

Un test auxinique foliaire

Autor(en): **Pilet, Paul-Emile / Gaschen, Michel**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Berichte der Schweizerischen Botanischen Gesellschaft = Bulletin de la Société Botanique Suisse**

Band (Jahr): **68 (1958)**

PDF erstellt am: **18.09.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-47923>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Un test auxinique foliaire

Par Paul-Emile Pilet et Michel Gaschen

Laboratoire de Physiologie végétale de l'Université de Lausanne

Manuscrit reçu le 6 septembre 1958

Avant-propos

Parmi les nombreux tests biologiques proposés pour déterminer l'activité des composés auxiniques, les feuilles ont été parfois utilisées sans rencontrer d'ailleurs autant de succès que d'autres tests plus commodes (coléoptiles, épicotyles, hypocotyles, racines, etc...) Plusieurs méthodes ont été employées et les plus fréquentes consistent dans la mesure de la surface de fragments de feuilles ou de feuilles entières traitées indirectement ou directement par des composés actifs. Citons quelques-unes de ces techniques. Schlenker et Mittmann (8) utilisent des plantes d'*Epilobium hirsutum* cultivées dans des conditions constantes. A l'aide d'un pinceau, ils appliquent sur le sommet végétatif des tiges une solution d'acide β indolyl-acétique (ABIA), l'opération est répétée 30 jours et on détermine ensuite la surface des six premières paires de feuilles qu'on compare avec des témoins. Brown et Weintraub (3) appliquent une goutte d'une solution alcoolique d'ABIA sur le bourgeon terminal et l'entre-nœud de plantes du *Phaseolus vulgaris*. Après un certain temps (5 à 12 jours), ils déterminent la surface des feuilles en procédant de la façon suivante: les feuilles sont appliquées sur du papier photographique, après tirage, on découpe la silhouette obtenue et on pèse. Connaissant la correspondance entre la surface et le poids, on trouve la surface des feuilles. Blackmann (1) abandonne des plantes de *Lemna* un certain temps dans des solutions de substances de croissance. Après 8 jours de culture, il photographie les feuilles flottantes, les images obtenues sont projetées sur un écran et leur surface est mesurée à l'aide d'un planimètre vertical. On compare les valeurs obtenues avec celles correspondant à des plantes demeurées dans de l'eau.

D'autres techniques portent sur des mesures de poids. Bonner, Haagen-Smit et Went (2) prélèvent à l'emporte-pièce dans des feuilles du *Raphanus sativus* de 50 mm² environ des disques de 19,5 mm². Ces disques sont lavés puis immergés dans la solution à étudier (ici il s'agit généralement d'extrait foliaire) pendant 30 h à 25° C. L'accroissement des disques est mesuré par pesées et l'unité proposée est le «Leaf-unit»

qui correspond à l'activité d'une solution contenant 1 mg d'extrait (par diffusion) de graine de *Pisum sativum* dans 1 ml de saccharose à 1%. Thompson, Swanson et Normann (9) appliquent sur la face supérieure des feuilles primaires de jeunes plantes du *Phaseolus multiflorus*, à 3 mm du point d'attache, sur la nervure médiane, une goutte de solution aqueuse d'ABIA contenant un produit adhésif. Au bout de 10 jours, on détermine le poids frais de ces feuilles qu'on compare au témoin.

D'autres méthodes ont encore été proposées, citons celles qui consistent dans la mesure de l'enracinement de fragments de feuilles (*Ramonda myconi*) Pilet (6), celles qui portent sur des analyses de courbure de feuilles tronçonnées et traitées par des pâtes de lanoline enrichies d'ABIA (*Coleus*) Laibach et Fischnich (5), celles enfin qui consistent dans des observations d'épinastie, Zimmerman, Hitchcock et Wilcoxon (10) et Hitchcock et Zimmerman (4).

Principe

La technique que nous proposons dans ce travail est inspirée de celle de Bonner, Haagen-Smit et Went (2), avec la différence qu'il ne s'agit pas, comme ces auteurs le suggèrent, de mesures gravimétriques, mais d'évaluation de surface.

Il nous paraît en effet extrêmement discutable de vouloir rendre compte de l'activité de composés auxiniques par des mesures de poids. On sait bien que les variations de la masse d'un organe traité par des substances de croissance, si elles sont dues parfois à des modifications dans l'allongement de leurs cellules, résultent le plus souvent de perturbations dans la teneur en eau des tissus. Or l'imbibition *in vivo* de l'organisme n'est pas nécessairement placée sous le contrôle des auxines ou des composés voisins. Il s'ensuit que les mesures gravimétriques proposées risquent de ne donner que des renseignements très relatifs et évidemment discutables.

Mais les variations de surface des fragments de feuilles sont très petites et il est extrêmement difficile de pouvoir les apprécier par les méthodes planimétriques usuellement adoptées. Nous avons alors songé à utiliser une technique de mesure de surface foliaire récemment mise au point (Pilet et Meylan, 7).

Les fragments de feuilles sont déposés sur une plaque de verre dans une petite boîte noire. Sous cette plaque, on aura placé un diaphragme réglable et sous le diaphragme une source lumineuse dont les caractéristiques sont maintenues constantes grâce à un stabilisateur qui fixe la tension d'entrée, un rhéostat, un voltmètre et un ampèremètre. La lumière qui passe à travers le diaphragme tombe sur une cellule photo-électrique très sensible, en connexion avec un galvanomètre. On comprendra que si la surface du fragment augmente, la quantité de lumière

qui arrive sur le luxmètre sera plus faible. On peut ainsi ramener la mesure de la surface à une mesure d'intensité. En contrôlant avec soin les variations de transparence de la feuille et en tenant compte des chiffres obtenus dans l'expression des résultats finaux, on peut alors exprimer l'activité d'un composé auxinique par une valeur donnée en % correspondant à la quantité de lumière tombant sur la cellule pour des fragments de feuille conservés dans de l'eau ou dans la solution active.

Appareillage

Les divers instruments indispensables pour réaliser les expériences dont nous venons de donner le principe ont été longuement décrits ultérieurement (7), rappelons-en l'essentiel :

Une chambre comprenant tout d'abord la source lumineuse (lampe Tungstram H. 64, type Minora, de 230 V, de 25 W et de 230 lumens), le diaphragme, le support de verre et la cellule photo-électrique (cellule Weka, circulaire, de 9,5 cm de diamètre avec un galvanomètre à 6 sensibilités, de 10 à 2500 lux donnés à $\pm 0,02$ à ± 5 lux) et un rhéostat de réglage. Outre un rhéostat, un voltmètre et un ampèremètre permettant de maintenir l'intensité de la lumière constante, il faut citer le stabilisateur. Sans cet instrument, les mesures seraient impossibles avec les variations inévitables qu'on observe dans le réseau. Ce stabilisateur électronique est alimenté par une tension de 220 V et de 40 à 60 Hz et donne une tension de 215 V (continu). La stabilité de la tension (avec une variation tolérée de la tension d'entrée de ± 20 V) est de 1:10 000 dans un intervalle d'utilisation de 0,5 à 35 W.

Matériel

Nous avons utilisé des feuilles du *Pteris cretica* L. dont les plantes ont été cultivées en lumière artificielle (1200 lux ± 250) à une température relativement constante (23° C ± 2) et une humidité de 80% ± 5 . Seules les jeunes feuilles ont été employées, qui mesuraient approximativement 12 mm de large pour 100 mm de long.

Méthode

Nous allons passer très brièvement en revue les diverses opérations :

1. Préparation des fragments :

On prélève à l'emporte-pièce des sections dans le limbe des feuilles du *Pteris*. On s'arrange pour que ces fragments, découpés parallèlement à la nervure principale mesurent 5×10 mm (figure 1).

2. Mesures préliminaires :

On détermine alors la quantité de lumière que laisse passer ces fragments initiaux. Appelons la grandeur trouvée L_0 . On s'arrange évidemment

pour que les caractéristiques de la lampe, du diaphragme et de la cellule soient rigoureusement déterminées et maintenues parfaitement constantes durant toute l'expérience.

3. Mise en culture :

On dépose ensuite ces fragments (50 par lot) dans des boîtes de Petri (10 par boîte) de 9 cm de diamètre, contenant une feuille de papier filtre imbibée par 5 ml d'une solution d'ABIA dans un mélange tampon de Mc Ilvaine (pH 4,0). Parallèlement on réalisera des essais témoins où les fragments seront mis en contact avec un papier filtre imprégné du même mélange, mais dépourvu d'ABIA. Les boîtes de Petri seront déposées à l'étuve pour 48 h (obscurité, 22° C).

4. Mesure :

On détermine alors à nouveau la quantité de lumière que laissent passer ces fragments, appelons L'_{TE} la valeur obtenue pour les témoins

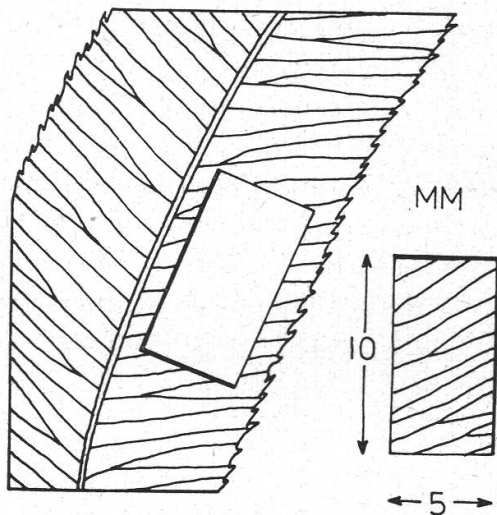


Figure 1

Préparation des fragments
Une portion de jeune feuille du *Pteris cretica* L. et un fragment du limbe prélevé parallèlement à la nervure principale et utilisé comme test biologique

et L'_{TR} celle que donnent les fragments en contact avec l'ABIA (une concentration déterminée).

5. Coefficient de transparence :

Mais si la surface du fragment a changé, sa transparence peut s'être aussi modifiée. On réalise alors les essais suivants. Des feuilles fraîches sont découpées et on dépose sur elles un cache opaque perforé d'un trou de 4 mm de diamètre. Le fragment est placé sur une plaque de verre, laquelle repose sur un support portant le diaphragme réglable. La lumière qui traversera ces divers objets passera au travers de la feuille (figure 2). On détermine la valeur obtenue que nous appellerons par exemple X. On répète la même expérience pour les fragments qui sont demeurés 48 h en contact avec la solution active; nous désignerons par Y la valeur obtenue. Nous pouvons alors définir le coefficient de transparence C

$$C = 4 \cdot (Y - X)$$

Pourquoi ce facteur correctif de 4 ?

La surface du fragment ($5 \times 10 \text{ mm}$) est égale à 50 mm^2 , or la portion de la feuille utilisée est évidemment plus petite, puisqu'il faut que le fragment soit complètement recouvert, la surface ainsi traversée par la lumière vaudra $\pi \cdot D^2/4$, soit $12,56 \text{ mm}^2$ (le diamètre de l'ouverture étant de 4 mm). Il s'ensuit que le rapport $50:12,56 = 3,9$ donc approximativement 4.

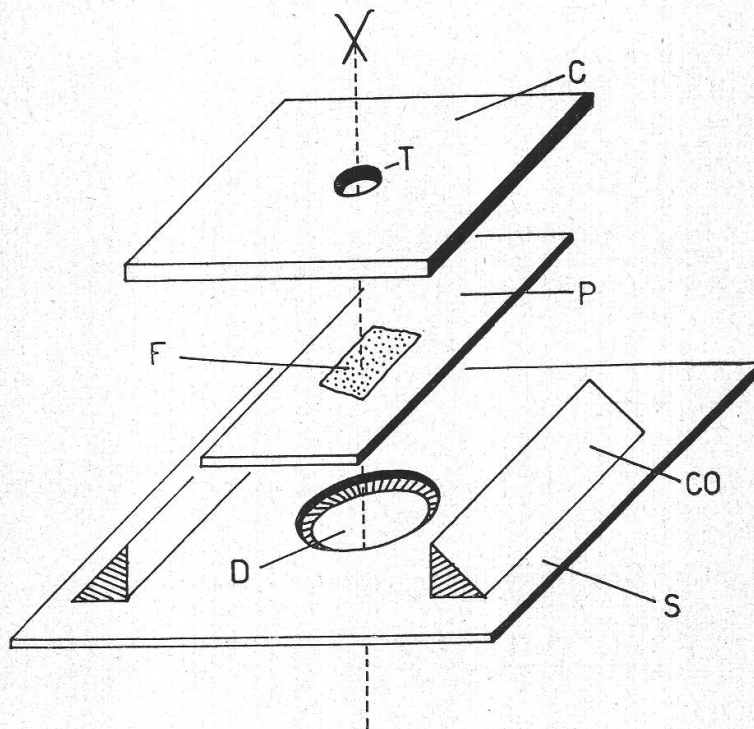


Figure 2

Dispositif pour la détermination du coefficient de transparence

C: cache opaque avec un trou T (diamètre = 4 mm)

P: plaque de verre portant le fragment F

S: support contenant le diaphragme réglable D et des coulisses CO

Au moment de l'expérience P est déposé sur S et C glisse entre CO

Si la feuille est devenue plus transparente alors $Y > X$ et $C > 0$

Si la feuille est devenue moins transparente alors $Y < X$ et $C < 0$

On détermine C pour les fragments témoins (C_{TE}) et pour les traités (C_{TR}).

6. Corrections:

Utilisant les valeurs de C et de L' , on aura alors les valeurs corrigées L.

On écrira:

$$L_{TE} = L'_{TE} - C_{TE} \text{ et } L_{TR} = L'_{TR} - C_{TR}$$

Si les sections sont devenues plus transparentes, les valeurs de L seront donc trop fortes, mais comme dans ce cas $C > 0$, alors L sera $< L'$. Si au contraire, les fragments sont devenus moins transparents, L sera trop petit, C étant < 0 , L sera par conséquent $> L'$.

7. Expression des résultats:

Nous pouvons trouver les valeurs de variations de l'intensité lumineuse et nous poserons:

$$\Delta L_{TE} = L_{TE} - L_0 \text{ et de même } \Delta L_{TR} = L_{TR} - L_0$$

On pourra exprimer ces valeurs en %, en écrivant:

$$p\% = \frac{\Delta L_{TR} - \Delta L_{TE}}{\Delta L_{TE}} \cdot 100$$

Ou ce qui revient au même:

$$p\% = \frac{(L_{TR} - L_0) - (L_{TE} - L_0)}{L_{TE} - L_0} \cdot 100$$

En simplifiant nous aurons:

$$p\% = \frac{L_{TR} - L_{TE}}{L_{TE} - L_0} \cdot 100$$

Ou en donnant directement les valeurs mesurées:

$$p\% = \frac{L'_{TR} - L'_{TE} - C_{TR} + C_{TE}}{L'_{TE} - L_0 - C_{TE}} \cdot 100$$

Exemple d'un calcul complet

Prenons à titre d'exemple la détermination faite pour la concentration $1 \cdot 10^{-7}$ M ABIA, et donnons, à ce sujet, les valeurs trouvées en lux avec l'erreur absolue calculée sur la moyenne de 50 mesures:

Recherche de L_0 : $L_0 = 320,2 \pm 1,4$

Recherche de L' : $L'_{TE} = 237,3 \pm 1,6$ $L'_{TR} = 234,4 \pm 2,1$

Recherche de C :

$$X = 8,7 \pm 0,4 \quad Y_{TE} = 9,4 \pm 1,3 \quad Y_{TR} = 8,2 \pm 1,7$$

$$C_{TE} = 4 (Y_{TE} - X) = 4 (9,4 - 8,7) = + 2,8$$

$$C_{TR} = 4 (Y_{TR} - X) = 4 (8,2 - 8,7) = - 2,0$$

La valeur de C_{TE} est > 0 , ce qui signifie que la feuille est devenue plus transparente, alors que C_{TR} est < 0 , ce qui veut dire que la feuille est devenue moins transparente.

Recherche de L:

$$L_{TE} = L'_{TE} - C_{TE} = 237,3 - 2,8 = 234,5$$

$$L_{TR} = L'_{TR} - C_{TR} = 234,4 - (-2,0) = 236,4$$

Recherche de p%:

$$p\% = \frac{L_{TR} - L_{TE}}{L_{TE} - L_0} \cdot 100 = \frac{236,4 - 234,5}{234,5 - 230,2} \cdot 100 = +44,2\%$$

Courbe étalon

Des essais ont été réalisés pour un certain nombre de concentrations d'ABIA (de $1 \cdot 10^{-8}$ M à $5 \cdot 10^{-4}$ M). Les valeurs obtenues, calculées comme précédemment ont été reportées dans la figure 3.

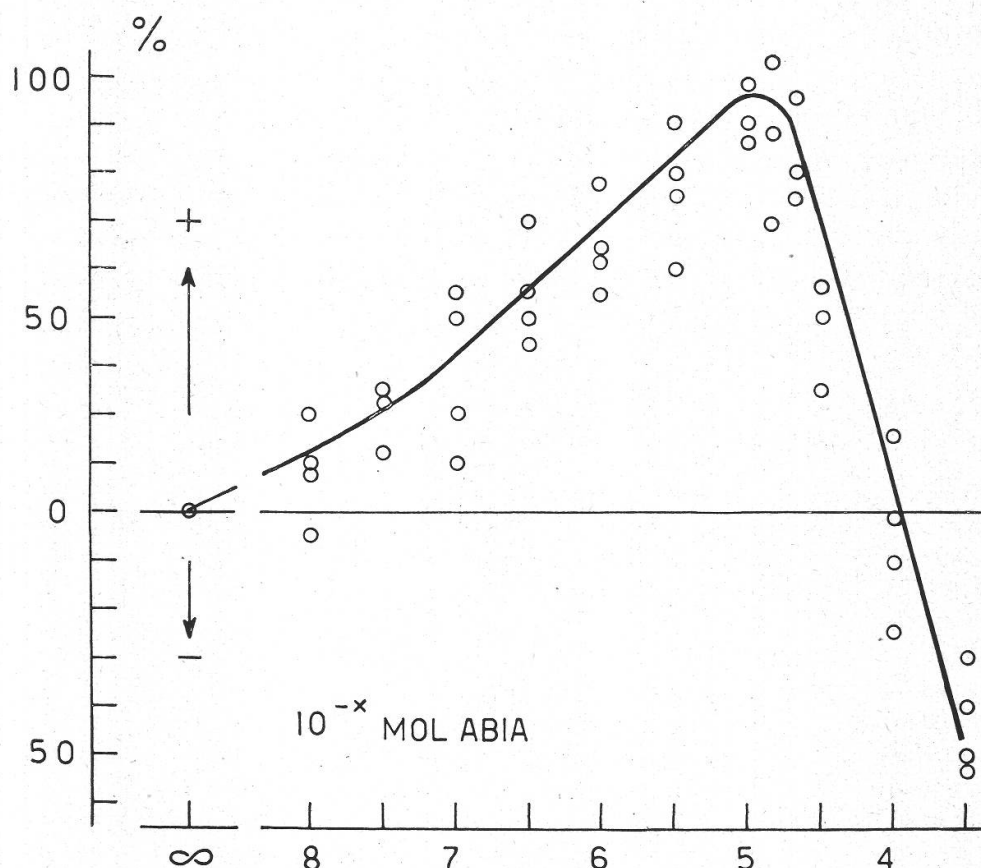


Figure 3

Courbe étalon

Variations de la concentration, en fonction du % d'action (v. texte p. 320-321)

On peut constater que de $1 \cdot 10^{-8}$ M à $1 \cdot 10^{-5}$ M, il y a stimulation, et la courbe traduisant les variations du % en fonction de la concentration est presque linéaire. Au-delà de $1 \cdot 10^{-5}$ M, il y a décroissance de cet effet

de stimulation, pour une concentration de $1 \cdot 10^{-4}$ M, l'effet s'annule et au-delà on entre dans un domaine d'inhibition.

Toutefois, il ne faudrait pas d'emblée interpréter ce graphique en ne tenant compte que des variations de surface, car on serait tenté de dire que la surface foliaire s'accroît de $1 \cdot 10^{-8}$ à $1 \cdot 10^{-5}$, puis décroît de $1 \cdot 10^{-5}$ à $1 \cdot 10^{-4}$ M, tout en restant supérieure à la surface des fragments témoins, enfin au-delà de $1 \cdot 10^{-4}$ M, la surface est plus petite. Une telle conclusion serait inexacte lorsqu'on songe que la transparence de la feuille subit d'importantes modifications, le test proposé tenant compte à la fois des variations de surface et de transparence.

Ajoutons encore que l'approximation des résultats est relativement bonne si l'on ne tient compte que des erreurs systématiques. À ce propos, dans notre travail consacré à la méthode proprement dite de la mesure des surfaces foliaires (7), nous avons longuement discuté des valeurs que prenaient les erreurs absolues et relatives dans l'évaluation de la surface et de l'intensité. Il faut ici ajouter les erreurs moyennes dues aux variations mêmes du test biologique. Pratiquement l'écart moyen, ainsi qu'on peut le voir sur la courbe étalon est de l'ordre de $\pm 12\%$. Dans ce cas, les différences de réactions d'une concentration à l'autre, pour les fragments de feuilles, ne paraissent pas significatives, toutefois la courbe traduisant la valeur moyenne de la réponse est, elle, susceptible d'être utilisée, du moins dans la zone des concentrations faibles, c'est-à-dire entre $1 \cdot 10^{-8}$ M à $1 \cdot 10^{-5}$ M.

Bibliographie

1. Blackmann, G. E. — *J. exp. Bot.*, **3**, 1; 1952.
2. Bonner, D. M., Haagen-Smit, A. J., et Went, F. W. — *Bot. Gaz.*, **101**, 128, 1939.
3. Brown, J. W., et Weintraub, R. L. — *Bot. Gaz.*, **111**, 448, 1950.
4. Hitchcock, A. E., et Zimmerman, P. W. — *Contr. Boyce Thompson Inst.*, **16**, 225, 1951.
5. Laibach, F., et Fischnich, O. — *Planta*, **25**, 648, 1936.
6. Pilet, P.-E. — *Bull. soc. vaud. Sc. nat.*, **64**, 433, 1950.
7. — et Meylan, A. — *Bull. Soc. bot. suisse*, **68**, 307, 1958.
8. Schlenker, G., et Mittmann, G. — *Jb. wiss. Bot.*, **83**, 315, 1936.
9. Thompson, H. E., Swanson, C. P., et Normann, C. A. — *Bot. Gaz.*, **107**, 476, 1946.
10. Zimmerman, P. W., Hitchcock, A. E., et Wilcoxon, F. — *Contr. Boyce Thompson Inst.*, **10**, 363, 1939.

On consultera en outre avec profit l'ouvrage de H. Linser et O. Kiermayer «Methoden zur Bestimmung pflanzlicher Wuchsstoffe», Wien, 1957, dans lequel on trouvera la description d'un certain nombre de tests biologiques foliaires relatifs au dosage des composés auxiniques.