



HAL
open science

**Etude de la croissance rythmique du chêne pédonculé.
Influence du système racinaire. In Edelin C. (éd.).
L'Arbre. Biologie et développement.**

Cécile Parmentier, P Barnola, Pascale Maillard, Suzanne Lavarenne

► **To cite this version:**

Cécile Parmentier, P Barnola, Pascale Maillard, Suzanne Lavarenne. Etude de la croissance rythmique du chêne pédonculé. Influence du système racinaire. In Edelin C. (éd.). L'Arbre. Biologie et développement.. L'Arbre. Biologie et développement., Hors Série. A7, p. 327-343, 1991, Naturalia Monspeliensia. hal-02959343

HAL Id: hal-02959343

<https://hal.science/hal-02959343>

Submitted on 6 Oct 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

L'ARBRE

BIOLOGIE ET DEVELOPPEMENT

Edité par
C. EDELIN

Actes du 2^{ème} Colloque international sur l'Arbre
Montpellier 10 – 15 septembre 1990

Naturalia Monspeliensia – 1991

Numéro hors série A7

Comité scientifique du Colloque

Prof. R.A.A. OLDEMAN – Wageningen (Pays-Bas)
Prof. F. HALLE – Montpellier (France)
Prof. P.B. TOMLINSON – Harvard (U.S.A.)
Prof. P. CHAMPAGNAT – Clermont-Ferrand (France)
Dr. J. GALTIER – Montpellier (France)
Dr. C. EDELIN – Montpellier (France)

Secrétariat du Colloque

J. BLANC – Laboratoire de Botanique, Montpellier

Actes publiés avec le concours du Conseil Régional Languedoc-Roussillon

Conception et mise en forme : S. BORDAGE
Collection Grenoble Sciences – Université Joseph Fourier – Grenoble 1

Couverture : dessin original de C. EDELIN

Ouvrage disponible auprès du secrétariat de la revue :

Naturalia Monspeliensia
Revue de Botanique générale et méditerranéenne
Institut de Botanique – Université Montpellier II
163 rue Auguste Broussonet, 34 000 Montpellier, France

© *Naturalia Monspeliensia*

ISSN 0-373-518-X

1991

ETUDE DE LA CROISSANCE RYTHMIQUE DU CHENE PEDONCULE, INFLUENCE DU SYSTEME RACINAIRE

C. PARMENTIER* - P. BARNOLA* - P. MAILLARD -
S. LAVARENNE*****

** Laboratoire de Biologie des Ligneux, Université Nancy I, Faculté des Sciences, B.P. 239,
54506 Vandœuvre-lès-Nancy, France*

*** Laboratoire de Bioclimatologie, INRA, Domaine de Crouelle,
63039 Clermont-Ferrand Cédex, France*

**** Laboratoire de Phytomorphogenèse, Université Clermont-Ferrand II,
63000 Clermont-Ferrand, France*

RESUME

Une façon d'aborder le déterminisme de la croissance rythmique, est d'obtenir une croissance prolongée ou continue. Nous avons, dans cette optique, modifié la nutrition minérale et utilisé un régulateur de croissance exogène. Quelle que soit la solution minérale employée la croissance n'est modifiée ni dans sa composante spatiale ni dans sa composante temporelle. Sur eau distillée, la croissance est rapidement suspendue. Elle reprend dès que les plants sont transférés sur solution nutritive. Dans ce système, la restauration des pools de nucléotides précède la reprise visible de croissance. La 6-Benzylaminopurine (6-BAP) a tendance à abolir la croissance rythmique en atténuant l'hétéroblastie et en permettant la croissance d'entre-noeuds très courts. A la suite de ces expériences, le problème de l'intervention du système racinaire est discuté.

ABSTRACT

To start on determinism of rhythmic growth, we can try to obtain a prolonged or a continuous growth. That is why we modified the mineral nutrition and we used an exogenous growth substance. Whatever the mineral solution, the temporal and the spatial components of growth are not changed. On distilled water, the growth is rapidly stopped. It starts again as soon as the nutrition is established. The replenishment of the nucleotidic pools comes before a visible growth. The 6-Benzylaminopurine (6-BAP) tends to abolish the rhythmic growth by reducing the heteroblasty and by inducing the growth of very small internodes. Then the problem of the part of roots in the rhythmic growth will be discussed.

INTRODUCTION

La croissance rythmique est le dénominateur commun à la plupart des arbres tropicaux décrits par HALLE & OLDEMAN (1970). Un nombre important d'études de la croissance rythmique concerne d'ailleurs des modèles pris dans la flore ligneuse tropicale : Hévée (HALLE & MARTIN, 1968), Cacaoyer (BORCHERT, 1973), Manguier (PARISOT, 1985), Gnetum (MIALOUNDAMA, 1985), Terminalia (MAILLARD, 1987), Guarea (MIESCH, 1990).

Dans les flores ligneuses tempérée et méditerranéenne, quelques arbres présentent un développement comparable aux arbres précédemment cités. Il s'agit notamment des Chênes dont le caractère endogène de la croissance rythmique a été démontré par LAVARENNE (1965).

Le jeune plant de Chêne pédonculé est un modèle d'étude de la croissance rythmique dont l'intérêt a été souligné (CHAMPAGNAT & al., 1986 ; BARNOLA & al., 1986). Cultivé à 25°C, jour long ou continu, en conditions non limitantes de sa croissance, son développement se caractérise par la répétition régulière suivant un axe unique orthotrope de vagues de croissance ou flushes. Chaque vague de croissance dure environ trois semaines. A une période de croissance d'environ deux semaines fait suite une période de repos d'une semaine correspondant à l'arrêt de l'élongation caulinaire.

Les flushes correspondent à des unités structurales bien définies par une hétéroblastie très nette. Chaque unité présente la succession des ensembles foliaires suivants :

- des écailles de nature stipulaire et rapidement caduques,
- des feuilles à limbe entier assimilateur, munies de stipules fins et caduques,
- des feuilles à limbe avorté qui terminent un étage et sont à la base de l'étage suivant.

Les deux composantes, temporelle et spatiale, de la croissance rythmique du Chêne pédonculé, ont été bien précisées (CHAMPAGNAT & al., 1986). De ces travaux, il faut retenir d'une part, que le repos n'est qu'apparent car l'organogenèse est continue et que d'autre part, la plus grande partie d'une vague en développement a été formée durant la croissance du flush précédent.

Notre recherche s'inscrit dans le cadre de l'étude du déterminisme de la croissance rythmique du Chêne (BARNOLA & al., 1986 ; ALATOU & al., 1989 ; ALATOU, 1990). Elle est axée plus particulièrement sur le rôle que pourraient avoir les racines dans la croissance rythmique.

Notre stratégie a consisté à étudier les conséquences de la forme azotée dominante dans la solution nutritive, les conséquences d'une privation d'éléments minéraux et les conséquences d'un apport exogène d'une cytokinine, la 6-Benzylaminopurine (6-BAP).

MATERIEL ET METHODES

MATERIEL VEGETAL

Les glands de Chêne pédonculé (*Quercus robur* L.) sont récoltés au mois d'Octobre sous un même semencier situé à Lezoux (Puy-de-Dôme). Les glands sont stratifiés dans de la vermiculite, et conservés à 1°C. Au moment de leur emploi, les semences sont débarassées de leurs enveloppes séminales et placées 24 heures sous l'eau courante. La germination est réalisée en quinze jours à la température de 16°C ($\pm 1^\circ\text{C}$) dans de la vermiculite humide. Lorsque les germinations ont une radicule qui mesure de 8 à 10 cm, elles sont transférées en chambre climatisée.

CONDITIONS DE CULTURE

Les plantules sont cultivées en chambre climatisée à 25°C ($\pm 1^\circ\text{C}$), en jour long, avec une humidité relative de 60%. L'intensité de l'éclairage émanant d'un plafond lumineux constitué de tubes fluorescents (15 tubes fluorescents répartis sur une surface de 2 m²), est de 144 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ à la base des plants.

Pour étudier l'influence de la nutrition minérale, deux solutions nutritives ont été utilisées : une solution dont la dominante azotée est le nitrate (solution INRA-MORIZET, Laboratoire de Bioclimatologie Clermont-Ferrand, dont le rapport $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+ = 4,47$), et une solution enrichie en ammonium (solution de macroéléments de MURASHIGE et SKOOG modifiée, utilisée *in vitro* par FAVRE & al. (1989) $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+ = 2,82$)

MESURES DE CROISSANCE

Les mesures régulières concernent pour les parties aériennes :

- la longueur totale des vagues de croissance,
- la longueur des entre-noeuds les constituant,
- la longueur des limbes assimilateurs.

Les mesures sont complétées par la composition en ensembles foliaires des unités de croissance. Pour les racines, les mesures concernent la longueur du ou des pivots.

EMPREINTES EPIDERMiques

La technique utilisée a été mise au point par LAROCHE (1982). Elle consiste en l'utilisation, pour réaliser des empreintes, d'un vernis transparent. Elle a l'avantage par rapport à un prélèvement d'épiderme d'être renouvelable et non traumatisante pour la plante.

Nous avons procédé à des répliques par du vernis d'entre-noeuds longs et d'entre-noeuds courts non lignifiés mais ayant atteint leur taille définitive. Les empreintes sont examinées au microscope optique. La taille des cellules est déterminée pour chacun des entre-noeuds sur des clichés photographiques.

APPORT EXOGENE DE REGULATEUR DE CROISSANCE

Le régulateur de croissance utilisé est la 6-Benzylaminopurine (6-BAP). La 6-BAP est apportée de façon continue par mèche, à la base du plant, au tout début de la vague de croissance, à une concentration élevée de 100 mg/l. et au niveau d'un bourgeon axillaire, sur un plant décapité, à concentration beaucoup plus faible de 0,1 mg/l.

ETUDES BIOCHIMIQUES

Pénétration de la DMO

La technique consiste à évaluer la pénétration dans les cellules d'un acide faible lipophile, la 5-5'-diméthylloxazolidine-2,4-dione ($2\text{-}^{14}\text{C}$) ou DMO qui traverse les membranes uniquement sous sa forme non dissociée. La sonde se dissocie à l'intérieur et à l'extérieur de la cellule selon le pH de chaque compartiment jusqu'à l'obtention d'un équilibre de diffusion. Cette technique mise au point sur des cultures de cellules d'Erable isolées (KURKDJIAN & al., 1978) fut adaptée aux parenchymes de Topinambour (GENDRAUD & LAFLEURIEL, 1983) et de

Crosne du Japon (AURIAC, 1987) et finalement, aux tissus des végétaux ligneux (Chêne pédonculé : BARNOLA & al., 1986 ; ALATOU & al., 1989 ; Châtaignier : PEZET-SI MOHAMED, 1987).

Les deux territoires étudiés sont le bourgeon apical débarassé de ses écailles et la portion d'axe sous-jacente au bourgeon. Les dosages sont effectués pour chaque stade sur trois individus différents.

Dosage des nucléotides

Le dosage enzymatique de l'ATP en présence du système luciférine-luciférase, obtenu à partir de queues de lucioles, est basé sur la bioluminescence et est réalisé d'après PRADET (1967). Les NTP sont dosés de la même façon après leur transformation préalable en ATP par la nucléoside diphosphate kinase (NDPK).

Les résultats sont exprimés en picomoles de nucléotides par microlitre d'extrait.

Les dosages sont effectués pour chaque stade sur un échantillon de six plants de Chêne.

ETUDE MATHEMATIQUE DE LA CROISSANCE

Nous avons utilisé la méthode d'ASSAAD (1985), reprise par MAILLARD (1987), sur les courbes individuelles de croissance des parties aériennes, établies à partir de relevés quotidiens.

Cette étude comporte deux phases successives : d'abord la mise en évidence des oscillations de croissance constituant le signal sans ligne de base, puis le traitement de ce signal par la méthode de Fourier.

Par cette analyse mathématique, nous pouvons disposer de la période mais aussi de l'amplitude individuelle du rythme de croissance de jeunes plants de Chêne.

EXPRESSION DES RESULTATS ET STATISTIQUES

Les expériences de croissance sont faites sur des échantillons de dix individus. Les cinétiques de croissance des parties aériennes et des pivots sont figurées par des courbes d'évolution de leurs longueurs respectives au cours du temps. L'organisation spatiale des Chênes est représentée sous forme de diagrammes mettant en regard les ensembles foliaires constitutifs des vagues de croissance et la longueur des entre-noeuds qui leur sont associés.

Les paramètres statistiques classiques (moyenne \bar{x} et écart-type s) servent à décrire les échantillons. Le test statistique d'analyse de la variance (Anova) a permis de faire toutes les comparaisons.

RESULTATS

CULTURES SUR UN MILIEU A DOMINANTE NITRIQUE NO₃⁻ ET SUR UN MILIEU A DOMINANTE AMMONIACALE NH₄⁺

Milieu à dominante nitrique

La croissance du pivot est continue alors que celle des parties aériennes se fait par vagues qui se répètent régulièrement (fig. 1.A). Sur le plan morphologique, chaque vague de croissance se caractérise par une hétéroblastie et par la présence d'entre-noeuds longs et courts répartis régulièrement (fig. 1.B).

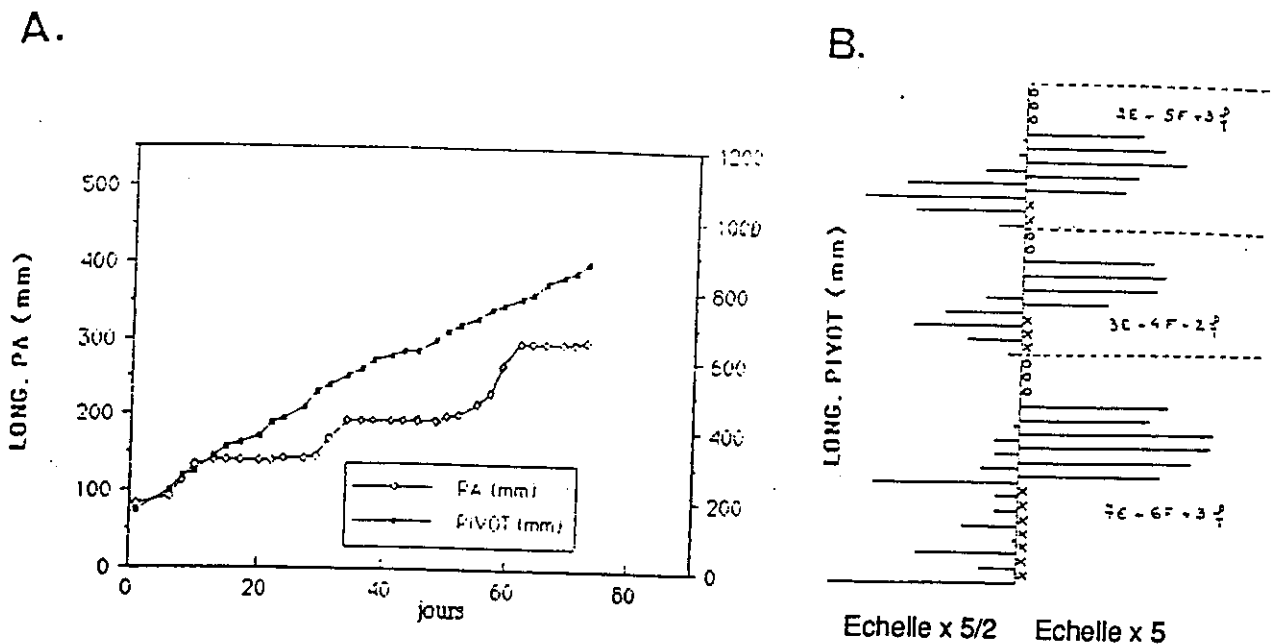


FIGURE 1

Culture en conditions uniformes sur milieu à dominante nitrique

- A. Cinétique de croissance de l'axe principal (PA) et du pivot
 B. Diagramme montrant la longueur des entre-noeuds en fonction de leur rang sur la tige (partie gauche) et la nature des ensembles foliaires avec la longueur des limbes assimilateurs (partie droite) : $x = \text{écaille}$; $o = \text{feuille à limbe avorté}$
 $7E + 6F + 3f = \text{formule de la composition d'une vague}$:
 $E = \text{écaille}$; $F = \text{feuille assimilatrice}$; $f = \text{feuille à limbe avorté}$.

Notre apport à cette connaissance a concerné les deux points suivants :

- *Analyse mathématique du rythme de croissance*

L'analyse de Fourier du rythme d'allongement de la tige (tableau 1A) met en évidence des oscillations d'une période moyenne de 24,4 jours, avec un échantillon qui se comporte de façon relativement homogène sur cette solution ($s = 1,6$). L'amplitude moyenne des oscillations est de 17,8 mm.

- *Etude épidermique des entre-noeuds longs et des entre-noeuds courts*

Lors d'une vague de croissance, les plants présentent des entre-noeuds longs et des entre-noeuds courts. Nous nous sommes demandé si les différences de longueur des entre-noeuds sont dues à une différence du nombre de cellules ou à une différence de la taille des cellules ou aux deux à la fois.

Les résultats indiquent que la longueur des cellules diffère peu quel que soit le niveau de l'entre-noeud long - niveau supérieur, médian ou inférieur - et que la longueur moyenne d'une cellule épidermique varie peu entre un entre-noeud long et un entre-noeud court (tableau 2).

Autrement dit un entre-noeud est long car il a plus de cellules qu'un entre-noeud court, et beaucoup moins parce que ses cellules sont plus grandes.

TABLEAU 1

Analyse du rythme de croissance par l'analyse de Fourier de plants cultivés sur solution à dominante nitrique (A) et sur solution à dominante ammoniacale (B)

A			B		
Plants	Période (jours)	Amplitude (mm)	Plants	Période (jours)	Amplitude (mm)
C 8	25,3	± 12,7	C 43	25,7	± 08,6
C 18	26,3	± 29,4	C 55	28,7	± 17,3
C 34	23,7	± 19,3	C 54	26,3	± 10,1
C 25	25,0	± 22,1	C 51	30,3	± 10,9
C 31	21,3	± 22,9	C 48	21,7	± 17,9
C 57	23,3	± 14,7	C 46	21,7	± 11,0
C 56	26,3	± 16,5	C 41	20,7	± 05,7
C 51	23,7	± 12,3	C 49	32,5	± 11,3
C 53	24,3	± 10,0	C 42	28,0	± 10,7
C 59	Croissance non rythmée		C 47	28,7	± 11,2
Moyenne	24,4	± 17,8	Moyenne	26,4	± 11,5
Ecart-type	1,6	± 6,3	Ecart-type	4,0	± 3,6

TABLEAU 2

Etude épidermique des entre-noeuds

Longueur moyenne des cellules épidermiques de trois zones d'entre-noeuds longs et d'entre-noeuds courts de l'axe principal.

> : niveau supérieur

m : niveau médian

< : niveau inférieur,

L : longueur de l'entre-noeud en cm,

l : longueur d'une cellule en μm - chaque valeur est la moyenne de 4 cellules répétée sur 5 rangées cellulaires.

ENTRE-NŒUD LONG	L		3,3	3,0	1,7	3,6
	l	>	50	50	35	48
		m	55	53	37	47
		<	42	56	38	45
ENTRE-NŒUD COURT	L		0,9	0,6	0,4	0,7
	l		53	44	42	45

Milieu à dominante ammoniacale

• *Croissances racinaires et aériennes*

Sur cette solution et dans notre échantillonnage, quatre types racinaires sont distingués :

- le pivot a une croissance continue et présente un système de racines latérales, qui se ramifient régulièrement. Ce système racinaire est construit sur le même modèle que celui sur solution à dominante nitrique, à l'exception près qu'il présente moins de racines latérales,
- le pivot qu'aucun obstacle ne gêne dans sa croissance, présente des courbures et il apparaît dans la partie convexe de la courbure de nombreuses racines latérales. La croissance du pivot est continue,
- le pivot avorte, est remplacé par d'autres pivots qui à leur tour avortent. Le processus se répète plusieurs fois durant la culture,
- le pivot avorte mais n'est pas remplacé. Il se développe à la place un système abondant de racines latérales.

La croissance aérienne se caractérise par la succession de phases de croissance active et de phases de repos (fig. 2). Il faut toutefois noter que pour l'individu dont le pivot a avorté jusqu'à trois fois, la croissance des parties aériennes a été perturbée puisque le bourgeon est resté 36 jours dans un état gonflé (2 mm) sans débourrer (fig. 3).

• *Analyse de Fourier*

Pour l'échantillonnage, la période moyenne est de 26,4 jours ($s = 4,0$) et l'amplitude moyenne de 11,5 mm ($s = 3,7$) (tableau 1B).

La comparaison statistique des rythmes de croissance sur les deux solutions ne met pas en évidence de différence significative. Si la période moyenne du rythme d'allongement n'est pas différente, par contre l'hétérogénéité en ce qui concerne ce paramètre est très marquée sur la solution à dominante ammoniacale ($s = 4,0$ alors que sur solution nitrique $s = 1,6$). Le deuxième paramètre du rythme, l'amplitude, est significativement différent ; les Chênes sur solution à dominante nitrique ont en moyenne plus poussé que sur solution à dominante ammoniacale.

• *Organisation spatiale*

Les vagues de croissance se caractérisent par la même hétéroblastie et la même succession d'entre-noeuds longs et d'entre-noeuds courts que sur la solution à dominante nitrique.

La comparaison statistique vague à vague des plants sur les deux solutions n'a pas mis en évidence de différence essentielle.

PRIVATION D'ELEMENTS MINERAUX : CULTURE SUR EAU DISTILLEE

Analyse morphologique

Les plants présentent un système racinaire dont le pivot devient très fin à son extrémité ($\varnothing = 0,1$ mm) et avec un système de racines latérales très développé. La croissance du pivot est continue (fig. 4A), mais elle finit par s'amoinrir, voire même s'annuler dans certains cas.

Tous les individus de l'échantillonnage ne présentent qu'une seule vague de croissance aérienne, dont l'organisation est la même que celle sur solution à dominante nitrique (fig. 4B). Ils restent ensuite à l'arrêt (fig. 4A). Lorsque de tels plants sont transférés sur solution nutritive à dominante nitrique, nous observons une reprise de la croissance aérienne (fig. 4A). Le temps de latence à la reprise est d'autant plus long que les plants sont restés plus longtemps en état de carence : en moyenne $5,5 \pm 0,53$ jours après 56 jours sur eau distillée et 12 à 14 jours pour des plants restés sur eau distillée 5 mois.

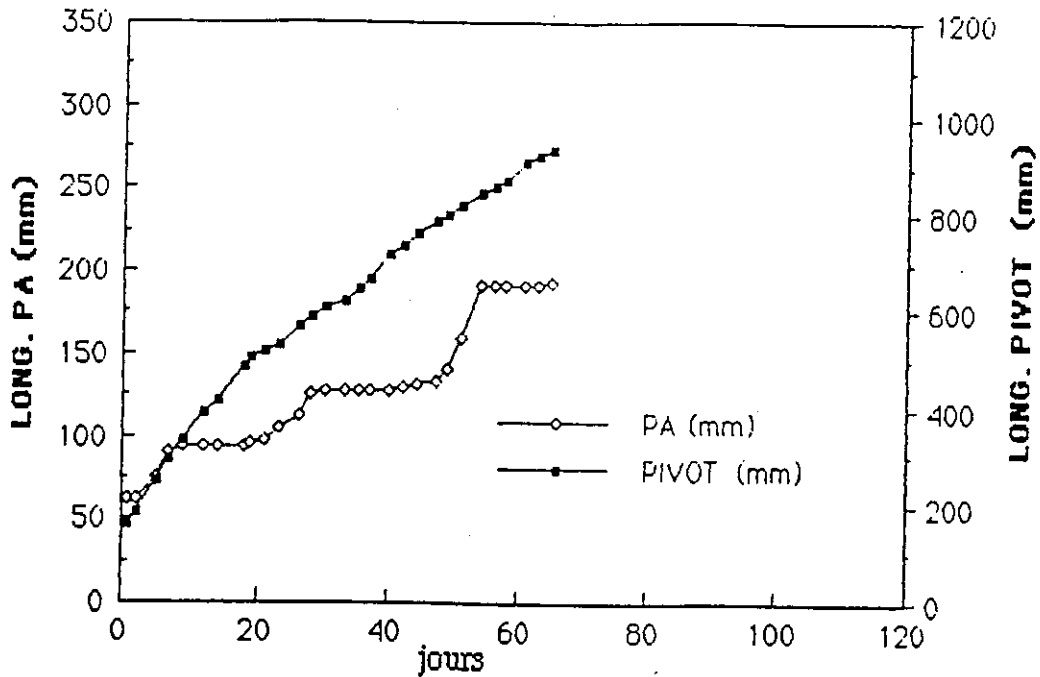


FIGURE 2

Culture en conditions uniformes sur milieu à dominante ammoniacale

Cinétiques de croissance de l'axe principal (PA) et du pivot.

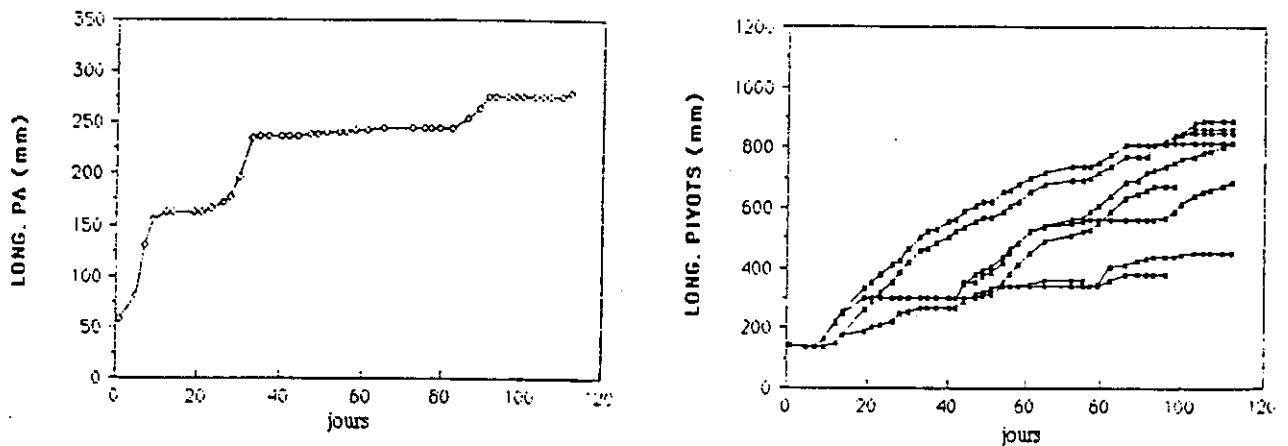


FIGURE 3

Culture en conditions uniformes sur milieu à dominante ammoniacale.

Courbes de croissance de la tige principale (PA) et des pivots successifs (voir texte)

La vague qui se développe juste après le transfert sur solution nutritive constitue un "mini-étage". En moyenne il y a réduction du nombre de feuilles assimilatrices, mais pas de leur taille par rapport aux plants témoins cultivés seulement sur solution à dominante nitrique. La vague est de petite taille (en moyenne $2,4 \pm 1,3$ cm), les entre-noeuds les plus longs ne dépassent pas 1,0 cm. Les vagues suivantes sont identiques à celles de plants témoins (fig. 4B).

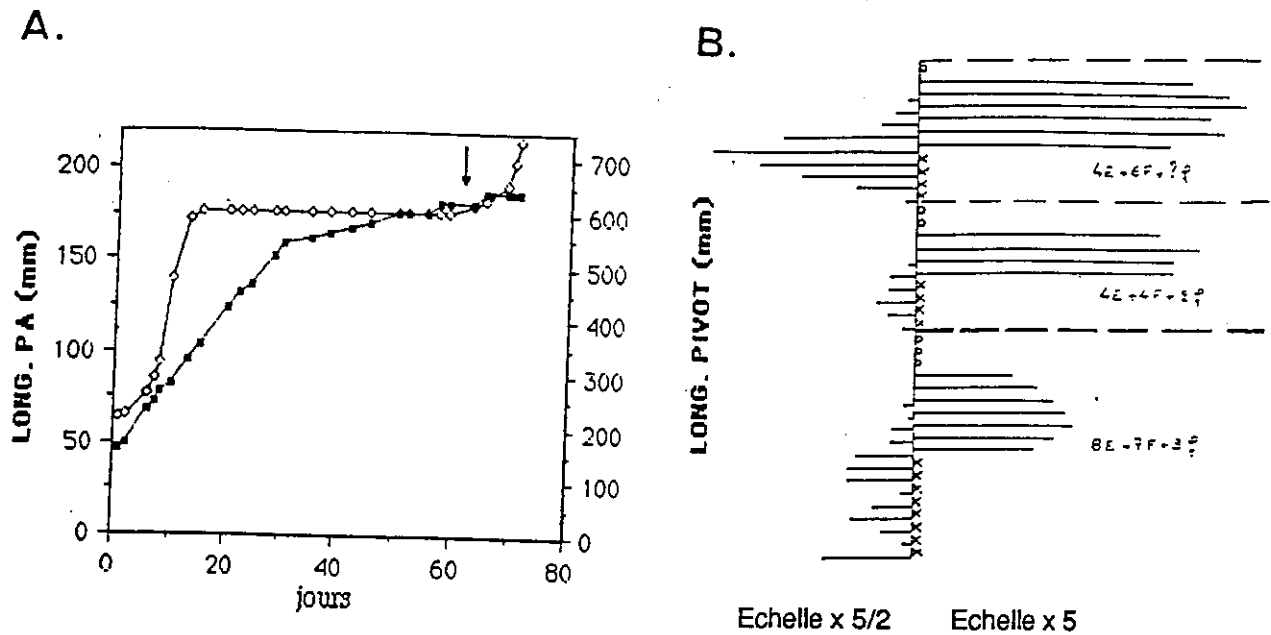


FIGURE 4

Culture en conditions uniformes sur eau distillée.

- A. Cinétiques de croissance de la tige principale (PA) et du pivot.
La flèche indique le passage de l'eau distillée sur la solution à dominante nitrique.
- B. Diagramme montrant l'organisation spatiale d'un plant dont la première vague s'est développée sur eau distillée et les suivantes sur solution nutritive.

Analyses biochimiques

• Dosage des nucléotides (fig. 5)

Au début de l'arrêt de croissance, les pools d'ATP et de NTP des bourgeons sur adénosine, sont stimulés par rapport aux témoins sur eau distillée. Cette augmentation révèle une situation favorable à la croissance du bourgeon. Pour les portions d'axe, si le pool d'ATP est augmenté après incubation sur adénosine, par contre celui des NTP ne diffère pas des témoins. Ceci signifie pour cette zone des difficultés naissantes dans l'aptitude éventuelle à la croissance.

Après sept semaines sur eau distillée, l'incubation sur adénosine ne révèle plus d'augmentation des pools dans les bourgeons. Les portions de tige sont plus affectées que les bourgeons car elles présentent une diminution importante des pools.

Lorsque les plants sur eau distillée sont transférés sur solution nutritive leur croissance reprend. Il a donc été intéressant de suivre comment les pools énergétiques étaient régénérés dans les deux territoires étudiés.

A partir de 24 heures sur solution nutritive, les bourgeons sont capables d'augmenter leurs pools. Pour les tiges, l'augmentation des pools ne se décèle qu'à partir de 48 heures.

La situation se rétablit d'abord dans les bourgeons puis dans les portions de tige sous-jacentes aux bourgeons bien avant qu'on ne décèle une croissance.

• Evaluation de la pénétration de la DMO (tableau 3)

Au début de l'arrêt, le rapport C_i/C_e du bourgeon reste en moyenne supérieur à celui de la tige sous-jacente. Après 60 jours de repos, les rapports C_i/C_e du bourgeon et de l'axe sous-jacent sont en moyenne identiques. Ils sont de plus inférieurs à ce qu'ils étaient au début de l'arrêt.

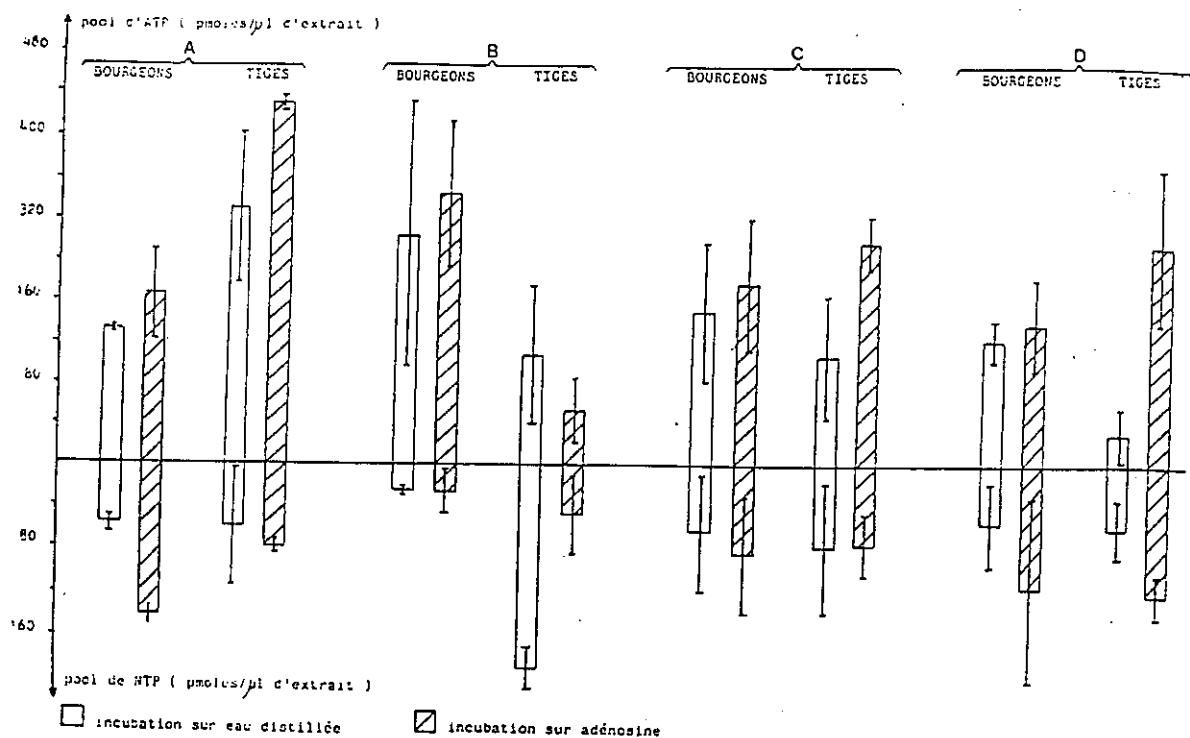


FIGURE 5

Pools d'ATP et de NTP de bourgeons et de portions d'axe sous-jacent de plants :

- A Cultivés sur eau distillée et prélevés au début de l'arrêt de croissance,
 B Prélevés après 7 semaines sur eau distillée,
 C Prélevés après 7 semaines sur eau distillée et 24 heures sur solution à dominante nitrique,
 D Prélevés après 7 semaines sur eau distillée et 48 heures sur solution à dominante nitrique.

TABLEAU 3

Evaluation de la pénétration de la DMO

Echantillon (Ech.)	Ci/Ce du bourgeon	Ci/Ce de l'axe
Plants cultivés sur eau distillée et prélevés au début de l'arrêt :		
Ech. 1	10,33	9,63
Ech. 2	13,61	4,35
Ech. 3	41,64	13,91
Moyenne	21,86 ± 17,2	9,29 ± 4,78
Plants cultivés sur eau distillée et prélevés après 60 jours d'arrêt :		
Ech. 1	3,46	2,69
Ech. 2	2,07	2,83
Ech. 3	2,76	2,51
Moyenne	2,76 ± 0,69	2,67 ± 0,16

CONSEQUENCES DE L'APPORT EXOGENE DE 6-BAP

Au niveau du bourgeon axillaire à faible concentration 0,1 mg/l

Les modifications obtenues concernent l'organisation spatiale des vagues de croissance. Les modifications observées se sont situées entre la première et la deuxième vague de croissance et ne se sont pas prolongées au-delà bien que l'approvisionnement en 6-BAP ait été continu.

Les changements se sont traduits par :

- *La disparition de l'hétéroblastie avec plusieurs cas de figure :*
 - la disparition des feuilles à limbe avorté de la première vague et des écailles du deuxième étage. Sur le plan morphologique, nous ne distinguons qu'une seule vague de croissance alors que dans le temps deux vagues de croissance se sont succédées (fig. 6A),
 - la disparition des écailles de la deuxième vague de croissance (fig. 6B),
 - le cas particulier de la succession d'une feuille à limbe avorté, d'une feuille assimilatrice et d'une écaille suivie des autres feuilles assimilatrices (fig. 6C).

- *L'allongement des entre-noeuds des feuilles à limbe avorté*

Cet allongement est plus ou moins important, de 1 mm à 1,5 cm, et concerne tous les individus qui ont conservé les feuilles à limbe avorté de la première vague cités dans le paragraphe précédent.

Chez certains individus, nous n'avons observé qu'un allongement des entre-noeuds des feuilles à limbe avorté sans modifications dans la succession des différentes pièces foliaires (fig. 6D).

Au niveau du bourgeon terminal à forte dose 100 mg/l

Sur l'ensemble de l'échantillon, par rapport aux témoins, la BAP a eu pour effet sur la deuxième vague de croissance, de diminuer le nombre d'écailles et d'augmenter le nombre de feuilles et le temps de croissance. Pour la troisième vague, aucune différence significative n'est mise en évidence quant à sa composition. Par contre, le repos est augmenté et il y a même pour certains individus formation d'un bourgeon écailleux.

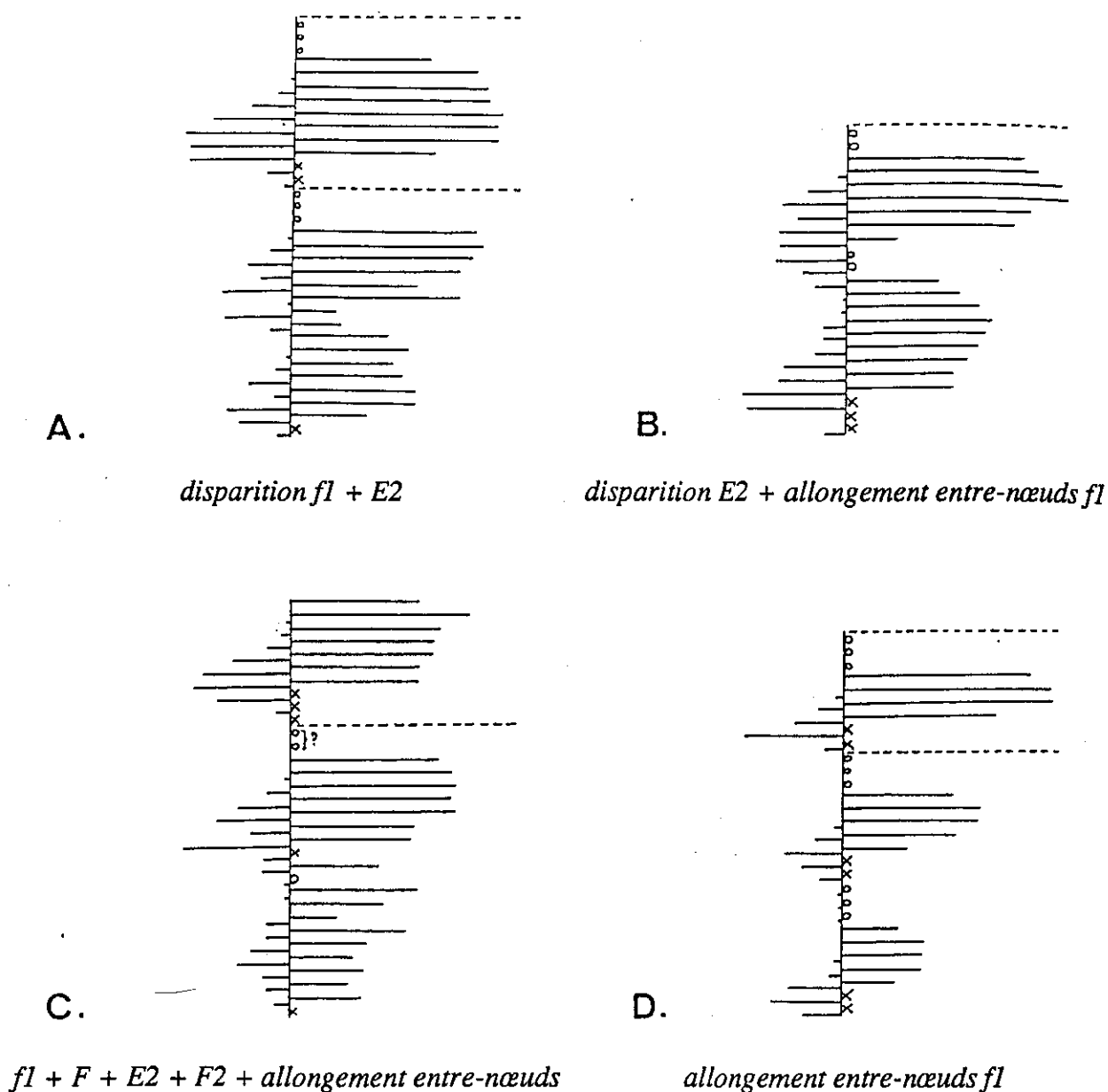
D'autre part, nous retrouvons un des effets produit par la BAP à faible dose sur les bourgeons axillaires, à savoir l'allongement des entre-noeuds des feuilles à limbe avorté.

DISCUSSION – CONCLUSION

1. *Dans des conditions uniformes non limitantes du développement à 25°C (±1°C) jour long, la croissance du Chêne pédonculé est rythmique quelle que soit la forme dominante de l'azote, nitrique ou ammoniacale, donnée aux racines.*

Sur la solution à dominante nitrique, la croissance rythmique du Chêne pédonculé avait été décrite à plusieurs reprises de façon précise (LAMOND, 1976 ; PAYAN, 1982 ; BARNOLA & al., 1986 ; CHAMPAGNAT & al., 1986 ; ALATOU & al., 1989 ; ALATOU, 1990). L'essentiel de nos résultats est tout à fait conforme aux travaux cités.

Nous apportons deux précisions nouvelles. La première concerne la période et l'amplitude du rythme de croissance de l'axe aérien, données par la méthode de Fourier. La période est proche de celle fournie d'ailleurs par CHAMPAGNAT & al. (1986).



E = écaille ; F = feuille assimilatrice ; f = feuille à limbe avorté ; 1 = 1ère unité ; 2 = 2ème unité.

FIGURE 6

Injection de BAP par mèche, à la dose 0,1 mg/l., au niveau d'un bourgeon axillaire sur un plant décapité. L'effet de la BAP s'est traduit par :

- La disparition des feuilles à limbe avorté de la 1ère vague et des écailles de la 2ème. Les feuilles de la 2ème unité suivent immédiatement celles de la 1ère.*
- La disparition des écailles de la 2ème vague et l'allongement des entre-nœuds des feuilles à limbe avorté de la 1ère unité.*
- Un cas particulier : à une feuille à limbe avorté a succédé une feuille puis les écailles et les feuilles de la 2ème vague.*
- L'allongement des entre-nœuds des feuilles à limbe avorté sans modifications de l'hétéroblastie.*

Il s'agit, selon la terminologie donnée par MILLET & MANACHERE (1982), d'un rythme de basse fréquence mais qui s'avère beaucoup plus rapide que ceux déterminés sur le Terminalia (MAILLARD, 1987) et le Mandarinier (EL-MORSY, 1989). La relative rapidité du rythme de croissance du Chêne pédonculé est l'un des intérêts de l'espèce pour l'étude du problème fondamental de la croissance rythmique (LAVARENNE & al., 1971 ; CHAMPAGNAT & al., 1986). La deuxième précision, importante pour approcher le déterminisme du rythme de croissance, concerne les caractéristiques cellulaires des entre-nœuds longs et courts qui composent une vague de croissance. Il est bien connu qu'une déficience de longueur des entre-nœuds peut résulter de situations très différentes sous-tendues par des mécanismes eux-aussi différents. Il ressort de nos résultats que l'inhibition de croissance aboutissant à des entre-nœuds courts affecte le nombre de cellules. Ce résultat se rapproche des résultats obtenus avec les mêmes méthodes sur le Terminalia (MAILLARD, 1987), pour lequel les entre-nœuds les plus longs sont ceux qui présentent le plus grand nombre de cellules. Dès lors, la question qui se pose est de savoir si le signal d'inhibition de l'allongement des entre-nœuds est de même nature que celui qui va provoquer la formation des feuilles à limbe avorté donc celui qui déclenche l'hétéroblastie. La réponse à cette question est essentielle car la formation des entre-nœuds courts précède l'apparition des feuilles à limbe avorté.

Des résultats récents obtenus en culture *in vitro* successivement avec la Bruyère (VIEMONT, BEAUJARD, 1983 ; VIEMONT, 1984 ; CONGARD & al., 1986) et le Chêne pédonculé (FAVRE, JUNCKER, 1989), montrent un effacement de la croissance rythmique lorsque l'azote est dominant dans le milieu de culture sous la forme ammoniacale. Il faut remarquer que dans la culture *in vitro* de Bruyère, il n'y a pas de régulateurs de croissance et que les plantules s'enracinent, et qu'en culture *in vitro* de Chêne, des croissances prolongées sont décrites en absence de racines et en présence d'un cal.

Une solution nutritive à dominante ammoniacale donnée à des plantules de Chêne pédonculé, est stressante pour les premiers stades de développement des plants issus de semences, mais la croissance rythmique est maintenue. L'analyse de Fourier montre que la période moyenne n'est pas significativement différente de celle de plants cultivés sur solution à dominante nitrrique. Pourtant le système racinaire est affecté par l'excès d'azote ammoniacal, ce que traduisent des réactions morphologiques diverses. Seule la période de repos peut être multipliée par un facteur quatre lorsque les pivots avortent successivement jusqu'à trois fois.

L'hétéroblastie subsiste sans accentuation du nombre d'ensembles foliaires à limbe avorté et du nombre d'écaïlles.

Autrement dit, l'apport renforcé en azote ammoniacal ne nous apparaît pas être un facteur susceptible de s'opposer efficacement à la croissance rythmique chez le Chêne pédonculé.

2. ***La privation nutritionnelle réalisée à la suite d'une culture sur eau distillée dans des conditions non limitantes du développement, à 25 °C jour long, suspend temporairement la croissance. La reprise de croissance aérienne dès que l'apport en sels minéraux est établi, est rapide et rythmique, même si le stress appliqué est long.***

L'état de repos obtenu est typiquement un état de quiescence long incapable de se transformer dans les conditions de culture employées en état de dormance.

Les travaux les plus récents concernant les effets de privation nutritionnelle, sont ceux qui ont été réalisés sur des cultures de cellules isolées d'Erable privées de source carbonée (ROBY & al., 1986). Dans les deux systèmes de carence, les pools de nucléotides triphosphates diminuent progressivement au cours de la carence. L'instauration d'une nutrition minérale entraîne chez le Chêne pédonculé, après un temps de latence court, la restauration des pools nucléotidiques. Cette restauration des pools est antérieure à la reprise

visible de la croissance. Il faut noter que cet état de quiescence est surtout marqué par la difficulté à réguler le pool des nucléotides dans la zone axiale sous-jacente au bourgeon terminal. Cette situation a été décrite chez le Frêne en situation de pré-dormance (LAVARENNE & al., 1982). Le développement ne peut reprendre que lorsque cette situation est surmontée. Enfin, cet état de quiescence long s'accompagne d'une acidification temporaire des deux territoires.

Deux remarques sont intéressantes à formuler parce que ayant trait à des stratégies de développement qui pourraient éventuellement se retrouver avec d'autres ligneux.

La première est que le développement racinaire prédomine sur le développement aérien, qui est rapidement bloqué par la carence extrême subie. Il y a même une exacerbation du nombre des ramifications sous forme de racines latérales fines, situation favorable à une éventuelle mycorhization.

La deuxième est que nous sommes en présence d'une espèce dont les semences sont bien connues pour leur faible durée de vie (LAMOND, 1976 ; LEVERT, 1982). Or il apparaît que la plantule peut survivre longtemps à des conditions de développement momentanément défavorables sans qu'un réel état de dormance ne soit instauré. Ne s'agirait-il pas là d'une situation pouvant être retrouvée chez des espèces ligneuses émettant de grosses semences à durée de vie limitée ?

3. *La 6-Benzylaminopurine (6-BAP) abolit l'hétéroblastie, la composante du rythme de croissance la plus difficile à modifier, et provoque un allongement des entre-noeuds courts, notamment de ceux associés aux feuilles à limbe avorté.*

Ce résultat est obtenu aussi bien à forte concentration qu'à faible concentration.

A dose élevée, la croissance de la vague est prolongée dans le temps avec augmentation du nombre de feuilles produites. La durée d'action de la 6-BAP est limitée dans le temps et correspond vraisemblablement au temps de sa pénétration et de sa circulation effective dans la plante.

La plus faible concentration correspond à celle employée conjointement à un milieu à dominante ammoniacale et qui permet d'obtenir une croissance prolongée en culture *in vitro*. Nos essais donnent les mêmes résultats que la 6-BAP, soit en solution, dans le milieu à dominante ammoniacale ou dans le milieu à dominante nitrique.

Dans notre système, il apparaît dès lors que l'effacement de la croissance rythmique obtenu est à rapporter aux effets de la 6-BAP.

Si l'attention sur l'importance des cytokinines vis-à-vis de la croissance rythmique avait été soulignée en premier lieu par CHAMPAGNAT & al. (1986) avec le Chêne pédonculé, MAILLARD (1987) avec le *Terminalia*, leur accorde aussi une importance particulière. Les premiers auteurs étaient sensibles à son action sur l'hétéroblastie et le second sur la modulation de la longueur des entre-noeuds.

Il n'est pas impossible que les mises en place d'entre-noeuds courts et d'ensembles foliaires à limbe avorté soient à rapporter à un déficit momentané en cytokinines. Comme la croissance est rythmique, cela supposerait des variations rythmiques endogènes de ces régulateurs. Des variations saisonnières de la teneur en cytokinines de la sève brute ont été décrites (SMITH & SCHWABE, 1980) et il n'est pas impossible qu'elles existent à l'échelle d'une vague de croissance dans nos conditions de culture.

Enfin il faut encore souligner que si la 6-BAP tend à abolir les manifestations du rythme, elle peut provoquer un blocage apical de la croissance ultérieure dans un certain nombre de cas (60% de l'échantillonnage). La situation est contradictoire et difficile à interpréter. Elle avait aussi été soulignée par CHAMPAGNAT & al. (1986).

4. Les racines interviennent dans l'expression de la croissance rythmique. En sont-elles l'élément déterminant ?

Le problème n'est pas nouveau et avait déjà été soulevé par DOSTAL (1967).

Il faut également rappeler que le système racinaire avait été plus ou moins directement privilégié dans les hypothèses basées sur des disponibilités en eau variables au cours de l'élaboration d'une vague de croissance (HALLE & MARTIN, 1968 ; BORCHERT, 1975 ; VOGEL, 1975b).

Les résultats obtenus avec une nutrition minérale différenciée et une absence d'éléments minéraux, montrent que les racines sont liées à l'expression du rythme de croissance chez de jeunes plants de Chêne pédonculé. De plus en culture *in vitro*, la croissance est toujours rythmique quand les plants de Chêne pédonculé sont enracinés alors que, lorsque les plants présentent un cal, la croissance rythmique peut être abolie (FAVRE & JUNCKER, 1989). Compte tenu des résultats procurés par la 6-BAP, nous serions tentés de présenter le système racinaire comme une composante importante dans le déterminisme de la croissance rythmique en tant que source de régulateurs de croissance.

En fait, nous devons rappeler que des éléments essentiels du déterminisme de la croissance rythmique sont dans les corrélations à très courte distance engagées dans la partie apicale de la pousse entre le méristème, les jeunes feuilles en croissance et la zone axiale (BARNOLA & al., 1986 ; CHAMPAGNAT & al., 1986 ; ALATOU & al., 1989). Aussi dans l'état actuel de nos recherches, nous formulons l'hypothèse d'une interaction entre le système racinaire et les différents territoires que nous avons cités.

En résumé avoir le contrôle des corrélations à courte distance, corrélations qui sont soumises au fonctionnement du système racinaire, permettra d'avoir le contrôle de la croissance rythmique.

BIBLIOGRAPHIE

ALATOU D., 1990 – Recherches sur le déterminisme de la croissance rythmique du Chêne : *Quercus pedunculata* Ehrh., *Quercus mirbeckii* Durieu, *Quercus suber* L. Etude morphologique, biochimique et écophysiological – Thèse Doct. ès Sc. Nat., Univ. Constantine, Algérie, 109 p.

ALATOU D., BARNOLA P., LAVARENNE S. et GENDRAUD M., 1989 – Caractérisation de la croissance rythmique du Chêne pédonculé – Plant Physiol. Biochem., 27(2) : 275-280.

ASSAAD C., 1985 – Organisation temporelle de la Tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill. cv. Ace) au cours de sa croissance et de son développement – Thèse Doct. ès Sc. Nat., Univ. Franche-Comté, 148 p.

AURIAC M.C., 1987 – Contribution à l'étude de la pénétration des sucres dans les cellules accumulatrices chez le Crosne du Japon (*Stachys sieboldi* Miq.) – Thèse Doct. Biol. Physiol. Vég., Univ. Clermont-Ferrand II, 138 p.

BARNOLA P., CROCHET A., PAYAN E., GENDRAUD M., LAVARENNE S., 1986 – Modifications du métabolisme énergétique et de la perméabilité dans le bourgeon apical et l'axe sous-jacent au cours de l'arrêt de croissance momentané de jeunes plants de Chêne – Physiol. Vég., 24(3) : 307-314.

- BORCHERT R., 1973 – Simulation of rhythmic tree growth under constant conditions – *Physiol. Plant*, 29 : 173-180.
- BORCHERT R., 1975 – Endogenous shoot growth rhythms and indeterminate shoot growth in oak – *Physiol. Plant*, 35 : 152-157.
- CHAMPAGNAT P., PAYAN E., CHAMPAGNAT M., BARNOLA P., LAVARENNE S., BERTHOLON C., 1986 – La croissance rythmique de jeunes Chênes pédonculés cultivés en conditions contrôlées et uniformes – in : *L'Arbre*, 1er Colloque International, Montpellier 9-14 sept. 1985, *Naturalia Monspeliensia* n° h.s. : 303-337.
- CONGARD B., BEAUJARD F., VIEMONT J.D., 1986 – Les Bruyères *in vitro*. VI. Croissance de *Calluna vulgaris* sur milieu strictement nitrique ou ammoniacal et cinétique du pH en fonction du développement des plantes – *Can. J. Bot.*, 64 : 959-964.
- DOSTAL R., 1967 – On integration in plants – Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts.
- EL-MORSY A.A., MILLET B., 1989 – Analyse de la croissance rythmique du Mandarinier commun (*Citrus deliciosa* Tenore) cultivé en conditions constantes – *Fruits*, 44(1) : 21-27.
- FAVRE J.M., JUNCKER B., 1989 – Variation in expression of episodic growth on *in vitro* cultured shoots of oak (*Quercus robur* L.) – *Ann. Sci. For.*, 46 suppl. : 206s-210s.
- GENDRAUD M., LAFLEURIEL J., 1983 – Caractéristiques de l'absorption du saccharose et du tétraphénylphosphonium par les parenchymes de tubercules de Topinambour dormants et non-dormants, cultivés *in vitro* – *Physiol. Vég.*, 21 : 1125-1133.
- HALLE F., MARTIN R., 1968 – Etude de la croissance rythmique de l'Hévéa (*Hevea brasiliensis* Mull. Ay. Euphorbiacées crotonoïdés) – *Adansonia*, 2(8) : 475-503.
- HALLE F., OLDEMAN R.A.A., 1970 – Essai sur l'architecture et la dynamique de la croissance des arbres tropicaux – in : *Monographie Bot. et Biol. Végét.*, Masson et Cie, Paris, 1 vol., 178 p.
- KURKDJIAN A., GUERN J., 1978 – intracellular pH in higher plant cells. Improvement in the use of the 5-5' diméthylloxazolidine (2-¹⁴C) dione distribution technic – *Plant Sc. (Lett.)*, 11 : 337-344.
- LAMOND M., 1976 – Dispositif de culture de plantes entières en caisson sous brouillard nutritif en usage à Clermont-Ferrand – in : *C.R. des Séminaires du groupe d'étude des racines*, éd. Gagnaire-Michard J. et Riedacker A., Grenoble, 2 : 6-33.
- LAROCHE J., 1982 – Nouvelle technique d'empreintes du matériel végétal. I. Etude des surfaces épidermiques et des tissus internes – *Rev. Gén. Bot.*, 89 : 173-181.
- LAVARENNE-ALLARY S., 1965 – 1ère thèse : Recherche sur la croissance des bourgeons de Chêne et de quelques autres espèces ligneuses. 2ème thèse : Propositions données par la faculté – Thèse Doct ès Sc. Nat., Faculté des Sciences de Clermont-Ferrand, 200 p.
- LAVARENNE S., CHAMPAGNAT P., BARNOLA P., 1971 – Croissance rythmique de quelques végétaux ligneux de régions tempérées cultivés en chambres climatisées à température élevée et constante et sous diverses photopériodes – *Bull. Soc. Bot. Fr.*, 118 : 131-162.

- LAVARENNE S., CHAMPCIAUX M., BARNOLA P., GENDRAUD M., 1982 - Métabolisme des nucléotides et dormance des bourgeons chez le frêne - *Physiol. Vég.*, 20(3) : 371-376.
- LEVÉRT J., 1982 - Contribution à l'étude de la physiologie de la germination du Chêne pédonculé (*Quercus robur* L.) - Thèse 3ème cycle, Univ. Clermont-Ferrand : fascicule 1 : texte et tableaux, 163 p., fascicule 2 : figures.
- MAILLARD P., 1987 - Etude du développement végétatif du *Terminalia superba* Englers et Diels en conditions contrôlées : mise en évidence du rythme de croissance - Thèse 3ème cycle, Univ. Paris VI, 204 p.
- MIALOUNDAMA F., 1985 - Etude de la croissance rythmique chez le *Gnetum africanum* Welw - Thèse Doct. d'Etat, Univ. Orléans, 156 p.
- MIESCH R., 1990.- Morphogenèse de deux espèces à feuilles composées pennées, *Guarea guidonia* L. Sleumen (Méliacée) et *Lycopersicum esculentum* Miller cv. (Solanacée) ; potentialités exprimées et enseignements phylogénétiques - Thèse Doct. ès Sc. Nat., Univ. Strasbourg, 165 p.
- MILLET B., MANACHERE G., 1982 - introduction à l'étude des rythmes biologiques - Thèmes Vuibert Université Biologie, Paris, 1 vol, 88 p.
- PARISOT E., 1985 - Etude de la croissance rythmique chez les jeunes Manguiers (*Mangifera indica*) - Thèse Doct. Spécialité 3ème cycle, Univ. Clermont-Ferrand II, 156 p.
- PAYAN E., 1982 - Contribution à l'étude de la croissance rythmique chez de jeunes Chênes pédonculés (*Quercus pedunculata* Ehrh.) - Thèse 3ème cycle, Univ. Clermont-Ferrand II, 102 p.
- PEZET-SI-MOHAMED Y., 1987 - Caractérisation des potentialités morphogènes du Chataîgnier (*Castanea sativa* Miller). Distribution et possibilités de translocation des réserves insolubles et solubles associées à des gradients de pH intracellulaire - Thèse d'Univ., Univ. Clermont-Ferrand II, fascicule 1 : texte, 62 p., fascicule 2 : figures.
- PRADET A., 1967 - Etude des adénosines 5' mono, di- et tri-phosphates dans les tissus végétaux. I. Dosage enzymatique - *Physiol. Vég.*, 5 : 209-211.
- ROBY C., MARTIN J.B., BLIGNY R. et DOUCE R., 1986 - Biochemical changes during sucrose deprivation in higher plant cells - *The Journal of biological Chemistry*, 262(11) : 5000-5007.
- SMITH D.J. et SCHWABE W.W., 1980 - Cytokinin activity in oak (*Quercus robur* L.) with the particular reference to transplanting - *Physiol. Plant.*, 48 : 27-32.
- VIEMONT J.D., 1984 - Les Bruyères *in vitro*. III. Dynamisme de la croissance rythmique chez l'*Erica x darleyensis*. Etude du développement des feuilles et des entre-noeuds - *Can. J. Bot.*, 62 : 246-250.
- VIEMONT J.D. et BEAUJARD F., 1983 - Les Bruyères *in vitro*. II. Variation de l'élongation et de l'organogénèse lors de la croissance rythmique chez *Erica x darleyensis* - *Bull. Soc. Bot. Fr.*, 130 : 317-324.
- VOGEL M., 1975b - Recherche du déterminisme du rythme de croissance du Cacaoyer - *Café, Cacao, Thé*, 19 : 265-290.