

III

**La localisation des radicaux
donnant la réaction dite « chromaffine »
pendant les premiers stades du développement
du Fraisier des quatre-saisons**

PAR

C. SIRONVAL

Dans un article présenté en décembre 1947, à la Société Botanique de Liège et qui a paru dans la revue de la Société (*Lejeunia*, t. II, fasc. 2, pages 45 à 54), nous avons montré que des substances porteuses de radicaux orthodiphénols s'accumulent dans les hypocotyles du Fraisier des quatre-saisons, là où s'amorce une néoformation radiculaire. Cela est particulièrement net lorsqu'on bouture de jeunes plantules.

Dans ce cas, 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 ».

Au cours des dernières années, nous avons eu l'occasion d'étudier de plus près le développement du Fraisier des quatre-saisons, à partir du semis, dans les conditions normales de sa culture. Cette étude nous a apporté quelques faits nouveaux relatifs à la formation des racines. Nous avons constaté notamment que, pendant la période qui va de la germination jusqu'à l'étalement des cotylédons, la racine prin-

cipale (dont le méristème existe dans l'embryon), est l'unique racine de la plante et que, par la suite, avec la croissance de la première feuille, des méristèmes radiculaires secondaires se néoformant. On en compte toujours 5 à 8 vers le 25^e jour; ils sont à l'état d'ébauches dans les tissus de la racine principale, ou parfois grandissent depuis peu à l'extérieur. La formation de racines secondaires nouvelles se poursuit pendant la croissance de la 2^e feuille, mais elle cesse brusquement lorsque la 3^e feuille grandit. A ce moment, on observe toujours l'apparition d'une racine dans une situation tout à fait nouvelle : dans le haut de l'hypocotyle, au nœud cotylédonaire. Cette racine est la première d'une série d'autres qui croissent ensuite au même endroit, repiquant progressivement la plante au nœud, tandis que la vieille racine principale et les racines secondaires qui en partent, ainsi que l'hypocotyle lui-même, meurent lentement.

Dans l'article cité plus haut, nous avons montré que la néoformation de la première racine au nœud cotylédonaire coïncide avec

l'accumulation à ce nœud d'une grande quantité de radicaux orthodiphénols. Cette observation confirmait notre hypothèse relative à l'intervention des radicaux orthodiphénols au cours des processus qui déclanchent la rhizogenèse. Actuellement, la question se pose de savoir si des observations analogues pourraient être faites à propos de la racine principale et des racines secondaires néoformées le long de celle-ci.

Ayant cette question en vue, nous avons essayé d'approfondir l'étude de la répartition des radicaux di- ou polyphénoliques et des radicaux apparentés pendant les premiers stades du développement, avec l'espoir de mettre en évidence de nouvelles données relatives au rapport qui semble exister entre la néoformation radiculaire et la présence des orthodiphénols.

La mise en évidence des radicaux poly- ou diphenoliques, aminophénols ou polyamines, en position ortho ou para dans les tissus des plantes, est facile. Nous avons utilisé la technique décrite dans notre travail cité plus haut (*Lejeunia*, t. II, fasc. 2, pp. 45-54).

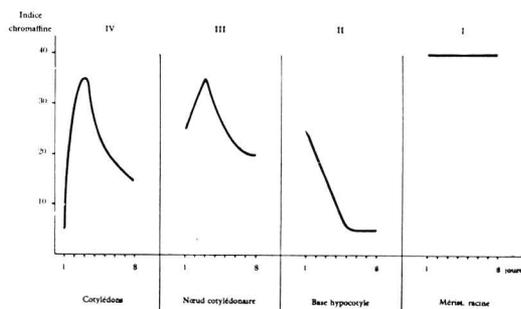
Nous faisons réagir les tissus (avec ou sans fixation préalable au Bouin) avec une solution d'iodate de potassium à 1 % et nous obtenons ainsi une coloration brune, assez foncée. Les zones qui réagissent avec l'iodate, brunissent aussi en présence d'une solution de bichromate de K. à 1 %. Il s'agit de la réaction « chromaffine » typique, tout à fait spécifique, d'après LISON, des radicaux recherchés.

Nos essais nous ont amené à constater d'emblée que d'une part, lorsqu'on s'adresse à un stade déterminé du développement des plantules, la localisation des substances donnant la réaction « chromaffine » est extrêmement constante, mais que d'autre part, au cours du développement, cette localisation varie fortement. Ainsi, si on

décide de laisser l'objet à étudier pendant une heure dans l'iodate de K., on obtient, pour un même organe et pour un même stade du développement de la plante, une coloration toujours la même; tandis qu'à des stades différents, la coloration est nettement variable.

L'existence de variation de l'intensité de la réaction, en rapport avec les stades de développement, pour un même organe, nous a incité à chercher une méthode permettant de chiffrer ces variations. Nous avons été conduits à faire agir l'iodate de K. pendant un temps fixe d'une heure et à comparer les couleurs ainsi obtenues dans tel ou tel organe, pour tel ou tel stade du développement de la plantule, à une échelle de colorations arbitrairement choisies. Cette échelle est reportée sur le diagramme I en ordonnée, sous le terme : « valeur de l'indice d'intensité de la réaction chromaffine » – en abrégé, « indice chromaffine ».

L'indice « chromaffine » 40, le plus élevé de l'échelle, correspond à la coloration brune la plus foncée que nous obtenons après un séjour d'une heure dans l'iodate. On verra plus loin que cette coloration brune est celle que donnent les méristèmes radiculaires. L'indice 30 indique une coloration brune plus pâle; l'indice 20 plus pâle encore, et ainsi de suite.



N. B. — Sur ce diagramme, le 1^{er} jour est celui de la germination.

Diagramme I.

La comparaison de l'intensité de la coloration de la réaction avec l'échelle arbitraire doit avoir lieu sur fond blanc, par réflexion. On ne peut évidemment pas faire traverser la zone colorée par les rayons lumineux, car l'épaisseur variable des organes comparés entre eux (ou d'un même organe au cours de sa croissance) fausserait sans aucun doute totalement les résultats.

Il est évident que malgré ces précautions, nos estimations n'ont pas de valeur quantitative précise; il faut les considérer comme de simples indications. On peut seulement admettre que si la coloration obtenue est nettement plus foncée (par réflexion - indice « chromaffine » 40, par exemple) dans tel organe que dans tel autre, la concentration des produits réagissant est plus élevée dans le premier organe que dans le deuxième.

La méthode se justifie, à notre avis, à condition d'être conscient de ses limites. En l'utilisant, non seulement nous avons tenté de décrire la localisation des produits réagissant à la réaction « chromaffine », mais encore nous avons essayé de donner une bonne représentation de leur concentration relative à tel ou tel endroit de la plante dans le cours de son développement.

Il faut d'abord constater que, dans le fruit au repos, l'embryon ne présente pas la moindre substance donnant la réaction « chromaffine » et il en va de même au cours des sept à huit premiers jours qui suivent le semis, pendant que la graine est en train de gonfler et se prépare à germer.

La réaction se manifeste pour la première fois au moment même de la germination et seulement à un endroit bien précis : dans le méristème radiculaire qui vient de percer le péricarpe. Ce méristème brunit tout entier, bien que certaines cellules réagissent sans aucun doute plus fortement que d'autres, ainsi que le

montrerait une étude histochimique précise. L'intensité de la réaction dans le méristème est très intense et elle se situe dans notre échelle arbitraire aux environs de la valeur 40 (indice « chromaffine » = 40).

Il est extrêmement remarquable de constater que dans la suite du développement, la valeur de cet indice, dans le méristème de la racine principale, reste parfaitement constante.

De tous les organes que nous avons étudiés, seul le méristème de la racine donne, dès le moment du départ de son activité (dès la germination), une réaction « chromaffine » très intense et qui se maintient constamment au même niveau d'intensité par la suite (diagramme 1 - I - p. 116). Il en est tout autrement des autres organes.

Ainsi, par exemple, les tissus non méristématiques de la racine ne présentent plus aucune réaction « chromaffine » décelable, dès qu'ils sont différenciés. Toutefois, pendant qu'avec l'étalement de la première feuille de la plantule, les premières racines secondaires se forment, on voit se constituer dans ces tissus des zones précises à réaction « chromaffine » intense, et la néoformation des méristèmes secondaires se produire à partir de ces zones.

Des phénomènes du même genre se passent dans l'hypocotyle. Au moment de la germination, cet organe, très petit, ne réagit pas. Vingt-quatre heures plus tard, tandis qu'il commence à se libérer du péricarpe, il se colore par réaction fortement en brun. Mais, au fur et à mesure qu'il grandit, sa base brunit de moins en moins en présence de la solution d'iodate de K., si bien que trois à quatre jours après la germination, elle ne réagit pratiquement plus. De ce point de vue, elle s'identifie de plus en plus, à la partie non méristématique de la racine (diagramme 1 - II). Les choses changent au moment où un méristème

système racinaire se néoforme. Dans ce cas, on distingue, dans l'hypocotyle basal, une zone bien définie à réaction locale très forte, à l'endroit même de la néoformation.

Quant à la région du sommet de l'hypocotyle, y compris le nœud cotylédonaire, elle donne toujours une certaine réaction « chromaffine ». Ici l'intensité de cette réaction, au lieu de s'affaiblir pendant les trois/quatre premiers jours qui suivent la germination, se renforce et atteint, vers le troisième jour, une valeur très élevée (près de 40 unités de l'indice « chromaffine »). Cette valeur est un maximum, car dans la suite, l'intensité de la réaction subit, pendant l'étalement des cotylédons (jusqu'au huitième jour) une baisse assez marquée, suivie d'un redressement très net au moment de l'apparition de la première feuille et des feuilles suivantes ⁽¹⁾ (diagramme 1 -III).

De leur côté les cotylédons, complètement enfermés dans le péricarpe au moment de la germination du fruit, sont d'abord totalement aréactionnels. Bientôt, tandis que l'hypocotyle grandit et que parallèlement, ils gonflent, se libérant du péricarpe, leurs parties basales, exposées les premières à la lumière, commencent à réagir à l'iodate; petit à petit, la réaction envahit le reste des tissus cotylédonaire, de sorte que, trois à quatre jours après la germination, les cotylédons, qui commencent à s'étaler, se colorent intensément en brun. Cependant, la coloration ne se maintient pas; au contraire, elle diminue lentement avec le temps jusqu'à devenir très faible au moment où, au vingtième jour, la première feuille de la plante se présente. Tout se passe comme si, pendant ce temps, les cotylédons s'étaient en quelque sorte « vidés » tandis que le méristème racinaire (qui a donné constamment une

réaction chromaffine intense) construisait la racine principale par ses recloisements continus (diagr. 1 - IV). L'arrivée de la première feuille relaie en quelque sorte les cotylédons en tant que « source chromaffine ». Cette feuille donne en effet une forte réaction « chromaffine », en particulier dans la base du pétiole, dans les stipules et dans certains poils glandulaires (voir *Lejeunia*, t. II, fasc. 2, pp. 45-54 fig. 2, pl. 13).

La présence de la première feuille coïncide, comme nous l'avons déjà signalé plus haut, avec la formation d'un certain nombre de zones à réaction « chromaffine » bien marquées le long de la racine principale, d'où partiront des méristèmes racinaires secondaires néoformés. Et, on sait déjà que l'arrivée des feuilles suivantes, en particulier de la troisième, provoque une forte accumulation, une sorte d'engorgement au nœud cotylédonaire, à partir duquel la première racine cotylédonaire se dégage par la suite.

* * *

On distingue aisément, dans cet ensemble de faits, plusieurs périodes assez nettes :

A) *Une première période*, allant du semis jusqu'à la germination et pendant laquelle l'embryon qui gonfle, enfoncé dans le péricarpe, ne donne lieu à aucune réaction « chromaffine ».

B) *Une deuxième période*, qui va de la germination jusqu'au dégagement des cotylédons du péricarpe et au cours de laquelle les divers organes présentent successivement la réaction « chromaffine ». D'abord le méristème racinaire, puis l'hypocotyle basal, puis le nœud cotylédonaire, puis la base, enfin la totalité des cotylédons. Au terme de cette période (3^e-4^e jour après la germination), deux zones donnent la réaction « chromaffine » : d'une part, le méristème de la racine et, d'autre part, le nœud cotylédonaire avec les cotylédons.

(1) Le redressement de la courbe n'est pas indiquée sur le diagramme 1, puisque ce diagramme s'arrête au 8^e jour.

c) *Une troisième période*, caractérisée par le fait que les cotylédons présentent de moins en moins la réaction « chromaffine », tandis qu'ils s'étalent et que la racine principale croît seule, montrant quant à elle, constamment une réaction intense dans son méristème. A la fin de cette période, le nœud cotylédonaire est devenu peu réactionnel (8^e jour après la germination).

d) *Une quatrième période*, qui commence avec la croissance de la première feuille (plus de 10 jours après la germination); à ce moment, la réactivité augmente quelque peu au nœud cotylédonaire, tandis que la première feuille, par elle-même, constitue une zone réactionnelle nouvelle. En coïncidence avec l'existence de cette zone nouvelle, on voit se localiser, le long de la racine principale, quelques zones d'où vont partir des racines secondaires et qui réagissent fortement à l'iodate.

e) *Enfin une cinquième période* s'amorce après la croissance de la deuxième et de la troisième feuille, lorsqu'il se néoforme au nœud cotylédonaire, devenu de plus en plus « chromaffine », une première racine cotylédonaire (plus d'un mois après la germination).

Indiscutablement, chacune de ces périodes correspond à une étape caractérisée non seulement par le nombre et la disposition des méristèmes radiculaires en fonction, mais encore par la localisation et l'intensité de la réaction « chromaffine ».

Le rapport nous paraît net :

1. Là où fonctionne un méristème radiculinaire, il y a toujours une réaction « chromaffine » très intense.

2. Le matériel « chromaffine » cotylédonaire disparaît pendant la croissance de la racine principale unique.

3. Au contraire, l'apparition de la première feuille apportant un matériel « chromaffine » nouveau, est suivie de l'apparition de méristèmes radiculaires secondaires.

4. Enfin, l'accumulation du matériel « chromaffine » venant de la deuxième et de la troisième feuille au nœud cotylédonaire, précède l'apparition de la première racine cotylédonaire.

Nous croyons que ces faits étayent l'hypothèse de l'intervention de radicaux « chromaffines », notamment de radicaux orthodiphénols, dans le déclenchement de la rhizogenèse. Il semble même qu'on puisse désigner les feuilles comme la source de ces radicaux.

On sait que l'hypothèse de l'existence d'une hormone circulante, venant des feuilles excitant la néoformation des racines, fut proposée par BOUILLENNE et WENT (1933). Elle s'appuie sur un certain nombre de faits. Actuellement on n'a pas encore pu déterminer la nature de cette hormone circulante (*Rhizocaline mobile*, BOUILLENNE, 1949).

Peut-être reconnaîtra-t-on un jour cette hormone dans des substances portant un radical « chromaffine »... Quoiqu'il en soit, il est intéressant de rapprocher l'assertion de BOUILLENNE (1933) selon laquelle les cotylédons de *Balsamine* s'épuisent en rhizocaline pendant la croissance des racines embryonnaires, de nos observations, mettant en évidence la disparition des radicaux « chromaffines » des cotylédons pendant la croissance de la racine principale chez le Fraisier des quatre-saisons.

BIBLIOGRAPHIE

C. SIRONVAL, *Les radicaux diphénoliques en tant que constituants d'hormones réglant la néoformation des racines chez le Fraisier des Quatre-Saisons (Fragiara vesca L. var. semperflorens DUCH)*. Lejeunia, t. II, 1947, fasc. 2.

R. BOUILLENNE et F. WENT, *Recherches expé-*

mentales sur la néoformation des racines dans les plantules et les boutures des plantes supérieures. Ann. J. Bot. Buitenzorg, XLIII, 1933.

R. BOUILLENNE, *La Rhizogenèse*. Colloque international du Centre National de la Recherche Scientifique sur la Morphogenèse. Strasbourg, juillet 1949.

