

Extrait de

LEJEUNIA

Revue de Botanique

Tome 11, 1947

Fascicule 2

LES RADICAUX DIPHENOLIQUES

EN TANT QUE

CONSTITUANTS D'HORMONES RÉGLANT

LA NÉOFORMATION DES RACINES

chez le Fraisier des quatre-saisons

(*Fragaria vesca* L. var. *semperflorens* DUCH.)

par

Cyrille SIRONVAL Lic. Sc.

LES RADICAUX DIPHÉNOLIQUES
EN TANT QUE
CONSTITUANTS D'HORMONES RÉGLANT
LA NÉOFORMATION DES RACINES

chez le Fraisier des quatre-saisons ¹.

(*Fragaria vesca* L. var. *semperflorens* DUCH.) ².

par

Cyrille SIRONVAL Lic. Sc.

L'étude du développement du « Fraisier des quatre-saisons à fruit rouge » (³) nous a permis de faire récemment quelques observations relatives au problème de la rhizogenèse. Nous avons réalisé diverses expériences dont les résultats d'ordre qualitatif paraissent encourageants.

1° Premiers stades de développement du Fraisier des quatre-saisons.

La germination des graines de Fraisier dont nous disposons est très régulière. Elle se produit en serre, à une température moyenne de 16°, en 6 à 7 jours — 100 % des graines germent. On observe d'abord la croissance de la radicule, puis celle de l'hypocotyle, puis celle des cotylédons qui s'étalent vers le troisième jour. A ce moment, la gemmule est à peine visible à l'œil nu.

La croissance de la tige est lente. Vers le dixième jour, on voit apparaître la première feuille ; elle s'étale au douzième jour. Une deuxième feuille grandit ensuite entre les stipules de la première, puis une troisième entre les stipules de la deuxième et ainsi de suite. Dans la période qui va du vingt-cin-

(¹) Présenté à la séance du 1^{er} décembre 1947 de la Société Botanique de Liège (Section de Physiologie végétale).

(²) Ce nom est donné conformément à la nomenclature de DUCHESNE et sous réserve d'une révision générale de la génétique et de la systématique des Fraisiers.

(³) Les graines proviennent de la maison Gonthier, de Huy (Belg.).

quième au trentième jour, la troisième feuille s'est généralement étalée ⁽¹⁾. Les entrenœuds restent courts et les feuilles forment une rosette.

Trois à quatre jours après l'étalement de la troisième feuille, on constate qu'il se forme toujours une racine au nœud cotylédonaire. Cette racine, diamétralement opposée à la première feuille, se situe, comme elle, dans un plan perpendiculaire à l'axe des deux cotylédons. Elle croît rapidement dans l'air. En même temps, l'hypocotyle s'incline vers le sol et la plantule se « repique » au nœud cotylédonaire. Ce processus écologique se présente dans toutes les jeunes plantes examinées (Pl. 12, fig. 1 et 2).

L'apparition de la racine adventive au nœud cotylédonaire est toujours précédée par un rougissement intense de cette région. Ce rougissement apparaît avec la troisième feuille et s'intensifie dans la suite.

On peut se demander s'il n'y a pas un rapport de cause à effet, entre le rougissement du nœud cotylédonaire et l'apparition subséquente d'une racine à cet endroit.

2. Localisation et nature du pigment rouge.

Le rougissement affecte la base des pétioles de la troisième feuille au moment où celle-ci s'étale à la lumière. Il gagne ensuite la base du pétiole de la deuxième et de la première feuille, la base des pétioles cotylédonaires ainsi que toute la région du nœud cotylédonaire.

Les stipules en particulier sont intensément colorées en rouge. L'examen microscopique sur le vivant montre que la substance rouge est localisée dans certaines cellules épidermiques qu'elle colore uniformément. L'épiderme a l'aspect d'une mosaïque avec dominance de cellules rouges.

L'étude d'un grand nombre de stipules ne permet pas de dégager une loi rendant compte de la distribution de cette mosaïque.

Toutefois, les cellules épidermiques immédiatement situées à la base des nombreux poils glandulaires qui bordent les stipules présentent généralement une coloration rouge. Ces poils eux-mêmes sont toujours incolores.

Si on plonge une feuille vivante dans l'eau distillée ou l'alcool à 94°, les stipules se décolorent. Le pigment est donc soluble dans l'eau et l'alcool. On peut empêcher la décoloration en fixant au préalable au Bouin pendant 48 heures ou même 24 heures.

⁽¹⁾ Les feuilles 1 et 2 ne sont jamais trifoliées, mais simplement lobées. La feuille 3 peut être trifoliée, mais souvent elle présente le même type que les feuilles 1 et 2.

L'observation microscopique montre qu'après ce traitement la substance rouge s'est accumulée en petits glomérules dans le protoplasme, qui prend un aspect granuleux caractéristique. La coloration est légèrement plus sombre que sur le vivant ; il devient impossible de l'extraire des cellules ; la permanence de sa localisation cellulaire est assurée. Le séjour ultérieur des spécimens dans des solutions aqueuses de différents réactifs ne la modifie pas.

On sait que diverses molécules sont responsables chez les plantes de colorations rosées ou rouges. Elles appartiennent le plus souvent soit au groupe des caroténoïdes, soit au groupe des pigments anthocyaniques ou oxyflavoniques.

Les pigments caroténoïdes se présentent toujours soit sous forme de petits cristaux dans les chromoplastes, soit en solution dans des inclusions huileuses. Ce n'est pas le cas du pigment qui nous occupe. Examinées sur le vivant, les cellules rouges ne contiennent pas de cristaux ou d'inclusion huileuse. Le pigment est d'ailleurs soluble dans l'eau, alors que les caroténoïdes ne le sont pas. De plus, les réactions des caroténoïdes se montrent toutes négatives : action de H_2SO_4 conc., iode iodurée, bichromate de K à 1 %.

Le bichromate de K à 1 % décolore les caroténoïdes par oxydation. Le pigment que nous étudions, au contraire, développe en quelques minutes, en présence de bichromate, une coloration franchement brune.

Le virement au brun en présence de bichromate de K est connu depuis longtemps (HENLE, 1863). C'est la réaction dite « chromaffine » caractéristique de la médullaire surrénale. Comme l'a montré VERNE (1923), cette réaction est en réalité obtenue non seulement avec l'adrénaline, mais aussi avec les polyphénols, des aminophénols, des polyamines en position ortho ou para. Elle est due (GÉRARD, CORDIER et LISON, 1930) à l'oxydation ménagée de ces substances et à leur transformation en quinone. On peut l'obtenir non seulement avec le bichromate de K, mais aussi avec une solution d'un autre oxydant, l'iodate de K, par exemple.

Nous constatons que, sur notre matériel, une solution à 1 % d'iodate de K donne exactement la même réaction que la solution de bichromate. La coloration est brune, légèrement plus foncée qu'avec le bichromate.

D'après LISON, qui a étudié spécialement cette question, la réaction « chromaffine » est tout à fait spécifique des di- ou polyphénols ou aminophénols ou polyamines en position ortho ou para.

On possède, d'autre part, dans le cas des diphénols, des réactions caractéristiques des orthodiphénols.

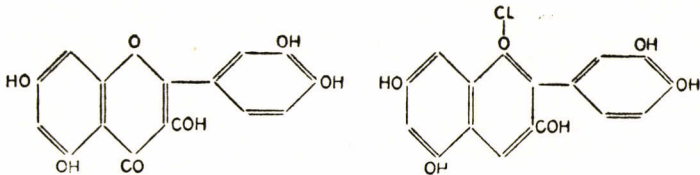
Une de ces réactions est la coloration verte que ces substances donnent en présence d'une solution de perchlorure de Fer diluée.

Cette réaction est positive dans le cas qui nous occupe. On obtient en

effet, dans les cellules colorées en rouge sur le vivant, une coloration verte très intense, tendant vers le noir (Pl. 13, fig. 1 et 2).

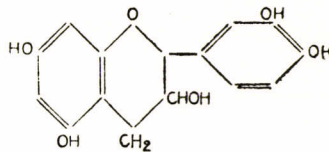
On peut donc affirmer que les cellules rouges contiennent des produits phénoliques et plus spécialement des substances à radicaux orthodiphénols.

Les radicaux orthodiphénols sont très répandus chez les végétaux comme constituants de base des tannins. Les tannins pyrocathéchiqes sont des polymères du Cathéchol et de ses isomères (FREUDENBERG).



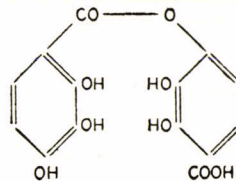
Quercetol.

Cyanidol.



Catéchol.

Les tannins pyrogalliques contiennent également des noyaux diphéno- liques ortho. Il en est ainsi par exemple de l'acide digallique.



Acide digallique.

Les réactions que nous observons ne suffisent pas à décider si nous nous trouvons en présence de tannins pyrocathéchiqes ou pyrogalliques.

Il est possible que ces deux catégories de substances coexistent dans les cellules qui réagissent positivement. Par elles-mêmes ces substances sont incolores. Mais certains dérivés obtenus par oxydation ou par déshydratation des tannins pyrocathéchiqes sont rouges. Ils constituent une catégorie de composés mal connus mais très répandus chez les plantes : les phlobaphènes (FREUDENBERG).

La coloration rouge dans la région du nœud cotylédonaire et à la base du pétiole de la troisième feuille du Fraisier serait due à la présence de tannins pyrocathéchiques partiellement transformés en phlobaphènes colorés (1).

3. Localisation des radicaux orthodiphénols dans une plantule de trois feuilles.

Lorsqu'elles ne sont pas colorées, les cellules de l'épiderme des stipules ne donnent pas les réactions des radicaux orthodiphénols ; seules les cellules rouges donnent ces réactions (Pl. 13, fig. 1). Cette règle est en défaut dans le cas des poils glandulaires qui ornent les bords des stipules, l'épiderme du pétiole et du limbe des jeunes feuilles. La cellule terminale de ces poils n'est pas colorée et pourtant elle donne toujours une réaction très intense, aussi bien avec le bichromate qu'avec l'iodate ou le perchlorure de Fer (Pl. 13, fig. 2). Cette cellule surmonte un petit pédoncule constitué de deux ou trois cellules. Les deux cellules basales de ce pédoncule, bien qu'incolores, réagissent généralement.

Sur la jeune plantule qui vient d'étaler ses cotylédons, les poils glandulaires, au nombre de cinq à six, sont juste situés sous l'ébauche de la première feuille au nœud cotylédonaire. La première feuille en porte 16 (moyenne sur 10 feuilles examinées) ; la seconde 56 ; leur nombre s'élève à 110 (moyenne) sur la troisième feuille. Ces poils persistent une dizaine de jours après l'étalement de la jeune feuille. Leur cellule terminale glanduleuse donne toujours les réactions des radicaux orthodiphénols.

D'autres tissus que l'épiderme réagissent également ; en particulier, à la base des pétioles, la région vasculaire (incolore sur le vivant).

L'intensité de cette réaction vasculaire diminue à mesure qu'on monte dans les pétioles, jusqu'à devenir nulle. A l'entrée du limbe, là où les nervures pénètrent dans le pétiole, on retrouve une réaction notable des faisceaux.

Dans une plantule entière de 3 feuilles, la zone la plus réactionnelle correspond exactement à la région qui rougit : base des pétioles, stipules, nœud cotylédonaire.

Les plantules de deux feuilles et surtout les plantules d'une feuille présentent à cet endroit une réactivité beaucoup plus faible. Les colorations obtenues sont nettement plus pâles.

(1) D'après HASS et HILL, les phlobaphènes sont pratiquement insolubles dans l'eau sauf si elle contient de l'acide tannique. Ils sont solubles dans l'alcool et dans les solutions alcalines.

Il faut admettre que des composés contenant des radicaux orthodiphénols s'accumulent au nœud cotylédonaire et à la base des pétioles, après que la troisième feuille s'est étalée à la lumière.

Ce fait peut être mis en relation avec la présence d'un grand nombre de poils glandulaires sur les stipules, le pétiole et le limbe de cette feuille. Ces poils jouent peut-être un rôle dans l'accumulation des substances à radicaux orthodiphénols au nœud cotylédonaire en tant que centres de synthèse.

4. Rôle des substances à radicaux orthodiphénols.

Y a-t-il un rapport entre la présence de radicaux orthodiphénols au nœud cotylédonaire et la formation d'une racine à cet endroit, ou la coïncidence est-elle fortuite ?

Une méthode simple de résoudre cette question consiste à provoquer des néoformations radiculaire en divers endroits. Si l'étude histochimique y révèle la présence constante de radicaux orthodiphénols, on doit conclure à l'existence d'un rapport entre les substances porteuses de ces radicaux et la rhizogenèse.

Différentes expériences ont été réalisées. Nous en exposons deux :

1^{re} Expérience: NÉOFORMATION RADICULAIRE SUR DES PLANTULES ENTIÈRES CHEZ LE FRAISIER DES QUATRE-SAISONS.

Normalement, des ramifications se forment sur la racine principale d'une plante entière lorsque la première feuille apparaît.

Les points de néoformation sont visibles au sein des tissus de la racine principale, dès les premiers stades de la constitution du nouveau méristème en utilisant la réaction à l'iodate.

Dès les premières divisions cellulaires, et peut-être avant, la région de néoformation donne une réaction nette.

Les plantules ayant une seule feuille, cultivées sur terreau, portent toujours des racines secondaires sur la racine principale. Mais les plantules du même âge, cultivées sur papier filtre, en sont parfois dépourvues, notamment lorsque le papier filtre se dessèche. Dans ce cas, on observe souvent un rougissement à la base de l'hypocotyle. Les réactions des diphénols y deviennent positives ; parfois même, des racines y apparaissent (Tableau I).

TABLEAU I.

No d'ordre	Réaction des orthodiphénols					Nombre de rac. le long de la rac. principale	Nombre de rac. à la base de l'hypocotyle	Cultivé sur
	Cotyl.	Gemmule	Feuille	Haut de l'Hyp.	Bas de l'Hyp.			
1ère série								
1	—	+	—	—	—	8	0	terreau
2	—	+	—	—	—	1	0	papier filtre
3	—	+	—	—	—	4	0	terreau
4	—	+	+	—	—	4	0	papier filtre
5	—	+	—	—	—	5	0	terreau
6	—	+	—	—	—	1	0	papier filtre
7	—	+	—	—	—	7	0	terreau
8	—	+	—	—	—	7	0	terreau
9	—	+	—	—	—	6	0	terreau
2ème série								
10	—	+	—	—	+	0	1	papier filtre
11	—	+	—	—	+	0	0	papier filtre
12	—	+	+	—	—	0	0	papier filtre
13	—	+	—	—	+	0	5	papier filtre
14	—	+	—	—	—	0	0	papier filtre
15	—	+	—	—	+	0	2	papier filtre
16	—	+	—	—	+	0	0	papier filtre

muntes de racines secondaires.

de racines secondaires.

Lorsqu'il n'y a pas de radicaux orthodiphénols décelables à la base de l'hypocotyle, on ne constate pas de rhizogenèse à cet endroit (Tableau I, 1^{re} série et cas 12 et 14 de la 2^{me} série). Par contre, dans les cas 10, 13 et 15 de la 2^{me} série on observe l'apparition de racines à la base de l'hypocotyle ; les réactions des radicaux orthodiphénols y sont positives.

Ces radicaux se comportent donc comme caractéristiques de substances dont la présence coïncide avec la néoformation d'une racine.

Les cas 11 et 16 font seuls exception. On décèle des radicaux orthodiphénols sans néoformation radiculaire.

Mais il n'y a pas d'exemple de néoformation sans présence simultanée de substances à radicaux orthodiphénols.

2^{me} Expérience: NÉOFORMATION SUR DES BOUTURES DE PLANTULES.

Les plantules dont nous disposons se bouturent très facilement pendant la croissance de la première feuille. On coupe la racine principale et la base de l'hypocotyle. On dispose les plantules dans des tubes spéciaux de façon qu'elles baignent de quelques millimètres dans l'eau ordinaire. Au quatrième jour, à une température de 16° à peu près constante, une ébauche de racine est déjà visible à la loupe à l'intérieur des tissus.

Cette ébauche est toujours située à une distance de la coupure comprise entre 1,5 et 3 mm. (Tableau II et Pl. 14, fig. 1).

TABLEAU II

Distance de la coupure à la première racine (en 1/10 mm.)

No d'ordre	Distance
1	16
2	18
3	16
4	30
5	16
6	25
7	16
8	22
9	30
10	18
Distance moyenne	20,7

La première racine néoformée ne se forme j a m a i s entre la coupure et le niveau 1,5 mm., de même qu'au delà du niveau 3 mm. Ces chiffres restent constants quel que soit l'endroit de l'hypocotyle où on a coupé. C'est donc l'endroit de la coupure qui détermine la localisation de la première néoformation radriculaire dans l'hypocotyle. La structure de ce dernier ne paraît pas intervenir.

Les réactions au bichromate et à l'iodate de K donnent dans l'hypocotyle, dès le deuxième jour après l'opération de bouturage, une réaction notable à la base de la bouture. Cette réaction est localisée dans les faisceaux sur une longueur constante mesurée à partir de la coupure (Pl. 14, fig. 2 a).

La longueur de la « colonne » vasculaire réagissante est en moyenne de 2,2 mm. au deuxième jour (voir Tableau III).

Au troisième jour, elle augmente de quelques 1/10 de mm., tandis que l'intensité de la réaction de la colonne vasculaire s'accroît fortement au niveau du deuxième millimètre (Pl. 14, fig. 2 b). On constate e n m ê m e t e m p s qu'il se produit à cet endroit une multiplication cellulaire abondante.

Au quatrième jour, la longueur de la colonne vasculaire diminue légèrement tandis que l'intensité de la réaction atteint son maximum dans la zone du deuxième millimètre (Pl. 14, fig. 2 c). On distingue maintenant à la loupe sur les plantes vivantes un bourrelet à cet endroit à l'intérieur des tissus. En dessous de cette zone l'intensité de la réaction au bichromate diminue.

Au cinquième jour, le méristème de la racine est constitué (Pl. 14, fig. 2 d).

TABLEAU III

Jour après la coupure	Hauteur de la colonne phénolique	Distance entre le méristème néoformé et la coupure
	Moyennes sur 10 plantes, en 1/10 de mm.	
1	—	—
2	22	—
3	30	20
4	27	21
5	20	19

Dans les boutures de plantules de fraisiers, la néoformation de la première racine adventive semble réglée par la distribution des radicaux orthodiphénols dans la base de l'hypocotyle.

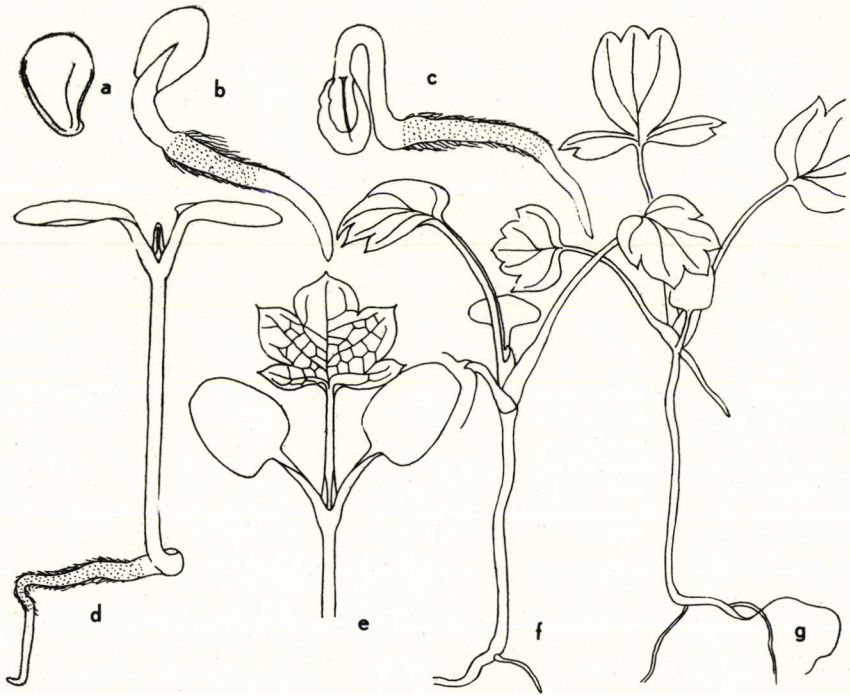
On constate la présence de ces substances avant que se manifestent les premières divisions cellulaires.

Les radicaux orthodiphénols paraissent agir comme des hormones responsables du déclenchement de la rhizogenèse à un endroit qui dépend de leur accumulation dans l'hypocotyle jusqu'à un certain niveau à partir de la coupure.

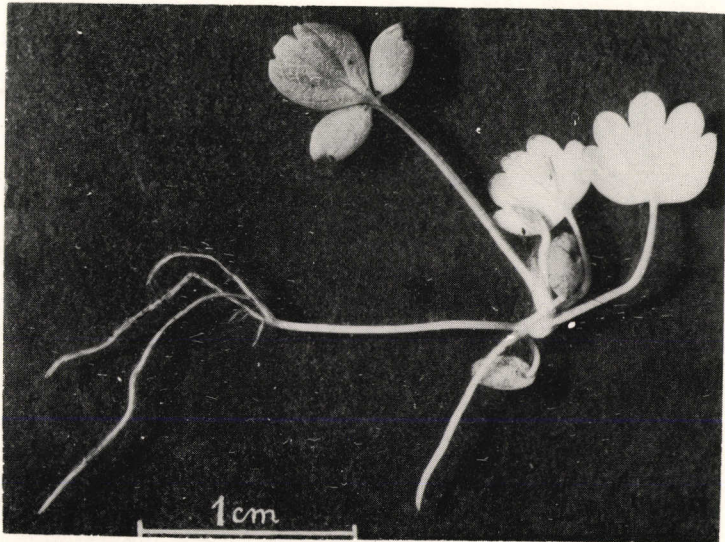
UNIVERSITÉ DE LIÈGE
Institut de Botanique
Laboratoire de Physiologie végétale
Centre d'étude des Hormones végétales.

LITTÉRATURE

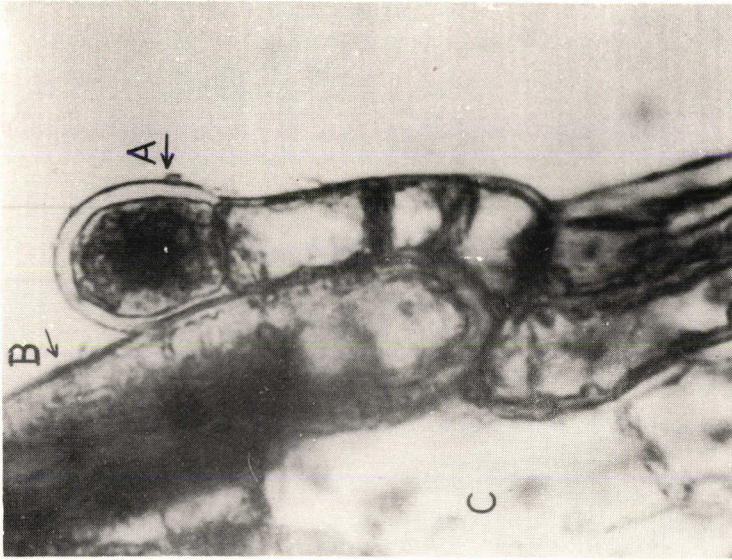
1. — HENLE. — *Z. Rat. Méd.* ; 1863.
2. — VERNE. — *Soc. Chim. Biol.*, 5, p. 227 ; 1923.
3. — GÉRARD, CORDIER et LISON. — *Bull. Hist.*, 7 ; 1930.
4. — GÉRARD, CORDIER et LISON. — *Biol.*, 105, p. 876 ; 1930.
5. — LISON. — *Histochimie Animale*, GAUTHIER-VILLARS, Paris ; 1936.
6. — FREUDENBERG. — *Abderhalden's Handb. Biol. Arbeit.*, 1, p. 10 ; 1921.
7. — HASS et HILL. — *An Introduction to the Chemistry of Plant Products*, 1928.
8. — DESTEXHE. — *Lejeunia*, Mémoire 5 ; 1944.



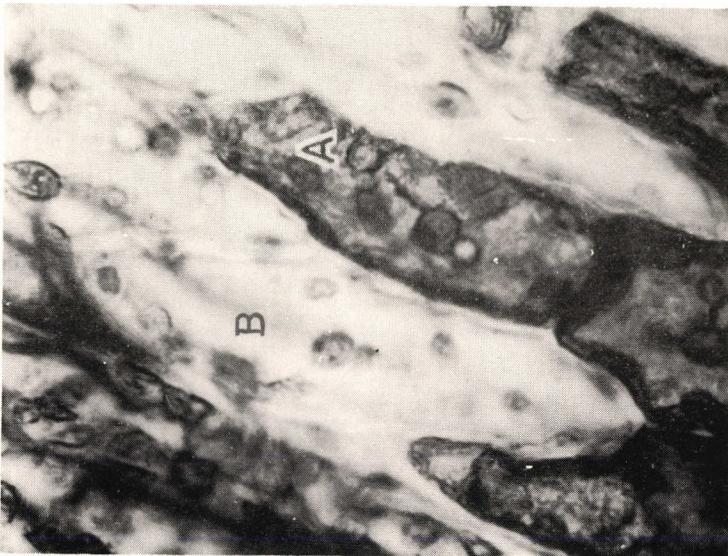
1. Quelques stades de développement du Fraisier des quatre saisons à fruits rouges, de la graine à la plantule de 3 feuilles.



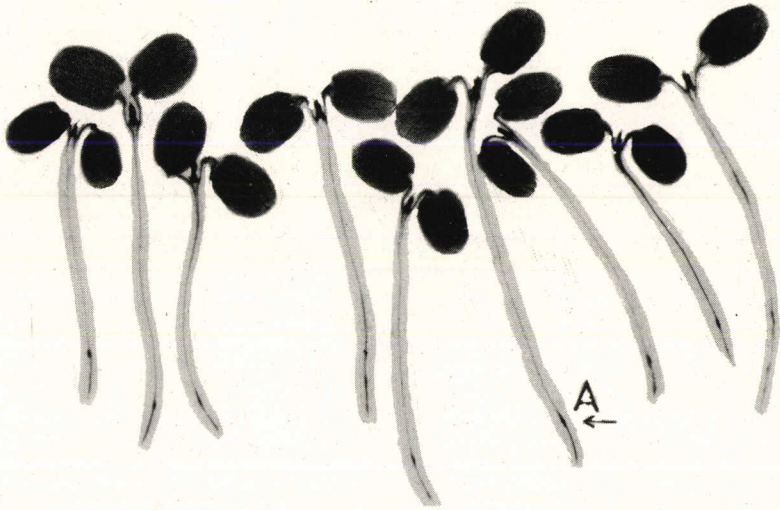
2. Jeune plantule de 3 feuilles. Au nœud cotylédonaire : horizontalement, l'hypocotyle qui s'est courbé ; vers le bas, la racine du nœud cotylédonaire en train de croître.



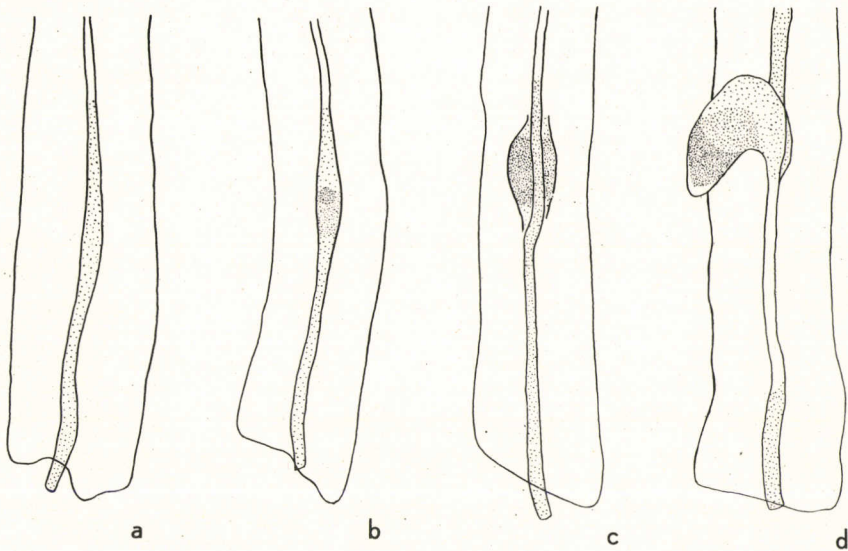
2. Poil glandulaire du bord de la stipule après réaction au perchlorure de Fer. La cellule terminale normalement claire est devenue vert-noir (A), En (B), cellule " rouge " ayant réagi. En (C), cellule " non rouge " : pas de réaction



1. Cellules de l'épiderme de la stipule après la réaction au perchlorure de Fer. En noir (A), les cellules " rouges " sont devenues vert-noir. En blanc (B), les cellules " non rouges " n'ont pas réagi.



1. 9 jeunes plantules dont on a enlevé la racine principale et la base de l'hypocotyle (Exp. 2). Après 3 jours, on effectue la réaction à l'iodate de K. En (A) l'ébauche de la racine en néoformation a bruni et est nettement visible. Sous l'ébauche, la colonne vasculaire brune. Au dessus de l'ébauche, les faisceaux sont beaucoup moins sombre : pas de réaction.



2. Etapes successives de la formation de la première racine néoformée sur une jeune plantule dont on a coupé la base de l'hypocotyle et la racine principale (Exp. 2). Explications dans le texte. a : deuxième jour ; b : troisième jour ; c : quatrième jour ; d : cinquième jour.