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

Kapitel: 2: Gradients des racines du LENS

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: 13.12.2025

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

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 bioélectrique, 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'amino-acides

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, polyholosides, 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	100 F	1496	762	748	923	1089	1576
total	10mg PF	120,4	44,6	39,6	39,2	42,7	48,7
en γ	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	100 F	979	356	365	405	420	587
protéinique	10mg PF	75,8	16,7	15,4	14,1	13,1	15,0
en γ	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	100 F	517	406	383	518	669	989
soluble	10mg PF	44,6	27,9	24,2	25,1	29,6	33,7
en γ	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 radiculaire, 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 radiculaire, 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 ;

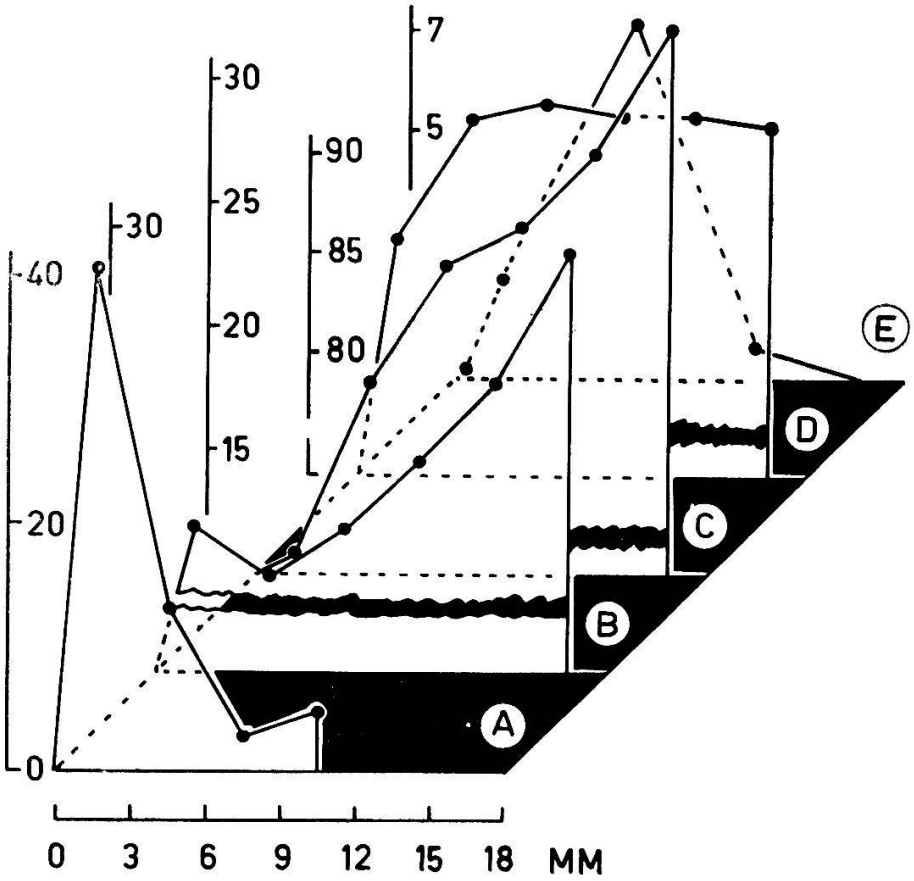

FIG. 1 : *Quelques gradients des racines du «Lens» (18 mm de longueur)*
(A) Nombre de cellules (à multiplier par 10^4) pour 100 fragments, d'après PILET et MEYLAN (1953) ; (B) poids sec exprimé en mg pour 100 fragments ; (C) teneur en eau, exprimée en mg (· 10) pour 100 fragments ; (D) teneur en eau 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 radiculaire ;
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.

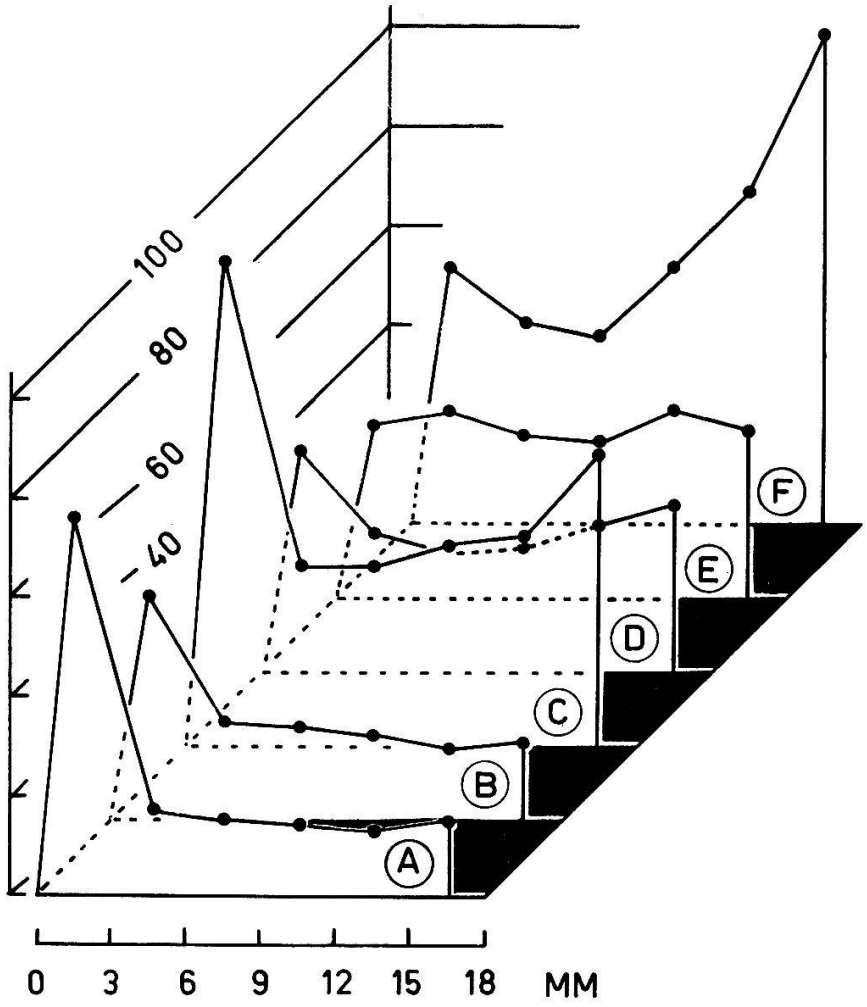

Fig. 2. — *Gradients azotés des racines du « Lens » (18 mm de longueur)*
Teneur en azote protéinique exprimée en γ pour 10 mg de poids frais, (B) en γ (. 10) pour 10 mg de poids sec, (C) en γ (. 10) pour 100 fragments. *Teneur en azote soluble* exprimée (D) en γ pour 10 mg de poids frais, (E) en γ (. 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 radiculaire 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 BORSOOK 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'amino-acides (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 mérésis 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 protogenèse étaient plus intenses que ceux de protéolyse.

Dans les tissus en voie d'élongation, les phénomènes d'auxésis l'emportent sur ceux de mérésis. 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 pourrons 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 courbent 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 radiculaire 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; Karlssen 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 continuelles des protéines. Même dans les conditions où l'on constate une nette perte de protéines, il a été possible, grâce à l'emploi de N^{15} 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*.

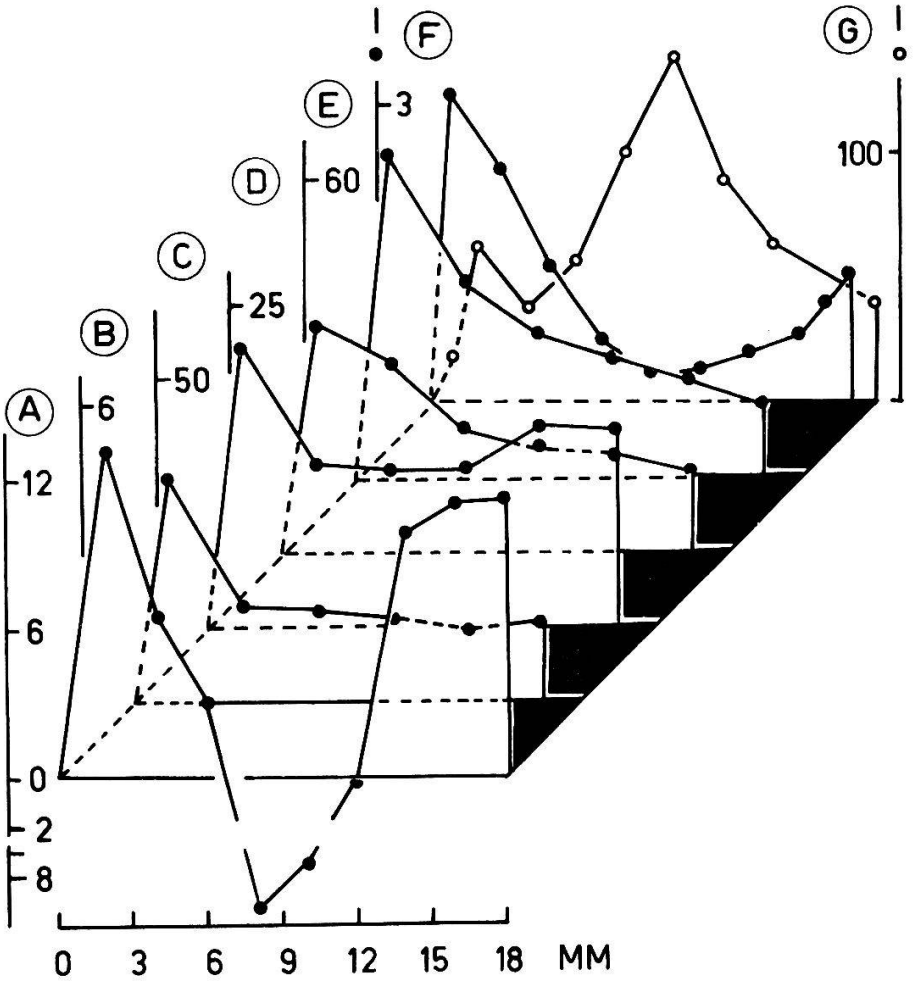

FIG. 3. — *Gradients biochimiques des racines du « Lens » (18 mm de longueur)* (A) Distribution des potentiels bioélectriques (différence de potentiel exprimée en mV), d'après PILET et MEYLAN (1953) ; (B) teneur en azote protéinique exprimée en γ (. 10) pour 10 mg de poids sec ; (C) valeur mésoxalique (VM) exprimant la teneur en fonctions thiols, pour 100 fragments (à multiplier par 1 10^{-3}) d'après PILET (1957) ; (D) VM pour 10 g de poids sec ; (E) quantité d'oxygène absorbé exprimée en µl O_2/60 mn/10 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 éthérés 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 radiculaire *(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)*.

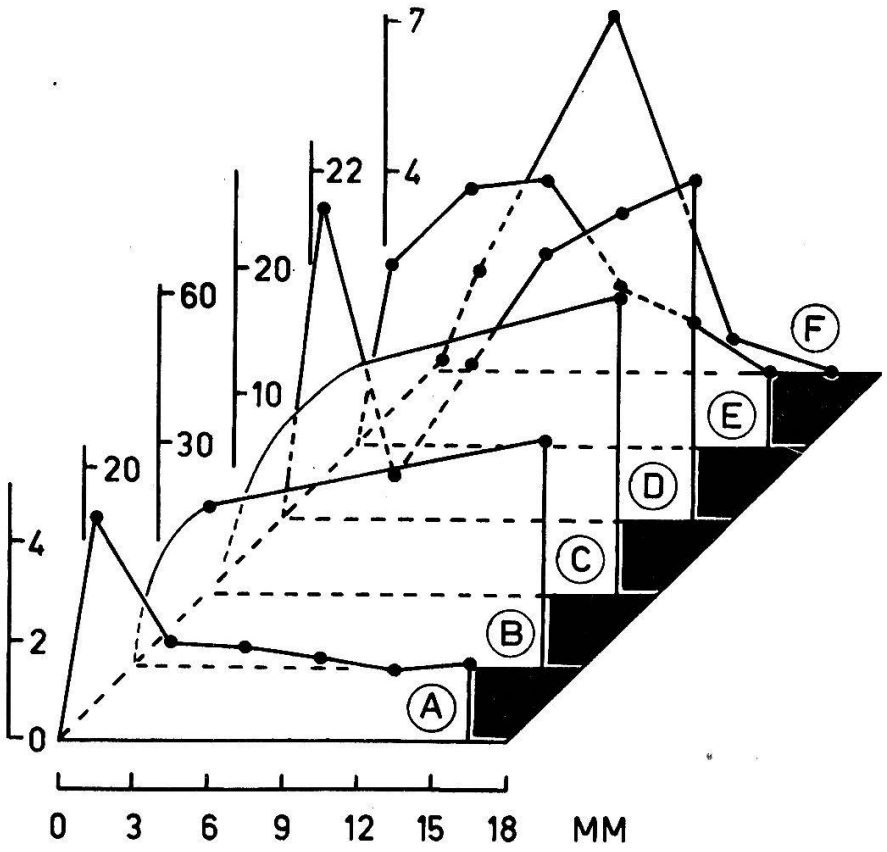

FIG. 4. — *Gradients biochimiques des racines du « Lens » (18 mm de longueur)*
(A) Teneur en azote protéinique exprimée en γ (· 10^2) pour 10 mg de poids sec ; (B et C) activités de l'accélérateur α et de l'inhibiteur β, exprimées en % de stimulation et d'inhibition de croissance (test R), d'après PILET (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 (· 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 radiculaire.

Dans la zone de division, la quantité d'ABIA endogène, relativement petite, semble favoriser plutôt la mérésis 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'accentue 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 radiculaire. 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

Grandients 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 $\gamma . 10^{-3}$ 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 Fabia,* 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 radiculaire, 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 péricyclique. Il est probable en outre que, dans la zone d'élongation, le manque d'amino-acides 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 amino-acides 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 radiculaire 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 radiculaire 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 radiculaire. 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'amino-acides 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 mérésis 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 mérésis, 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 mérésis (*zone d'élongation*), le métabolisme général subit de profonds changements. Tout d'abord, les phénomènes de protéolyse l'emportent sur ceux de la protéogenèse 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 aver 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 bioélectriques 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).

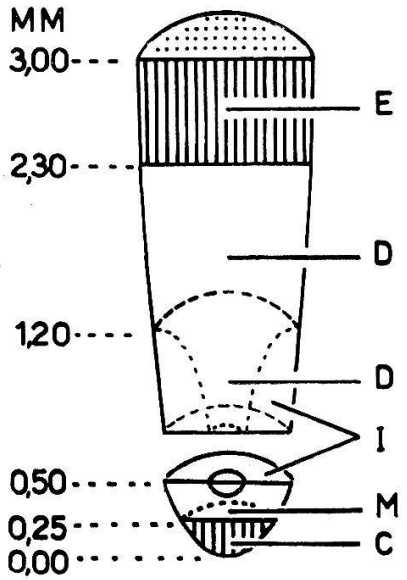

FIG. 5. — *Différents tissus de la pointe de racine du « Lens » (de 0,00 à 3,00 mm)*

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 H_2O_2) 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 continuel. 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 $^{15}NH_3$). 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 mérésis 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 sénescentes 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 règlent 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 mm ± 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 ± 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 mm ± 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 mm ± 0,15 à partir du sommet et le second 2,5 mm ± 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 élongation 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 avions 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 longeur. 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 radiculaire. Il nous paraît justifié, une fois de plus, d'établir certaines relations biochimiques entre les tissus d'un axe radiculaire 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 ca-

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'accentuent 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 0,0 - 0,5	0,5 - 3,0	Références
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)
	10mg PF	0,013	2,10	PILET et SIEGENTHALER (1959, 1961)
	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)
	10mg PF	7,5	2,1	PILET et SIEGENTHALER (1959, 1961)
	10mg PS *	39,6	18,05	
	1mg NL	84,0	44,5	
	10^8 cellules	73,3	8,6	
Teneur en fonctions thiols (VM)	10 g PS	3,7	27,6	PILET (1957)
Q_{O_2} en γ O_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 proposions 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