UNIVERSITÉ DE LILLE - FACULTÉ DES SCIENCES

MÉMOIRE PRÉSENTÉ EN VUE DE L'OBTENTION DU

DIPLOME D'ETUDES SUPERIEURES
DE SCIENCES NATURELLES



CONTRIBUTION A L'ÉTUDE

DU DÉVELOPPEMENT DE RACINES

DE SCORSONÈRE CULTIVÉES "IN VITRO"

SOUTENU A LILLE EN NOVEMBRE 1963

PAR GUY VASSEUR





50376 1963 24

Mémoire présenté à la Faculté des Sciences

de l'Université de Lille

pour obtenir le Diplôme d'Etudes Supérieures de Sciences Naturelles

par

VASSEUR. Guy

Ier sujet : Contribution à l'étude du développement de racines de Scorsonère cultivées "in vitro".

2ème sujet : Proposition donnée par la Faculté.



Soutemu en novembre 1963, devant la Commission d'Examen.

Messieurs les Professeurs HOCQUETTE Président

Examinateurs. LINDER

INTRODUCTION.

De très nombreux travaux ont été consacrés aux cultures de racines (racines isolées ou racines de plantes entières), ainsi qu'aux repiquages de fragments sansapex. Néanmoins, aucun, à notre connaissance, ne se rapporte aux racines de Scorsonère. C'est pourquoi il nous a paru intéressant de vérifier, dans un premier chapitre, certains phénomènes connus et d'étudier en particulier la croissance de ces racines, en relation avec leur structure histologique, en présence de divers facteurs phytohormonaux.

Les racines de Scorsonère conservant assez longtemps en culture "in vitro" une structure" primaire", il était également intéressant d'effectuer, dans un second chapitre, des cultures de fragments sans apex et d'étudier dans quelles mesures des fragments de racines grêles étaient susceptibles de proliférer, de manifester des phénomènes de callogenèse.

Après un historique sommaire et l'exposé des techniques utilisées, nous exposerons dans la seconde partie de ce mémoire les résultats expérimentaux que nous avons obtenus. Enfin dans une troisième partie, nous comparerons ces résultats à ceux de nos devanciers et nous tenterons d'en dégager quelques considérations générales.

Ce travail a été réalisé au laboratoire de Physiologie végétale de l'Institut de Botanique de Lille, sous la direction de Monsieur le Professeur BOURIQUET auquel j'exprime toute ma gratitude pour l'excellente initiation à la recherche qu'il me donne comme pour la bienveillante compréhension qu'il manifeste à mon égard.

J'ai l'honneur d'adresser mes remerciements empressés à Monsieur le Professeur HOCQUETTE, Directeur de l'Institut de Botanique présidant le jury d'examen ainsi qu'à Monsieur le Professeur LINDER qui a bien voulu accepter d'en faire partie.

I'exprime également ma gratitude à Monsieur RAMBOUR qui m'a initié aux techniques de laboratoire et à Monsieur MONTUELLE à qui je dois la qualité des nombreuses photographies qui illustrent ce mémoire. Je remercie enfin tous ceux qui contribuent à divers titres à créer l'ambiance de travail sympathique que j'apprécie.

PREMIERE PARTIE.

CHAPITRE PREMIER - HISTORIQUE.

Nous envisagerons successivement la culture de des racines puis l'influence de divers facteurs de croissance sur les aspects suivants du fonctionnement du végétal : croissance de la racine, morphologie et structure histologique de la racine, rhizogenèse.

I - La culture des racines :

C'est ROBBINS (1922) qui le premier réussit à cultiver pendant plusieurs mois des racines isolées; la même année OTTE adopte pour des cultures de racines de Pois et de Mais la solution de KNOP.

ROBBINS, pour le Maîs, emploie le milieu de PFEFFER et GAUTHERET (1932) met au point, pour des racines de Blé, un milieu que FIEDLER (1936) utilise pour les racines de Maïs en y ajoutant une solution d'oligo-éléments.

C'est WHITE (1934) qui décrivit la première technique permettant la culture indéfinie des racines. WHITE avait d'abord utilisé en 1932, le milieu d'USTENSKI & USPENSKAJY (1925) pour cultiver

des racines de Blé; en 1934, il adoptait pour la culture indéfinie des racines de Tomate, un milieu légèrement différent. Voici, à titre d'exemple, exposée sommairement la méthode de WHITE: on réalisera tout d'abord des germinations aseptiques. Les milieux (liquides ou solides) sont préparés comme pour les cultures de tissus. Les racines sont sectionnées avec des instruments flambés et stériles et on laisse tomber les fragments sur le milieu de culture.

NAGAO (1936) en montrant que les racines isolées, cultivées "in vitro", fabriquent d'assez grandes quantités d'auxines, explique pourquoi on peut cultiver des racines isolées en l'absence de substances de croissance.

BONNER & ADDICOTT (1937) adoptent le milieu de WHITE pour des racines de Pois. ROBBINS & WHITE (1936), ROBBINS & SMITH (1938) reprennent pour des racines de Tomate le milieu de PFEFFER qu'ils modifient. BONNER & DERIVIAN (1939) mettent au point un milieu qui convient à plusieurs types de racienes.

Des modifications ont été apportées à ces techniques, entres autres par ELTINGE & REED (1940), GLASSTONE (1947) et BOLL & STREET (1951).

II - Action des facteurs phytohormonaux sur la

croissance des racines :

De très nombreux travaux ont été consacrés à l'étude de la croissance des racines en présence d'acide β indolyl-acétique ou autres substances de croissance.

Parmi les premières recherches consacrées à cette question, il nous faut mentionner les essais de CHOLODNY (dès 1926), BUNNING (1928), JANSE (1929), NIELSEN (1930), GORTER (1932), NAVEZ (1933), BOYSEN-JENSEN (1933, etc...

Dès 1934, KOGL, HAAGEN-SMIT & ERXLEBEN montrent que l'allongement de racines d'Avena est inhibé par l'acide indolyl-acétique (A.I.A.), cette inhibition est d'autant plus forte que la concentration est plus élevée.

En 1936, LANE, travaillant également sur des racines d'Avoine, établit une courbe où le pourcentage de l'élongation est exprimé en fonction de la dose d'A.I.A. utilisée. La même année AMLONG introduit l'idée d'une stimulation aux faibles concentrations en montrant que des racines de Vicia Faba décapitées trois heures avant d'être plongées dans la solution d'A.I.A. peuvent pré-

senter une stimulation de croissance pour des doses égales ou inférieures à 10°9 M.

Les recherches de DUHAMET (1939, 1946) effectuées sur la racine de Lupin confirment cette action aux très faibles doses.

Plus récemment, STREET, Mc GREGOR & SUSSEX, obtiennent, sur des racines isolées de Tomate et après sept jours de culture, une inhibition complète pour une concentration en A.I.A. de 10^{-6} g/ml. L'augmentation de longueur à 5 x 10^{-9} g/ml atteint presque 90% de l'allongement des témoins. A 10^{-10} et 10^{-11} ces auteurs observent tantôt une très légère stimulation, tantôt une inhibition peu marquée. A 10^{-12} l'accroissement est d'environ 105% par rapport aux témoins.

A la suite de ces recherches différents tests physiologiques pour le dosage de l'auxine, ont été proposés, tant sur les racines entières que sectionnées.

MOEWUS (1948, 1949) et ABERG (1950, 1953, 1954) utilisent respectivement des racines de Lepidium sativum et de Linum.

ASHBY (1951) et LARSEN (1953) décrivent un test basé sur l'emploi des racines d'Artemisia

absinthium.

PILET (1951, 1953) propose l'emploi des racines de Lens culinaris et constate que les réponses à un traitement par des substances de croissance dépendent de l'âge des racines.

BURSTROM (1942, 1949, 1950, 1953), LEXANDER (1953) et HANSEN (1954) utilisent des racines de Trieticum sativum. WURGLER (1960) constate que les racines de Triticum vulgare peuvent présenter une stimulation de l'allongement pour des concentrations égales ou inférieures à 10⁻⁹ M d' anaphtyl-acétate de Na et 10⁻⁸ M et 2,4-dichlorophénoxy-acétate de Na.

En 1952, ZELLER & GRETSCHY effectuent des recherches sur les racines de diverses plantes (Lin, Colza, Froment, etc ...). Le test racine de Concombre se révèle être le plus sensible.

AUDUS & SHIPTON (1952), AUDUS & TRESH

(1953) et AUDUS & GARRARD (1953), utilisent des sections de deux millimètres, prélevées sur des racines de Pisum sativum à deux millimètres de la pointe. L'allongement évalué après vingt-quatre heures et comparé à une courbe étalon permet de déterminer la teneur en A.I.A. du milieu de culture.

La méthode de LEOPOLD & GUERNSEY (1953)

porte également sur des racines de Pisum sativum

(fragments de dix millimètres), l'allongement étant

mesuré après vingt-quatre heures.

PILET, KOBR & SIEGENTHALER (1960) proposent diverses modifications qui améliorent très nettement la sensibilité du test de PILET.

III - Action des facteurs de croissance sur la morpho-

logie et la structure histologique des racines :

Le nombre des publications consacrées à ce sujet est immense.

Les observations anciennes relatives aux troubles anatomiques provoqués par l'application de substances de croissance sont le plus souvent disparates et contradictoires (BEAL, 1951); elles ont porté essentiellement sur la description des grosseurs induites par des composés auxiniques (ZIMMERMANN & WILCOXON, 1935; BROWN & GARDNER, 1936). FISCHNICH (1935) semble être le premier à avoir précisé l'action histologique de l'A.I.A. sur l'accroissement de la taille des cellules du parenchyme, la division des cellules cambiales et

plane (195I) KRAUS, 3,5% d'A.I.A. ou d'un autre composé auxinomimétique E N Mirabilis ene STR sur Iserine, de BEAL SCA propos Phas (1935)contenant depart de de d e observafaite modifications histologiques de STRUCKMEYER BLUM (1941) seclus, de BORTHWICK, HAMNER & PARKER (1937) section SUL ete sont réalisées de CASTAN (1937) et SCOTT (1938) sur Pisum, 0 nouveaux vaisseaux. CZAJA travail Sal 646 comme le point de Sur Helianthus, de PALSER (1942) sur Vicia, & KRAUS (1937) par ces applications. Citons à C es lanoline sur la HAMMER (1938) les recherches systématiques premiers travaux a considérer le devalent confirmer sur Brassica, de e autres par CHOUARD (1949) et applique ದ Généralement les expériences Solanum, de HARRISON (1937) 40Ö HAMNER décapitées une pate BROWN & HAMNER (1936) sur Lilium, de faut S S фe 9 façon suivante : L'analyse de ces formation de (1938)-H recherches (1935)analyse tions, Mais GOLDBERG SNOW voquées (1938)

sensibiplus D plus structure, présenteront e set réagissent une က တ d'autant plus nets que la différenciation précise que les effets tissus vis-a-Vis des substances de croissance tissus qui termes; les évolués du point de vue - C en d'autres lité moindre, Parmi BEAL (I951) faible;

plus à un traitement auxinique et qui sont la plupart du temps peu différenciés, il faut citer les assises à fonction cambiogène (cambium, phellogène et péricycle) dont la réaction est essentiellement une hyperplasie, et les parenchymes, qui subissent des processus de dédifférenciation et une hypertrophie.

Il est extrêmement difficile de dégager des innombrables observations histophysiologiques, des critères d'action suffisamment généraux, tant il y a d'exceptions et de cas particuliers dans les faits accumulés ces vingt dernières années. PILET a néanmoins tenté d'en faire une synthèse. Quoique trop schématique, nous nous permettons de la reproduire dans le tableau I.

Tableau I : action des composés auxiniques sur les principaux tissus végétaux.

Cas généraux.

Tissus		Réac- tions.	Nature de la ré- ponse.
	E piderme	+	légère hypertro- phie.
	Suber	+	Gonflement des pa- rois, accroisse- ment du nombre des assises.
Ecorce	Phellogène	++	hyperplasie.
	Parenchymes (ext.	+ +	hypertrophie hyperphasie et dé- différenciation.
	End od erme	+	faible hyperplasie.
	Péricycle	+ + +	forte proliféra- tion, naissance des racines adventives.
	Liber	+	Faible hypertro- phie.
	Parenchyme libé⇔ rien	++	hyperplasie, dif- férenciation.
Cylindre	Cambium	+++	Forte hyperplasie
central	Bois I	+	Faible ®
	Bois II	+ +	Diamètre et nombre des vaisseaux aug- mentés.
	Parenchyme li- gneux	+ +	hyperplasie, diffé- renciation.
	Rayons médullais res	+++	forte hyperplasie d'amas cellulaires à caractères méris- tématiques, naissan-
	Moëlle	+++	ce de vaisseaux. formation de cal, naissance de traché des.



Bien souvent on voit apparaître, parallèlement aux excroissances signalées plus haut, de nombreuses formations adventives. Le phénomène est suffisamment important pour faire l'objet d'un paragraphe spécial.

IV - Action des facteurs de croissance sur la formation des radicelles :

La stimulation par 1ºA.I.A. de la formation des racines est un fait clairement établi depuis les recherches classiques de LAIBACH, MÜLLER et SCHAFER (1934), FISCHNICH (1935), HITCHCOCK (1935), ZIMMERMANN & WILCOXON (1935), etc ...

Plus récemment, le rôle de 1ºA.I.A. dans la rhizogenèse a été indiscutablement prouvé par de nombreux auteurs et en particulier par THIMANN (1936), TORREY (1950, 1956), STREET, Mc GREGOR et SUSSEX (1954), PILET (1954), PILET & MARGOT (1955), CHARLES & STREET (1959), pour ne citer que les recherches effectuées sur des racines isolées.

A côté de l'A.I.A., d'autres substances de croissance se sont montrées capables d'agir sur la rhizogenèse. THIMANN & KOEPFLI (1935) sont parmi les premiers à avoir démontré que des substances MANN (1937) ont pu montrer que des glucides comme le saccharose et la biotine interviennent dans la formation des racines.

Il faut mentionner également à ce propos les expériences de VAN OVERBEEK, GORDON & GREGORY (1946). Ces auteurs ont observé que l'acide & indolyl-butyrique stimule la formation des racines, qui peut être activée encore par certains composés azotés comme l'arginine, la choline et la sérine. L'action activatrice du saccharose est également, dans cette série d'expériences, confirmée. OSBORNE mentionne l'activité rhizogène relativement forte de l'acide 2,4,5- trichloro-phénoxy-acétique, de l'acide «-(2- chlorophénoxy) - n-butyrique ainsi que d'autres dérivés de l'acide butyrique et de certains dérivés de l'acide propionique. Utilisant des plantules de Phaseolus, LUCKWILL (1956) note que l'acide a naphtyl-acétique est nettement plus actif que l'A.I.A. en ce qui concerne la formation de racines, alors que le \(\beta \) indolyl-acétonitrile est moins actif que lºA.I.A.

Les diverses observations mettent bien en évidence le pouvoir d'organisation considérable des auxines.

CHAPITRE SECOND - TECHNIQUES.

Tout notre travail a été réalisé à partir des graines de Scorzonera hispanica, la Scorsonère commune (Salsifis noir), variété "géante noire de Russie".

I - Techniques biologiques :

A) Stérilisation et germination des graines :

Les graines de Scorsonère sont stérilisées par une solution d'hypochlorite de calcium à 35g/l. Le temps de stérilisation est court : 3 à 5mn suffisent.

Contrairement aux autres graines, les graines de Scorsonère ne doivent pas être préalablement lavées à l'alcool; un passage même rapide empêche presque toute germination.

Après stérilisation, on introduit aseptiquement les graines dans des boîtes de Pétri
(une dizaine en moyenne par boîte de Pétri) stérilisées à l'autoclave, garnies d'une couche de
coton hydrophile humide recouvert de papier filtre. Il est inutile de rincer les graines, le

chlorure de chaux perd ses propriétés toxiques par carbonatation au contact du gaz carbonique de l'air.

Les boîtes de Pétri sont placées à l'obscurité, dans une étuve réglée à 25-27°C.

B) Milieu de culture :

Des cultures de racines isolées ont été tentées sur milieu liquide (dans des fioles de Fourneau) mais la croissance des racines de Scorsonère y était pratiquement nulle.

De ce fait, toutes les cultures ont été réalisées sur milieu solidifié par la gélose. La concentration en gélose ne doit pas être trop élevée
(0,7%), afin que les racines, principalement l'apex, ne soient pas lésées lors de l'ensemencement.
La croissance des racines de Scorsonère est plus
importante sur milieu gélosé que sur milieu liquide (la gélose jouant certainement un rôle de chélateur), néanmoins cette croissance reste lente;
elle est nettement plus faible que celle des racines de Tomate ou de Pois où l'allongement peut
atteindre IO à 30mm par jour sur milieu témoin.
Le milieu de Street n'est pas pleinement satis-

faisant pour les racines de Scorsonère bien qu'il convienne parfaitement au développement "in vitro" des tissus provenant de racines secondaires. Il serait intéressant de préciser les conditions d'obtention d'un milieu convenable, mais ces rechereches auraient débordé le cadre de ce diplôme.

Les racines témoins ont été cultivées sur un milieu contenant (tableau II) comme sels minéraux les macroéléments préconisés par STREET, les microéléments de la solution de BERTHELOT modifiée par GAUTHERET (IO gouttes de cette solution ont été ajoutées pour 3 litres de milieu de culture); comme élément carboné 2% de saccharose; ainsi que divers acides aminés et vitamines proposés par plusieurs auteurs (WHITE, STREET, etc...)

A ce milieu nous avons ajouté divers autres facteurs de croissance tels que l'acide indolylacétique (A.I.A.), l'acide naphtylacétique (A.N.A), l'acide 2,4-dichlorophénoxy-acétique (2,4-D), la kinétine et l'acide gibbérellique. En général on prépare une solution mère à la concentration de 10^{-3} g/ml (sauf pour la kinétine qui n'est soluble dans l'eau chaude qu'à partir de la concentration de 10^{-4} g/ml) à partir de laquelle on obtient les concentrations plus faibles 10^{-5} et 10^{-6} , et à partir de ces dernières 10^{-7} , 10^{-8} et 10^{-9} .

Tableau II : milieu de culture utilisé pour les racines de Scorsonère.

e	
Io- Sels miněraux :	ermone state of the California State of
a) Macro-éléments : (NO3)2 Ca, H20	222mg/l
so ₄ Mg, 7 H ₂ 0	738mg/l
NO3K	80mg/1
Cl K	65mg/l
SO ₄ Na ₂	200mg/l
PO ₄ H ₂ Na,H ₂ O	19mg/1
b) Microéléments (solution de Berth	elot modifiée
par Gautheret):	
Sulfate ferrique Sulfate de manganèse IK Chlorure de nickel Chlorure de cobalt Sulfate de titane Sulfate de zinc Sulfate de cuivre Sulfate de glucinium Acide borique SOLH (66° Baumé) Rau distillée q.s.p.	50g 2g 0,5g 0,05g 0,05g 0,20g 0,10g 0,05g 0,05g 10g 1 litre.
2°- Elément carboné : Saccharose	2%
3°- Vitamines et acides aminés : Vitamine B _I Pyridoxine Acide nicotinique Glycocolle (ou glycine)	0, Img/l 0, Img/l 0, 5mg/l 3mg/l
4º Gélose:	0,7%

Les milieux sont répartis dans des tubes et stérilisés à l'autoclave (20 minutes à 0,5 atmosphère). Tous les facteurs de croissance employés, sauf l'acide gibbérellique, sont thermostables et peuvent être ajoutés au milieu avant autoclavage. L'acide gibbérellique, stérilisé par l'éther sulfurique, sera ajouté par contre après autoclavage du milieu de culture.

C) Ensemencements primaires :

Nous avons réalisé d'une part des cultures de plantules entières et d'autre part des cultures de racines isolées.

Io - Mise en culture des racines de plantules :

Les conditions d'aseptie sont celles décrites par GAUTHERET.

Lorsque les racines ont environ 5mm de long (après quatre ou cinq jours), en se servant de pinces à branches souples, on transporte chaque plantule dans un tube et on enfonce légèrement sa radicule dans la gélose.

Pour réduire les risques d'infection on ne prend pas plus de trois ou quatre racines par boîte de Pétri, indépendamment de la nécessité de ne

prélever que des racines présentant le même développement.

20 - Mise en culture des racines isolées :

On procède toujours aseptiquement.

Les racines ne sont prélevées qu'au bout de six ou sept jours de germination, les radicules ont alors I,5 à 2cm de long. On sectionne chaque racine à environ Icm de l'extrémité apicale en prenant soin de ne pas léser le méristème apical. Chaque extrémité ainsi prélevée est enfoncée aux 3/4 dans la gélose, l'apex au milieu.

D) Repiquages :

Nous avons été amenés à repiquer sur un milieu neuf les racines obtenues selon la méthode qui vient d'être décrite. Ces repiquages avaient pour but de vérifier si la culture prolongée de racines isolées modifiait ou non la structure histologique des racines; ils permettaient aussi d'étudier dans quelles mesures des fragments de racines grêles étaient susceptibles de proliférer, de manifester des phénomènes de callogenèse pouvant être à l'origine de véritables cultures de tissus.

Au premier passage, les racines isolées sont maintenues en culture pendant quatre semaines.

Ensuite, lors du repiquage, nous avons prélevé au maximum sur chaque racine, quatre fragments (voir schéma ci-dessous): les fragments 2 et 4 sont réservés à l'étude histologique; les fragments I et 3 servent aux repiquages.

Icm: étude histologique

I,5cm: repiquage (fragment sans apex)

Icm: étude histologique

Icm: repiquage (fragment avec apex)

Io - Repiquage de fragments avec apex :

La technique est identique à celle de mise en culture des racines isolées.

Au premier passage I5 racines isolées, pour chaque concentration, ont été maintenues en culture pendant quatre semaines. Puis I2 racines par lot ont été sectionnées à Icm de l'apex et les extrémités (fragments I) repiquées sur des milieux neufs. Aux fortes concentrations où elles n'atteignaient pas cette longueur les racines furent repiquées entières.

La durée du second passage était de six semaines.

20 - Repiquage de fragments sans apex :

- Dans une première série d'expériences, lors du premier passage, les racines isolées ont été maintenues pendant quatre semaines dans le milieu témoin (0) et dans le milieu de culture contenant un facteur de croissance (A.I.A. ou kinétine) aux concentrations de IO-9 et IO-8g/ml. Douze fragments de I,5cm (fragments 3) sont simultanément repiqués sur le milieu témoin et des milieux contenant différentes concentrations (allant de IO-9 à IO-5) du même facteur phytohormonal. Six explantats sont repiqués normalement, c'est-à-dire face foliaire vers le haut et face radiculaire dans le milieu; et six autres sont placés en position inverse. Ainsi, lors des repiquages, dix-huit combinaisons de douze explantats sont réalisées.
- Dans une seconde série d'expériences, lors du premier passage, les racines isolées sont maintenues pendant quatre semaines dans le milieu témoin (0). Douze fragments de I,5cm (fragments 3) sont simultanément repiqués sur des milieux contenant 10^{-7} ou 10^{-6} g/ml d'A.I.A. combinés à différentes concentrations de kinétine (allant de 10^{-9} à 10^{-5}).

E) Conditions de culture

d'éconstante Pour éviter une évaporation trop intense O papier pièce capuchonnés au moyen de a est maintenue dans I'obscurité, température aCC) 22 °C . tain et placés, sont ed ed ىد © tabes dont 200 entre ture Les

II - Techniques histologiques

plue C. est compor te classique, par LANGERON; elle در س 0 methode employee decrite El el phases. technique sieurs d

Io - Fixation et déshydratation

pro a a s'effectue, de BOUIN, pendant 24 heures fixation du matériel er of or mol

l'alcool éthylisont déshydratés progressivement dans l'alenfin absolu. CL. 06 400° 1,910001 €00° å 70°, puis dans l'alcool échantillons lavés passages dans La sa trois C000 dne

2° - Inclusion

dans On chasse l'alcool, qui imprègne l'objet sont passés paraffine en en xylène ou le toluène. Les objets solvant de déshydraté, par un

plusieurs bains successifs jusqu'à ce qu'ils scient parfaitement translucides.

Les échantillons sont alors transportés dans un mélange de xylène et de paraffine (à l'é-tuve à 54-56°), puis dans trois bains de paraffine pure.

L'inclusion définitive et le moulage se font alors sur barres de LEUCKART.

3° - Coupes :

Avec un microtome de MINOT, on pratique des coupes dont l'épaisseur est de l'ordre de 20-30 p . Les coupes sont collées sur des lames porte-objets par la méthode classique à la gélatine.

4° - Coloration et montage :

Après déparaffinage et réhydratation, les coupes sont traitées par la double coloration au bleu de méthylène aluné et au rouge de ruthénium.

Elles sont déshydratées ensuite rapidement à l'alcool, passées dans le xylène et montées enfin dans le baume de Canada.

III - Expression des résultats :

A) Ensemencements primaires:

Les racines ont été cultivées pendant six semaines. Toutes les moyennes (allongement, nombre de radicelles) ont été réalisées sur des lots de douze racines.

Io - Morphologie des racines :

Je me suis efforcé de noter le moment d'apparation des réactions engendrées par les divers facteurs phytohormonaux employés (excroissances, ramifications, etc ...).

J'ai de plus relevé le nombre de ces ramifications après six semaines de culture.

20 - Longueur des racines :

L'allongement des racines de Scorsonère étant faible nous n'avons mesuré l'allongement de ces racines que toutes les semaines.

Pour la représentation graphique, j'ai porté en abscisse la concentration (en g/ml) du facteur phytohormonal et en ordonnée la longueur moyenne des racines (en cm).

3º - Structure histologique des racines :

Les racines ont été fixées puis incluses

dans la paraffine après les temps de culture suivants : deux, quatre et six semaines.

Les coupes obtenues permettront de suivre, en relation avec l'étude morphologique, l'évolution de la structure anatomique des racines.

B) Repiquages:

Io - Fragments avec apex :

Nous avons procédé, durant le second passage qui durait six semaines, comme pour les ensemencements primaires.

2º - Fragments sans apex:

Les premier et second passages durent chacun quatre semaines.

A la fin du second passage nous avons vérifié si les fragments repiqués (fragments 3) portaient ou non un cal. Le moment d'apparition du
cal n'est pas toujours évident; c'est pourquoi
j'ai préféré attendre plusieurs semaines pour juger de la prolifération.

Corrélativement nous avons effectué des coup
pes, d'une part lors du repiquage (sur les frage
ments 2 et 4) et d'autre part à la fin du second

passage (sur les fragments 3). Ces coupes nous permettront de contrôler la structure histologique, éventuellement d'établir une relation avec la callogenèse.

DEUXIEME PARTIE - RESULTATS EXPERIMENTAUX.

CHAPITRE TROISIEME - ENSEMENCEMENTS PRIMAIRES.

I - Action de l'acide indolyl-acétique (A.I.A) :

Comme cela avait été observé plusieurs fois l'auxine agit sur l'aspect morphologique des racines, leur longueur et leur structure anatomique.

A) Aspect morphologique des racines :

Io - Racines de plantules entières :

En présence de 10^{-9} et 10^{-8} g/ml d'A.I.A. on n'observe pas de modifications, même après six semaines de culture. Les racines gardent un aspect comparable à celui des racines témoins.

Dès la concentration de 10⁷ g/ml on remarque la présence, sur quelques racines, d'assez nombreuses ramifications et de rares excroissances (planche I). Les radicelles qui apparaissent dès la première semaine s'allongent normalement, comme sur les racines témoins et peuvent atteindre trois à quatre centimètres après six semaines de

culture. Une des excroissances est apparue dès la première semaine, mais la plupart ne furent nettement visibles qu'au bout de deux et même trois semaines.

En présence de 10⁻⁶ et 10⁻⁵ g/ml d'A.I.A.

les modifications déjà signalées en présence d'une
dose plus faible se généralisent (photographie I).

Les radicelles sont très nombreuses (tableau III),
mais elles restent très petites et sont boursouflées. Toutes les racines portent désormais de très
grosses excroissances qui apparaissent dès la première semaine; à leur niveau se produit souvent un
décollement des tissus, un véritable éclatement
de la racine qui s'exfolie par lambeaux.

2º - Racines isolées :

En présence de 10^{-9} et 10^{-8} g/ml d'A.I.A., les racines isolées présentent un aspect comparable à celui des racines témoins.

Aux plus fortes concentrations, l'action de l'A.I.A. est beaucoup moins marquée sur les racines isolées que sur les racines de plantules. On n'observe ni gonflement, ni éclatement des racines (planche II); l'action rhizogène est peu marquée (tableau IV).

Planche I

Aspect morphologique des racines de plantules de Scorsonère cultivées en présence d'A.I.A. pendant 6 semaines





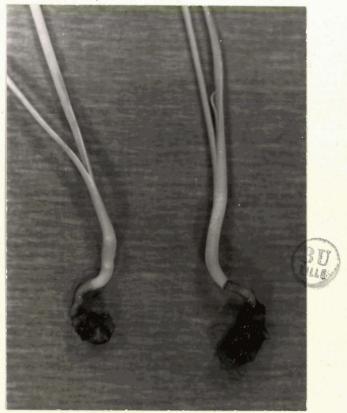
A, i, A, = 10^{-6} g/ m L



Tableau III - Ramifications des racines de plantules de Scorsonère cultivées pendant
six semaines en présence d'A.I.A.

(moyennes effectuées sur I2 plantules).

Concentration en A.I.A. (en g/ml)	0	Io	10-8	IOT	10 ⁻⁶
Nombre de ra- dicelles.	I,65	I,70	1,40	2,40	2,68



Photographie I : Aspect des racines de plantules

de Scorsonère cultivées pendant

4 semaines en présence de IO-6g/ml

d'A.I.A.

En présence de IO 7g/ml,d!AJ.A. seules quelques racines portent de légères excroissances qui ne sont d'ailleurs visibles qu'après trois semaines de culture.

A la concentration de 10^{-6} g/ml, les racines sont nettement épaissies et présentent à certains niveaux des excroissances plus ou moins nettes. Celles-ci n'existent généralement plus à 10^{-5} où les racines prennent une couleur rouille ou brunâtre; à cette dose, la toxicité de l'A.I.A. est déjà marquée.

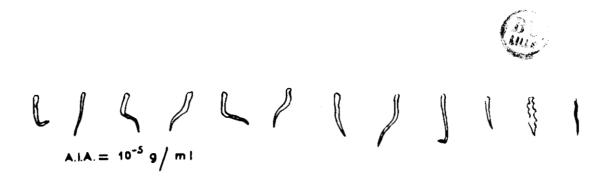
Tableau IV : Ramifications des racines isolées de Scorsonère cultivées pendant six semaines en présence d'A.I.A.

(moyennes effectuées sur I2 racines).

Concentration en A.I.A. (en g/ml)	0	10-9	10-8	10-7	BU
Nombre de ra- dicelles.	0	0,10	0,16	0,25	

Planche II

Aspect morphologique des racines isolées de Scorsonère cultivées en présence d'A.I.A. pendant 6 semaines

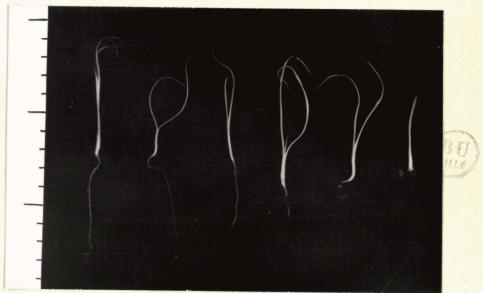


B) Croissance des racines :

La croissance des racines de Scorsonère est lente (tableaux V et VI); nous avons déjà sou-levé ce problème dans les techniques.

Néanmoins on peut noter que les racines de plantules se développent beaucoup mieux que les racines isolées ce qui confirme l'échec que j'ai pu enregistrer en milieu liquide.

Les résultats obtemus (figure I; photographie 2) confirment l'effet inhibiteur, bien connu,
de l'auxine sur la croissance des racines. Cette
action est très prononcée à 10⁻⁵ et 10⁻⁶, mais elle est déjà sensible à 10⁻⁹.



Photographie 2: Longueur comparée des racines de plantules de Scorsonère sur le milieu témoin (0) et en présence de 10⁻⁹, 10⁻⁸, 10⁻⁷, 10⁻⁶ et 10⁻⁵g/ml d'A.I.A pendant quatre semaines. Chaque petite division de l'échel-

Tableau V : Action de l'A.I.A sur la croissance des racines de plantules de Scorsonère.

Longueur moyenne exprimée en centimètres.

(moyennes effectuées sur des lots de I2 raccines).

Concentration en AIA (en g/m)		O	10-9	10-8	10-7	10-6	10 ⁻⁵
	[I	2,75	2,70	I,80	I,35	1,25	1,10
Temps de	2	4,90	4,30	2,80	I,70	1,30	I,30
culture (en se-	3	5,55	4,55	3,60	1,85	I,35	1,30
maines)	4	6,35	5,15	3,90	2,90	I,45	I,35
	6	II,70	8,25	6,55	4,90	1,80	I,40



Tableau VI: Action de l'A.I.A. sur la croissance des racines isolées de Scorsonère.

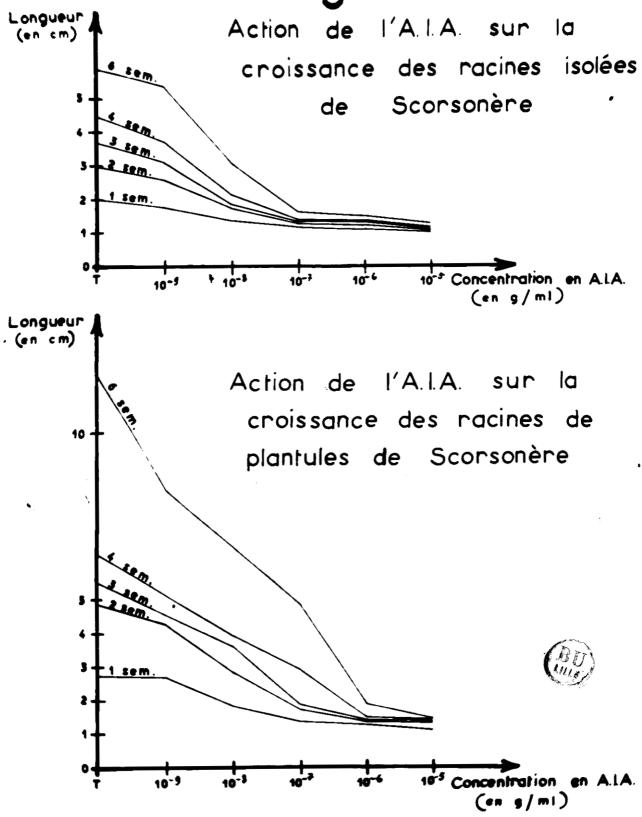
Longueur moyenne exprimée en centimètres.

(moyennes effectuées sur des lots de I2 racines).

0	Concentra- tion en A.I.A. (en g/ml)	0	10-9	10 8	10-7	10-6	10 ⁻⁵
	¶I.	I,95	I,75	I,35	1,15	1,10	I,05
-	Temps de 2	2,95	2,55	I,70	1,25	I,30	I,10
	culture 3	3,65	3,10	I,85	I,35	I,35	1,15
	maines) 4	4,45	3,70	2,10	I,40	1,40	1,20
	6	5,85	5,35	3,05	I,65	I,55	I,30



Figure 1



C) Structure anatomique des racines :

Les coupes effectuées après quinze jours, trente jours et quarante-cinq jours montrent une structure pratiquement constante du cylindre central; ceci s'explique par le fait que la racine de Scorsonère cultivée "in vitro" sur le milieu de STREET s'accroît en longueur, mais non en épaisseur. Nous avons toujours observé une structure "primaire" de Dicotylédones avec généralement quatre pôles de xylème et de phloème (photographie 3), exceptionnellement cinq.

Les principales modifications intéressent l'écorce.

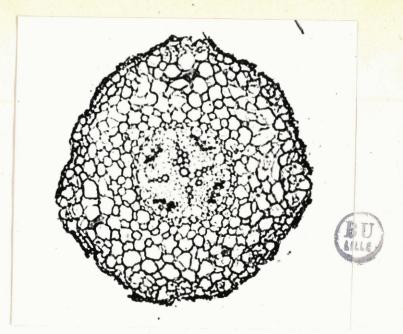
Io - Racines de plantules entières :

Chez les témoins, l'écorce comprend de l'extérieur vers l'intérieur (photographie 3) : l'assise pilifère, l'assise subéreuse, le parenchyme cortical qui, par ses grandes cellules à paroi cellulosique mince laissant entre elles des méats, occupe la plus grande partie de l'écorce, et l'endoderme.

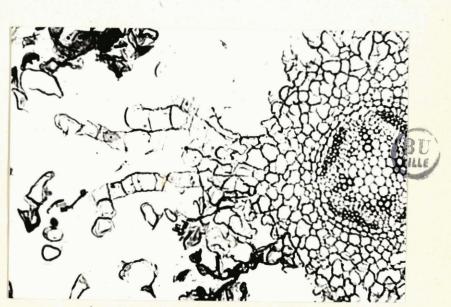
En présence de 10^{-9} et 10^{-8} g/ml d'A.I.A. les racines montrent une structure identique à celle des témoins; il en est de même pour la plupart

des racines cultivées en présence de 10⁻⁷g/ml d'A.I.A. (photographie 5).

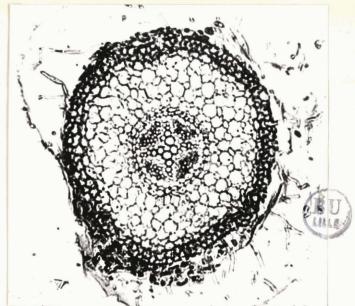
Par contre aux concentrations de 10^{-6} et 10^{-5} g/ml d'A.I.A, les racines montrent (comme ceci avait déjà été noté parfois en présence de 10^{-7}) des excroissances plus ou moins volumineuses (photographies 4, 6, 7 et 8) dues à l'hypertrophie du parenchyme cortical dont les cellules s'allongent radialement. Sur certaines coupes on observe après quatre semaines de culture et à la concentration de 10^{-6} (photographie 9) des cellules parenchymateuses ayant une disposition radiale très typique. Cette hypertrophie s'accompagne souvent d'une désorganisation et d'une "desquamation" des cellules les plus externes.



Photographie 3 : Coupe transversale pratiquée dans une racine de plantule de Scorsonère cultivée sur le milieu témoin (o) pendant 6 semaines.



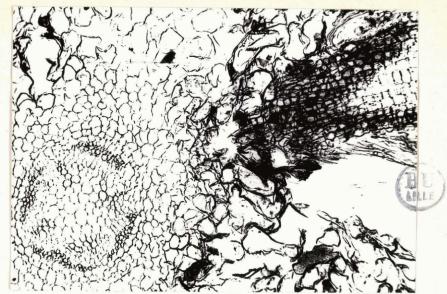
Photographie 4: Coupe transversale pratiquée dans une racine de plantule de Scorsonère cultivée en présence de IO 7g/ml d'A.I.A. pendant 6 semaines montrant l'allongement des cellules corticales dans le sens radial et leur dissociation.



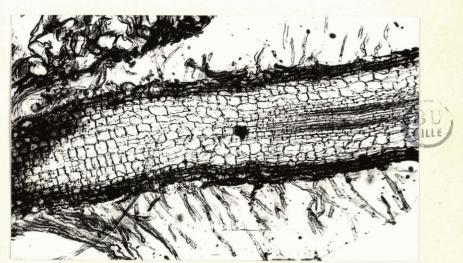
Photographie 5 : Coupe transversale pratiquée dans une racine de plantule de Scorsonère cultivée en présence de IO 7g/ml d'AIA pendant 6 semaines.



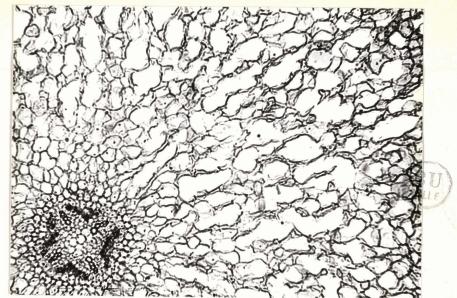
Photographie 6 : Coupe transversale montrant la formation d'une radicelle sur une racine de plantule de Scorsonère cultivée en présence de IO-7g/ml d'AIA pendant 6 semaines.



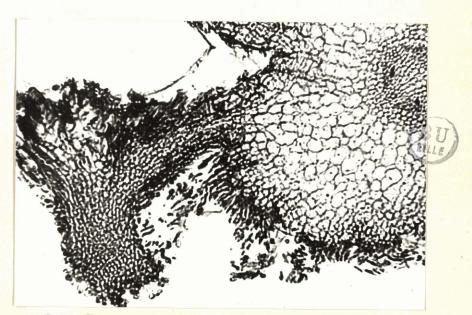
Photographie 7: Coupe transversale pratiquée dans une racine de plantule de Scorsonère cultivée en présence de IO 7g/ml d'AIA pendant 6 semaines montrant la dissociation des cellules corticales et le départ d'une radicelle.



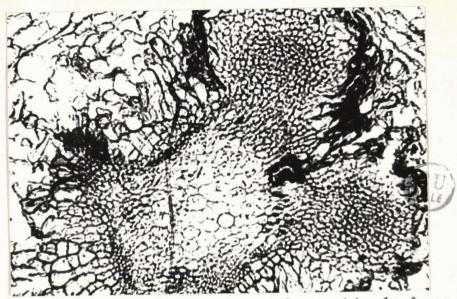
Photographie 8 : Coupe longitudinale d'une radicelle chez une racine de plantule de Scorsonère cultivée en présence de 10⁻⁷g/ml d'AIA pendant 6 semaines.



Photographie 9: Coupe transversale pratiquée dans une racine de plantule de Scorsonère cultivée en présence de IO-6 g/ml d'AIA pendant 4 semaines montrant la disposition radiale des cellules corticales.



Photographie IO: Coupe transversale pratiquée dans une racine de plantule de Scorsonère cultivée en présence de IO g/ml d'AIA pendant 4 semaines montrant une ébauche radicellaire.



Photographie II : Coupe transversale pratiquée dans une racine de plantule de Scorsonère en présence de IO 5g/ml d'AIA pendant 6 semaines montrant plusieurs ébauches radicellaires.

Les diverses coupes que nous avons pratiquées permettent également de montrer que si les radicelles ont un développement normal en présence de IO 7g/ml d'A.I.A. (photographies 6, 7 et 8), elles restent au contraire plus ou moins inhibées en présence de IO et IO 5g/ml d'A.I.A. (photographies IO et II).

2º - Racines isolées:

En présence de 10⁻⁹ et 10⁻⁸g/ml d'A.I.A. les racines isolées présentent une structure comparable à celle des racines isolées témoins qui est elle même identique à celle des racines de plantules témoins.

En présence de IO-7g/ml d'A.I.A, la structure histologique des racines n'est pas modifiée si ce n'est au niveau de quelques rares excroissances où l'on observe un décollement de certaines cellules du parenchyme cortical; ce décollement ne se manifeste qu'à partir de la quatrième semaine (photographie I2).

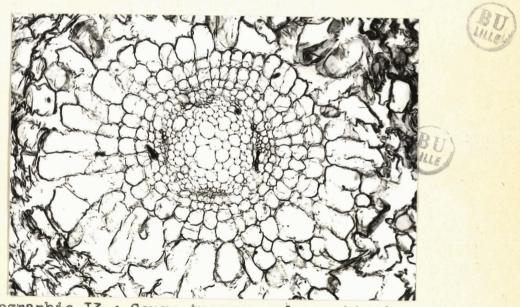
A la concentration de 10⁻⁶g/ml (photographie 13), on constate d'importantes réactions du parenchyme cortical, déjà nettement apparentes dès le quinzième jour. Certaines cellules s'allongent dans le sens radial alors que d'autres semblent ne subir aucune modification; mais toutes manifestent une nette tendance à se dissocier. Cette dissociation est cependant moins accentuée que dans le cas des racines de plantules entières. De plus il se forme des ébauches radicellaires, mais leur développement est généralement inhibé; si par hassard elles se développent, elles présentent des renflements dûs au grandissement des cellules du parenchyme cortical.

En présence de 10^{-5} g/ml d'A.I.A les phénomènes s'accentuent. L'allongement des cellules corticales s'étend même parfois aux cellules de l'endoderme. L'action rhizogène est toujours importante; les ébauches radicellaires s'observent nettement dès la quatrième semaine mais elles restent totalement inhibées (photographie I4). Comme chez tous les Phanérogames on remarque facilement que les racines latérales ont une origine profonde, endogène (à partir du péricycle).

Ainsi les observations histologiques que nous avons réalisées confirment que l'A.I.A favorise la rhizogenèse mais inhibe le développement des racines. De plus, si la dose d'auxine est suffisamment élevée, il y a hypertrophie et dissociation des cellules, ce qui correspond à la transformation hyperhydrique signalée à de nombreuses reprises dans le cas des tissus végétaux cultivés "in vitro".



Photographie I2: Coupe transversale pratiquée dans une racine isolée de Scorsonère cultivée en présence de IO-7g/ml d'A.I.A pendant 6 semaines montrant le grandissement et la dissociation des cellules corticales.



Photographie 13: Coupe transversale pratiquée dans une racine isolée de Scorsonère cultivée en présence de IO-6g/ml d'A.I.A. pendant 6 semaines montrant le grandissement des cellules du parenchyme et l'hyperplasie du péricycle.



Photographie I4: Coupe transversale pratiquée dans une racine isolée de Scorsonère cultivée en présence de I0⁻⁵g/ml d'A.I.A pendant 6 semaines montrant plusieurs ébauches radicellaires.

Il était intéressant de pouvoir étendre les résultats obtenus avec l'A.I.A; nous avons donc fait appel à d'autres composés auxiniques : l'A.N.A. et le 2,4-D.



II - Action de l'acide naphtyl-acétique (A.N.A) :

A) Aspect morphologique des racines :

En présence d'A.N.A, les réactions des racines de Scorsonère sont très analogues à celles provoquées par l'A.I.A, mais l'activité du

composé naphtalénique est en général plus prononcée que celle de l'auxine (planches III, IV et V). Là encore nous avons pu vérifier que les racines isolées sont moins sensibles que celles qui restent attachées aux plantules entières.

Io - Racines de plantules entières :

IO 9g/ml d'A.N.A s'est révélé sans action, mais dès la concentration de IO 8g/ml (planche III) de légères excroissances apparaissent sur la plupart des racines après deux semaines de culture.

En présence de 10°7g/ml d'A.N.A (planche III) toutes les racines présentent dès la première semaine de grosses excroissances et de nombreuses ramifications. Chez certaines racines les ramifications se développent plus ou moins normalement et atteignent trois à quatre centimètres au bout de six semaines; chez d'autres elles restent petites et sont généralement gonflées.

Aux concentrations de 10^{-6} et 10^{-5} g/ml (planche IV) les transformations se généralisent. De grosses excroissances apparaissent dès la première semaine; les racines prennent une consistance molle et spongieuse. Les radicelles qui sont toujours très nombreuses deviennent de plus en plus courtes; en présence de 10^{-5} g/ml d'A.N.A

elles sont peu visibles extérieurement et restent à l'état d'ébauches.

Tableau VII: Ramifications des racines de plantules

de Scorsonère cultivées pendant 6 se
maines en présence d'A.N.A.

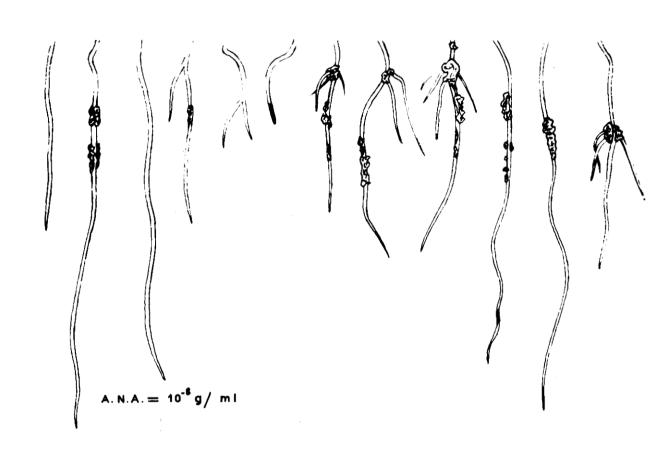
(moyennes effectuées sur I2 plantules).

Concentra- tion en ANA (en g/ml)	0	10-9	10 8	10-7	10-6
Nombre de radicel- les.	I,30	I,25	I,35	7	16



Planche

racines de Scorsonère Aspect morphologique présence d'A.N.A. pendant cul fivées semaines



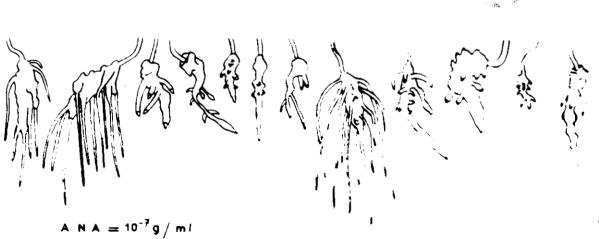
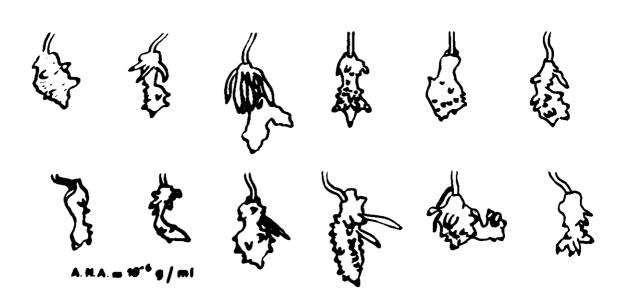
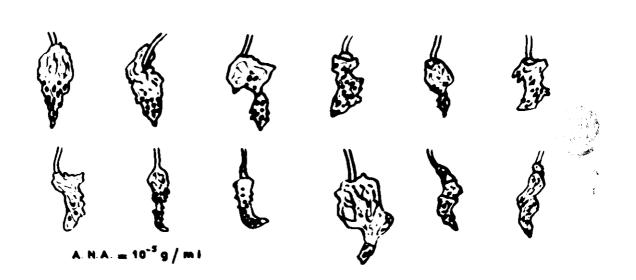


Planche IV

Aspect morphologique des racines de plantules de Scorsonère cultivées en présence d'A,N,A. pendant 6 semaines





2º - Racines isolées :

En présence de IO g/ml d' A.N.A, les racines isolées gardent également une morphologie analogue à celle des racines témoins.

A la concentration de 10^{-8} g/ml (planche V) de légers renflements apparaissent sur quelques racines au bout de deux semaines et sur presque toutes après quatre semaines de culture.

En présence de 10°7g/ml d'A.N.A (planche V) on observe tous ces renflements ou excroissances dès la deuxième semaine. Certaines racines deviennent plus ou moins translucides et présentent plusieurs ramifications ce que l'on ne remarque jamais chez les racines isolées témoins.

Aux concentrations de 10^{-6} et 10^{-5} g/ml (planche V) les excroissances semblent moins développées, en réalité les racines se nécrosent très rapidement.

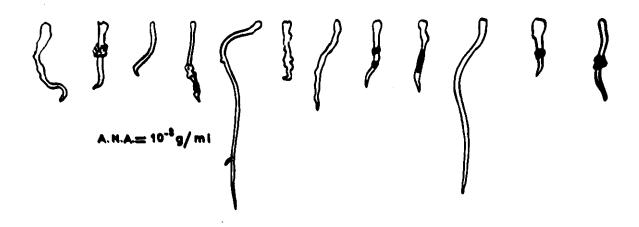
Tableau VIII : Ramifications des racines isolées de Scorsonère cultivées pendant 6 semaines en présence d'A.N.A. (Moyennes effectuées sur I2 racines).

Concentration en ANA (en g/ml)	0	10-9	10-8	10-7
Nombre de radicelles	0	0,10	0,10	0,50

Planche V

Aspect morphologique des racines isolées de Scorsonère

cultivées en présence d'A,N,A, pendant 6 semaines







B) Croissance des racines :

Les résultats obtenus (figure 2, tableaux IX et X) vérifient que l'A.N.A. (comme l'auxine) inhibe la croissance des racines. Cette action, très prononcée à 10^{-5} , 10^{-6} et 10^{-7} , se manifeste déjà à 10^{-9} .

Tableau IX: Action de 1ºA.N.A sur la croissance
des racines de plantules de Scorsonère.

Longueur moyenne exprimée en centimètres.

(moyennes effectuées sur des lots de I2
racines).

Concentra- tion en A.N.A. (en g/ml)	0	10-9	I0-8	10 7	10-6	10-5
Temps 2 de cul- 3 ture (en se- 4 maines) 6	3,30 4,55 5,40 6,60 9,20	3,10 4,30 5,10 6,10 8,40	2,60 3,35 3,90 4,90 7,15	I,60 2,05 2,30 2,60 3,I0	I,45 I,60 I,75 2,00 2,30	I,10 I,20 I,30 I,45 I,65



Tableau X: Action de l'A.N.A sur la croissance des racines isolées de Scorsonère.

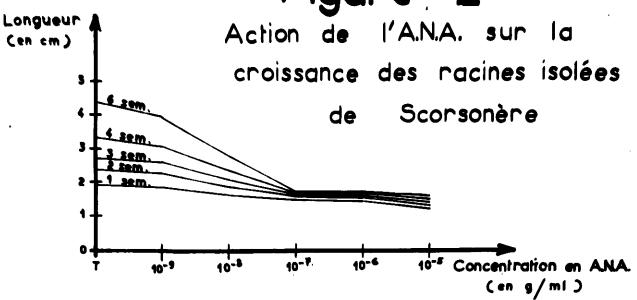
Longueur moyenne exprimée en centimètres.

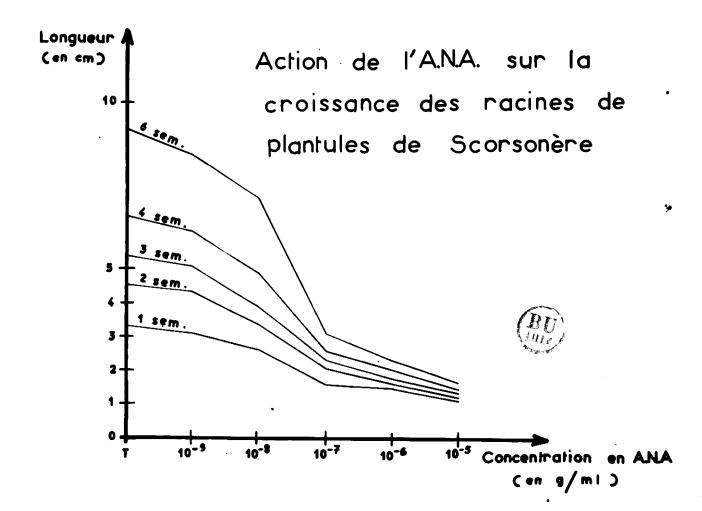
(moyennes effectuées sur des lots de I2 racines).

Concentra- tion en ANA (en g/ml)	0	10 9	10-8	10-7	10-6	10°5
1	1,90	I,80	I,55	I,45	I,40	I,20
Temps de 2 culture (en se-	2,35	2,25	I,80 2,05	I,55	I,55	I,30 I,40
maines) 4	3,30	3,00	2,30	I,65	I,65	I,50
6	4,35	3,90	2,75	I,70	I,70	I,60



Figure 2





C) Structure anatomique des racines :

Nous avons retrouvé des résultats similaires à ceux obtenus avec l'A.I.A. La structure du cylindre central des racines cultivées en présence d'A.N.A ne varie pratiquement pas et reste "primaire", même après six semaines de culture. Les principales modifications intéressent l'écorce; néanmoins on les voit apparaître dès la concentration de 10^{-8} g/ml: l'A.N.A est environ dix fois plus actif que l'A.I.A.

I° - Racines de plantules entières :

Sans action à 10⁻⁹g/ml, l'A.N.A provoque à 10⁻⁸ l'hypertrophie des cellules corticales dès la deuxième semaine de culture. Ces cellules s'allongent dans le sens radial (photographie I5) et leur longueur devient, après six semaines de culture, jusque quatre à cinq fois plus grande que celle des racines témoins.

Les phénomènes sont encore plus marqués aux concentrations de 10^{-7} , 10^{-6} et 10^{-5} g/ml et les coupes effectuées après trente jours de culture montrent une dissociation très nette des cellules parenchymateuses et même du péricycle; l'A.N.A, comme l'auxine, favorise la division des cellules péricycliques donc la formation des ébauches radi-

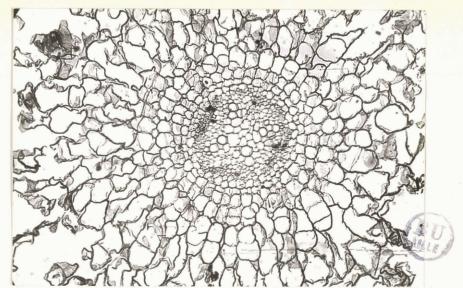
cellaires. Alors que les témoins ne portent qu'une au bien deux radicelles à un niveau donné, on peut voir sur les coupes réalisées au bout de six semaines deux, trois et même quatre racines latérales sur une même coupe transversale.

2º - Racines isolées :

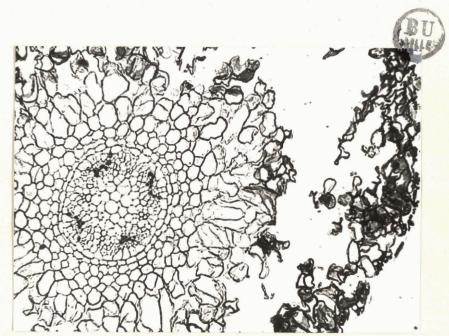
En présence de 10^{-8} g/ml d'A.N.A, dès la deuxième semaine, quelques cellules corticales grandissent, mais ce grandissement n'est vraiment net qu'après 30 jours de culture.

Aux concentrations de 10^{-7} (photographie 16), 10^{-6} et 10^{-5} g/ml les cellules parenchymateuses se dissocient, mais cette dissociation est moins marquée que dans le cas des racines de plantules.

Comme nous l'avions observé avec l'A.I.A, en présence de 10^{-5} g/ml d'A.N.A, l'allongement des racines latérales est très nettement inhibé. Aux concentrations de 10^{-6} et 10^{-5} g/ml les phénomènes de nécrose, qui atteignent les cellules corticales, sont d'ailleurs importants dans la plupart des cas.



Photographie I5: Coupe transversale pratiquée dans une racine de plantule de Scorsonère cultivée en présence de I0 8 ml d'A.N.A pendant 6 semaines montrant l'hypertrophie des cellules corticales.



Photographie I6: Coupe transversale pratiquée dans une racine isolée de Scorsonère cultivée en présence de I0⁻⁷g/ml d'A.N.A pendant 6 semaines montrant le grandissement et la dissociation des cellules corticales.

III - Action de l'acide 2,4-dichlorophénoxy-acétique (2,4-D):

A) Aspect morphologique des racines :

Comme on pouvait s'y attendre, le 2,4-D se montre plus actif mais aussi plus toxique que l'A.I.A. Dès la concentration de 10^{-8} g/ml (planche VI) des modifications apparaissent sur les racines de plantules; le nombre des ramifications (tableaux XI et XII) est plus élevé que dans le cas de l'A.I.A, par contre l'inhibition de l'allongement de ces racines est plus forte.

Iº - Racines de plantules entières :

A 10^{-9} g/ml le 2,4-D est pratiquement sans action.

A la concentration de 10^{-8} g/ml (planche VI) il provoque souvent le gonflement de la région apicale des racines qui brunissent.

Ce phénomène s'accentue à 10⁻⁷ (planche VII et photographie 17). Dès la première semaine, les excroissances des racines sont volumineuses, les ramifications sont nombreuses, plus ou moins boursouflées et aplaties; leur développement est fortement inhibé et après six semaines elles n'atteignent jamais plus de quatre à cinq millimètres.

Planche VI

Aspect morphologique des racines de plantules de Scorsonère cultivées en présence de 2,4-D pendant 6 semaines

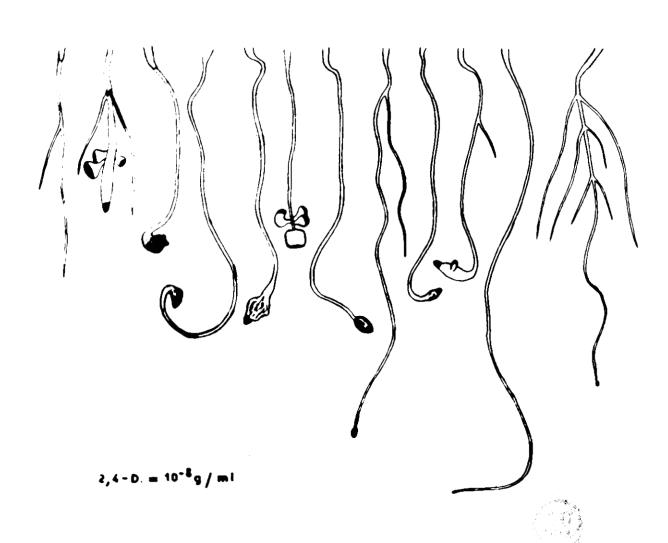
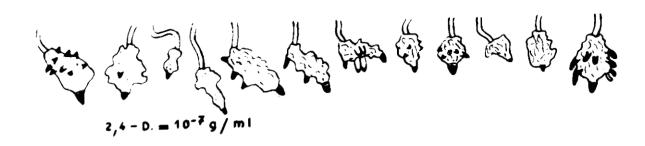
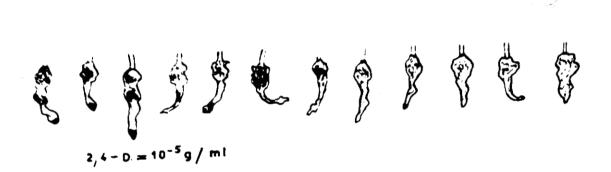


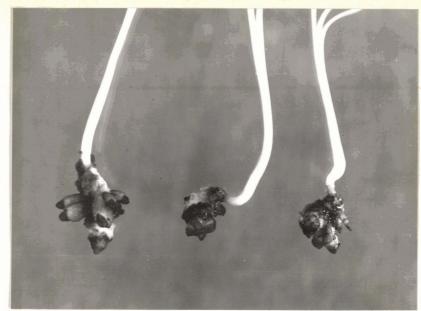
Planche VII

Aspect morphologique des racines de plantules de Scorsonère cultivées en présence de 2,4-D pendant 6 semaines

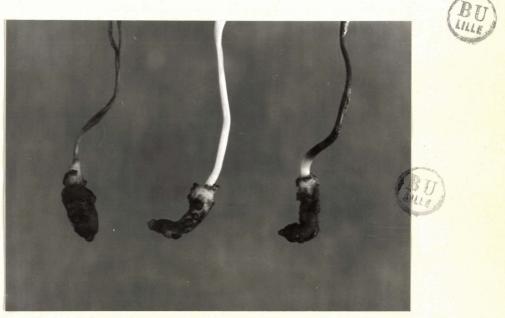








Photographie I7 : Aspect des racines de plantules de Scorsonère cultivées pendant 4 semaines en présence de I0⁻⁷g/ml de 2,4-D.

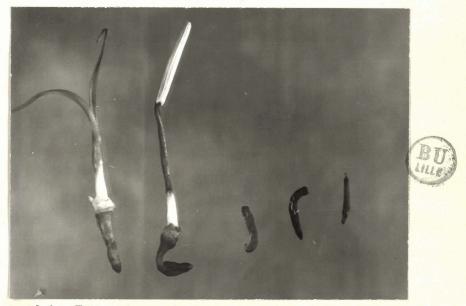


Photographie 18: Aspect des racines de plantules de Scorsonère cultivées pendant 4 semaines en présence de 10-6 g/ml de 2,4-D.

A partir de 10^{-6} g/ml (planche VII; photographies I8 et I9) c'est essentiellement l'effet toxique qui se manifeste. Cette toxicité du 2,4-D se manifeste non seulement sur les racines mais aussi sur les feuilles qui ont tendance à se flétrir et à noircir.

Tableau XI: Ramifications des racines de plantules de Scorsonère cultivées pendant 6 semaines en présence de 2,4-D. (Moyennes effectuées sur I2 plantules).

Concentration en 2,4-D (en g/ml)	0	10-9	10-8	IO-7	10-6
Nombre de ra- dicelles.	I,I0	I,15	I,80	4,10	3,35



Photographie I9: Aspect des racines de plantules et des racines isolées de Scorsonère cultivées pendant 4 semaines en présence de I0 5 g/ml de 2,4 D.

2º - Racines isolées :

En présence de 10^{-9} et même 10^{-8} g/ml de 2,4-D l'aspect morphologique des racines isolées n'est pas modifié.

En présence de IO⁻⁷g/ml (planche VIII et photographie 20) des excroissances volumineuses apparaissent avec deux ou plusieurs ramifications courtes et plus ou moins gonflées.

A IO (planche VIII et photographie 2I), les racines isolées sont épaissies, mais ne présentent plus d'excroissances, ni de radicelles (tout au moins visibles extérieurement).

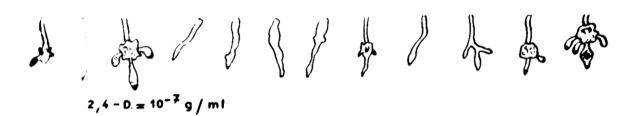
En présence de 10^{-5} g/ml de 2,4-D (planche VIII et photographie 19) les racines restent grêles mais brunissent et se nécrosent, témoignant de la toxicité du 2,4-D à cette concentration.

Tableau XII : Ramifications des racines isolées de Scorsonère cultivées pendant 6 semaines en présence de 2,4-D. (Moyennes effectuées sur I2 racines).

Concentration en 2,4-D (en g/ml)	0	10 9	10-8	10-7
Nombre de ra- dicelles	0,25	0,10	0,25	I,60

Planche VIII

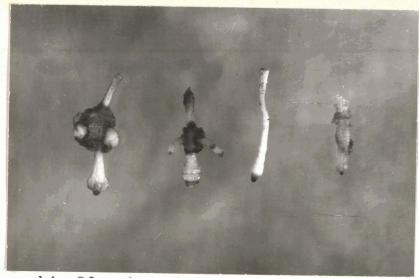
Aspect morphologique des racines isolées de Scorsonère cultivées en présence de 2,4-D pendant 6 semaines



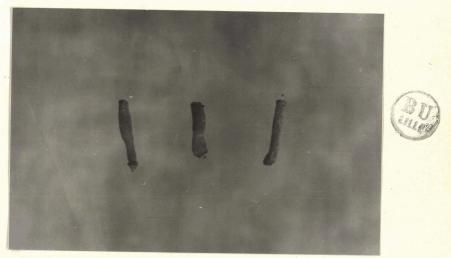


B) Croissance des racines :

Le 2,4-D (figure 3; tableaux XIII et XIV) inhibe la croissance des racines dès la concentration de 10^{-7} g/ml. Par contre, en présence de 10^{-9} (et même 10^{-8} g/ml) l'allongement des racines de Scorsonère est légèrement favorisé.



Photographie 20 : Aspect des racines isolées de Scorsonère cultivées pendant 4 semaines en présence de 10⁻⁷g/ml de 2,4-D.



Photographie 2I: Aspect des racines isolées de Scorsonère cultivées pendant 4 semaines en présence de 10⁻⁶g/ml de 2,4-D.

Tableau XIII : Action du 2,4-D sur la croissance des racines de plantules de Scorsonère.

Longueur moyenne exprimée en centimètres.

(Moyennes effectuées sur des lots de I2 racines).

Concentration 2,4-D (en g/ml)	ion 0	10-9	10-8	ro-7	10-6	10 ⁻⁵
Temps 2 de cultu- re (en	3,25 4,95 5,35	3,55 4,90 5,70	2,60 4,65 5,60	I,10 I,15 I,20	I,00 I,05 I,10	I,00 I,00 I,05
semai- 4 nes).	6,20	6,80 I0,55	6,50 8,40	I,25 I,55	I,15 I,20	I,05



Tableau XIV : Action du 2,4-D sur la croissance des racines isolées de Scorsonère.

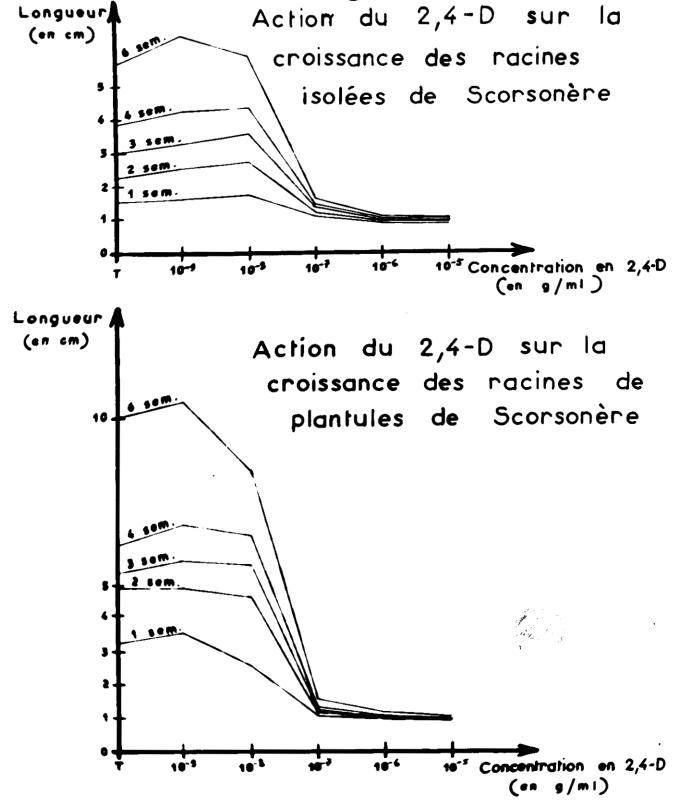
Longueur moyenne exprimée en centimètres.

(Moyennes effectuées sur des lots de I2 racines).

Concentr tion en 2,4-D (en g/ml		0	10-9	10-8	io-7	Io ⁻⁶	10°5
	I	I,55	I,60	I,75	1,10	0,90	0,90
Temps	2	2,25	2,55	2,70	I,20	0,95	0,95
de cul-	3	3,00	3,25	3,60	I,35	I,00	I,00
(en se-	4	3,85	4,25	4,35	I,40	I,05	I,05
maines)	6	5,70	6,4I	5,85	I,60	I,IO	I,10



Figure 3



C) Structure anatomique des racines :

Les résultats sont pratiquement comparables à ceux obtenus en présence d'A.N.A.

Les déformations de l'écorce apparaissent dès la concentration de ${\rm IO}^{-8}{\rm g/ml}$. L'hyperplasie du péricycle à l'origine de la formation des racines latérales se manifeste dès la concentration de ${\rm IO}^{-8}{\rm g/ml}$.

.

A côté des composés auxiniques existent deux autres grands groupes de facteurs de croissance : le groupe de la kinétine et celui de l'accide gibbérellique.

La kinétine ou 6-furfurylamino-purine est surtout connue en tant que facteur de division cellulaire et l'acide gibbérellique en tant que facteur d'élongation des tiges.

IV - Action de la Kinétine :

A) Aspect morphologique des racines :

D'une façon générale, on peut dire que la plus qu'elle ne favorise la rhizogenèse (taimportantes des racines de Scorsonère, kinétine ne provoque pas de modifications bleaux XV et XVI). logiques

Iº - Racines de plantules entières :

sans l'aspect morphologique des racines ۵ د Jusqu'à 10-8g/ml la kinétine Scor sonère. plantules de tion sur

se renflent Ce phénomène s'accentue quand la dose de kinétine légèrement après cinq à six semaines de culture. En présence de IO7 g/ml du facteur de division (planche IX), quelques racines forte (10-6 et 10-5). est plus

Planche IX

Aspect morphologique des racines de plantules de Scorsonère cultivées en présence de kinétine pendant 6 semaines

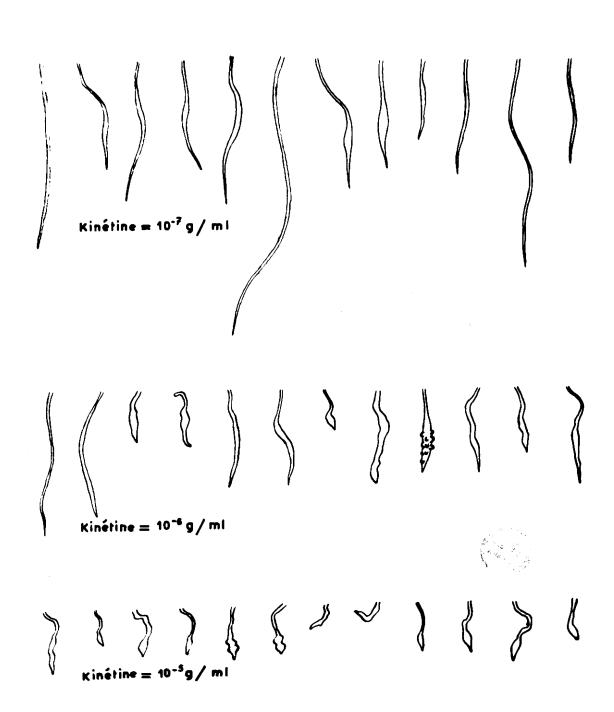


Planche X

Aspect morphologique des racines isolées de Scorsonère cultivées en présence de kinétine pendant 6 semaines

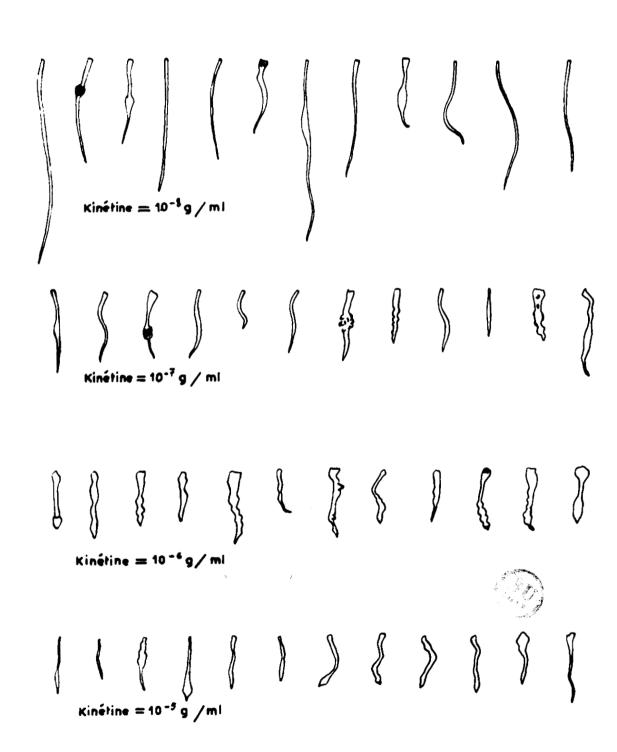


Tableau XV : Ramifications des racines de plantules de Scorsonère cultivées pendant 6 semaines en présence de kinétine.

(Moyennes effectuées sur 12 plantules).

Concentration en kinétine (en g/ml)	0	10-9	10-8	10-7	10-6
Nombre de ra- dicelles.	2,15	0,90	0,10	0	0

2º - Racines isolées :

En présence de 10^{-9} g/ml de kinétine les racines isolées restent semblables aux témoins.

Aux concentrations supérieures (planche X)

la plupart des racines portent des renflements qui
apparaissent après quatre semaines de culture.

Quelques racines restent néanmoins grêles et noirâtres.

Tableau XVI: Ramifications des racines isolées de Scorsonère cultivées pendant 6 semaines en présence de kinétine. (Moyennes effectuées sur I2 racines).

Concentration en kinétine (en g/ml)	0	10-9	10-8	10-7	10-6
Nombre de radicelles	0,15	0,10	0	0	0

B) Croissance des racines :

La kinétine inhibe la croissance des raciones de Scorsonère. Cette action se manifeste surtout à partir de 10^{-7} g/ml (figure 4; tableaux XVII et XVIII).

C) Structure anatomique des racines :

La kinétine a une action identique sur les racines de Scorsonère, qu'elles soient isolées ou non. Elle ne se manifeste qu'aux doses supérieures à 10°9g/ml et provoque le gonflement des racines et le plus souvent la dissociation des celules corticales (photographies 22, 23, 24 et 25).

Néanmoins les phénomènes sont beaucoup moins marqués que pour les facteurs auxiniques précédemment étudiés. Aucune hyperplasie du périctycle suivie de division n'a été observée; ce qui peut se comprendre car la kinétine n'a certainement pas d'action rhizogène comme l'auxine ou les composés auxinomimétiques.

Tableau XVII : Action de la kinétine sur la croissance
des racines de plantules de Scorsonère.

Longueur moyenne exprimée en centimètres.

(moyennes effectuées sur des lots de
I2 racines).

Concentration en kinétine (en g/ml)	0	10-9	10-8	Io ^{~7}	10-6	10-5
Temps de 2	3, 60	, ,	3, 0 0	2,45 3,10	I,75 2,20	I,25
culture (en semaio 3	5,50	5,45	5,40	3,40	2,30	I,35
nes). 4	6,30 8, 3 5	6,30 7,95	6,30 8,45	3 ,80 4,35	2,45	I,40 I,45



Tableau XVIII : Action de la kinétine sur la croissance

des racines isolées de Scorsonère.

Longueur exprimée en centimètres.

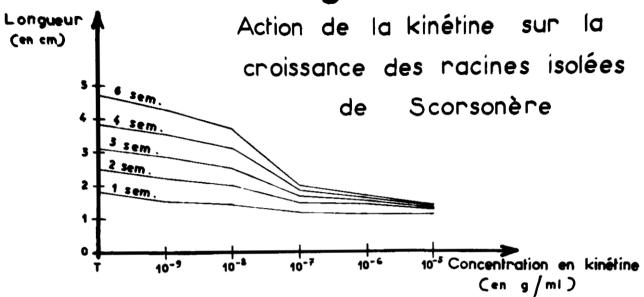
(Moyennes effectuées sur des lots de

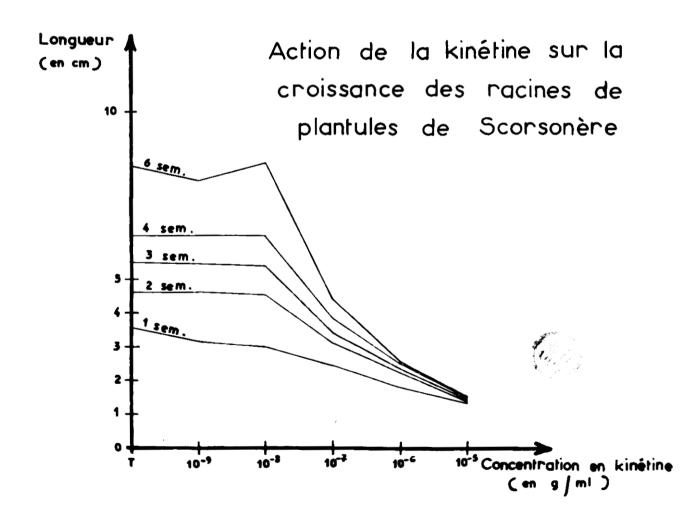
I2 racines).

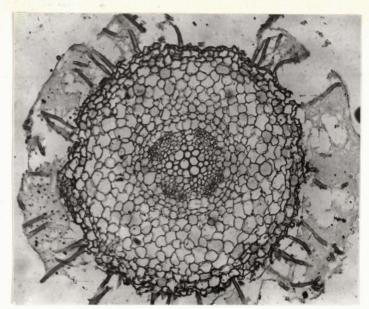
						0	
Concentrati en kinétine (en g/ml)	on	0	10-9	Io ⁻⁸	10-7	10 ⁻⁶	10-5
	I	I,80	I,50	I,40	1,15	1,15	I, I5
Temps de	2	2,50	2,20	2,00	I,45	I,40	I,25
culture (en semai-	3	3 , I0	2,85	2,50	I,65	I,50	I,35
nes).	4	3,85	3,50	3,10	I,85	I,55	1,40
	6	4,75	4,25	3,65	I,95	I,65	I,40



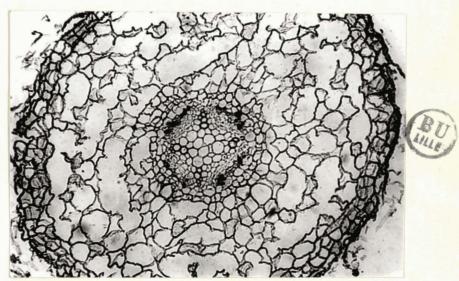
Figure 4



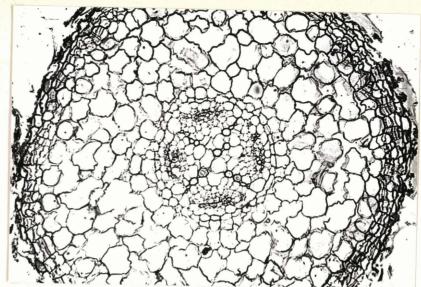




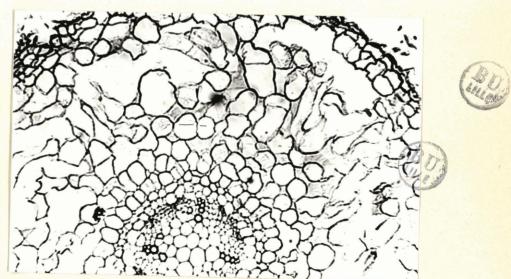
Photographie 22 : Coupe transversale pratiquée dans une racine isolée de Scorsonère en présence de IO 9g/ml de kinétine pendant 6 semaines.



Photographie 23 : Coupe transversale pratiquée dans une racine isolée de Scorsonère cultivée en présence de 10^{-8} g/ml de kinétine pendant 6 semaines montrant la dissociation des cellules corticales.



Photographie 24 : Coupe transversale pratiquée dans une racine de plantule de Scorsonère cultivée en présence de 10^{-8} g/ml de kinétine pendant 6 semaines.



Photographie 25: Coupe transversale pratiquée dans une racine isolée de Scorsonère cultivée en présence de 10^{-6} g/ml de kinétine pendant 6 semaines montrant l'allongement radial et la dissociation des cellules corticales.

V - Action de l'acide gibbérellique :

A) Aspect morphologique des racines :

L'acide gibbérellique n'apporte aucun changement dans la morphologie des racines de Scorsonère. Les racines de plantes entières et les racines isolées restent grêles comme les racines témoins; le nombre des ramifications varie peu
(tableau XIV).

Tableau XIV: Ramifications des racines de plantules de Scorsonère cultivées pendant 6 semaines en présence d'acide gibbérellique.

Concentration en acide gib- bérellique (en g/ml)	0	10-9	10-8	10-7	10-6
Nombre de radicelles.	I,80	2,25	2,15	1,90	2,30

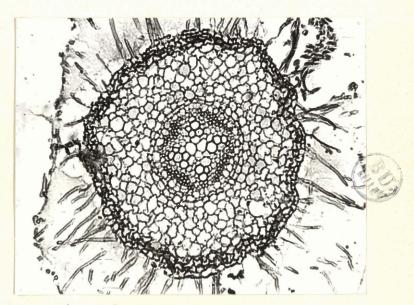


B) Croissance des racines :

L'acide gibbérellique n'inhibe la croissance des racines de Scorsonère que très légèrement (figure 5; tableaux XX et XXI). Toutefois, cette inhibition semble plus prononcée, dès 10⁻⁸g/ml, chez les racines de plantules que chez les racines isolées.

C) Structure anatomique des racines :

L'acide gibbérellique seul semble n'avoir aucune action sur la structure histologique des racines de Scorsonère isolées ou non (photographies 26, 27 et 28).



Photographie 26 : Coupe transversale pratiquée dans une racine de plantule de Scorsonère cultivée sur le milieu témoin (0) pendant 6 semaines.

Tableau XX : Action de l'acide gibbérellique sur la croissance des racines de plantules de Scorsonère.

Longueur moyenne en centimètres.

(Moyennes effectuées sur des lots de I2 racines).

Concentration acide gille rellique (en g/ml)		0	10-9	10-8	10-7	10-6	10-5
	I	4,45	4,55	4,40	4,40	4,15	3,75
Temps de	2	6,20	6,30	6,25	5,85	5,25	4,90
culture (en semai	3	7,15	7,15	7,30	6,80	6,25	5,50
nes).	4	8,20	8,05	8,15	7,35	6,75	6,10
	6	12,80	12,10	12,40	10,70	9,30	8,10



Tableau XXI : Action de l'acide gibbérellique sur la croissance des racines isolées de Scorsonère.

Longueur moyenne en centimètre.

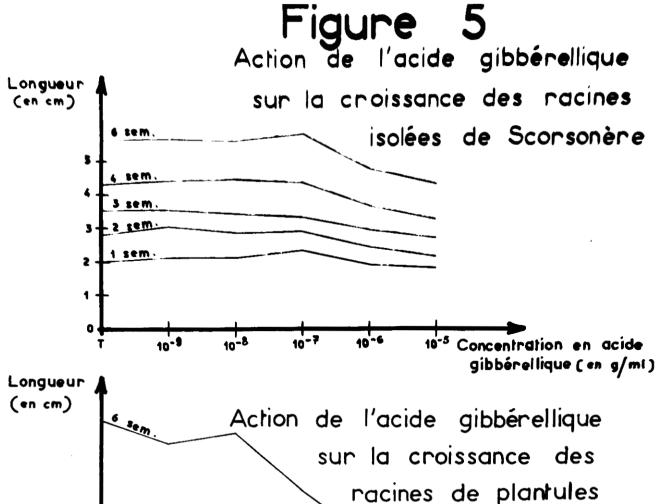
(Moyennes effectuées sur des lots de I2 racines).

Concentration en acide gib- bérellique (en g/ml)	0	10-9	10-8	10-7	10-6	10 ⁻⁵
I	2,00	2,10	2,10	2,25	I,95	1,80
Temps de 2	2,80	3,00	2,85	2,90	2,45	2,15
culture (ensemai= 3	3,50	3,50	3,40	3,30	2,90	2,70
ses). 4	4,30	4,40	4,45	4,35	3,70	3,25
6	5,55	5,65	5,60	5,75	4,75	4,30



de Scorsonère

Concentration en acide gibbérellique (en g/ml)



10

5

3

2

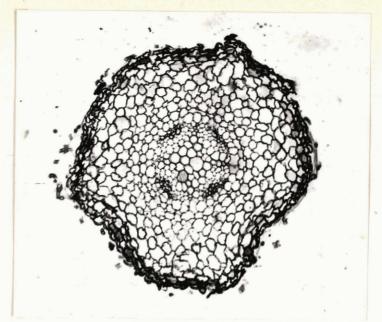
sem

3 sem

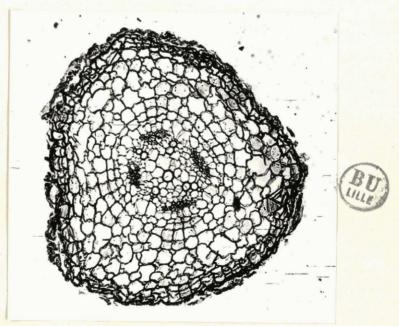
2 sem

1 sem

10-9



Photographie 27 : Coupe transversale pratiquée dans une racine de plantule de Scorsonère en présence de IO-5g/ml d'acide gibbérellique pendant 6 semaines.



Photographie 28 : Coupe transversale pratiquée dans une racine isolée de Scorsonère cultivée en présence de 10°5g/ml d'acide gibbérellique pendant 6 semaines.

CHAPITRE QUATRIEME - REPIQUAGES.

Comme je l'ai signalé dans les techniques, j'ai d'abord effectué des repiquages de fragments avec apex, puis des repiquages de fragments sans apex.

I - Repiquages de fragments avec apex :

Les expériences réalisées sur des fragments avec apex donnèrent des résultats comparables
à ceux observés lors des ensemencements primaires :
l'aspect morphologique et la structure anatomique
des racines repiquées rappellent ceux des racines
isolées. Il faut néanmoins faire remarquer que la
croissance en longueur est plus faible lors du
repiquage (tableau XXII) que lors du premier passage; toutefois nous savons que ce phénomène est
général et non particulier aux racines de Scorsonère. On le retrouve de plus avec tous les facteurs phytohormonaux que nous avens utilisés.

Tableau XXII: Action de l'A.I.A sur la croissance des racines isolées de Scorsonère. Second passage. Racines repiquées, remises en culture pendant 6 semaines.

(moyennes effectuées sur des lots de 6 racines).

Concentration en A.I.A (en g/ml)	0	10 9	10-8	10-7	10-6	10-5
Longueur moyen ne (en cm).	4,40	3,10	2,80	I,45	I,35	1,15

II - Repiquages de fragments sans apex :

Les racines isolées de Scorsonère se ramifiant peu ou pas sur le milieu témoin, il était logique de penser que les fragments sans apex pouvaient, tout au moins sous certaines conditions, proliférer et former un cal.

Nous essaierons donc dans un premier point de préciser dans quelles conditions il y a ou non prolifération. Nous étudierons dans un second point la structure, ce qui nous permettra de dégager un rapport (s'il existe) entre le premier et le second point.

A) Conditions de la prolifération :

Aucune prolifération n'apparaît sur les fragments sans apex cultivés sur le milieu témoin (0); que les fragments soient repiqués normalement (c'est-à-dire face foliaire vers le haut et face radiculaire dans le milieu de culture) ou placés inversement.

Afin de provoquer la callogenèse nous avons d'abord utilisé l'A.I.A, puis la kinétine et enfin l'A.I.A et la kinétine combinés.

Les vérifications sont effectuées après un mois de remise en culture.

Io - Action de l'A.I.A:

Les explantats peuvent provenir du milieu témoin (0), de 10^{-9} g/ml ou de 10^{-8} g/ml d'A.I.A et être repiqués en présence de 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} et 10^{-5} g/ml d'A.I.A.

a) Fragments provenant du milieu témoin (0)

Les phénomènes de prolifération commencent à apparaître sur quelques explantats en présence de 10^{-8} g/ml d'A.I.A. L'action est maximum à 10^{-7} g/ml (photographie 29); elle se manifeste toujours nettement à 10^{-6} g/ml. Au-delà de cette concentration les phénomènes de callogenèse sont masqués par l'hypertrophie des cellules corticales.

position inverse, en présence surtout de $10^{-7} \mathrm{g/ml}$ pour les échantillons repiqués normalement para inverseà la face ment. Néanmoins, chez quelques fragments repiqués tous les cals se forment à la parinférieure du fragment, à celle plongée dans face fotrouvant phénomènes de prolifération se produisent à la exceptionnellement de IO 6g/ml d'A.I.A, des la face radiculaire pour ceux placés hors du milieu de culture, c'est-à-dire N SB **∂**₩ fragment, à celle c'est-a-dire culture, du Presque supérieure milieu de foliaire liaire. e t en

d'un milieu renfer mant 10 g/ml d'A.I.A provenant b) Fragments

précéaux identiques sont Les résultats dents.

provenant d'un milieu Io 8 ml d'A.I.A Fragments mant

Toutefois, quelques cals peu développés apparaismaximum en présence de 10-7g/ml d'A.I.A Les résultats sont encore très voisins particulier, les phénomènes de callogenèse concentration de 10°9g/ml. E C des restent sent

2º - Action de la kinétine :

Les explantats peuvent provenir du milieu témoin (0), de 10^{-9} g/ml ou de 10^{-8} g/ml de kinétine et être repiqués en présence de 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} et 10^{-5} g/ml de kinétine.

Aucun cal ne se forme, au cours du second passage, sur les fragments sans apex, même après un mois de culture.

3º - Action de l'A.I.A et de la kinétine :

Certains auteurs pensent que la kinétine et l'A.I.A agissent de façon synergique; c'est pourquoi nous avons réalisé diverses combinaisons de ces deux substances. Les explantats pouvant provenir du milieu témoin (0) sont repiqués en présence de IO⁷ ou IO⁶g/ml d'A.I.A et de IO⁹, IO⁸, IO⁷, IO⁶ ou IO⁵g/ml de kinétine.

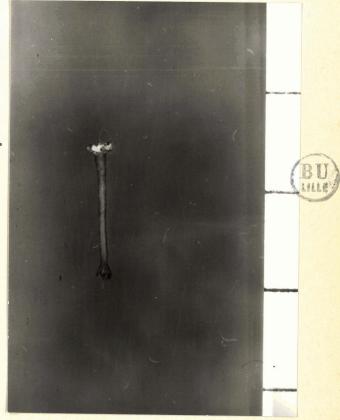
Les résultats obtenus sont très analogues à ceux observés en présence de 10⁻⁷g/ml d'A.I.A seul (photographie 30).



Photographie 29: Fragment sans apex de racine de Scorsonère repiqué normalement en présence de IO-7g/ml d'A.I.A pendant 4 semaines. Chaque division de l'échele le représente Icm.

Photographie 30: Fragement sans apex de racine de Scorsonère repiqué normalement en présence de 10^{-7} g/ml d'A.I.A et de 10^{-6} g/ml de kinétine pendant 4 semaines.

Chaque division de l'échelle représente Icm.



B) Structure anatomique des fragments :

Toutes les coupes examinées lors du repiquage et un mois après montrèrent une structure "primaire" typique, avec généralement quatre pôles de xylème et de phloème.

Selon la théorie classique, la présence d'un cambium est nécessaire pour qu'il y ait formation d'un cal. Le fait que la structure anatomique n'ait pas changé au cours du deuxième passage a une grosse importance; en effet, elle nous permet d'affirmer que des phénemènes de callogenèse peuvent se produire même sur des fragments de raccines grêles à condition que le milieu de culture contienne un facteur auxinique. Il faut donc admettre que certaines cellules ont subi une dédifférenciation et sont devenues capables de proliférer. Des coupes réalisées dans le cal auraient peut-être permis de vérifier cette hypothèse.

TROISIEME PARTIE

CHAPITRE CINQUIEME - CONSIDERATIONS GENERALES ET

CONCLUSION.

Les cultures de racines de plantules et de racines isolées de Scorsonère que nous avons réalisées nous ont permis de vérifier l'action de divers facteurs phytohormonaux sur l'aspect morphologique des racines, sur leur allongement et sur leur structure anatomique.

En plus de ces cultures de racines avec apex, nous avons réalisé des cultures de racines sans apex qui ont permis d'aborder le problème de la formation du cal.

I - Action de divers facteurs phytohormonaux sur l'as-

pect morphologique des racines :

Les déformations subies par les racines sont très différentes selon qu'elles sont causées par des facteurs auxiniques ou par des facteurs non auxiniques.

A) Facteurs auxiniques:

forte, de troubles morphologiques qui vont d'un lé-(et ger gonflement jusqu'à l'apparition de véritables 25562 grosses des la concentration de IO" /g/ml auxinique (A.I.A, A.N.A ou 2,4-D) s'accompagne presque est quì particulièrement sensibles présentent de 1'A.N.A et le 2,4-D). excroissances. Les racines de plantules cor ps facteurs C C C C concentration de traitement par des avec même IO-8g/ml excroissances Fa S L - Un jours,



bien A.I. S ad présence latérale concentra généra avec 1º A souvent apparaissent de nombreuses formations - Parallèlement aux réactions précédentes, et le 2,4-D est particulièrement net en en élevé mais l'allongement de ces racines tions le nombre des radicelles reste sensible de IO 7g/ml d'A.N.A. Aux plus fortes en plus inhibé. ventives. Ce phénomène déjà plus de trouve ON

rien d'extraordinaire puisque les racines de planendogène phy. l'apport extérieur d'auxines, nea plantules réagissent en en présence de facteurs ceci alimentées en auxines tohormonaux que les racines isolées; racines de ral plus violemment tules, en plus de etre continuent à - Les 30

B) Facteurs non auxiniques :

de deane la kinétine ben on bas modifications dans la morphologie des racines des facteurs auxiniques, due ou l'acide gibbérellique apportent croissance tels 1'opposé de facteurs tres

- Io La kinétine cause seulement un léger renfleracines action, sans des certains niveaux montre gibbérellique se **a** localisé lacide ment
- entre témoins pen des ramifications varie et les racines traitées nombre racines 3 les
- Le renflement observé en présence de kinétid e racines isolées 763 plus marqué chez racines les chez guère plantules que nest ne 30

Sur phytohor monaux facteurs divers Action de II

l'allongement des racines :

d d a pex racines doorganes avec en 168 subissent un accroissement fragments de racines isolées, comme simples cultures racines avec ces de **a** Les plantules, aboutit gueur;

- I° Tous les facteurs phytohormonaux utilisés entraînent une inhibition marquée de l'allongement radiculaire dès la concentration de 10-7g/ml et sensible (sauf en présence de 2,4-D) dès 10-9g/ml.
- 2° En présence de I0⁻⁹g/ml et même I0⁻⁸g/ml de 2,4-D nous avons observé une légère activation de la croissance en longueur des racines.
- 3º L'acide gibbérellique reste le facteur de croissance le plus inactif vis-à-vis des racines.

III - Action de divers facteurs phytohormonaux sur la structure anatomique des racines :

Les réactions des racines de Scorsonère sont dans l'ensemble plus marquées en présence de facteurs auxiniques qu'en présence de kinétine, et surtout d'acide gibbérellique. Elles sont par ailleurs beaucoup plus accentuées chez les racienes de plantules que chez les racines isolées.

I° - La présence de facteurs auxiniques (A.I.A,
A.N.A ou 2,4-D) dans le milieu de culture
se traduit toujours, dès la concentration

de I0⁻⁷ et même I0⁻⁸g/ml, par un gonflement dans le sens radial, suivi d'une désorganisation, des cellules corticales et par une division de l'assise péricyclique qui est à l'origine de la formation de nombreuses radicelles.

- 2° La kinétine ne semble pas au contraire provoquer la formation des racines. Elle est responsable néanmoins de l'allongement de certaines cellules du parenchyme cortical.
- 3° L'acide gibbérellique reste toujours sans effet.

Toutes ces observations vérifient les nombreux travaux effectués par divers auteurs sur d'autres plantes que la Scorsonère (ef. historique).

De par ses propriétés que nous venons de voir sur les racines de Scorsonère l'acide gibbérellique semble le plus souvent se comporter à l'opposé des hormones de croissance.

callo La Sur kinétine 13 qe et 10A.I.A de Action

genèse de fragments sans apex:

réac prives 163 quelques expériences que nous avons tirer grales leur extrémité apicale nous pouvons de racines les fragments suivantes conclusions Des Sur lisées de

- fa: slallonge ramifications, L'exde fragment repiqué présence ne pas en ramifie CL CL H présente pas ou peu de milieu témoin, bles doses d'A.I.A, S ne qui plantat Ге Sur 0 0
- phy sans facteurs S C prolifération ne le milieu témoin (0), ancane tohor monaux, nifeste. Sur 0 50
- seules hyperhytrations de 10-7 et de 10-6g/ml; au-delà 1 hypertrophie surtout aux Le phénomène de callogenèse apparaît deviennent d OA . I . A . est masqué par quì corticales ment en présence phénomène cellules driques, 0 30
- kiné 1ºauc formé en présence de puisque év ident indispensable. es S qui Soest 0 Aucun cal ne seule, est tine xine 0 04

Certains auteurs, en particulier SKOOG et ses collaborateurs, pensent que la présence simultanée d'auxine et de facteur de division (kinétine ou "kinines") est nécessaire pour qu'il y ait prolifération. Il faut alors supposer que les racines grêles de Scorsonère sont capables de synthétiser leurs propres "kinines", mais sont par contre incapables d'effectuer la synthèse d'auxine.

- 50 Les phénomènes sont indépendants de l'orientation du fragment dans le milieu de culture lors du repiquage; et de la présence ou de l'absence d'un facteur phytohormonal dans le milieu de culture ayant servi au premier passage.
- 60 La structure anatomique ne change pas au cours du repiquage, même en présence d'A.I.A ou de kinétine.

Ceci prouve que des fragments de racines grêles dépourvus d'apex et ayant conservé une structure "primaire" sont susceptibles, en présence de facteurs phytohormonaux (A.I.A à la concentration de 10^{-7} ou 10^{-6} g/ml), de proliférer. Les phénomènes de callogenèse peuvent donc se manifester même lorsque les fragments de ra-

cines sont dépourvus de cambium.

7° - Les combinaisons réalisées entre l'A.I.A et la kinétine donnent des résultats analogues à ceux obtenus avec l'A.I.A employé seul aux concentrations de IO-7 et IO-6g/ml. L'apport de kinétine ne favorise pas la prolifération; mais il n'est pas certain toutefois que ce phénomène soit encore vrai avec de fortes concentrations d'A.I.A.

BIBLIOGRAPHIE

synergists and antagonists On auxin growth. 1950° in root B ABERG

(Physiologia Plantarum), 3, 447-461.

auxins with 8 2 hydrazide N 277-291 N O.F 69 interaction maleic (Physiologia Plantarum), and acid the dobenzoic 1953° M ABERG

Para occur-IX. and-propionic acids, on plant regulators. derivatives = 1954 Studies on a alkyl-phenoxyacetic phenols. related Some ring m ABERG

(Physiologia Plantarum), 7, 24I-252.

rea their corresponding growth certain acid roots Of on the growth of gulating substances aldehydes on the gro N.C.

(Botanical Gazette), II2, 237-250.

Stie growth of o of Pisum S O and GARRARD A. - 1953. Studies on the gand respiration of roots. I. The effects mulatory and inhibitory concentrations of dolyl-acetic acid on root sections of Pis L.J. and GARRARD A. mulatory and dolyl-acetic

4, Botany), of Experimental (Journal

2,4-dichloranisole-growth. 1952°, SHIPTON M.E. L.J. and auxin AUDUS

(Physiologia Plantarum), 5, 430-455.

AUDUS L.J. and TRESH R. - 1956. The effects of synthetic growth regulator treatments on the levels of free endogenous growth-substances in plants.

(Ann. of Bot., N.S.), 20, 439-459.

BEAL J.M. - 1938. Histological response of three species of Lilium to indoleacetic acid.

(Botanical Gazette), 99, 881-911.

- BEAL J.M. 1951. Histological responses to growth regulating substances. Plant growth subst., p. 155-166. Madison: Univ. Wisconsin Press.
- BLUM J.L. 1941. Responses of sunflower stems to growth promoting substances.

(Botanical Gazette), IO2, 737-748.

BOLL W.G. and STREET H.E. - 1951. Studies on the growth of excised roots. I. The stimulatory effect of molybdenum and copper on the growth of excised tomato roots.

(New Phytologist), 50, 52-75.

BONNER J. and ADDICOTT F.T. - 1937. Cultivation in vitro of excised pea roots.

(Botanical Gazette), 99, I44-I70.

BONNER J. and DERIVIAN P.S. - 1939. Growth factor requirements of four species of isolated roots.

(American Journal of Botany), 26, 661-665.

BORTHWICK H.A., HAMNER K.C. and PARKER M.W. - 1937.
Histological and microchemical studies of the reactions of tomato plants to indoleacetic acid.

(Botanical Gazette), 98, 491-519.

- BOURIQUET R. 1959. Recherches sur l'action de quelques facteurs de croissance à l'égard des tissus végétaux cultivés "in vitro". (Thèse Fac. des Sciences Paris).
- BOYSEN-JENSEN P. 1933. Uber den Nachweis von Wuchsstoff in Wurzeln.
 (Planta, Berl.), 19, 345-350.
- BURSTROM H. = 1942. The influence of heteroauxin on cell growth and root development.

 (Ann.Agricult. Coll. Sweden), IO, 209-240.
- BURSTROM H. 1949. Studies on growth and metabolism of roots. I. The action of n-diamylacetic acid on root elongation.
 (Physiologia Plantarum,) 2, 197-209.
- BURSTROM H. 1953. Studies on growth and métabolism of roots. IX. Cell elongation and water absorption.

 (Physiologia Plantarum), 6, 260-276.
- BURSTROM H. 1953. Physiology of root growth. (Ann.Rev. Plant.Physiol.), 4, 237-252.
- CASTAN R. 1940. Sur le rôle des hormones animales et végétales dans le développement et l'organogenèse des plantes vasculaires. (Thèse, Bordeaux. Rev. Gén. Bot.), 52, 192-208, 234-255, 285-304, 333-352, 413-430.
- CHARLES H.P. and STREET H.E. 1959. Studies on the growth of excised roots. VI. The effect of certain amino acids and auxins on the growth of excised groundsel roots.

 (New Phytologist), 58, 75.
- CHOLODNY N. 1926. Beiträge zur Analyse der geotropischen Reaktion. (Jb. wiss. Bot.), 65, 447-459.

- appl. et agr.trop.), 28,2-75. connais P. - 1949. Les progrès récents dans sance et l'emploi des substances d (Rev. intern. Bot. appl. et agr. tro CHOUARD
- Wuehsstoff 53, 197-220 A.T. - 1935. Polaritat und (Ber. dtsch.Bot.ges.), CZAJA
- Vas plantes des Eléments d'anatomie Paris) G. 1954. Elément culaires. (Sedes éditeurs, ° DEYSSON
- croisisolées de Lupinus albus Biologie), ISI, 757-758 Sur 1'hétéroauxine de racines i la Sté de Action sance des (C.R. de 1 L. - 1939. DUTHAMET
- croissance - 1946. Recherches sur l'action de l'hété-့ ထိ sur la albus L. T946. Rechercher Colchicine sur la roauxine et de la colchicine sur la de racines isolées de Lupinus albus (RAV. Cytol. et Cytophysiol.vég.), DUHAMET
- Wurzels-H. - 1936. Entwicklungsund reizphysiologische Untersuchungen auf Kulturen isolierter Wurzel 385-426. 30, pitzen. (Z.Bot.), FI EDLER
- den Einfluss von B-Indolyles-Blattbewegungen auf die Adven-Coleus. 552-583. von 24, HO. 1935. Uber sigsdure auf die tivwurzelbildung Berl.), (Planta, FISCHNICH
- 1236-1238 d'extrémités 109, Biologie), culture Sur la d e Ste - 1932. La Ca de GAUTHERET R.J. - racines (C.R.
- végétaux, tissus GAUTHERET R.J. - 1959. La culture des techniques et réalisations. (Masson éditeurs, Paris).
- nitrogen cabbage Jo O. E. - 1938. Histological responses plants grown at different levels on thition to indole-3-acetic acid. IOO, 347-369 (Botanical Gazette), GOLDBERG

- GORTER C.J. 1932. Groeistofproblemen bej wortels. (Ph.D. Thesis, Univ.of.Utrecht).
- HAMNER K.C. 1938. Histological response of Mirabilis jalapa to indoleacetic acid. (Botanical Gazette), 99, 912-954.
- HANSEN B.A. 1954. A physiological classification of "shoot auxins" and "root auxins".

 (Betaniska Not.), 3, 230-268, 318 325.
- HARRISON B.F. 1937. Histological responses of Iserine lindeni to indoleacetic acid. (Botanical Gazette), 99, 881-911.
- HITCHCOCK A.E. 1935. Indole-3-n-propionic acid as a growth hormone and the quantitative measurement of plant response.

 (Contrib.Boyce Thompson Instit.), 7, 87-95.
- KOGL F., HAAGEN-SMIT A.J. und FRXLEBEN H. 1934.
 Uber ein neues Auxin ("Heteroauxin") aus Harn.
 (Z.P.C.) (4), 228, 90-103.
- KRAUS E.J., BROWN N.A. and HAMNER K.C. 1936. Histological responses of bean plants to indoleacetic acid. (Botanical Gazette,) 98, 370-420.
- LAIBACH F., MAI G. und MULLER A. 1934. Über ein zellteilungshormon. (Naturwissenschaften), 22, 288.
- LANE R.H. 1936. The inhibition of roots by growth hormone.

 (American Journal of Botany), 23, 532-535.
- LANGERON 1949. Précis de microscopie. (Masson et Cie éditeurs, Paris).
- LARSIN P. 1953. Influence of gravity on rate of elongation and geotropic and utotropic reactions in roots. (Physiologia Plantarum), 6, 735-774.

- LEOPOLD A.C. and GUERNSEY F.S. 1953. Auxin polarity in the Coleus plant.
 (Botanical Gazette), II5, I47-I54.
- LEXANDER K. = 1953. Growth-regulating substances in roots of wheat.

 (Physiologia Plantarum), 6, 406-411.
- LUCKWILL L.C. 1956. Two methods for the bioassay of auxins in the presence of growth inhibitors. (J. horticult.Sci.), 31, 89-98.
- MOEWUS F. 1948. Ein neuer quantitativer Test für pflanzliche Wuchsstoffe. (N.W.) (2), 35, 124.
- MOEWUS F. 1949. Der Kressewurzeltest, ein neuer quantitativer Wuchsstofftest. (Biologisches Zeutralblatt), 68, II8-I40.
- NAGAO M. 1938. Studies on the growth hormones of plants. IV. Further experiments on the production of growth substances in root tips. (Sci.Rep. Tohoku Imp.Univ.), 13, 221.
- NAVEZ A.E. 1933. Growth-promoting substance and illumination.
 (Proc.Nat.Acad. Sci., Wash.), 19, 636-638.
- NIELSEN N. 1930. Unter suchungen über einen neuen wachstumsreguliereuden Stoff: Rhizopin. (Jb.wiss.Bot.), 73, I25-191.
- OSBORNE D.J. 1958. Growth of eticlated section of pea internode following exposures to indole-3-acetic acid, 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and 2,5-dichlorobenzoic acid. (Plant physiol.), 33, 46-57.

. .

OTTE K. - 1937. Die Wuchsstoffe im Leben der höheren Pflanze. (Friedr. Vieweg et Sohn, Braunschweig).

- OVERBEEK van J., GORDON S.A. and GREGORY L.E. 1946.
 An analysis of the function of the leaf in the process of root formation in cuttings.
 (American Journal of Botany), 33, 100-107.
- PALSER B.A. 1942. Histological responses of Vicia faba to indoleacetic acid. (Botanical Gazette), IO4, 243.
- PILET P.E. 1951. Contribution à l'étude des hormones de croissance (auxines) dans la racine du Lens culinaris Medikus.

 (Mém.Soc.Vand.Sc.Nat.), 10, 137-244.
- PILET P.E. 1953. Physiologie des racines du Lens culinaris Med. et hormones de croissance. (Phyton. Austria), 4, 247-262.
- PILET P.E. 1953. Variations histophysiologiques des racines du Lens culinaris Med. à la suite de traitements auxiniques. (C.R. de l'Acad. des Sciences), 237, 1352.
- PILET P.E. 1954. Variations de croissance des racines et phénomènes auxiniques. (VIII Congrès International de Bota., Paris), II, 178-179.
- PILET P.E. 1954. Rôle de l'hétéroauxine et de l'hydrazide maléique dans la rhizogenèse des pointes de racines de Carotte.

 (C.R. de l'Acad. des Sciences), 239, 1412.
- PILET P.E. 1961. Les phytohormones de croissance. (Masson éditeurs, Paris).
- PILET P.E., KOBR M. & SIEGENTHALER P.A. 1960. Proposition d'un test racine (Lens) pour le dosage auxinique (Méthode et quelques problèmes biochimiques).

 (Revue gén. de Bota.).

- PILET P.E. & MARGOT L. 1955. Application d'hétéroauxine et d'hydrazide maléique, contenues dans de la lanoline, sur les racines du Lens culinaris Med. et répercussion sur leur croissance, leur rhizogenèse et leur morphologie. (Bull. Soc.Bot. suisse), 65, 47-59.
- ROBBINS W.J. 1922. Cultivation of excised root tips and stem tips under sterile conditions. (Botanical Gazette), 73, 376-390.
- RUHLAND W. 1961.

 (Encycloped is of plant Physiology). Vol.XIV.

 Growth and growth substances. (Springer-Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg).
- SCOTT F.M. 1938. Anatomy of auxin-treated etiolated seedlings of Pisum sativum. (Botanical Gazette), 100, 167-185.
- SNOW R. 1935. Activation of cambial growth by pure hormones.

 (New Phytologist), 34, 347-360.
- STREET H.E. 1957. Excised root culture. (Biological Review), 32, 117-155.
- STREET H.B., Mc GREGOR S.M. and SUSSEX I.M. 1954.

 Effects of 3-indolylacetic acid and 3-indolylacetonitrile on the growth of excised tomato roots.

 (Journal of Experimental Botany), 5, 204.
- STRUCKMEYER B.E. 1951. Comparative effects of growth substances on stem anatomy.

 (Proceeding of a symposium, Wisconsin: Plant growth substances Ed. Skoog).
- THIMANN K.V. 1936. Auxins and the growth of roots. (American Journal of Botany), 23, 561-569.
- THIMANN K.V. 1956. L'origine et les fonction des auxines. (Centre de Documentation univ. Paris).

- substances Identity of 1935. Identit promoting and 0 B.J. IOI and KOEPFLI 135, plants. (Nature), growth of plan K.V. THIMANN
- by roots Journal of Botany), 37, 257-264 of lateral induction The J.G. - 1950. J doleacetic s (American Jo TORREY
- lateral 9, 370-388 Stany), 9, 370-Chemical factors limiting isolated of Botany G. - 1956. Chemica root formation in (American Journal J.G. root
- 40I° J.G. - 1959. The initiation of lateral roots. (Congrès international de Bota., Montréal), TORREY
- K.V. _ 1937. Phytohormones Co N.Y.). F.M. & THIMANN (Mc Millan WENT
- liquid medium. growth R. - 1934. Potentially unlimited excised tomato root tips in a lique (Plant Physiol.), I2, 777-791. Ph. R.
- Admont, GRETSCHY G. - 1952. Veröff. esanst. alp. Landivirtschaftia), 6, 124-137. A. und (Bundesanst, shustria), 6, 1 ZELLER
- which cause nitiation of ses in plants. cal growth substances whi root and other responses (Contrib. Boyce Thompson ZIMMERMANN P.W. and WILCOXON F. cal growth substances v growth
- Solue Of growth substances applied as scas vapours.

 Boyce Thompson Instit.), IO, 36 and tions and (Contrib. 40 ZIMMERMANN P.W.

TABLE DES MATIERES.

e . e . e . e . e

Intro	duction	2
PREMIERE	PARTIE:	
CHAPI	TRE PREMIER : HISTORIQUE	4
I	La culture des tissus	4
II	Action des facteurs phytohormonaux sur la croissance des racines	6
III	Action des facteurs phytohormonaux sur la morphologie et la structure anatomique des racines	9
IV	Action des facteurs phytohormonaux sur la formation des radicelles	13
СНА РІ	TRE SECOND : TECHNIQUES	15
I	Techniques biologiques	15
	A - Stérilisation et germination des graines	15
	B - Milieu de culture	16
	C - Ensemencements primaires	19
	I - Mise en culture des racines de plantules	19
	2º - Mise en culture des racines isolées	20

20

2° - Repiquages de segments sans apex	D - Repiquages	20
TI. Techniques histologiques		21
II. Techniques histologiques		22
I° - Fixation et déshydratation	E - Conditions de culture	23
2° - Inclusion	II. Techniques histologiques	23
Journal Coupes	Iº - Fixation et déshydratation	23
III. Expression des résultats	2° - Inclusion	23
III. Expression des résultats	3° - Coupes	24
A - Ensemencements primaires	4° - Coloration et montage	24
A - Ensemencements primaires		
B - Repiquages	III. Expression des résultats	25
DEUXIEME PARTIE - RESULTATS EXPERIMENTAUX: CHAPITRE TROISIEME: ENSEMENCEMENTS PRIMAIRES I. Action de l'acide indolyl-acétique (A.I.A)	A - Ensemencements primaires	25
CHAPITRE TROISIEME: ENSEMENCEMENTS PRIMAIRES I. Action de l'acide indolyl-acétique (A.I.A)	B - Repiquages	26
CHAPITRE TROISIEME: ENSEMENCEMENTS PRIMAIRES I. Action de l'acide indolyl-acétique (A.I.A)		
I. Action de l'acide indolyl-acétique (A.I.A)	DEUXIEME PARTIE - RESULTATS EXPERIMENTAUX :	
(A.I.A)	CHAPITRE TROISIEME: ENSEMENCEMENTS PRIMAIRES	28
I° - Racines de plantules entières. 28		28
2° - Racines isolées 29	A - Aspect morphologique des racines	28
	I° - Racines de plantules entières.	28
B - Croissance des racines 34	2° - Racines isolées	29
	B - Croissance des racines	34

V	Action de l'acide gibbérellique	85
	A - Aspect morphologique des racines	85
	B - Croissance des racines	86
	C - Structure anatomique des racines	86
CHA PI	TRE QUATRIEME : REPIQUAGES	91
ı.	Repiquage de fragments avec apex	91
II.	Repiquage de fragments sans apex	92
	A - Conditions de la prolifération	93
	Io - Action de l'A.I.A	93
	2º - Action de la kinétine	95
	3° - Action de l'A.I.A et de la ki- nétine	95
	B - Structure anatomique des fragments.	97
ROISIEM	E PARTIE :	
CHA PI	TRE CINQUIEME - CONSIDERATIONS GENERALES	
	ET CONCLUSION	98
I.	Action de divers facteurs phytohormo- naux sur l'aspect morphologique des racines	98
	A - Facteurs auxiniques	99
	B - Facteurs non auxiniques	100
		1

II.	Action de divers facteurs phytohormonaux sur l'allongement des racines	100
III	. Action de divers facteurs phytohormonaux sur la structure anatomique des racines	IOI
Physical Company		
IV.	Action de l'A.I.A et de la kinétine sur la callogenèse de fragments sans apex.	103
BIBLIOGR	APHIE	T06



m * m * m * m * m * m