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: 3: Action de l'ABIA sur la croissance et le métabolisme de l'azote

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: 17.07.2025

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

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

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

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

Introduction

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

Le problème général

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

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

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

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

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

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

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

I. ETUDE PRÉLIMINAIRE

A. *ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE* [1]

1. Action des auxines sur la croissance

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

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

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

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

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

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

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

2. ACTION DES AUXINES SUR LES ÉCHANGES RESPIRATOIRES

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

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

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

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

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

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

3. ACTION DES AUXINES SUR LE TAUX EN GLUCIDES

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

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

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

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

4. ACTION DES AUXINES SUR LE MÉTABOLISME AZOTÉ

ACTION DE L'ABIA

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

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

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

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

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

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

Action du 2,4-D

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

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

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

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

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

Action d'autres substances de croissance

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

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

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

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

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

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

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

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

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

6. ACTION DES AUXINES SUR LES MEMBRANES CELLULAIRES

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

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

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

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

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

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

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

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

B. *EXPÉRIENCES PRÉLIMINAIRES*

1. LE PROBLÈME

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

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

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

TABLEAU X

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

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

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

Les valeurs ( ) se rapportent aux épicotyles.

3. ACTION DE TRAITEMENTS AUXINIQUES

3. 1. *Croissance des racines : tableau X, A* et *figure 6, B.*

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

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

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

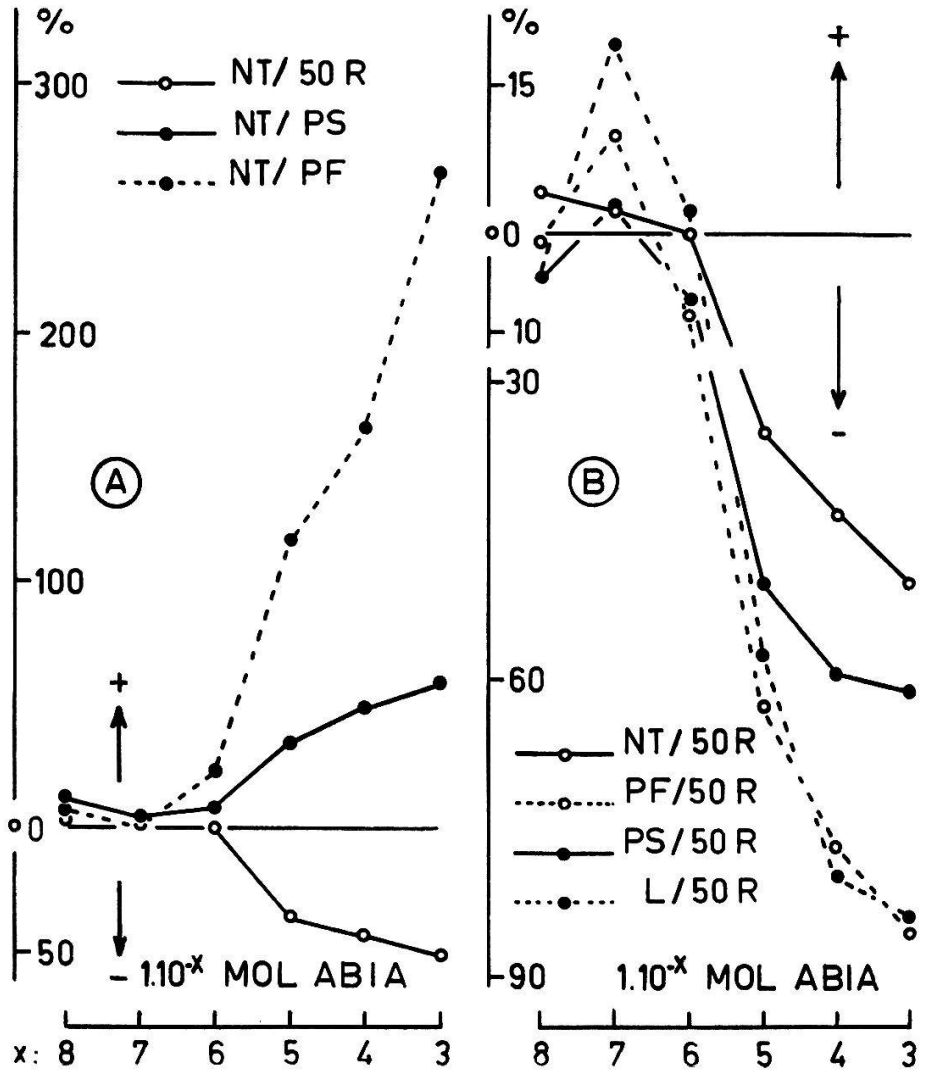

FIG. 6. — *Etude comparative des variations de l'azote total, du poids frais, du poids sec et de l'allongement des racines*

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

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

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

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

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

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

3. 2. *Croissance des épicotyles*

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

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

3. 3. *Comparaisons avec le test R et le test T*

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

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

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

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

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

5) On peut invoquer la présence d'inhibiteurs dont l'action sur la croissance est quantitativement différente de celle des accélérateurs (v. p. 33) ;

6) La pénétration de l'ABIA dans les tissus entraîne une diminution de sa concentration dans le milieu extérieur. L'inhibition est réduite et la longueur des sections correspond à celle qu'entraînent des concentrations d'ABIA plus faibles (cette hypothèse a été vérifiée pour des racines appartenant à des plantules complètes, v. p. 90).

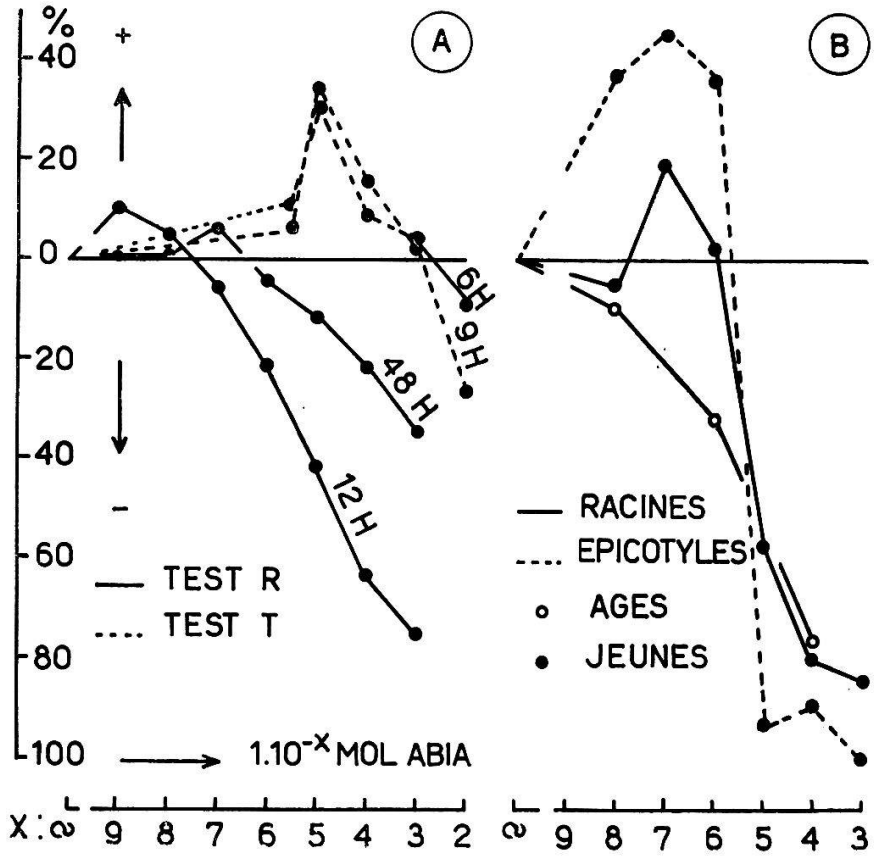

FIG. 7. — *Etude comparative des variations d'allongement de sections et d'organes intacts (racines et épicotyles)*

Valeurs données en % du TE en fonction de traitements à l'ABIA (concentrations variables) appliqué à des sections et des organes d'âge différent.
A : sections de racines (test R) et d'épicotyles (test T).
B : racines et épicotyles intacts rattachés à la graine.

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

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

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

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

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

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

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

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

L'hyperauxinie des épicotyles intacts pourrait s'expliquer :

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

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

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

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

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

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

4. Discussion et conclusions

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

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

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

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

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

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

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

De là, quelques conclusions et hypothèses :

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

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

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

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

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

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

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

II. MÉTABOLISME AZOTÉ ET CROISSANCE

1. Quelques travaux

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

Utilisation des réserves

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

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

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

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

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

Le mécanisme de la protéosynthèse

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

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

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

La synthèse des amino-acides

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

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

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

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

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

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

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

2. LE PROBLÈME

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

3. PROBLÈMES TECHNIQUES

3. 1. *Matériel et méthodes*

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

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

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

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

Ce choix a été dicté par les considérations suivantes :

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

3. 2. *Variabilité du matériel*

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

3. 3. *Gradients de croissance*

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

TABLEAU XI

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

A : Valeurs en mm, d'après PILET (1960 f) L_0 : longueur initiale des zones; L_{24} : longueur après 24 h.

B : Nouvelle répartition des zones; voir texte.

	Répartition des zones radiculaires	L_0	L_{24}	$\Delta L = L_{24} - L_0$	Tissus *
A	0,00 - 0,50	0,50	0,72	0,22	C
	0,50 - 1,00	0,50	3,02	2,52	M
	1,00 - 2,00	1,00	13,04	12,04	E
	2,00 - 4,00	2,00	2,73	0,73	D
	4,00 - 8,00	4,00	4.51	0,51	D
B	0,00 - 0,25	0,25	0,25	0	C
	0,25 - 0,75	0,25 0,25	0,47 0,47	0,44	M
	0,75 - 2,00	0,25 1,00	2,55 13,04	14,34	E
	2,00 - 8,00	2,00 4,00	2,73 4,51	1,24	D

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

Ainsi une racine de 8 mm, divisée en 5 segments par des traits à l'encre de Chine, croît d'une longueur déterminée en 24 h. (PILET, 1960 f : fig. 4). Chacun de ces segments s'allonge différemment suivant son activité et son rôle physiologique. Dans le *tableau XI, A,* nous reportons les longueurs initiales (Lo) et les variations d'allongement (L24-Lo), après 24 h., de cinq zones de l'axe radiculaire (8,0 mm). Or ces zones sont hétérogènes *(v. fig. 5)* et sont constituées par des tissus dont les fonctions physiologiques sont différentes. Dans le *tableau XI, B,*

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

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

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

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

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

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

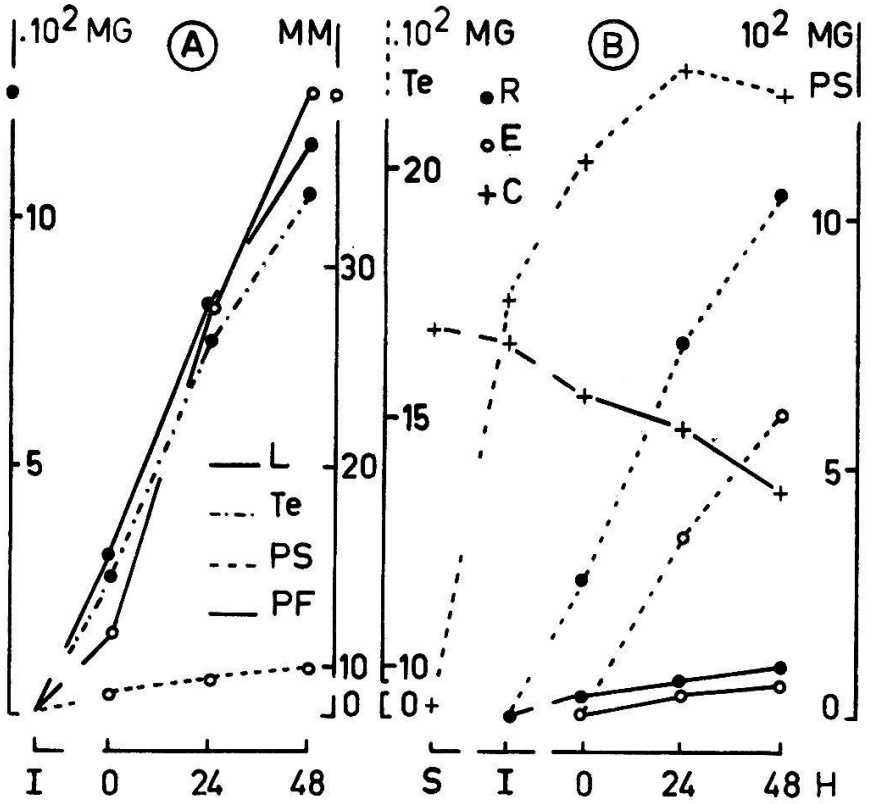

FIG. 8. — *Variations de la teneur en eau (Te), du poids frais (PF), du poids sec (PS) et de la longueur (L) au cours de la croissance (de S à 48 h.)*

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

4. La croissance

4. 1. *La croissance des racines et des épicotyles*

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

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

Tableau XII

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

A : Teneur en eau par rapport au poids frais
B : Rapport NP/NS
Ces valeurs sont données en %.

		S*	I**	Temps (heures) 0	24	48
A	Racines ●	—	—	86,8	91,2	91,3
	Epicotyles ○	—	—	—	89,1	89,7
	Cotylédons +	10,5	51,2	56,6	59,8	61,4
B	Racines ●	—	—	57,8	48,8	39,7
	Epicotyles ○	—	—	—	71,0	40,7
	Cotylédons +	—	278,3	244,7	192,7	172,4

* Cotylédons stockés, avant l'imbibition.
** Cotylédons, après 4 h d'imbibition.

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

4. 2. *Utilisation des réserves*

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

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

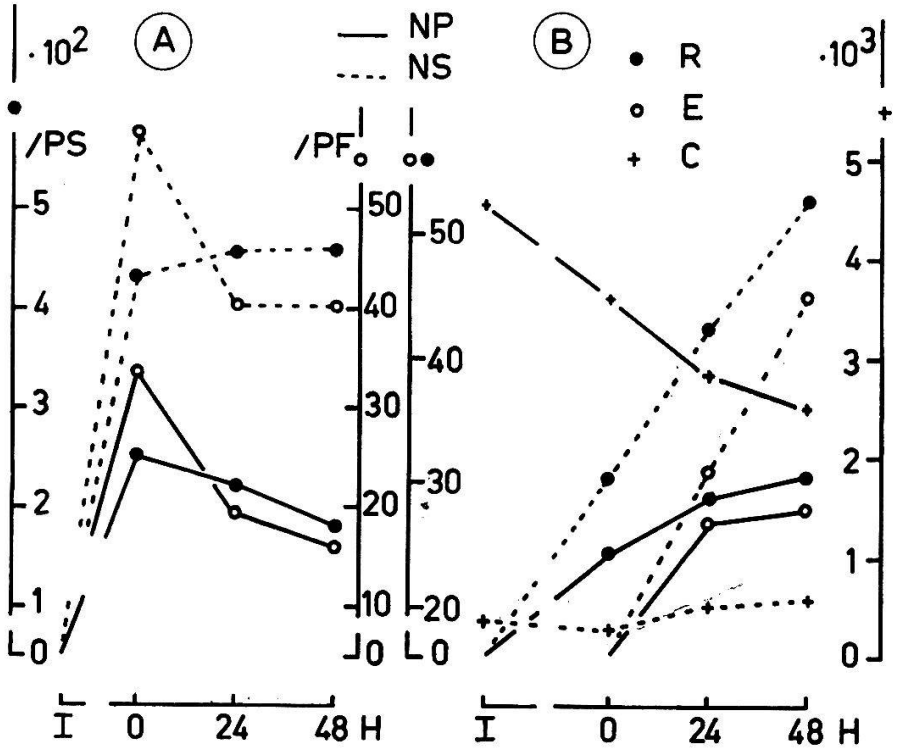

FIG. 9. — *Variation de la teneur en azote protéinique (NP) et soluble (NS) de racines (R), d'épicotyles (E) et de cotylédons (C) au cours de la croissance (de I à 48 h)*

A : valeurs d'N, pour des racines, en γ pour 10 mg de poids frais (/PF) et 10 mg de poids sec (/PS).
B : valeurs d'N en γ pour 30 individus.

5. Les variations des composés azotés

5. 1. *Les racines : figures 9 et 10* et *tableau XII, B.*

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

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

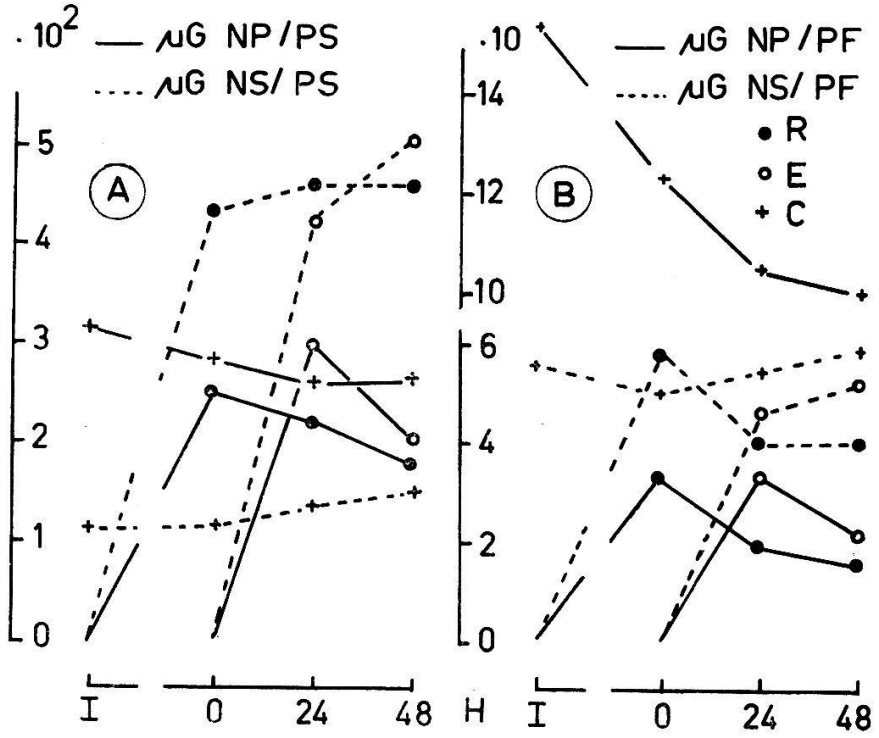

Fig. 10. — *Variations de la teneur en azote protéinique (NP) et soluble (NS) de racines (R), d'épicotyles (E) et de cotylédons (C) au cours de la croissance (de I à 48 h)*

Les valeurs sont rapportées à 10 mg de poids frais (/PF) et à 10 mg de poids sec (/PS).

5. 2. *Les épicotyles : figures 9, B et 10* et *tableau XII, B.*

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

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

2) En fonction de l'unité de poids frais, NP diminue très sensiblement au cours du temps (comme pour la racine) alors que NS augmente (contrairement à la racine).

3) Par rapport à l'unité de poids sec, NP diminue au cours de la croissance (comme pour la racine) mais NS augmente (et ceci d'une façon beaucoup plus sensible que dans la racine).

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

5. 3. *Utilisation des réserves : figures 9 B et 10* et *tableau XII, B.*

1) Rapporté à l'unité d'individu, le taux en protéines diminue fortement (surtout au début de la croissance), NS subit une réduction, puis s'accroît moins toutefois que pourrait le laisser supposer la protéolyse).

2) Par unité de poids frais, NP diminue fortement au début de la croissance et se stabilise entre 24 et 48 h; NS diminue entre I et 0 h pour augmenter et prendre à 48 h une valeur plus grande qu'au temps I.

3) Par unité de poids sec, NP diminue jusqu'à 24 h puis augmente faiblement tandis que NS s'accroît au cours du temps (surtout de 0 à 48 h).

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

6. Discussion et conclusions

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

Nous les examinerons séparément.

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

TABLEAU XIII

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

2) Nous pouvons adopter un autre point de vue.

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

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

III. ABIA, CROISSANCE ET MÉTABOLISME AZOTÉ

A. *ACTION DE L'ABIA SUR LA CROISSANCE*

1. Le problème

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

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

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

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

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

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

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

3. LES RACINES

3. 1. *Mesures d'allongement : figure 11.*

1. Les traitements auxiniques utilisés inhibent l'élongation des racines et ceci d'autant plus fortement que la concentration d'ABIA est plus élevée.
2. L'inhibition, forte au début (entre 6 et 12 h.), diminue au cours du temps.
3. Au bout de 72 h., les traitements par de l'ABIA à 1.10^{-8} M et 1.10^{-6} M ne sont pratiquement plus inhibiteurs, tandis que pour la concentration de 1.10^{-4} M l'inhibition de l'élongation est encore très sensible.

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

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

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

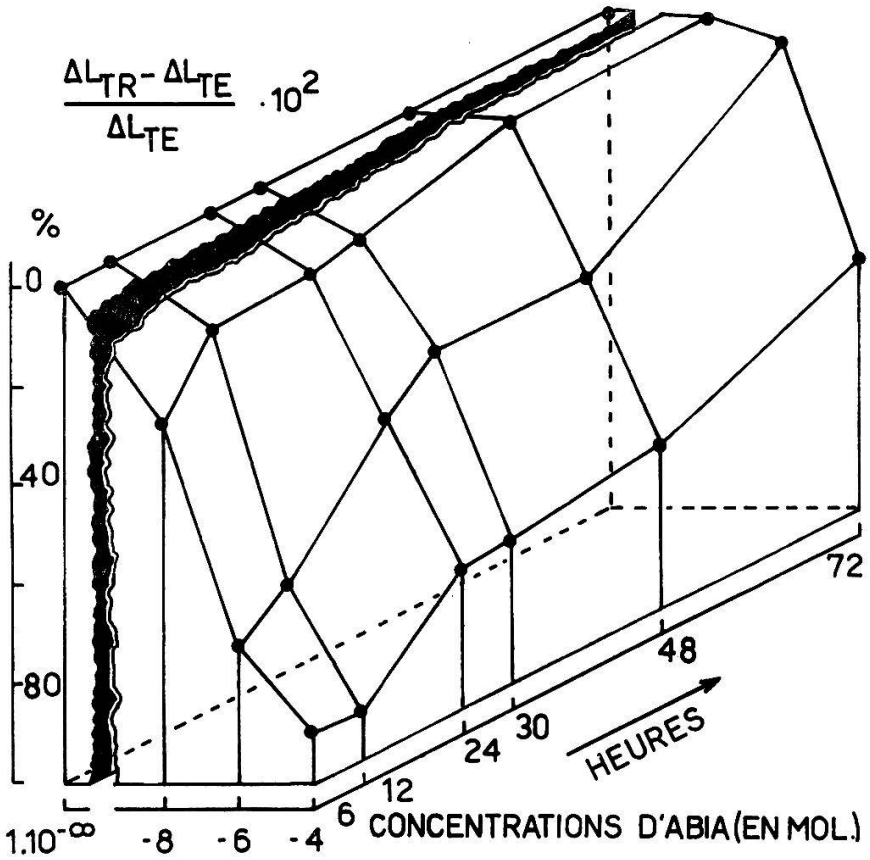

FIG. 11. — *Action de traitements à l'ABIA sur l'allongement de racines intactes*
Le % d'allongement est donné en fonction de la concentration d'ABIA et de la durée des essais (de 0 à 72 h).

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

phase III, réduction de croissance.

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

phase IV, apparition des radicelles.

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

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

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

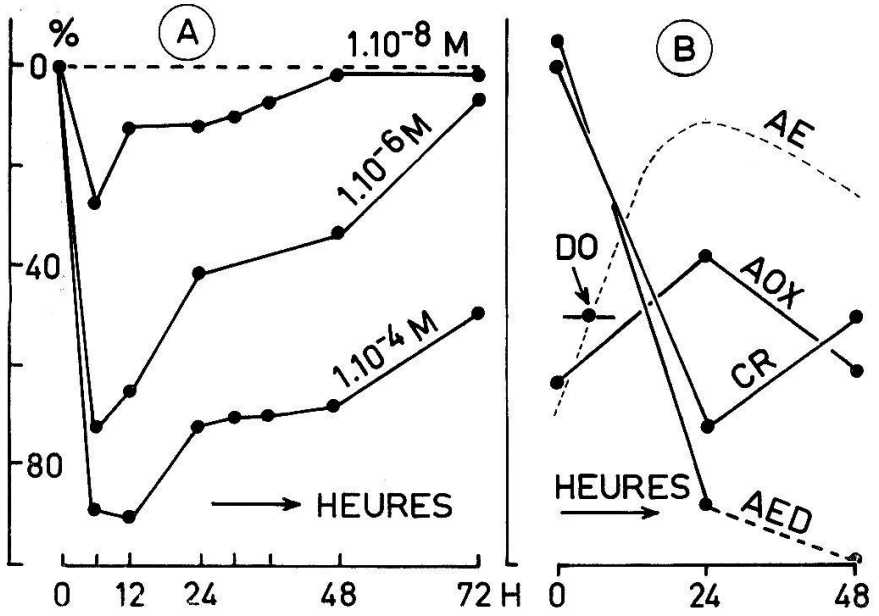

FIG. 12. — *A. Variations d'allongement de racines intactes traitées par de l'ABIA*
Le % d'inhibition (v. formule FIG. 11) est donné en fonction de la durée des essais (de 0 à 72 h) pour trois concentrations d'ABIA.

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

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

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

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

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

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

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

TABLEAU XIV

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

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

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

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

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

2) La présence des plantules dans la solution active est la cause principale de la disparition de l'ABIA.

3) Certains systèmes enzymatiques (diffusant dans le milieu) pourraient être responsables de la destruction de l'ABIA exogène. Mais l'activité auxines-oxydasique dans le milieu est si faible qu'elle ne suffit pas à rendre compte de la réduction de l'inhibition après 6 et 12 h.

4) On peut donc admettre que, dans une première étape, l'ABIA pénètre dans les plantules (par les racines surtout) où il provoque une augmentation de la quantité d'auxines endogènes jusqu'à une dose (sus-optimale) qui entraîne l'inhibition de l'élongation. Cette pénétration de nature physique tout d'abord ne semble pas être un phénomène uniquement passif (v. VAN OVERBEEK, 1956) puisque l'activité auxines-oxydasique endogène des racines augmente d'autant plus que la concentration d'ABIA exogène est plus élevée (v. p. 107). L'entrée de l'ABIA dans les tissus est donc aussi un phénomène placé sous le contrôle de réactions métaboliques (v. p. 103) et enzymatiques (l'activité auxines-oxydasique augmente). Dans une deuxième étape, l'accroissement de l'activité auxines-oxydasique (qui provoque une baisse de la teneur en auxines endogènes) et la diminution de la concentration d'ABIA exogène sont les causes de la levée d'inhibition, qui est d'autant plus tardive et lente (v. *fig. 12, A* : pente des courbes) que la concentration initiale de l'ABIA est plus forte. Nous avons résumé ce point de vue dans la *figure 12, B,* où nous proposons un schéma des processus observés. Nous assistons à une véritable auto-défense de la racine contre l'envahissement de ses tissus par l'ABIA. Sans le discuter pour l'instant, notons ce phénomène d'adaptation enzymatique sur lequel nous reviendrons plus loin (v. p. 111).

5) Comme nous l'avons mentionné dans la première partie (v. p. 4), l'utilisation de solutions d'ABIA non tamponnées ne présente pas d'inconvénients majeurs.

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

3. 2. *Autres données macrophysiologiques.*

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

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

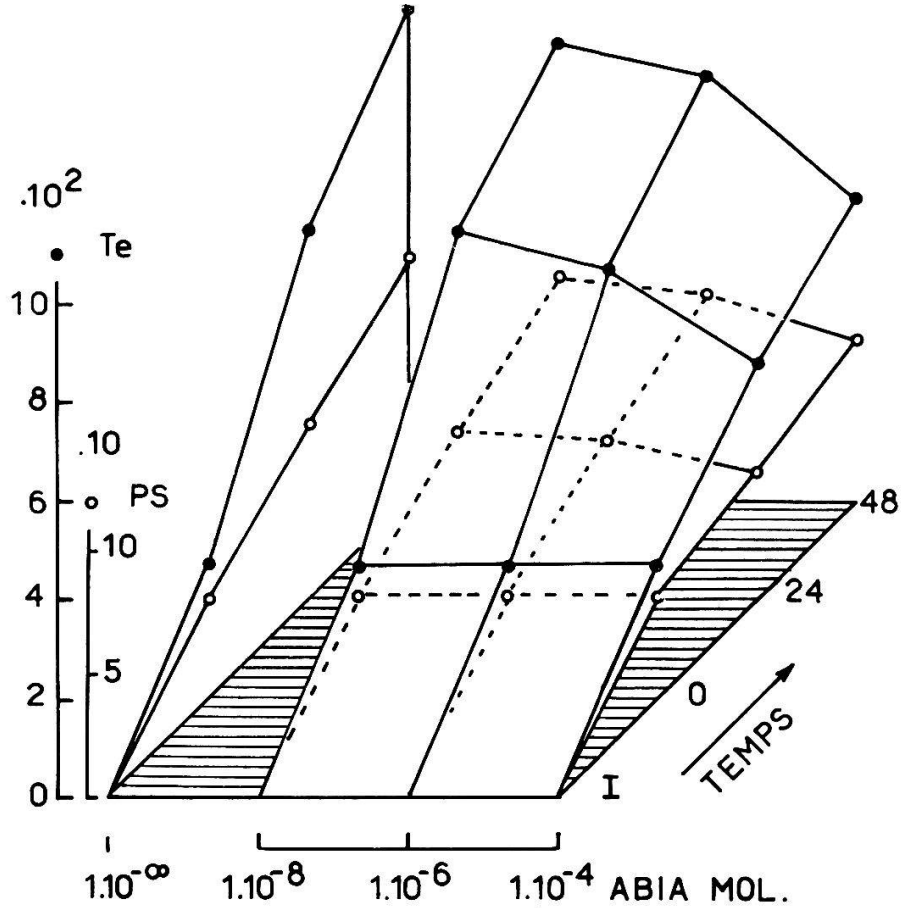

FIG. 13. — *Variations du poids sec (PS) et de la teneur en eau (Te) de racines intactes*

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

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

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

4. Les épicotyles : *tableau XV, A.*

Tableau XV

Quelques données macrophysiologiques de racines et d'épicotyles intacts

A : Valeurs relatives en % (du témoin TE) après 24 et 48 h de traitements à l'ABIA (concentrations variables).
B : Les données au temps 0 sont égales à 100.
Les valeurs ( ) concernent les épicotyles.

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

* Teneur en eau relative par rapport au poids frais.

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

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

5. Utilisation des réserves

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

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

B. *ACTION DE L'ABIA SUR LE MÉTABOLISME AZOTÉ*

1. Le problème

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

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

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

2. Les racines

Les résultats permettent de faire les constatations suivantes :

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

TABLEAU XVI

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

A : Valeurs en % du témoin (TE).
B : Valeurs en %, (pour des racines).
C : Valeurs d'N en γ , pour des épicotyles, par rapport au poids frais et au poids sec.

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

Les valeurs ( ) concernent les épicotyles.

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

2) Le rapport NP/NS diminue au cours du temps et ceci d'autant moins que les concentrations d'ABIA sont plus élevées (*tableau XVI, B*).

3) Par rapport au poids frais et au poids sec, NP diminue en fonction du temps mais d'autant moins rapidement que l'ABIA est plus concentré. NS, au contraire, augmente au cours du temps et ceci d'autant plus que la concentration d'ABIA est plus élevée (*fig. 14*).

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

TABLEAU XVII

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

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

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

3. LES ÉPICOTYLES : *tableau XVI.*

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

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

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

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

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

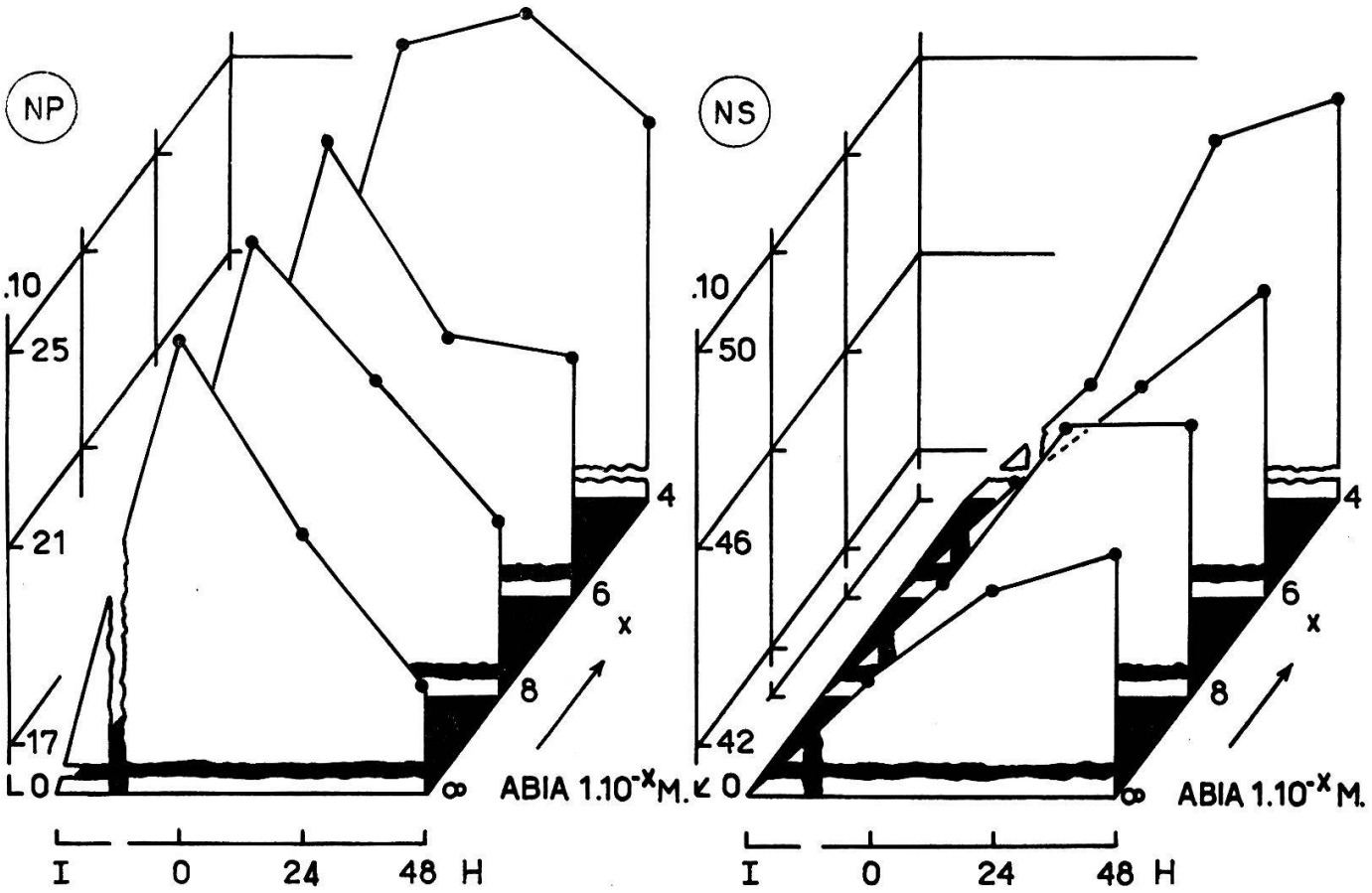

FIG. 14. — *Teneurs en azote protéinique (NP) et soluble (NS) de racines intactes*

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

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

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

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

5. Discussion

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

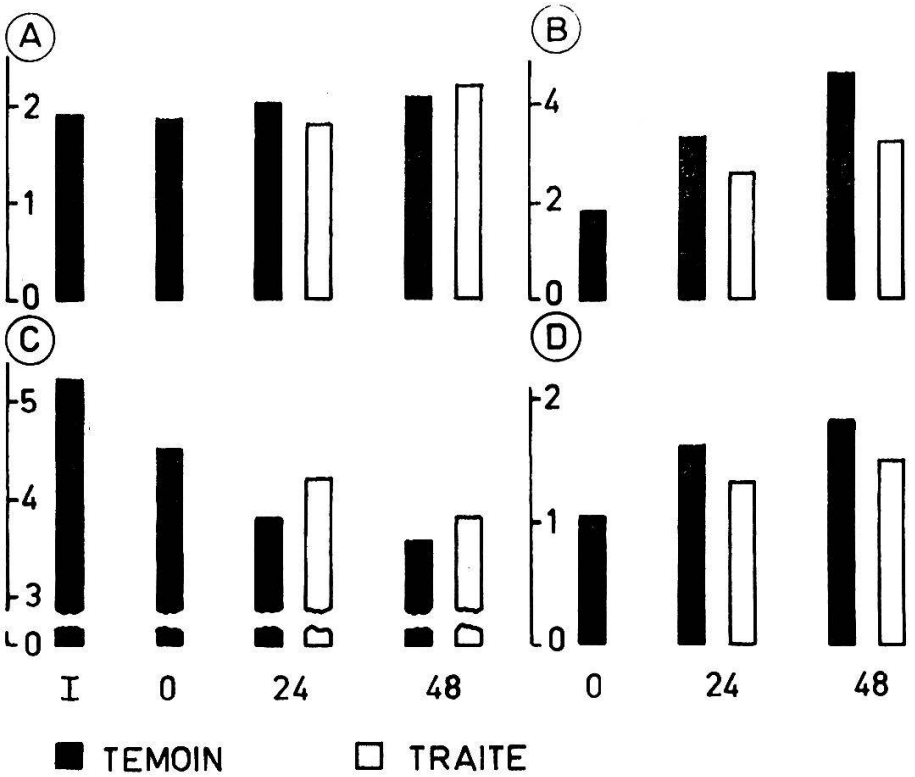

Fig. 15. — *Action de l'ABIA (1.10⁻⁴ M) sur la teneur en composés azotés après 0, 24 et 48 h*

(A) NS en mg (· 10) pour 30 cotylédons ; (B) NS en γ (· 10³) pour 30 racines ; (C) NP en mg (· 10) pour 30 cotylédons ; (D) NP en γ (· 10³) pour 30 racines.

Tableau XVIII

Action de l'ABIA (1.10⁻⁴ M) *sur la teneur en azote total de cotylédons et de racines*

Valeurs rapportées en fonction de la durée du traitement.

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

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

Période 1

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

Période 2

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Période 3.

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

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

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

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

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

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

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

C. *CONCLUSIONS*

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

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

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

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

IV. LE CATABOLISME AUXINIQUE

1. Introduction

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

2. Le problème

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

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

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

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

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

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

3. TECHNIQUE

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

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

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

4. DÉFINITIONS

Nature des extraits.

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

Analyse in situ, in vitro et in vivo.

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

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

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

5. LES RÉSULTATS

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

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

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

TABLEAU XIX

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

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

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

2) *Prétraitement.*

a) *Durée* (de 0 à 48 h).

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

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

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

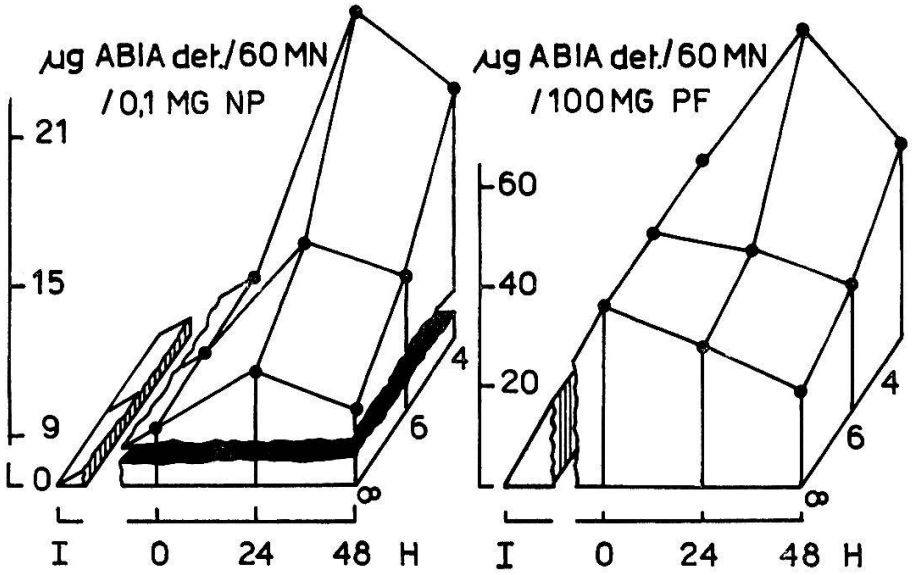

FIG. 16. — *Action de prétraitements à l'ABIA sur l'activite auxines-oxydasique d'extraits de racines*

Activité auxines-oxydasique, exprimée en γ d'ABIA détruits pendant 60 mn par rapport à l'azote protéinique et au poids frais, après 0, 24 et 48 h de prétraitements à l'ABIA ($1.10^{-\infty}$, 1.10^{-6} et 1.10^{-4} M).

3. *Incubation*

a) Durée

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

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

TABLEAU XX

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

Les valeurs données en % correspondent à celles du rapport R

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

Durée du prétraitement Heures	Concentrations d'ABIA du prétraitement 1.10^{-x} M		
	$x = \infty$	$x = 6$	$x = 4$
0	39,1	39,1	39,1
24	47,3	44,6	25,1
48	55,3	54,1	43,2

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

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

TABLEAU XXI

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

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

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

* Durée du prétraitement.
** Concentration d'ABIA du prétraitement.

b) *Traitement*

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

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

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

6. Discussion

Croissance, activité auxines-oxydasique et teneur en auxines

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

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

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

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

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

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

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

Adaptation enzymatique et composés azotés

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

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

— des racines préalablement traitées par des auxines sont capables de dégrader, *in vitro*, davantage d'ABIA :

— après un certain temps de prétraitement (24 h), l'activité auxines-oxydasique des racines (déterminée *in vitro*) décroît. La réduction de l'activité enzymatique pourrait être, comme nous l'avons dit plus haut, une conséquence de la diminution du substrat.

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

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

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

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

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

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

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

Action de la température sur la conservation des extraits enzymatiques

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

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

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

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

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

V. ACTION DE LA LUMIÈRE

1. Le problème

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

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

2. Quelques travaux

Lumière et croissance

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

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

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

Lumière et activité auxines-oxydasique

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

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

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

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

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

Lumière et teneur en auxines

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

1. La genèse des auxines s'effectue plus facilement à la lumière qu'à l'obscurité. Relevons l'effet opposé de la lumière qui, d'une part, assure la genèse et, d'autre part, contribue à la destruction des auxines.
2. Une irradiation unilatérale provoque une migration des auxines dans les parties restées dans l'ombre, ce qui entraîne un phototropisme positif (chez les tiges et les coléoptiles) ou négatif (chez les racines).
3. La lumière peut affecter l'équilibre entre les auxines libres et liées.
4. La lumière active (GALSTON et HAND, 1949) ou inhibe (GALSTON et BAKER, 1953) la pénétration de l'ABIA et diminue la sensibilité auxinique (GALSTON et BAKER).
5. La lumière peut modifier la réponse des cellules aux auxines sans directement en affecter la quantité. Elle peut perturber les propriétés électriques des différentes couches de la membrane cellulaire, entraînant une diminution de l'extensibilité. Elle peut conduire aussi à la synthèse ou à la formation d'effecteurs (anti-auxines ou inhibiteurs, HILLMAN et GALSTON, 1957).

3. Techniques

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

4. Action de la lumière sur la croissance

4. 1. *Les racines et les épicotyles*

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

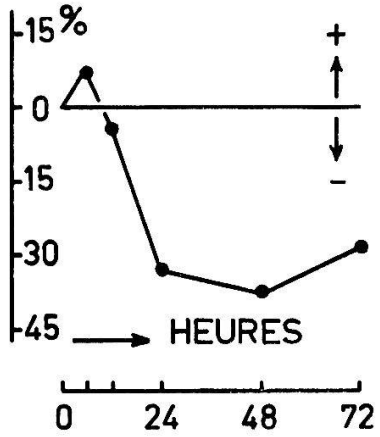

Fig. 17. — *Action de la lumière sur les variations de longueur des racines*

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

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

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

4. 2. *Utilisation des réserves*

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

TABLEAU XXII

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Tableau XXIII

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

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

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

* Durée du traitement (heures).
** Genre de traitement (obscurité ou lumière).

Tableau XXIV

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

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

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

6. Action de la lumière sur le métabolisme azoté

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

1) Par rapport au nombre de racines, la lumière inhibe NS et NP, surtout pendant les 24 premières heures. Cette inhibition est en général moins forte que celle des valeurs macrophysiologiques. Dans les épicotyles, l'inhibition est faible pour NP mais très forte pour NS.
2) Par rapport à l'unité de poids, NP et NS des racines et des épicotyles augmentent (à l'exception de NS/PS qui diminue).

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

6. 2. *Utilisation des réserves*

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

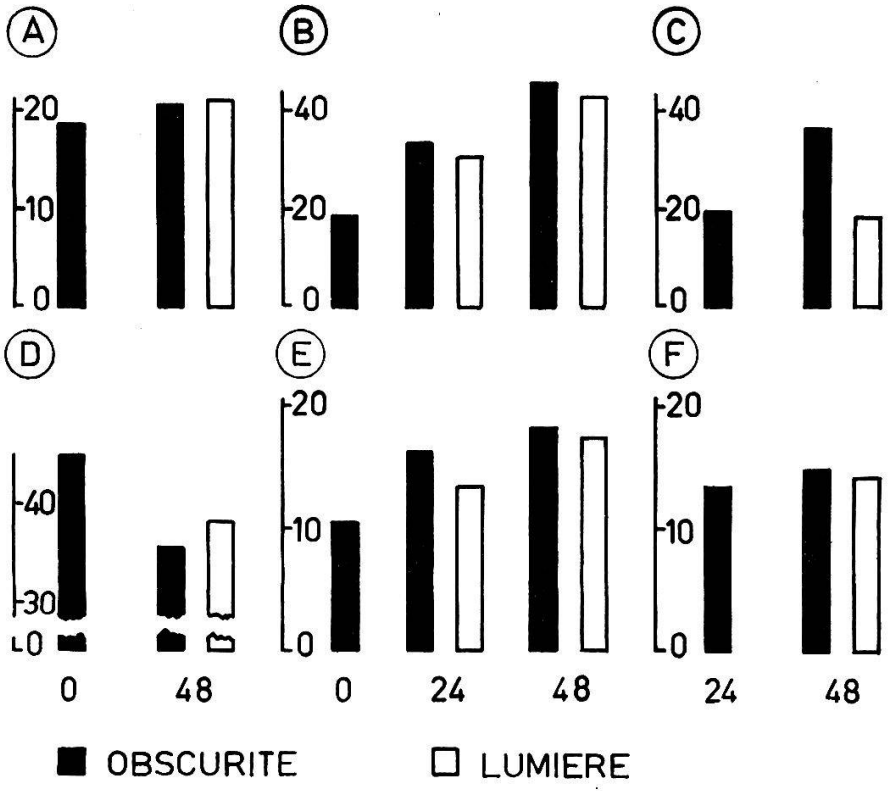

Fig. 18. — *Action de la lumière sur la teneur en composés azotés après 0, 24 et 48 h de traitement*

(A) NS en mg pour 30 cotylédons, (B) NS en γ (· 10²) pour 30 racines, (C) NS en γ (· 10²) pour 30 épicotyles, (D) NP en mg pour 30 cotylédons, (E) NP en γ (· 10²) pour 30 racines, (F) NP en γ (· 10²) pour 30 épicotyles.

7. Discussion et conclusions

Lumière, croissance et catabolisme auxinique

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

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

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

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

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

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

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

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

Lumière, croissance et composés azotés

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

TABLEAU XXV

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

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

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

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

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

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

CONCLUSIONS

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

Etats de croissance

Dans la zone de division :

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

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

Dans la zone d'élongation :

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