) suggère que l'inhibition est due à un excès de molécules d'auxines inactivant les « sites » d'action auxinique et empêchant une réponse maximale de la croissance (théorie des deux points d'attache) ;
- 2) La formation d'inhibiteurs, dont l'action dépend du stade de la croissance et de la concentration des substances de croissance, pourrait être l'une des causes de l'inhibition des racines (v. p. 32).
- 3) Les auxines agissent aussi sur le métabolisme auxinique lui-même (v. *fig. 16*) ;
- 4) Une application de substances de croissance peut enfin provoquer des perturbations dans les réactions métaboliques (v. CLELAND et BURSTRÖM, 1961, p. 807) : *a*) les échanges respiratoires, *b*) le taux en glucides, *c*) le taux en composés azotés, *d*) les activités enzymatiques, *e*) la vitesse de dépôt des composés constituant les membranes cellulaires (d'où modification des propriétés de perméabilité, etc.).

2. ACTION DES AUXINES SUR LES ÉCHANGES RESPIRATOIRES

Les premières recherches ont été réalisées sur des coléoptiles d'avoine (BONNER, 1933 ; KÖGL et coll., 1936 ; v. CLELAND, 1961, p. 757). Les résultats sont d'abord assez contradictoires. COMMONER et THIMANN (1941) constatent qu'un traitement

auxinique a pour effet d'accroître la respiration exogène, alors que la respiration endogène n'est pas modifiée (v. PILET, 1961 a, p. 505). THIMANN suggère alors que les auxines agissent sur la croissance en réglant l'utilisation des acides organiques. D'autres auteurs (ALBAUM et EICHEL, 1943 ; BERGER et coll., 1946 ; BONNER, 1949) viendront confirmer ces premières expériences.

D'une façon générale, un traitement auxinique stimulant la croissance des tiges ou des coléoptiles est accompagné d'une augmentation de la respiration (PRATT, 1938 ; FRENCH et BEEVERS, 1953 ; KELLY et AVERY, 1951 ; CHRISTIANSEN et THIMANN, 1950 ; v. CLELAND, 1961, p. 758). Pour les racines, le problème est plus complexe en raison de l'inhibition de croissance que provoquent presque toutes les concentrations d'auxines. BURSTRÖM (1942) montre que les auxines n'ont pas d'effet sur la respiration, tandis qu'un traitement au 2,4-D augmente de 15 % l'absorption d'oxygène (NANCE, 1949). KANDLER et VIEREGG (1953) rapportent une légère diminution du taux respiratoire de racines de maïs incubées avec de l'ABIA 1.10^{-5} M. AUDUS et GARRARD (1953), sur des racines de pois, observent des variations parallèles de la croissance et de la respiration sous l'action des auxines. PILET et KOBR (1959) montrent, à propos de l'étude des gradients radiculaires, que la respiration n'est pas plus élevée dans les tissus riches en auxines (v. p. 27). Les travaux de NANCE et PERLIS (1955, 1956), sur des racines de froment, illustrent bien la variété des résultats que l'on peut obtenir. En modifiant les conditions expérimentales, les auxines peuvent stimuler et inhiber l'évolution du CO_2 radioactif des racines après incubation dans une solution d'acétate marqué ou n'avoir sur elle aucun effet.

Mais à la suite de nombreux travaux (v. CLELAND, 1961, p. 760), on peut conclure que les courbes traduisant les variations de la croissance et de la respiration sont semblables.

Un problème difficile à résoudre est de savoir si les auxines agissent en premier lieu sur la croissance ou sur la respiration. Les auxines pourraient agir d'abord sur la croissance qui stimulerait ou inhiberait, à son tour, la respiration. Un certain nombre d'expériences montrent que l'inhibition de la croissance par des méthodes osmotiques (v. CLELAND, 1961) cause une diminution de la respiration induite par les auxines ; mais actuellement, il n'est pas possible de généraliser ces résultats. Certains faits, au contraire, prouveraient que les auxines agissent directement sur la respiration, produisant l'énergie et les substrats nécessaires pour stimuler la croissance. Les auxines provoquent une augmentation de la respiration des tissus âgés qui ne sont plus capables de s'allonger. De même, avant la mort des tissus végétaux, de fortes concentrations de 2,4-D stimulent la respiration sans entraîner parallèlement des variations de poids frais (v. CLELAND, 1961, p. 762).

Les variations de croissance créent généralement une demande de nouveaux métabolites dont la conséquence est d'augmenter les échanges respiratoires. Etudions brièvement quelques-uns des métabolites sur lesquels peuvent agir les auxines.

3. ACTION DES AUXINES SUR LE TAUX EN GLUCIDES

Un des effets les plus marqués des auxines sur les glucides est l'augmentation de la dégradation de l'amidon en glucides solubles (BLACKMAN et coll., 1951 ; AUDUS, 1953 ; v. CLELAND, 1961, p. 764 ; v. WORT, 1961, p. 1121 et v. PILET, 1961 a, p. 487). La teneur en sucres réducteurs augmente en fonction de la concentration et de la durée du traitement puis diminue tandis que la teneur en sucres non réducteurs est réduite au cours du temps (RASMUSSEN, 1947 ; SKOOG et ROBINSON, 1950). MITCHELL et coll. (1937, 1938, 1951) ont suggéré que la dégradation de l'amidon est due à une activation de l'amylase par les auxines. PILET et TURIAN (1953) le confirment *in vivo*, mais précisent qu'*in vitro* l'ABIA n'a pas d'action sur ce système enzymatique. Sous l'action des auxines, la dégradation de l'amidon peut être attribuée aussi : à une stimulation, par les auxines, de la migration des glucides à partir des régions de réserves en direction des organes en croissance ; — à une augmentation de la consommation des glucides dans les tissus, ce qui rompt l'équilibre de l'amylolyse (VERNON et ARONOFF, 1952 ; v. CLELAND, 1961).

L'augmentation de l'amylolyse et la production accrue des glucides solubles peuvent être associées à d'autres processus métaboliques. Quelques auteurs (v. p. 62) constatent que la diminution des glucides dans les tiges est accompagnée d'une accumulation de protéines et d'acides-amino.

D'une façon générale, il est difficile de dire si la consommation accrue des sucres est due à une augmentation de l'IR ou à une utilisation de ces composés dans la synthèse des protéines.

Ces changements pourraient être aussi à l'origine des modifications chimiques des parois cellulaires. WOLF et coll. (1950) constatent en effet un accroissement d'hémicellulose dans les feuilles et les tiges de plantules de haricots traitées au 2,4-D. Nous reviendrons sur ce problème plus loin (v. p. 64).

4. ACTION DES AUXINES SUR LE MÉTABOLISME AZOTÉ

ACTION DE L'ABIA

Un traitement auxinique provoque des perturbations dans la distribution de l'azote des plantes en mobilisant, dans les feuilles, les protéines et les composés azotés solubles qui migrent en direction des racines et des tiges (BORTHWICK et coll., 1937 : plantules de tomate; STUART, 1938 : plantules de haricot).

POUR KESER (1955), un traitement auxinique provoque une diminution de la quantité d'acides-amino libres dans les hypocotyles d'*Helianthus* tandis que pour BONNER (1949), une stimulation de l'élongation de sections excisées de coléoptiles d'*Avena*, induite par les auxines, n'est pas suivie d'une nette protéosynthèse. Selon KANDLER et VIAREGG (1953), le rapport NS/NP dans les tiges d'*Asparagus* et les racines du *Zea Mays* augmente après un traitement auxinique (ABIA 1.10^{-5} M). Au contraire, CHRISTIANSEN et THIMANN (1950) montrent que la croissance de sections de tiges du *Pisum* est accompagnée d'une réduction importante des acides-amino et parallèlement, d'une synthèse de protéines et d'asparagine. Un traitement à l'ABIA accentue de 10 % environ le phénomène de conversion. D'autre part, la teneur en acides organiques diminue sous l'action des auxines, ce que les auteurs interprètent comme une relation étroite entre les acides organiques résultant de la dégradation des sucres et la synthèse de l'asparagine et des protéines.

Quelques expériences réalisées avec des acides-amino marqués ont permis de préciser ces phénomènes. BOROUGHS et BONNER (1953) étudient le comportement des coléoptiles d'avoine et de maïs en présence de glycine et de leucine marquées par du C^{14} , avec ou sans ABIA (pendant 6 h; pH 4,6). Un traitement auxinique stimule la croissance et n'influence pas la teneur en acides-amino des protéines. Pourtant on constate une protéosynthèse à partir des acides-amino marqués. Le « cycle protéinique » ne semble pas influencé par les auxines puisque, dans ces tissus, la synthèse des protéines est compensée par la destruction d'autres protéines.

POUR AKERS et FANG (1956), l'ABIA (et le 2,4-5 T) accroît le taux de synthèse des acides aspartique et glutamique mais provoque parallèlement une augmentation de l'oxydation de ces acides.

REINHOLD et POWELL (1956, 1958) précisent l'action de l'ABIA sur la pénétration et l'utilisation d'amino-acides marqués dans des sections d'hypocotyles d'*Helianthus annuus* :

- 1) Les courbes traduisant l'absorption de C^{14} , les variations du poids frais et l'allongement sont parallèles ;
- 2) L'ABIA active la respiration (20 à 30 %) et l'incorporation d'amino-acides (40-70 % suivant les amino-acides ; la présence d'oxygène est nécessaire) ;
- 3) Dans les tissus, le C^{14} se trouve sous forme d'acide glutamique (30-40 %), le reste se transforme en glutamine. L'ABIA accentue la formation des sous-produits de l'acide glutamique ;
- 4) L'ABIA stimule les processus d'utilisation des amino-acides (substrat respiré) de la cellule qui, pour maintenir son gradient acide, favorise la pénétration (même contre-osmotique) des amino-acides.

Action du 2,4-D

Des tiges de plantules de haricots traitées contiennent approximativement deux fois plus de protéines que les témoins ; la teneur en amino-acides s'accroît également (SELL et coll., 1949). La teneur en amino-acides (exprimée en % de protéines) présente des variations qui indiquent un changement net du caractère des protéines (v. aussi CHIBNALL, 1939). Constatant une réduction de la plupart des amino-acides et des protéines dans les feuilles et les racines traitées, WELLER et ses collaborateurs (1950) suggèrent une migration des composés azotés dans les tiges où ils sont transformés en nouvelles protéines. De même, FREIBERG et CLARK (1952, 1955) montrent qu'un traitement inhibant la croissance provoque dans les feuilles une réduction des réserves azotées, qui s'accumulent dans les tiges et les racines sous forme de protéines et de composés solubles. La teneur en azote total ne varie ni chez les « témoins » ni chez les « traités ». Parallèlement à la synthèse des protéines, un traitement entraîne une forte diminution des sucres réducteurs et non réducteurs et des polyholosides hydrolysables (amidon). Ces auteurs suggèrent qu'une partie importante des glucides participe, sous l'action des auxines, à la synthèse des protéines. De nombreuses observations sont venues confirmer cette théorie (MITCHELL et BROWN, 1945 ; RASMUSSEN, 1947 ; SMITH, HAMNER et CARLSON, 1947 ; ERICKSON, SEELEY et KLAGES, 1948 et d'autres chercheurs cités par MITCHELL, 1951, p. 148). De même, dans les racines du *Lens* (précisément notre matériel), PILET et

WURGLER (1953) montrent qu'à la suite d'un traitement auxinique, le nombre des grains d'amidon diminue fortement.

Mais la diminution des composés azotés dans les racines, constatée par WELLER et ses collaborateurs, n'apparaît pas toujours. Bien que la teneur en azote soluble, en azote total et en protéines augmente dans les tiges et ne subisse pas de variations dans les feuilles traitées (blé noir), la teneur en azote total et protéinique s'accroît dans les racines (WORT, 1949, 1951). RASMUSSEN et LAWRENCE (1955) trouvent également que du 2,4-D, à faibles concentrations, appliqué à des plantules de chardon, entraîne une augmentation significative du taux en amino-acides et en protéines des racines après 49 et 56 jours de traitement (confirmation des travaux de FREIBERG et CLARK, 1955).

En conclusion, un traitement par des substances de croissance provoque généralement, dans les parties supérieures de la plante, une mobilisation des composés azotés qui migrent en direction des parties basales (BAUSOR, 1942; MITCHELL et STUART, 1938, cités par MITCHELL, 1951). L'équilibre entre la synthèse et la dégradation des protéines est rompu par les auxines, soit dans un sens soit dans l'autre suivant l'état de croissance des tissus et la nature des substances utilisées, ce qui explique les contradictions que l'on peut observer (FREY-WYSSLING, 1950).

Un certain nombre de publications se rapportent à la teneur en amino-acides et en protéines de plantes de pommes de terre traitées par du 2,4-D, (PAYNE et coll., 1951, 1952, 1953; FULTS et coll., 1952).

Action d'autres substances de croissance

D'une façon générale, les autres substances de croissance ont la même action que l'ABIA et le 2,4-D.

Si un traitement par l'acide p - chloro - phénoxy - isobutyrique (1.10^{-6} M) favorise une légère accumulation de protéines dans les racines de froment, il importe surtout de remarquer la non-proportionnalité entre l'augmentation des protéines (et du poids sec) et l'allongement (BURSTRÖM, 1951 a). Par contre, RHODES, TEMPLEMAN et THRUSTON (1950) constatent, sur des plantules de tomates traitées par de l'acide 4-chloro-2-méthyl-phénoxyacétique, un faible accroissement d'azote total dans les racines et une diminution dans les tiges, réduction qui s'accroît avec la concentration.

Pour LIORET (1955), la protéogénèse, dans les parenchymes de scorsonères cultivées *in vitro*, s'accroît légèrement sous l'action de faibles concentrations d'acide α -naphtylacétique tandis que de plus fortes doses entraînent une notable réduction. GAUTHERET (1959) a passé en revue les travaux consacrés au métabolisme des composés azotés en relation avec les auxines dans les cultures de tissus.

THIMANN et Loos (1957) rapportent que dans des disques de pommes de terre et d'artichauts l'acide α -naphtylacétique accélère au cours du temps la diminution de l'azote soluble au profit de la synthèse des protéines. Les auxines agissent en premier lieu sur la protéogénèse puis, au bout de 3 à 4 jours, sur l'absorption de l'eau. Ces auteurs associent l'augmentation des protéines à l'activation, par les auxines, de systèmes enzymatiques.

5. ACTION DES AUXINES SUR LES ENZYMES RÉGLANT LE TAUX EN PROTÉINES

L'étude de l'action des substances de croissance sur les systèmes enzymatiques (protéolytiques, peptidasiques, etc.) est déroutante. En effet, l'intensité et le sens des variations changent non seulement avec les différentes espèces végétales mais avec les organes d'une même plante. De plus, les effets d'un traitement *in vitro* et *in vivo* sont souvent contradictoires (v. WORT, 1961), ce qui permet de penser qu'*in vitro* les substances de croissance altèrent les systèmes enzymatiques. Peu de chercheurs, semble-t-il, ont été tentés par l'étude de ces problèmes. Et pourtant, l'action des auxines sur les systèmes enzymatiques pourrait bien être en partie responsable des perturbations enregistrées au niveau des constituants du cytoplasme (v. CLELAND et BURSTRÖM, 1961).

Peu d'enzymes ont été testées quant à leur sensibilité aux auxines.

AVERY et coll. (1940) montrent que l'activité des peptidases de coléoptiles d'*Avena* est proportionnelle à la concentration des auxines endogènes dans toutes les régions de la coléoptile. Un traitement au 2,4-D, inhibant la croissance des plantules de haricot, stimule l'activité protéolytique des tiges et inhibe celle des feuilles et des racines. L'activité des dipeptidases varie dans le même sens (REBSTOCK et coll. 1952). FREIBERG et CLARK (1955) réalisent le même genre d'essais mais avec une concentration de 2,4-D qui active la croissance. L'activité des protéinases et des peptidases des « témoins » reste pratiquement constante au cours du temps, alors que celle des « traités » augmente dans les racines et les tiges et diminue dans les feuilles. BERGER et AVERY (1944) étudient la déshydrogénase de l'acide glutamique (dans les coléoptiles d'avoine) en relation avec l'effet activateur des auxines sur la respiration. La déshydrogénase n'est pas stimulée par les auxines, mais à de fortes concentrations l'ABIA inhibe l'oxydation du glutamate.

La détermination de l'activité enzymatique de certains tissus a conduit à des situations assez paradoxales. Ainsi un traitement au 2,4-D provoque, dans les racines de haricot, une accumulation de protéines et de composés organiques solubles et parallèlement une activation des enzymes protéolytiques et peptidasiques. Ces résultats suggèrent d'une part qu'un traitement au 2,4-D active l'élaboration des protéines enzymatiques dans les tissus qui synthétisent davantage de protéines (conclusions voisines de celles de ROBINSON, 1956 et de THIMANN et Loos, 1957) et que d'autre part les enzymes protéolytiques peuvent être réversibles (YEMM, 1958, p. 438-441).

6. ACTION DES AUXINES SUR LES MEMBRANES CELLULAIRES

L'action des auxines sur les propriétés physiques et chimiques des membranes cellulaires a fait l'objet de récentes mises au point (v. PRESTON, 1961, p. 311 ; v. POHL, 1961, p. 703 ; v. CLELAND, 1961, p. 773 ; v. PILET, 1961 f, p. 784 où l'on trouvera un schéma de l'action des auxines sur le mécanisme de l'élongation cellulaire). Nous nous contenterons ici d'en dégager les lignes générales.

Tout d'abord les auxines agissent sur l'extensibilité des parois par une augmentation prononcée de leur plasticité (phénomène irréversible) et un très faible accroissement de leur élasticité (phénomène réversible). Ces modifications, qui apparaissent comme des phénomènes indispensables, n'en sont pas moins insuffisantes pour expliquer l'allongement des cellules.

Les auxines peuvent provoquer une augmentation de l'intussusception de nouveaux matériaux dans la membrane. Cet accroissement peut être proportionnel à la stimulation de croissance due aux auxines, surtout si le milieu est riche en glucides. Mais le plus souvent il est en retard sur l'augmentation de la croissance (CHRISTIANSEN et THIMANN, 1950 ; BURSTRÖM, 1951 a, b). Il arrive aussi que la stimulation de la croissance par les auxines ne soit pas accompagnée ou suivie d'une incorporation accrue de matériaux.

Les différents constituants des membranes réagissent souvent différemment vis-à-vis des auxines. Examinons le cas des composés cellulosiques et pectiques.

Pour quelques types de tissus, la synthèse de la cellulose est activée pendant la stimulation de la croissance induite par les auxines, bien qu'on ne sache pas si cette réponse est due aux substances de croissance ou à l'augmentation de la taille des cellules. Dans d'autres tissus, le taux de la synthèse reste inchangé avec ou sans traitement à l'ABIA (feuilles de froment, disques de pomme de terre). Une forte inhibition de la croissance des racines de froment par l'ANA produit une réduction de la teneur en cellulose, alors qu'une augmentation de la croissance causée par un traitement au PCIB (1.10^{-5} M) n'a pas d'effet sur la cellulose (BURSTRÖM, 1958). L'adjonction de C^{14} dans la cellulose des membranes (racines de froment) à partir d'acétate, de saccharose, de glucose ou de galactose marqués est plus ou moins modifiée suivant le traitement auxinique (v. CLELAND, 1961, p. 775).

La difficulté de séparer en fractions distinctes les composés pectiques et les hémicelluloses explique la confusion de nos connaissances relatives à l'influence des auxines sur ces substances. Pour BENNET-CLARK (1956), BURSTRÖM (1958) et CHRISTIANSEN et THIMANN (1950), les auxines n'ont pas d'action sur ces composés ; pour KÖGL et MUDLER (1956, cités par CLELAND, 1961) un traitement inhibiteur d'ABIA provoque une diminution de la synthèse de l'hémicellulose dans les racines de froment alors que STUART (1938, cité par CLELAND) rapporte une augmentation de 350 % des pectines de haricots traités par de l'ABIA à 100 ppm. Un certain nombre d'auteurs (WOLF et coll., 1950 ; WILSON et SKOOG, 1954 ; CARLIER et BUFFEL, 1955, cités par CLELAND) constatent une augmentation de ces substances sous l'influence des auxines.

La découverte des pectines-méthyl-estérases et l'action des auxines sur ces enzymes ont permis quelques progrès dans la compréhension des mécanismes qui président à l'élaboration et aux modifications des membranes cellulaires sous l'action des auxines.

D'une façon générale, il semble toutefois que « les auxines et les régulateurs de croissance qui contrôlent les processus d'élongation agissent davantage sur les modifications de structure des parois et sur la régulation du dépôt de leurs constituants que sur la synthèse même de ces composés » (v. PILET, 1961 f, p. 795).

B. EXPÉRIENCES PRÉLIMINAIRES

1. LE PROBLÈME

Les quelques expériences préliminaires que nous rapporterons ici permettront d'orienter la suite de notre travail. Elles sont consacrées à l'action de l'ABIA sur la croissance et la concentration de l'azote total de jeunes racines du *Lens*.

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

Le matériel est préparé comme précédemment (v. p. 2). Après la sélection des racines ($2,5 \pm 0,5$ mm), on les repique dans de petites boîtes de Petri (10 racines par boîte contenant 5 ml de solution : eau ou ABIA à concentrations variables de 1.10^{-8} à 1.10^{-3} M). Au bout de trois jours, on procède aux mesures macrophysiologiques (longueur, poids frais et sec, teneur en eau) et à l'analyse de l'azote total (d'après la méthode de KJELDAHL, v. p. 4).

TABLEAU X

Action de l'ABIA (concentrations variables) sur le poids frais (PF), le poids sec (PS), la teneur en eau (Te), la longueur (L) et l'azote total (NT) de racines intactes

Les plantules, dont la longueur initiale des racines est de $2,5 \pm 0,5$ mm, sont traitées pendant 3 jours.

Données	Concentrations d'ABIA $1.10^{-x}M$						
	$x = \infty$	$x = 8$	$x = 7$	$x = 6$	$x = 5$	$x = 4$	$x = 3$
A PFmg/50 R	1082,5	1071,4	1192,1	996,4	404,5	251,9	152,5
PSmg/50 R	90,7	86,6	93,4	84,9	45,1	36,9	35,5
Te mg/50 R	991,8	984,8	1098,7	911,5	359,4	215,0	117,0
L mn/lnd.	16,8 (7,5)	16,0 (10,3)	20,0 (10,9)	17,2 (10,2)	7,2 (0,5)	3,4 (0,8)	2,7 (0,0)
% Te/PF	91,6	91,8	92,0	91,6	88,9	85,4	76,7
% PS/Te	9,1	8,8	8,5	9,3	12,6	17,2	30,3
B PFmg/mm	64,4	67,0	59,6	57,9	56,2	74,1?	56,5
PSmg/mm	5,4	5,4	4,7	4,9	6,3	10,9	13,1
Te mg/mm	59,0	61,5	54,9	53,0	49,9	63,2?	43,3
C NTmg/50 R	5,21	5,43	5,33	5,21	3,40	2,96	2,60
NT γ /10mgPF	47,4	50,8	47,3	53,3	102,6	124,2	173,2
NT γ /10mgPS	561	620	571	614	755	833	887

Les valeurs () se rapportent aux épicotyles.

3. ACTION DE TRAITEMENTS AUXINIQUES

3.1. Croissance des racines : tableau X, A et figure 6, B.

- 1) L'ABIA, à faible concentration ($1.10^{-8} M$), n'a pratiquement aucun effet sur la croissance (L, PF, TE) et le PS des racines.
- 2) L'ABIA, à la concentration de $1.10^{-7} M$, provoque une stimulation de la croissance : assez forte pour L, plus faible pour PF et nulle pour Te et PS.
- 3) L'inhibition de la croissance, de PS et de Te est d'autant plus accentuée que la concentration d'ABIA est plus élevée (1.10^{-6} à $1.10^{-3} M$).
- 4) L'activation ou l'inhibition de PF, de L et de Te sont parallèles et approximativement du même ordre.
- 5) Un traitement d'ABIA à concentration élevée provoque une inhibition plus forte de la croissance (L, PF et Te) que du

poids sec. De même un traitement à l'ABIA 1.10^{-7} M entraîne une stimulation plus nette de la croissance que du poids sec.

- 6) La teneur en eau relative (/PF) diminue d'autant plus fortement que la concentration d'ABIA du traitement est plus élevée, ce qui entraîne une augmentation du poids sec relatif (/PF).

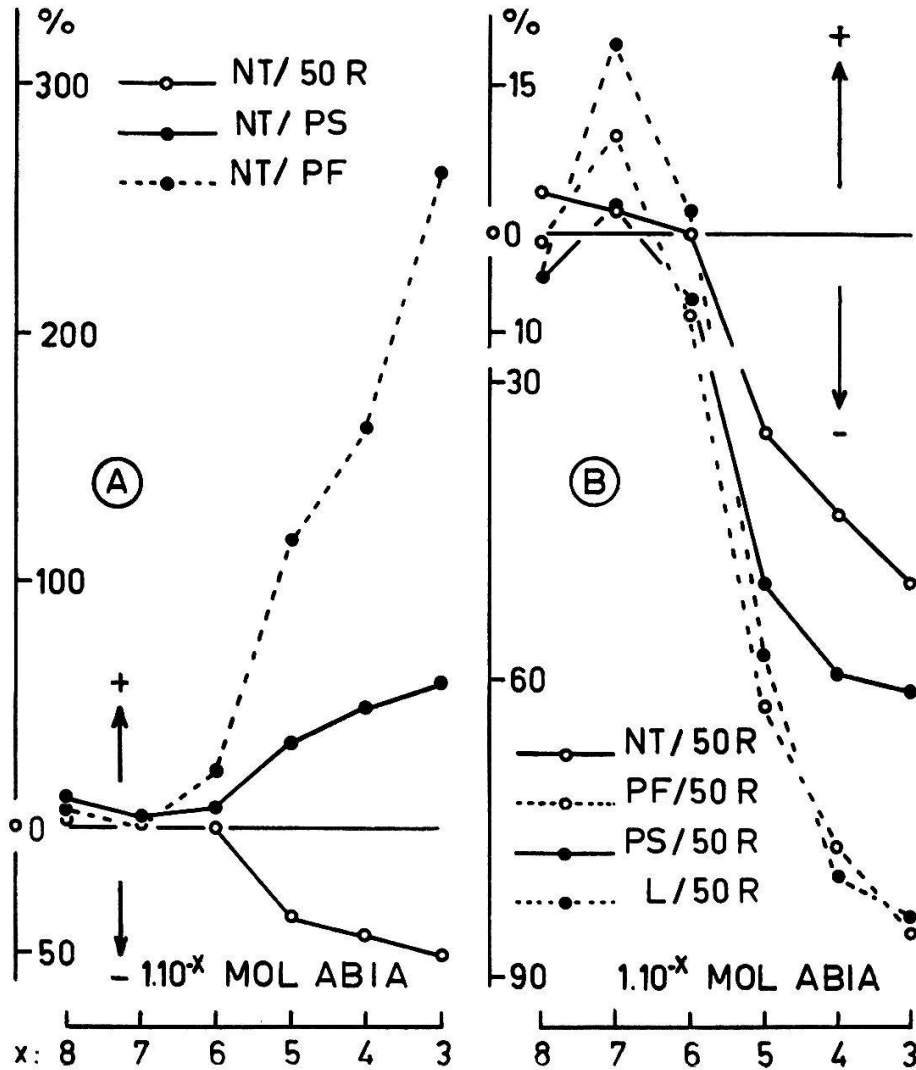


FIG. 6. — Etude comparative des variations de l'azote total, du poids frais, du poids sec et de l'allongement des racines

Valeurs en % du TE en fonction de la concentration d'ABIA (après 3 jours de culture).

A : azote total (NT) par rapport à 50 racines (/50 R.), à 10 mg de poids sec (/PS) et à 10 mg de poids frais (/PF).

B : NT, longueur (L), PF et PS, par rapport à 50 racines.

Rapporté à l'unité de longueur, PS diminue puis s'accroît tandis que PF décroît à mesure que la concentration auxinique du traitement augmente (tableau X, B).

En conclusion, un traitement auxinique à faible concentration stimule la croissance tandis qu'on enregistre une inhibition à des con-

centrations plus élevées. Les données macrophysiologiques analysées ici (longueur, poids frais, poids sec et teneur en eau) sont influencées dans le même sens par des traitements à l'ABIA mais l'amplitude de leurs variations est différente. Ces résultats confirment certaines observations de PILET (1951 a, 1953 a).

3.2. Croissance des épicotyles

La croissance des épicotyles (le seul critère étudié ici est la longueur) est stimulée pour des traitements par l'ABIA à faibles concentrations (1.10^{-8} à 1.10^{-6} M) avec un maximum à 1.10^{-7} M (comme pour les racines). A cette concentration, la stimulation des épicotyles (+ 45,3 %) est plus forte que celle des racines (+ 19,0 %). Des concentrations plus élevées d'ABIA entraînent une inhibition presque complète des épicotyles (*fig. 7 B*).

Sans le discuter pour l'instant, notons en conclusion et en n'envisageant que l'aspect qualitatif, le comportement presque semblable des racines et des épicotyles à la suite de traitements auxiniques.

3.3. Comparaisons avec le test R et le test T

À première vue, les variations de la croissance des racines et des épicotyles provenant de plantules entières, traitées par de l'ABIA, paraissent en désaccord avec ce que nous savons de la croissance et de la régulation auxinique des sections de racines (test R : PILET, KOBR et SIEGENTHALER, 1960) et des sections de tiges (test T : PILET et COLLET, 1959).

Dans la *figure 7*, nous avons reporté la stimulation ou l'inhibition (en % d'allongement, pour des concentrations variables d'ABIA) : de sections de racines, après 12 et 48 h; — de sections de tiges, après 6 et 9 h; — de racines entières (jeunes au moment du traitement : 2,5 mm) après 3 jours, et des épicotyles correspondants; — de racines entières (plus âgées au moment du traitement : 11,0 mm), après 24 h.

Nous nous proposons de discuter la signification des variations observées en tenant compte de l'état auxinique endogène des tissus.

Comparons tout d'abord les résultats relatifs aux tests R après 12 et 48 heures de traitement (*fig. 7 A*) ! Nous avons déjà discuté (PILET, KOBR et SIEGENTHALER, 1960) le phénomène de réduction de l'inhibition de croissance au cours du temps. Rappelons quelles sont les interprétations possibles :

- 1) La diffusion des auxines dans le milieu a pour conséquence une diminution de la teneur en auxines endogènes des sections de racines et, par suite, une levée partielle de l'inhibition;
- 2) Il y a, avec le temps, activation du catabolisme auxinique par suite de l'augmentation de l'activité auxines-oxydasique ;
- 3) Les produits de dégradation des auxines agissent aussi sur les phénomènes de croissance ;
- 4) La biosynthèse des composés de nature auxinique est fortement diminuée pour des sections de racines non attachées à la graine ;

- 5) On peut invoquer la présence d'inhibiteurs dont l'action sur la croissance est quantitativement différente de celle des accélérateurs (v. p. 33) ;
- 6) La pénétration de l'ABIA dans les tissus entraîne une diminution de sa concentration dans le milieu extérieur. L'inhibition est réduite et la longueur des sections correspond à celle qu'entraînent des concentrations d'ABIA plus faibles (cette hypothèse a été vérifiée pour des racines appartenant à des plantules complètes, v. p. 90).

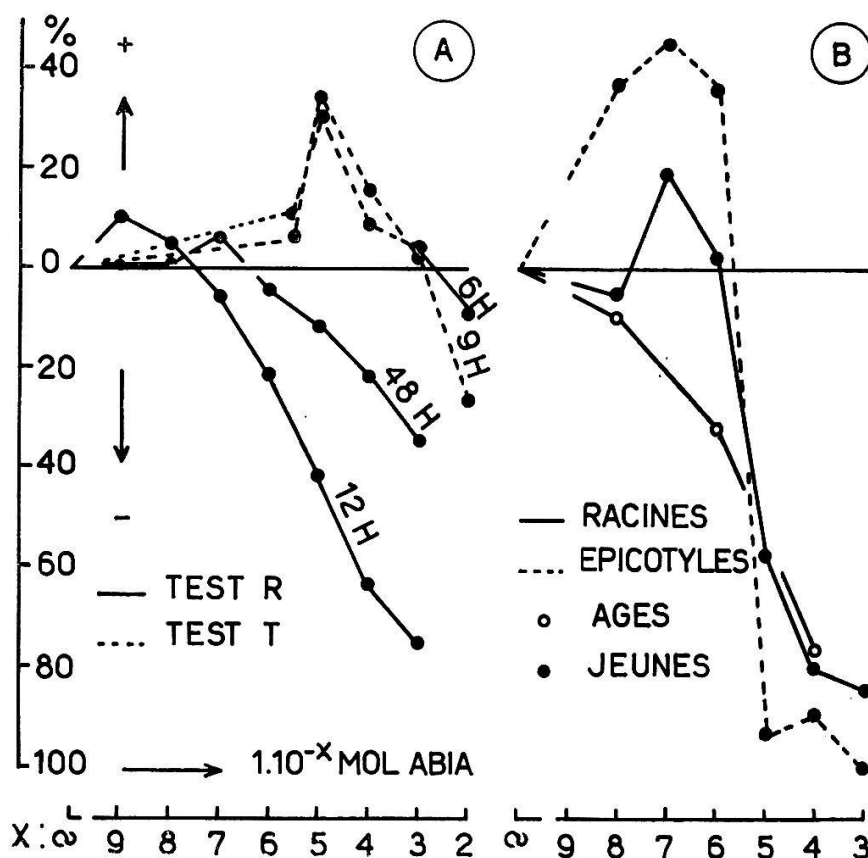


FIG. 7. — Etude comparative des variations d'allongement de sections et d'organes intacts (racines et épicotyles)

Valeurs données en % du TE en fonction de traitements à l'ABIA (concentrations variables) appliqué à des sections et des organes d'âge différent.

A : sections de racines (test R) et d'épicotyles (test T).

B : racines et épicotyles intacts rattachés à la graine.

Les variations du test T, pour divers temps de traitement (6 et 9 h), ne présentent pas de différences aussi nettes. L'inhibition des épicotyles, contrairement à celle des racines, est d'autant plus forte que la durée du traitement est plus longue (ABIA 1.10^{-2} M), ce qui suggère une absorption plus lente des substances de croissance.

La différence de sensibilité entre les tests R et T est nette. Grâce au test R (inhibition d'allongement surtout), nous avons la

possibilité de doser des quantités relativement faibles d'ABIA. Le test T (accélération de croissance surtout), moins sensible, permet de doser l'ABIA à des concentrations plus élevées.

La réponse des racines intactes à un traitement auxinique (*fig. 7 B*) dépend, dans une large mesure, de l'âge de ces organes. Ainsi de jeunes racines (contenant peu d'auxines endogènes) sont stimulées par un traitement à l'ABIA à faibles concentrations tandis que des racines plus âgées sont inhibées par un même traitement. Ces faits corroborent les résultats trouvés par d'autres chercheurs (v. TORREY, 1956) et vérifient dans une certaine mesure la thèse de la dose sus-optimale (v. p. 59).

La réponse physiologique des racines et des épicotyles intacts à différents traitements par de l'ABIA est approximativement la même. On observe un optimum de stimulation pour la même concentration d'ABIA (1.10^{-7} M) et les valeurs enregistrées pour l'inhibition sont proches. Une première question se pose. Comment expliquer la différence de sensibilité aux substances de croissance entre les sections isolées de racines ou de tiges et les racines ou épicotyles attachés au reste de la plantule ?

Examinons tout d'abord la différence de comportement entre les racines entières et les sections de racines. Les réponses aux divers traitements à l'ABIA sont approximativement du même ordre et dépendent dans les deux cas des mêmes facteurs (teneur en auxines endogènes, âge des racines au moment du traitement, durée et concentration du traitement à l'ABIA).

Au contraire, la réponse des épicotyles aux traitements auxiniques est différente. Les sections de tiges, peu sensibles, présentent une stimulation optimale pour une concentration d'ABIA de 1.10^{-5} M et une inhibition qui s'accroît fortement depuis 1.10^{-3} M. Pour des épicotyles liés au reste de la plantule, on enregistre la même courbe mais déplacée vers des concentrations moins élevées où l'optimum de stimulation est à 1.10^{-7} M. Comment interpréter cette différence ?

Tout se passe comme si l'état auxinique des épicotyles intacts était plus élevé que celui des sections de tiges (pourtant ces dernières sont plus âgées et devraient contenir davantage d'auxines). Il est probable que dans une plantule entière les auxines soient réparties uniformément et en même temps dans les racines et les épicotyles. Ces phénomènes de régulation expliqueraient pourquoi les réactions des racines et des épicotyles intacts sont presque identiques vis-à-vis des traitements à l'ABIA et pourquoi les sections d'épicotyles où les échanges sont diminués ou supprimés contiennent moins d'auxines.

L'hyperauxinie des épicotyles intacts pourrait s'expliquer :

- 1) Par une biogenèse auxinique au point végétatif et une intense élaboration d'auxines dans les feuilles (PILET, 1951 b) ;

- 2) Par un transport des auxines formées dans les feuilles et le méristème racinaire (bien que le transport basifuge soit plus important, Pilet a mis en évidence un courant basipète dont il faut tenir compte) ;
- 3) Par une migration polaire de l'ABIA absorbé dans le milieu par les racines, les cotylédons et la base des épicotyles ;
- 4) Par l'absence de tout phénomène de privation qui peut intervenir dans le métabolisme des sections de tiges.

La migration des auxines, leur diffusion plus ou moins lente dans le milieu, l'état auxinique endogène et la pénétration de l'ABIA dans les tissus sont autant de facteurs qui peuvent être à l'origine des différences observées.

3. 4. Teneur en azote total des racines : figure 6, A et tableau X, C.

- 1) La concentration en azote total, exprimée en fonction de 50 racines, ne subit aucune variation sensible pour des traitements par de l'ABIA à faibles concentrations (1.10^{-8} à 1.10^{-6} M) puis diminue à mesure que la concentration d'ABIA s'accroît. Les variations de la teneur en azote total sont moins prononcées que celles de la croissance (L et PF). L'inhibition de NT est moins forte que celle de PS.
- 2) En se référant à l'unité de poids, NT (en %) augmente nettement et ceci d'autant plus que la concentration est plus forte. Cet accroissement est plus accentué lorsqu'on se réfère au poids frais.

En conclusion, des traitements auxiniques à faibles concentrations stimulent davantage la croissance que la teneur en azote total. Au contraire, des concentrations plus élevées d'ABIA inhibent moins fortement la teneur en azote total que la croissance, ce qui entraîne une accumulation plus grande des composés quaternaires que des composés ternaires.

4. DISCUSSION ET CONCLUSIONS

Dans cette étude préliminaire, nous retiendrons trois genres de problèmes que nous examinerons séparément : 1) l'action de l'ABIA sur les phénomènes d'absorption d'eau et les modifications probables de la membrane cellulaire ; 2) l'action *stimulatrice* de l'ABIA sur la croissance en rapport avec la teneur en azote total ; 3) l'action *inhibitrice* de l'ABIA sur la croissance en rapport avec la concentration d'azote total.

On admet généralement que les auxines favorisent la pénétration de l'eau ; mais les divergences apparaissent dans l'interprétation des phénomènes observés. En nous rapportant aux deux mises au point que PILET consacre à ce sujet (1961 a, p. 463 et 1961 f, p. 789, où l'on trouvera les références des auteurs cités plus bas), rappelons brièvement les tendances en présence :

1. Les auxines agissent directement sur la pénétration de l'eau (POHL, 1948, VAN OVERBEEK, 1942, 1944) ; l'allongement cellulaire est proportionnel à l'augmentation de la teneur en eau. A propos des gradients radiculaires (v. Fig. 1 et p. 23), nous avons également montré qu'il existait un rapport direct entre la teneur en eau relative et la vitesse de croissance ;

2. Les auxines provoquent des changements dans les valeurs osmotiques cellulaires et indirectement modifient la pénétration de l'eau. Certains auteurs (BURSTRÖM, 1942, 1953 b) montrent que le matériel osmotique s'accroît parallèlement à l'allongement tandis que d'autres chercheurs (RUGE, 1937 ; VAN OVERBEEK, 1944 ; LEVITT, 1948 ; HACKETT, 1952) observent que les valeurs osmotiques baissent sous l'action des auxines ;

3. Les auxines peuvent aussi agir sur les processus métaboliques (respiration, glucides, protéines, absorption des sels, etc.) qui contrôlent les échanges d'eau (v. p. 59) ;

4. Les auxines, en modifiant les propriétés physiques et chimiques des membranes cellulaires (v. p. 64), règlent indirectement la pénétration de l'eau.

Dans le cas de racines entières rattachées à la graine (v. *tableau X, A et B*), les phénomènes d'absorption d'eau ne subissent aucun changement pour de faibles concentrations d'ABIA (1.10^{-8} et 1.10^{-6} M). Une stimulation de croissance (1.10^{-7} M d'ABIA) est accompagnée d'une augmentation des échanges d'eau. Au contraire, les concentrations d'ABIA (1.10^{-5} à 1.10^{-3} M) qui inhibent la croissance réduisent les phénomènes d'absorption d'eau. Notons enfin que les courbes traduisant les variations de la teneur en eau et de l'allongement des racines sont voisines quelles que soient les concentrations d'ABIA.

De là, quelques conclusions et hypothèses :

- 1) Les variations de la croissance (allongement) et de la teneur en eau sont intimement liées et relèvent du même phénomène. L'absorption d'eau est un des facteurs essentiels de la croissance des racines, ce que confirment entre autres les travaux de HACKETT (1952) et HACKETT et THIMANN (1952, 1953), etc. ;
- 2) L'ABIA favorise l'absorption d'eau dans la mesure où il active la croissance. Pour des concentrations inhibitrices, il freine les échanges d'eau ;
- 3) L'ABIA provoque une « dilution » des constituants cytoplasmiques dans le cas d'une stimulation de croissance et augmente la « densité » de ces composés lorsque les racines sont inhibées. On pourrait se demander pourquoi l'augmentation de la concentration du cytoplasme (milieu hypertonique) ne favorise pas les échanges d'eau. D'autres phénomènes interviennent ;
- 4) Nous savons qu'une hyperauxinie provoque des troubles morphologiques comme l'apparition de déformations (légères hypertrophies) et l'activation de la subérification et des phénomènes de différenciation (PILET et PFISTER, 1951 ; PILET, 1953 c ; v. PILET, 1961 a, p. 515 à 523). Des perturbations physiques et chimiques des parois cellulaires (v. p. 64) modifient leur perméabilité.

- 5) L'ABIA agit enfin sur l'activité des pectines-méthyl-estérases, responsable de la transformation des pectines en hémicelluloses et celluloses.

On pourrait considérer que l'inhibition de la croissance est associée à une augmentation de la rigidité de la paroi cellulaire (dépôts de cellulose, v. p. 64) qui diminue la perméabilité des membranes et les possibilités d'échanges intercellulaires.

Le métabolisme azoté des racines n'est que faiblement modifié par de l'ABIA à 1.10^{-6} M et à 1.10^{-8} M. Ces concentrations sont proches de l'état auxinique endogène et n'entraînent aucune variation marquée par rapport aux racines témoins.

Pour une concentration intermédiaire (1.10^{-7} M), l'absorption d'eau et l'allongement sont stimulés tandis que l'azote total et le poids sec ne subissent aucune variation sensible. La densité des matières sèches est donc réduite. Tout se passe comme si les matériaux de construction, provenant des cotylédons et mis à la disposition des racines, n'étaient pas en quantité suffisante pour assurer l'élaboration du cytoplasme cellulaire au même rythme que l'élongation des membranes. La racine ferait en quelque sorte une « crise de croissance ».

Pour des concentrations d'ABIA plus élevées, on constate une nette rupture des courbes traduisant l'inhibition de l'azote total, du poids sec et de la croissance. La teneur en azote total par unité de poids augmente fortement, de même que les valeurs relatives du poids sec ($/PF$ et $/Te$). Il y a donc une accumulation de matières sèches, surtout de composés azotés, à la suite d'un traitement auxinique (ce qui peut paraître paradoxal si l'on considère les valeurs absolues). Tout se passe comme si l'ABIA inhibait la croissance au niveau de certaines réactions du métabolisme et empêchait la transformation du matériel, provenant des cotylédons, en composés caractéristiques des nouvelles cellules (SELL, LUECKE, TAYLOR et HAMNER, 1949). Il convient de noter en outre, que le poids sec est plus inhibé que l'azote total (v. fig. 6 B), ce qui se traduit par une augmentation de l'azote total en fonction du poids sec (v. fig. 6 A). On peut donc admettre que plus la concentration auxinique appliquée est grande, plus le cytoplasme s'enrichit en substances quaternaires. De nombreux auteurs (v. p. 60 et 62) ont montré qu'un traitement par une substance de croissance favorisait la synthèse des protéines aux dépens des glucides (v. p. 100). Il n'est pas exclu que nous soyons en présence d'un tel phénomène.

En conclusion, l'ABIA a une action opposée sur les variations des composés azotés (azote total) et les phénomènes d'absorption d'eau suivant que la croissance est activée ou inhibée. Sur la base de ces premiers résultats, il nous a paru intéressant de poursuivre plus en détail l'étude de l'action inhibitrice de l'ABIA sur la croissance, le métabolisme azoté (azote soluble, insoluble et total) et auxinique.

II. MÉTABOLISME AZOTÉ ET CROISSANCE

1. QUELQUES TRAVAUX

Nous aborderons dans ce chapitre quelques problèmes relatifs à l'utilisation et à la migration des réserves de la graine, à la biogenèse des amino-acides et des protéines dans les organes en croissance. Aussi voulons-nous, en guise d'introduction, dégager de l'abondante bibliographie consacrée à ce sujet quelques notions générales concernant chacune de ces questions.

Utilisation des réserves

Les conceptions actuelles du métabolisme azoté des germinations sont dominées encore par les idées de SCHULZE et de PRIANISCHNIKOV (v. MOYSE, 1951 b) : les protéines accumulées dans les graines sont hydrolysées en amino-acides.

En 1935, PAECH précise certaines relations existant entre les protides et les glucides. Pour les grains de blé, plus riches en glucides qu'en protides, un apport d'azote retarde la protéolyse dans l'albumen, tout en permettant une synthèse normale des protéines de l'embryon. Pour les graines de Lupin, riches en substances azotées et pauvres en glucides, un apport glucidique ralentit la protéolyse dans les cotylédons. Il semble donc que la protéolyse dans les cotylédons et la régénération des protéines dans les organes en voie de croissance soient liées à la présence de glucides actifs.

CHIBNALL (1939) résume ainsi les variations du métabolisme azoté au cours des germinations (v. aussi MOYSE, 1951 b, p. 593, à qui nous avons emprunté l'essentiel de cette analyse) :

Les protéines et les glucides accumulés dans les graines subissent une hydrolyse enzymatique libérant des amino-acides, des amides et des monoses ; — « des processus secondaires d'oxydation, liés plutôt à la respiration qu'à la croissance, provoquent une décomposition des amino-acides avec formation d'asparagine ou de glutamine (parfois les deux) » ; — les produits de la protéolyse émigrent dans les organes en voie de croissance où ils sont directement utilisables pour la régénération des protéines ; — la protéosynthèse dans les organes en croissance est effectuée aux dépens des amino-acides d'origine primaire ou provenant de la transformation des amides qui ont également émigré des cotylédons ; — les protéines des organes en croissance ont généralement une constitution tout à fait différente de celle des organes d'accumulation. En l'absence d'un apport azoté extérieur, « la régénération des protéines doit nécessiter non seulement une transformation d' amino-acides en d'autres, mais celle de la plus grande quantité des amides d'origine secondaire en amino-acides nouveaux. Elle doit donc être précédée d'une redistribution des groupes NH_2 entre divers chaînons carbonés dont la quantité globale excède celle qui correspond à la totalité des amino-acides et des amides qui arrivent aux organes en croissance. En effet, le rapport N/C pour l'asparagine et la glutamine est respectivement de 0,58 et 0,46, tandis que celui des protéines est en moyenne de 0,32. » L'introduction de nouveaux chaînons carbonés est donc nécessaire.

Les travaux plus récents n'ont fait que confirmer, en les précisant, les interprétations de Chibnall (FOLKES, 1951 ; FOLKES, WILLIS et YEMM, 1952 ; v. Mc KEE, 1937, 1949, 1958, p. 477 à 510, où l'on trouvera une analyse bibliographique plus complète).

Le mécanisme de la protéosynthèse

Deux hypothèses générales tentent d'expliquer le mécanisme de la synthèse des protéines. La première suppose, en se basant sur des considérations génétiques, que les amino-acides sont orientés dans la cellule sur des surfaces spécifiques et à cet endroit condensés *en bloc* dans une réaction à une seule phase. On assiste

à « l'attraction, par les molécules protéiques déjà constituées de corps identiques à leurs précurseurs, en des points présentant la même configuration stéréochimique » (v. MOYSE, 1951 b, p. 624 ; v. YEMM, 1958). La deuxième hypothèse, dérivant principalement de l'étude des enzymes, suppose que la synthèse procède par étapes avec un premier stade assurant la synthèse des amides ou des peptides simples, suivi de combinaisons à structure plus complexe formant des polypeptides, puis des protéines.

Deux types d'hypothèses sont alors émis à propos des précurseurs des protéines. Le premier consiste à admettre que les amino-acides sont les intermédiaires indispensables des protéines et sont préalablement synthétisés avant de s'enchaîner par des liens peptidiques (CHIBNALL, 1939 ; PETRIE, 1943 ; etc.). Dans le second type d'hypothèses on admet que la protéolyse et la protéogenèse ne sont pas des réactions inverses. Basées sur de nombreux faits, ces dernières hypothèses ont revêtu des formes très diverses. Il est impossible dans le cadre de cette étude de faire une analyse complète du problème. Nous relèverons ici quelques idées essentielles en ne citant que les travaux de portée générale ou de mise au point bibliographique.

La synthèse des amino-acides

D'une façon générale, on peut considérer les amino-acides comme des intermédiaires tant dans la synthèse que dans la dégradation des protéines (v. WOOD, 1953 ; v. STEWARD et POLLARD, 1957 ; v. YEMM et FOLKES, 1958 ; v. LOOMIS et STUMPF, 1958 a, b ; v. LOOMIS, 1958) où la glutamine, l'asparagine et les acides correspondants jouent un rôle capital (CHIBNALL, 1939 ; MC KEE, 1949 ; STREET, 1949 ; WAELSCH, 1952 ; MEISTER, 1956).

Si la formation de l'ammoniaque, dérivée de la protéolyse, de l'oxydation des amino-acides et des amides ou de la réduction des nitrates, apparaît comme la première étape des transformations des substances azotées dans les plantes, les acides glutamique et aspartique sont considérés comme les pivots de la synthèse des amino-acides (v. MOYSE, 1950 a). L'incorporation de l'azote inorganique ou de groupes NH_2 dans les amino-acides semble s'opérer exclusivement par l'action de la déshydrogénase de l'acide glutamique. Les différentes sortes d'acides aminés dérivent directement ou indirectement de l'acide glutamique par transamination (v. LOOMIS, 1958, p. 224). L'acide pyruvique, produit final de la glycolyse, et les acides α -cétoglutarique et oxaloacétique, composés intermédiaires du cycle tricarboxylique, entrent dans les réactions de transamination et sont à l'origine de la formation d'alanine et d'acide aspartique (premiers amino-acides à être formés ; v. MOYSE, 1950 b, p. 605 ; LOOMIS, 1958, p. 226). Les autres amino-acides (à noyau indole comme le tryptophane) sont vraisemblablement synthétisés à partir de chaînons carbonés d'origine glucidique et d'acides aminés par transamination et transpeptidation (v. LOOMIS et STUMPF, 1958, p. 249 à 273).

En conclusion, le rôle de l'acide glutamique dans les réactions d'amination et de transamination confère à ce composé une position unique comme médiateur entre le métabolisme de l'azote et celui du carbone.

La glutamine et l'asparagine jouent un rôle si important dans le métabolisme azoté des végétaux que nous en dirons brièvement quelques mots.

La synthèse de la glutamine et de l'asparagine à partir des acides correspondants, en présence d'ATP et d'un système enzymatique, a été démontrée par LEVINTOW et MEISTER (1954) et par VARNER et WEBSTER (1955), (v. LOOMIS, 1958, p. 228 à 243). Il est très probable que la synthèse de la glutamine soit liée à la dégradation des glucides non seulement par l'intermédiaire de précurseurs, comme les acides organiques, mais aussi par des mécanismes d'oxydo-réduction et de phosphorylation. Le rôle physiologique important de la glutamine dans le métabolisme des protéines est à chercher dans sa liaison directe avec les réactions exergoniques de la respiration cellulaire. Le rôle de la phosphorylation dans les échanges énergétiques du métabolisme cellulaire a conduit LIPMANN (1941, 1949) à suggérer que les dérivés phosphatés des amino-acides peuvent être des intermédiaires dans la formation des liaisons peptidiques.

L'asparagine est l'amide la plus stable et s'accumule dans les tissus où la protéolyse l'emporte sur la synthèse des protéines comme dans les feuilles sènes-

centes ou privées de nourriture (YEMM, 1956). Lorsque les glucides sont insuffisants, les amino-acides dérivés de la dégradation des protéines peuvent subir une oxydation rapide (VICKERY et coll., 1937 ; WOOD et coll., 1943, 1944 ; v. YEMM, 1958 a et v. p. 30). Dans ces conditions, il se forme de l'asparagine et de l'ammoniaque. Il semble que la disponibilité des sucres soit l'une des conditions décisives dans la formation de l'asparagine et de la glutamine. STEWARD et STREET (1946) pensent que les amides stables pourraient être une forme de réserves ayant lieu principalement lors de la protéolyse.

2. LE PROBLÈME

L'utilisation des réserves cotylédonaires (v. analyse bibliographique) par les organes en voie de croissance est un champ d'étude suffisamment vaste pour justifier à lui seul un chapitre particulier. Avant d'étudier l'action inhibitrice de l'ABIA sur les plantules du *Lens*, nous commencerons donc par analyser les variations de la croissance et des composés azotés (NP, NS, NT) au cours du temps, puis les variations du poids et de la teneur en eau des cotylédons en relation avec la dégradation des protéines et la distribution des composés azotés dans les organes en croissance.

3. PROBLÈMES TECHNIQUES

3.1. Matériel et méthodes

Nos essais ont porté sur des plantules entières du *Lens*.

Les semences sont imbibées 4 h. dans de l'eau distillée (récolte du premier lot de cotylédons, sans téguments, *au temps I*) puis sont mises à germer dans des boîtes de Petri (à l'obscurité et à 25° C) sur un papier filtre humide. Au bout de 36 h. environ, on trie les graines et on ne conserve que les plantules dont les racines mesurent $11 \text{ mm} \pm 0,5$. Les racines et les cotylédons sont alors récoltés *au temps 0*. D'autres lots de 30 germinations sont placés dans des petites boîtes de Petri (10 plantules par boîte). Au bout de 24, puis de 48 h., on mesure la longueur des racines. A l'aide d'une lame de rasoir, on coupe les plantules en trois lots : les cotylédons, les racines et les épicotyles. On détermine le poids frais, le poids sec (v. p. 5) et on analyse la teneur en azote protéinique et en azote soluble selon la méthode de KJELDAHL que nous avons décrite précédemment (v. p. 4). Nos essais ont porté sur 210 plantules, soit 7 essais de 30 plantules chacun.

Par rapport aux essais préliminaires, nous avons choisi des racines dont la longueur initiale est différente (11 mm au lieu de 2,5 mm). La sélection est plus efficace et la teneur en auxines endogènes de ces racines (plus âgées) est plus élevée (ce qui permet d'utiliser de l'ABIA à plus faibles concentrations pour obtenir une inhibition de croissance).

Nous avons adopté quatre temps différents au cours de la croissance : le *temps I*, après 4 h. d'imbibition (analyse des cotylédons ; le *temps 0*, lorsque les racines mesurent 11 mm (analyse des cotylédons et des racines) ; les *temps 24 et 48 h.* (analyse des cotylédons, des racines et des épicotyles).

Ce choix a été dicté par les considérations suivantes :

La croissance des racines est pratiquement linéaire dans l'intervalle de temps étudié (v. PILET et SIEGENTHALER, 1962) ; — après 48 h., des radicules prennent naissance sur les racines traitées par l'ABIA. Nous avons arrêté nos essais avant que les phénomènes de rhizogenèse puissent perturber nos résultats ; — l'activité mitotique des racines du *Lens* (MARGOT, thèse, 1956) présente un rythme journalier dont nous avons voulu tenir compte. Nous nous sommes efforcé d'autre part de commencer nos essais à la même heure de la journée bien que PILET (1951 a) et SEILER (1951) aient montré que la vitesse de croissance n'était pas liée à l'heure de départ de la germination.

3.2. Variabilité du matériel

La variabilité de la longueur des racines au cours de la croissance est reportée dans le *tableau I*. Pour obtenir une homogénéité satisfaisante, nous avons modifié la longueur de sélection des racines (v. p. 65), portée à 11 mm (sélection plus efficace).

3.3. Gradients de croissance

Pour établir des comparaisons entre la croissance des racines entières et les gradients biochimiques (v. p. 14), il nous paraît essentiel de connaître les variations relatives de la zone méristématique (mérésis) et de la zone d'élongation (auxésis) au cours de la croissance des racines intactes. Dans les deux travaux qu'il a consacrés aux gradients de croissance, PILET montre que le long d'une racine en voie d'allongement, le gradient de croissance est loin d'être uniforme (gradients statiques, 1960 f) et que, de plus, ces gradients se modifient au cours du temps (gradients dynamiques, 1961 c).

TABLEAU XI

Croissance partielle de différentes zones le long de l'axe racinaire

A : Valeurs en mm, d'après PILET (1960 f) L_0 : longueur initiale des zones ;

L_{24} : longueur après 24 h.

B : Nouvelle répartition des zones ; voir texte.

Répartition des zones radiculaires	L_0	L_{24}	$\Delta L = L_{24} - L_0$	Tissus *
A 0,00 - 0,50	0,50	0,72	0,22	C
0,50 - 1,00	0,50	3,02	2,52	M
1,00 - 2,00	1,00	13,04	12,04	E
2,00 - 4,00	2,00	2,73	0,73	D
4,00 - 8,00	4,00	4,51	0,51	D
B 0,00 - 0,25	0,25	0,25	0	C
0,25 - 0,75	0,25	0,47	0,44	M
0,75 - 2,00	0,25	2,55	14,34	E
2,00 - 8,00	2,00	2,73	1,24	D
	4,00	4,51		

* C : coiffe ; M : méristème ; E : élongation ; D : différenciation.

Ainsi une racine de 8 mm, divisée en 5 segments par des traits à l'encre de Chine, croît d'une longueur déterminée en 24 h. (PILET, 1960 f : fig. 4). Chacun de ces segments s'allonge différemment suivant son activité et son rôle physiologique. Dans le *tableau XI, A*, nous reportons les longueurs initiales (L_0) et les variations d'allongement ($L_{24}-L_0$), après 24 h., de cinq zones de l'axe racinaire (8,0 mm). Or ces zones sont hétérogènes (v. fig. 5) et sont constituées par des tissus dont les fonctions physiologiques sont différentes. Dans le *tableau XI, B*,

nous donnons une nouvelle répartition des zones (les longueurs initiales et les variations d'allongement après 24 h.) en tenant compte cette fois de la fonction physiologique des tissus et d'une étude histologique plus approfondie. L'établissement de ces nouvelles zones n'est cependant pas à l'abri d'un certain nombre de critiques :

1. La zone de 500 μ , choisie pour caractériser le méristème *sensu stricto*, peut sembler trop petite mais elle se justifie par le fait que le deuxième champ microscopique (v. MARGOT, thèse, 1956 : fig. 2, C) est déjà en partie hors de la zone des cellules isodiamétriques (nous avons d'ailleurs pris une marge de 170 μ) ;

2. Le méristème n'a jamais de limites précises ; de plus, son étendue et sa position varient avec l'âge ;

3. Nous avons supposé que les cellules méristématiques se divisaient de façon uniforme, ce qui n'est pas tout à fait le cas puisque l'index mitotique baisse à mesure qu'on s'éloigne du méristème proprement dit ;

4. Le début de la zone d'élongation est formé d'un certain nombre de cellules encore en voie de division.

Toutefois, nous pouvons admettre que le rapport des longueurs de la zone d'élongation et de la zone méristématique, dans une grande racine, est beaucoup plus élevé que dans une petite racine. Une petite racine représente donc mieux, dans son ensemble, les caractéristiques des tissus en voie de prolifération qu'une grande racine, formée essentiellement de tissus en voie d'élongation. Ces conclusions d'ordre physiologique confirment nos résultats biochimiques (PILET et SIEGENTHALER, 1962) et histologiques (v. p. 45). De plus, nous pourrions établir d'utiles comparaisons entre les fonctions physiologiques des racines d'âges différents et les gradients radiculaires.

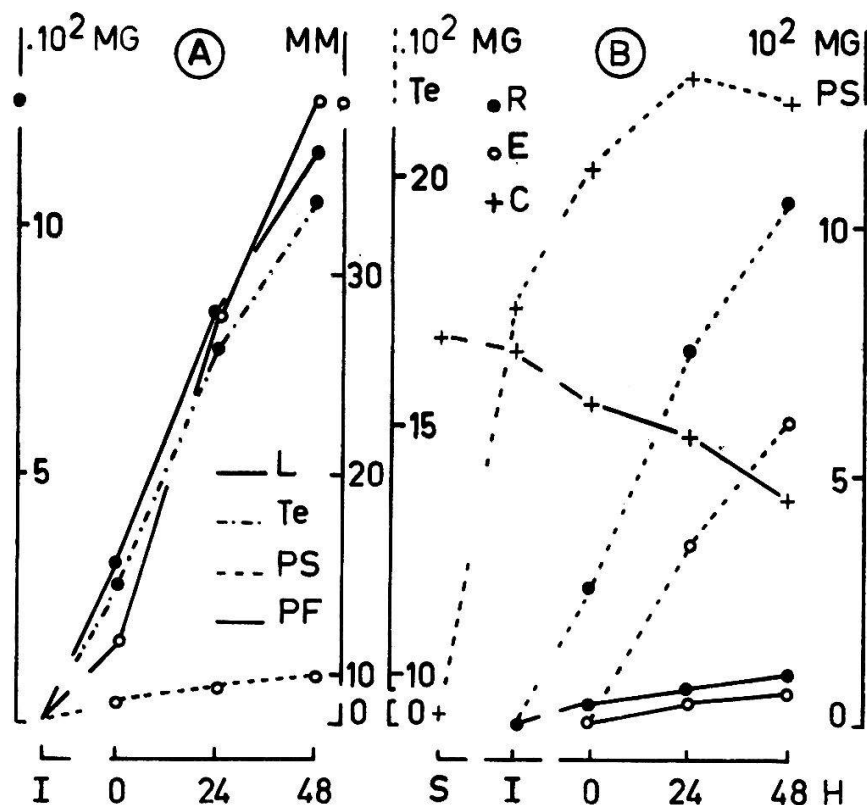


FIG. 8. — Variations de la teneur en eau (*Te*), du poids frais (*PF*), du poids sec (*PS*) et de la longueur (*L*) au cours de la croissance (de S à 48 h.)

A : étude comparative de quelques données macrophysiologiques des racines.
B : variations de *PS* et de *Te* pour des racines (R), pour des épicotyles (E) et des cotylédons (C). — (S = graines stockées).

4. LA CROISSANCE

4.1. *La croissance des racines et des épicotyles*

Les principaux résultats reportés dans la *figure 8* et le *tableau XII, A* montrent que :

- 1) *Pour les racines*, les variations de L, de Te et de PF sont très proches et semblent résulter du même phénomène (*fig. 8, A*). La croissance peut donc être caractérisée par la variation de l'une ou de l'autre de ces grandeurs ;

TABLEAU XII

Valeurs de la teneur en eau relative et du rapport NP/NS pour des cotylédons, des racines et des épicotyles au cours de la croissance

A : Teneur en eau par rapport au poids frais

B : Rapport NP/NS

Ces valeurs sont données en %.

	S*	I**	Temps (heures)		
			0	24	48
A	Racines ●	—	86,8	91,2	91,3
	Épicotyles ○	—	—	89,1	89,7
	Cotylédons +	10,5	51,2	56,6	59,8
B	Racines ●	—	57,8	48,8	39,7
	Épicotyles ○	—	—	71,0	40,7
	Cotylédons +	—	278,3	244,7	192,7

* Cotylédons stockés, avant l'imbibition.

** Cotylédons, après 4 h d'imbibition.

- 2) La teneur relative en eau (% par rapport à PF) augmente surtout pendant les 24 premières heures de la croissance, précisément lorsque la vitesse de croissance est la plus élevée ;
- 3) Exprimés en fonction de l'unité de longueur, PF ne subit aucune variation au cours du temps, Te augmente légèrement et PS diminue sensiblement les 24 premières heures pour rester constant jusqu'à 48 h. L'absorption d'eau explique mieux la forte croissance des racines que l'apport de matériaux constitutifs, ce qui confirme nos résultats antérieurs relatifs aux gradients (v. *fig. 1; E et D*).
- 4) *Les épicotyles* (+ les feuilles embryonnaires) ont une croissance plus tardive que les racines. Leur teneur relative en eau est la même que celle des racines et ne varie pratiquement pas au cours du temps.

4. 2. Utilisation des réserves

Avant d'étudier les variations de poids des cotylédons, une première remarque s'impose. Comme nous l'avons déjà mentionné (v. p. 76), le critère de sélection des plantules est la longueur des racines. Il est évident que pour une longueur déterminée les cotylédons n'auront pas forcément le même poids, ce qui pourra expliquer la variabilité relativement grande des résultats. La *figure 8, B* et le *tableau XII, A* montrent que PS diminue au cours de la croissance tandis que Te augmente très fortement pendant l'imbibition (de S à I) et passe par un maximum au bout de 24 h. Cette absorption d'eau entraîne un accroissement de PF jusqu'à 24 h.

En conclusion, les cotylédons se comportent, au cours de la croissance, comme des centres de distribution des matériaux nécessaires à la construction cellulaire des racines, des épicotyles et des feuilles et sont caractérisés par une forte teneur en matière sèche comparée à celle des organes périphériques (racines et épicotyles). L'absorption d'eau augmente sensiblement au cours de l'imbibition et de la croissance alors qu'elle varie peu dans les racines et les épicotyles.

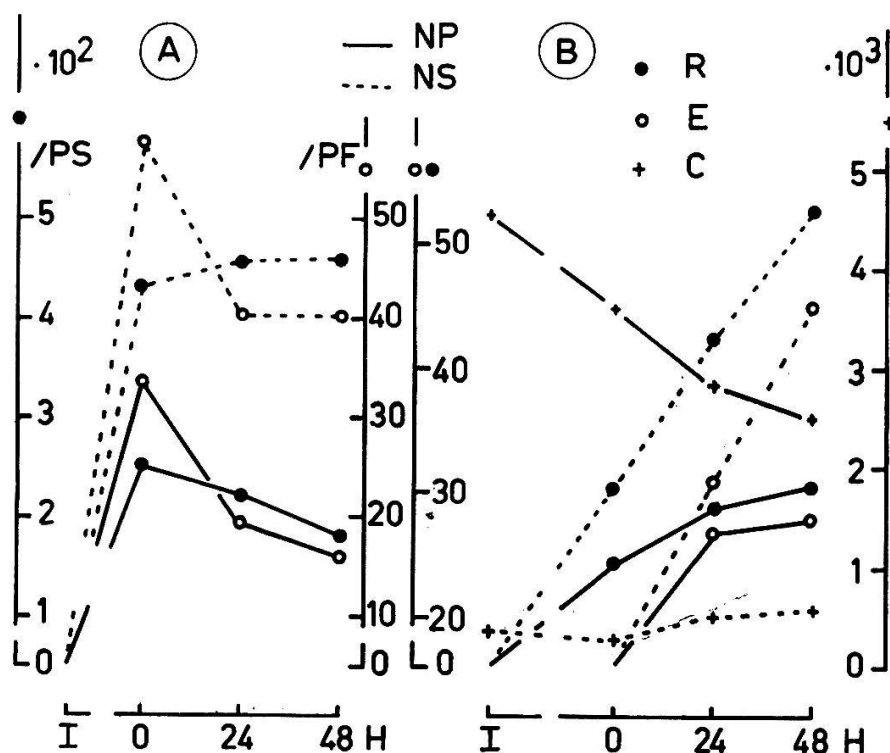


FIG. 9. — Variation de la teneur en azote protéinique (NP) et soluble (NS) de racines (R), d'épicotyles (E) et de cotylédons (C) au cours de la croissance (de I à 48 h)

A : valeurs d'N. pour des racines, en γ pour 10 mg de poids frais (/PF) et 10 mg de poids sec (/PS).

B : valeurs d'N en γ pour 30 individus.

5. LES VARIATIONS DES COMPOSÉS AZOTÉS

5.1. Les racines : figures 9 et 10 et tableau XII, B.

- 1) Par rapport à l'unité d'individu, NP et NS augmentent au cours de la croissance mais NS s'accroît beaucoup plus rapidement que NP, comme le montre la diminution du rapport NP/NS. La concentration de NS est respectivement 1,7 - 2,0 - 2,5 fois plus grande que celle de NP.
- 2) Par rapport au poids frais, NP diminue sensiblement au cours du temps tandis que NS ne décroît que pendant les 24 premières heures puis reste constant jusqu'à 48 h.
- 3) Par unité de poids sec, NP décroît au cours du temps alors que NS augmente très légèrement.

En conclusion, la croissance des racines est accompagnée d'une plus forte augmentation d'azote soluble que d'azote protéinique. Par rapport aux autres constituants cellulaires, la teneur en protéines diminue au profit, partiellement du moins, des composés azotés solubles.

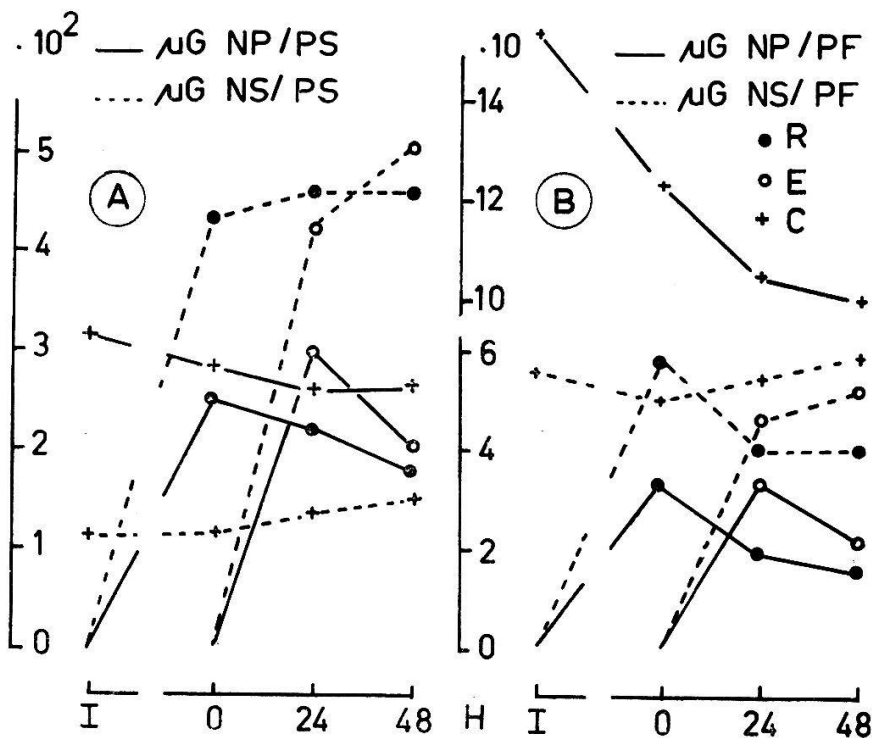


FIG. 10. — Variations de la teneur en azote protéinique (NP) et soluble (NS) de racines (R), d'épicotyles (E) et de cotylédons (C) au cours de la croissance (de I à 48 h)

Les valeurs sont rapportées à 10 mg de poids frais (μPF) et à 10 mg de poids sec (μPS).

5.2. Les épicotyles : figures 9, B et 10 et tableau XII, B.

- 1) Rapportés à l'unité d'individu, NP et NS augmentent au cours de la croissance. La quantité de NS est respectivement 1,4 -

2,4 fois plus grande que celle de NP (chiffres voisins de ceux de la racine).

- 2) En fonction de l'unité de poids frais, NP diminue très sensiblement au cours du temps (comme pour la racine) alors que NS augmente (contrairement à la racine).
- 3) Par rapport à l'unité de poids sec, NP diminue au cours de la croissance (comme pour la racine) mais NS augmente (et ceci d'une façon beaucoup plus sensible que dans la racine).

Pendant la croissance des épicotyles, l'accumulation des composés azotés solubles est donc plus forte que celle des protéines : le rapport NP/NS diminue au cours du temps. Par rapport aux autres constituants cellulaires, le taux en protéines diminue au profit des composés azotés solubles.

5.3. Utilisation des réserves : figures 9. B et 10 et tableau XII, B.

- 1) Rapporté à l'unité d'individu, le taux en protéines diminue fortement (surtout au début de la croissance), NS subit une réduction, puis s'accroît moins toutefois que pourrait le laisser supposer la protéolyse).
- 2) Par unité de poids frais, NP diminue fortement au début de la croissance et se stabilise entre 24 et 48 h; NS diminue entre I et 0 h pour augmenter et prendre à 48 h une valeur plus grande qu'au temps I.
- 3) Par unité de poids sec, NP diminue jusqu'à 24 h puis augmente faiblement tandis que NS s'accroît au cours du temps (surtout de 0 à 48 h).

En conclusion, la croissance est accompagnée, chez les cotylédons, d'une protéolyse importante et d'une nette diminution de l'azote total. L'azote soluble résultant de la protéolyse est d'une part accumulé dans les cotylédons, d'autre part véhiculé dans les organes périphériques. En admettant que la réduction de l'azote total des cotylédons au cours de la croissance est due essentiellement à la protéolyse, on peut calculer que la diminution en protéines (6,25. 14,722 mg) représente le 31 % de la perte de poids sec; le reste est dû, en particulier, à une amylolyse.

6. DISCUSSION ET CONCLUSIONS

La croissance des plantules du *Lens* (au cours du temps étudié) peut être caractérisée par trois périodes distinctes correspondant à l'apparition des racines (de I à 0 h), à la naissance des épicotyles (de 0 à 24 h), à la croissance de ces organes (de 24 à 48 h), elle-même formée d'un certain nombre de phases (PILET, 1953 a; 1954 b et v. p. 59).

Nous les examinerons séparément.

Première période. La diminution du poids sec des cotylédons est accompagnée d'une forte absorption d'eau (amorcée pendant l'imbibition) qui assure l'hydrolyse des réserves, en particulier des protéines (*tableau XIII*), résultats qui confirment ceux de CHIBNALL (v. p. 74). La protéolyse n'est pas suivie d'une accumulation de composés azotés solubles, comme on pourrait s'y attendre, mais d'une réduction (faible il est vrai) du taux en amino-acides et en peptides solubles. La diminution des composés azotés (qui peut être considérée comme le reflet de la migration de ces substances), est plus rapide que celle des autres réserves (v. les variations de NT/PS). Elle indique que l'apparition des racines entraîne une utilisation plus intense des substances quaternaires.

TABLEAU XIII

Bilan des composés azotés pour des plantules du « Lens » au cours de leur croissance

Composés azotés en γ *	Temps (heures)			
	I	0	24	48
<i>Cotylédons (C)</i>				
NP / 30 C	52 453	45 134	38 707	35 803
NS / 30 C	18 844	18 448	20 037	20 772
NT / 30 C	71 297	63 582	58 794	56 575
NT / 10mg PS	430,3	410,7	395,7	416,8
<i>Racines (R)</i>				
NP / 30 R	—	1 054	1 618	1 822
NS / 30 R	—	1 822	3 314	4 591
NT / 30 R	—	2 876	4 932	6 413
NT / 10mg PS	—	685	680	642
<i>Epicotyles (E)</i>				
NP / 30 E	—	—	1 347	1 482
NS / 30 E	—	—	1 896	3 645
NT / 30 E	—	—	3 243	5 127
NT / 10mg PS	—	—	721	733
NT/30 plantules	71 297	66 458	67 069	68 115

* NP : azote protéinique; NS : azote soluble; NT : azote total.

La forte augmentation des composés azotés dans les racines est liée à l'état physiologique de ces organes (faible vitesse de croissance) et paraît indispensable à la prolifération cellulaire. Comme nous l'avons montré précédemment (v. p. 51), les racines entières sont caractérisées par les propriétés des tissus dont l'activité est la

plus forte (ici, intense prolifération cellulaire); nous trouvons, à l'instar des gradients radiculaires (v. p. 22), une relation étroite entre l'activité mitotique et la forte teneur en protéines. La biogenèse des protéines dans les racines est accompagnée d'une forte augmentation des composés solubles qui s'effectue à un rythme plus rapide que l'accumulation des composés ternaires. L'apport des composés azotés dans les racines correspond précisément aux changements intervenus dans les cotylédons. En outre, la migration relativement faible des composés ternaires confirme les résultats trouvés au niveau de la pointe de la racine (v. p. 30) où la biogenèse des constituants de la membrane semble moins intense pendant la mérisis que lors de l'auxésis.

Deuxième période. Les phénomènes observés dans les cotylédons sont pratiquement les mêmes que pendant la période précédente. Le poids sec diminue et les phénomènes d'absorption d'eau et de dégradation des protéines se poursuivent. L'accumulation des composés azotés solubles dans les cotylédons est liée à une diminution du transport de ces substances.

Cette période est marquée par deux phénomènes (la croissance des racines d'une part et l'apparition des épicotyles d'autre part) qu'il est difficile de dissocier quant aux conséquences qu'ils peuvent avoir sur les cotylédons. La naissance des épicotyles, caractérisée aussi par une intense prolifération cellulaire, est accompagnée d'une forte protéosynthèse et d'une accumulation de composés azotés solubles. En conséquence, la distribution des réserves est modifiée. La migration des composés ternaires s'accroît tout en restant encore inférieure à celle des composés quaternaires. Les racines, qui utilisent une grande partie des glucides pour élaborer les composés pectiques et celluliques de leurs membranes cellulaires, sont vraisemblablement à l'origine de ces modifications. Nous avons montré (v. p. 24) qu'à ce stade de la croissance des racines la teneur en protéines par rapport aux autres constituants cellulaires diminuait non seulement par réduction de la protéogénèse mais aussi par accroissement de la protéolyse. La variation du rapport NP/NS (v. *tableau XII, B*) indique que la protéolyse est encore dominante.

Nous ne connaissons pas les variations correspondantes du taux en glucides et de l'intensité respiratoire. Mais si la comparaison entre les racines entières en voie d'allongement et les zones d'élongation de l'axe radiculaire est aussi valable pour ces grandeurs, nous avons le droit de supposer que le QR et l'IR diminuent (comparaison que nous avons d'ailleurs justifiée pour la croissance, la teneur en composés azotés et en auxines, v. p. 51 et PILET et SIEGENTHALER, 1962). Il est possible alors de suggérer que les amino-acides deviennent le principal substrat respiratoire (comme l'ont montré les

auteurs cités à la page 76) tandis que les glucides sont utilisés plutôt pour la synthèse des polyholosides. C'est ce que nous avons fait remarquer à propos de la zone d'élongation des gradients radiculaires (v. p. 30).

Troisième période. La croissance des racines et des épicotyles où les phénomènes d'auxésis l'emportent sur ceux de mérisis est la caractéristique marquante de cette période. Certains processus, amorcés pendant la période précédente, s'accroissent tandis que d'autres s'atténuent.

Le poids sec des cotylédons continue à décroître tandis que l'absorption d'eau (maximale à 24 h) diminue et entraîne une nette réduction de la protéolyse. La rétention des composés azotés solubles s'accroît. Le transport des composés ternaires devient plus important que celui des substances quaternaires. Ces changements sont la cause (ou la conséquence ?) d'une orientation nouvelle des processus métaboliques des organes périphériques.

Dans les racines et les épicotyles, la protéosynthèse continue à s'accroître mais plus faiblement que pendant la deuxième période tandis que les métabolites azotés solubles s'accumulent en grande quantité. Tout se passe comme si les organes périphériques, à ce stade de leur croissance, utilisaient davantage de composés carbonés (tels les glucides) que de composés azotés. Ces changements dans la demande en réserves (et leur utilisation) sont à mettre en rapport avec les phénomènes d'auxésis. Les composés ternaires sont indispensables pour assurer les remaniements des membranes au cours de l'élongation et de la différenciation cellulaire.

Un phénomène reste encore inexpiqué. Comment se fait-il que, dans les organes périphériques, la protéosynthèse soit de moins en moins active au cours du temps alors que les composés azotés solubles ne cessent de s'accumuler régulièrement ?

Tenant compte de la dégradation des réserves dans les cotylédons et de leur distribution dans les organes en croissance, voici les suggestions que nous pouvons faire :

- 1) A la suite des travaux de PAECH (1935), nous savons que la régénération des protéines dans les organes en voie de croissance dépend non seulement de la vitesse à laquelle les chaînons carbonés et les composés azotés arrivent, par migration, dans les organes de la plantule mais encore des quantités respectives de glucides et d'azote actif. Nous avons vu d'autre part (CHIBNALL, 1939) que la synthèse des nouvelles protéines nécessitait l'introduction, dans le cycle protéinique, de chaînons carbonés nouveaux dont l'origine est différente de ceux qui proviennent des protides. Au cours de la troisième période, les phénomènes d'auxésis, qui l'emportent sur ceux de mérisis,

nécessitent une participation accrue des glucides à l'élaboration des composés pectiques (et cellulosiques) des membranes cellulaires. La carence de chaînons carbonés disponibles contribue à atténuer la protéosynthèse et entraîne une accumulation de composés azotés sous forme soluble. Ces amino-acides, ces amides (asparagine surtout, v. p. 76) et ces peptides constituent une réserve d'azote.

2) Nous pouvons adopter un autre point de vue.

Les amino-acides en provenance des cotylédons suivraient des voies différentes. Les uns seraient oxydés et dégradés directement (nous avons vu qu'à ce stade de la croissance les amino-acides pouvaient fonctionner comme substrat énergétique); les autres, par des interconversions et des transaminations avec les squelettes carbonés fournis par le catabolisme glucidique, se transformeraient en nouveaux amino-acides qui, à leur tour, participeraient à la synthèse des protéines en entrant dans le « cycle protéinique » (v. analyse bibliographique p. 74). L'azote soluble accumulé dans les organes périphériques pourrait résulter non pas des amino-acides d'origine primaire mais de la dégradation de ces protéines. La diminution du rapport NP/NS correspond précisément à une protéolyse dominante.

Aucun fait décisif ne nous permet cependant de choisir entre l'une ou l'autre de ces interprétations. Il est même probable que ces phénomènes se passent simultanément. Nous nous proposons de compléter ultérieurement ces résultats par l'analyse des amino-acides libres et constituant les protéines, par l'étude du métabolisme glucidique et des échanges respiratoires.

III. ABIA, CROISSANCE ET MÉTABOLISME AZOTÉ

A. ACTION DE L'ABIA SUR LA CROISSANCE

1. LE PROBLÈME

Un traitement auxinique se traduit par une perturbation des facteurs endogènes propres au cytoplasme cellulaire. Les variations de la croissance (longueur, poids frais), qui sont la résultante de toutes les modifications de chacune des composantes du métabolisme, présentent l'avantage d'être relativement faciles à mesurer.

De nombreux travaux sont consacrés à l'étude des variations d'allongement sous l'effet des substances de croissance (v. p. 58). La recherche de différents tests biologiques, sensibles à l'action des substances de croissance et permettant de doser les hormones endogènes, a contribué dans une large mesure à préciser ce problème (v. PILET, 1961 a, p. 77 à 92).

L'effet de l'ABIA sur la croissance dépend non seulement de la concentration et de la durée du traitement (voir par exemple PILET, KOBR et SIEGENTHALER, 1960) mais aussi de l'état auxinique endogène du tissu au moment du traitement (v. PILET, 1961 a, p. 443 à 446 et 594 à 596). D'innombrables facteurs, dont quelques-uns seulement sont connus, agissent sur la quantité d'auxines endogènes d'un tissu. Certaines molécules d'auxines sont détruites par les auxines-oxydases, d'autres restent non dégradées ou non disponibles (emprisonnées dans des édifices chimiques). Au contraire, des molécules actives peuvent prendre naissance à partir de précurseurs (comme le tryptophane, etc.) présents dans la cellule ou peuvent encore être véhiculées à partir de régions où la biogenèse auxinique est importante.

Il est dès lors facile de comprendre les bouleversements provoqués par un apport extérieur d'ABIA qui vont se traduire par une modification de la croissance et par une rupture des équilibres biochimiques. Les réponses aux traitements à l'ABIA vont dépendre évidemment de l'état auxinique endogène (v. p. 59). Ainsi la croissance d'un tissu âgé (contenant une quantité appréciable d'hormones endogènes) est généralement inhibée par un traitement aux substances de croissance, même à faibles concentrations. Au contraire, la croissance d'un tissu jeune (contenant peu d'auxines) est activée par de faibles concentrations d'ABIA et inhibée par des concentrations plus élevées (PILET, 1951 a).

On a tout d'abord rendu compte de ces faits par la théorie de la dose sus-optimale (v. p. 59) ; ces processus d'action auxinique ont été précisés par des analyses biocinétiques (BONNER et FOSTER, 1956 ; v. PILET, 1961 a, p. 252 à 268). Mais d'autres chercheurs (AUDUS et SCHIPTON, 1952 ; LIBBERT, 1955, 1957, cités par HEMBERG, 1961, p. 1176) ont émis l'hypothèse que la croissance est réglée par une substance inhibitrice qui peut être affectée par les auxines.

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

Le matériel est préparé comme précédemment (v. p. 76). Les traitements à l'ABIA (1.10^{-8} M, 1.10^{-6} M et 1.10^{-4} M) sont appliqués lorsque les racines des plantules du *Lens* ont une longueur de 11 mm \pm 1 (temps 0). Après 24 et 48 h., on procède aux mesures de longueur et de poids et à l'analyse des composés azotés (v. p. 4).

3. LES RACINES

3.1. Mesures d'allongement : figure 11.

1. Les traitements auxiniques utilisés inhibent l'élongation des racines et ceci d'autant plus fortement que la concentration d'ABIA est plus élevée.

2. L'inhibition, forte au début (entre 6 et 12 h.), diminue au cours du temps.

3. Au bout de 72 h., les traitements par de l'ABIA à 1.10^{-8} M et 1.10^{-6} M ne sont pratiquement plus inhibiteurs, tandis que pour la concentration de 1.10^{-4} M l'inhibition de l'élongation est encore très sensible.

Ces résultats sont conformes aux observations de nombreux auteurs (PILET, 1951 a, 1961 a; BURSTRÖM, 1953; TORREY, 1956; ABERG, 1957). Reprenons chacune des quatre phases de la croissance (PILET, 1951 a; v. p. 59) et examinons les conséquences des traitements à l'ABIA sur l'élongation des racines :

phase I, la croissance est faible (de I à 0 h);

phase II, accélération de la croissance jusqu'à un optimum.

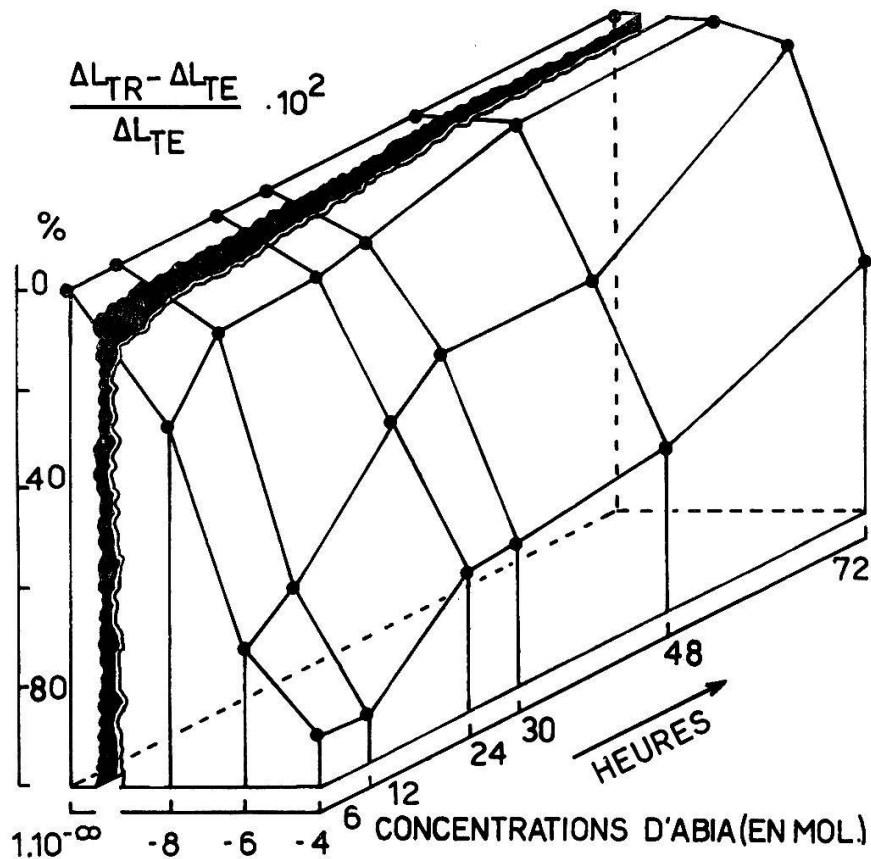


FIG. 11. — Action de traitements à l'ABIA sur l'allongement de racines intactes. Le % d'allongement est donné en fonction de la concentration d'ABIA et de la durée des essais (de 0 à 72 h).

L'élongation des racines témoins, au cours du temps étudié (72 h), a lieu entièrement pendant cette phase. Au moment du traitement, les racines se trouvent au début de cette phase, ce qui correspond à une dose sous-optimale d'hormones endogènes;

phase III, réduction de croissance.

Les traitements auxiniques font passer directement les racines à cette phase, ce qui correspond à une dose sus-optimale d'auxines endogènes et provoque l'inhibition de la croissance par rapport aux témoins;

phase IV, apparition des radicelles.

Nous avons arrêté nos essais avant cette phase. Mais des essais préliminaires ont montré, qu'après 72 h, l'apparition des radicelles est d'autant plus précoce que la concentration d'ABIA du traitement est plus élevée.

Ces constatations suggèrent qu'un traitement inhibiteur abrège ou accélère la succession de ces différentes phases.

Ayant déjà abordé les problèmes que pose la réduction de l'inhibition de l'allongement avec le temps (v. p. 68), nous ne discuterons ici qu'un seul point relatif à la dégradation rapide des composés indoliques au cours du temps. PILET (1961 e) et ATHANASIADÈS-MERCANTON (thèse) ont montré qu'en solution aqueuse l'ABIA s'inactive progressivement et ceci d'autant plus rapidement que la concentration initiale est plus faible. Par exemple, une solution contenant 50 γ /ml, maintenue à 25° C et à l'obscurité, est complètement dégradée au bout de 5 jours. Les solutions actives que nous utilisons (1.10^{-8} M, 1.10^{-6} M et 1.10^{-4} M) contiennent respectivement 0,00175 γ , 0,175 γ et 17,5 γ d'ABIA par millilitre. On peut donc supposer que la dégradation de ces solutions sera encore plus rapide. Les courbes obtenues dans la figure 12, A permettent de suggérer que l'activité est moins forte après 6 heures pour les solutions à faibles concentrations (1.10^{-8} M et 1.10^{-6} M) et après 12 heures pour la concentration de 1.10^{-4} M. Notons enfin que la levée d'inhibition,

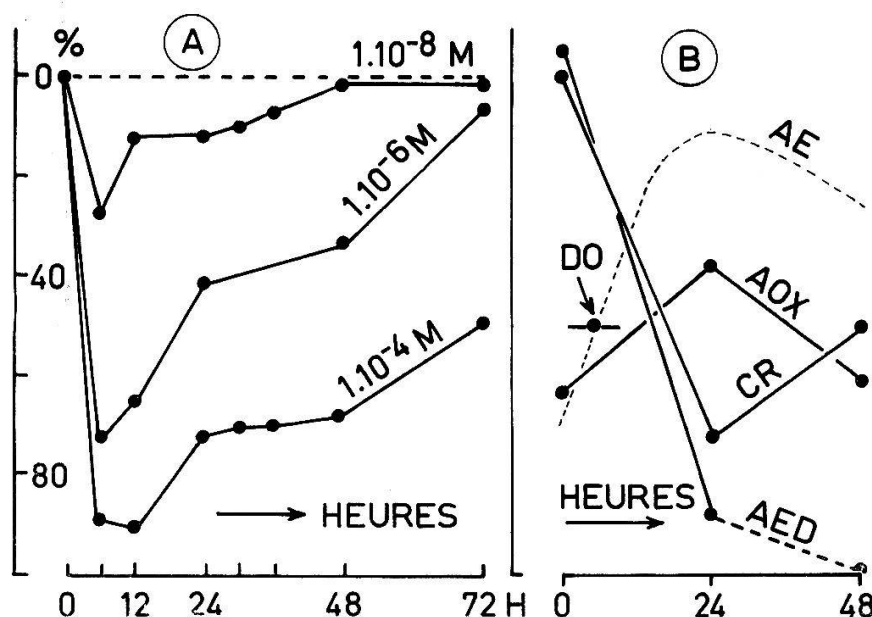


FIG. 12. — A. Variations d'allongement de racines intactes traitées par de l'ABIA. Le % d'inhibition (v. formule FIG. 11) est donné en fonction de la durée des essais (de 0 à 72 h) pour trois concentrations d'ABIA.

B. Étude comparative des variations de quelques grandeurs (schéma explicatif). Voir texte.

AE: teneur supposée en auxines endogènes (DO: dose optimale);
CR: croissance; AOX: activité auxines-oxydasique; AED: disparition de l'ABIA exogène.

à partir de 6 heures, est forte pour une concentration de 1.10^{-8} M, plus faible pour une concentration de 1.10^{-6} M et inexistante pour la concentration de 1.10^{-4} M, où l'inhibition n'est levée qu'à partir de 12 heures. Ces faits prouveraient, par une voie physiologique, les observations réalisées par voie physico-chimique, à savoir que la dégradation de l'ABIA est d'autant plus forte et rapide que la solution active est moins concentrée.

Nous avons réalisé à ce propos une nouvelle expérience qui permet de préciser les causes de la réduction de l'inhibition au cours du temps. Décrivons tout d'abord notre méthode.

On détermine pendant 24 heures la disparition de l'ABIA (solutions d'ABIA 1.10^{-4} M, à l'obscurité) en valeurs d'indice colorimétrique pour des conditions différentes :

1. A basse température (+ 3° C) dans un ballon jaugé ;
2. A + 25° C, dans une petite boîte de Petri (5 ml de solution par boîte) contenant un papier filtre ;
3. A + 25° C, dans une petite boîte de Petri contenant un papier filtre sur lequel sont placées 10 plantules du *Lens* dont les racines mesurent initialement $11 \text{ mm} \pm 1$.

A cet effet, on mélange 1ml de solution d'ABIA à 1 ml d'eau et à 8 ml de réactif de Salkowski modifié (v. p. 7). Les indices colorimétriques sont déterminés à l'aide du photolorimètre de Klett-Summerson (v. p. 8). La sensibilité de la réaction de Salkowski ne permet pas de réaliser les mêmes expériences pour des concentrations d'ABIA plus faibles, ce qui prouve une fois de plus qu'un test biologique est beaucoup plus sensible que le test chimique de Salkowski. Les résultats sont reportés dans le *tableau XIV*.

TABLEAU XIV

Disparition de l'ABIA exogène en présence de plantules du « Lens »

Indices colorimétriques d'une solution d'ABIA (1.10^{-4} M) maintenue à + 3° C, en fonction de la durée de l'expérience (de 0 à 24 h) (A), dans une étuve à 25° C avec (C) ou sans (B) plantules du *Lens*. D = (B - C) : disparition de l'ABIA exprimée en valeurs d'indices colorimétriques.

Heures	A	B	C	D
0	105	105	105	0
2	—	104	92	12
4	—	105	82	23
6	—	104	74	30
8	—	106	70	36
10	—	105	56	49
12	—	105	35	70
24	104	105	12	93

- 1) Une solution d'ABIA (1.10^{-4} M) conservée à basse température ou à 25° C, dans un ballon jaugé ou dans une boîte de Petri, ne subit aucune dégradation (sensible au réactif de Salkowski) pendant les 24 premières heures. L'hypothèse selon laquelle

la dégradation physico-chimique de l'ABIA pourrait être à l'origine de la réduction de l'inhibition au cours du temps n'est donc plus soutenable.

- 2) La présence des plantules dans la solution active est la cause principale de la disparition de l'ABIA.
- 3) Certains systèmes enzymatiques (diffusant dans le milieu) pourraient être responsables de la destruction de l'ABIA exogène. Mais l'activité auxines-oxydasique dans le milieu est si faible qu'elle ne suffit pas à rendre compte de la réduction de l'inhibition après 6 et 12 h.
- 4) On peut donc admettre que, dans une première étape, l'ABIA pénètre dans les plantules (par les racines surtout) où il provoque une augmentation de la quantité d'auxines endogènes jusqu'à une dose (sus-optimale) qui entraîne l'inhibition de l'élongation. Cette pénétration de nature physique tout d'abord ne semble pas être un phénomène uniquement passif (v. VAN OVERBEEK, 1956) puisque l'activité auxines-oxydasique endogène des racines augmente d'autant plus que la concentration d'ABIA exogène est plus élevée (v. p. 107). L'entrée de l'ABIA dans les tissus est donc aussi un phénomène placé sous le contrôle de réactions métaboliques (v. p. 103) et enzymatiques (l'activité auxines-oxydasique augmente). Dans une deuxième étape, l'accroissement de l'activité auxines-oxydasique (qui provoque une baisse de la teneur en auxines endogènes) et la diminution de la concentration d'ABIA exogène sont les causes de la levée d'inhibition, qui est d'autant plus tardive et lente (v. *fig. 12, A* : pente des courbes) que la concentration initiale de l'ABIA est plus forte. Nous avons résumé ce point de vue dans la *figure 12, B*, où nous proposons un schéma des processus observés. Nous assistons à une véritable auto-défense de la racine contre l'envahissement de ses tissus par l'ABIA. Sans le discuter pour l'instant, notons ce phénomène d'adaptation enzymatique sur lequel nous reviendrons plus loin (v. p. 111).
- 5) Comme nous l'avons mentionné dans la première partie (v. p. 4), l'utilisation de solutions d'ABIA non tamponnées ne présente pas d'inconvénients majeurs.

La variabilité des résultats reste encore à discuter. Nous avons reporté dans le *tableau I*, l'écart-type σ (ou erreur quadratique) ainsi que l'erreur moyenne de la moyenne (EM) pour les mesures effectuées au bout de 24 et 48 h., temps après lesquels nous avons récolté le matériel. Les erreurs pour les autres mesures étant du même ordre, nous n'avons pas jugé utile de les relever ici. Les résultats obtenus (suivant les concentrations d'ABIA, nous avons effectué des mesures de longueur sur 13 à 18 lots de 30 racines chacun) sont *significatifs* ; le choix de la longueur comme critère de sélection est donc acceptable.

3.2. Autres données macrophysiologiques.

Nous analyserons ici l'action de l'ABIA sur les variations du poids frais, du poids sec et de la teneur en eau des racines (*tableau XV*) :

- 1) Quelle que soit la concentration d'ABIA des traitements, on enregistre une augmentation de PF, de PS, de Te (*fig. 13*) et de L au cours du temps. Les variations de PS sont les plus faibles mais sont par contre les moins perturbées par un traitement auxinique (*tableau XV, B*).

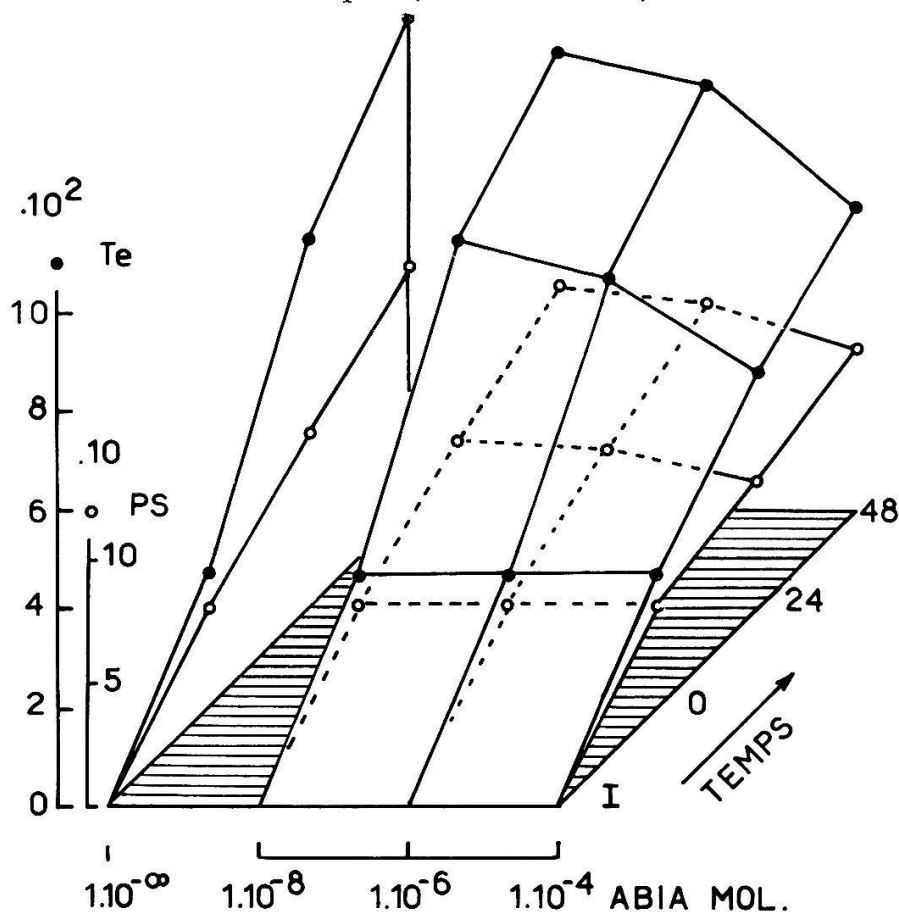


FIG. 13. — Variations du poids sec (PS) et de la teneur en eau (Te) de racines intactes

Les valeurs sont données en mg pour 30 racines, en fonction de la durée du traitement (de I à 48 h) et de la concentration d'ABIA.

- 2) Un traitement auxinique inhibe les variations de PF, de PS et de Te, et ceci d'autant plus fortement que la durée du traitement est plus longue. L'inhibition de l'élongation est toujours la plus forte quelles que soient la durée et la concentration d'ABIA du traitement. L'inhibition de PS, au contraire, est toujours la plus faible, à l'exception du lot traité à la concentration de 1.10^{-8} M. Quelle que soit la concentration d'ABIA appliqué, la teneur en eau relative (/PF) ne subit aucune modification appréciable (*tableau XV, A*).

En conclusion, l'inhibition qu'entraîne l'ABIA est différente suivant les critères étudiés et l'on ne peut plus caractériser la croissance, comme dans le cas des « témoins », indifféremment par le poids frais ou l'élongation des racines. En effet, les variations de l'allongement sont beaucoup plus sensibles à un traitement auxiliaire que celles du poids frais et surtout du poids sec.

4. LES ÉPICOTYLES : *tableau XV, A.*

TABLEAU XV

Quelques données macrophysiologiques de racines et d'épicotyles intacts

A: Valeurs relatives en % (du témoin TE) après 24 et 48 h de traitements à l'ABIA (concentrations variables).

B: Les données au temps 0 sont égales à 100.

Les valeurs () concernent les épicotyles.

Heures	Données	Concentrations d'ABIA (1.10^{-x} M)			
		$x = \infty$	$x = 8$	$x = 6$	$x = 4$
A 24	Poids frais	—	—1,0	—10,8	—34,9
	Poids sec	—	—5,2	— 9,9	—27,9
	T. en eau	—	—0,6	—10,9	—35,6
	Longueur	—	—5,7	—19,6	—47,0
	% Te/PF *	91,2(89,1)	91,6	91,1	90,3
48	Poids frais	—	—	—17,4(—3,6)	—40,7(—20,6)
	Poids sec	—	—	—16,3(—3,4)	—34,1(—16,4)
	T. en eau	—	—	—17,5(—3,6)	—41,3(—21,1)
	Longueur	—	—	—33,9	—53,7
	% Te/PF *	91,3(89,7)	—	91,2(89,7)	90,4(89,2)
B 24	Poids frais	259	256	231	168
	Poids sec	173	164	155	124
	T. en eau	272	271	243	175
	Longueur	263	248	211	139
48	Poids frais	361	—	298	214
	Poids sec	238	—	199	157
	T. en eau	380	—	313	223
	Longueur	363	—	240	168

* Teneur en eau relative par rapport au poids frais.

A 48 h, l'inhibition de PF, de PS et de Te est faible et du même ordre de grandeur. Toutefois, comme pour les racines, l'inhibition de PS est moins accentuée pour un traitement à l'ABIA à

1.10^{-4} M que celle de PF et de Te. La variation de la teneur en eau relative ($/PF$) ne subit pas de modification sensible sous l'effet d'un traitement auxinique.

5. UTILISATION DES RÉSERVES

Une étude statistique a montré que seuls les résultats (PF, PS et Te) obtenus après 24 et 48 h, pour un traitement à l'ABIA à 1.10^{-4} M, étaient significatifs (par rapport aux « témoins »). On peut l'expliquer par le temps bref pendant lequel nous analysons les variations de poids. Il est évident qu'un traitement par de l'ABIA (surtout à faibles concentrations) ne peut provoquer des variations sensibles qu'au bout d'un temps plus long. Toutefois, nous constatons qu'un traitement par de l'ABIA à 1.10^{-4} M freine la perte de matière sèche des cotylédons mais ne modifie pas les phénomènes d'absorption d'eau.

Nous discuterons l'ensemble de ces résultats plus loin (v. p. 98).

B. ACTION DE L'ABIA SUR LE MÉTABOLISME AZOTÉ

1. LE PROBLÈME

Les quelques travaux que nous avons analysés (v. p. 58) suggèrent que les auxines agissent non seulement sur la croissance mais sur le métabolisme de tous les tissus. On peut donc s'attendre qu'un traitement par des substances de croissance soit la cause de profonds changements dans le métabolisme des glucides, des composés azotés, des constituants des membranes cellulaires et dans les échanges respiratoires.

Si dans l'ensemble on constate une certaine unanimité d'opinions quant à l'action des auxines sur la croissance, la respiration et la teneur en glucides, il faut bien reconnaître que les résultats concernant les variations des composés azotés sont souvent contradictoires.

La fin de ce chapitre apporte une contribution à ce problème et est consacrée, plus particulièrement, à l'action de *fortes concentrations d'ABIA* sur le métabolisme azoté.

2. LES RACINES

Les résultats permettent de faire les constatations suivantes :

- 1) Par rapport à 30 racines, NP et NS augmentent au cours du temps mais les variations sont différentes suivant la concentration et la durée du traitement par de l'ABIA. L'inhibition est d'autant plus forte que l'ABIA est plus concentré (pendant les 24 premières heures surtout). Après 48 h, elle s'accroît pour NS et diminue pour NP. L'inhibition de NS

TABLEAU XVI

Azote protéinique (NP) et azote soluble (NS) de racines et d'épicotyles intacts, en fonction de la durée et de la concentration d'ABIA du traitement

A: Valeurs en % du témoin (TE).

B: Valeurs en %, (pour des racines).

C: Valeurs d'N en γ , pour des épicotyles, par rapport au poids frais et au poids sec.

Heures	Données	Concentrations d'ABIA (1.10^{-x} M)				
		$x = \infty$	$x = 8$	$x = 6$	$x = 4$	
A	24	NP/30 Rac.	—	—9,1	—14,4	—17,0
		NS/30 Rac.	—	—4,5	—11,1	—21,2
	48	NP/30 Rac.	—	—	— 6,7(— 2,6)	—15,3(+ 1,7)
		NS/30 Rac.	—	—	—15,0(—14,3)	—29,5(—26,4)
B	0	NP	57,8	—	—	—
	24	NS . 100	48,8(71,0)	46,5	46,9	51,4
	48		39,7(34,8)	—	43,5 (46,2)	47,6 (56,2)
C	24	NP/10mg PF	33,3	—	—	—
		NS/10mg PF	46,9	—	—	—
		NP/10mg PS	301	—	—	—
		NS/10mg PS	424	—	—	—
	48	NP/10mg PF	21,9	—	22,5	28,8
		NS/10mg PF	52,3	—	47,4	47,9
		NP/10mg PS	211	—	215	261
		NS/10mg PS	505	—	455	440

Les valeurs () concernent les épicotyles.

devient supérieure à celle de NP (*tableaux XVI, A et XVII*). En outre, l'inhibition des fractions azotées est moins forte que celle de PF, de PS, de Te et de L.

- 2) Le rapport NP/NS diminue au cours du temps et ceci d'autant moins que les concentrations d'ABIA sont plus élevées (*tableau XVI, B*).
- 3) Par rapport au poids frais et au poids sec, NP diminue en fonction du temps mais d'autant moins rapidement que l'ABIA est plus concentré. NS, au contraire, augmente au cours du temps et ceci d'autant plus que la concentration d'ABIA est plus élevée (*fig. 14*).

En conclusion, l'ABIA inhibe moins fortement les fractions azotées que PF, PS, Te et L. Par rapport aux autres constituants cellulaires (PS), il stimule l'accumulation des composés azotés solubles et des protéines (par rapport aux TE).

TABLEAU XVII

Teneurs en azote protéinique et soluble de racines entières traitées par de l'ABIA (concentrations variables)

Valeurs rapportées à 30 racines (R), à 10 mg de poids frais (PF) et à 10 mg de poids sec (PS) après 24 et 48 h de traitement. Les données au temps 0 sont égales à 100.

Heures	Données	ABIA 1.10^{-x} M			
		$x = \infty$	$x = 8$	$x = 6$	$x = 4$
24	NP/R	153	140	131	127
	NP/PF	59	56	57	75
	NP/PS	88	89	85	103
	NS/R	182	174	162	143
	NS/PF	70	71	70	80
	NS/PS	105	107	104	111
48	NP/R	173	—	161	146
	NP/PF	48	—	57	70
	NP/PS	72	—	83	94
	NS/R	252	—	214	178
	NS/PF	70	—	74	84
	NS/PS	106	—	109	113

3. LES ÉPICOTYLES : *tableau XVI.*

L'ABIA n'a aucune action sur NP mais inhibe fortement NS. Au cours du temps NP est moins inhibé que PF et PS tandis que NS l'est davantage. Par rapport au poids frais ou sec, un traitement par de l'ABIA atténue la diminution de NP enregistrée chez les « témoins » tandis que NS augmente moins rapidement. Le rapport NP/NS diminue au cours du temps et ceci d'autant moins que l'ABIA est plus concentré.

4. UTILISATION DES RÉSERVES : v. *figure 15 et tableau XVIII.*

- 1) L'ABIA freine l'hydrolyse des protéines et accélère, pendant les 24 premières heures surtout, la diminution des composés azotés solubles dont la concentration augmente à nouveau au bout de 48 h (pour un traitement à l'ABIA à 1.10^{-4} M).
- 2) Sous l'action d'un traitement auxinique et au cours du temps, les protéines diminuent moins rapidement que les autres constituants cellulaires (PS) en réserve dans les cotylédons, surtout pendant les 24 premières heures.

Un traitement par l'ABIA agit donc en deux étapes sur les composés azotés des cotylédons. Pendant les 24 premières heures, l'ABIA

provoque une rétention des composés azotés, plutôt par un freinage de la protéolyse que par une accumulation des composés azotés solubles. Après 48 h, la protéolyse reprend tandis que la teneur en azote soluble est proche de celle des « témoins ». Les cotylédons des

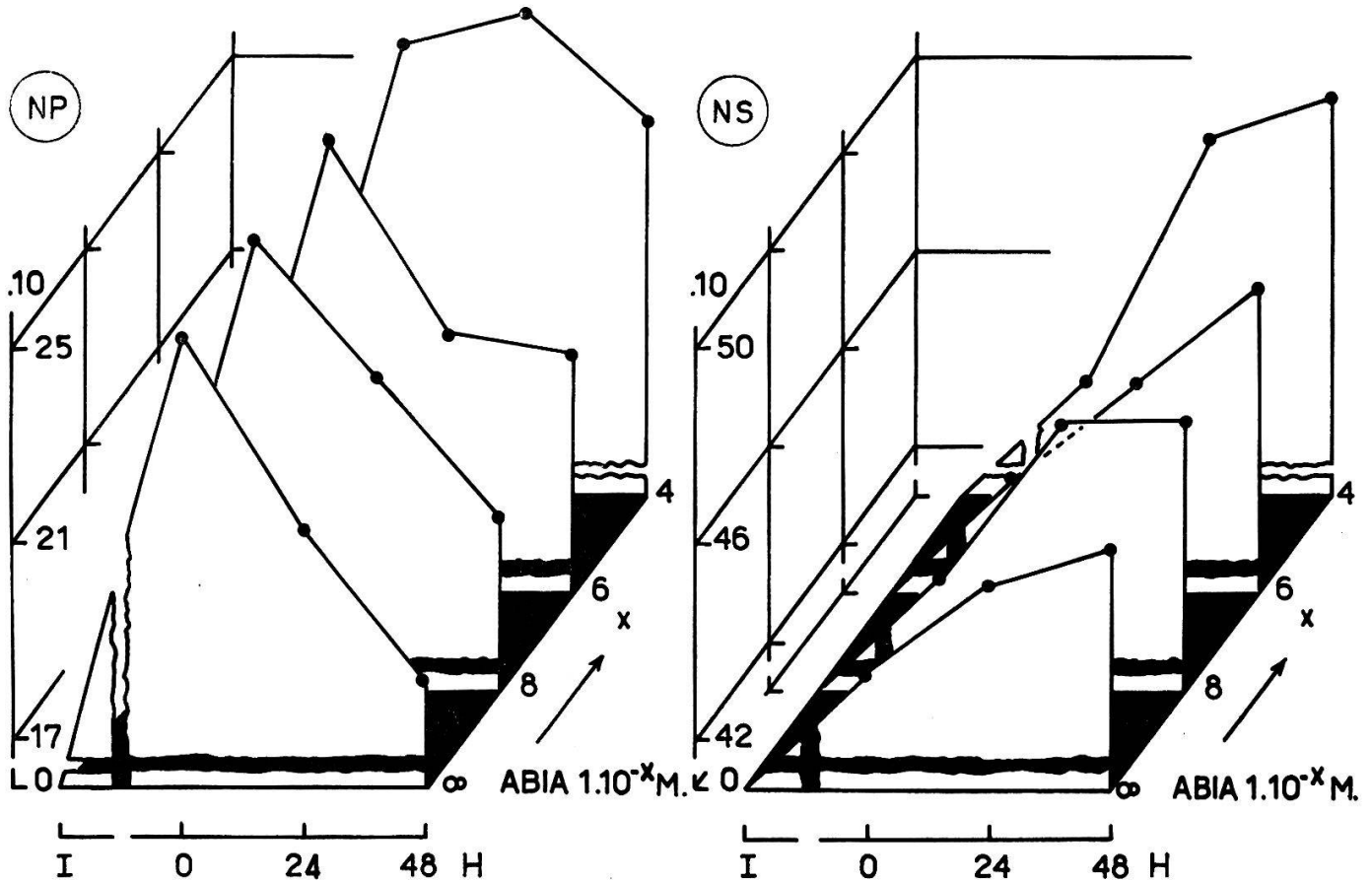


FIG. 14. — Teneurs en azote protéinique (NP) et soluble (NS) de racines intactes

Les valeurs sont données en γ pour 10 mg de poids sec, en fonction de la durée du traitement (de 1 à 48 h) et de la concentration d'ABIA.

plantules traitées par de l'ABIA sont le siège de perturbations biochimiques dont l'origine, difficile à déterminer, peut être diverse :

- 1) Action de l'ABIA sur l'hydrolyse des réserves (systèmes enzymatiques) ;
- 2) Action de l'ABIA sur la migration des produits de dégradation ;
- 3) Action de l'ABIA sur le métabolisme des racines et des épicotyles qui influence secondairement celui des cotylédons et l'utilisation des réserves.

Mais il est probable que l'ABIA agisse simultanément sur ces trois genres de processus.

5. DISCUSSION

Comme nous l'avons fait à propos des plantules « témoins » (v. p. 82), nous distinguerons, au cours de la croissance, trois périodes que nous analyserons successivement, en tenant compte cette

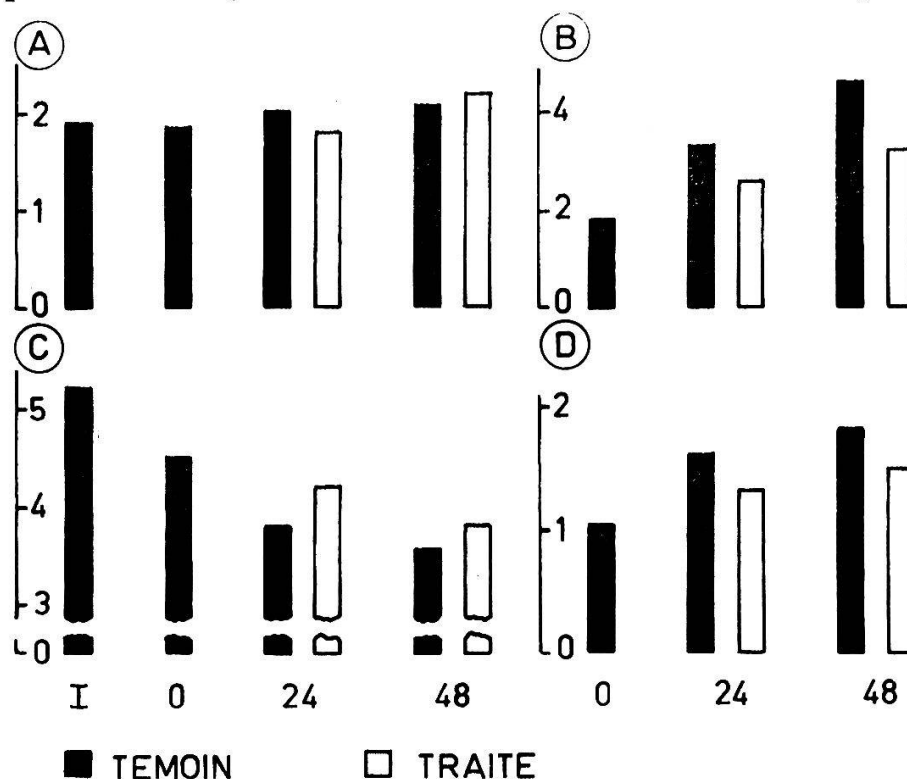


FIG. 15. — Action de l'ABIA ($1 \cdot 10^{-4} M$) sur la teneur en composés azotés après 0, 24 et 48 h

(A) NS en mg ($\cdot 10$) pour 30 cotylédons ; (B) NS en γ ($\cdot 10^3$) pour 30 racines ;
(C) NP en mg ($\cdot 10$) pour 30 cotylédons ; (D) NP en γ ($\cdot 10^3$) pour 30 racines.

TABLEAU XVIII

Action de l'ABIA ($1 \cdot 10^{-4} M$) sur la teneur en azote total de cotylédons et de racines

Valeurs rapportées en fonction de la durée du traitement.

Azote total en γ	Heures	Cotylédons		Racines	
		Témoin	ABIA	Témoin	ABIA
/30 Ind.	I	71 298	71 298	—	—
	0	63 582	63 582	2 876	2 876
	24	58 794	60 429	4 932	3 954
	48	56 575	60 101	6 414	4 781
/10mg PS	I	430,3	430,3	—	—
	0	410,7	410,7	686	686
	24	395,7	411,5	680	742
	48	416,8	435,7	643	729

fois des effets de l'ABIA sur le métabolisme des cotylédons, des racines et des épicotyles. Nous avons groupé dans la *figure 15* et le *tableau XVIII* les principales données sur lesquelles nous baserons la discussion de nos résultats. Un traitement à l'ABIA de plus en plus concentré ne fait qu'accentuer les variations des phénomènes observés; c'est pourquoi nous nous référons principalement aux valeurs les plus significatives se rapportant aux traitements par l'ABIA à 1.10^{-4} M.

Période 1

Les plantules sont traitées à la fin de cette période; nous ne reviendrons donc pas sur les commentaires que nous avons déjà faits à ce propos (v. p. 83).

Période 2

Les cotylédons. La migration des composés azotés, à partir des cotylédons « témoins » est plus faible que pendant la première période, bien que la croissance des organes périphériques, des racines en particulier, soit plus forte. Cette diminution est due non seulement à une réduction de la protéolyse, mais principalement à une rétention des composés azotés solubles. La « déplétion » des substances quaternaires domine encore celle des composés ternaires (quoique moins accentuée que pendant la première période). On peut donc s'attendre à une utilisation ou à une accumulation accrue des composés ternaires (glucides, lipides, etc.) dans les organes périphériques.

Un traitement par l'ABIA ne perturbe pas les phénomènes d'absorption d'eau dans les cotylédons mais freine la perte de matière sèche et l'hydrolyse des protéines. Quant aux composés azotés solubles, tout se passe comme si un traitement auxinique empêchait leur accumulation pour compenser la réduction de l'apport provenant de l'hydrolyse des protéines. Mais dans l'ensemble, la migration des composés azotés en direction des organes périphériques diminue et ceci davantage par un freinage de la protéolyse que par une rétention des composés solubles. En outre le transport des composés ternaires est quantitativement plus important que chez les « témoins ». Ainsi, les racines et les épicotyles des plantules « traitées » utilisent à ce stade de leur croissance davantage de glucides et de lipides que de protides (par rapport aux « témoins »). Ces perturbations biochimiques sont semblables à celles des cotylédons « témoins » lors de la troisième période (v. p. 85). Tout se passe comme si un traitement par l'ABIA accélérât le déroulement des processus de la croissance, suggestion que nous avons déjà faite à propos des variations d'allongement (v. p. 89). Le métabolisme des organes « traités » nous permettra de vérifier cette hypothèse.

Les racines. Rappelons tout d'abord brièvement les changements marquants intervenus dans le métabolisme des racines « témoins » (v. p. 84) ! Ces organes sont en pleine phase d'élongation et leur vitesse de croissance est forte. La protéosynthèse s'atténue, tandis qu'augmente la teneur en composés azotés solubles (phénomène que nous avons expliqué ailleurs, v. p. 85). L'accumulation des composés ternaires s'intensifie tout en restant encore inférieure à celle des substances quaternaires.

De nombreux auteurs ont mis en évidence les effets de l'ABIA sur la formation des tissus de la racine (v. PILET, 1961 a, p. 515 à 540) — en particulier l'accélération des processus de différenciation — (PILET et PFISTER, 1951). De plus, nous avons émis l'hypothèse qu'un traitement auxinique pouvait accélérer la succession des différents stades de la croissance (v. p. 89). Il est évident que de tels changements vont se traduire (à moins qu'ils n'en soient la cause) par des modifications qui touchent l'utilisation autant que la répartition des matériaux constitutifs des racines. A forte concentration, l'ABIA inhibe non seulement la croissance mais l'absorption d'eau et, dans des proportions différentes, le poids sec et les composés azotés. La teneur absolue en protéines et en peptides solubles diminue puisque la croissance des racines est inhibée. Mais à ce stade de la croissance, la consommation des glucides semble être intense. En effet, par unité de poids, la teneur protéinique augmente (contrairement aux « témoins »), ce qui est en accord avec les résultats de WORT (1949, 1951), de RASMUSSEN et LAWRENCE (1955), de FREIBERG et CLARK (1952, 1955) (v. p. 63) et nos observations (v. p. 71) ; la concentration en composés azotés solubles s'accroît encore davantage que celle des « témoins » (ce qui corrobore les observations de PAYNE et coll., 1952, v. p. 63). Dans l'ensemble, un traitement à l'ABIA entraîne, dans la racine, une plus grande accumulation de composés azotés que de composés ternaires. Ceci est en apparente contradiction avec ce que nous avons mis en évidence au niveau des cotylédons, où un traitement auxinique stimule plutôt la migration des composés ternaires. La réduction relative des composés ternaires pourrait provenir non seulement de l'oxydation de ces substances (RASMUSSEN, 1947; SKOOG et ROBINSON, 1950, v. p. 60) mais d'une conversion des acides organiques du cycle tricarboxylique en amino-acides d'une part et en protéines d'autre part (CHRISTIANSEN et THIMANN, 1950, v. p. 61). Cette interprétation, voisine de celle que nous évoquions plus haut (v. p. 29) attribue un rôle déterminant aux glucides dans la synthèse des protides (v. analyse bibliographique, p. 74). L'ABIA activerait donc ce phénomène de conversion par transamination et transpeptidation (v. MOYSE, 1950 b; v. LOOMIS et STUMPF, 1958; v. LOOMIS, 1958, v. p.

75) et de plus, augmenterait la consommation des composés énergétiques, tandis que s'accumuleraient les composés plastiques. La disparition des composés ternaires et l'accumulation de composés azotés sous l'action de l'ABIA pourraient donc s'expliquer comme suit :

- 1) Les glucides pourraient être dégradés en acides organiques pour être directement oxydés (cycle de Krebs) et fournir l'énergie nécessaire à l'élongation et à la différenciation cellulaire. Les travaux contradictoires analysés plus haut (v. p. 60) à propos de la respiration des racines inhibées par les auxines, ne nous permettent pas de conclure qu'il y ait ici une stimulation plutôt qu'une inhibition de l'intensité respiratoire. Mais les phénomènes endergoniques de la protéosynthèse et la disparition des glucides permettent de supposer qu'il y a une augmentation de l'absorption d'oxygène sous l'action des auxines, ce qui pourrait stimuler la formation d'ATP et secondairement la synthèse des liaisons peptidiques (v. p. 29).
- 2) Les glucides pourraient être utilisés comme éléments carbonés dans la transformation des amino-acides primaires en amides (CHIBNALL, 1939) et dans l'élaboration d'acides secondaires et de nouvelles protéines. Il est vraisemblable que les réserves azotées ainsi formées soient constituées essentiellement d'amides (STEWART et STREET, 1946 ; v. p. 76). Cette interprétation implique des changements au niveau des systèmes enzymatiques tels les protéases et les peptidases (REB-STOCK et coll., 1955; FREIBERG et CLARK, 1955, v. p. 64) et surtout la déshydrogénase de l'acide glutamique (BERGER et AVERY, v. p. 64). Cette dernière enzyme et l'acide glutamique jouent le rôle unique de médiateurs entre le métabolisme du carbone et celui de l'azote. Les variations du rapport NP/NS mettent en évidence une protéolyse intense dans les racines « témoins » ; un traitement auxinique freine nettement cette dégradation, ce que confirment les résultats de REB-STOCK et ses collaborateurs. Mais la réversibilité de ces enzymes (YEMM, 1958, v. p. 64) ne permet pas de spéculer sur la teneur en protéines et l'activité correspondante de leurs systèmes enzymatiques.
- 3) L'ABIA pourrait agir aussi au niveau du « cycle protéinique » en bloquant, en partie du moins, non seulement la protéolyse mais l'oxydation des amino-acides, ce qui expliquerait l'augmentation des protéines et des composés azotés solubles et rendrait compte aussi de la disparition des composés ternaires. Mais parallèlement à la stimulation de la synthèse des amino-acides (acides glutamique et aspartique surtout, AKERS et FANG,

1956), il semble que l'ABIA favorise également l'oxydation de ces mêmes amino-acides, ce qui contribuerait à accélérer la vitesse du cycle protéinique (BOROUGHs et BONNER, 1953; v. aussi REINHOLD et POWELL, 1956, 1958).

- 4) Si l'ABIA a pour effet d'accélérer la succession des phases de la croissance des racines — ce qui semble être le cas — les membranes des cellules en voie de différenciation accroissent non plus leur surface mais leur épaisseur (PRESTON, 1961). La formation des membranes secondaires nécessite une quantité accrue de cellulose, ce qui peut justifier l'utilisation des glucides.

Les épicotyles. L'apparition des épicotyles joue également un rôle capital dans la distribution des réserves. Un nombre d'essais insuffisant pour tenir compte avec certitude des résultats nous a montré toutefois qu'un traitement auxinique ne modifie pratiquement pas la teneur en composés azotés solubles par rapport aux autres constituants cellulaires, mais accélère nettement la protéosynthèse (CHRISTIANSEN et THIMANN, 1950; SELL et coll., 1949; WELLER et coll., 1950, etc., v. p. 62); ce dernier phénomène est conforme également aux observations que nous avons faites à propos des racines.

Période 3.

Cette période est caractérisée par deux phénomènes marquants : le développement des épicotyles et la vitesse de croissance maximale des racines, qui diminue à la fin de la période. Pour comprendre l'action des traitements auxiniques sur le métabolisme, il faut se rappeler qu'après 48 h la concentration d'ABIA dans le milieu a fortement baissé. Les effets observés après 24 h seront moins accentués. Nous avons déjà constaté, en effet, que l'inhibition de l'élongation était nettement réduite au cours du temps (v. p. 91), comme si les racines tendaient à rattraper la longueur des « témoins ».

Dans les *cotylédons* « témoins » (v. p. 85), l'absorption d'eau diminue ce qui entraîne une réduction de la protéolyse. Parallèlement, la teneur en composés azotés solubles s'accroît et la migration des composés ternaires devient plus importante que celle des substances quaternaires.

Un traitement auxinique permet la reprise normale de la dégradation des protéines. Mais les composés azotés solubles ainsi formés sont retenus en grande quantité au niveau des cotylédons, ce qui entraîne une faible migration de ces substances par rapport aux composés ternaires (tendance que nous avons déjà observée chez les « témoins »). Rappelons que pendant la deuxième période, l'ABIA agissait surtout au niveau de la protéolyse ! Ici au contraire, il sem-

ble que les phénomènes de migration des composés azotés soient les premiers affectés par un traitement auxinique. Il est difficile de savoir si la distribution des réserves dépend en premier lieu de l'action des auxines sur le métabolisme des organes périphériques et influence secondairement les cotylédons ou si l'ABIA agit d'abord sur le catabolisme des réserves par l'intermédiaire des systèmes enzymatiques. De toute façon ces processus sont intimement liés.

Les modifications observées au niveau des cotylédons sont accompagnées de perturbations dans les racines. Les racines « témoins » sont caractérisées non seulement par des phénomènes d'élongation mais par la formation de tissus différenciés. La protéosynthèse s'atténue et les composés azotés solubles s'accumulent en grande quantité. A ce stade de la croissance, les cellules élaborent et utilisent moins de protéines mais ont un besoin accru de composés ternaires, vraisemblablement pour assurer la formation des membranes secondaires.

Un traitement auxinique ne modifie pas fondamentalement le déroulement des processus observés pendant la période précédente. Toutefois la concentration des protéines qui avait considérablement augmenté décroît sans toutefois atteindre celle des « témoins ». La teneur en azote soluble, qui augmentait fortement par rapport aux autres composés, se met à diminuer aussi. Ces faits montrent clairement que sous l'action des substances de croissance, les racines se comportent comme des « réservoirs » capables d'emmagasiner ou de redistribuer des substances azotées, suivant les conditions de la croissance. De plus, ces réserves sont utilisées avant celles des cotylédons. Tout se passe donc comme si les racines tendaient à reprendre le métabolisme normal qui les caractérisait avant le traitement auxinique. Ainsi, les bouleversements que produisent les traitements auxiniques, du moins aux concentrations utilisées dans nos expériences, ne semblent pas irréversibles et la réduction de l'inhibition de la longueur, au cours du temps, confirme nettement ces observations d'ordre métabolique.

Dans les *épicotyles*, un traitement par de l'ABIA favorise la conversion des composés azotés solubles en protéines (ce qui est en accord avec les observations de CHRISTIANSEN et THIMANN, 1950 et THIMANN et LOOS, 1957) ou freine la protéolyse.

C. CONCLUSIONS

L'inhibition de l'allongement radiculaire peut donc être caractérisée par deux phases : — une phase de pénétration de l'ABIA dans les tissus provoquant une élévation rapide du taux en hormones endogènes puis une forte inhibition de la croissance (thèse de la dose sus-optimale, etc.) — une phase où l'activité auxines-oxydasique s'ac-

croît et tend à détruire l'excès de substrat. De plus, la concentration d'ABIA dans le milieu extérieur diminue. En conséquence, l'inhibition de la croissance est réduite (plus ou moins rapidement suivant les concentrations d'ABIA) jusqu'à ce que l'équilibre des régulateurs de croissance soit réalisé. L'inhibition, du moins avec les concentrations d'ABIA utilisées (1.10^{-8} à 1.10^{-4} M), n'est donc pas un phénomène irréversible.

Les perturbations du métabolisme auxinique sont accompagnées, dans les cotylédons et les organes en croissance, par des bouleversements biochimiques dont les plus caractéristiques sont les suivants : dans les cotylédons, l'hydrolyse des protéines diminue; — la migration des réserves est réduite mais le transport des composés ternaires par rapport aux substances azotées est accéléré; — la succession des différents stades de la croissance des racines est « comprimée » dans le temps. Les processus de différenciation et de subérisation sont stimulés; — par rapport aux autres composés chimiques, le taux en protéines et en composés azotés solubles des racines augmente pour constituer des réserves; — l'utilisation des composés ternaires est accélérée; plusieurs causes sont envisagées; — à moins que l'ABIA ne freine la protéolyse dans les épicotyles, la biogenèse des protéines s'accroît aux dépens des composés azotés solubles dont la concentration diminue.

Après 24 heures environ (pendant la réduction de l'inhibition de croissance), les plantules traitées par de l'ABIA tendent à reprendre le métabolisme des plantules témoins. Cependant, les réserves azotées accumulées dans les racines sont utilisées en priorité sur celles des cotylédons.

IV. LE CATABOLISME AUXINIQUE

1. INTRODUCTION

La dégradation des auxines est un processus fondamental pour la connaissance du métabolisme des hormones de croissance. Les premières recherches, entreprises dès 1934 par THIMANN, ont mis en évidence un système enzymatique de nature oxydasique, responsable de la destruction *in vivo* des auxines (v. LARSEN, 1951; v. GORDON, 1954; v. RAY, 1958; v. PILET, 1961 a, p. 301). La structure chimique de cette enzyme est peu connue. Il est probable cependant que cette oxydase soit formée d'un système double constitué d'une peroxydase employant H_2O_2 comme oxydant, d'une flavoprotéine photolabile (détruite par les radiations bleues) qui assurerait la production de H_2O_2 à partir de l'oxygène et d'un composé métallique. Depuis une dizaine d'années, les travaux consacrés aux auxines-oxydases sont si nombreux et les problèmes posés si complexes (v. PILET, 1961 a, p. 292 à 356; v. GALSTON et HILLMAN, 1961) qu'il n'est même pas possible de soulever ici les questions essentielles que pose l'inactivation enzymatique. Aussi nous contenterons-nous de dégager quelques points particuliers en relation avec nos expériences.

2. LE PROBLÈME

De nombreux chercheurs ont mis en évidence l'étroite relation qui existe entre l'activité auxines-oxydasique et la vitesse de croissance (v. GALSTON et HILLMAN, 1961, p. 663). VAN OVERBEEK (1935) par exemple, travaillant avec deux variétés de maïs (NO : normaux; NA : nains), constate que la croissance des NO est plus forte que celle des NA. Si la teneur en auxines endogènes est plus élevée chez les NO, il observe que les extraits préparés à partir des NA sont capables de détruire davantage d'ABIA que ceux des NO. Plus récemment, LAMPSIDIS (thèse, 1951), sur des entre-nœuds et des vrilles de vigne, met en évidence le même genre de relation entre l'activité auxines-oxydasique et la croissance. Nous avons également constaté, à propos des gradients statiques radiculaires (v. fig. 4; PILET et SIEGENTHALER, 1962), que la vitesse de croissance est d'autant plus forte que l'activité auxines-oxydasique est plus faible (et les auxines plus abondantes). Il semble donc que l'activité auxines-oxydasique soit inversement proportionnelle à la vitesse de croissance.

Toutefois, on peut faire certaines réserves (v. RAY, 1958) quant à la stricte correspondance qui pourrait exister entre la croissance, et surtout les auxines, et les auxines-oxydases. Tout d'abord, quelques chercheurs (v. GALSTON et HILLMAN, 1961, p. 664), qui se fondent sur l'étude d'homogénats, concluent qu'il n'existe aucune relation entre l'activité auxines-oxydasique et le développement des tumeurs. A propos de l'étude dynamique des gradients radiculaires, PILET (1961 c) constate également que pour une région déterminée, dont l'état de croissance est le même, il n'y a pas de correspondance stricte entre les gradients auxiniques et auxines-oxydasiques. Si la destruction de l'ABIA *in vitro* n'est pas exactement l'image de la teneur en auxines endogènes ni celle de la croissance par conséquent, on peut l'expliquer par l'intervention de phénomènes de migration et de biosynthèse auxinique.

Comme nous l'avons maintes fois relevé au cours de ce travail (et particulièrement à propos des gradients statiques, v. p. 36; PILET et SIEGENTHALER, 1962), une nette relation peut être généralement établie entre l'état auxinique endogène et l'activité auxines-oxydasique. Pour un état de croissance donné, les tissus pauvres en auxines sont précisément ceux dont le catabolisme auxinique est le plus élevé; inversement, les tissus riches en hormones possèdent des auxines-oxydases relativement inactives. L'analyse des gradients dynamiques (PILET, 1961 c) est plus complexe et on ne retrouve pas toujours une stricte correspondance entre la teneur en auxines endogènes et l'activité de leurs enzymes. Des phénomènes de migration, de biosynthèse et d'adaptation enzymatique permettent cependant d'interpréter les faits.

Nous aurons l'occasion, au cours de ce chapitre, de parler d'adaptation enzymatique. Aussi, voulons-nous brièvement donner quelques indications à ce sujet.

Des tissus de tiges de *Pisum*, préalablement traités par de l'ABIA, sont capables de dégrader par la suite davantage d'auxines. GALSTON et DALBERG (1954) constatent d'autre part que si les tissus vieux détruisent immédiatement l'ABIA (*in vitro*), cette dégradation est précédée, pour les tissus jeunes, d'une période de latence. GALSTON et DALBERG pensent qu'il y a *synthèse adaptative* des auxines-oxydases. Sur des racines du *Lens*, PILET (1959 c) vérifie ces premières observations et complète ses résultats en donnant aux extraits du 2,4-dichlorophénol (DCP), substance qui stimule l'activité auxines-oxydasique mais qui, en l'absence d'enzyme, n'est pas capable d'assurer la dégradation de l'ABIA. Le DCP n'a pratiquement pas d'action sur l'activité auxines-oxydasique des tissus âgés. Pour des

tissus jeunes, au contraire, le DCP non seulement stimule l'activité auxines-oxydasique mais supprime la phase de latence. Dans sa conclusion, PILET formule l'hypothèse que « les auxines-oxydases sont déjà présentes dans les tissus jeunes mais que leur activité est bloquée. Le DCP aurait pour effet de lever cette inhibition ». Il n'y aurait donc pas *synthèse adaptative*, comme le pensaient GALSTON et DALBERG, mais *adaptation enzymatique* (réservons le nom d'*induction enzymatique* aux processus où l'enzyme se montre capable d'attaquer un autre substrat !).

3. TECHNIQUE

On analyse l'activité auxines-oxydasique d'*extraits bruts* préparés à partir de racines à l'état frais. La récolte du matériel est réalisée selon le même principe que précédemment (v. p. 2 et 76). Des essais effectués à partir de tissus lyophilisés n'ont donné aucun résultat valable (l'activité auxines-oxydasique est en général plus faible).

La technique de détermination des auxines-oxydases a déjà été décrite en détail (v. p. 7). Les résultats obtenus sont des moyennes établies à partir de 20, 8 et 20 essais pour des racines récoltées respectivement à 0, 24 et 48 h.

La dilution des extraits provoque des variations de l'activité auxines-oxydasique (HILLMAN et GALSTON, 1957) dont la cause est à chercher dans la présence d'inhibiteurs de l'activité de ces enzymes (v. GALSTON et HILLMAN, 1961 ; COLLET, thèse, 1962). A la suite des effets de la dilution sur l'activité auxines-oxydasique, tous les lots analysés (quelle que soit l'inhibition des racines) ont approximativement le même poids initial (500 mg environ par lot).

4. DÉFINITIONS

Nature des extraits.

Il semble préférable de travailler avec des *extraits purifiés* (v. PILET, 1961 a). Mais au cours de leur préparation (par dialyse par exemple), on provoque une inactivation partielle des enzymes que l'on désire isoler. Nous avons utilisé des *extraits bruts*, plus faciles à préparer, mais qui présentent certains désavantages. En plus des auxines-oxydases proprement dites, ces extraits contiennent d'autres systèmes enzymatiques, étrangers au catabolisme auxinique, et qui peuvent également contribuer à la dégradation de l'ABIA. C'est pourquoi nous pensons avec PILET (1961 a, p. 305) qu'il serait préférable de parler de destruction d'ABIA plutôt que d'activité auxines-oxydasique (terme que nous utiliserons néanmoins avec les réserves indiquées ci-dessus).

Analyse in situ, in vitro et in vivo.

Des fragments d'organes sont placés dans une solution tamponnée (ou sur un papier filtre, test R par exemple) contenant une quantité connue d'ABIA. Après un temps d'incubation variable, on prélève une partie aliquote de solution dont on détermine l'activité auxines-oxydasique *in situ*.

Des extraits enzymatiques sont mis en présence d'une quantité d'ABIA connue. Après un temps d'incubation variable, on détermine *in vitro* l'activité auxines-oxydasique.

Des organes ou des parties d'organes, rattachés à la plantule, sont traités préalablement par un effecteur auxinique ou de l'ABIA pendant un temps donné. A partir de ces organes on prépare un extrait enzymatique que l'on met en présence d'une quantité d'ABIA connue. Après un temps d'incubation variable, on détermine *in vitro* l'action du prétraitement sur l'activité auxines-oxydasique *in vivo* de ces organes. (Nous avons réalisé ce dernier genre d'essais.)

5. LES RÉSULTATS

Les variations de l'activité auxines-oxydasique sont reportées dans le *tableau XIX* et la *figure 16*. Analysons, en fonction de diverses caractéristiques physiologiques, les résultats obtenus.

1) *Critères de référence* (/PF, /PS et /NP).

Par rapport à l'azote protéinique ou au poids sec, les courbes traduisant l'activité enzymatique présentent les mêmes variations. Par rapport au poids frais, l'activité auxines-oxydasique varie dans le même sens pour un prétraitement par de l'ABIA à 1.10^{-4} M, tandis que pour les « témoins » et les « prétraités » par de l'ABIA à 1.10^{-6} M, l'activité des auxines-oxydases diminue de 0 à 48 h, sans présenter de maximum à 24 h.

TABLEAU XIX

Action de l'ABIA sur l'activité auxines-oxydasique d'extraits de racines

Valeurs exprimées en γ d'ABIA détruits pendant 60 et 120 mn, en fonction de divers critères de référence, après 0, 24 et 48 heures (H) de traitement par de l'ABIA (concentrations variables).

Traitement		γ d'ABIA détruits/60 mn par rapport à :				γ d'ABIA détruits/120 mn par rapport à :			
H	Conc. 1.10^{-x} M d'ABIA	10 Ind.	100 mg PF	10 mg. PS	0.1 mg	10 Ind.	100 mg PF	10 mg PS	0,1 mg
0	$x = \infty$	33,0	35,9	27,0	9,4	45,9	49,9	37,6	13,1
	$x = \infty$	63,2	28,2	32,1	11,7	93,1	42,0	47,2	17,3
24	$x = 6$	63,7	32,4	36,2	13,8	92,1	48,1	52,3	20,0
	$x = 4$	93,7	61,7	50,1	20,9	117,2	80,8	62,7	26,2
48	$x = \infty$	64,6	19,1	22,0	10,6	100,3	29,7	34,2	16,5
	$x = 6$	71,1	25,2	28,7	12,5	109,6	38,9	44,2	19,3
	$x = 4$	87,5	38,7	40,1	17,0	125,3	55,6	57,5	24,4

2) *Prétraitement.*a) *Durée* (de 0 à 48 h).

A l'exception des activités rapportées au poids frais (prétraitement par de l'ABIA aux concentrations $1.10^{-\infty}$ et 1.10^{-6} M), où l'on observe une diminution de la dégradation de l'ABIA au cours du temps, l'activité auxines-oxydasique des « témoins » et des « prétraités » présente un maximum à 24 h, suivi d'une réduction.

b) *Concentration de l'ABIA* ($1.10^{-\infty}$, 1.10^{-6} , 1.10^{-4} M).

Quels que soient les critères de référence adoptés et le temps après lequel le matériel est récolté, un prétraitement par de l'ABIA provoque un net accroissement de l'activité auxines-oxydasique et ceci d'autant plus que la concentration est plus élevée.

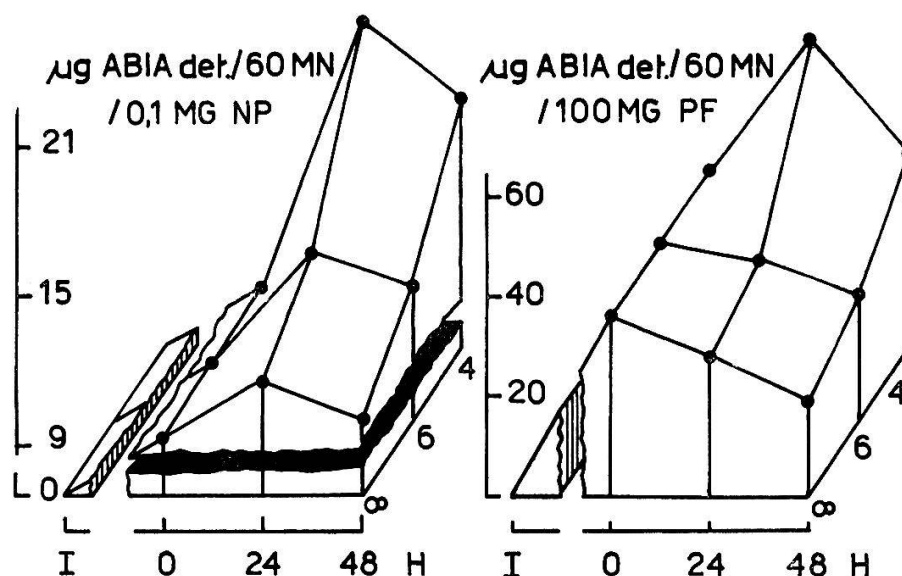


FIG. 16. — Action de prétraitements à l'ABIA sur l'activité auxines-oxydasique d'extraits de racines

Activité auxines-oxydasique, exprimée en γ d'ABIA détruits pendant 60 mn par rapport à l'azote protéinique et au poids frais, après 0, 24 et 48 h de prétraitements à l'ABIA ($1 \cdot 10^{-\infty}$, $1 \cdot 10^{-6}$ et $1 \cdot 10^{-4}$ M).

3. Incubation

a) Durée

La vitesse de dégradation (V_2) de l'ABIA pendant la deuxième heure d'incubation (I_2) exprimée en % de la vitesse de dégradation (V_1) de l'ABIA pendant la première heure d'incubation (I_1) est reportée dans le *tableau XX*, d'où il ressort que:

— La quantité d'ABIA détruite pendant I_2 est d'autant plus grande (par rapport à V_1 pendant I_1) que la durée du pré-

TABLEAU XX

Vitesse de dégradation de l'ABIA « in vitro » en fonction de la durée et de la concentration d'ABIA du prétraitement

Les valeurs données en % correspondent à celles du rapport R

$$R = \frac{\gamma \text{ d'ABIA détruits pendant la 2e h d'incubation}}{\gamma \text{ d'ABIA détruits pendant la 1re h d'incubation}} \cdot 100$$

Durée du prétraitement Heures	Concentrations d'ABIA du prétraitement $1 \cdot 10^{-x}$ M		
	$x = \infty$	$x = 6$	$x = 4$
0	39,1	39,1	39,1
24	47,3	44,6	25,1
48	55,3	54,1	43,2

traitement est plus longue (à l'exception d'un prétraitement par de l'ABIA à 1.10^{-4} M, pendant 24 h).

— La quantité d'ABIA dégradée pendant I_2 est d'autant plus faible (par rapport à V_1 pendant I_1) que la concentration d'ABIA du prétraitement est plus élevée.

TABLEAU XXI

Activité auxines-oxydasique d'extraits de racines conservés à basse température

Activité auxines-oxydasique (ABIA OX) exprimée en γ d'ABIA détruits pendant 60 mn, par rapport à 100 mg de poids frais, déterminée à partir d'extraits de racines entières préalablement traitées par de l'ABIA (concentrations variables) et pendant 48 h. Les extraits sont analysés immédiatement après la récolte (A) du matériel ou après 75 mn (B) de conservation à basse température (+ 3° C). Voir texte.

Heures *	0		48					
$1.10^{-x}M$ **	$x = 8$		$x = \infty$		$x = 6$		$x = 4$	
	A	B	A	B	A	B	A	B
ABIA OX	37,0	33,3	23,1	16,5	26,6	21,9	34,8	31,3
A — B = D	3,7		6,6		4,7		3,5	
$\frac{D}{A}$ %	10,0		28,6		17,7		10,1	

* Durée du prétraitement.

** Concentration d'ABIA du prétraitement.

b) *Traitement*

Une partie des extraits préparés à partir des racines pré-traitées (pendant 48 h) est analysée immédiatement quant à son activité auxines-oxydasique. Parallèlement on prépare une deuxième série d'essais à partir des mêmes extraits qu'on abandonne dans les éprouvettes à incubation (4 ml d'eau + 4 ml d'extrait) à une température de + 3° C, pendant 75 mn, à l'obscurité. 15 mn avant le début de la période d'incubation (extrait + ABIA), ces extraits sont entreposés dans le local d'expériences où ils prennent la température de 20° C environ. Les résultats sont reportés dans le *tableau XXI*.

Dans tous les cas, la conservation des extraits à basse température provoque une diminution de l'activité auxines-oxydasique. La réduction de l'activité enzymatique est d'autant plus forte que les ra-

cines sont plus âgées. Un prétraitement auxinique freine cette diminution et ceci d'autant plus que la concentration d'ABIA est plus forte.

6. DISCUSSION

Croissance, activité auxines-oxydasique et teneur en auxines

Les variations de la croissance des racines en fonction de la durée et de la concentration d'ABIA du prétraitement peuvent s'expliquer, en partie du moins, à partir des quelques faits que nous venons de mettre en évidence.

Dans une première étape, l'ABIA exogène pénètre dans les tissus de la racine (v. p. 91) et provoque un accroissement très rapide de la teneur en auxines endogènes (v. *fig. 12, B*). Il s'ensuit une inhibition de la croissance qui est d'autant plus forte que la concentration d'ABIA du prétraitement est plus élevée. On peut rendre compte de ces faits par la thèse de la dose sus-optimale de WENT-CHOLODNY (qui peut s'expliquer par la théorie de deux points d'attache, v. p. 59). Dans une deuxième étape ou simultanément, on assiste à une véritable auto-défense de la racine contre l'envahissement de ses tissus par l'ABIA. En effet, des extraits de racines préalablement traités par des auxines sont capables de détruire de l'ABIA, *in vitro*, d'autant plus rapidement (*tableau XX*) et intensément (*fig. 16*) que la concentration d'ABIA du prétraitement est plus élevée. Ces résultats confirment, sur des racines entières, les observations de GALSTON et DALBERG (1954, sur des sections de tiges du *Pisum*) et de PILET (1959, sur des fragments de racines du *Lens*).

Dans une deuxième étape (si on ne renouvelle pas la source d'ABIA exogène), ces phénomènes particulièrement accentués après 24 h de traitement, s'atténuent d'autant plus rapidement que la concentration d'ABIA du prétraitement est plus faible. On enregistre une réduction de l'inhibition de la croissance et de l'activité auxines-oxydasique, dont la cause pourrait être une diminution de la teneur en auxines endogènes.

Pour un état de croissance donné, si l'on compare l'activité auxines-oxydasique et la teneur (supposée) en auxines endogènes, on est loin de trouver une stricte correspondance entre ces données. Par exemple, après 24 h de prétraitement à l'ABIA, les racines subissent une inhibition de croissance et présentent une activité auxines-oxydasique élevée (ce qui est en accord avec VAN OVERBEEK, 1935; PILET et DUBOUCHET, 1961; et nos observations au niveau de la pointe de la racine, v. p. 38). Par contre, tout semble prouver que ces organes sont caractérisés par une teneur élevée en auxines endogènes, ce qui serait en désaccord avec ce que nous constatons à propos des gradients statiques (v. *fig. 4*). Mais nous pouvons également

supposer que les racines, à ce stade de leur croissance, contiennent peu d'auxines endogènes et que leur inhibition serait provoquée non plus par un excès d'auxines mais par la présence, en grande quantité, d'inhibiteurs pouvant résulter par exemple du catabolisme de l'ABIA.

Il est évidemment difficile de choisir entre l'une ou l'autre de ces hypothèses. Cependant, à la suite des recherches de PILET (1961 c) sur la dynamique des gradients radiculaires, la thèse de la dose sus-optimale nous paraît pour l'instant la plus vraisemblable. Toutefois, les effecteurs auxiniques et auxines-oxydasiques (v. PILET, 1961 a' p. 357 et p. 319 à 334) jouent un rôle capital dans les processus de la croissance et il faut en tenir compte dans l'explication des phénomènes que nous observons.

En conclusion, les variations de la croissance et de l'activité auxines-oxydasique sont inversement proportionnelles et sont intimement liées quelles que soient la concentration et la durée du prétraitement par l'ABIA. Par contre, il ne semble pas exister une stricte correspondance entre ces grandeurs et la teneur en auxines endogènes. Les auxines endogènes et la concentration de substrat ajouté règlent l'activité des auxines-oxydases qui influencent à leur tour les hormones endogènes. Tout se passe comme si l'état idéal (par exemple, à beaucoup d'auxines correspond une faible activité auxines-oxydasique) n'était jamais réellement réalisé. On pourrait parler, comme l'ont proposé GALSTON et DALBERG, de « rythme endogène », mécanisme interne qui règle le taux en hormones de croissance, comparable dans une certaine mesure au « cycle protéinique ».

Adaptation enzymatique et composés azotés

Peut-on parler, comme l'ont fait GALSTON et DALBERG, de synthèse adaptative des auxines-oxydases ou est-il préférable, comme le pense PILET, d'envisager une adaptation enzymatique ? Il est difficile, dans le cadre de nos essais, de trancher la question.

Remarquons tout d'abord que nous avons mis en évidence deux genres de phénomènes :

- des racines préalablement traitées par des auxines sont capables de dégrader, *in vitro*, davantage d'ABIA :
- après un certain temps de prétraitement (24 h), l'activité auxines-oxydasique des racines (déterminée *in vitro*) décroît. La réduction de l'activité enzymatique pourrait être, comme nous l'avons dit plus haut, une conséquence de la diminution du substrat.

Il apparaît donc clairement que nous sommes en présence de deux processus différents.

Rappelons tout d'abord quelles sont les thèses en présence ! D'après GALSTON et DALBERG, deux critères doivent être remplis pour établir la nature adaptative d'une enzyme : dans une première étape, le substrat du milieu doit diminuer lentement ; puis, lorsque l'enzyme capable de détruire ce substrat est formée, la concentration de ce dernier décroît plus rapidement dans le milieu ; d'autre part, l'activité enzymatique, *in vitro* et *in vivo*, est faible ou nulle en l'absence de substrat et augmente en sa présence. GALSTON et DALBERG montrent que les auxines-oxydases satisfont à ces conditions et concluent qu'il y a *synthèse adaptative de ces enzymes*.

L'étude cinétique de la dégradation de l'ABIA entreprise par PILET (1959 c, 1961 g), montre que ces processus ne commencent que tardivement pour des extraits de jeunes tissus et que cette période de latence peut être supprimée par un traitement au 2,4-dichlorophénol (DCP). Les auxines-oxydases seraient déjà présentes dans les tissus mais se trouveraient dans un état de « blocage » que pourrait lever le DCP. PILET pense qu'il s'agit plutôt d'une *adaptation enzymatique*.

La teneur en protéines et en composés azotés solubles (v. fig. 14) des racines préalablement traitées par des auxines apporte un élément nouveau dans cette controverse. Prenons tout d'abord le cas des racines prétraitées par de l'ABIA à 1.10^{-4} M. Les courbes traduisant l'activité enzymatique et la teneur en protéines sont semblables. Ces faits vérifient, semble-t-il, l'hypothèse de GALSTON et DALBERG. Il est probable qu'il y ait une *synthèse adaptative des systèmes enzymatiques* capables de dégrader les auxines, ce qui confirmerait par ailleurs les thèses de THIMANN et LOOS (1957) et de ROBINSON (1956) (v. p. 18), supposant que les protéines peuvent agir comme facteur limitant de l'activité enzymatique. Mais on peut se demander dans quelle mesure l'accumulation de protéines correspond, dans la même proportion, à la synthèse d'apoenzyme spécifique du système enzymatique étudié. Sur la base de nos essais, il n'est pas possible de répondre à cette question.

Le cas des racines préalablement traitées par de l'ABIA à 1.10^{-6} M se présente différemment. En effet, de 0 à 24 h, on assiste à une augmentation de l'activité auxines-oxydasique alors que la teneur en protéines ne subit pratiquement aucune modification. La correspondance entre ces deux phénomènes n'existant plus, il ne paraît pas possible d'envisager une *synthèse adaptative de ces enzymes*. Par contre, il est probable que sous l'action de l'ABIA, les auxines-oxydases déjà présentes dans les tissus soient « débloquées » ; on pourrait envisager une *adaptation enzymatique* (avec le sens que PILET donne à cette expression).

Dans les deux cas, la diminution de l'activité auxines-oxydasique, de 24 à 48 h, peut être provoquée soit par la réduction de l'excès de substrat sous l'action de ses enzymes (rythme endogène), soit par la formation de composés inhibiteurs résultant de la dégradation de l'ABIA et que l'on pourrait assimiler à des effecteurs auxines-oxydasiques, soit enfin par la réduction du taux en protéines.

On peut alors se demander pourquoi dans le premier cas (1.10^{-4} M) on peut interpréter les faits en s'appuyant sur l'hypothèse de GALSTON et DALBERG alors que le deuxième cas (1.10^{-6} M) semble plutôt étayer l'hypothèse de PILET. Voici nos suggestions à ce sujet : Lorsque la concentration d'auxines du prétraitement est faible, le « déblocage » des auxines-oxydases présentes dans les tissus est suffisant pour empêcher une intoxication par l'ABIA. Au contraire, lorsque les tissus sont préalablement traités par de fortes concentrations d'auxines, les auxines-oxydases sont également débloquentées mais en quantité insuffisante. On peut alors envisager une synthèse adaptative des enzymes capables de détruire l'excès de substrat. Cette nouvelle hypothèse, vérifiée en partie par nos essais, présente l'intérêt d'être en accord avec les thèses proposées par GALSTON et DALBERG et par PILET. Rappelons enfin que l'augmentation des différentes fractions azotées (de 24 à 48 h) dans les racines traitées à l'ABIA (1.10^{-6} M), paraît sans rapport avec les systèmes auxines-oxydasiques; il s'agit, comme nous l'avons montré dans le chapitre précédent, d'une accumulation de réserves.

Action de la température sur la conservation des extraits enzymatiques

PILET (1960 b) montre que si l'on place un extrait, avant l'analyse auxines-oxydasique, à basse température (+ 3° C), son activité est conservée pendant 4 h. environ, puis diminue. En outre, plus la température de conservation de l'extrait est élevée plus rapidement et intensément l'activité auxines-oxydasique diminue. Nos essais sont un peu différents. Les extraits sont d'abord dilués (v. p. 109) de moitié, puis conservés pendant 75 mn à basse température.

Il nous semble difficile dans l'état actuel de nos connaissances d'expliquer ces différences (v. *tableau XXI*).

1. Dans tous les cas, l'activité auxines-oxydasique est plus faible (A B); cette réduction varie d'une part avec l'âge des racines, d'autre part avec la concentration d'ABIA du prétraitement.

2. La différence des activités s'accroît pour un tissu qui passe d'un état de division à un état de forte élongation. Y a-t-il un rapport avec l'augmentation des auxines endogènes, avec la diminution des protéines ou avec les variations de l'activité auxines-oxydasique? On ne saurait l'affirmer.

3. Pour des tissus préalablement traités à l'ABIA, cette différence est d'autant plus réduite que la concentration auxinique est plus élevée. Ces phénomènes sont-ils en relation avec l'adaptation enzymatique, avec l'augmentation des protéines (comme dans le cas précédent, la différence entre ces activités est d'autant plus faible que la teneur en protéines est plus élevée) ou avec l'action des composés résultant du catabolisme auxinique (accélérateurs ou inhibiteurs dont la sensibilité varie avec la température)? De toute façon, il semble qu'on soit en présence de deux phénomènes qui s'opposent et dont nous ne connaissons que la résultante.

V. ACTION DE LA LUMIÈRE

1. LE PROBLÈME

Dans les chapitres précédents (partie III), nous avons étudié l'inhibition de la croissance des racines sous l'action de traitements par l'ABIA en relation avec le métabolisme azoté et le catabolisme auxinique. Il était intéressant de voir si un autre facteur d'inhibition des racines, la lumière par exemple, provoquait le même genre de perturbations. C'est précisément l'objet de ce chapitre. Notre but initial n'est donc pas d'apporter une contribution au problème général que pose l'action de la lumière sur les végétaux mais plutôt de compléter nos expériences antérieures. Toutefois, la signification de certains résultats dépasse le cadre que nous nous sommes fixé; aussi, nous contenterons-nous d'en relever les principaux faits.

La lumière modifie profondément la croissance des végétaux et affecte de nombreux processus associés plus ou moins directement à ces phénomènes. Nous insisterons surtout sur les perturbations que provoque la lumière blanche dans le catabolisme des auxines et le métabolisme azoté, en relation avec la croissance des racines du *Lens*.

2. QUELQUES TRAVAUX

Lumière et croissance

Les résultats relatifs aux effets de la lumière sur la croissance sont assez contradictoires. Pour GALSTON et HAND (1949) et GALSTON et BAKER (1953), la croissance de sections de tiges de pois provenant de plantules éclairées (lumière rouge) est inhibée. Une application d'ABIA ne modifie pas la différence d'inhibition entre les « traités » et les « témoins » demeurés à l'obscurité; mais on assiste à une désensibilisation des organes aux auxines. Bien que l'ABIA du milieu disparaisse deux fois plus vite en présence de lumière qu'à l'obscurité, la teneur en ABIA endogène n'est pas modifiée entre les sections éclairées ou restées à l'obscurité. GALSTON et ses collaborateurs pensent que la lumière favorise la formation d'un inhibiteur, non diffusible. PILET et WENT (1956) sur des racines du *Lens*, COLLET (thèse, 1962) sur des tiges de haricots, constatent que la lumière inhibe la croissance; LIVERMAN et BONNER (1959) sur de jeunes coléoptiles d'avoine, STREET (1953), sur des racines excisées de tomates et d'autres auteurs cités par THOMSON (1954) observent au contraire une stimulation de la croissance. Mais les travaux de THOMSON (1950, 1951, 1954 et 1959), que nous résumerons brièvement, permettent, nous semble-t-il, de lever la plupart de ces contradictions.

L'auteur explore en détail les relations qui existent entre l'âge d'un organe et la nature de sa réponse à un traitement passager à la lumière blanche. Elle émet l'hypothèse générale que la lumière a un effet stimulateur sur la croissance des plantes. En effet, de la lumière blanche appliquée à des organes très jeunes (pendant la phase de division) provoque non seulement une transition plus rapide à la phase d'élongation, mais active, du moins au début, les phénomènes d'allongement sans modifier toutefois la longueur finale des organes par rapport aux « témoins » demeurés à l'obscurité. Une irradiation d'organes en voie d'élongation entraîne un arrêt plus précoce de l'allongement, une maturation plus rapide et une réduction de la longueur finale. Si la phase d'élongation est presque terminée, la lumière arrête complètement la croissance, ce qui se traduit par une inhibition finale — inhibition apparente que THOMSON considère comme une stimulation des processus de maturation —. La lumière accélère non seulement la phase de crois-

sance en cours, mais stimule la suivante. Le résultat final (stimulation ou inhibition) dépend de l'âge physiologique de l'organe au moment du traitement à la lumière et de la durée de l'irradiation.

Lumière et activité auxines-oxydasique

Comme le font remarquer HILLMAN et GALSTON (1957), les chercheurs ont abordé cette question de façons si diverses qu'il est actuellement malaisé de faire le point. De plus, les techniques et les conditions expérimentales variées compliquent la comparaison des résultats.

Notons d'emblée que la plupart des expériences consacrées à l'action de la lumière sur l'activité des enzymes responsables de la dégradation des auxines sont réalisées *in vitro*. On admet généralement que la lumière active la dégradation enzymatique de l'ABIA en provoquant une stimulation des systèmes auxines-oxydasiques. Mais on peut se demander dans quelle mesure ces phénomènes sont responsables de la photoinactivation des auxines endogènes, en d'autres termes, si les résultats obtenus *in vitro* correspondent aux phénomènes qui se produisent *in vivo*. En outre, la lumière pourrait agir sur d'autres processus qui ne concernent pas directement le catabolisme des hormones de croissance. Le rôle capital que jouent les photorécepteurs (riboflavine, β -carotène, etc.) dans les phénomènes de photoinactivation des auxines pourrait le prouver (BRAUNER, 1953 ; v. PILET, 1961 a, p. 292 à 297).

PILET (1961 a, p. 326) montre que la lumière, non seulement stimule les réactions enzymatiques, mais modifie la nature même des produits qui apparaissent (conclusions proches de celles de FANG et BUTTS, 1957).

La comparaison entre l'activité d'extraits provenant de tissus éclairés ou demeurés à l'obscurité permet de déterminer l'action *in vivo* de la lumière sur ces systèmes enzymatiques. Les expériences à ce sujet sont peu nombreuses et nous ne citerons que celles de HILLMAN et GALSTON (1957).

Des extraits de bourgeons dont les plantules sont préalablement traitées par de la lumière rouge présentent une inhibition de l'activité auxines-oxydasique de 85 à 95 % par rapport aux « témoins » restés à l'obscurité. Cette diminution proviendrait d'un inhibiteur dialysable, thermostable et qui semble également présent dans les extraits de tissus provenant des plantules demeurées à l'obscurité.

Lumière et teneur en auxines

A la suite des recherches entreprises dès 1906 par FITTING sur le phototropisme (v. PILET, 1950, 1952, 1961 a, p. 7 et 550) et des travaux concernant l'action de la lumière sur le transport des hormones de croissance (v. PILET, 1961 a, p. 13 et 431 à 434), on peut dégager les quelques lignes générales suivantes, relatives à l'action de la lumière sur le métabolisme auxinique (v. aussi GALSTON et HAND, 1949 et PILET, 1960 a) :

1. La genèse des auxines s'effectue plus facilement à la lumière qu'à l'obscurité. Relevons l'effet opposé de la lumière qui, d'une part, assure la genèse et, d'autre part, contribue à la destruction des auxines.

2. Une irradiation unilatérale provoque une migration des auxines dans les parties restées dans l'ombre, ce qui entraîne un phototropisme positif (chez les tiges et les coléoptiles) ou négatif (chez les racines).

3. La lumière peut affecter l'équilibre entre les auxines libres et liées.

4. La lumière active (GALSTON et HAND, 1949) ou inhibe (GALSTON et BAKER, 1953) la pénétration de l'ABIA et diminue la sensibilité auxinique (GALSTON et BAKER).

5. La lumière peut modifier la réponse des cellules aux auxines sans directement en affecter la quantité. Elle peut perturber les propriétés électriques des différentes couches de la membrane cellulaire, entraînant une diminution de l'extensibilité. Elle peut conduire aussi à la synthèse ou à la formation d'effecteurs (anti-auxines ou inhibiteurs, HILLMAN et GALSTON, 1957).

3. TECHNIQUES

Des plantules du *Lens* dont les racines mesurent $11 \text{ mm} \pm 1$ sont déposées dans de petites boîtes de Petri (10 plantules par boîte) sur un papier filtre imbibé par 5 ml d'eau distillée. Les boîtes sont placées à 14,5 cm (surface inférieure de la lampe ; le filament central se trouvant à 16,5 cm environ) sous une source lumineuse diffuse polychromatique (ampoule luxram, 220 V., 25 W.) dans une étuve « frigo » maintenue à 25° C. pendant toute la durée de l'expérience. Les mesures de longueur et de poids, l'analyse quantitative des composés azotés (moyenne de 7 à 10 essais) et la détermination de l'activité auxines-oxydasique (moyenne de 9 à 12 essais) sont effectuées comme précédemment (v. p. 2 et p. 76).

4. ACTION DE LA LUMIÈRE SUR LA CROISSANCE

4.1. Les racines et les épicotyles

Nous établirons des comparaisons entre les « traités » (lumière) et les « témoins » (obscurité, v. chap. II, p. 79). Les résultats sont reportés dans la *figure 17* et le *tableau XXII, A*.

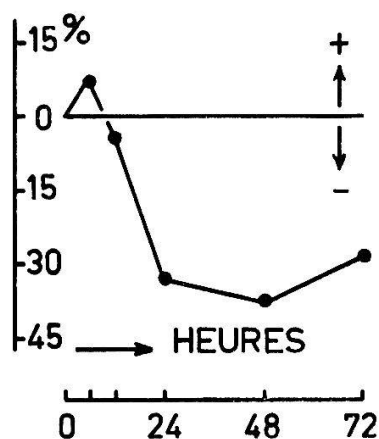


FIG. 17. — Action de la lumière sur les variations de longueur des racines

Variations de longueur des racines traitées par la lumière par rapport à celles qui sont demeurées à l'obscurité. Valeurs exprimées en % en fonction du temps (v. FIG. 11).

Dans une première phase, la lumière stimule faiblement l'allongement des racines; dans une deuxième phase, la croissance est fortement inhibée, puis se stabilise après 24 h d'irradiation. Un traitement à la lumière inhibe PF, PS et Te des racines et des épicotyles mais dans des proportions différentes (PS est le moins inhibé; L le plus inhibé). La teneur en eau relative est plus faible que celle des « témoins ».

En conclusion, la lumière active la croissance pendant les premières heures, puis l'inhibe. Cette inhibition est proche de celle enregistrée pour un traitement par l'ABIA à 1.10^{-5} M environ.

4.2. Utilisation des réserves

L'effet inhibiteur de la lumière sur la croissance des organes périphériques se traduit par une rétention des réserves dans les cotylédons.

TABLEAU XXII

*Action de la lumière sur quelques données macrophysiologiques
et sur la teneur en composés azotés et ses variations*

Valeurs rapportées en mg (PF, PS, Te), en mm (L) et en γ (NP, NS) pour des cotylédons, des racines et des épicotyles irradiés pendant 24 et 48 heures.

Données *	Cotylédons 48 h	Racines		Epicotyles 48 h
		24 h	48 h	
A PF/30 Ind.	3601 (+2,4)	666,0(—19,3)	925,0(—19,5)	294,0 (—56,7)
PS/30 Ind.	1374 (+1,2)	62,8(—13,4)	90,4(— 9,1)	42,2 (—39,6)
Te/30 Ind.	2227 (+3,1)	603,2(—19,9)	834,6(—20,5)	251,8 (—58,6)
L/1 Ind.	— —	(—18,8)	(—25,9)	— —
% Te/PF	61,8 —	90,6 —	90,2 —	85,6 —
B NP/30 Ind.	38373 (+7,2)	1355 (—16,3)	1755 (— 3,7)	1416 (— 4,5)
/10mg PF	106,6 —	20,4 —	19,0 —	48,2 —
/10mg PS	279,3 —	215,8 —	194,1 —	335,5 —
NS/30 Ind.	20919 (—0,7)	3038 (— 8,3)	4254 (— 7,3)	1825 (—49,9)
/10mg PF	58,1 —	45,6 —	46,0 —	62,1 —
/10mg PS	152,3 —	483,8 —	470,5 —	432,5 —

* Les valeurs () correspondent aux % de stimulation ou d'inhibition par rapport aux lots témoins demeurés dans l'obscurité.

5. ACTION DE LA LUMIÈRE SUR L'ACTIVITÉ AUXINES-OXYDASIQUE DES RACINES

Quels que soient les critères de référence adoptés et la durée d'incubation en présence d'ABIA, les extraits provenant de racines irradiées pendant 24 h présentent une activité auxines-oxydasique légèrement plus élevée que celle des « témoins » à l'obscurité (*tableau XXIII*).

Comme dans le chapitre précédent (v. p. 109), l'activité enzymatique est déterminée deux fois à partir du même extrait. Le deuxième extrait est dilué, puis conservé pendant 75 mn à basse température (+ 3° C). L'écart entre les activités obtenues pour des extraits préparés à partir de racines irradiées est réduit (par rapport à celui des « témoins » à l'obscurité), pendant la première heure d'incubation seulement (*tableau XXIV*).

Comme nous l'avons fait remarquer précédemment (v. p. 113), il est difficile pour l'instant de connaître les phénomènes qui sont à l'origine de ces variations. Rappelons cependant qu'un prétraitement par l'ABIA modifie l'activité auxines-oxydasique dans le même sens. Tout se passe comme si les extraits provenant d'organes traités par

la lumière ou l'ABIA contenaient une substance capable de s'opposer à l'action inhibitrice du « froid » sur l'activité auxines-oxydasique et ceci pendant un certain temps seulement.

TABLEAU XXIII

*Action de la lumière sur l'activité auxines-oxydasique
d'extraits de racines*

Les valeurs sont exprimées en γ d'ABIA détruits pendant 60 et 120 mn, en fonction de divers critères de référence, après 0 et 24 h de traitement (H) à la lumière (L) et à l'obscurité (O).

H*	GT**	γ d'ABIA détruits/60 mn par rapport à :				γ d'ABIA détruits/120 mn par rapport à :			
		10 Ind.	100 mg PF	10 mg PS	0,1 mg NP	10 Ind.	100 mg PF	10 mg PS	0,1 mg NP
0	O	33,0	35,9	27,0	9,4	45,9	49,9	37,6	13,1
24	O	56,2	23,5	28,5	10,4	85,4	35,7	43,4	15,8
	L	57,0	26,1	27,8	12,6	93,6	42,8	45,6	20,7

* Durée du traitement (heures).

** Genre de traitement (obscurité ou lumière).

TABLEAU XXIV

*Activité auxines-oxydasique d'extraits de racines conservés
à basse température*

Activité auxines-oxydasique (ABIA OX) exprimée en γ d'ABIA détruits pendant 60 et 120 mn, par rapport à 100 mg de poids frais, à partir d'extraits de racines entières (prétraitées ou non à la lumière) analysés immédiatement après la récolte du matériel (A) ou après 75 mn de conservation à + 3°C (B). Voir texte.

Durée d'incubation	60 mn				120 mn			
	Obscurité		Lumière		Obscurité		Lumière	
	A	B	A	B	A	B	A	B
ABIA OX	23,5	18,8	26,1	22,0	35,7	32,5	42,8	38,9
A — B = D	4,7		4,1		3,2		3,9	
$\frac{D}{A} \cdot 100$	20,0		15,7		9,0		9,1	

6. ACTION DE LA LUMIÈRE SUR LE MÉTABOLISME AZOTÉ

6.1. *Les racines et les épicotyles : tableau XXII, B.*

1) Par rapport au nombre de racines, la lumière inhibe NS et NP, surtout pendant les 24 premières heures. Cette inhibition est en général moins forte que celle des valeurs macrophysiologiques. Dans les épicotyles, l'inhibition est faible pour NP mais très forte pour NS.

2) Par rapport à l'unité de poids, NP et NS des racines et des épicotyles augmentent (à l'exception de NS/PS qui diminue).

D'une façon générale, la lumière a le même effet sur les composés azotés qu'un traitement auxinique.

6.2. *Utilisation des réserves*

L'analyse de la *figure 18* permet de constater qu'un traitement par de la lumière : — freine l'hydrolyse des protéines; — ne modifie pas la rétention des réserves azotées solubles; — entraîne une augmentation du rapport NP/PS et ne modifie pas NS/PS.

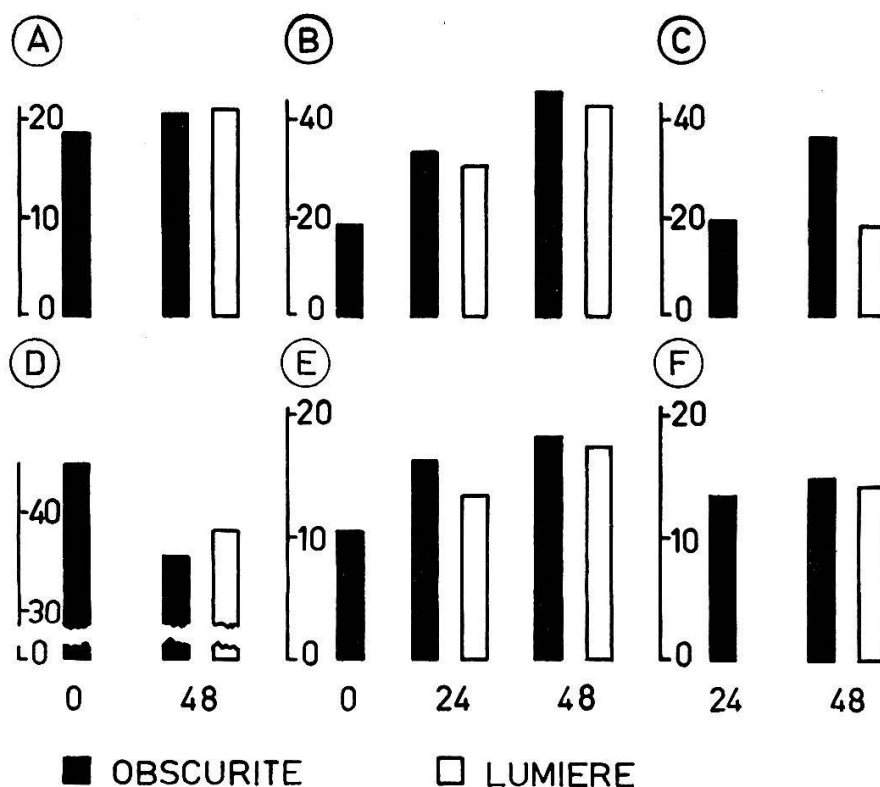


FIG. 18. — Action de la lumière sur la teneur en composés azotés après 0, 24 et 48 h de traitement

(A) NS en mg pour 30 cotylédons, (B) NS en $\gamma (\cdot 10^2)$ pour 30 racines, (C) NS en $\gamma (\cdot 10^2)$ pour 30 épicotyles, (D) NP en mg pour 30 cotylédons, (E) NP en $\gamma (\cdot 10^2)$ pour 30 racines, (F) NP en $\gamma (\cdot 10^2)$ pour 30 épicotyles.

7. DISCUSSION ET CONCLUSIONS

Lumière, croissance et catabolisme auxinique

De la lumière blanche appliquée d'une façon continue à de jeunes plantules du *Lens* active tout d'abord la croissance des racines, puis provoque une très forte inhibition qui se stabilise après 24 h de traitement.

Au premier abord, ces résultats semblent paradoxaux puisqu'ils sont en accord autant avec les chercheurs qui trouvent une stimulation qu'avec ceux qui constatent une inhibition de la croissance à la lumière. Les hypothèses de THOMSON (v. p. 114) permettent d'expliquer clairement ces faits. Au début de l'expérience, les cellules des racines utilisées se divisent davantage qu'elles ne s'allongent (PILET et SIEGENTHALER, 1962). Une application de lumière, à ce stade de la croissance, provoque un passage plus rapide à la phase d'élongation et entraîne une stimulation par rapport aux racines « témoins » demeurées à l'obscurité. Il est prouvé, une fois de plus (v. p. 78), que dans une racine de 11 mm (longueur initiale au moment de tous les traitements) les phénomènes de division l'emportent sur ceux d'élongation. Une irradiation continue abrège la phase d'allongement et accélère l'apparition de la phase de maturation, ce qui entraîne une inhibition finale de la longueur de la racine. Au bout d'un certain temps, la vitesse de croissance des racines restées à l'obscurité diminue à son tour et provoque la stabilisation de l'inhibition.

Il eut été intéressant de suivre parallèlement les variations de l'activité auxines-oxydasique. Après 6 h d'irradiation, précisément pendant la stimulation de la croissance, les tissus présentent une activité enzymatique voisine (différence non significative) de celle des témoins. Nous nous sommes contenté de relever les valeurs obtenues après 24 h. Pour des extraits provenant de racines irradiées, la quantité d'ABIA détruite pendant une ou deux heures d'incubation n'est que très faiblement supérieure à celle enregistrée pour les « témoins », contrairement à HILLMAN et GALSTON (1957) qui observent une inhibition très forte de l'activité auxines-oxydasique.

On se souvient (v. p. 107) que pour une même inhibition de croissance, un traitement par de l'ABIA stimulait fortement l'activité des systèmes auxines-oxydasiques. Il nous paraît donc démontré que les processus qui aboutissent à une même inhibition de croissance sont très différents suivant que les facteurs d'inhibition sont l'ABIA ou la lumière. Dans le cas d'un traitement auxinique, nous avons mis en évidence une adaptation enzymatique suivie, lorsque la concentration du traitement auxinique est plus forte, d'une synthèse adaptative des systèmes auxines-oxydasiques. Après cette première

réaction des tissus contre un envahissement d'ABIA, il semble qu'un inhibiteur des auxines-oxydases (qui pourrait être un des produits de dégradation des auxines) intervienne et rétablisse un équilibre physiologique entre les auxines endogènes, l'activité enzymatique et la croissance.

Dans le cas d'un traitement à la lumière, les mécanismes qui assurent l'inhibition de la croissance se manifestent différemment. Après 24 h d'irradiation continue, la faible stimulation de l'activité auxines-oxydasique permet de suggérer soit une adaptation enzymatique répondant à la biosynthèse accrue des auxines (v. p. 111) soit la formation (sous l'action de la lumière) d'un effecteur (activateur) des auxines-oxydases. Mais ces premières hypothèses nous paraissent insuffisantes pour expliquer la forte inhibition de croissance observée à la lumière; dès lors, il nous semble possible d'envisager l'apparition d'un inhibiteur de croissance qui serait différent de celui qu'envisagent HILLMAN et GALSTON (1957) et qui n'aurait que peu ou pas d'effet sur les systèmes auxines-oxydasiques.

PILET (1958 d, 1961 h) a montré l'existence d'un inhibiteur de croissance dans les racines du *Lens* cultivées à l'obscurité. L'activité de cet inhibiteur β (v. p. 32), augmente de la pointe à la base de la racine. Or nous savons que la lumière a pour effet de condenser dans le temps la succession des différentes phases de la croissance et de rendre un organe physiologiquement plus âgé. Il n'est pas improbable que la lumière favorise la formation de cet inhibiteur (ou d'un composé analogue, v. PILET, 1961 a, p. 374 à 379). Une telle substance, dont l'activité est d'autant plus élevée que les tissus sont plus âgés, pourrait être l'une des causes de l'inhibition de la croissance des racines du *Lens*. Signalons enfin que LAHIRI et AUDUS (1961) ont mis en évidence, dans les racines du *Vicia Faba*, un autre inhibiteur de croissance dont le Rf est différent. Ce composé synthétisé au niveau du méristème serait transporté dans les tissus âgés où, contrairement aux auxines, il ne serait pas détruit.

Nous nous proposons de reprendre ces questions dans des travaux ultérieurs.

Lumière, croissance et composés azotés

Il nous paraît inutile d'analyser en détail l'effet de la lumière sur le métabolisme azoté des plantules du *Lens*, comme nous l'avions fait à propos des traitements auxiniques (v. p. 98). La comparaison des figures 18 et 15 et des tableaux XXV et XVIII permet de constater qu'il n'y a aucune différence marquante entre la distribution et la répartition des composés azotés de plantules traitées par l'ABIA (concentration voisine de 1.10^{-5} M) ou par la lumière.

TABLEAU XXV

*Action de la lumière sur la teneur en azote total de cotylédons,
de racines et d'épicotyles*

Ces valeurs sont exprimées en γ pour 30 individus ou 10 mg de PS, en fonction du temps, et pour des lots demeurés à l'obscurité ou à la lumière.

Azote total en γ	Heures	Cotylédons		Racines		Epicotyles	
		Obsc.	Lum.	Obsc.	Lum.	Obsc.	Lum.
/30 Ind.	0	63582	63582	2876	2876	—	—
	24	58794	—	4932	4393	3243	3243
	48	56575	59292	6414	6009	5127	3241
/10mg PS	0	410,7	410,7	686	686	—	—
	24	395,7	—	680	700	725	725
	48	416,8	431,6	643	665	717	768

On pourrait toutefois se demander dans quelle mesure les phénomènes photosynthétiques peuvent perturber les résultats obtenus. La perte de poids des cotylédons est pratiquement la même pour les plantules traitées à l'ABIA que pour celles qui sont irradiées. On peut donc écarter une action secondaire de la photosynthèse, qui vraisemblablement n'a pas le temps de se manifester pendant la durée trop courte de l'expérience. Par d'autres moyens, THOMSON (1950), en utilisant des plantules d'*Avena sativa*, est arrivée aux mêmes conclusions. WHITMORE (1944), au contraire, observe que la lumière accélère la migration des réserves à partir des cotylédons et des hypocotyles dans les racines de plantules de haricots. Mais il ne semble pas qu'il y ait de contradiction entre ces résultats, si l'on considère que la croissance est en premier lieu réglée par un certain nombre d'effecteurs (auxiniques et auxines-oxydasiques) et que, secondairement, les réserves sont transportées et distribuées suivant l'état de croissance des organes (division, élongation ou différenciation) ou suivant leur réponse physiologique (inhibition ou stimulation).

Ces quelques essais à la lumière complètent nos expériences précédentes et permettent de répondre à un certain nombre de questions posées dans le chapitre III (v. p. 86). L'ABIA et la lumière inhibent la croissance des racines en agissant sur des mécanismes probablement différents. Pour des traitements auxiniques (à l'obscurité), les variations de la teneur en auxines endogènes et de l'activité auxines-oxydasique des racines peuvent expliquer les variations de croissance. A la lumière, la présence d'inhibiteurs de croissance

semblerait déterminante. La distribution et la répartition des composés azotés dans les plantules sont comparables mais paraissent tout à fait indépendantes des causes qui sont à l'origine de ces changements que l'on peut considérer comme des effets secondaires.

CONCLUSIONS

Résumons les phénomènes les plus caractéristiques de la physiologie des racines.

ÉTATS DE CROISSANCE

Dans la zone de division :

1. Les phénomènes de la mérisis l'emportent sur ceux de l'auxésis ; la vitesse de croissance et l'absorption d'eau sont faibles ;
2. La teneur en azote protéinique et soluble est élevée ; le rapport NP/NS est maximum ;
3. L'intensité respiratoire est forte ; la respiration est la plus sensible au saccharose exogène ; le quotient respiratoire est supérieur à l'unité ;
4. Le taux en glucides est élevé et les grains d'amidon sont peu abondants ;
5. La teneur en fonctions thiols est forte ;
6. La teneur en ABIA endogène est faible ; les activités de l'inhibiteur β et de l'accélérateur α sont négligeables ;
7. La polarité bioélectrique par rapport à la pointe est positive.

Les tissus en voie de division sont le siège le plus actif de la protéosynthèse ; les phénomènes de biogenèse l'emportent sur ceux de protéolyse. Les glucides représentent le principal substrat respiratoire ; ils fournissent l'énergie ainsi qu'une partie des chaînons carbonés nécessaires à la synthèse des peptides et des protéines. L'énergie disponible est donc utilisée davantage pour l'anabolisme protidique que pour l'induction de la croissance. La biogenèse des hormones est liée à celle des protéines. Une faible quantité d'auxines agirait sur la division cellulaire tandis que la plus grande partie des hormones s'associerait à un substrat protéinique pour former un complexe inactif. L'activité des auxines-oxydases, relativement élevée, peut être considérée comme le résultat d'une adaptation de ces enzymes aux auxines avant que celles-ci ne se fixent sur leur substrat protéinique. Les groupes thiols jouent un rôle dans la mérisis et la protéosynthèse et pourraient fonctionner comme liaisons entre les molécules d'ABIA et les substrats protéiniques.

Dans la zone d'élongation :

1. Les phénomènes d'auxésis sont dominants ; la vitesse de croissance et l'absorption d'eau sont maximales ;
2. La teneur en azote protéinique est faible ; la concentration d'azote soluble augmente puis diminue ; les rapports NP/NS et NT/PS subissent une forte réduction ;

3. L'intensité respiratoire diminue ; les échanges respiratoires sont moins sensibles à un apport de saccharose ; le quotient respiratoire est inférieur à l'unité ;
4. Le taux en glucides est faible et les grains d'amidon sont en grand nombre ;
5. La teneur en fonctions thiols décroît ;
6. La concentration d'ABIA endogène est maximale ; l'activité de l'inhibiteur β et de l'accélérateur α sont appréciables ;
7. L'activité auxines-oxydasique passe par un minimum puis augmente ;
8. La polarité bioélectrique par rapport à la pointe est négative.

Dans les tissus en voie d'élongation, les phénomènes de protéolyse l'emportent sur ceux de protéogenèse. Les glucides participent dans une moins large mesure à la synthèse des protéines mais seraient les précurseurs des composés pectiques et cellulosiques de la membrane. L'énergie disponible, fournie plutôt par l'oxydation des produits de dégradation des protéines que par les glucides, est utilisée davantage pour l'induction de la croissance (élaboration des membranes) que pour la synthèse des substances cytoplasmiques. Le complexe ABIA-protéines donnerait des auxines libres et des protéines en même temps que les phénomènes de protéolyse s'intensifient (sous l'action des mêmes systèmes enzymatiques peut-être). La libération de ces auxines stimule l'allongement des cellules dont les réserves élaborées antérieurement suffisent à assurer le métabolisme de base. Le taux élevé en hormones de croissance provoque dans cette zone déjà un accroissement de l'activité auxines-oxydasique (par adaptation enzymatique).

Dans la zone de différenciation :

1. La vitesse de croissance est nulle ;
2. La teneur en azote protéinique est faible ; la concentration d'azote soluble augmente et le rapport NP/NS décroît mais tend à devenir constant ;
3. La diminution de la fixation d'oxygène s'accompagne d'insensibilité des échanges respiratoires vis-à-vis du saccharose exogène ; le quotient respiratoire reste inférieur à l'unité ;
4. Le taux en glucides augmente et le nombre de grains d'amidon diminue ;
5. La teneur en fonctions thiols décroît encore ;
6. La concentration d'ABIA endogène diminue tandis qu'augmente l'activité de l'inhibiteur β et de l'accélérateur α ;
7. L'activité auxines-oxydasique s'accroît fortement ;
8. La polarité bioélectrique par rapport à la pointe est positive.

Dans les tissus en voie de différenciation l'intensité des processus métaboliques diminue et les phénomènes anaboliques et cataboliques tendent à s'équilibrer. L'augmentation de l'activité de l'inhibiteur β (l'activité de l'accélérateur α reste constante) et la diminution de la teneur en auxines sous l'action des auxines-oxydases sont autant de causes qui réduisent la vitesse de croissance.

TRAITEMENTS PAR DE L'ABIA

D'une façon générale, les quantités d'ABIA nécessaires pour provoquer une variation donnée de la croissance (stimulation ou inhibition) changent selon l'âge des organes (c'est-à-dire avec l'état auxi-

nique endogène). Une application d'ABIA (de 1.10^{-8} à 1.10^{-3} M) provoque des bouleversements biochimiques profonds (mais réversibles) qui se manifestent conjointement dans les racines et les épico-tyles et qui ont des répercussions jusque dans l'utilisation des réserves des cotylédons. Ces perturbations apparaissent au début du traitement surtout.

Pour des concentrations faibles d'ABIA

- 1) La croissance des racines (allongement) et les échanges d'eau sont stimulés. Ces deux phénomènes sont intimement liés.
- 2) L'azote total et le poids sec ne subissent dans les racines aucune variation sensible. La densité des « matières sèches » est réduite.

Tout se passe comme si l'apport des matériaux de construction (provenant des cotylédons) mis à la disposition des racines était insuffisant pour assurer l'élaboration du cytoplasme cellulaire au même rythme que l'élongation des membranes. La racine ferait en quelque sorte une « crise de croissance ». En première analyse, on peut relever une identité des processus métaboliques se déroulant dans ces racines traitées et dans les tissus de la zone d'élongation de l'axe radiculaire.

Pour des concentrations élevées d'ABIA

- 1) La croissance des racines (allongement) est inhibée et l'absorption d'eau est réduite (phénomènes liés).
- 2) La densité des « matières sèches » s'accroît. L'augmentation de la « concentration du cytoplasme » ne favorise pas les échanges d'eau.

D'autres phénomènes semblent intervenir :

- a) Une hyperauxinie provoque des perturbations physiques et chimiques de la membrane et modifie sa perméabilité ;
 - b) L'ABIA agit sur l'activité des pectines-méthyl-estérases.
- 3) On peut donc associer l'inhibition de la croissance à une augmentation de la rigidité de la paroi cellulaire, qui diminue la perméabilité des membranes et les possibilités d'échanges intercellulaires.
 - 4) Les tissus de la racine s'enrichissent surtout en composés azotés. Les précurseurs des protides pourraient être les glucides.
 - 5) Tout se passe comme si l'ABIA inhibait la croissance au niveau de certaines réactions du métabolisme, en empêchant la transformation des matériaux provenant des cotylédons en composés caractéristiques des cellules jeunes.

Au niveau des cotylédons, un traitement par l'ABIA :

- 1) Freine la perte de « matières sèches » et l'hydrolyse des protéines ;

- 2) Réduit la migration de toutes les substances de réserve ;
- 3) Accélère la migration des composés ternaires par rapport aux composés azotés.

Ces changements sont en étroite relation avec les modifications que l'on observe *dans les racines*. Un traitement auxinique :

- 1) Accélère les processus de différenciation et comprime dans le temps la succession des différents stades de la croissance ;
- 2) Freine la diminution du rapport NP/NS ;
- 3) Provoque une augmentation du taux en protéines et en azote soluble (par rapport aux autres constituants cellulaires).

Cette observation est en apparente contradiction avec ce que nous constatons au niveau des cotylédons (v. point 3). On peut suggérer que :

a) L'oxydation des composés ternaires est accélérée; *b)* les acides organiques (produits de dégradation des glucides) sont utilisés comme éléments carbonés dans la synthèse d'amides et de protéines de réserve, ce qui implique des changements dans les activités des enzymes réglant le taux en protéines et en glucides; *c)* la vitesse du cycle protéinique est accélérée et les phénomènes de protéogenèse l'emportent sur ceux de protéolyse à moins que l'oxydation des amino-acides soit bloquée.

- 4) L'ABIA provoque une augmentation de l'activité auxines-oxydase. Dans le cas d'un prétraitement à faible concentration, un «déblocage» des auxines-oxydases suffit pour empêcher une intoxication par l'ABIA. Lorsque la concentration d'ABIA du prétraitement est plus forte, le «déblocage» des auxines-oxydases a lieu mais se révèle insuffisant. On peut envisager une synthèse adaptative des enzymes capables de détruire l'excès de substrat.

Dans les épicotyles, un traitement par l'ABIA accélère la biogenèse des protéines sans que la concentration des composés azotés soit modifiée.

Après 24 h environ (pendant la réduction de l'inhibition de croissance), les plantules traitées par de l'ABIA tendent à reprendre le métabolisme qui caractérise les plantules témoins :

- 1) La protéolyse reprend dans les *cotylédons*, et les produits de dégradation des protéines s'y accumulent. La migration des composés ternaires reste forte ;
- 2) L'inhibition des *racines* est réduite; la teneur en auxines endogènes diminue sous l'action des auxines-oxydases. L'activité de ces dernières décroît également à mesure que le substrat auxinique disparaît (à moins que des inhibiteurs en soient la cause). Le taux en protéines qui avait considérablement augmenté, diminue et la vitesse d'accumulation des composés azo-

- tés solubles faiblit. Tout se passe comme si les racines étaient des réservoirs capables d'emmagasiner des réserves azotées puis de les redistribuer suivant les conditions de la croissance. Ces réserves sont utilisées en priorité sur celles des cotylédons;
- 3) Dans les épicotyles, la biogenèse des protéines s'intensifie aux dépens des composés azotés solubles dont la concentration diminue (à moins que l'ABIA ne freine la protéolyse).

TRAITEMENT A LA LUMIÈRE

Un traitement à la lumière stimule la croissance des racines puis l'inhibe fortement, ce qui vérifie l'hypothèse de THOMSON selon laquelle la lumière stimule l'allongement en accélérant la succession des différentes phases de la croissance. Les variations de l'activité auxines-oxydasique ne peuvent expliquer cette inhibition imputable de préférence à des inhibiteurs. L'inhibition de la croissance, la distribution et la répartition des composés azotés dans les plantules sont les mêmes que pour un traitement par l'ABIA voisin de 1.10^{-5} M. Ainsi, quelles que soient les causes (excès d'ABIA ou lumière) de l'inhibition de croissance, le métabolisme azoté, qui nous intéresse particulièrement, présente le même genre de variations. Ces changements que l'on peut considérer comme des effets secondaires sont indépendants des voies empruntées (l'activité auxines-oxydasique n'est pas forcément la même).

* * *

Au cours de ce travail, nous avons abordé l'étude des relations existant entre les auxines, les principales formes protidiques, la croissance et le catabolisme auxinique. De nombreux phénomènes sont encore peu connus et certains d'entre eux mériteraient une attention particulière. Nous pensons plus spécialement à l'influence des auxines sur la nature des protéines et sur les systèmes enzymatiques réglant le taux des amino-acides. Il serait également d'un grand intérêt de préciser la nature ainsi que la fonction physiologique du complexe ABIA-protéines et d'établir la spécificité et le rôle des protéines dans les systèmes auxines-oxydasiques.

BIBLIOGRAPHIE.

- ABERG B. 1957. — *Ann. Rev. Plant. Physiol.* 8, 153.
 AKERS T. J. et FANG S. G. 1956. — *Plant Physiol.* 31, 34.
 ALBAUM H. G. et EICHEL B. 1943. — *Am. J. Bot.* 30, 18.
 ANDREAE W. A. et GOOD N. E. 1955. — *Plant Physiol.* 30, 380.
 — et VAN YSSELSTEIN M. W. H. 1956. — *Plant. Physiol.* 31, 235.
 ATHANASIADES-MERCANTON M. — Thèse (en préparation), Lausanne.
 AUDUS L. J. 1961. — In *Handb. d. Pf.**, Bd XIV, p. 1055.
 — et GARRARD A. 1953. — *J. Exp. Bot.* 4, 330.
 AVERY G. S., BURKHOLDER Jr. P. R. et CREIGHTON H. B. 1937. — *Am. J. Bot.* 24, 553.
 — et ENGEL J. F. 1954. — *Am. J. Bot.* 41, 310.
 — et LINDERSTRÖM-LANG K. 1940. — *Bot. Gaz.* 192, 50.
 — — 1940. — *C. R. Trav. Lab. Carlsberg* 23, 219..
 BALDOVINOS G. 1950. — *Rev. Soc. Mex. Hist. Nat.* 11, 77.
 — 1953. — In *Growth and differentiation in plants*, Iowa State Coll., p. 27.
 BARRON E. S. G. 1951. — *Adv. Enzymol.* 11, 201.
 BENNET-CLARK T. A. 1956. — In *Proc. Symp., Wye Coll.* (WAIN et WIGHTMAN, ed.), London, Butterworth's Scient. Public., p. 284.
 — et KEFFORD N. P. 1953. — *Nature* 171, 645.
 BENTLEY J. A. 1958. — *Ann. Rev. Plant Physiol.* 9, 47.
 — 1961. — In *Handb. d. Pf.**, Bd XIV, p. 609.
 BERGER J. et AVERY G. S. 1944. — *Am. J. Bot.* 31, 11.
 — SMITH P. et AVERY G. S. 1946. — *Am. J. Bot.* 33, 601.
 BLANK F. et FREY-WYSSLING A. 1940. — *Verh. Schweiz. Naturf. Ges.* 120, 165.
 — — 1941. — *Ber. Schweiz. Bot. Ges.* 51, 116.
 — — 1944. — *Ann. Bot. N. S.* 8, 71.
 BONNER J. 1949. — *Am. J. Bot.* 35, 322.
 — 1953. — *Engineering and Sciences* 16, 16.
 — 1958. — *Progr. in Chem. Org. Nat. Pro.* 16, 139.
 — 1959. — *Am. J. Bot.* 46, 58.
 — et FOSTER R. J. 1956. — In *Proc. Symp. Wye Coll.* (WAIN et WIGHTMAN, ed.), London, Butterworth's Scient. Public., p. 295.
 BOROUGHS H. et BONNER J. 1953. — *Arch. Biochem.* 46, 279.
 BORSOOK H., DEASY C. L., HAAGEN-SMIT A. J., KEIGHLEY G. et LOWY P. H. 1950. — *J. Biol. Chem.* 184, 529.
 BORTHWICK H. A., HAMNER K. C. et PARKER M. W. 1937. — *Bot. Gaz.* 98, 491.
 BOSEMARK N. O. 1954. — *Physiol. Plant.* 7, 497.
 BOTTELIER H. P., HOLTER H. et LINDERSTRÖM-LANG K. 1943. — *C. R. Trav. Lab. Carlsberg* 24, 279.
 BOYSEN-JENSEN P. 1933. — *Planta* 19, 345.
 BRACHET J. 1961. — In *Handb. d. Pf.**, Bd XIV, p. 206.
 BRAUNER L. 1953 a. — *Zeitschr. f. Bot.* 41, 291 : b. — *Naturwissenschaft* 40, 23.

* *Handb. d. Pf.* : Handbuch der Pflanzenphysiologie, Springer-Verlag, Berlin.

- BROWN R. et BROADBENT D. 1950. — *J. Exp. Bot.* 1, 249.
 — , REITH W. S. et ROBINSON E. 1952. — *Soc. Exp. Biol. Symp.* 6, 329.
 — et WIGHTMAN F. 1952. — *J. Exp. Bot.* 3, 253.
 BRUNEL A. 1949. — *Traité pratique de chimie végétale*. Georges Frère Ed., Tourcoing.
 BRUNEL-CAPELLE G. 1955. — Thèse Fac. Sc. Paris (A 3632).
 BURSTRÖM H. 1942 a. — *Ann. Agr. Coll. Sweden* 10, 1; b. — *Ibid.* 10, 209.
 — 1951 a. — *Physiol. Plant.* 4, 199; b. — In *Plant Growth Substances*, F. SKOOG ed., Univ. Wisconsin Press, p. 43.
 — 1953 a. — *Ann. Rev. Plant. Physiol.* 4, 237; b. — *Physiol. Plant.* 6, 262.
 — 1957. — *Soc. Exp. Biol. Symp.* 11, 44, Cambridge Univ. Press.
 — 1958. — *Kungl. fysiogr. Sällsk. Lund* 28, 53.
 CHIBNALL A. C. 1939. *Protein metabolism in the plant*. Yale Univ. Press.
 — , REES M. W. et WILLIAMS E. F. 1943. — *Biochem. J.* 37, 354.
 — et WILTSHIRE G. H. 1954. — *New Phytologist* 53, 38.
 CHRISTIANSEN G. S. 1950. — *Arch. Biochem.* 29, 354.
 — et THIMANN K. V. 1950 a. — *Arch. Biochem.* 26, 230; b. — *Ibid.* 26, 248; c. — *Ibid.* 28, 117.
 CLELAND R. E. 1961. — In *Handb. d. Pfl.*, Bd XIV, p. 754.
 — et BURSTRÖM H. 1961. — In *Handb. d. Pfl.*, Bd XIV, p. 807.
 COLLET G. — Thèse (en préparation), Lausanne.
 COMMONER B. et THIMANN K. V. 1941. — *J. gen. Physiol.* 24, 279.
 EBERHARDT F. 1955. — *Planta* 45, 57.
 ELIASSON L. 1955. — *Physiol. Plant.* 8, 374.
 ERICKSON R. O. et GODDARD D. R. 1951. — *Growth Symp.* 10, 89.
 ERICKSON L. C., SEELEY C. I. et KLAGES K. H. 1948. — *J. Am. Soc. Agron.* 40, 659.
 FANG S. C. et BUTTS J. S. 1957. — *Plant Physiol.* 32, 253.
 FENSOM D. S. 1959. — *Can. J. Bot.* 37, 1003.
 FIEDLER H. 1936. — *Zeitsch. f. Bot.* 30, 385.
 FOLKES B. F. 1951. — *Biochem. J.* 49, XXVII.
 — , WILLIS A. J. et YEMM E. W. 1952. — *New Phytologist* 51, 317.
 — et YEMM E. W. 1958. — *New Phytologist* 57, 106.
 FREIBERG S. R. 1952. — *Science* 115, 674.
 — et CLARK H. E. 1952. — *Bot. Gaz.* 113, 322.
 — — 1955. — *Plant Physiol.* 30, 39.
 FRENCH R. C. et BEEVERS H. 1953. — *Am. J. Bot.* 40, 660.
 FREY-WYSSLING A. 1950. — *Ann. Rev. Plant Physiol.* 1, 169.
 FULTS J. L., HAY R. J. et PAYNE M. G. 1952. — *Am. Potato J.* 29, 97.
 GALSTON A. W. 1956. — In *Proc. Symp. Wye Coll.* (WAIN et WIGHTMAN ed.), London. Butterworth's Scient. Public., p. 219.
 — et BAKER R. S. 1953. — *Am. J. Bot.* 40, 512.
 — et DALBERG L. Y. 1954. — *Am. J. Bot.* 41, 373.
 — et HAND M. E. 1949. — *Am. J. Bot.* 36, 85.
 — et HILLMAN W. S. 1961. — In *Handb. d. Pfl.*, Bd XIV, p. 647.
 GAUTHERET R. J. 1959. — *La culture des tissus végétaux*. Masson Ed., Paris.

- GOAS M. 1955. — *C. R. Acad. Sc.* 240, 1663.
— 1956. — *Ibid.* 242, 543.
- GODDARD D. R. et MEEUSE B. J. D. 1950. — *Ann. Rev. Plant Physiol.* 1, 207.
- GOOD N. E. et ANDREAE W. A. 1956. — *Plant Physiol.* 31, 231.
- GORDON S. A. 1954. — *Ann. Rev. Plant Physiol.* 5, 341.
- GORTNER W. A. et KENT M. 1953. — *J. Biol. Chem.* 204, 593.
- GREGORY F. G. et SENN P. K. 1937. — *Ann. Bot. N. S.* 1, 521.
- HACKETT D. P. 1952. — *Plant Physiol.* 27, 279.
— et THIMANN K. V. 1952. — *Am. J. Bot.* 39, 553.
— — 1953. — *Am. J. Bot.* 40, 183.
- HAMMETT F. S. et CHAPMAN S. S. 1938. — *Growth* 2, 297.
- HANES C. S., HIRD F. J. R. et ISHERWOOD F. A. 1950. — *Nature* 166, 288.
- HANSCH C., MUIR R. M. et METZENBERG R. L. 1951. — *Plant Physiol.* 26, 812.
- HAWKER L. E. 1932. — *New Phytologist* 31, 321.
- HEMBERG T. 1961. — In *Handb. d. Pf.**, Bd XIV, p. 1162.
- HILLMAN W. S. et GALSTON A. W. 1957. — *Plant Physiol.* 32, 129.
- HOPKINS F. G. 1921. — *Biochem. J.* 15, 286.
— et MORGAN E. J. 1943. — *Nature* 152, 288.
- HULME A. C. 1958. — *Adv. in Food Res.* 8, 297.
- JENSEN W. A. 1955. — *Exp. Cell. Res.* 8, 506.
- KANDLER O. 1953. — *Planta* 42, 304.
— et VIAREGG A. 1953. — *Planta* 41, 613.
- KARLSSON B. et ELIASSON L. 1955. — *Physiol. Plant.* 8, 561.
- KESER M. 1955. — *Planta* 45, 273.
- KIRK P. L. 1950. — *Anal. Chem.* 22, 354.
- KOBR M. — Thèse (en préparation), Lausanne.
- KOPP M. 1948. — *Ber. Schweiz. Bot. Ges.* 58, 283.
- LAHIRI A. N. et AUDUS L. J. 1961. — *J. Exp. Bot.* 12, 364.
- LAMPSIDIS E. 1961. — *Bull. Soc. bot. suisse* 71, 57.
- LARSEN P. 1951. — *Ann. Rev. Plant Physiol.* 2, 169.
- LAWRENCE J. M., DAY K. M. et STEPHENSON J. E. 1959. — *Plant Physiol.* 34, 668.
- LEOPOLD A. C. 1961. — In *Handb. d. Pf.**, Bd XIV, p. 671.
- LEXANDER K. 1953. — *Physiol. Plant.* 6, 406.
- LINDERSTRÖM-LANG K. et HOLTER H. 1932. — *C. R. Trav. Lab. Carlsberg* 19, 1.
- LIORÉ C. 1955. — *Ann. Biol.* 31, 185.
- LIPMANN F. 1941. — *Adv. Enzymol.* 1, 99.
— 1949. — *Federat. Proc.* 8, 597.
- LITTLEFIELD J. W., KELLER E. B., GROSS J. et ZAMECNIK P. 1955. — *J. Biol. Chem.* 217, 111.
- LIVERMAN J. L. et BONNER J. 1953. — *Proc. Nat. Acad. Sc. U. S.* 39, 905.
- LOOMIS W. D. 1958. In *Handb. d. Pf.**, Bd VIII, p. 224.
— et STUMPF P. K. 1958 a. — In *Handb. d. Pf.**, Bd VIII, p. 249;
b. — *Ibid.*, p. 262.
- LUND E. J. 1947. — Bioelectric fields and growth. Univ. of Texas Press, Austin.

- LUND E. J. et KENYON W. A. 1927. — *J. Exp. Zool.* 48, 333.
- MACHLIS L. 1944. — *Am. J. Bot.* 31, 281.
- MARGOT L. 1956. — *Mém. Soc. vaud. Sc. nat.* 11, 277.
- MARRÉ E. 1955. — *Atti Accad. naz. Lincei, Cl. Sc.* 18, 88.
- MC KEE H. S. 1937. — *New Phytologist* 36, 33.
— 1949. — *New Phytologist* 48, 1.
— 1958. — In *Handb. d. Pfl.**, Bd VIII, p. 477.
- MEISTER A. 1956. — *Physiol. Rev.* 36, 103.
- MITCHELL J. W. 1951. — In *Plant. Growth Substances*. Ed. F. SKOOG, Univ. of Wisconsin Press, p. 141.
— et BROWN J. W. 1945. — *Bot. Gaz.* 107, 120.
— et HAMNER C. L. 1938. — *Bot. Gaz.* 99, 569.
— et MARTIN W. E. 1937. — *Bot. Gaz.* 99, 171.
— et STUART N. W. 1939. — *Bot. Gaz.* 100, 627.
- MORGAN C. et REITH W. S. 1954. — *J. Exp. Bot.* 5, 119.
- MOTHES K. 1960. — *Naturwiss.* 15, 337.
- MOYSE A. 1950. — Thèse Fac. Sc. Paris (A 2311).
— 1951 a. — *Ann. Biol.* 27, 161; b. — *Ibid.* 27, 581.
- NANCE J. F. 1949. — *Science* 109, 174.
— et PERLIS I. B. 1955. — *Science* 121, 104.
- OSBORNE D. J. 1958. — *J. Exp. Bot.* 9, 446.
— 1959. — *Nature* 183, 1459.
- OVERBEEK VAN J. 1935. — *Proc. Nat. Acad. Sc.* 21, 292.
— 1942. — *Am. J. Bot.* 29, 677.
— 1944. — *Am. J. Bot.* 31, 265.
— 1956. — *Ann. Rev. Plant. Physiol.* 7, 355.
- PALMCRANTZ P. J. 1958. — *Chem. Abstr.* 52, 2190.
- PAECH K. 1935. — *Planta* 24, 78.
- PAYNE M. G., FULTS J. L. et HAY R. J. 1951. — *Science* 114, 204.
— — — 1952. — *Am. Potato J.* 29, 142.
— LIVINGSTON C. H. 1953. — *Am. Potato J.* 30, 46.
- PERLIS I. B. et NANCE J. F. 1956. — *Plant Physiol.* 31, 451.
- PETRIE A. H. K. 1943. — *Biol. Rev. Cambridge Phil. Soc.* 18, 105.
- PILET P. E. 1950. — *Bull. Soc. bot. suisse* 60, 5.
— 1951 a. — *Mém. Soc. vaud. Sc. nat.* 10, 137; b. — *Bull. Soc. bot. suisse* 61, 410; c. — *Experientia* VII/7, 262.
— 1952. — *Bull. Soc. vaud. Sc. nat.* 65, 197.
— 1953 a. — *Phyton (Austria)* 4, 247; b. — *Bull. Soc. vaud. Sc. nat.* 65, 409; c. — *C. R. Acad. Sc.* 237, 1352.
— 1954 a. — *VIII^e Congr. Intern. Bot.*, Paris, 8, 297; b. — *Ibid.* 11, 178.
— 1955. — *Actes Soc. helv. Sc. nat.* 135, 133.
— 1957 a. — *Experientia* XIII/1, 35; b. — *C. R. Acad. Sc.* 245, 371; c. — *Rev. gén. Bot.* 64, 106; d. — *Phyton (Argent.)* 8, 13; e. — *Physiol. Plant.* 10, 708; f. — *Bull. Soc. vaud. Sc. nat.* 66, 473; g. — *Actes Soc. helv. Sc. nat.* 137, 90.
— 1958 a. — *C. R. Acad. Sc.* 246, 1896; b. — *Ibid.* 246, 2399; c. — *Physiol. Plant.* 11, 745; d. — *Rev. gén. Bot.* 65, 605; e. — *C. R. Acad. Sc.* 247, 605.
— 1959 a. — *Bull. Soc. vaud. Sc. nat.* 67, 133; b. — *C. R. Acad. Sc.* 248, 1573; c. — *Rev. gén. Bot.* 66, 450.

- PILET P. E. 1960 a. — *Experientia* XVI/3, 111; b. — *C. R. Acad. Sc.* 250, 2047; c. — *Rev. gén. Bot.* 67, 298; d. — *Rev. gén. Sc.* 67, 151; e. — *Physiol. Plant.* 13, 766; f. — *Bull. Soc. bot. suisse* 70, 268.
- 1961 a. — Les phytohormones de croissance. Masson Edit., Paris; b. — In *Fourth Intern. Conf. on plant growth reg.*, Iowa State Univ. Press, p. 167; c. — *Bull. Soc. bot. suisse* 71, 25; d. — *C. R. Acad. Sc.* 252, 3634; e. — *Ibid.* 253, 701; f. — In *Handb. d. Pfl.*, Bd XIV, p. 784; g. — *Physiol. Plant.* 14, 787; h. — *Bull. Soc. vaud. Sc. nat.* 67, 525.
- et ATHANASIADÈS-MERCANTON M. 1959. — *Phyton* (Austria) 8, 210.
- et COLLET G. 1959. — *Bull. Soc. bot. suisse* 69, 47.
- — 1962. — Imp. Ch. Zwahlen, Lausanne.
- et DUBOUCHET J. 1961. — *C. R. Acad. Sc.* 253, 1846.
- et GALSTON A. W. 1955. — *Physiol. Plant.* 8, 888.
- et KOBR M. 1959. — *Bull. Soc. bot. suisse* 69, 261.
- — et SIEGENTHALER P. A. 1960. — *Rev. gén. Bot.* 67, 573.
- et MARGOT L. 1953. — *Bull. Soc. vaud. Sc. nat.* 65, 391.
- et MEYLAN S. 1953. — *Bull. Soc. bot. suisse* 63, 430.
- et PFISTER C. 1951. — *Bull. Soc. bot. suisse* 61, 461.
- et SIEGENTHALER P. A. 1959. — *Bull. Soc. bot. suisse* 69, 58.
- — 1961. — *C. R. Acad. Sc.* 252, 1832.
- — 1962. — *C. R. Acad. Sc.* 254, 340.
- et TURIAN G. 1953. — *Bull. Soc. vaud. Sc. nat.* 65, 403.
- et WENT F. W. 1956. — *Am. J. Bot.* 43, 190.
- et WURGLER W. 1953. — *Bull. Soc. vaud. Sc. nat.* 65, 397.
- PIRIE N. W. 1959. — *Ann. Rev. Plant Physiol.* 10, 33.
- POHL R. 1961. — In *Handb. d. Pfl.*, Bd XIV, p. 703.
- PRESTON R. D. 1961. — In *Handb. d. Pfl.*, Bd XIV, p. 311.
- PREVOT P. et STEWARD F. C. 1936. — *Plant. Physiol.* 11, 509.
- RAMSHORN K. 1934. — *Planta* 22, 737.
- 1958. — *Flora* 145, 1.
- RASMUSSEN L. W. 1947. — *Plant Physiol.* 22, 377.
- et LAWRENCE J. M. 1955. — *Report West Weed Conf. Boise, Idaho.*
- RAY P. M. 1958. — *Ann. Rev. Plant Physiol.* 9, 81.
- REBSTOCK T. L., HAMNER C. L., BALL C. D. et SELL H. M. 1952. — *Plant Physiol.* 27, 639.
- REID M. E. 1941. — *Am. J. Bot.* 28, 45.
- REINHOLD L. et POWELL R. G. 1956. — *Nature* 177, 658.
- 1958. — *J. Exp. Bot.* 9, 82.
- RHODES A., TEMPLEMAN W. G. et THRUSTON M. N. 1950. — *Ann. Bot. N. S.* 14, 181.
- RICHARDS F. J. 1938. — *Ann. Bot. N. S.* 2, 491.
- ROBINSON E. 1956. — *J. Exp. Bot.* 7, 296.
- et BROWN R. 1952. — *J. Exp. Bot.* 3, 356.
- — 1954. — *J. Exp. Bot.* 5, 71.
- et CARTWRIGHT P. M. 1958. — *J. Exp. Bot.* 9, 430.
- RUHLAND W. et RAMSHORN K. 1938. — *Planta* 28, 471.

- SACHER J. A. 1957. — *Science*, 125, 1199.
- SCHRANK A. R. 1951. — In *Plant Growth Substances*, Ed. F. SKOOG, Univ. of Wisconsin Press, p. 123.
- SEILER L. 1951. — *Bull. Soc. bot. suisse* 61, 622.
- SELL H. M., LEUCKE R. W., TAYLOR B. M. et HAMNER C. L. 1949. — *Plant Physiol.* 24, 295.
- SIEGEL S. N. et GALSTON A. W. 1953. — *Proc. Nat. Acad. Sc. U. S.* 39, 1111.
- SKOOG F. et ROBINSON B. J. 1950. — *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 74, 565.
- SMITH F. G., HAMNER C. L. et CARLSON R. F. 1947. — *Plant Physiol.* 22, 58.
- SPRAGG S. P. et YEMM E. W. 1954. — *Biochem. J.* 58, XI.
- STEWART F. C. et BIDWELL R. G. S. 1958. — *J. Exp. Bot.* 9, 285.
— — et YEMM E. W. 1958. — *J. Exp. Bot.* 9, 11.
— et POLLARD J. K. 1957. — *Ann. Rev. Plant Physiol.* 8, 65.
— et STREET H. E. 1946. — *Plant Physiol.* 21, 155.
— , WETMORE R. H., THOMPSON J. F. et NITSCH J. P. 1954. — *Am. J. Bot.* 41, 123.
- STREET H. E. 1949. — *Adv. Enzymol.* 9, 391.
— 1953. — *Physiol. Plant.* 6, 466.
- STUART N. W. 1938. — *Bot. Gaz.* 100, 298.
- THIMANN K. V. 1934. — *J. gen. Physiol.* 18, 23.
— 1937. — *Am. J. Bot.* 24, 407.
— et LOOS G. M. 1957. — *Plant. Physiol.* 32, 274.
- THOMAS M. D. 1958. — In *Handb. d. Pf.**, Bd IX, p. 37.
- THOMSON B. F. 1950. — *Am. J. Bot.* 37, 284.
— 1951. — *Am. J. Bot.* 38, 635.
— 1954. — *Am. J. Bot.* 41, 326.
— 1959. — *Am. J. Bot.* 46, 740.
- TORREY J. G. 1956. — *Ann. Rev. Plant Physiol.* 7, 237.
— 1959. — *Physiol. Plant.* 12, 873.
- VARNER J. E. 1961. — *Ann. Rev. Plant Physiol.* 12, 245.
— et WEBSTER G. S. 1955. — *Plant. Physiol.* 30, 393.
- VICKERY H. B. 1956. — *Plant Physiol.* 31, 455.
— , PUCHER G. W., SCHOENHEIMER R. et RITTENBERG D. 1940. — *J. Biol. Chem.* 135, 531.
- VIETS F. G. JR., MOXON A. L. et WHITEHEAD E. I. 1946. — *Plant Physiol.* 21, 271.
- WAELSCH H. 1952. — *Adv. Enzymol.* 13, 237.
- WALEY S. G. 1958. — In *Handb. d. Pf.**, Bd VIII, p. 343.
- WALKLEY J. et PETRIE A. H. K. 1941. — *Ann. Bot. N. S.* 5, 661.
- WANNER H. 1950. — *Ber. Schweiz. Bot. Ges.* 60, 404.
- WEBSTER G. C. 1955. — *Plant Physiol.* 30, 351.
— 1957. — *Biol. Chem.* 229, 535.
— et VARNER J. E. 1954. — *Arch. Biochem. Biophys.* 52, 22.
- WELLER L. E., LUECKE R. W., HAMNER C. L. et SELL H. M. 1950. — *Plant Physiol.* 25, 289.
- WHITMORE R. A. 1944. — *Plant. Physiol.* 19, 569.
- WOLF D. E., VERMILLION G., WALLACE A. et AHLGREN G. H. 1950. — *Bot. Gaz.* 112, 188.

- WOOD J. G. 1953. — *Ann. Rev. Plant Physiol.* 4, 1.
— et BARRIEN B. S. 1939. — *New. Phytologist* 38, 125.
— et PETRIE A. H. K. 1942. — *Austr. J. Exp. Biol. Med. Sc.* 20, 249.
- WORT D. J. 1949. — *Am. J. Bot.* 36, 673.
— 1951. — *Plant Physiol.* 26, 50.
— 1961. — In *Handb. d. Pf.**, Bd XIV, p. 1110.
- YEMM E. W. 1949. — *New. Phytologist* 48, 315.
— 1956. — *Ciba Foundation. Colloquia on ageing* 2, 202.
— 1958. — In *Handb. d. Pf.**, Bd VIII, 437.
— et FOLKES B. F. 1958. — *Ann. Rev. Plant Physiol.* 9, 245.
- ZIEGLER H. 1961 a. — In *Handb. d. Pf.**, Bd XIV, p. 138; b. — *Ibid.*, p. 271.
-

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
AVANT-PROPOS	1
PREMIÈRE PARTIE : MÉTHODES ET TECHNIQUES	2
Le matériel (2); Analyse des composés azotés (4); Analyse de l'activité des systèmes auxines-oxydasiques (7); Autres méthodes d'analyse (8); Les critères de référence (8).	
DEUXIÈME PARTIE : GRADIENTS DES RACINES DU « LENS »	14
Problème général (14).	
Chapitre I : <i>Les gradients azotés</i>	15
Quelques travaux (15); Remarques préliminaires (18) Résultats (19); Discussion (21); Premières conclusions (25).	
Chapitre II : <i>Gradients azotés et autres gradients biochimiques</i>	26
Introduction (26); Gradients azotés, respiratoires et glucidiques (26); Gradients azotés et auxiniques (31); Gradients azotés et activité auxines-oxydasique (36); Gradients azotés et teneur en groupes sulfhydrylés (38); Gradients azotés et polarité bioélectrique (41); Conclusions (43).	
Chapitre III : <i>La sénescence des racines</i>	45
Introduction (45); Le problème (45); Quelques travaux (46); Techniques (48); Sénescence et croissance (49); Sénescence, âges chronologique et physiologique (50); Analyse de la pointe de la racine (52); Conclusions (56).	
TROISIÈME PARTIE : ACTION DE L'ABIA SUR LA CROISSANCE ET LE MÉTABOLISME DE L'AZOTE	57
Introduction (57); Le problème général (57).	
Chapitre I : <i>Etude préliminaire</i>	58
A. <i>Analyse bibliographique</i>	58
Action des auxines sur la croissance (58); Action des auxines sur les échanges respiratoires (59); Action des auxines sur le taux en glucides (60); Action des auxines sur le métabolisme azoté (61); Action des auxines sur les enzymes réglant le taux en protéines (64); Action des auxines sur les membranes cellulaires (64).	
B. <i>Expériences préliminaires</i>	65
Le problème (65); Matériel et méthodes (65); Action de traitements auxiniques (66); Discussion et conclusions (71).	
Chapitre II : <i>Métabolisme azoté et croissance</i>	74
Quelques travaux (74); Le problème (76); Problèmes techniques (76); La croissance (79); Les variations des composés azotés (81); Discussion et conclusions (82).	
Chapitre III : <i>ABIA, croissance et métabolisme azoté</i>	86
A. <i>Action de l'ABIA sur la croissance</i>	86
Le problème (86); Matériel et méthodes (87); Les racines (87); Les épicotyles (93); Utilisation des réserves (94).	

B. <i>Action de l'ABIA sur le métabolisme azoté</i>	94
Le problème (94); Les racines (94); Les épicotyles (96); Utilisation des réserves (96); Discussion (98).	
C. <i>Conclusions</i>	103
Chapitre IV : <i>Le catabolisme auxinique</i>	104
Introduction (104); Le problème (105); Technique (106); Définitions (106); Les résultats (106); Discussion (110).	
Chapitre V : <i>Action de la lumière</i>	114
Le problème (114); Quelques travaux (114); Techniques (116); Action de la lumière sur la croissance (116); Action de la lumière sur l'activité auxines-oxydasique des racines (117); Action de la lumière sur le métabolisme azoté (119); Discussion et conclusions (120).	
CONCLUSIONS	123
BIBLIOGRAPHIE	128

Manuscrit reçu le 6 avril 1962.

Rédaction : Mlle Suzanne Meylan, professeur, Treyblanc 6, Lausanne.
 Publicité : M. R. Magliocco, En Martines, Le Mont, Lausanne.
 Imprimerie Baud, place de la Riponne, Lausanne.