Zeitschrift: Mémoires de la Société Vaudoise des Sciences Naturelles

Herausgeber: Société Vaudoise des Sciences Naturelles

Band: 10 (1950-1952)

Heft: 3

Artikel: Contribution à l'étude des hormones de croissance (Auxines) dans la racine de Lens culinaris MEDIKUS

Autor: Pilet, Paul-Emile

Kapitel: II: Étude du test (coléoptile d'Avena)

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-256789

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: 13.07.2025

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

6. La lumière paraît jouer un rôle essentiel dans le développement de la racine. Elle inhibe la croissance d'une racine en plein développement et joue en sens inverse chez les racines dont la vitesse de croissance diminue.

7. La croissance de la racine est très variable suivant les niveaux qu'on étudie. Pour une racine jeune, elle est maxima entre le deuxième et le sixième mm à partir de la pointe. Pour une racine dont la longueur est supérieure à 15 mm, la répartition de la croissance est difficile à préciser.

CHAPITRE II : ETUDE DU TEST (Coléoptile d'*Avena*)

A. HISTORIQUE

C'est de 1910 à 1911, que BOYSEN-JENSEN, par des expériences désormais classiques, a mis pour la première fois en évidence l'existence des hormones de croissance végétales. PAAL (1918) et SEUBERT (1925) poursuivent ses recherches. SÖDING (1925) expose déjà quelques méthodes simples, préconisant l'emploi de la coléoptile d'*Avena*, pour mettre en évidence les phytohormones. DOLK (1926) étudie systématiquement la croissance de cette coléoptile, tandis que BOYSEN-JENSEN et NIELSEN (1926) proposent des modifications au test adopté par SÖDING. WENT (1928 et suiv.) met au point la technique généralement utilisée aujourd'hui. SÖDING (1929) poursuit ses travaux et VAN DER WEIJ (1931), par des moyens très simples, mesure la vitesse de diffusion des hormones de croissance. A la suite des travaux de KÖGL, ERXLEBEN, HAAGEN-SMIT et KOSTERMANS (1933-34) le terme d'auxine est adopté. THIMANN et BONNER (1933) étudient la croissance de la coléoptile d'*Avena* en fonction de certaines substances synthétiques. THIMANN (1934) montre qu'une forte dose d'auxines inhibe le développement de la coléoptile d'*Avena*. CHOLODNY (1934) commence à publier ses travaux sur la teneur en auxines de divers organes et présente des méthodes simples d'extraction. WENT (1934) propose des tests nouveaux pour mesurer la teneur en substances de croissance de certaines solutions ; il emploie entre autres l'épicotyle de *Pisum*. LAIBACH et FISCHNICH (1936) étudient la modification des courbures de feuilles de *Coleus* sous l'influence d'hétéroauxine. SÖDING (1936) propose l'hypocotyle de *Cephalaria* comme test commode. FIEDLER (1936), à la suite de THIMANN et WENT, étudie des méthodes d'extraction et emploie des racines isolées de *Vicia Faba* comme test pratique. VAN OVERBEEK (1936) passe en revue quelques facteurs modifiant le comportement du

test *Avena* et il insiste particulièrement sur l'action de la lumière. SKOOG (1937) utilise la coléoptile d'*Avena* comme test, mais au deuxième jour de la germination, quand la coléoptile a atteint 1,5 cm, il la sépare de la graine ; la coléoptile est alors utilisée selon la technique de WENT et se montre plus sensible à des concentrations d'auxines dix fois plus faibles que dans la méthode ordinaire. SCHNEIDER (1938) propose un test très ingénieux utilisant les coléoptiles d'*Avena* : celles-ci sont coupées et placées entre les dents d'un peigne et s'allongent sous l'action des substances de croissance dans lesquelles elles plongent. Il suffit alors de déterminer la variation d'allongement. WEINTRAUB (1938) sectionne la coléoptile isolée dans des cylindres de verre, place le bloc d'agar contenant les hormones de croissance et étudie l'allongement du test ainsi constitué. JOST (1938) travaille avec l'hypocotyle d'*Helianthus*. LINSER (1938), reprenant la technique de LAIBACH, étudie l'action de pâte de lanoline, plus ou moins riche en substances de croissance, déposée à la surface de coléoptiles non blessées. THIMANN et SCHNEIDER (1938) s'attachent à résoudre les nombreux problèmes techniques soulevés par l'emploi de tests nouveaux. BONNER, HAAGEN-SMIT et WENT (1939) s'occupent de l'origine des auxines et utilisent pour doser ces corps des feuilles de *Raphanus* immergées dans l'extrait à étudier. FUNKE (1939) modifie le test *Avena* pour des dosages très précis portant sur de faibles concentrations. AVERY (1940) poursuit ses recherches sur les méthodes d'extraction, tandis que SÖDING et FUNKE (1940-41) étudient les variations du test *Avena*. VAN OVERBEEK (1941) examine les divers « précurseurs d'auxines » et THIMANN (1942) propose, pour extraire ces hormones, l'emploi d'enzymes animales. HAAGEN-SMIT, LEECH et BERGREN (1942), KULESCHA (1948), poursuivent ce genre de recherches ; cette dernière montre le danger qu'il y a à utiliser des diastases protéolytiques pour extraire les auxines. WURGLER (1948) propose un test qualitatif basé sur l'emploi de l'hypocotyle de *Phaseolus*. LUCKWILL (1948) étudie une technique de dosage partant de la variation de la parthénocarpie provoquée par des substances de croissance chez la tomate. PILET (1949) expose une technique simple pour mettre en évidence les auxines d'organes de petite taille (étamine par exemple).

B. CHOIX DU TEST

L'historique précédent a montré l'ampleur des travaux concernant les phytohormones. J'ai examiné très sommairement quelques tests proposés. Il résulte de cette étude que le test *Avena* domine tous les autres et qu'un travail systématique ne saurait s'en passer pour le moment. Ce test a été adopté pour les raisons suivantes : l'abondance des travaux sur le

test, la grande simplicité des méthodes ; la culture d'*Avena* relativement facile (les coléoptiles atteignent rapidement la taille désirée) ; les résultats plus précis avec ce test qu'avec les autres et qui n'offrent pas des variations aussi grandes que celles de la plupart des tests proposés.

J'ai utilisé, dans mes recherches, *Avena sativa var. Flamingstreue* [1]. D'autres souches voisines ont été également employées, et les différences présentées se sont montrées minimes.

J'aurai l'occasion dans cette étude de signaler deux tests nouveaux (chap. III E et chap. VI D. 2). Ces tests sont relativement simples, mais avant d'être envisagés comme moyens de mesure, ils doivent être étudiés plus à fond. Il est préférable, dans un travail comme celui-ci, d'adopter le test le plus courant si l'on veut contrôler ces essais.

C. RECHERCHES SUR LE DEVELOPPEMENT DU TEST

1. Germination.

La technique est la même que pour les lentilles (chap. I, D, 2) et toutes les manipulations ont été exécutées à la lumière rouge (chap. I, D, 5).

2. Allongement et vitesse de croissance.

L'allongement des coléoptilés a été étudié pour plusieurs lots distincts (fig. 3). Au bout d'un certain temps, on peut observer l'éclatement de la coléoptile et le développement très rapide de la feuille primaire qu'elle entourait. L'examen de la fig. 3 montre que cet éclatement n'est pas directement fonction du temps. Il est par contre en relation directe avec la longueur de la coléoptile. Celle-ci libère la feuille primaire lorsqu'elle atteint 80 mm environ. Les mesures d'allongement cessent à l'instant où la feuille primaire apparaît.

Il est facile à l'aide du graphique précédent de déterminer la valeur de la vitesse de croissance (T. 8).

[1] L'avoine utilisée m'a été offerte par le Dr Zweifel (Station fédérale des essais de semences) que je remercie bien vivement.

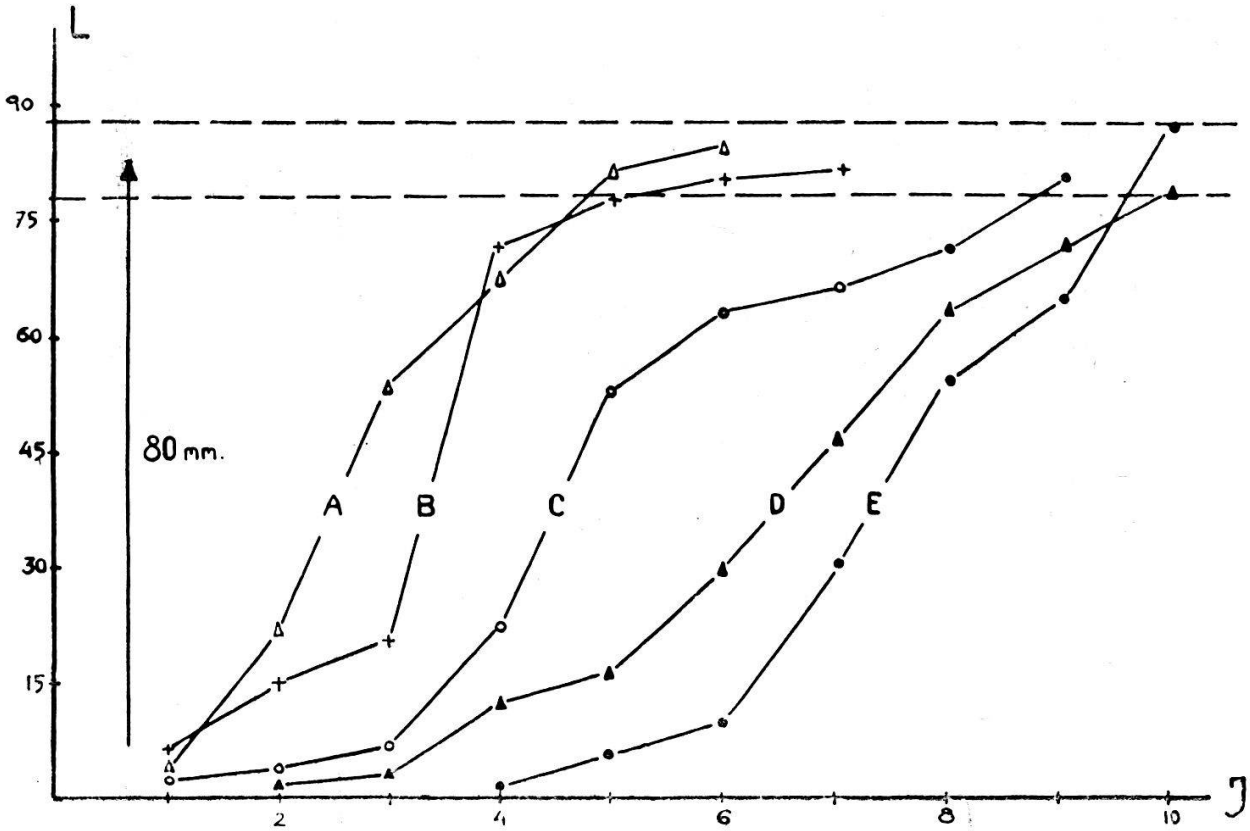

FIG. 3.
L. Longueur des coléoptiles en mm. J. Durée des cultures en jours.
A. B... D. E. Lots de coléoptiles étudiés.

TABLEAU 8. — Vitesse de croissance des coléoptiles en mm/24 h.

Lots[1]	JOURS 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
A	4	18	32	15	12	4	—	—	—	—
B	7	8	5	53	4	1	1	—	—	—
C	3	1	4	15	29	12	3	5	7	—
D	—	1	2	11	3	23	18	16	7	8
E	—	—	—	2	5	4	19	30	35	24

Ce tableau autorise les remarques suivantes :

1. la vitesse de croissance de la coléoptile passe par les mêmes phases que celles de la racine (chap. I, E, 2) ;

2. le maximum de cette vitesse se situe en moyenne 4 à 5 jours après la mise en germination.

[1] Ces lots correspondent à des séries diverses d'essais.

3. Facteurs de variations.

Les résultats obtenus pour le développement des racines sont encore valables pour les coléoptiles (chap. I, E, 3, 4 et 5). Mais le rôle de la lumière doit être revu.

On peut remarquer en effet que si des coléoptiles éclairées sont moins longues que celles qui se sont développées à l'obscurité, elles libèrent leurs feuilles plus tôt que les autres. Il est par conséquent intéressant d'étudier :

1. la longueur maxima atteinte par la coléoptile au moment où elle libère la feuille primaire (T. 9) ;

2. le pourcentage des coléoptiles éclatées après un certain temps, huit jours par exemple (T. 10).

Dans les deux cas l'éclairage est exprimé en Lux. A l'obscurité nous avons naturellement 0 Lux.

TABLEAU 9. — Longueur maxima des coléoptiles éclairées.

Eclairage en Lux	0	20	40	60	80	100	120	140
Longueurs en mm.	84	80	74	60	50	43	40	35

TABLEAU 10. — Pourcentage des coléoptiles éclatées sous l'action de la lumière.

Eclairage en Lux	0	20	40	60	80	100	120	140
%	50	53	62	70	63	75	77	80

Ces deux tableaux (T. 9 et 10) montrent que :

1. la longueur maxima atteinte par la coléoptile avant de percer (libération de la feuille primaire) diminue si l'intensité lumineuse augmente ;

2. le pourcentage des coléoptiles éclatées croît avec une augmentation d'éclairement.

A la suite des observations précédentes, j'ai choisi, pour mes essais, $7{,}0 \pm 0{,}5$ cm comme longueur de la coléoptile.

4. Répartition de la croissance.

THIMANN (1934) s'est occupé de cette importante question, mais il n'a étudié la variation de la croissance que pour des coléoptiles de même taille (environ 3 cm de longueur).

Vu les résultats obtenus pour la racine de *Lens* (chap. I, E. 6) j'ai repris les recherches de THIMANN, mais

pour des coléoptiles de longueurs variables. Pour étudier la répartition de la croissance, la technique de SACHS (1873) s'est montrée parfaite. J'ai déterminé l'allongement de chaque centimètre de la coléoptile (segments numérotés de I à VIII).

TABLEAU 11. — Allongement des segments (1 cm) de la coléoptile en mm/24 h. Moyennes de 20 mesures.

Longueur des coléoptiles	Segments de 1 cm de la pointe à la base de la coléoptile							
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
20 mm	8	2	—	—	—	—	—	—
30	18	8	4	—	—	—	—	—
40	20	10	3	—	—	—	—	—
50	23	10	5	—	—	—	—	—
60	24	6	4	3	2	1	—	—
70	28	5	5	5	4	2	1	—
80	36	10	5	4	3	1	1	1

Les observations résumées dans le tableau 11 confirment et complètent le travail de THIMANN (1934). C'est bien vers la pointe de la coléoptile que la croissance est maxima, quelle qu'en soit la longueur.

D. TECHNIQUES CLASSIQUES

1. Préparation de la coléoptile.

Avant WENT, STARK (1921), NIELSEN (1924), SEUBERT (1925) et LANGE (1927) avaient déjà utilisé des coléoptiles pour déceler la présence d'hormones végétales. Mais c'est surtout à la suite des recherches de WENT (1928), DOLK (1930), KÖGL et HAAGEN-SMIT (1931), VAN DER WEIJ (1931), LAIBACH et KORNMANN (1933), VAN OVERBEEK (1933-36), SÖDING (1935) que la technique classique fut élaborée. En voici le principe.

a) Après 30 h. de germination (DU BUY et NUERNBERGK, 1929), la coléoptile est placée sur un support mobile (WENT, 1928 ; SKOOG, 1937).

b) La pointe de la coléoptile est alors coupée à 8 mm du sommet (WENT, 1928). La quantité d'auxines présentes dans la coléoptile rend celle-ci plus sensible aux hormones appliquées ultérieurement (VAN DER WEIJ, 1931).

c) La coléoptile est sectionnée, une seconde fois, à 4 mm de son sommet à l'aide d'un ciseau spécial (WENT, 1928 ; VAN DER WEIJ, 1931).

d) On enlève le manchon ainsi formé, sans abîmer la feuille primaire [1].

e) On courbe ensuite le sommet de la coléoptile de façon à briser la feuille primaire à sa base et on la tire d'environ 5 mm (WENT, 1928).

f) Après 15 minutes, on sèche la partie supérieure de la coléoptile avec un papier buvard (LAIBACH et KORNMANN, 1933).

g) On place ensuite le bloc d'agar contenant les auxines à doser sur la coléoptile décapitée et on attend 90 minutes (WENT, 1928). Certains auteurs vont jusqu'à 110 et 120 minutes (OTTE, 1937).

2. Conditions de croissance.

Les expérimentateurs travaillent en général à 25° C et à un degré hygrométrique de 95 % (SCHLENKER, 1937). La variation tolérée est pour la température de 0,5° C et pour l'humidité de 1 % (NUERNBERGK, 1932). Certains auteurs préconisent des températures plus basses, par exemple 22° C (BOYSEN-JENSEN, 1935).

3. Préparation des blocs d'agar.

La concentration de l'agar et les dimensions des blocs préparés varient en général pour chaque auteur. On utilise de préférence des blocs d'agar à 3 % et de 3/3/1 mm (SCHLENKER, 1937 - WENT et THIMANN, 1937). On ajoute à 3 gr d'agar et 100 cc d'eau du dextrose et divers sels. Ces blocs mesurent en outre 2/2/1 mm (BOYSEN-JENSEN, 1933).

L'action des sels, du pH, de la concentration de l'agar sur les courbures des coléoptiles a été étudiée systématiquement (THIMANN et SCHNEIDER, 1938).

E. TECHNIQUE PERSONNELLE

J'ai dû apporter quelques modifications aux techniques précédentes afin d'utiliser au maximum les possibilités du laboratoire.

1. Préparation de la coléoptile (Fig. 4).

Voici les phases essentielles de cette préparation.

a) Contrôle du pouvoir germinatif (chap. I, C).

b) Mise en germination sur sciure humide (chap. II, C. 1).

c) Isolement des coléoptiles mesurant 7 cm $\pm$ 0,5.

d) Découpage des coléoptiles :

1. à 8 mm de la pointe, la coléoptile est sectionnée avec la feuille primaire (fig. 4 A) ;

[1] Ces deux dernières opérations (*c* et *d*) semblent d'ailleurs inutiles (THIMANN et BONNER, 1932).

2. au bout de 2 h., la feuille primaire se développe et sort de quelques mm de la coléoptile ;

3. la coléoptile est courbée, la feuille primaire se brise à sa base ;

4. elle est alors tirée à 10 mm (fig. 4 B), puis coupée à 5 mm (fig. 4 C).

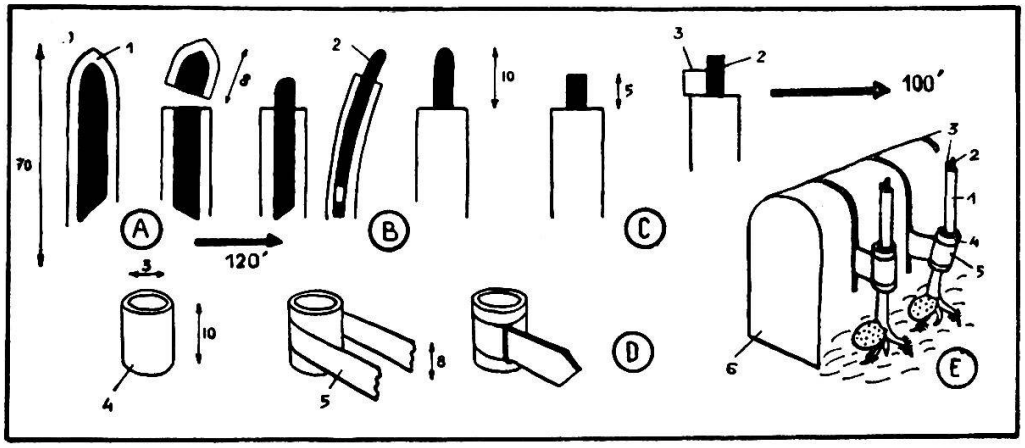

Fig. 4. — Préparation de la coléoptile.
1. Coléoptile. 2. Feuille primaire. 3. Bloc d'agar. 4. Cylindre de verre. 5. Bande d'aluminium. 6. Support de bois.
Les longueurs sont en mm.

e) Les coléoptiles ainsi préparées sont placées dans des tubes de verre (long. 10 mm, diam. 3 mm) entourés d'une bande d'aluminium permettant de les fixer, par série de 10 dans un socle de bois (fig. 4 D et E).

f) Il suffit de déplacer ou de tordre légèrement la bande de métal pour maintenir la coléoptile parfaitement verticale. Les racines reposent sur de la sciure humide.

2. Conditions de croissance.

Elles sont identiques à celles indiquées plus haut (chap. I, D. 1, 3, 4 et 5).

3. Préparation des blocs.

A. MILIEU.

La composition des blocs d'agar est très semblable à celle adoptée par Boysen-Jensen. En voici la formule :

40 gr d'agar préalablement trempé 24 h. dans de l'eau légèrement acidulée (HCl), puis lavé à grande eau 12 h.

50 gr. de dextrose — 1 gr. Nitrate de Ca — 0,25 gr. sulfate de Mg — 0,25 gr. chlorure de K [1] — 0,01 gr. $FeCl_3$ — 1000 cc. d'eau dist.

Ce milieu est versé encore chaud (température voisine de 50° C) dans de grandes boîtes de Pétri, horizontales. L'épaisseur de la couche doit être très soigneusement déterminée (1,3 mm $\pm$ 0,1). L'agar, une fois refroidi, est découpé en plaques de 4 à 5 cm^2 de surface qui sont ensuite conservées à l'alcool à 40°.

B. DIMENSIONS.

Il suffit d'utiliser un système de lames de rasoirs permettant de découper les plaques dans un sens puis dans l'autre (exactement perpendiculaire au premier) pour obtenir des blocs de 1,3 mm d'arête.

4. Mesures.

A. DURÉE.

Ces blocs ayant reçu les auxines à doser reposent pendant 100 minutes sur la coléoptile, après quoi on détermine l'angle que celle-ci fait avec la verticale.

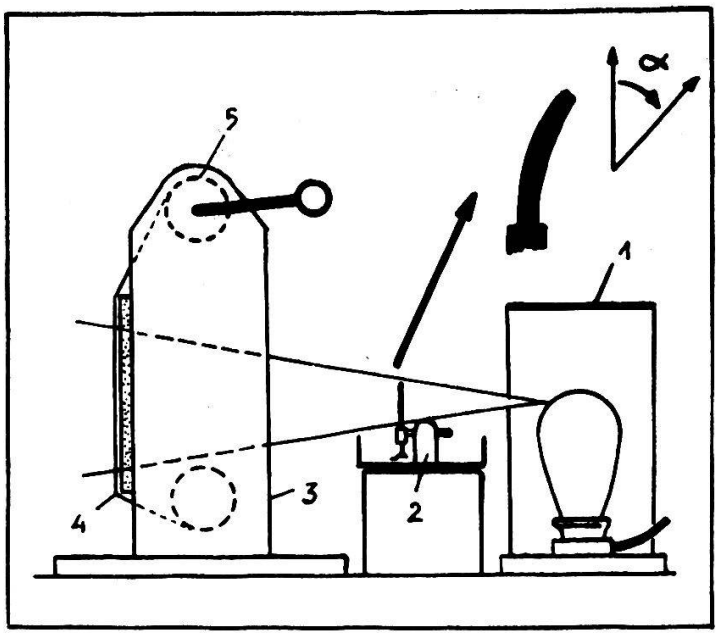

FIG. 5. — Mesure des courbures du test.
1. Source lumineuse avec diaphragme. 2. Support avec coléoptiles. 3. Appareil à dessiner. 4. Rouleau de papier millimétré. 5. Cylindre rotatif.

[1] THIMANN et SCHNEIDER (1938) ont montré que les auxines agissent mieux en présence de KCl.

B. DÉTERMINATION DE L'ANGLE.

Certains auteurs ont proposé la méthode photographique que je n'ai malheureusement pas pu utiliser. J'ai également abandonné l'idée, adoptée par la plupart des chercheurs, de vouloir mesurer cet angle dans la salle de culture. Ces mesures sont en effet assez longues, il faut en faire en moyenne une centaine, et pendant ce temps les coléoptiles se courbent encore.

J'ai adopté une méthode plus simple (fig. 5). Il suffit de projeter les coléoptiles incurvées sur un écran mobile, recouvert d'un papier millimétré déroulable. L'écran est placé parallèlement au plan de courbure de la coléoptile et on peut obtenir l'ombre fidèle de celle-ci qu'on esquisse au crayon. Ces dessins étant rapidement terminés, on détermine, hors de la salle de culture, à l'aide d'un rapporteur précis, l'angle en vraie grandeur fait par la coléoptile avec la verticale (ici l'axe du papier millimétré).

F. OBTENTION DES AUXINES

1. Techniques diverses.

Nous venons de voir que, sous l'action d'un bloc d'agar contenant des auxines, la coléoptile se courbe et l'angle mesuré correspond à la teneur en auxines de l'organe (WENT, 1928). En fait, si la concentration est trop forte, l'angle sera plus petit que pour une concentration moins élevée (THIMANN, 1934). BOYSEN-JENSEN (1926, 1933), puis CHOLODNY (1934) ont tenté de remplacer le bloc d'agar par l'organe qu'ils désiraient étudier. Ils placent sur la coléoptile décapitée selon les procédés classiques les fragments du tissu à examiner. Là encore la coléoptile s'incline et l'angle de courbure varie avec la concentration des auxines.

WENT (1928), VAN DER WEIJ (1931) ont imaginé la méthode de diffusion, reprise par BOYSEN-JENSEN (1933), THIMANN (1934). Il suffit de placer sur les blocs d'agar, préparés comme je l'ai indiqué plus haut, les fragments d'organes dont on veut connaître la teneur en hormones. Cette méthode est longue. Tous les organes, en outre, ne s'y prêtent pas également bien. C'est pourquoi un grand nombre d'auteurs se sont attachés à une troisième méthode, dite technique d'extraction.

GORTER (1932) propose l'eau distillée pour extraire les auxines d'un tissu. LAIBACH et KORNMANN (1935), KORNMANN (1935), GRAZE et SCHLENKER (1936) complètent la technique de GORTER. A la suite de THIMANN (1934), BOYSEN-JENSEN (1936) et FIEDLER (1936), on substitue le chloroforme à l'eau. LAIBACH et MEYER (1935), MEYER (1936)

remplacent le chloroforme par l'alcool. VAN OVERBEEK (1938) propose l'emploi de l'éther ; sa méthode est compliquée et ne peut être employée qu'à basses températures. AVERY (1939), AVERY, GREIGHTON et SHALUCHA (1940) reprennent, en la perfectionnant, la technique d'extraction par l'alcool et l'eau. Ils montrent que pour extraire la totalité des auxines présentes dans l'organe étudié il faut employer plusieurs solvants séparément. THIMANN, SKOOG et BYER (1942) établissent que la libération d'auxines est arrêtée lorsqu'on fait bouillir le fragment de tissu dans lequel elles sont contenues, mais que l'action ultérieure d'une diastase protéolytique sur ces tissus libère à nouveau les auxines. HAAGEN-SMIT, LEECH et BERGREN (1942) proposent l'emploi de la trypsine et de la chimotrypsine pour l'extraction des auxines. KULESCHA (1948) reprend les travaux précédents et en fait une critique précise. Il semblerait à la suite de ces essais que les diastases seraient capables de faire naître des quantités importantes de substances de croissance (décelées par le test *Avena*) de tissus totalement dépourvus d'auxines.

2. Technique personnelle.

J'ai été amené dans cette étude à utiliser les deux techniques présentées plus haut en les modifiant légèrement. D'autres techniques n'utilisant pas le test *Avena* ont été également employées, j'aurai l'occasion de les présenter plus loin (chap. III, E, chap. VI, D. 2).

A. DIFFUSION.

Une plaque d'agar est placée dans une boîte de Petri avec un tampon d'ouate humide (pour empêcher que l'agar ne se dessèche). Sous cette boîte est collé un papier quadrillé (1,3 mm de côté). Les pointes de racine sont placées sur l'agar et on s'arrange pour que chacune soit centrée sur un carré du quadrillage vu par transparence. Au bout de 45 minutes, en chambre noire et à 18° C, les pointes sont enlevées ; il suffit de découper la plaque, en suivant le quadrillage, en blocs de 1,3 mm d'arête.

B. EXTRACTION.

J'ai constaté que le chloroforme est le meilleur solvant des auxines. J'ai décrit ailleurs la technique utilisée (PILET, 1949).

En voici pourtant l'essentiel.

1. On place les organes à étudier dans de petites cuves de verre de 1 cc.

2. Ces cuves sont remplies de chloroforme [1], environ 600 à 800 mm³.

3. L'immersion dure une heure.

4. On enlève les fragments d'organes.

5. On verse le chloroforme dans des boîtes métalliques contenant une couche d'agar de 1,3 mm d'épaisseur. La dimension de la plaque est telle que celle-ci donne 20 blocs de 1,3 mm d'arête.

6. Le chloroforme s'évapore (environ ½ à ¾ h. à 18° C).

7. Il suffit de récolter et de découper la plaque puis de placer les blocs sur les coléoptiles.

G. UNITES DE CROISSANCE

1. Travaux antérieurs.

On a cherché à exprimer la teneur en auxines d'un organe en fonction de l'angle de courbure de la coléoptile utilisée. A la suite des travaux de WENT (1929, 1935), DOLK et THIMANN (1932), on a songé à l'*Unit*. Ce serait la quantité de substance de croissance qui, dissoute dans un cc. d'eau donne, après mélange à 1 cc. d'agar, une courbure de 1°.

D'autres auteurs ont admis le *Plant Unit* qui vaudrait la 200e partie de l'*Unit*. Avec KÖGL, HAAGEN-SMIT et ERXLEBEN (1933), BOYSEN-JENSEN (1935), l'*Avena-Einheit* (A. E) est adoptée. Une A. E étant égale à la quantité d'auxines susceptibles de provoquer, à une température de 22° C, à une humidité de 92 %, un angle de 10° de la coléoptile, le bloc d'agar mesurant 2 / 2 / 0,5 mm. BOYSEN-JENSEN (1935) propose la *Wuchsstoff-Avena-Einheit* (W. A. E.). Une W. A. E. correspond à la quantité de substances de croissance dissoute dans 50 cc. du milieu de BOYSEN-JENSEN (D. 3) qui provoque une différence de 1 mm entre la face convexe et la face concave de la coléoptile, à 21° C., le bloc reposant trois heures sur celle-ci.

2. Méthode personnelle : Le Mol. ABIA.

Les unités précédemment proposées présentent toutes un inconvénient important : elles s'adaptent presque uniquement aux laboratoires qui les ont présentées. Il fallait songer à une technique d'emploi moins limité et supprimant la difficulté rencontrée dans les autres méthodes (interprétation des résultats en tenant compte de l'inhibition du test pour des concen-

[1] Le chloroforme utilisé a été préparé selon la technique de THIMANN (1934). Cet auteur a montré que $CHCl_3$ doit être, avant qu'on l'utilise, libéré des traces de peroxydes et de chlore. Il suffit de le refroidir brusquement, de le redistiller et d'ajouter 0,5 % d'alcool.

trations trop fortes). Cette technique exposée déjà ailleurs (PILET, 1950) peut être résumée sommairement.

Avant chaque série de mesures, j'étalonne la coléoptile Il suffit pour cela de préparer des blocs d'agar contenant de l'acide b. indolylacétique en concentration connue (donnée en Mol. ABIA [1]) et d'évaluer les courbures correspondantes du test *Avena*. La courbe obtenue est identique à celles de la fig. 6.

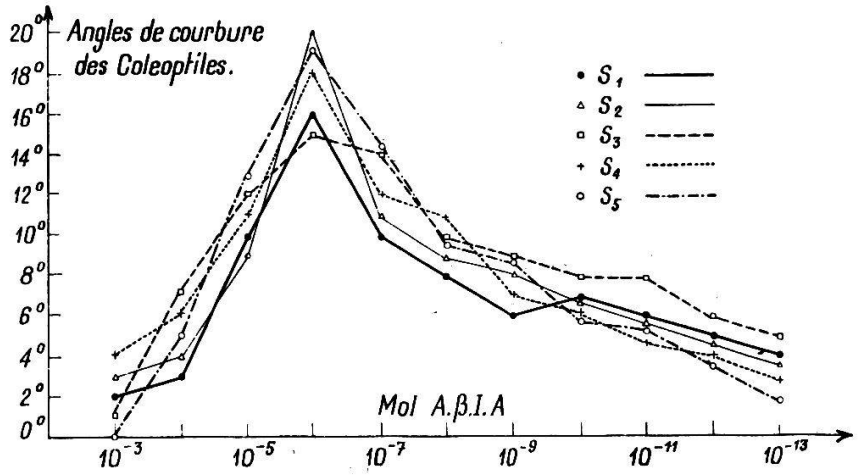

FIG. 6. — Recherche des angles de courbure de la coléoptile en fonction de la concentration des blocs d'agar en acide b. indolyl acétique.
S_1 S_2... S_5. Diverses séries de mesures. Les valeurs sont en mol./litre d'acide b. indolyl acétique (Mol. ABIA).

Cliché tiré du *Bull. Soc. Bot. suisse*, 1950, T. *60*, p. 8.
(P.-E. PILET : Nouvelle contribution à l'étude du géotropisme des étamines d'*Hosta caerulea* TRATT.)

Il suffit alors de remplacer l'angle de courbure par sa valeur correspondante en concentration d'hétéroauxine, soit en Mol. ABIA qui devient le nom de l'unité choisie. L'avantage de cette méthode apparaîtra plus loin (chap. III, D. 2).

Il suffira, pour contrôler ces résultats, d'étalonner la coléoptile, puis de traduire dans l'unité adoptée (le Mol. ABIA) les angles de courbure de celle-ci. Chaque laboratoire pouvant ainsi conserver ses propres conditions de culture et comparer néanmoins ses résultats avec d'autres.

En fait, des blocs d'agar dépourvus totalement d'auxines placés sur des coléoptiles, entraînent une très légère courbure (chap. II, H. 3) ; comme il ne s'agit que d'un test comparatif, ce problème sera examiné plus loin (chap. III, C. 4).

[1] Concentration en MOLÉCULE-gramme par litre d'*A*cide *B*eta *I*ndolyl *A*cétique.

3. Recherche de l'approximation.

Le degré de certitude dans les mesures d'angles de courbure doit être donné avec précision. J'ai renoncé cependant à le donner pour chaque mesure, bien que l'ayant cherché toujours avec soin, c'est pourquoi le principe des calculs sera présenté ici.

Dans toutes les mesures j'ai déterminé :
1. L'erreur quadratique. — 2. L'erreur à craindre. — 3. L'écart-type.

L'erreur quadratique μ

Soient n_1 le nombre de mesures, M_1 la moyenne arithmétique, λi l'erreur apparente entre M_1 et la mesure, $\Sigma \lambda i^2$ la somme des carrés de ces erreurs apparentes.

On a :
$$\mu = \sqrt{\frac{\Sigma \lambda i^2}{n_1 - 1}}$$

μ donne la probabilité du résultat, ainsi $\mu = 0{,}68$ signifie que les $^2/_3$ des observations présentent des erreurs inférieures à l'erreur quadratique calculée. Si μ est inférieur à 0,6, les résultats sont éliminés.

L'erreur à craindre m_1

On a :
$$m_1 = \sqrt{\frac{\Sigma \lambda i^2}{n_1 (n_1 - 1)}}$$
d'où M_1 donné à $\pm m_1$

L'écart-type S

Soient deux moyennes $M_1 \pm m_1$ (donnée par n_1 mesures) et $M_2 \pm m_2$ (par n_2). On peut se demander si ces résultats sont significatifs.

On a :
$$S = \frac{M_1 - M_2}{\sqrt{m_1^2 + m_2^2}}$$

Comme seul le 5 % des erreurs est causé par la méthode, on peut rechercher dans des tableaux la correspondance entre le nombre de mesures et la valeur de S exigée.

Soient $N = (n_1 - 1) + (n_2 - 1)$. Si $N = 25$ par exemple, on a $S = 2{,}060$

Si le nombre de mesures est supérieur à 30, et c'est le cas, il faut que S soit supérieur ou égal à 2, sinon les résultats ne sont pas significatifs.

H. SENSIBILITE DU TEST ET SES VARIATIONS

1. Définition.

Imaginons pour donner une définition de la sensibilité du test, l'exemple suivant. Soit une série de coléoptiles portant chacune un bloc d'agar contenant 10^{-6} Mol. ABIA. Ces coléop-

tiles se courbent et l'angle moyen obtenu avec la verticale est de 17° C environ. Mais un autre essai, dans d'autres conditions, donnera pour des blocs identiques un angle de 20° par exemple. Je dirai alors que la sensibilité de la coléoptile a augmenté. J'appellerai sensibilité de la coléoptile l'angle que celle-ci fait avec la verticale par unité de concentration.

2. Recherches antérieures.

Certains auteurs ont proposé des techniques diverses pour augmenter la sensibilité du test. SKOOG (1937) propose la modification suivante : lorsque la coléoptile a atteint 1,5 cm, on la sépare de la graine ; la source d'auxines est ainsi supprimée, l'extrémité de la coléoptile devient alors plus sensible (?) ; THIMANN et SCHNEIDER (1938) insistent sur le rôle de certains sels, du pH et de la concentration de l'agar sur la sensibilité du test ; FUNKE (1939) constate qu'il est difficile de déceler, au moyen du test *Avena*, de petites quantités d'auxines ; à la suite des travaux de VAN OVERBEEK (1936, 38 et 39), FUNKE a été amené à modifier le test *Avena*. Les coléoptiles sont décapitées 24 h. avant l'expérience. Leurs propres auxines disparaîtraient (?) et le test deviendrait alors plus sensible.

3. Etude personnelle.

J'ai montré (chap. II, C. 1 à 4) quels étaient les facteurs qui agissaient principalement sur la croissance de la coléoptile. Il est évident qu'en modifiant certains d'entre eux la croissance et par conséquent la sensibilité des coléoptiles peut changer. Examinons quelques facteurs de variations.

A. CONCENTRATION DES BLOCS EN AGAR.

Prenons deux solutions d'acide b. indolylacétique (ABIA), l'une nettement inhibitrice (10^{-3} Mol. ABIA) et l'autre accélératrice (10^{-9} Mol. ABIA). Faisons varier la concentration de l'agar en maintenant dans les blocs la concentration fixe d'hétéroauxine et étudions les angles de courbure des coléoptiles (T. 12 et 13).

Les tableaux 12 et 13 et la fig. 7 permettent les remarques suivantes :

1. Pour une teneur élevée des blocs en hétéroauxine, si la concentration en agar est faible, l'angle de courbure de la coléoptile est faible ; si au contraire la concentration en agar est élevée, la courbure du test est plus grande.

2. Pour une teneur peu élevée des blocs en hétéroauxine, si la concentration en agar est faible, la courbure du test sera grande ; si la concentration en agar est élevée, le test *Avena* est inhibé.

3. La sensibilité du test change donc si la concentration des blocs en agar se modifie (l'agar influence-t-il les propriétés d'absorption ou de libération des auxines ?).

Remarquons encore une fois que l'agar seul (sans auxines) provoque une légère courbure du test (chap. III, C. 4).

ANGLES DE COURBURE DE LA COLEOPTILE (°)
SOUS L'ACTION DE BLOCS D'AGAR (CONC. VARIABLE)
CONTENANT :

1. 10^{-3} MOL ABIA TABLEAU 12							2. 10^{-9} MOL ABIA TABLEAU 13					
SERIES DE 50 MESURES						CONCENTRATION EN AGAR GR/LITRE	SERIES DE 50 MESURES					
1	2	3	4	5	MOYENNES:		1	2	3	4	5	MOYENNES:
2	0	0	3	1	1,2	A 30	12	10	9	8	11	10,0
2	3	1	4	0	2,0	B 40	6	8	9	7	9	7,8
4	6	4	2	4	4,0	C 50	6	6	5	11	6	6,8
6	10	8	3	9	7,2	D 60	8	6	7	4	5	6,0
10	12	9	6	5	8,4	E 70	6	4	8	3	6	5,4

B. ACTION DE LA LUMIÈRE

(v. Historique, chap. IV, A).

Lorsque les coléoptiles ont atteint 5 cm, elles sont éclairées par une source blanche ou ultra-violette durant un temps variable (4, 8 ou 12 h.) puis les coléoptiles sont remises à l'obscurité jusqu'à ce qu'elles atteignent 7 cm. Elles sont alors décapitées et on applique des blocs d'agar contenant :

1) 10^{-3} Mol. ABIA (dose inhibitrice, T. 14).
2) 10^{-9} Mol. ABIA (dose accélératrice, T. 15).

Les tableaux 14 et 15 et la fig. 8 autorisent les remarques suivantes :

1. pour des solutions concentrées d'hétéroauxine, un éclairement prolongé du test entraîne une augmentation de l'angle de courbure ;

2. cette augmentation est plus forte si la source utilisée est une source ultra-violette que si c'est une source blanche ;

3. pour des solutions diluées d'acide b. indolylacétique, les résultats sont inverses.

Une discussion concernant l'influence de la lumière sur les auxines sera abordée plus loin (chap. IV, A).

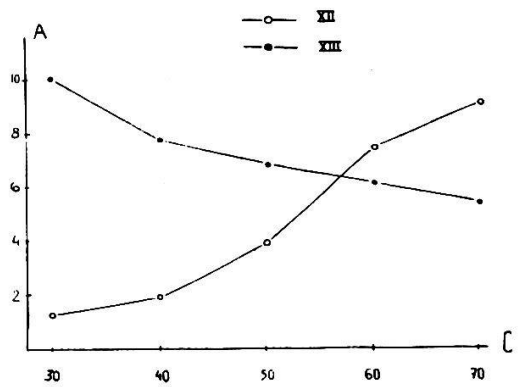

FIG. 7.

C. Concentration des blocs en agar (gr. d'agar/litre). A. Angle de courbure des coléoptiles en degrés.
XII. Concentration des blocs en hétéroauxine : 10^{-3} Mol. ABIA.
XIII. Concentration en hétéroauxine 10^{-9} Mol. ABIA.

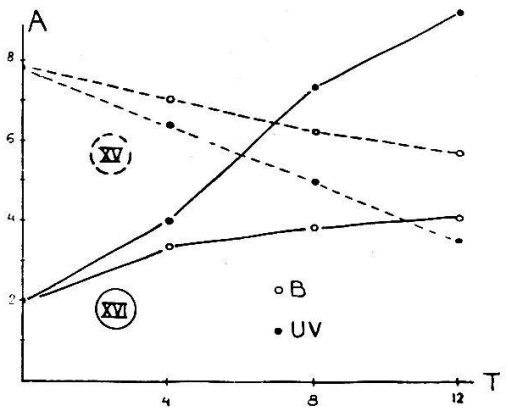

FIG. 8.

T. Durée de l'exposition en heures.
A. Angle de courbure des coléoptiles (degrés). XIV. Concentration des blocs d'agar en hétéroauxine : 10^{-8} Mol. ABIA. XV. Concentration en hétéroauxine : 10^{-9} Mol. ABIA.
B. Source lumineuse blanche.
UV. Source ultra-violette.

ANGLES DE COURBURE DE LA COLEOPTILE ECLAIREE
(SOURCES DIFFERENTES ET DUREE D'EXPOSITION VARIABLE)
DUS A DES BLOCS D'AGAR
CONTENANT :

1.10^{-3} MOL ABIA — TABLEAU 14 | 2.10^{-9} MOL ABIA — TABLEAU 15

SERIES DE 50 MES						SOURCES LUMINEUSES ET DUREES D'EXPOSITION	SERIES DE 50 MES.					
1	2	3	4	5	MOYENNES		1	2	3	4	5	MOYENNES
2	3	1	4	0	2,0	OBSCURITE	6	8	9	7	9	7,8
4	2	3	3	4	3,2	LUM. BLANCHE 4H.	8	10	6	5	6	7,0
3	4	3	4	4	3,6	8H.	9	9	6	3	5	6,2
5	2	3	6	4	4,0	12 H.	4	8	5	8	3	5,6
6	3	6	4	6	4,0	LUM. ULTRA-VIOL. 4H.	10	8	4	6	4	6,4
10	6	4	8	8	7,2	8H.	4	6	8	3	4	5,0
12	8	4	13	6	8,6	12 H.	3	3	5	3	4	3,6

C. ACTION DE LA TEMPÉRATURE.

De nombreuses mesures faites dans d'autres travaux me font croire qu'une température trop élevée diminuerait la sensibilité du test. La température choisie (18° C) convient donc parfaitement.

D. ACTION DE L'HUMIDITÉ.

Une humidité élevée augmente la sensibilité du test (90 % paraît être la valeur idéale), mais les conditions de notre salle de culture m'empêchent d'envisager une humidité supérieure à 75 %.

ANGLES DE COURBURE DES COLEOPTILES (°), DEVELOPPEES DANS UN MILIEU RICHE EN HETEROAUXINE, SOUS L'ACTION DE BLOCS D'AGAR AYANT :

1.10^{-3} MOL ABIA — TABLEAU 16

2.10^{-9} MOL ABIA — TABLEAU 17

SERIES DE 20 MESURES					MOYENNES	CONCENTR. DU MILIEU MOL ABIA	SERIES DE 20 MESURES					MOYENNES
1	2	3	4	5			1	2	3	4	5	
2	3	1	4	0	2,0	$10^{-\infty}$	5	8	9	7	9	7,8
3	2	3	0	1	1,8	10^{-9}	8	10	7	4	11	8,0
2	1	2	1	1	1,4	10^{-6}	9	8	10	7	8	8,4
1	0	3	0	1	1,0	10^{-3}	10	7	10	7	9	8,6

E. ACTION DE L'HÉTÉROAUXINE DANS LE MILIEU DE CULTURE.

On peut augmenter la teneur en hormones de croissance d'un organe en ajoutant au milieu dans lequel il vit un peu d'hétéroauxine. Cette élévation, d'ailleurs très faible, peut servir à augmenter la sensibilité du test. Ajoutons au milieu de culture d'*Avena* de l'hétéroauxine à concentration variable (10^{-10}, 10^{-9}, 10^{-6}, 10^{-3} Mol. ABIA ; pour le traitement, voir chap. VI, D. 2). Nous étudierons alors l'action de blocs d'agar contenant soit 10^{-3} Mol. ABIA (T. 16), soit 10^{-9} Mol. ABIA (T. 17) et qui provoquent la courbure de la coléoptile.

En évaluant l'approximation des mesures précédentes (T. 16 et 17), on voit que le résultat n'est pas satisfaisant

(G. 3) ; ces mesures permettent toutefois les remarques suivantes.

1. Pour des blocs d'agar contenant des substances de croissance concentrées, l'angle de courbure de la coléoptile est d'autant plus élevé que la concentration du milieu de culture en hétéroauxine est plus faible.

2. Pour des blocs pauvres en substances de croissance, c'est l'inverse.

3. Il sera parfois utile de traiter le milieu de culture par de l'hétéroauxine, si l'on veut déterminer la teneur en hormones d'un organe qui en contient très peu.

I. CONCLUSION

Je résumerai très brièvement l'essentiel des résultats obtenus dans ce chapitre.

A. DÉVELOPPEMENT DU TEST.

1. L'éclatement de la coléoptile et la libération de la feuille primaire dépendent plus de la longueur de la coléoptile (8 cm environ) que de la durée de la culture.

2. La vitesse de croissance du test atteint son maximum 4 jours après la mise en germination.

3. La longueur maxima atteinte par la coléoptile intacte diminue si l'éclairement augmente.

4. La vitesse de croissance de la coléoptile passe par sa plus grande valeur à la pointe de celle-ci quelle que soit sa longueur.

B. SENSIBILITÉ.

1. La lumière modifie la sensibilité du test. Il faudrait éclairer des coléoptiles avec une source ultra-violette ou blanche (la première est plus efficace que la seconde) si l'on a à faire à des concentrations d'auxines élevées et laisser le test à l'obscurité dans les cas contraires.

2. On peut enfin traiter le milieu de culture par de l'hétéroauxine si l'on veut déterminer la teneur en hormones d'un tissu qui en est très pauvre.