50376
1966
90

50376
1966
90

UNIVERSITÉ DE LILLE FACULTÉ DES SCIENCES

MÉMOIRE

présenté

en vue de l'obtention du

DIPLOME D'ÉTUDES SUPÉRIEURES

DE SCIENCES NATURELLES

ACTION DES RAYONS X SUR LA CROISSANCE ET LE DÉVELOPPEMENT DES TISSUS D'ENDIVE

Soutenu à Lille, en Février 1966

par Jeannine COUVEZ

INTRODUCTION.

De nombreuses recherches ont été effectuées afin de connaître l'influence des rayons X sur les tissus végétaux. Ces rayons ionisants constituent un élément de choix car ils peuvent être dosés avec précision, le nombre de roentgens émis et la durée d'exposition étant quantitativement bien définis. Ces irradiations se sont révélées intéressantes dans la mesure où leur application judicieusement répartie a permis d'influencer le développement des organes. Nos études se sont portées sur les endives (Cichorium intybus L var. Witloof) qui présentent de remarquables propriétés d'organogenèse.

Je suis particulièrement sensible et reconnaissante envers Monsieur le Professeur Hocquette, Directeur de l'Institut Botanique de Lille qui préside le jury d'examen, d'avoir mis à ma disposition les moyens dont dispose la Faculté.

Les travaux ont été conduits et orientés au laboratoire de Physiologie Végétale placé sous l'autorité de Monsieur le Professeur Bouriquet. Je lui présente mes remerciements les plus vifs pour les directives, les conseils et l'attention soutenue qu'il m'a apportés. L'atmosphère de compréhension et de générosité dont il m'a honorée me conduit à lui exprimer ma profonde gratitude.

Les irradiations ont été effectuées au laboratoire de Minéralogie de l'Institut de Géologie de Lille, placé sous la direction de Monsieur le Professeur Prouvost. Je le remercie particulièrement pour toutes les facilités qu'il m'a accordées.

J'exprime tous mes remerciements et ma reconnaissance à Monsieur Vasseur assistant au laboratoire de Physiologie, pour sa collaboration et ses conseils.

Avec une vive insistance, je remercie Monsieur Ponchel pour l'aide désintéressée qu'il m'a apportée lors des irradiations au laboratoire de Minéralogie.

J'exprime ma reconnaissance à Monsieur Legrand qui m'a enseigné les techniques du laboratoire.

Enfin, j'adresse tous mes remerciements à ceux qui m'ont apporté leur aide dans une ambiance sympathique que j'apprécie.

-:-:-:-:-:-:-

HISTORIQUE.

L'action des rayons X sur les animaux est bien connue, leurs effets sur les plantes se sont également révélés très intéressants.

En I933, Shull et Mitchell mettent en évidence que des graines soumises à de faibles doses de rayons X, donnent naissance à des plantes particulièrement éxubérantes. Ces résultats furent confirmés en I943 par Smith, Kersten et Miller.

En I959, Jonard a établi que de faibles doses de rayons X éxaltent la prolifération des tissus de topinambour, tandis que de fortes doses l'affaiblissent.

Les substances de croissance des plantes irradiées sont à partir de I952, spécialement étudiées : Waggoner et Dimond démontrent qu'elles sont altérées par le rayonnement du Cobalt 60 appliqué à des tissus de crown-gall. Pour Klein et Vogel (I955) les tissus de crown-gall de tournesol (tumeur secondaire) après irradiation par les rayons X, deviennent sensibles à l'effet stimulant de l'auxine.

Jonard en I959, observe que cette sensibilité à l'auxine n'est pas durable, au cours de repiquages ultérieurs, l'auxine cesse en effet de stimuler la prolifération des tissus irradiés. Cet auteur a d'ailleurs étudié en détail l'effet des rayons X sur les tissus végétaux. Il a montré en outre que les tissus de crown-gall de scorsonère cultivés "in vitro", sont plus radiosensibles que les tissus sains correspondants.

De plus en I963, Duarte met en évidence que les tissus d'une souche

de crown-gall de tabac irradiés par les rayons X sont encore capables de produire des tumeurs lorsqu'on les greffe sur une plante entière, même si l'irradiation a été suffisamment forte pour inhiber presque complètement leur pouvoir de proliférer "in vitro".

L'action des rayons X sur la rhizogénèse fut étudiée en 1963 par Narayanaswamy, grâce aux hypocotyles de lupin. Selon la dose de rayons X utilisée, le nombre de racines est tantôt augmenté, tantôt diminué.

Gautheret a mis en évidence que le 8ème jour est la date critique pour la rhizogénèse des tissus de topinambour; c'est aussi à cette date que la radiosensibilité des tissus est maximum.

Ces différents travaux mettent donc en évidence l'action des rayons X sur la croissance et le développement des tissus végétaux.

L'objet de cette étude sera de préciser l'influence du rayonnement X sur la germination des graines et sur le développement "in vitro" des fragments de feuilles ou de racines d'endive. Ceci nous amènera à considérer l'effet de ces radiations sur la polarité extrêmement nette, manifestée habituellement par ces tissus.

I) Germination des graines et développement des plantules.

Les graines d'endive de la variété Witloof A_5 sont disposées sur du coton humide dans des boites de Pétri en plastique placées dans l'étuve à la température de 24°C. Nous obtenons en trois jours la germination; le 5ème jour de culture, les jeunes pousses ont une longueur moyenne de 0,06cm. Elles atteignent 0,6cm après huit jours. A ces deux stades de développement, nous irradions de I à 8 heures deux lots différents dans les boîtes de Pétri perméables aux rayons X. Les jeunes pousses sont repiquées en terre, la culture en pot se poursuivant en serre.

Nous remarquons qu'un certain nombre de plantules ne survivent pas à la transplantation en terre. Après cinq jours de culture sur un lot de 35 pousses 31 seulement se développent. Au 8ème jour 32 plantules du 2ème lot survivent sur le terreau.

2) Culture de tissus.

Le milieu de culture utilisé est solidifié par la gélose (0,9 pour 100). Il contient les sels minéraux de la solution de Knop diluée de moitié.

$(NO_3)_2Ca$,	$4H_2O$	0,5g
NO_3K		0,125g
SO_4Mg ,	$7H_2O$	0,125g
PO_4K		0,125g

pour 1000 cc. d'eau,

ainsi que 3 pour 100 de glucose.

Pour quelques essais, nous avons été amenés à utiliser un milieu plus complexe, celui proposé par Murashige et Skoog (I962) qui contient en outre différents éléments organiques.

Le milieu réparti dans des tubes à essais est stérilisé selon la technique préconisée par Gautheret (I959).

— Les racines épluchées sont stérilisées 20mn par l'hypochlorite de calcium (90g par litre) puis rincées par trois bains successifs d'eau stérilisée. Elles sont ensuite débarrassées des tissus nécrosés puis découpées en prismes. Chaque explantat est, après irradiation dans des boîtes de Pétri, mis en culture dans une position semblable à celle qu'il occupe dans la racine, c'est-à-dire la région basale plongeant dans le milieu de culture.

— La technique de culture des fragments de feuilles est différente : après stérilisation par l'hypochlorite de calcium à raison de 70g par litre pendant 20mn, les feuilles sont lavées par trois bains successifs d'eau stérilisée.
Sur ces feuilles, on prélève aseptiquement à l'aide d'un trocart, des disques ayant I,6cm de diamètre.

Comme l'a montré Vasseur (I965), les explantats se comportent différemment selon qu'ils proviennent des feuilles externes (E), médianes (M) et centrales (C), et sur une même feuille, selon leur lieu de prélèvement dans la région basale (I), apicale (3) ou intermédiaire (2).

La culture des disques de feuilles est réalisée selon plusieurs orientations :

- soit enfoncés dans le milieu de culture, la partie apicale plongeant dans ce milieu,
- soit disposés parallèlement à la surface du milieu gélosé, la partie basale étant repérée sur le tube de culture.

3) Technique d'irradiation.

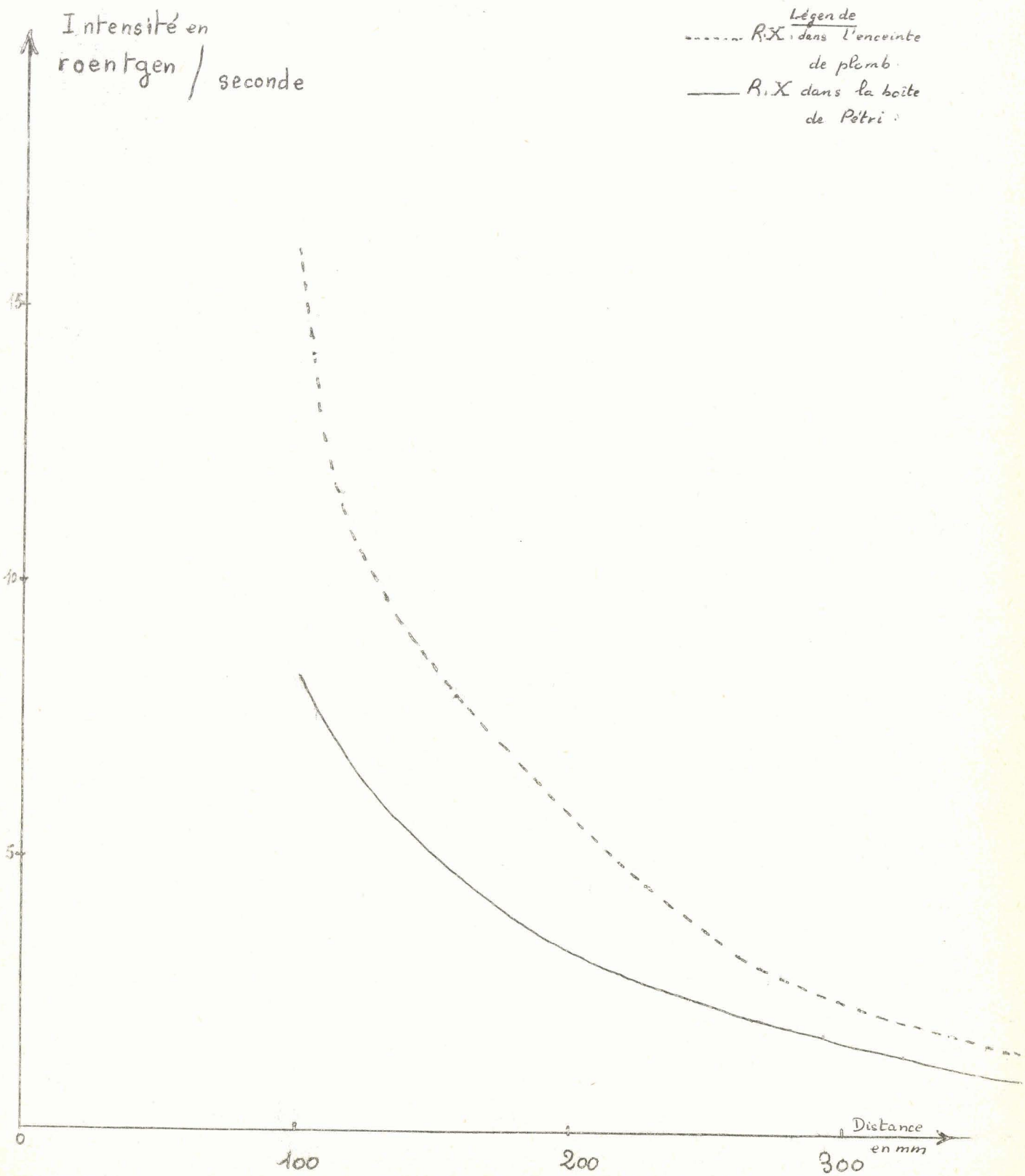
L'irradiation des tissus et des graines d'endive est réalisée par un tube de rayons X qui fonctionne sous une intensité constante de 4 milliampères et à une tension de 30 kilovolts.

Les rayons X sont émis dans une enceinte de plomb et l'intensité du rayonnement exprimé en roentgens par minute, diffère selon la distance à la source.

Nous faisons varier les temps d'exposition aux rayonx X des différents organes en échelonnant par heure la durée d'irradiation (graphique I).

Les graines et les fragments de racines sont irradiés dans des boîtes de Pétri en plastique, placés à 19cm de la source, ces organes reçoivent 240 roentgens par minute. Il en est de même pour les disques de feuilles irradiés en cours de culture. Par contre les feuilles d'endive placées directement dans l'enceinte de plomb à 35cm de la source, sont irradiées à la dose de 108 roentgens par minute.

Intensité du rayonnement X en fonction de la distance à la source.



Graphique I

TABLEAU I

Nombre de roentgens reçu par les organes végétaux en fonction de la durée d'irradiation

Durée d'irradiation par heure	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Nombre de roentgens reçu par les tissus placés dans les boites de Pétri	14 400	28 800	43 200	57 600	72 000	86 400	100 800	115 200	129 600	144 000
Nombre de roentgens reçu par les tissus placés hors des boites de Pétri	6 480	12 690	19 440	25 920	32 400	38 800	45 360	51 840	58 320	64 800

I - Action des rayons X sur les jeunes plantules.

Nous avons étudié l'effet des rayons X sur de jeunes plantules, 5 et 8 jours après leurs mises en germination. Rappelons qu'elles sont irradiées dans des boîtes de Pétri et reçoivent 240 roentgens par minute.

Certaines pousses avortent complètement après l'irradiation, nous définissons ainsi un pourcentage de survie. (Tableau 2).

Tableau II.

Pourcentage de survie des plantules irradiées 5 ou 8jours après leurs mises en germination.

Nombre de roentgens.		0	I4400	28800	72000	II5200
RX après 5 jours	Nombre de plantules non détruites sur 35.	3I	27	27	25	23
	pourcentage de survie.	88,6	73,4	73,4	7I,5	65,7
RX après 8 jours	Nombre de plantules non détruites sur 35.	32	29	28	28	25
	pourcentage de survie.	9I,5	82,86	80	80	7I,5

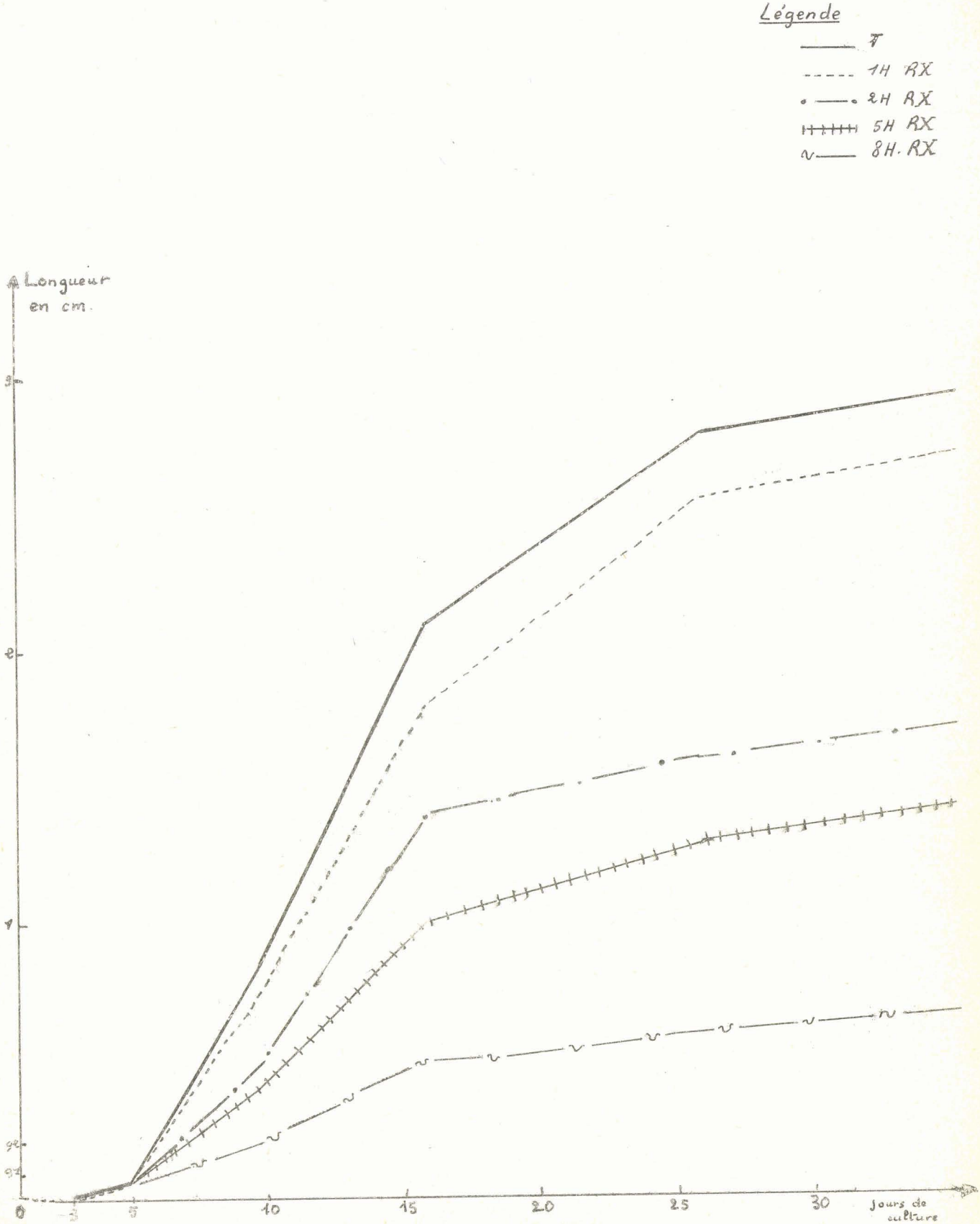
Nous savons qu'un certain nombre de plantules n'ont pas survécu à leur transplantation en terre. Après irradiation ce nombre est plus important ce qui est du à l'effet toxique des rayons X.

La résistance à l'effet inhibiteur est plus grande pour les pousses âgées de 8jours que pour les plantules âgées de 5jours, mais dans les deux cas, le pourcentage de "reprise" diminue proportionnellement à des doses croissantes de rayons X.

Le développement des plantules âgées de 5jours est plus inhibé pour un même temps d'irradiation que celui des jeunes pousses de 8jours. (Graphiques 2 et 3); ceci est particulièrement net après 2heures d'irradiation. De plus, nous observons une légère activation de la croissance des plantules âgées de 8jours, irradiées pendant I heure. On peut se demander si cette stimulation ne serait pas due au fait que le nombre des cellules en voie de multiplication est relativement moins grand que chez les plantules plus jeunes, les effets inhibiteurs des rayons X sont alors moins importants. Il faudrait alors admettre que l'effet des rayons X se manifeste différemment sur les cellules en voie de prolifération et sur les cellules en voie d'élongation ou de différenciation. Il faut noter que dans les deux cas, la croissance s'effectue suivant le même rythme que celui des témoins. L'inhibition provoquée par les rayons X n'est donc pas suivie au cours du développement d'une récupération.

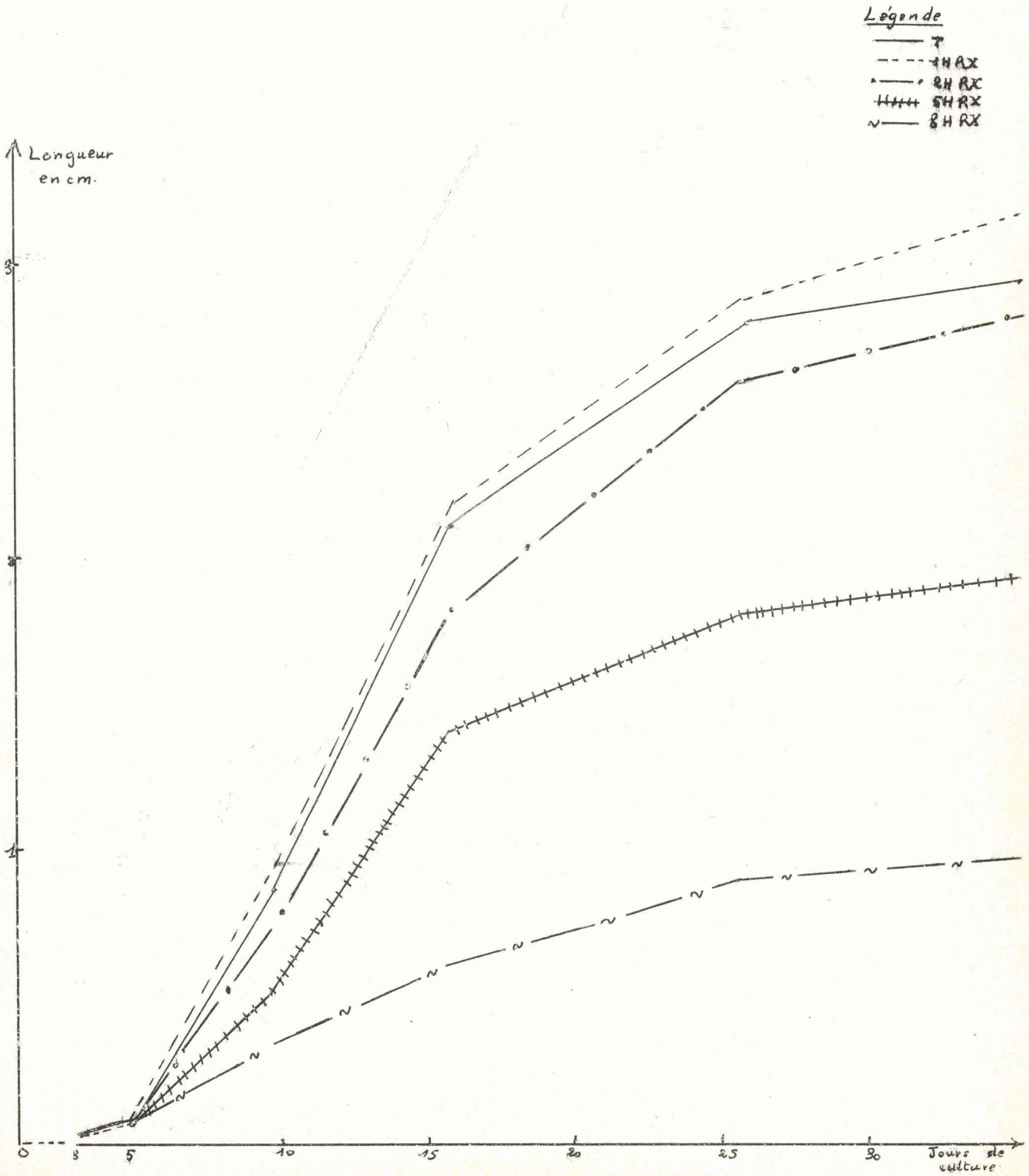
L'aspect morphologique des jeunes plantules n'est pas modifié même après une irradiation prolongée. Nous remarquons cependant une coloration rose de la tige de la plantule après 5 heures d'irradiation.

Action des rayons X sur la croissance des plantules irradiées 5 jours après leur germination.



Graphique 2

Action des rayons X sur la croissance des plantules irradiées 8 jours après leur germination.



Graphique 3

A) Irradiations avant la mise en culture.

Les fragments de racine cultivées en présence des sels minéraux de la solution de Knop et de 3 pour 100 de glucose, se développent spontanément en formant un cal volumineux à la région basale, tandis qu'à la face foliaire, la zone génératrice donne naissance à des protubérances de plus petites tailles sur lesquelles se différencient des bourgeons à partir du 12ème jour de culture. Lorsque les explantats sont irradiés avant leur mise en culture, les effets des rayons X se manifestent à l'égard des phénomènes de callogénèse et d'organogénèse.

La prolifération des fragments irradiés est moins intense et se trouve retardée par rapport à celle témoins.

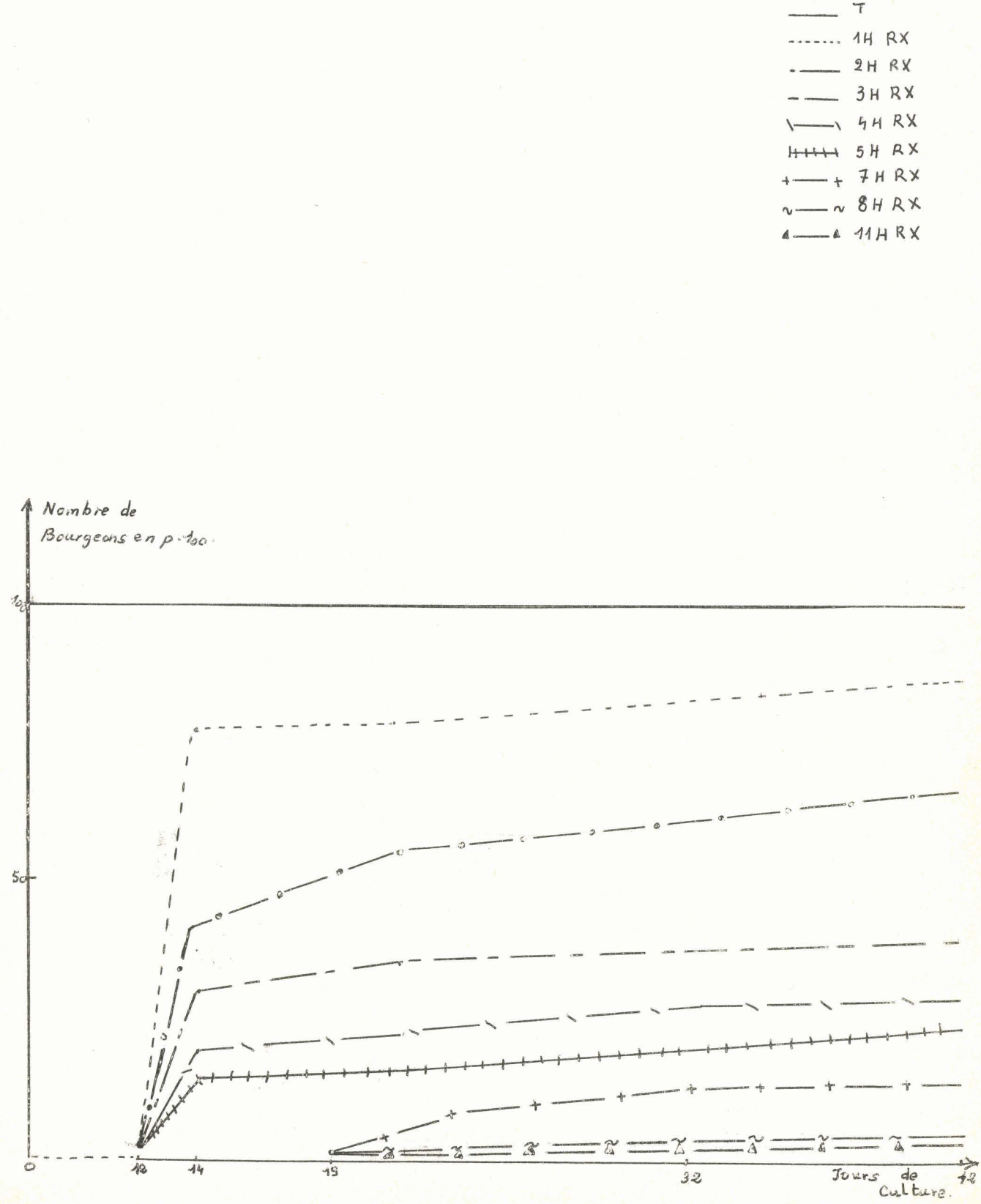
L'effet des rayons X s'exerce aussi sur les bourgeons néoformés en modifiant leur date d'apparition, leur lieu de formation sur les explantats, leur nombre et la croissance de chacun d'eux.

Les résultats des expériences sont résumés dans le graphique 4 qui montre que si l'irradiation est reçue pendant plus de 7 heures, les bourgeons se forment après 19 jours de culture, c'est-à-dire que leur apparition est retardée d'une semaine. De plus, soulignons que dans ce cas, les bourgeons prennent naissance uniquement à la face foliaire des explantats alors que chez les témoins, ils apparaissent aussi au niveau du cal produit par la région radiculaire et à la périphérie du fragment. En fin de culture, le nombre de bourgeons néoformés varie en fonction inverse de la durée d'irradiation :

- 1 à 2 heures d'irradiations laissent se développer 90 à 65%

Influence des rayons X sur la formation des bourgeons par les fragments de racines d'endive cultivés "in vitro".

I6



Graphique 4.

du nombre de bourgeons des témoins. Les doses moyennes (3 à 5 heures de rayons X) permettent d'obtenir 40 à 25% de ce nombre. Les fortes doses (8 heures de rayons X) réduisent à 3% la néoformation des bourgeons.

La croissance des bourgeons (graphique 5) est également modifiée par les rayons ionisants. Elle est réduite de 5% après I heure d'irradiation. Cette inhibition augmente avec des doses croissantes de rayons X, elle est de plus de 80% après II heures d'exposition.

L'effet des rayons X sur les tissus de racines d'endive se manifeste donc en ralentissant la prolifération cellulaire, en retardant l'apparition des bourgeons dont le nombre ainsi que le développement sont réduits.

B) Irradiations après 5 ou 9 jours de culture.

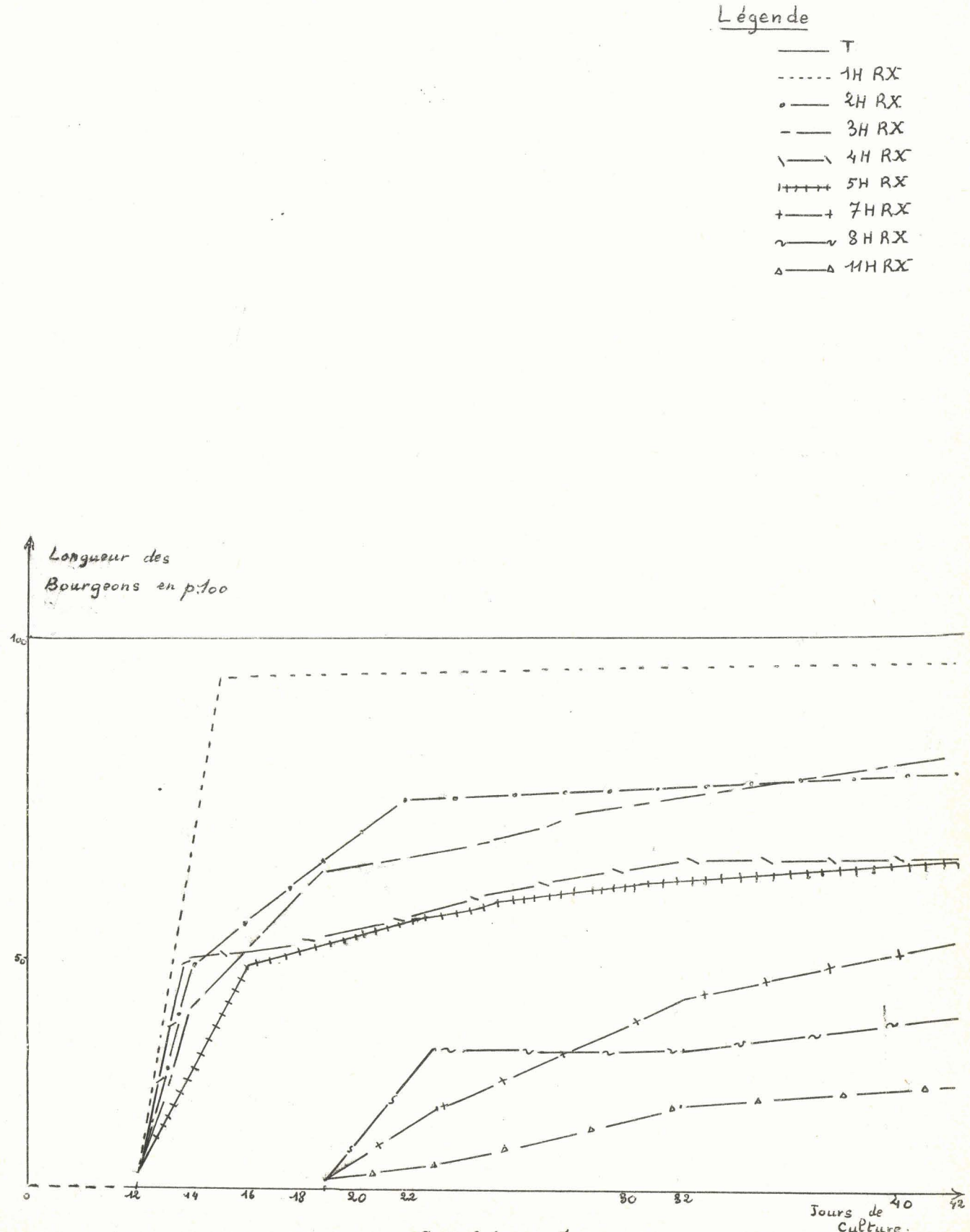
Lors des expériences précédentes, l'irradiation était effectuée avant la mise en culture des explantats. Nous pouvions nous demander si la sensibilité des tissus était différente après quelques jours de culture, lorsque la prolifération s'installe et que les bourgeons sont sur le point d'apparaître.

Nous avons donc soumis à l'irradiation deux lots d'explantats, le premier après 5 jours, le second après 9 jours de culture.

Le graphique 6 exprime le nombre de bourgeons néoformés sur des fragments de racines soumis à différentes doses de rayons X après 5 jours de culture.

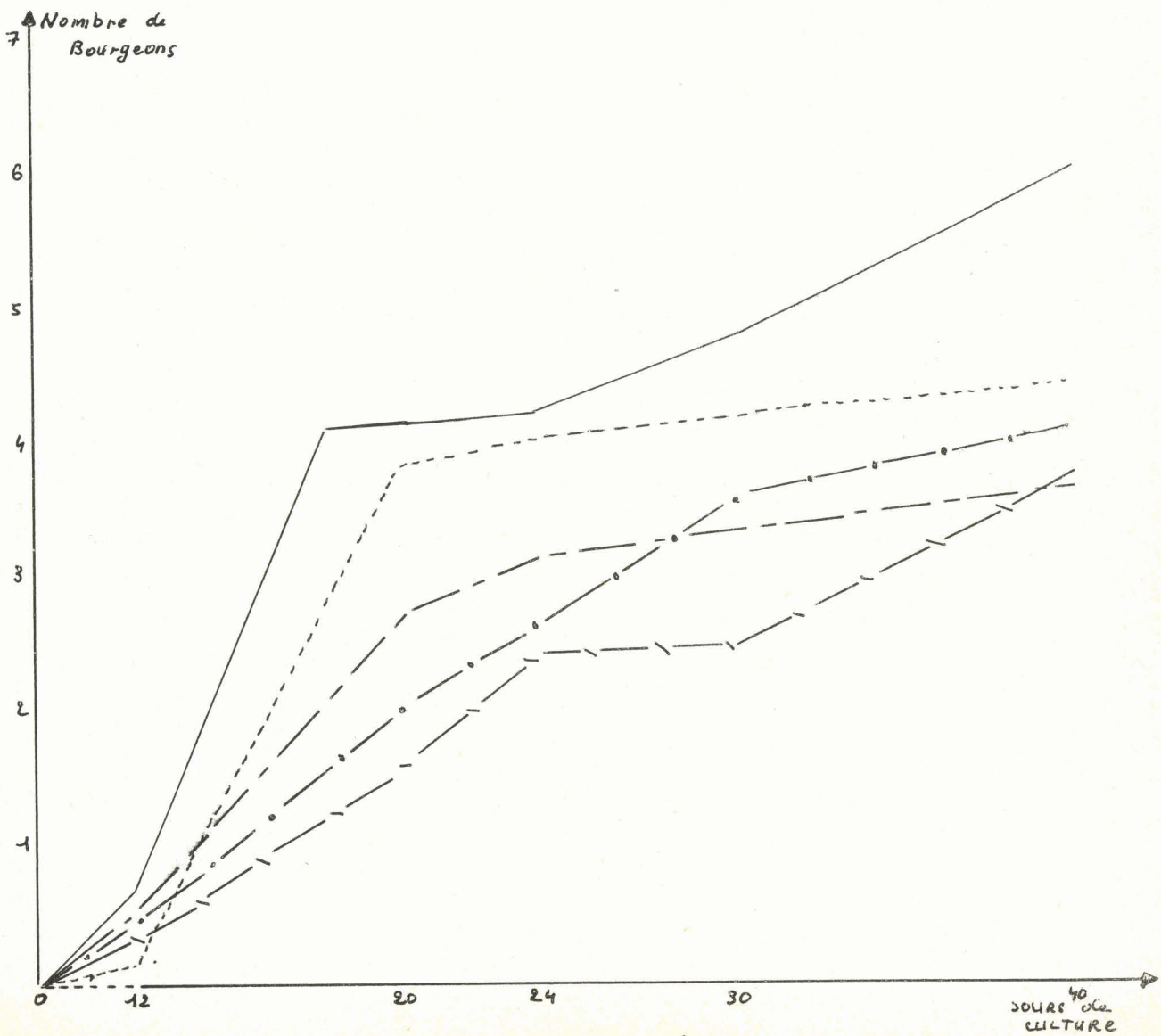
Des irradiations de I4.400 à 57.600 roentgens ne retardent pas l'apparition des premiers bourgeons qui se développent dès le I2ème jour de culture comme chez les témoins. Cependant, le

Influence des rayons X sur le développement des bourgeons néoformés des fragments de racines d'endive cultivés "in vitro".



Graphique 5.

Nombre de bourgeons apparus sur des fragments de racines irradiés 5 jours après leur mise en culture.



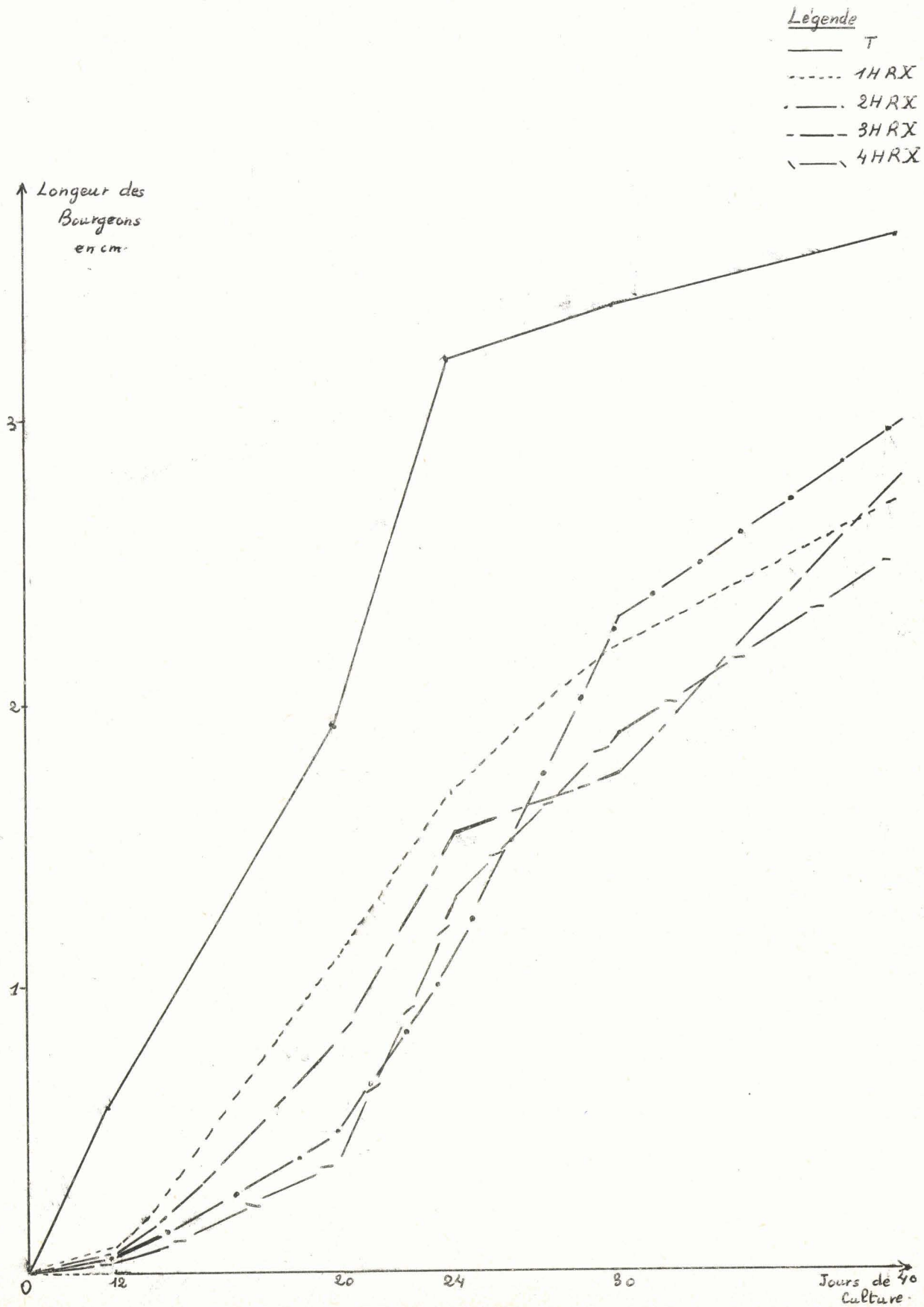
Graphique 6.

nombre de bourgeons est alors très réduit : I2,5% par rapport au nombre de bourgeons des témoins à la même date. Du I2ème au 20ème jour de nombreux bourgeons apparaissent, cette néoformation se poursuit jusqu'en fin de culture et met en évidence que ces tissus, contrairement aux plantules, possèdent un pouvoir de récupération extrêmement net.

La croissance des bourgeons (graphique 7) confirme les résultats précédents : faible au début de culture, elle s'accélère progressivement témoignant du pouvoir de récupération important qui ne permet cependant pas d'atteindre la taille des bourgeons témoins même après 40 jours de culture.

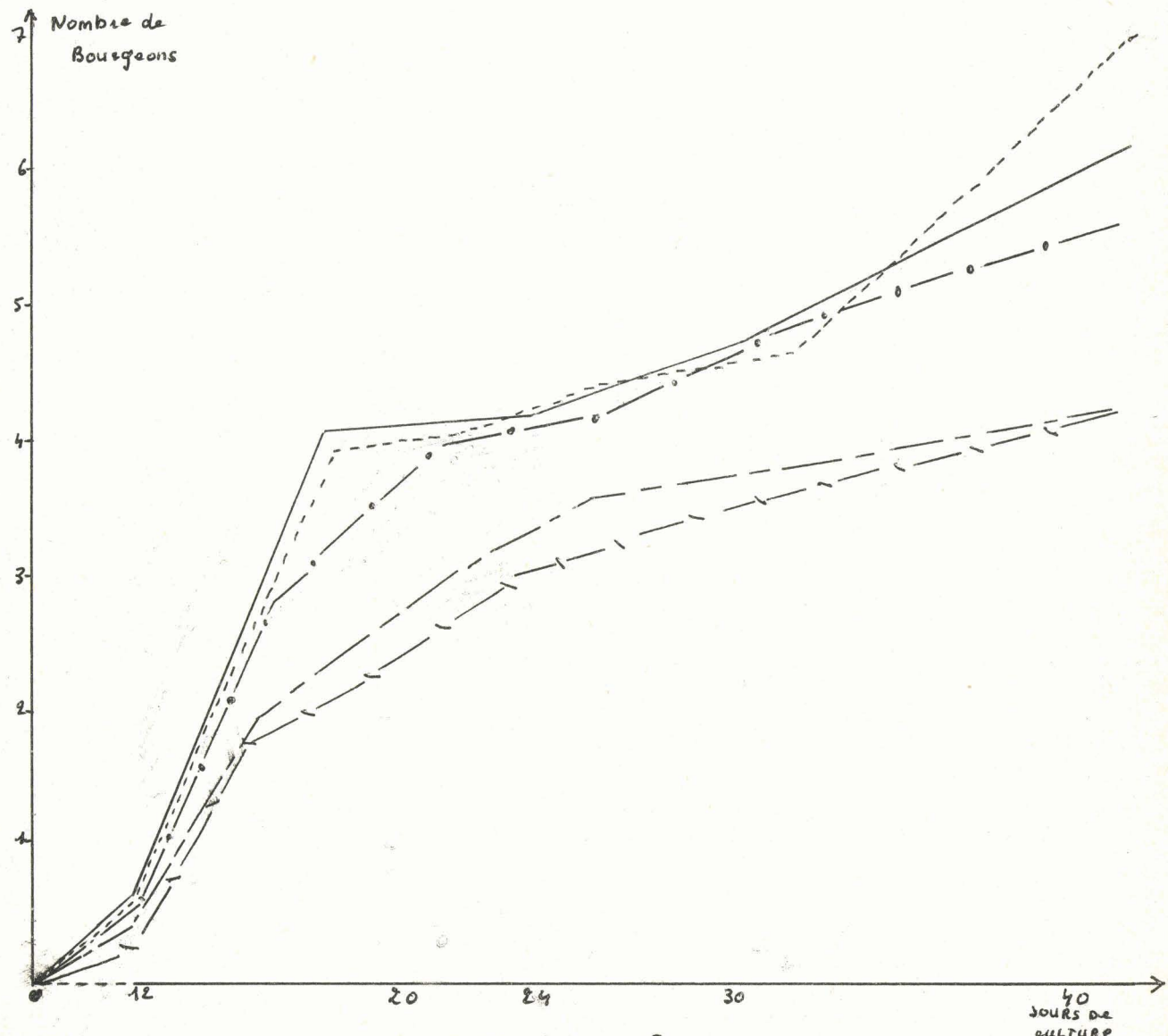
Si l'irradiation est effectuée après 9 jours de culture (graphiques 8 et 9), le nombre de bourgeons est, trois jours plus tard, plus élevé que dans le cas précédent. Il n'y a en outre aucune inhibition à la dose de I4.400 roentgens. De plus 57.600 roentgens permettent d'obtenir en fin de culture 68% du nombre de bourgeons des témoins, au lieu de 62%. La taille des bourgeons est sensiblement identique dans les deux cas.
Ainsi, les tissus de racines d'endive sont plus radiosensibles après 5 jours qu'après 9 jours de culture. Cette sensibilité se traduit dans tous les cas par une inhibition suivie d'une récupération plus ou moins importante selon les doses de rayons X.

Longueur des bourgeons obtenus sur des fragments de racines irradiés 5 jours après leur mise en culture.



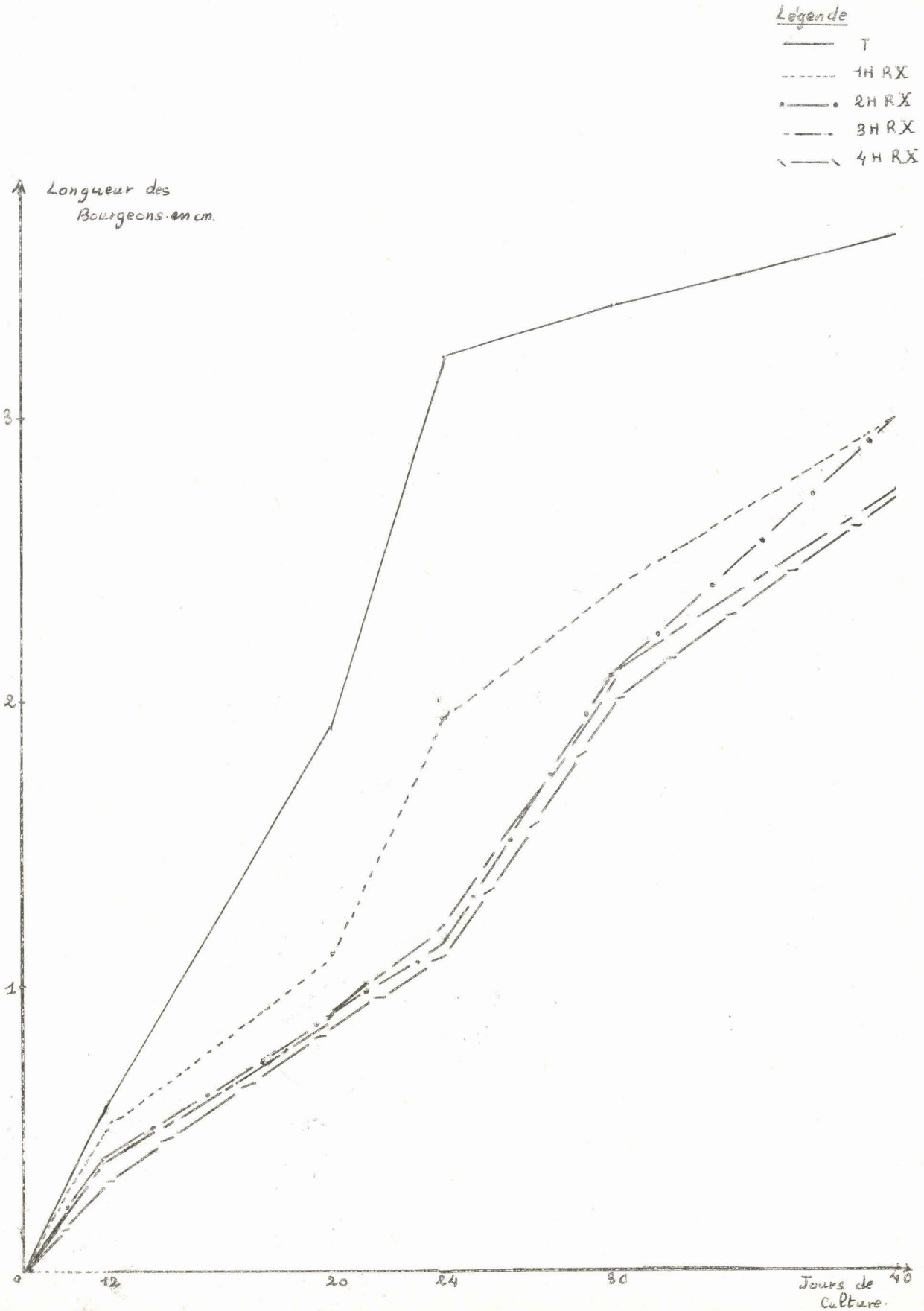
Graphique 7.

Nombre de bourgeons apparus sur des fragments de racines irradiés 9 jours après leur mise en culture.



Graphique 8.

Longueur des bourgeons obtenus sur des fragments de racines irradiés 9 jours après leur mise en culture.



Graphique 9.

III - Action des rayons X sur les tissus de feuilles.

On pourrait se demander si l'effet des rayons X se manifesterait de façon identique sur les tissus de racines et sur ceux de feuilles. Nous avons donc cultivé des fragments de ces organes, mais nous savons (Vasseur 1965) que leur capacité de prolifération et d'organogénèse, varient selon leur lieu de prélèvement sur les feuilles ou selon la position des feuilles dans les bourgeons. Il était donc intéressant de vérifier si l'action des rayons X était identique dans les deux cas.

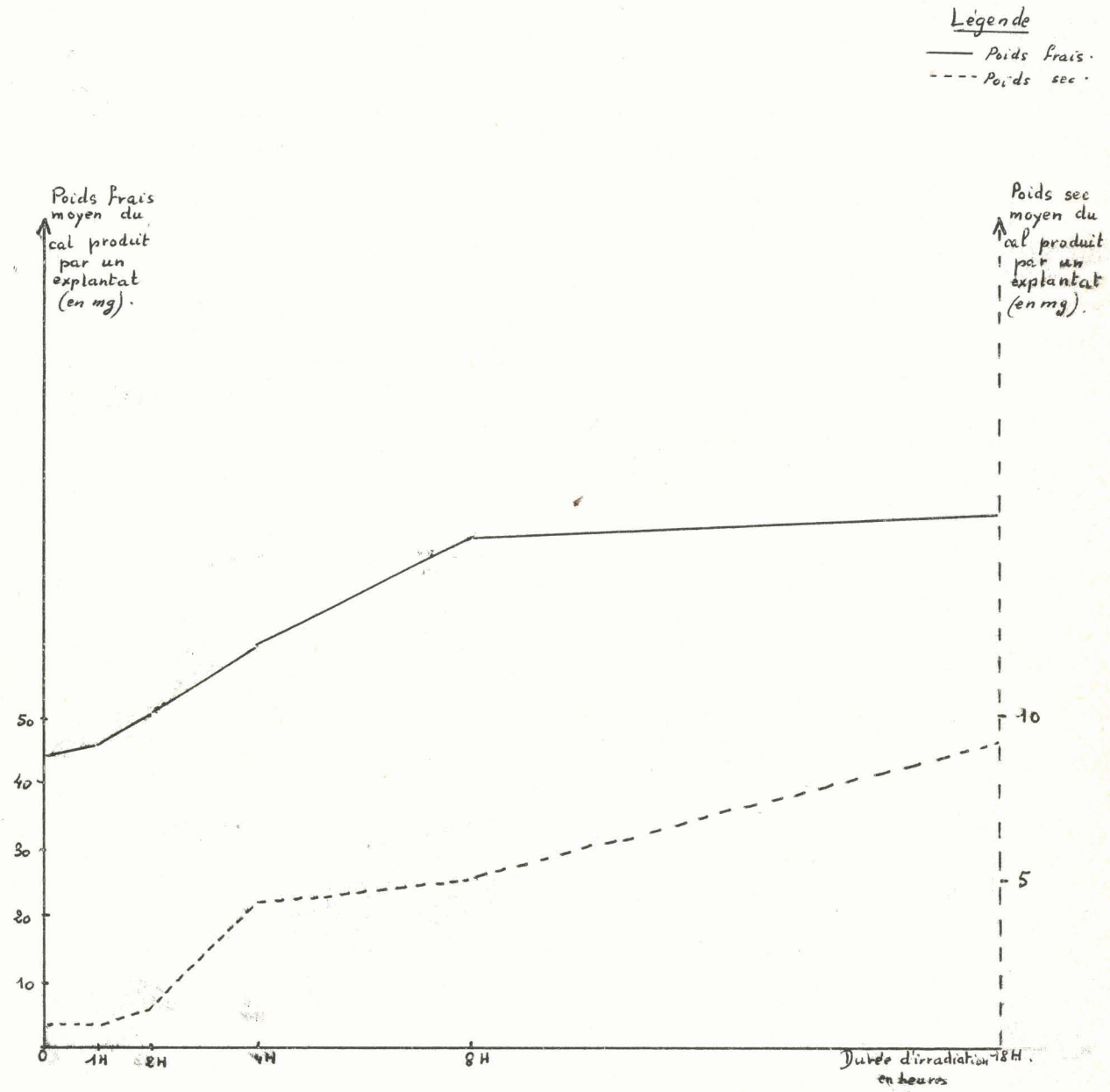
A) Irradiations avant la mise en culture.

I° - Explantats placés perpendiculairement au milieu.

Dans une première série d'expériences nous avons étudié l'influence des rayons X sur la callogénèse. Les explantats prélevés à la partie médiane (2) des feuilles moyennes M de l'endive, sont irradiés avant la mise en culture. La valeur de la prolifération est sensiblement égale à la moyenne de celle observée d'une part à l'apex, d'autre part à la base des feuilles. Vasseur (1965).

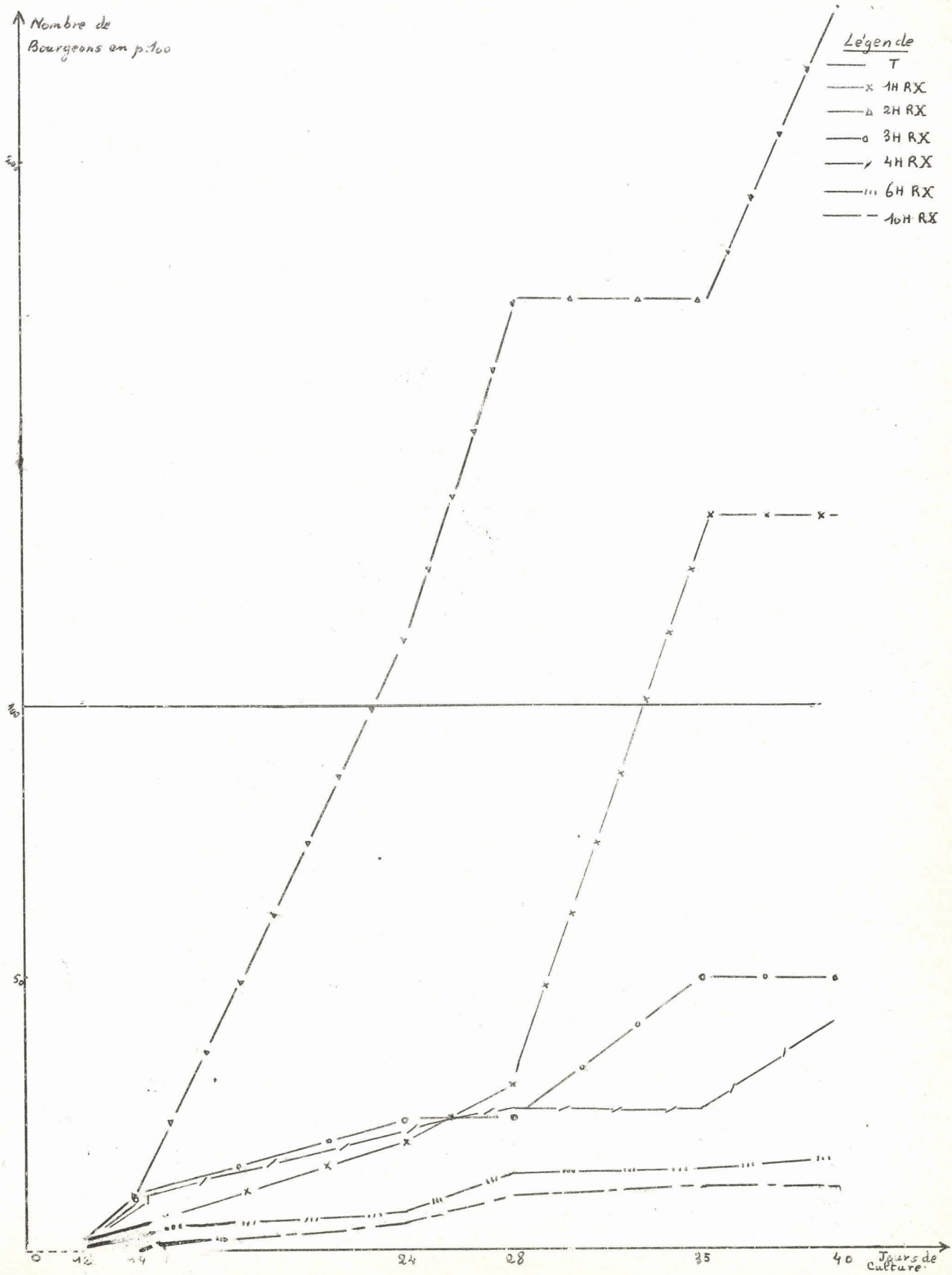
Le graphique IO représente les valeurs moyennes des poids frais et secs des cals obtenus sur les explantats prélevés en position médiane des feuilles moyennes. Nous constatons que la callogénèse augmente en fonction des doses croissantes de rayons X. Cette stimulation paraît surprenante à première vue. La prolifération du cal se ralentit lorsque les bourgeons commencent à se développer. Comme nous le verrons ultérieurement les doses élevées de rayons X diminuent le nombre des bourgeons et par conséquent

Influence des rayons X sur la prolifération des tissus prélevés au milieu des feuilles moyennes de l'endive.



Graphique IO.

Influence des rayons X sur le nombre moyen de bourgeons apparus sur les explantats prélevés à la partie moyenne des feuilles externes.



Graphique II.

agiraient indirectement sur l'importance du cal.

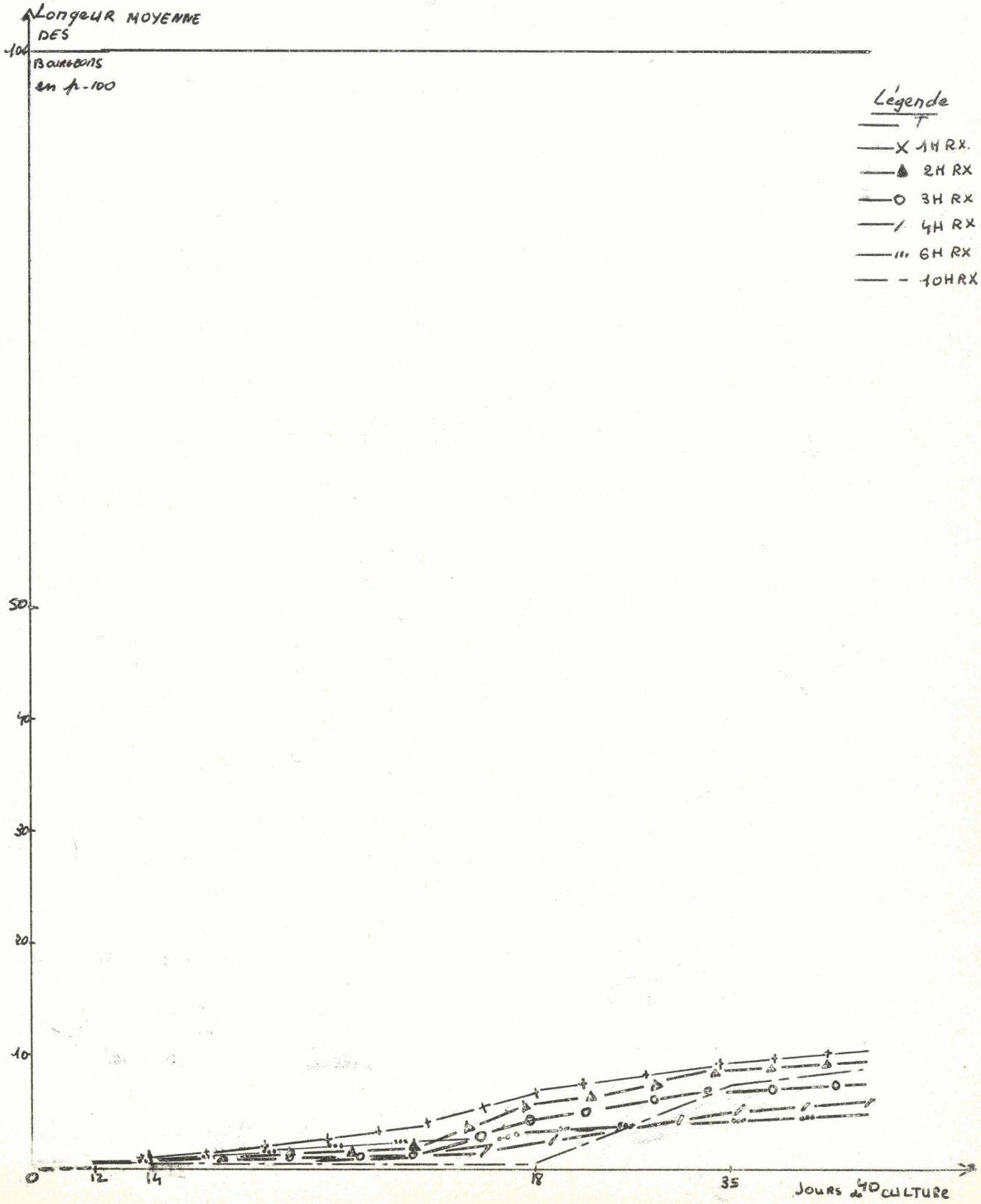
Les bourgeons apparaissant sur les cals, il est intéressant de connaître l'influence des rayons X sur leur développement. Nous expérimentons en premier lieu sur les explantats de la partie moyenne (2) des feuilles externes (E). Nous remarquons qu'au cours de la culture (graphique II), une irradiation de courte durée (I à 2 heures) augmente la néoformation des bourgeons qui apparaissent à la même date que sur les fragments témoins. Leur taille est cependant beaucoup plus réduite (graphique I2).

Si l'irradiation est prolongée (IO heures), l'apparition des premiers bourgeons est retardée de 2 jours, ceux-ci sont d'ailleurs moins nombreux et leur taille est très faible. L'inhibition provoquée par les rayons X sur les tissus de feuilles externes, augmente donc avec des doses croissantes.

Sur les fragments provenant du lot (2) des feuilles moyennes (M), les irradiations ne retardent pas l'apparition des bourgeons néoformés (graphique I3) même lorsqu'elles sont prolongées. Pour les faibles doses, les rayons X favorisent la néoformation des bourgeons dont la taille (graphique I4) est légèrement supérieure à celle des témoins. Il y a donc dans ce cas une véritable stimulation due aux rayons X. Une exposition de plus en plus longue aux rayons X diminue au contraire le nombre et la croissance des bourgeons; l'inhibition est cependant moins accentuée que chez les fragments provenant des feuilles externes.

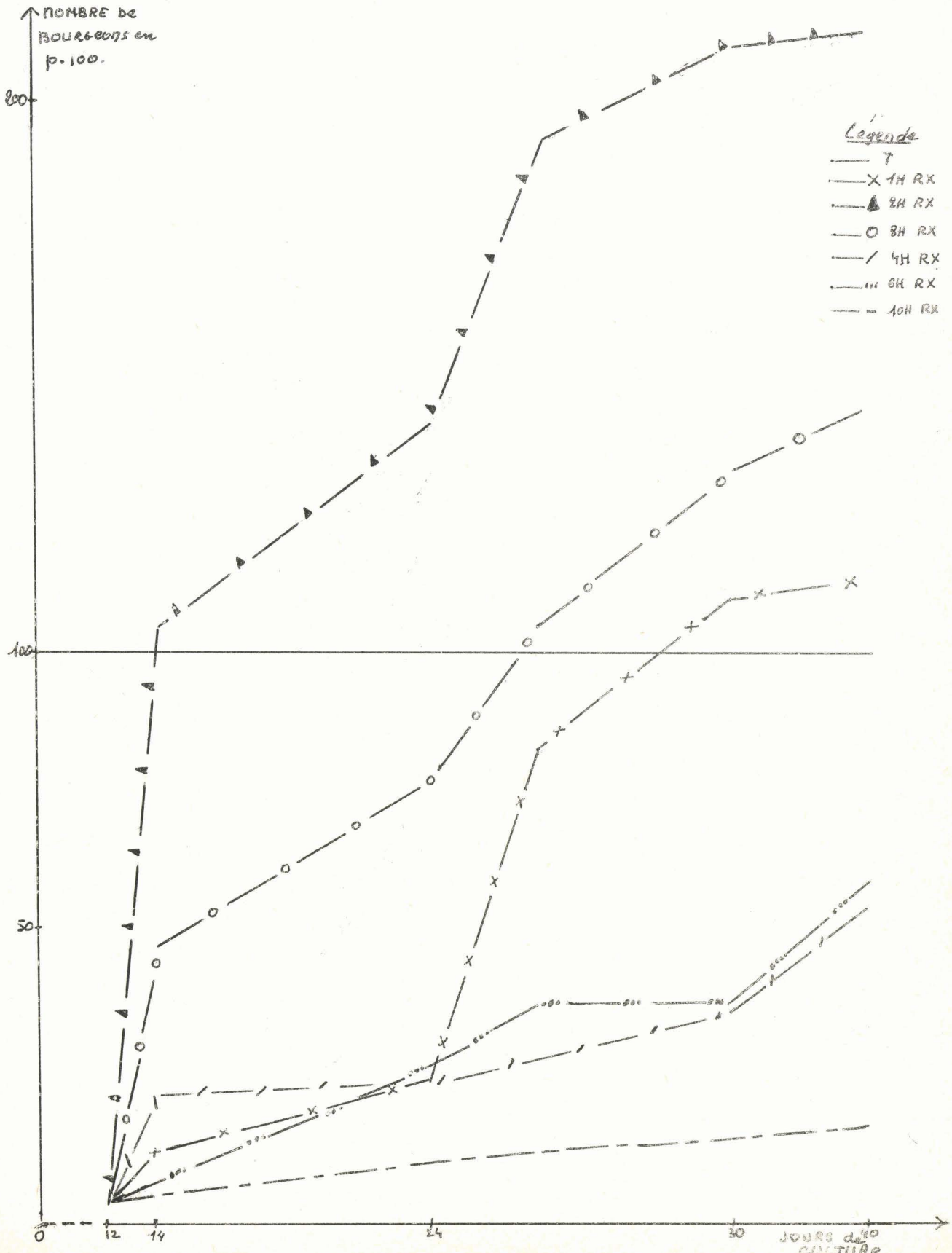
Sur les explantats prélevés au milieu (2) des feuilles centrales (C), il n'y a aucun retard d'apparition des premiers bourgeons (graphique I5) quelle que soit la dose de rayons X

Influence des rayons X sur la taille des bourgeons apparus sur les explantats prélevés à la partie moyenne des feuilles externes.



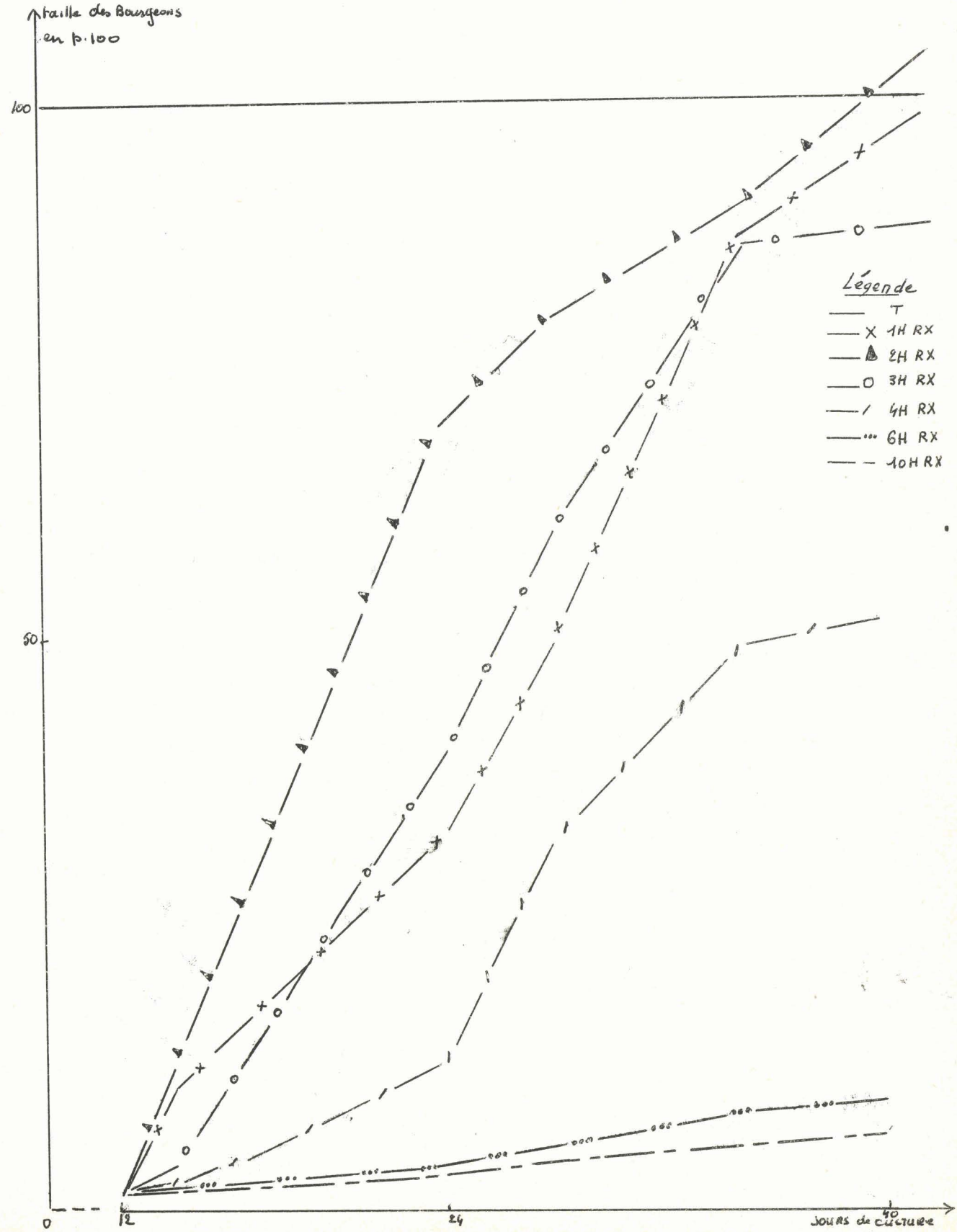
Graphique I2.

Influence des rayons X sur le nombre moyen des bourgeons apparus sur les explantats prélevés à la partie médiane des feuilles moyennes.



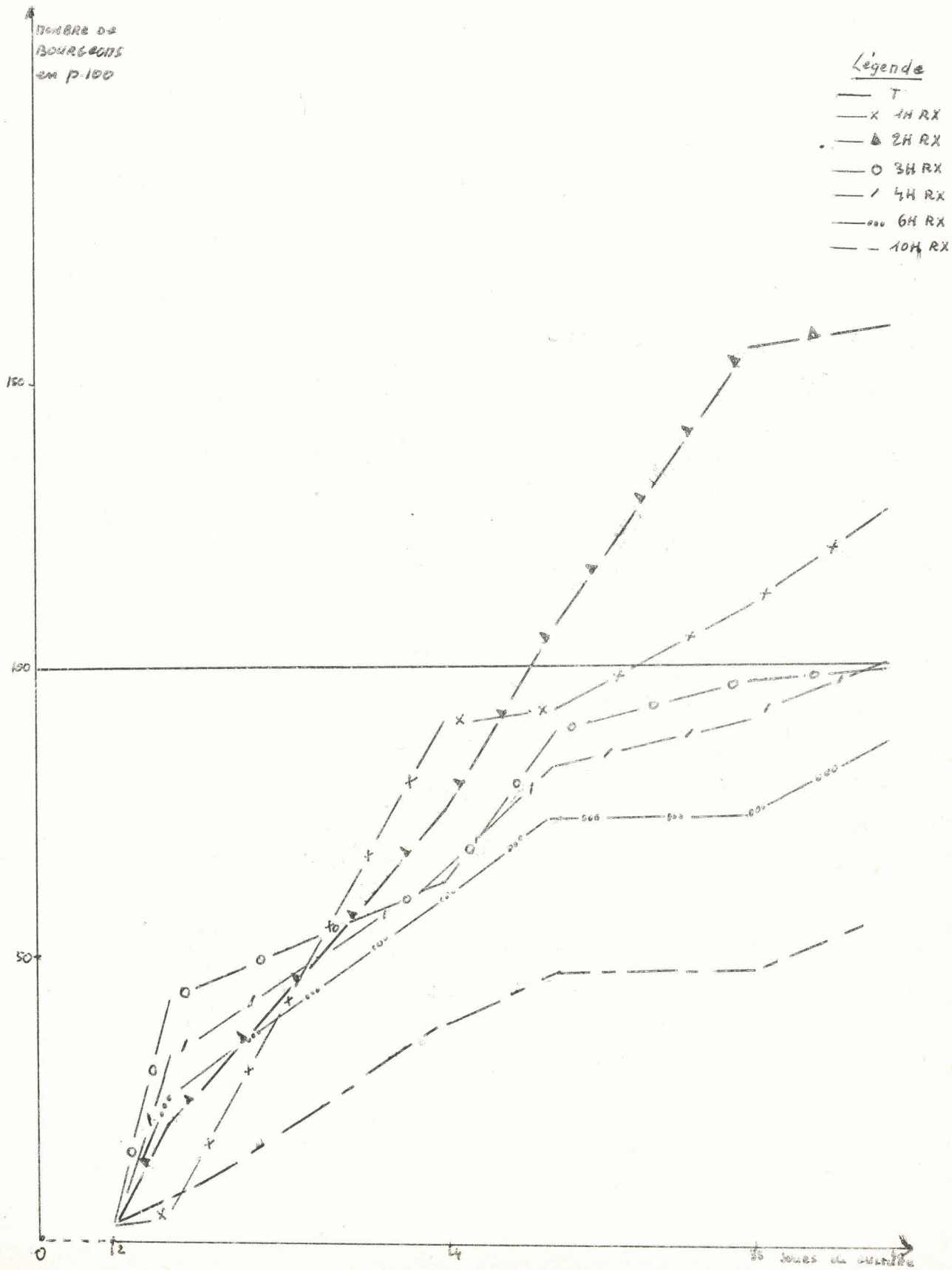
Graphique I3.

Influence des rayons X sur la taille des bourgeons apparus sur les explantats prélevés à la partie médiane des feuilles moyennes.



Graphique II.

Influence des rayons X sur le nombre moyen de bourgeons apparus sur les explantats prélevés à la partie médiane des feuilles centrales.



Graphique I5.

utilisée.

Les irradiations de courte durée (I à 4 heures) augmentent légèrement la taille (graphique I6) et le nombre des bourgeons, ceux-ci sont par ailleurs inhibés par une exposition plus prolongée.

Il faut noter que cette activation se manifeste encore après 4 heures d'irradiations (25.920 roentgens), dose qui est toxique pour les explantats provenant des feuilles médianes.

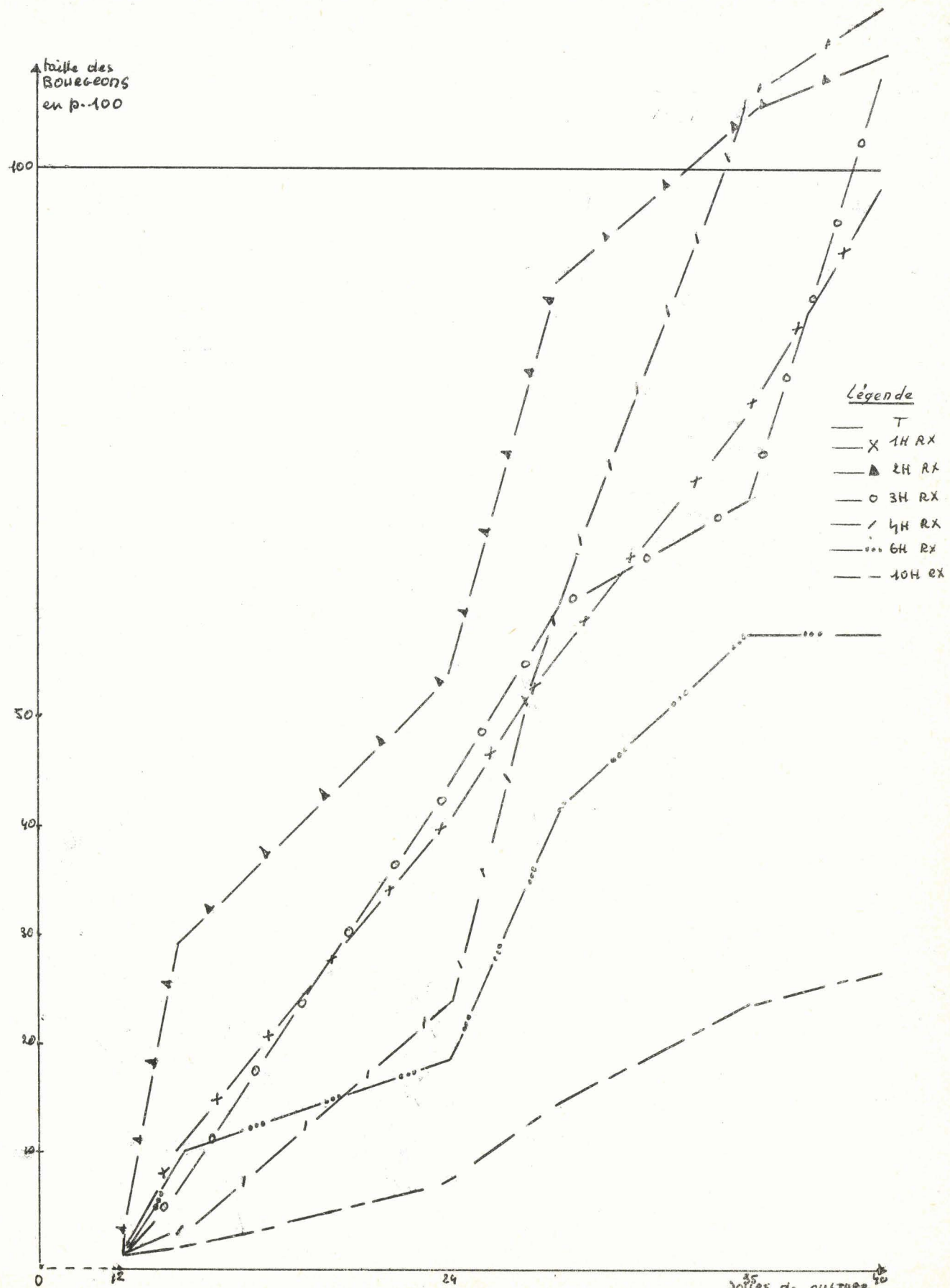
Ainsi selon qu'ils proviennent des feuilles externes moyennes ou internes, les explantats ont une sensibilité plus ou moins marquée aux rayons X. Celle-ci se traduit selon la durée de l'irradiation par une stimulation de la taille et du nombre des bourgeons, ou bien au contraire par une inhibition plus ou moins importante du bourgeonnement qui peut même parfois être retardé.

Dans une seconde série d'expériences, nous avons étudié l'influence des rayons X sur des fragments prélevés dans différentes régions des feuilles moyennes. (M).

Les explantats ont été répartis en trois lots; les uns prélevés à la partie basale (I), les autres dans la région médiane (2) ou apicale (3).

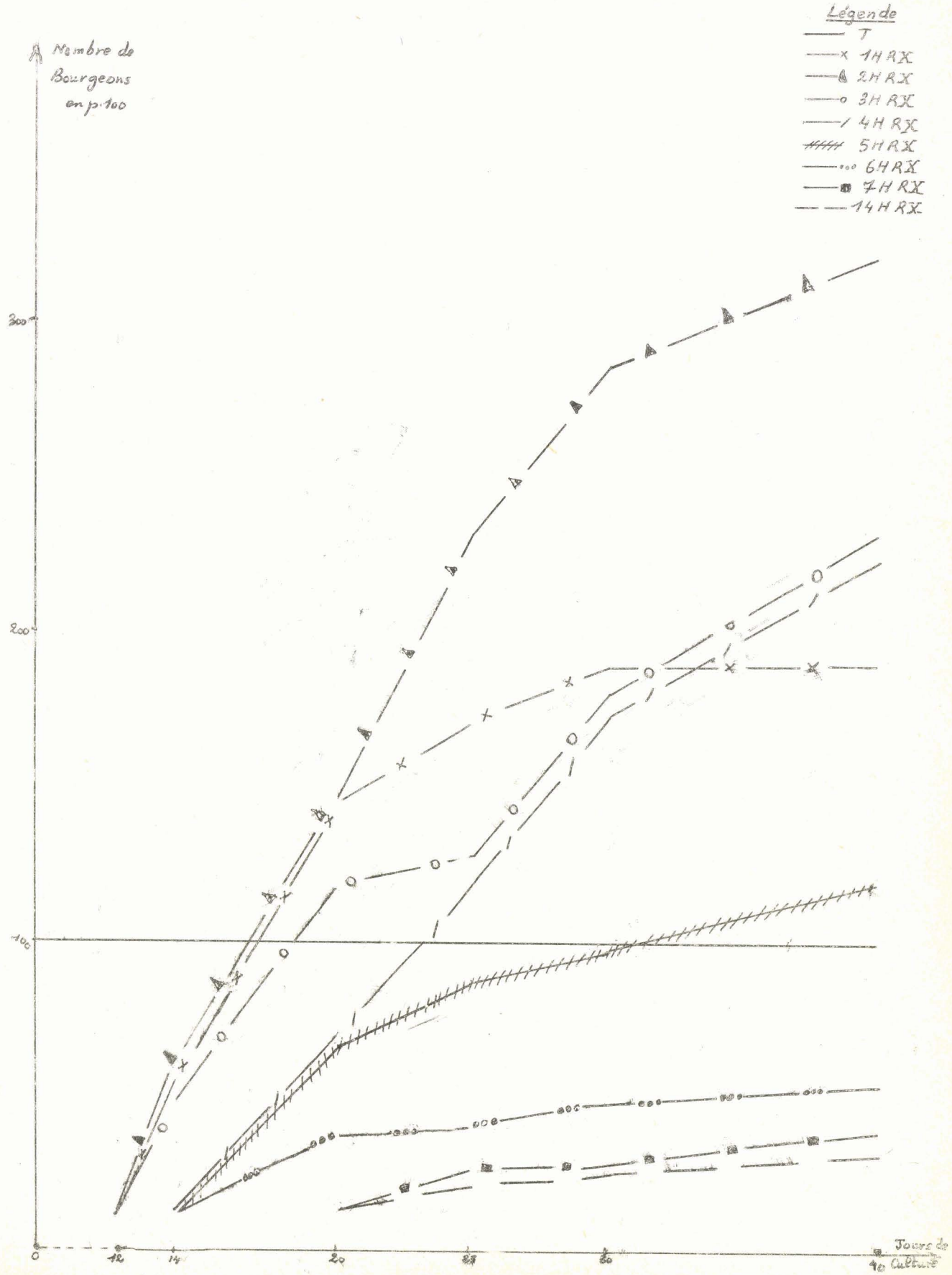
Nous remarquons sur les fragments du lot (I) que des doses croissantes de rayons X provoquent un retard de plus en plus important de la date d'apparition des bourgeons qui passe progressivement du I2ème au 20ème jour de culture après 7 heures d'irradiation. (Graphique I7).

Action des rayons X sur la taille des bourgeons obtenus sur les explantats prélevés à la partie médiane des feuilles centrales.



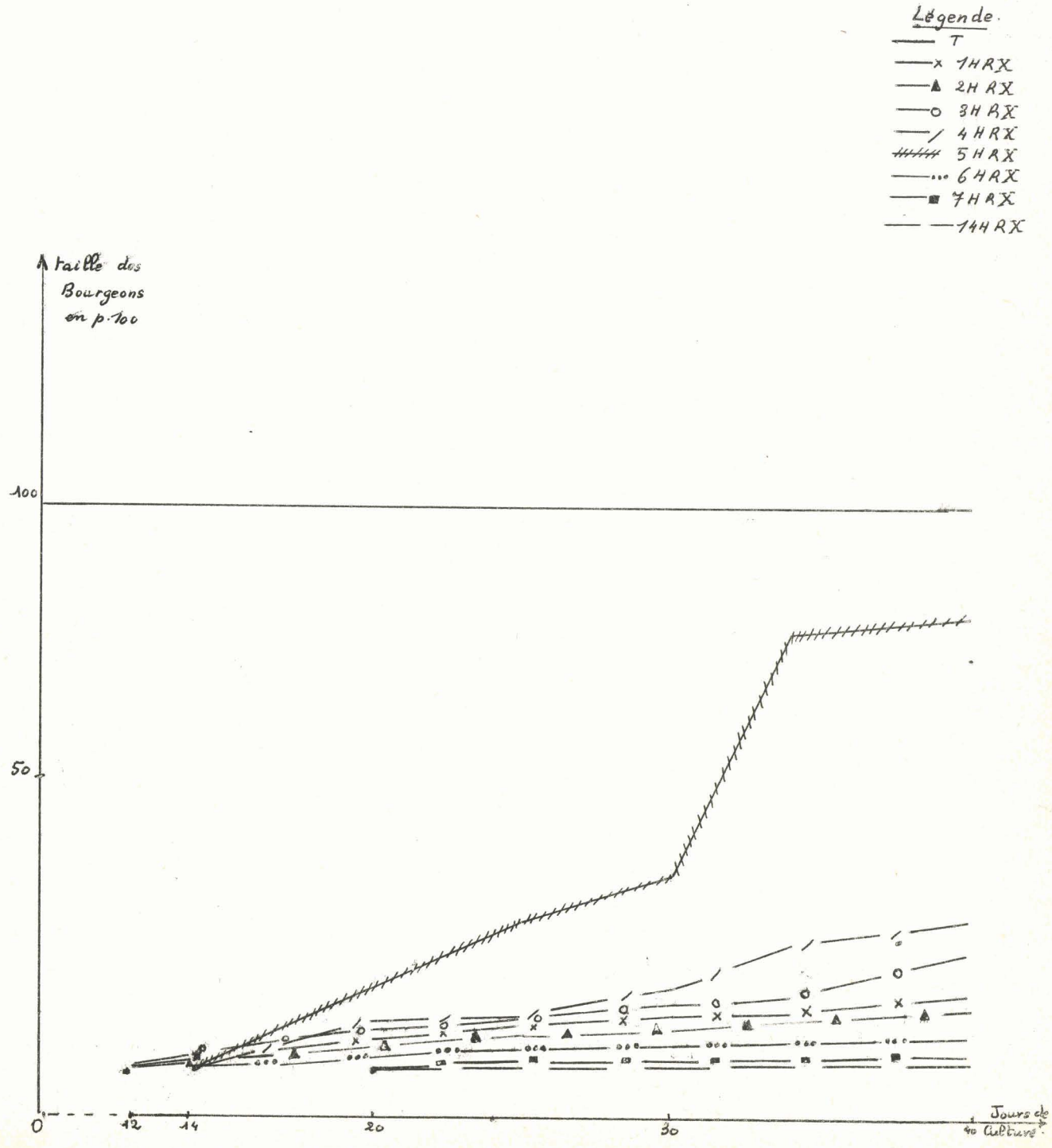
Graphique I6.

Action des rayons X sur le nombre de bourgeons obtenus sur les explantats prélevés à la partie basale des feuilles moyennes.



Graphique I7.

Action des rayons X sur la taille des bourgeons obtenus sur les explantats prélevés à la partie basale des feuilles moyennes.



Graphique 18.

Les faibles doses de rayons X augmentent cependant le nombre des bourgeons dont la taille (graphique I8) est toujours plus faible que celle observée chez les témoins. Des irradiations plus longues diminuent au contraire le nombre et la taille des bourgeons. Cette inhibition est d'autant plus marquée que la dose de rayons X est plus forte.

Des irradiations de I à 2 heures effectuées sur des explantats du lot (2) activent la formation et le développement des bourgeons. (Graphiques I9 et 20).

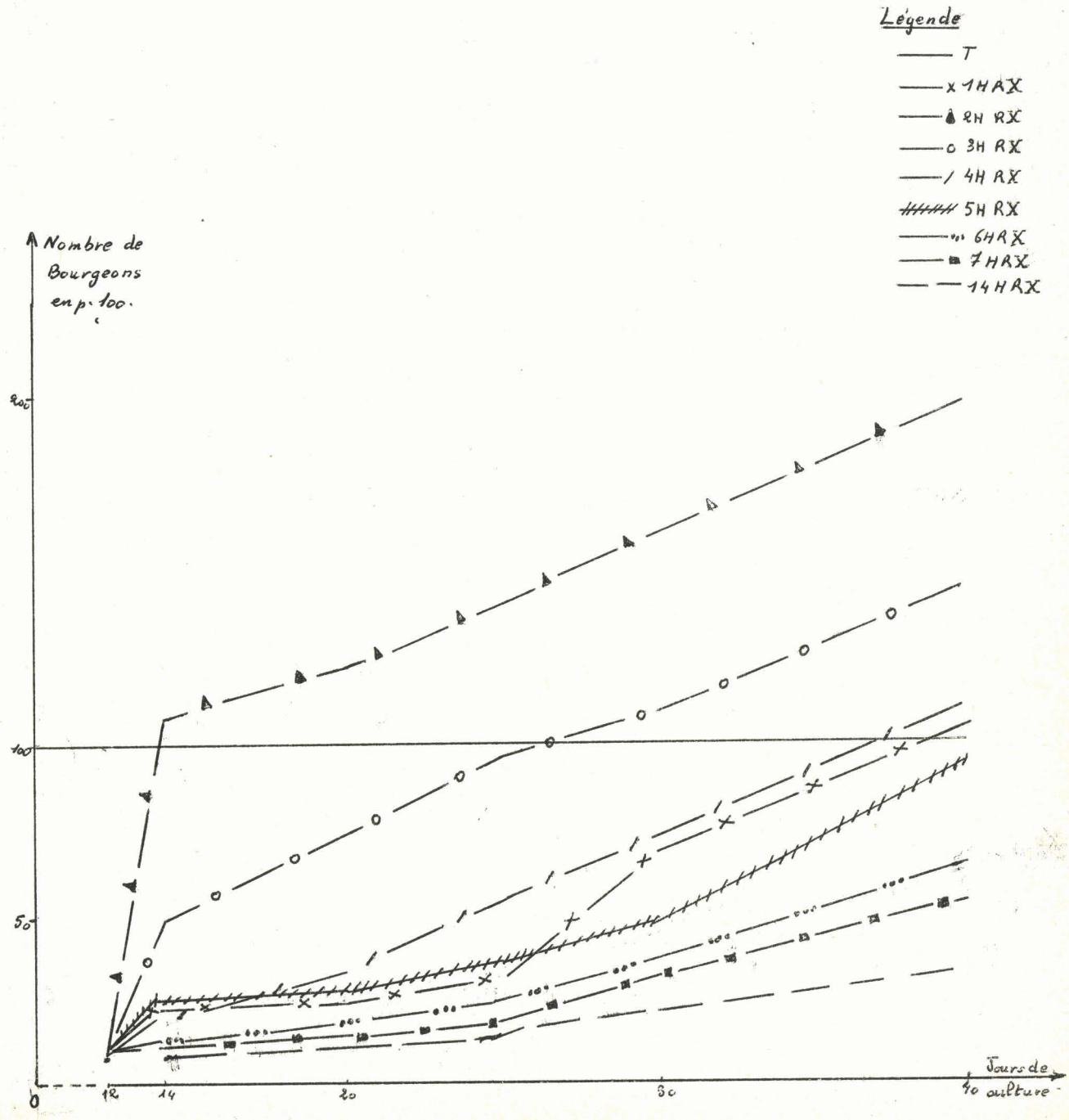
Des doses croissantes de rayons X inhibent la néoformation et l'organogénèse.

La toxicité manifestée par une irradiation de 90.720 roentgens (I4 heures de rayons X) est cependant moins marquée que sur lot I.

On peut conclure que la sensibilité aux rayons X des explantats de la région médiane (2) de la feuille, se traduit par une activation aux faibles doses de rayons X et par une inhibition dans le cas contraire; celle-ci est cependant moins forte que chez les fragments de la base (I).

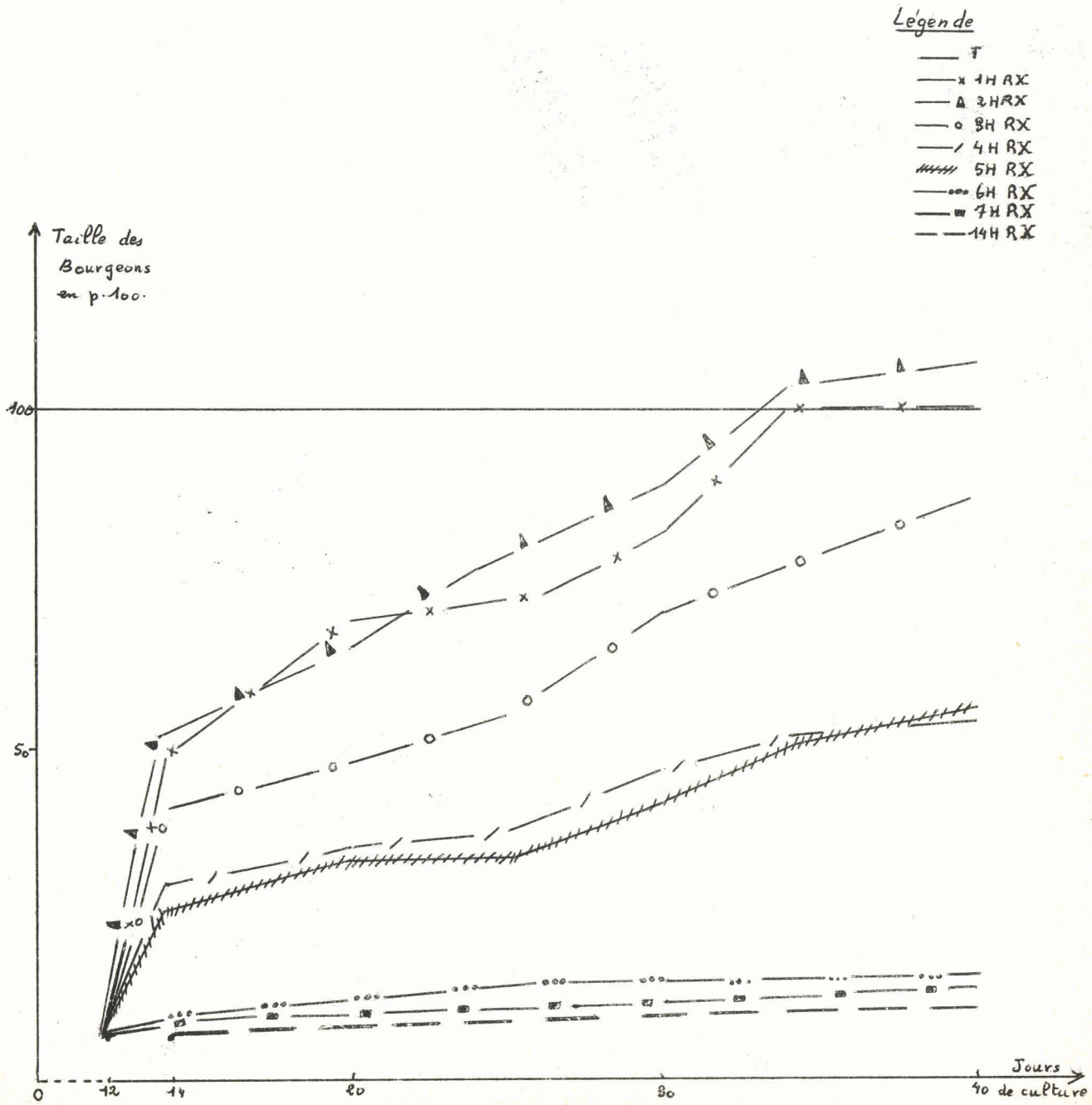
Pour les explantats de la région apicale (3) de la feuille, quelle que soit la dose d'irradiation, il n'y a aucun retard dans l'apparition des bourgeons (graphiques 2I et 22). Comme dans le cas précédent, il y a activation de la néoformation des bourgeons même après 5 heures d'irradiations. Des doses plus importantes de rayons X diminuent le nombre et la taille des bourgeons. Cependant l'inhibition est moins prononcée que dans les deux lots précédents.

Action des rayons X sur le nombre de bourgeons obtenus sur les explantats prélevés à la partie médiane des feuilles moyennes.



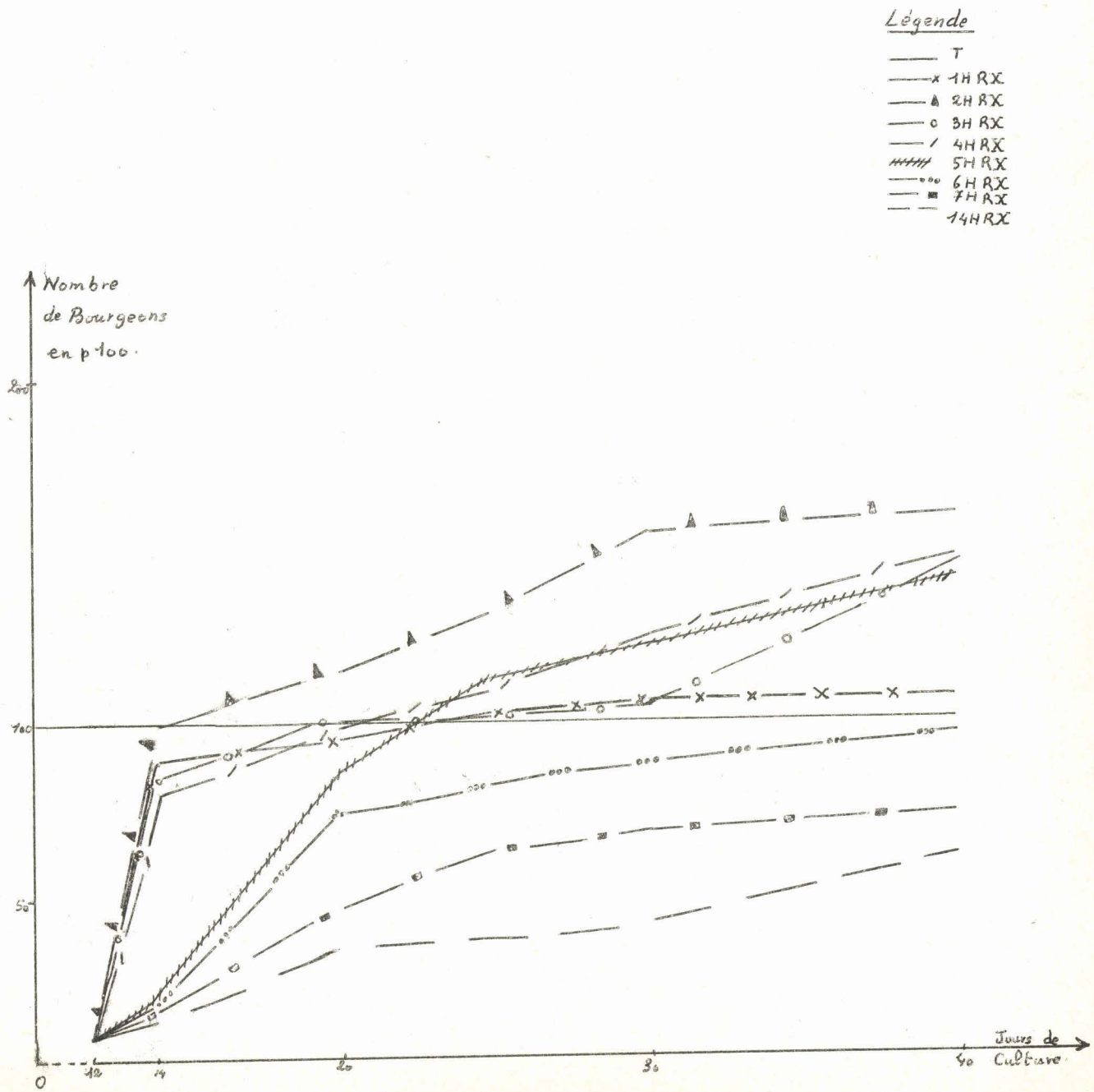
Graphique I9.

Action des rayons X sur la taille des bourgeons obtenus sur les explantats prélevés à la partie médiane des feuilles moyennes.



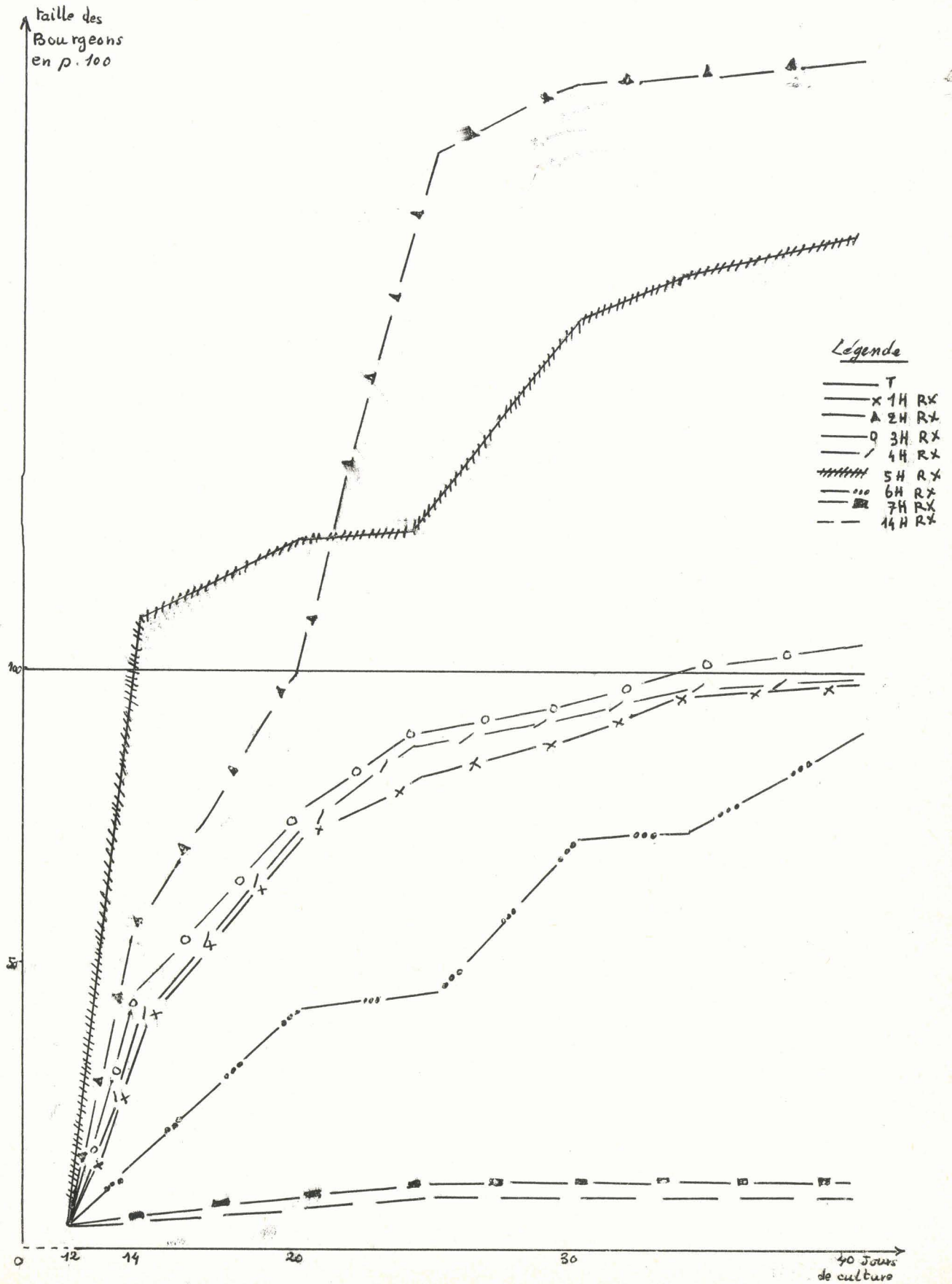
Graphique 20.

Action des rayons X sur le nombre de bourgeons obtenus sur les explantats prélevés à la partie apicale des feuilles moyennes.



Graphique 2I.

Action des rayons X sur la taille des bourgeons obtenus sur les explantats prélevés à la partie apicale des feuilles moyennes.



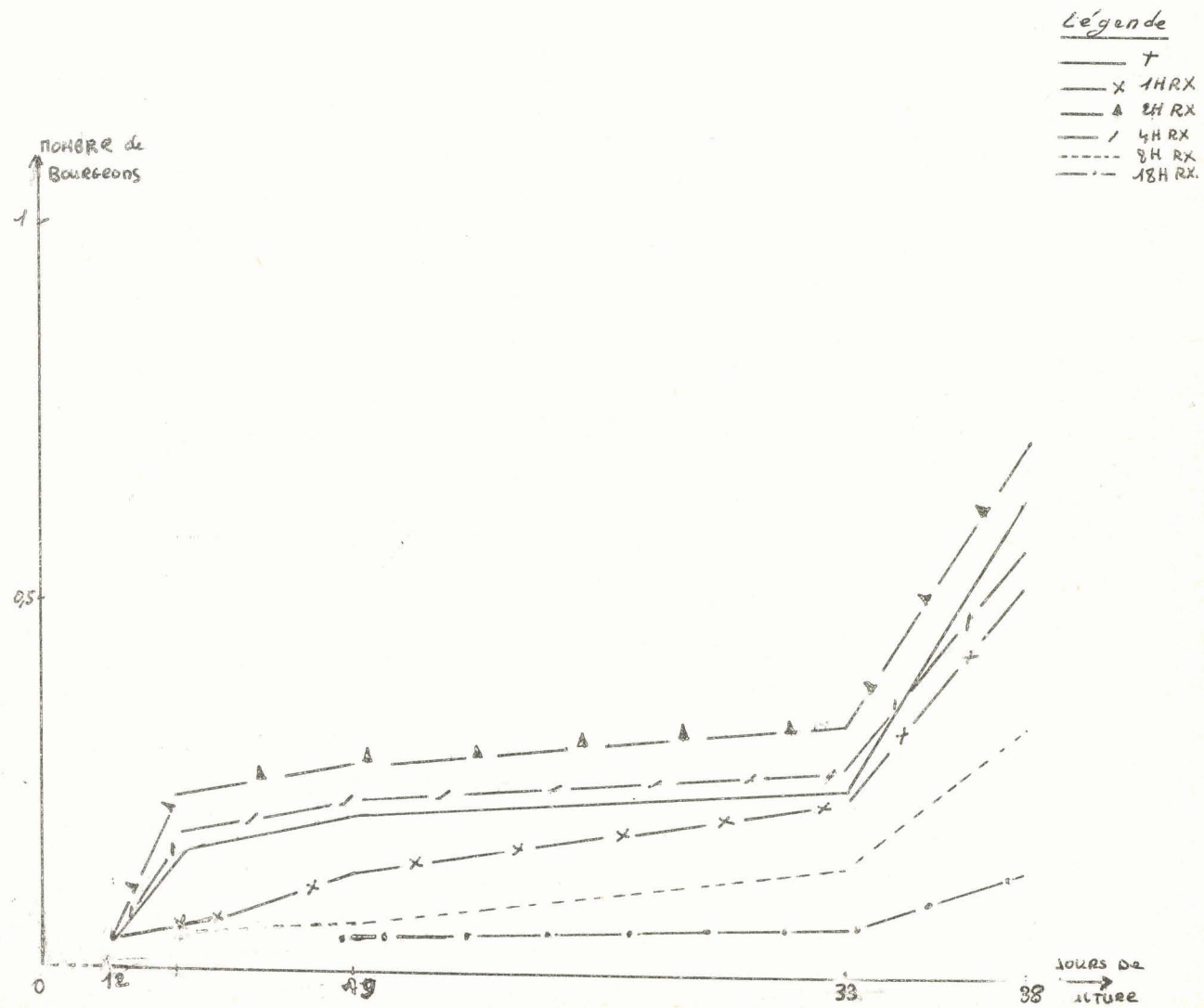
Graphique 22.

La sensibilité aux rayons X des fragments de l'apex de la feuille, se manifeste donc par une activation importante si l'irradiation est de courte durée et une inhibition relativement faible dans le cas contraire.

2° - Explantats placés horizontalement sur le milieu.

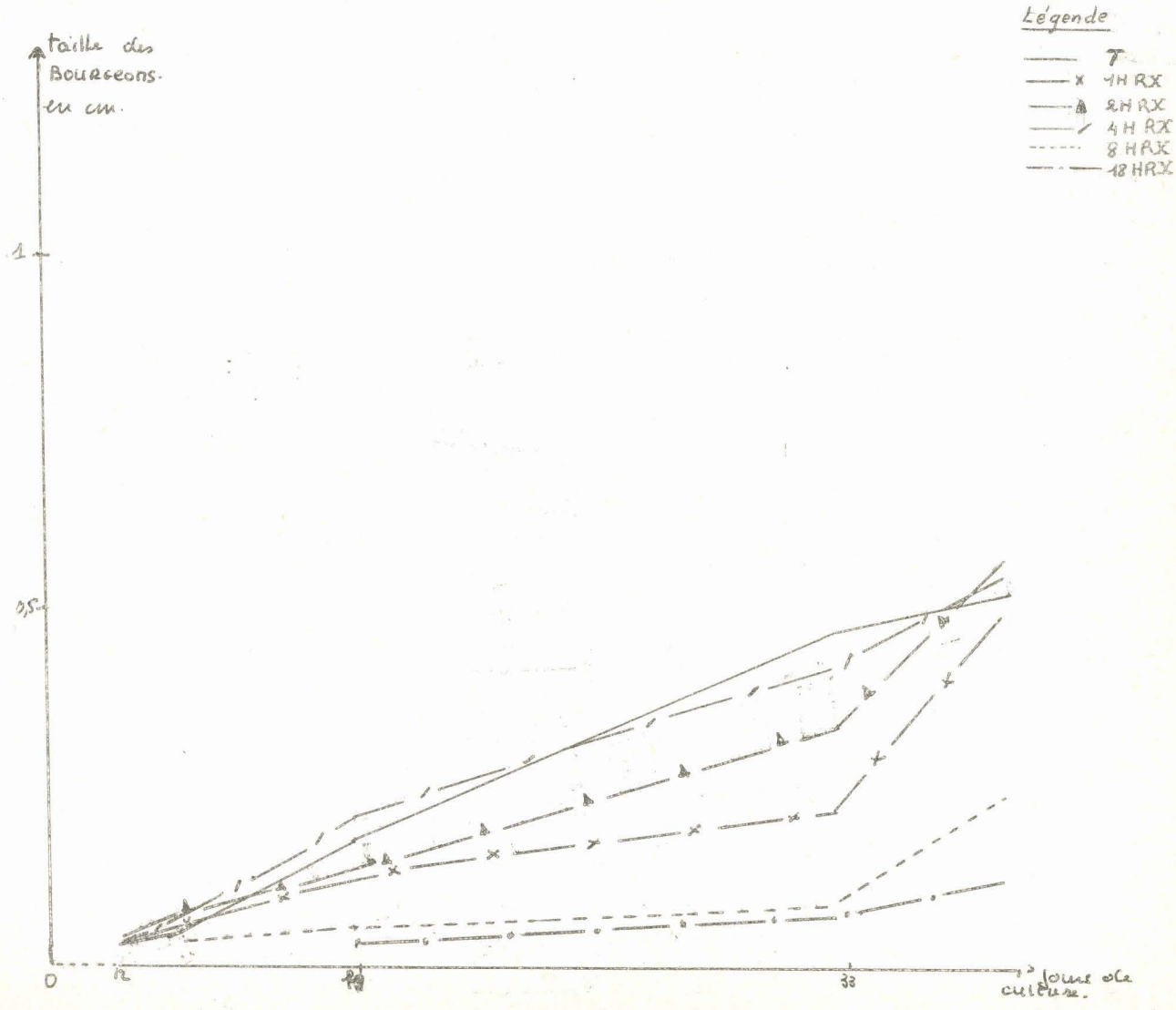
Au cours des expériences précédentes, les explantats sont placés perpendiculairement à la gélose, la partie apicale du disque plongeant dans le milieu de culture.
Gautheret (1944) a montré que le contact du milieu aqueux était défavorable à la prolifération cellulaire et à la néoformation des bourgeons. Afin de supprimer l'effet du milieu de culture qui risquait de masquer l'influence des rayons X, nous avons placés la face ventrale (Vasseur 1965) des disques de feuilles d'endives à la surface du milieu gélosé en repérant la région correspondant à la base de la feuille.
Les explantats sont prélevés sur les feuilles moyennes (M) dans la région basale (1), apicale (3) ou intermédiaire (2). Les résultats résumés dans les graphiques 23 à 28 correspondent au nombre total des bourgeons apparus sur chaque type d'explantat.
Les conclusions sont comparables à celles énoncées précédemment et consignées dans les graphiques 17 à 22.
Nous remarquons que l'organogénèse est légèrement plus intense que dans les expériences précédentes, ce qui semble paradoxal puisque les échanges nutritifs sont plus difficiles. En réalité un nombre relativement élevé d'explantats ne reprennent pas et sont éliminés.

Action des rayons X sur le nombre de bourgeons apparus sur les explantats prélevés à la base des feuilles moyennes.
Les fragments sont placés horizontalement sur le milieu de culture.



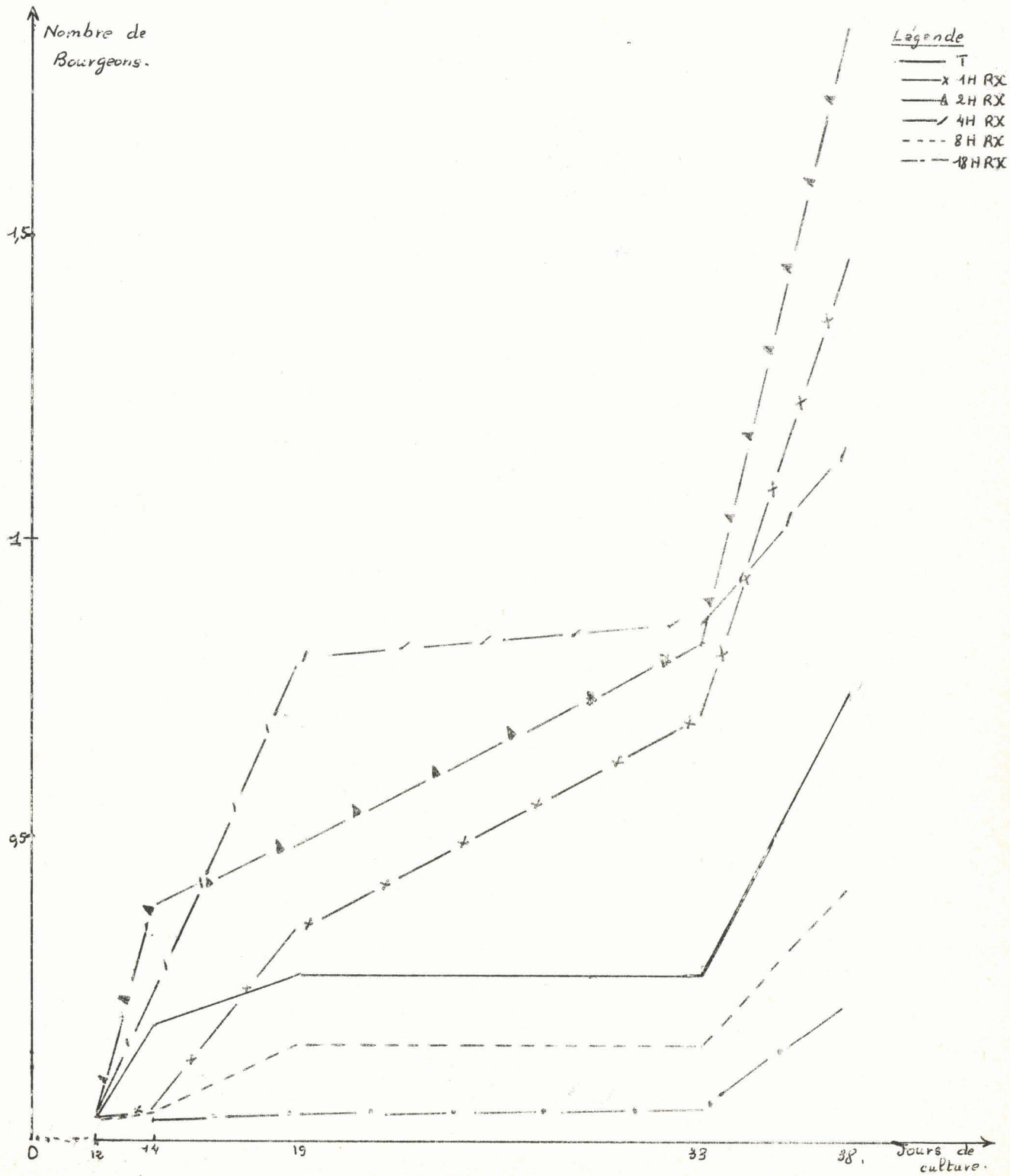
Graphique 23.

Action des rayons X sur la taille des bourgeons apparus sur les explantats prélevés à la base des feuilles moyennes M.
Les fragments sont placés horizontalement sur le milieu de culture.



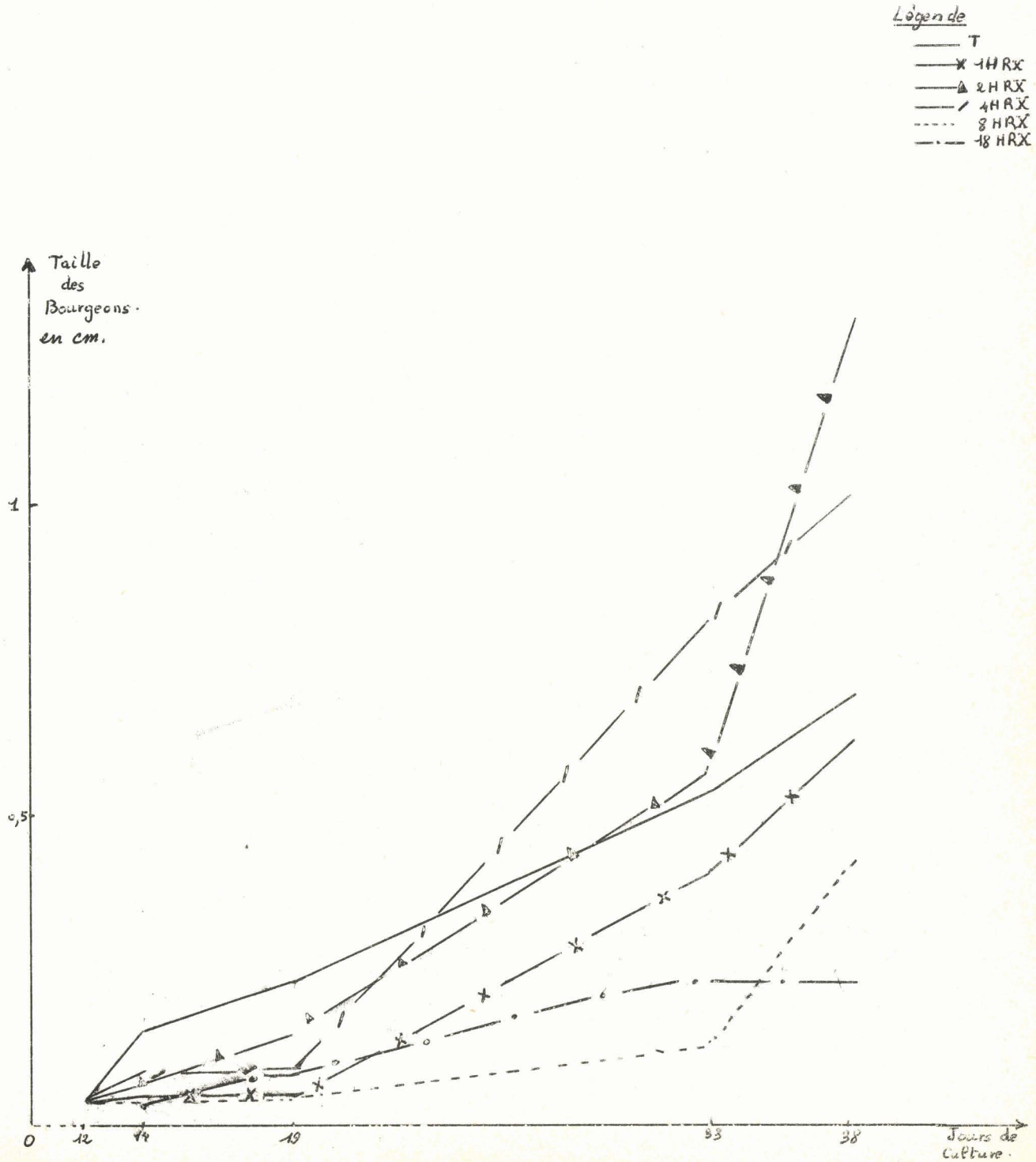
Graphique 24.

Influence des rayons X sur le nombre de bourgeons apparus sur les explantats prélevés au milieu des feuilles moyennes.
Les fragments sont placés horizontalement sur le milieu de culture.



Graphique 25.

Influence des rayons X sur la taille des bourgeons apparus sur les explantats prélevés au milieu des feuilles moyennes.
Les fragments sont placés horizontalement sur le milieu de culture.

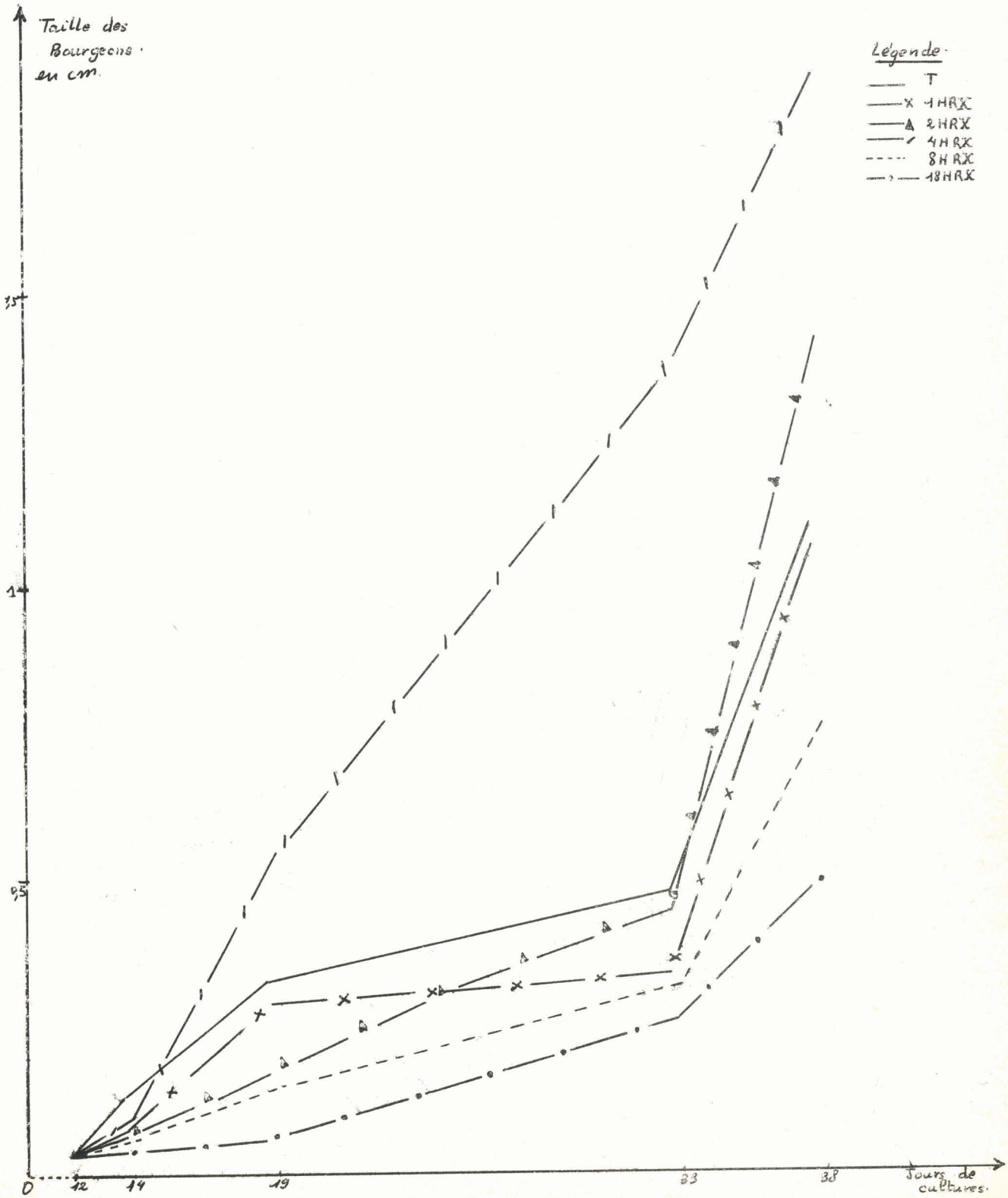


Graphique 26.

Influence des rayons X sur le nombre de bourgeons apparus sur les explantats prélevés à l'apex des feuilles moyennes.
Les fragments sont placés horizontalement sur le milieu de culture.

Graphique 27.

Influence des rayons X sur la taille des bourgeons apparus sur les explantats prélevés à l'apex des feuilles moyennes.
Les fragments sont placés horizontalement sur le milieu de culture.



Graphique 28.

En fait, nous arrivons aux mêmes constatations que dans les expériences antérieures : activation et inhibition selon le nombre de roentgens reçu par les explantats.
De plus, contrairement aux fragments témoins, nous observons chez les explantats irradiés, qu'un certain nombre de bourgeons apparaissent dans la région correspondant à l'apex de la feuille, ce qui montre que les rayons X exercent aussi une action sur la polarité naturelle des tissus.

En conclusion, sur les fragments de feuilles externes (E) et du lot basal (I) qui ont des faibles potentialités de prolifération et d'organogénèse, les rayons X sont particulièrement toxiques.
Les explantats des feuilles médianes (M) et ceux du lot (2) réagissent de façon analogue : ces tissus présentent en particulier une légère activation aux irradiations de courte durée.
Enfin, les cellules de l'apex (3) de la feuille et du centre (C) de l'endive sont activées par une irradiation de I à 4 heures.
L'inhibition obtenue après une exposition plus longue aux rayons X est nettement moins marquée que celle observée dans les lots précédents.
Il est intéressant de noter que la sensibilité aux rayons X des tissus de feuilles d'endive se traduit de deux manières différentes : par une activation et par une inhibition.
Pour une même dose de rayons X, l'inhibition (contrairement à l'activation) augmente lorsqu'on considère des tissus dont la capacité de prolifération et le pouvoir d'organogénèse sont plus réduits.

B) Irradiations après 5 ou II jours de culture.

Au cours des expériences précédentes, les irradiations ont été effectuées avant la mise en culture. Il était intéressant d'étudier l'influence des rayons X pendant les premières phases de la culture quand la prolifération cellulaire s'installe, juste avant la néoformation des bourgeons.

Nous avons ainsi effectuédeux séries d'expériences :

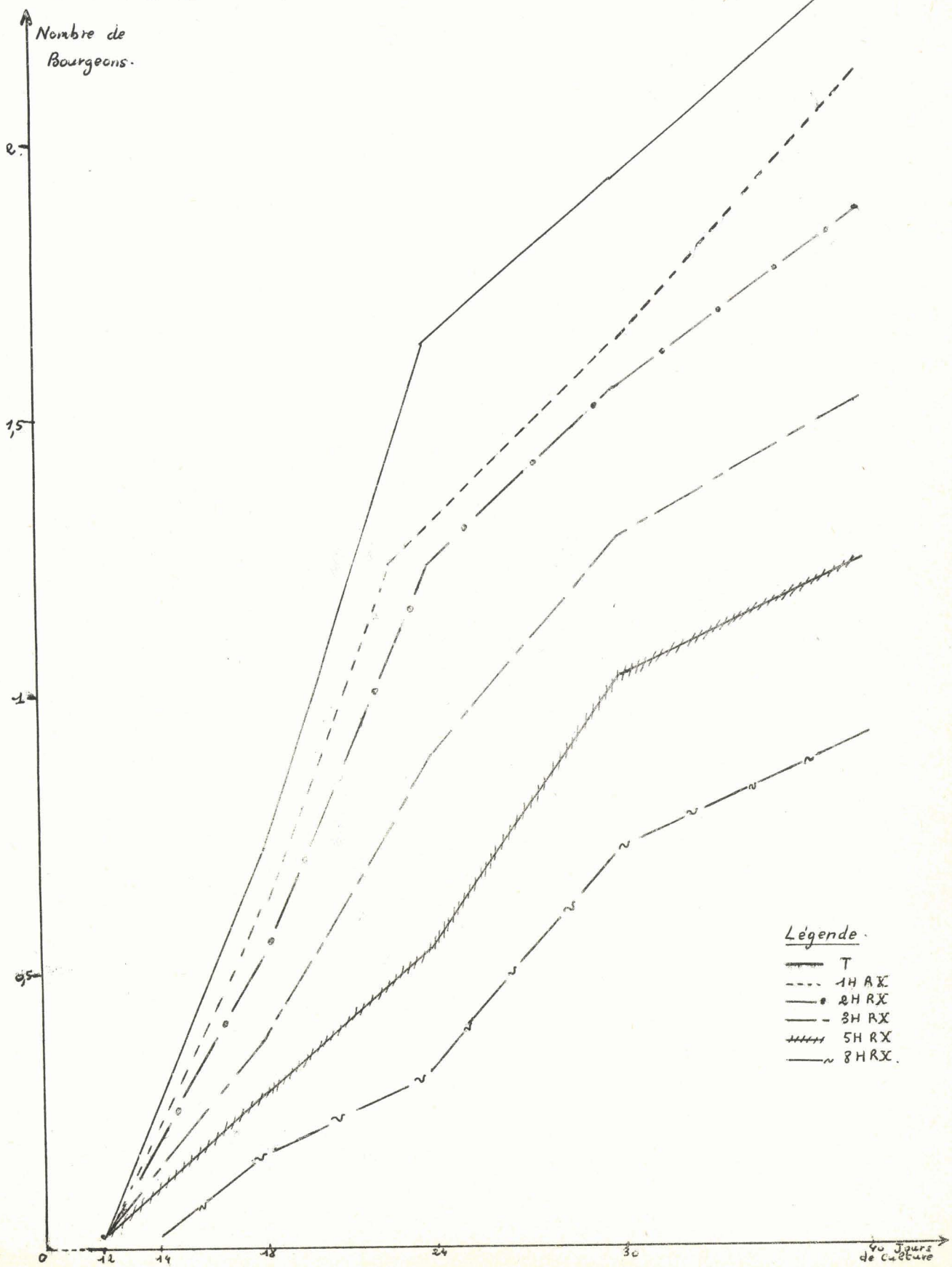
- la première consiste à irradier les explantats prélevés en position médiane des feuilles moyennes, après 5 jours de culture;
- pour la seconde, des lots semblables sont soumis aux rayons X après II jours de culture.

Il faut noter que ces fragments de feuilles sont irradiés dans des boites de Pétri et reçoivent pour un même temps d'irradiation, une dose de rayons X multipliée par 2,2 par rapport à celle reçue par les explantats irradiés avant la mise en culture. Cette remarque explique l'absence de phase active de développement (graphiques 29 à 32) quand l'irradiation est de courte durée.

Nous observons dans les deux cas, un retard de la date d'apparition des bourgeons, quand l'irradiation est prolongée. L'inhibition de la néoformation et du développement des bourgeons augmente avec des doses croissantes de rayons X.

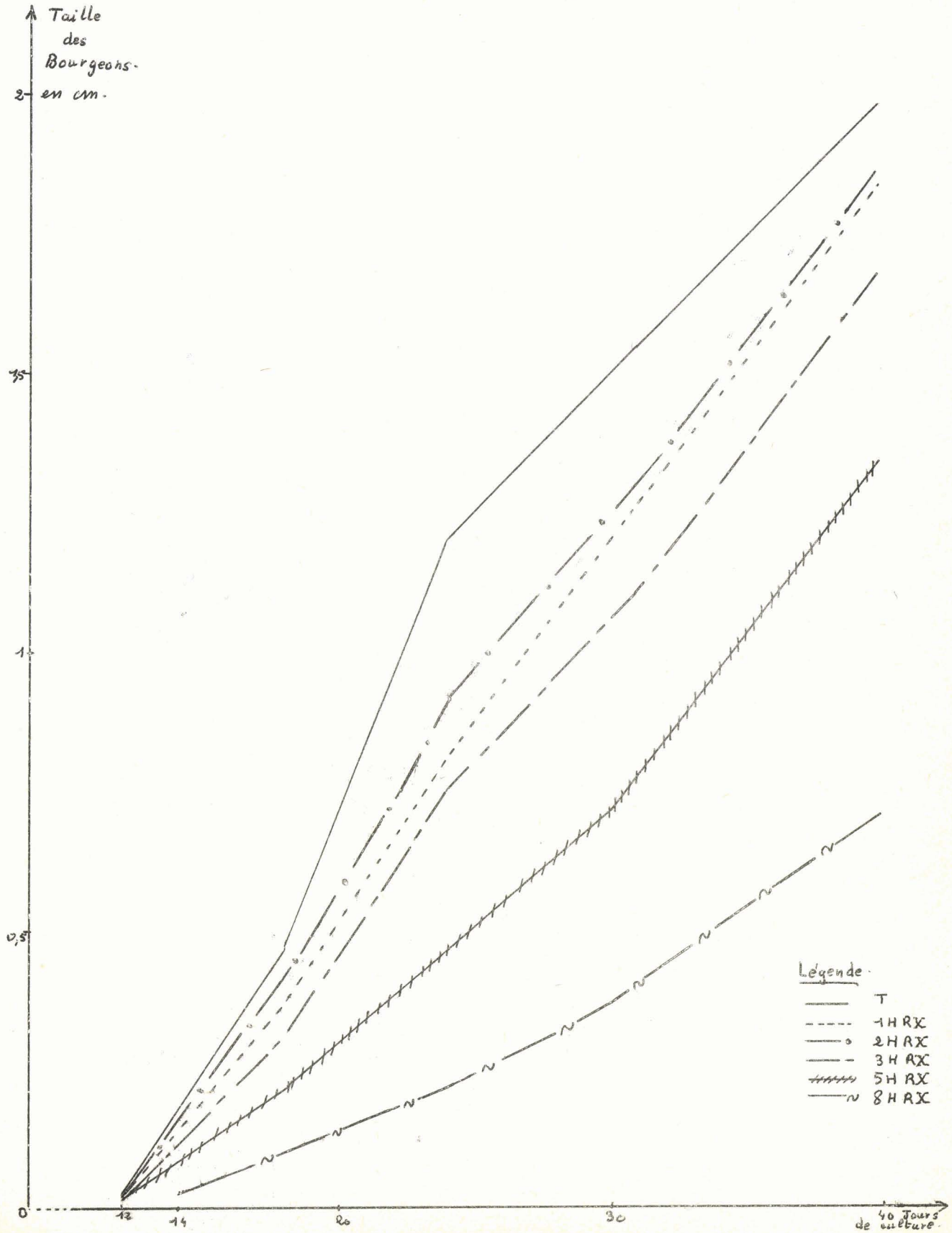
Les irradiations sont plus toxiques après II jours de culture qu'après 8 jours : l'inhibition du nombre et de la taille des bourgeons étant dans le premier cas plus importante. De plus la dose de 72.000 roentgens retarde la date d'apparition des

Action des rayons X sur le nombre de bourgeons apparus sur les explantats prélevés en position médiane des feuilles moyennes.
L'irradiation est réalisée 5 jours après la mise en culture.



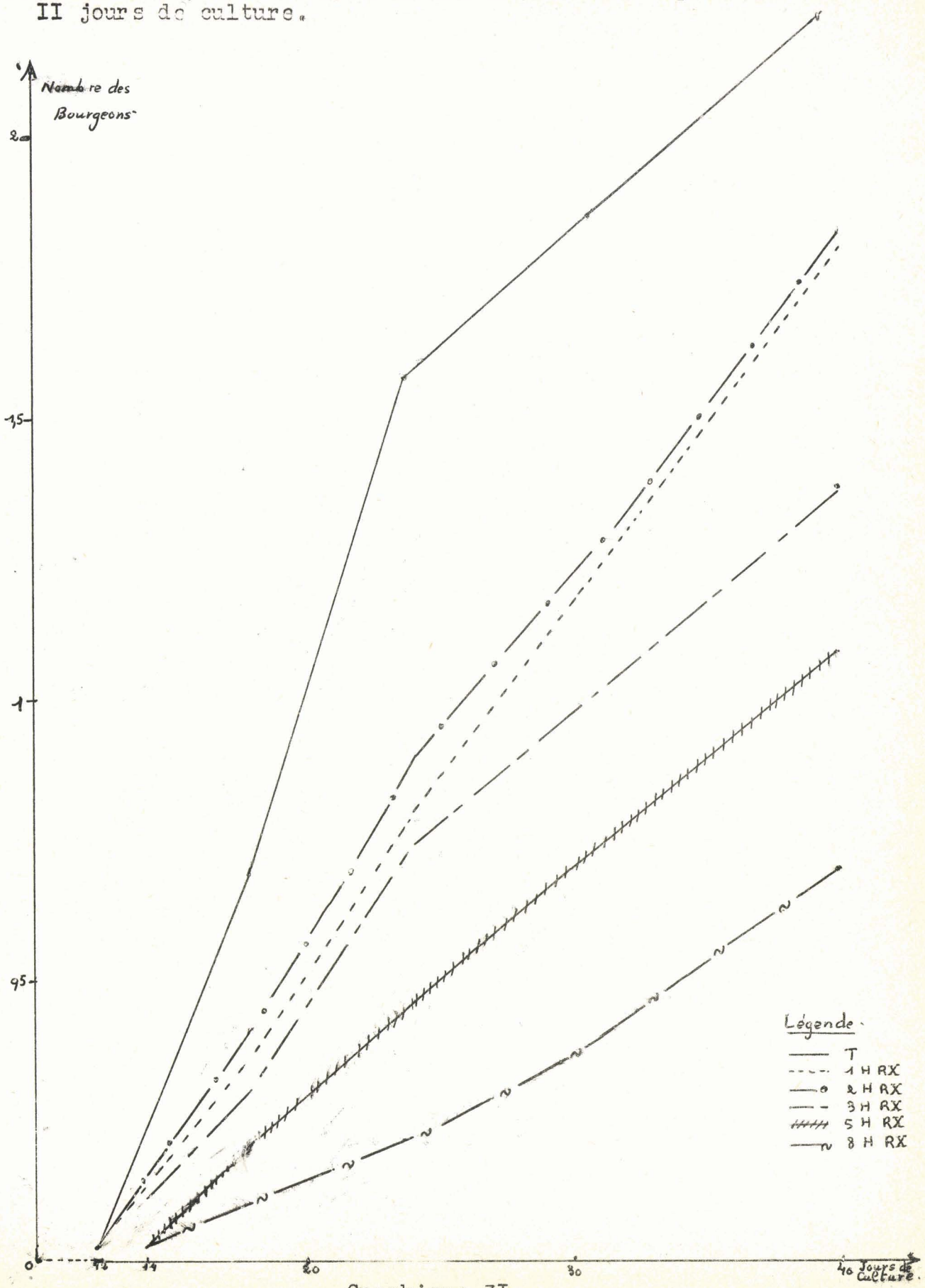
Graphique 29.

Action des rayons X sur la taille des bourgeons apparus sur les explantats prélevés en position médiane des feuilles moyennes. L'irradiation est réalisée 5 jours après la mise en culture.



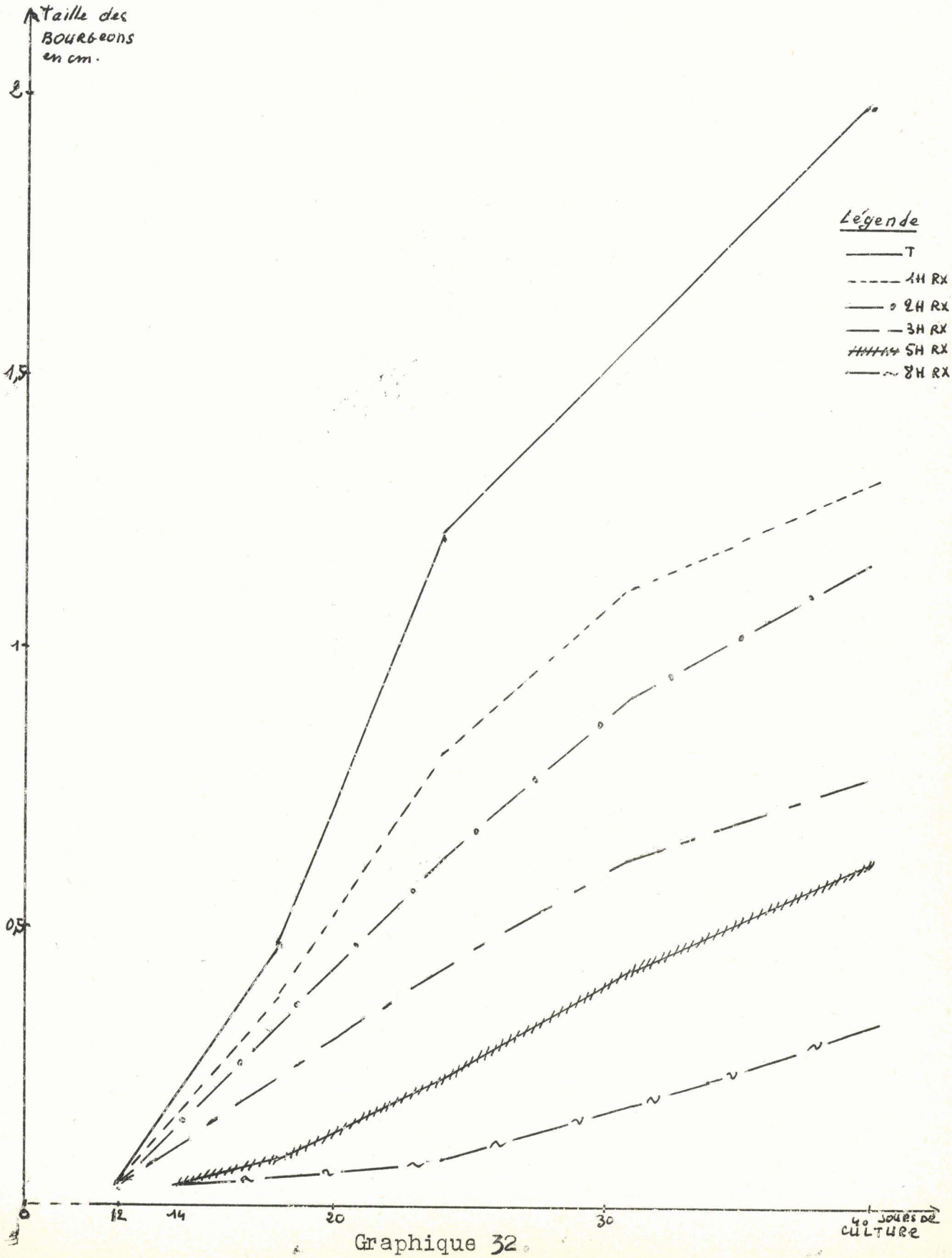
Graphique 30.

Action des rayons X sur le nombre des bourgeons apparus sur les explantats prélevés en position médiane des feuilles moyennes. L'irradiation est réalisée après II jours de culture.



Graphique 31.

Action des rayons X sur la taille des bourgeons apparus sur les explantats prélevés en position médiane des feuilles moyennes. L'irradiation est réalisée après II jours de culture.



Graphique 32.

bourgeons uniquement chez les fragments irradiés après II jours de culture.

Comme pour les plantules irradiées au cours de leur développement, il n'y a pas de phénomènes de récupération comparable à celui observé chez les fragments irradiés avant la mise en culture. La radiosensibilité des explantats s'amplifie donc au cours de la culture ce qui peut s'expliquer car les cellules en voie de division sont plus sensibles aux rayons X que les cellules au repos

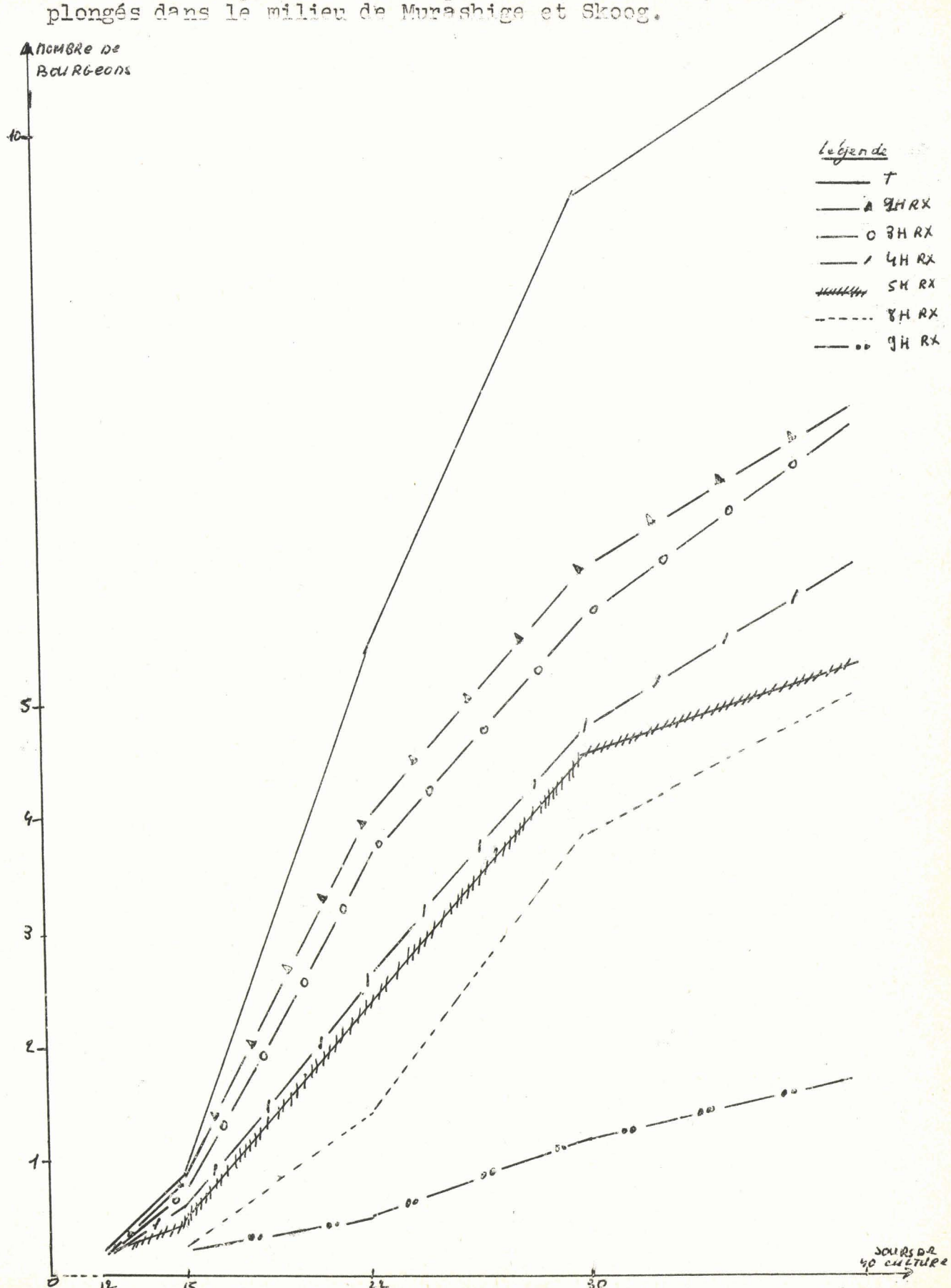
C) Culture en milieu de Murashige et Skoog :

Le milieu utilisé pour les expériences précédentes avait l'avantage d'être simple et de composition parfaitement définie; il est toutefois un facteur limitant pour la formation des bourgeons. (Bouriquet et Vasseur 1965). On pouvait donc se demander si les effets des rayons X étaient les mêmes en présence d'un milieu plus riche, par exemple le milieu proposé par Murashige et Skoog (1962), qui renferme différents éléments organiques, en particulier de l'acide indolylacétique et de la kinétine.

Les explantats prélevés à la base (1) au milieu (2) ou à l'apex (3) des feuilles moyennes de l'endive sont enfoncés dans le milieu gélosé de telle sorte que leur partie apicale plonge dans le milieu de culture.

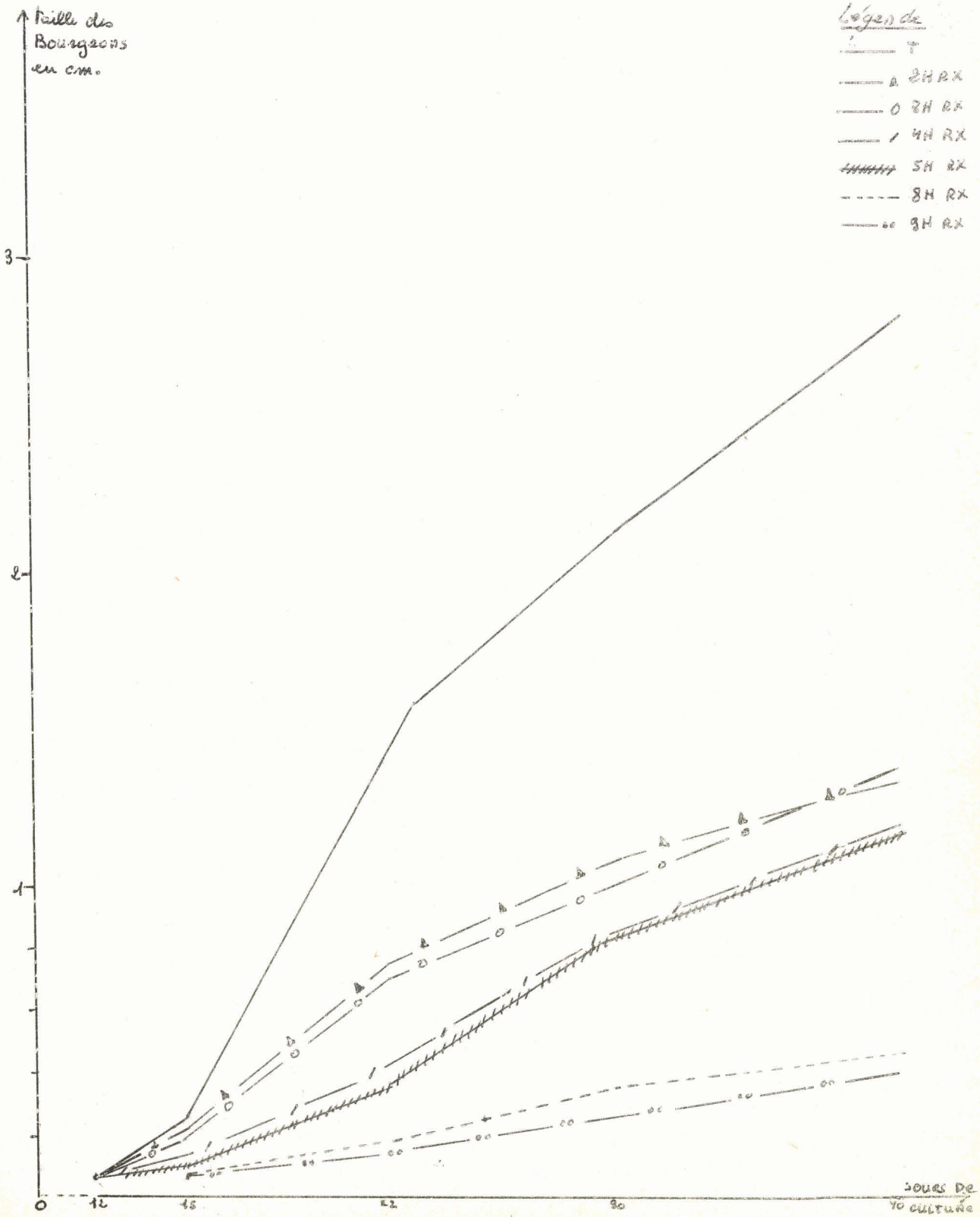
L'irradiation aux rayons X retarde l'apparition des bourgeons du lot (3), d'autant plus que la dose est plus forte. (Graphiques 33 et 34). Les irradiations de courte durée n'activent ni la néoformation ni le développement des bourgeons.

Influence des rayons X sur le nombre de bourgeons apparus sur les explantats de l'apex des feuilles moyennes, plongés dans le milieu de Murashige et Skoog.



Graphique 33.

Influence des rayons X sur la taille des bourgeons apparus sur les explantats de l'apex des feuilles moyennes, plongés dans le milieu de Murashige et Skoog.



Graphique 34.

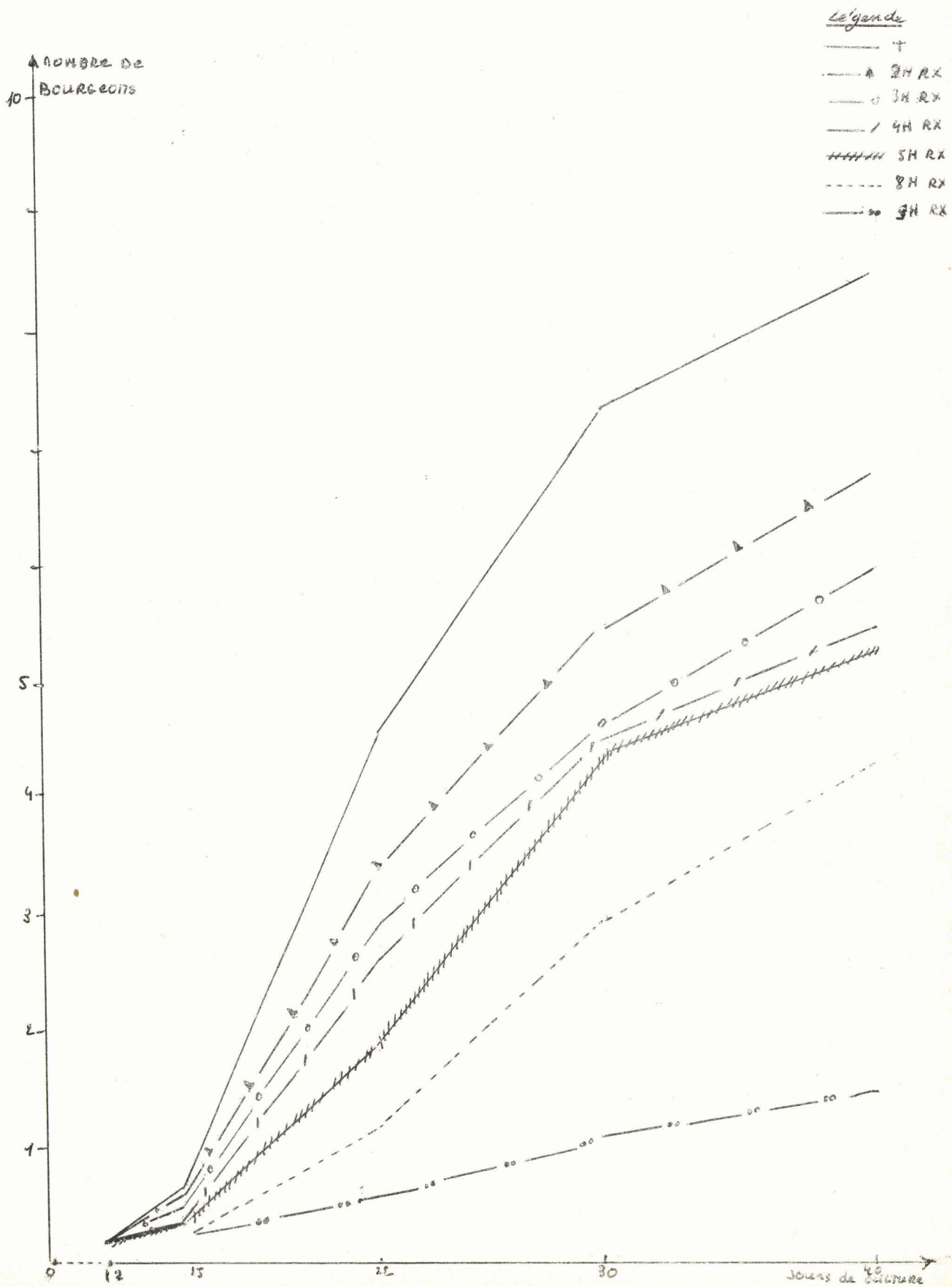
Ceux-ci sont d'autant plus inhibés par les rayons X que l'irradiation est plus longue.
Cependant les résultats sont assez peu différents jusqu'à la dose de 32.400 roentgens (5 heures). Une irradiation prolongée diminue fortement la taille et le nombre des bourgeons.

Pour les explantats prélevés en position moyenne (graphiques 35 et 36), les résultats sont analogues aux précédents. L'apparition des bourgeons est retardée de trois jours si l'irradiation dure de 8 à 9 heures. Le nombre et la taille des bourgeons diminuent proportionnellement aux doses croissantes de rayons X. Le développement est cependant inférieur à celui observé sur les fragments provenant de l'apex de la feuille, mais les résultats restent assez comparables pour des temps d'irradiation inférieurs à 5 heures.

Sur les explantats provenant de la base (I) des feuilles, la date d'apparition des bourgeons (graphiques 37 et 38) est nettement plus retardée que dans les deux cas précédents. Le nombre et la taille des bourgeons sont d'autant plus faibles que la durée d'irradiation est plus longue, sans qu'il y ait cependant de différence notable entre les effets produits par les doses moyennes de rayons X.

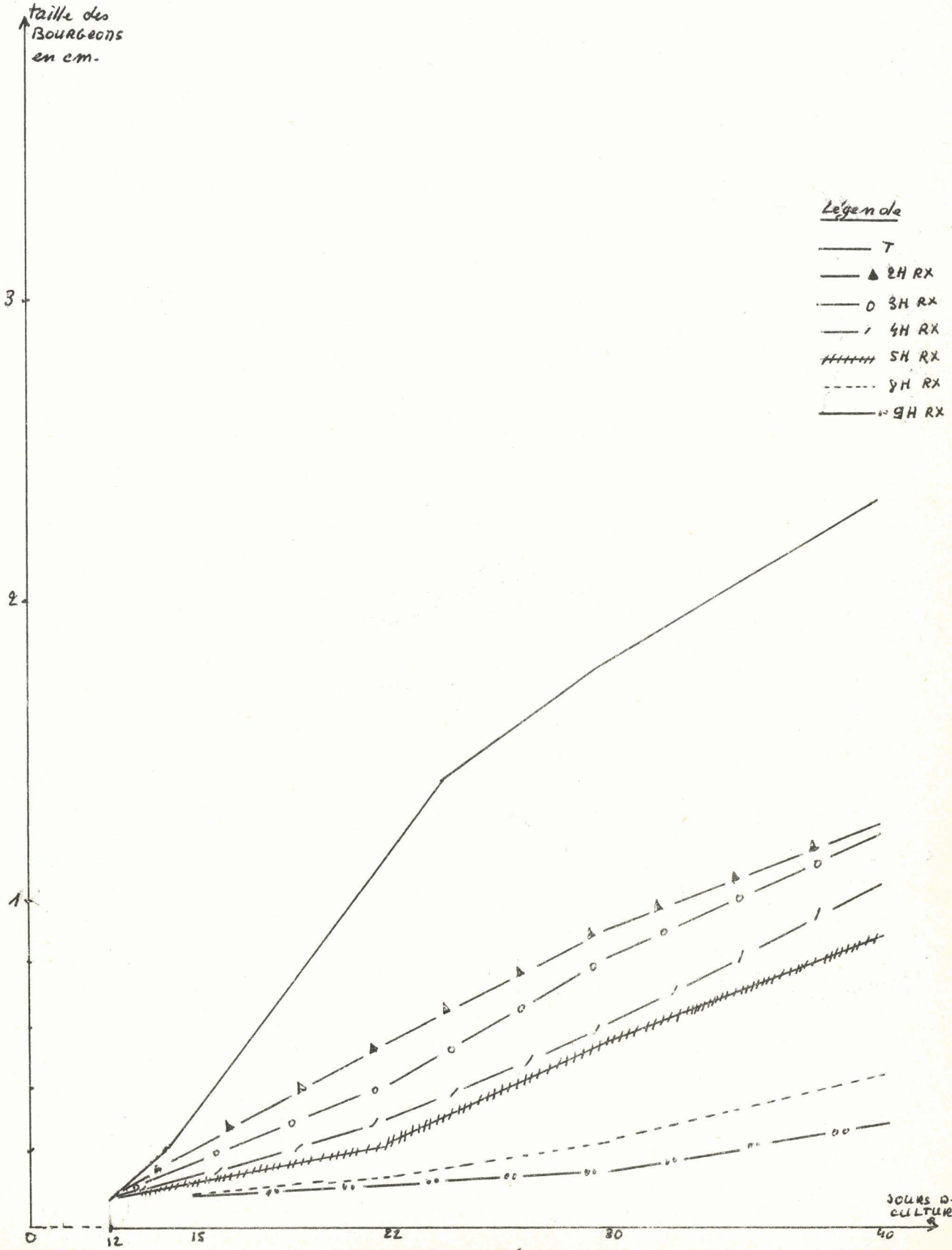
Il est intéressant de noter que dans tous les cas, même pour les fragments provenant de l'apex des feuilles, il n'y a pas d'activation. De plus, nous n'avons jamais noté de phénomène de récupération.
Cette absence d'activation et de récupération différencie les

Influence des rayons X sur le nombre de bourgeons apparus sur les explantats du milieu des feuilles moyennes, plongés dans le milieu de Murashige et Skoog.



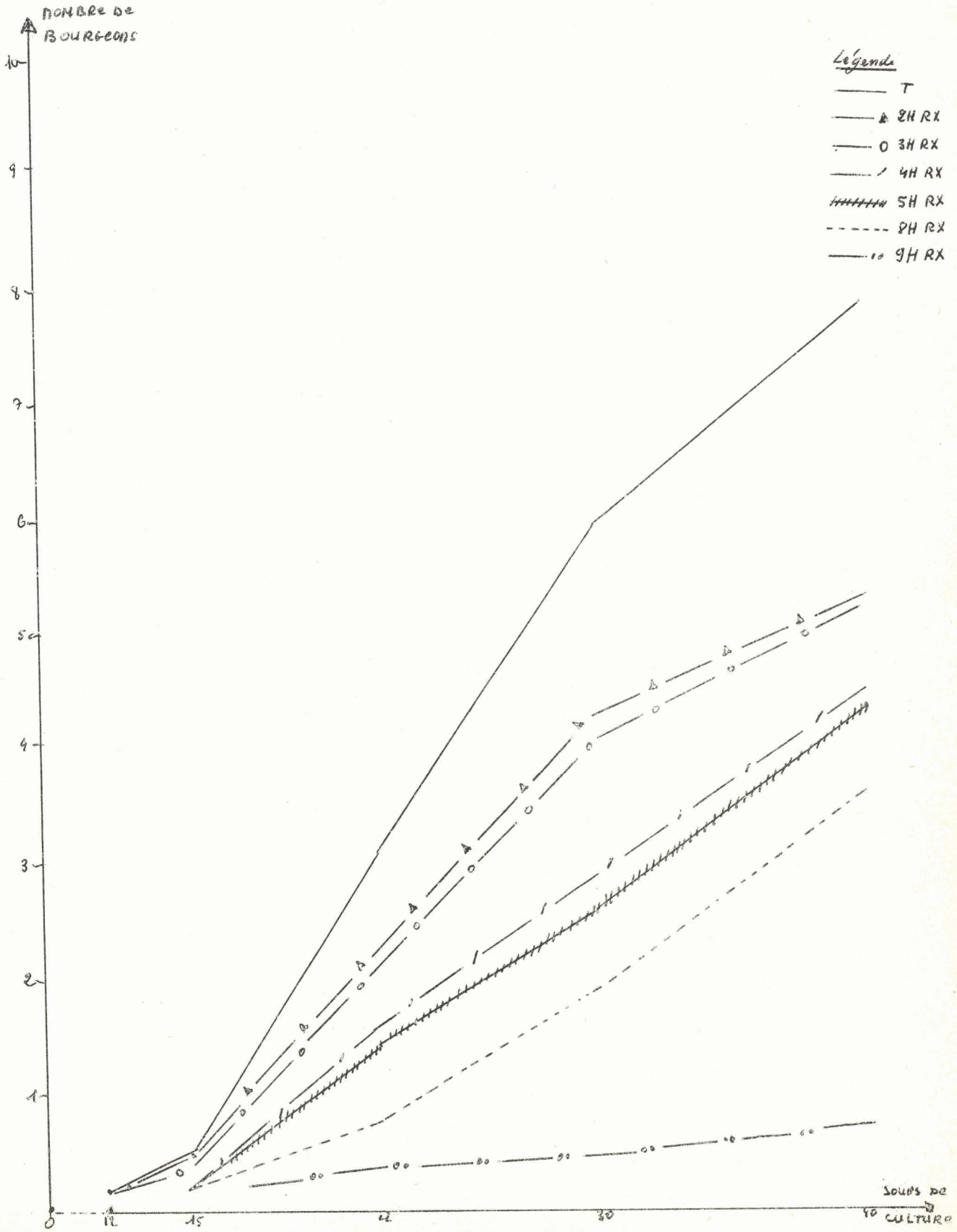
Graphique 35.

Influence des rayons X sur la taille des bourgeons apparus sur les explantats du milieu des feuilles moyennes, plongés dans le milieu de Murashige et Skoog.



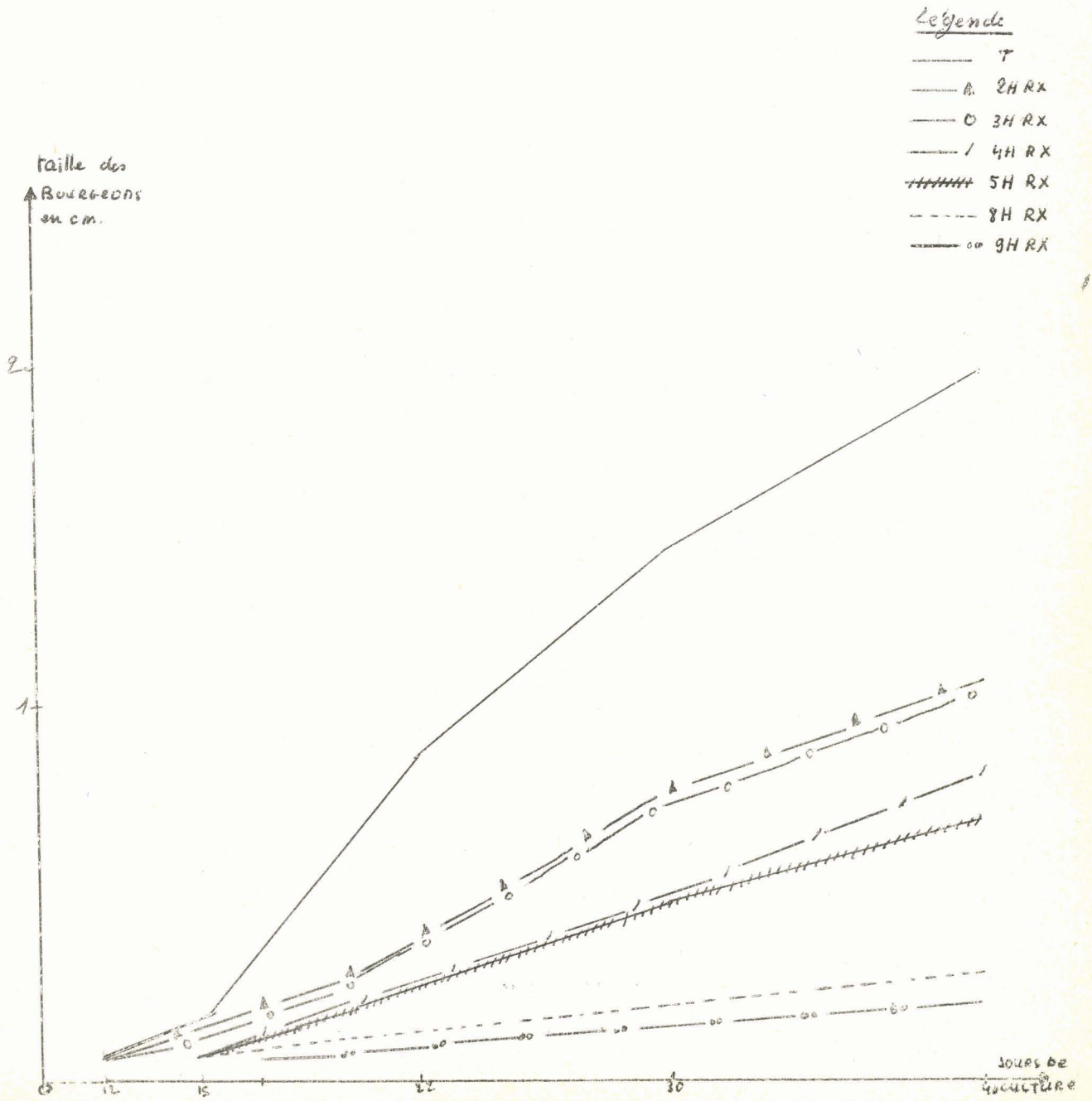
Graphique 36.

Influence des rayons X sur le nombre de bourgeons apparus sur les explantats de la base des feuilles moyennes, plongés dans le milieu de Murashige et Skoog.



Graphique 37.

Influence des rayons X sur la taille des bourgeons apparus sur les explantats de la base des feuilles moyennes, plongés dans le milieu de Murashige et Skoog.



Graphique 38.

résultats obtenus sur le milieu de Skoog et Murashige de ceux relatifs au milieu de Knop.

On peut émettre l'hypothèse que l'irradiation détruit plus ou moins les substances de croissance contenues dans les explantats. Celles-ci étant présentes dans le milieu de Murashige et Skoog, les colonies tissulaires n'auraient plus besoin de les synthétiser à nouveau; ceci explique que la croissance soit alors régulière.

Au contraire, ces substances absentes du milieu de Knop doivent être reconstituées par les explantats : la croissance est irrégulière. Il faut souligner que les bourgeons apparaissent sur toute la surface des explantats témoins. Chez les fragments irradiés, la partie correspondant à la base de la feuille située hors du milieu de culture, ne produit jamais que des cals plus ou moins développés. Les rares bourgeons qui s'y développent ont une croissance très limitée, leurs feuilles sont enroulées sur elles-mêmes.

Au contraire, à la partie correspondant à l'apex de la feuille plongeant dans le milieu de culture, les bourgeons sont très nombreux et leurs feuilles élancées ont une taille importante.

D) Action des rayons X sur les phénomènes de Rhizogénèse.

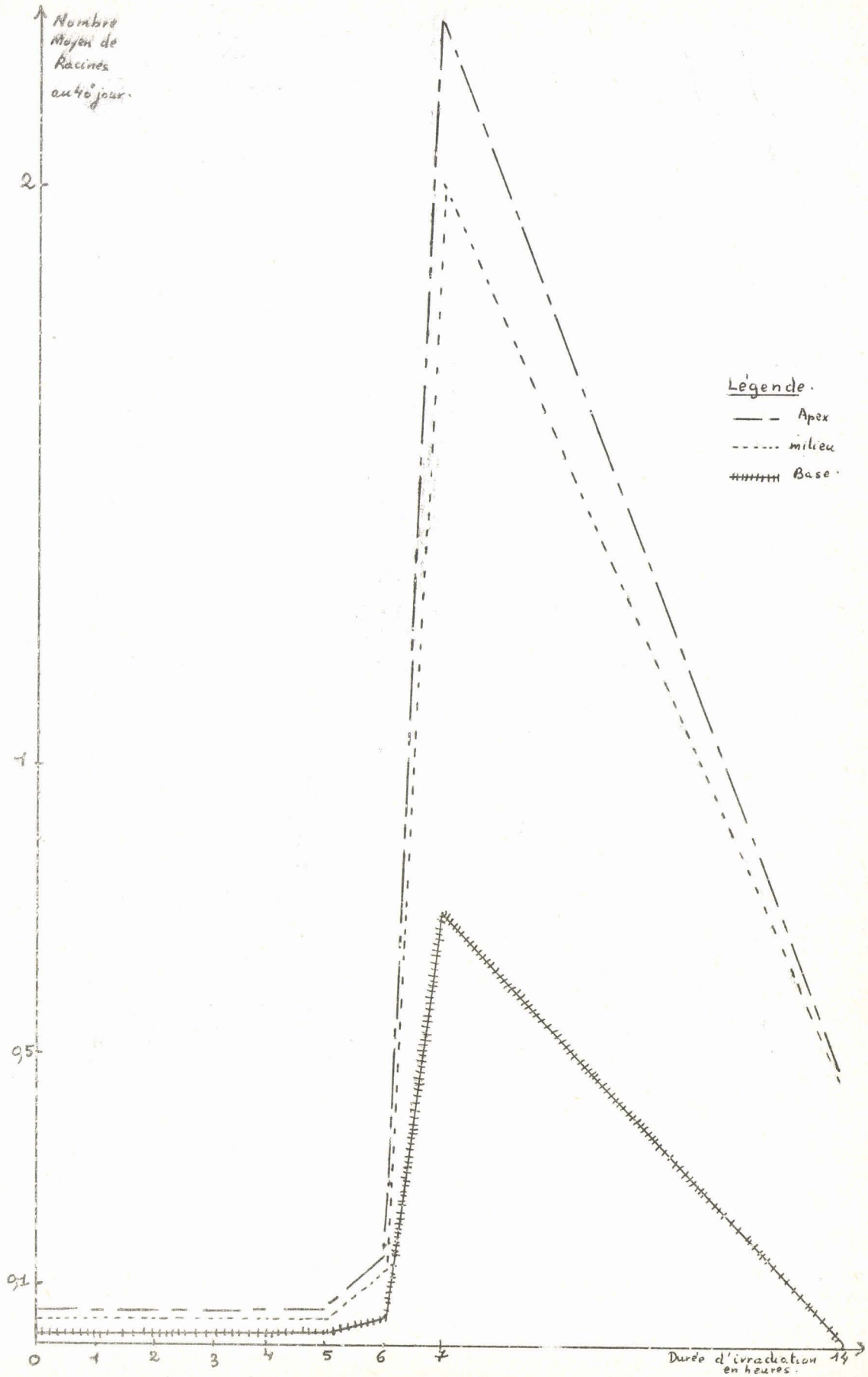
Le nombre des racines néoformées varie beaucoup d'un explantat à l'autre. Les tissus de feuilles d'endive, comme ceux de racines, constituent donc un mauvais test pour l'étude des phénomènes de rhizogénèse. Il nous a cependant paru intéressant de souligner, à titre purement indicatif, quelques-uns des ré-

sultats que nous avons obtenus au cours de nos différentes expériences.

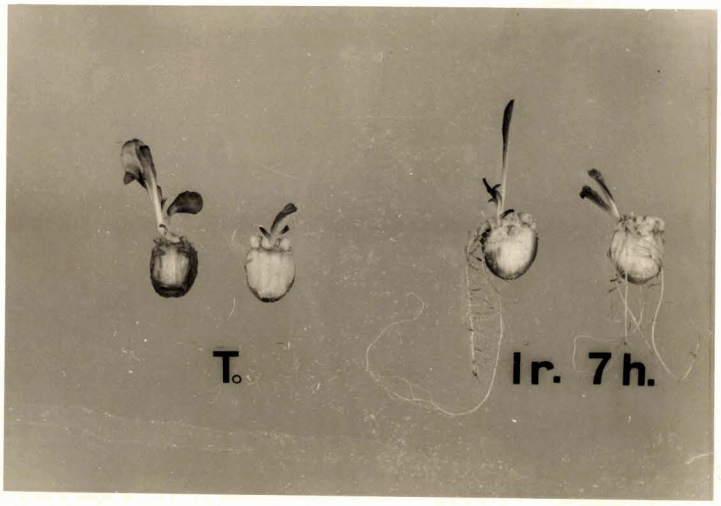
Nous avons prélevé des fragments selon les trois positions basale (I) apicale (3) et intermédiaire (2) sur les feuilles moyennes M de l'endive.

La rhizogénèse varie dans les trois lots, elle est moins importante au fur et à mesure que l'on s'approche de la base de la feuille (graphique 39).

Après une irradiation de 6 à IO heures, il y a une augmentation importante du nombre de racines, la photo correspondant aux explantats de l'apex irradiés 7 heures souligne ce phénomène.



Graphique 39.



Action des rayons X sur la rhizogénèse.

- Une irradiation de 7 heures (100.800 roentgens) des explantats de l'apex des feuilles moyennes augmente nettement la rhizogénèse.

IV - Action des rayons X sur les phénomènes de polarité.

Au cours des expériences effectuées à partir des explantats de feuilles, nous avons observé que les bourgeons apparaissent essentiellement dans la région basale des explantats. Ces tissus manifestent donc une polarité bien nette. Lorsque les fragments sont irradiés, on constate la formation anormale des bourgeons à la région apicale même lorsque celle-ci est plongée dans le milieu de culture. Rappelons que sur les explantats cultivés en milieu de Murashige et Skoog, les bourgeons se développent essentiellement à la partie apicale.

Ceci nous a amené à étudier plus en détail ce phénomène et nous avons tenté de préciser si les rayons X modifiaient la polarité naturelle de ces tissus. Gautheret (1944) a montré que le contact du milieu aqueux était défavorable à la prolifération des tissus végétaux. Afin de supprimer cet effet sur les disques de feuilles, ceux-ci ont été placés horizontalement à la surface du milieu de culture. Le nombre total des bourgeons et leur croissance ont déjà été étudiés précédemment sur les fragments prélevés au niveau des feuilles moyennes M dans la région basale (1), apicale (3) ou intermédiaire (2). (Graphiques 23 à 28). Après 40 jours de culture, nous avons dénombré les bourgeons apparus dans la région apicale et ceux formés normalement à la partie basale des explantats. Nous avons ainsi déterminé le pourcentage des bourgeons formés de façon anormale. (Tableau II).

Tableau n° III

Nombre de bourgeons apparus dans la région apicale des explantats après irradiation aux rayons X.

Nombre de roentgens		0	6480	I2960	25920	5I840
Origine des explantats sur la feuille.	Base	0	0	I5	I8	I6
	Milieu	0	0	20	23	22
	Apex	0	I2	27	40	36

L'examen de ce tableau montre que les rayons X modifient la polarité naturelle des fragments de feuilles. Cependant la dose de 5I.840 roentgens (8 heures de rayons X) étant toxique, la dissymétrie du développement est moins nette qu'après une irradiation de 25.920 roentgens (4 heures de rayons X).

Les tissus jeunes de l'apex de la feuille présentent les maxima d'inversion de polarité.

Les observations de Went sur Tapetes indiquent que la polarité est une propriété vitale de la cellule et, qu'une fois déterminée, elle est définitive. Ceci explique que chez les jeunes cellules de l'apex de la feuille, la polarité non encore déterminée sera facilement modifiée par les rayons X.

Au contraire, à la partie basale de la feuille, le nombre de cellules âgées où la conduction est déjà instituée est plus élevé.

En conclusion, on peut dire que la polarité de l'organogénèse est d'autant plus facilement modifiée que les tissus irradiés sont plus jeunes, et que le nombre de roentgens émis est plus important.

Considérations générales.

Au cours de cette étude nous avons successivement étudié l'influence des rayons X sur les jeunes plantules âgées de 5 ou 8 jours, puis sur les tissus de racines irradiés soit avant la mise en culture, soit après 5 ou 9 jours de développement. Ensuite nous avons tenté de définir l'action des rayons ionisants sur les tissus de feuilles, l'irradiation étant effectuée avant la mise en culture. Nous avons ainsi observé des modifications de la callogénèse et du développement des bourgeons sur différents types d'explantats, que ceux-ci soient plongés dans le milieu ou placés à la surface de celui-ci. Nous nous sommes ensuite demandés si un milieu plus complet, modifiait les résultats obtenus précédemment.

Dans une autre série d'expériences, les fragments de feuilles ont été soumis aux rayons X au 5ème ou au IIème jour de culture.

Après avoir donné un bref aperçu des phénomènes de rhizogénèse, nous nous sommes attachés à définir l'influence des rayons X sur la polarité, celle-ci s'étant révélée particulièrement modifiée par les irradiations.

De ces différentes expériences, nous remarquons en premier lieu le nombre élevé de roentgens (de 6480 à 144.000) reçu par les différents tissus d'endive. Jonard par contre en 1964, a irradié des rhizomes de topinambour par des doses échelonnées de 500 à 3000 roentgens. Soulignons que dans les deux cas, le nombre de roentgens reçus en une minute par les explantats est sensiblement le même.

Les tissus d'endive semblent donc posséder de remarquables propriétés d'organogénèse et sont nettement moins "sensibles" aux rayons X que les rhizomes de topinambour. De plus, il faut souligner que même à la dose la plus forte, il n'y a pas suppression totale de la capacité de prolifération des explantats d'endive.

Nous remarquons ensuite que le principal effet des rayons X, est de ralentir le développement, proportionnellement aux doses croissantes. Cette inhibition est d'autant plus grande que la capacité de prolifération des explantats est plus faible.

Il faut cependant noter, et c'est sans doute ce qui est le plus remarquable, que les irradiations n'ont pas seulement des effets toxiques. Nous avons en effet remarqué une possibilité d'activation des capacités de prolifération et d'organogénèse des fragments irradiés. Il est toutefois difficile à l'heure actuelle d'expliquer ce résultat.

Ainsi, la sensibilité des explantats peut être établie selon l'inhibition plus ou moins grande de leur développement ou selon l'importance de l'activation. Soulignons que l'âge des cultures intervient considérablement dans ces deux phénomènes.

Enfin, remarquons l'importance des modifications de polarité produites par les irradiations. Les fragments de racines d'endive régénèrent des bourgeons qui se développement essentiellement à la face apicale des explantats. Toutefois quelques bourgeons peuvent dans certaines conditions, apparaître dans les régions latérales des explantats, d'ailleurs ces bourgeons restent généralement petits. Après irradiation leur développement n'a plus lieu, seuls

subsistent les bourgeons qui apparaissent normalement dans la région apicale. Il s'agit donc là, non pas d'une modification de la polarité mais au contraire, les rayons X renforcent la polarité manifestée habituellement par ces fragments de racine.

Comme les tissus de racines, ceux de feuilles produisent aussi des bourgeons et des feuilles, mais ces organes se forment toujours à partir du cal qui apparait (lorsque la culture est effectuée sur un milieu simple), exclusivement dans la région basale des explantats. Les bourgeons qui se forment dans la région apicale de ces fragments sont assez rares. Après irradiation, on constate que le nombre de ces bourgeons prenant ainsi naissance dans la région apicale est considérablement augmenté. Ainsi, les rayons X modifient la polarité habituelle des fragments de feuilles et tendent à rétablir une polarité qui apparait plus normale en permettant la formation des bourgeons dans la partie apicale.
Cette action est encore plus nette si nous cultivons ces tissus de feuilles sur un milieu plus riche (Murashige et Skoog). En présence de ce milieu, le nombre de bourgeons est considérablement augmenté et ceux-ci peuvent apparaître sur tout le pourtour des explantats. Après irradiation seuls les bourgeons de la région apicale subsistent, même lorsque cette région apicale est plongée dans le milieu de culture, et malgré l'effet néfaste du milieu aqueux à l'égard des bourgeons.

Ainsi les rayons X ont une action importante sur la croissance et le développement des tissus d'endive. Les quelques essais préliminaires que nous avons effectués, montrent que nous

disposons là d'un moyen d'investigation qui peut être précieux pour tenter d'élucider les phénomènes d'organogénèse qui sont encore bien méconnus. Enfin l'effet des rayons X sur les manifestations de la polarité, souligne l'importance de leur action sur tous les phénomènes vitaux de la cellule végétale.

-:-:-:-:-:-:-

BOURIQUET (R) et VASSEUR (J.) I965.

Sur la croissance et le bourgeonnement des tissus de feuilles d'endive cultivés "in vitro".
Journées internationales d'étude sur les phytohormones et l'organogénèse. Liège.

DUARTE (Y.) I963.

Action des rayons X sur les propriétés tumorales des tissus de crown-gall de tabac.
C.R. acad.Sci; 257; 3034-3035.

GAUTHERET (R.J.) I944.

Recherches sur la polarité des tissus végétaux.
Revue de cytologie et de cytophysiologie végétale.
Tome VII - fascicule I-4. p. 45 à I85.

GAUTHERET (R.J.) I959.

La culture des tissus végétaux. Techniques et réalisations.
Masson & Cie Editeurs; Paris.

JONARD (C.R.) I959.

Sur la prolifération "in vitro" des tissus prélevés sur les rhizomes de topinambour ayant subi l'action des rayons X.
C.R. Acad. Sci; 248; 3603-3605.

KERSTEN (H.J.) - MILLER (H.L.) - SMITH (F.) I943.

Cités par Jonard.
Plant. physiology. I8; 8-I8.

KLEIN (R.M.) VOGEL (H.H.Ir) I956.

Necessity of indolacetic acid for the duplication of crown-gall tumor cells.
Plant.physiology; 3I; I7-22.

NARAYANASWAMY (S.) I963.

Action des rayons X sur les phénomènes d'organogénèse dans les tissus cultivés "in vitro".
C.R. Acad.Sc.Paris; 257; 508-5I0.

SHULL (C.A.) MITCHELL (K.J.) I933.

Cités par Jonard.
Plant. physiology; 8; 287-296.

MURASHIGE (T.) SKOOG (F.) I962.

A revised medium for rapid growth and bio assays with tabacco tissue cultures.
Plant physiology; I8; 8-I8.

VASSEUR (J.) I965.

Sur les conditions de culture "in vitro" des tissus de feuilles d'endive.
Soc.Bot.Nord.Fr. I8; N°4 (sous presse).

VASSEUR (J.) I965.

Recherches sur la culture "in vitro" des tissus d'endive.
D.E.S.

WAGGONER (P.E.) et DIMARD (A.E.) I952.

Crown-gall secretion by ionizing radiation.
Amer. J. Botany; 39; 679-684.

WENT (F.W.).

Eine botanische Polaritätstheorie
Jahrb. wiss.Bot; 76; 528-557.

TABLE DES MATIERES. 74

INTRODUCTION. 2

HISTORIQUE. 4

TECHNIQUES..... 6

I) Germination des graines et développement des plantules... 6

2) Culture de tissus..... 6

3) Technique d'irradiation. 8

RESULTATS EXPERIMENTAUX..... II

I - Action des rayons X sur les jeunes plantules. II

II - Action des rayons X sur les tissus de racines;..... I5

A) Irradiations avant la mise en culture;..... I5

B) " après 5 ou 9 jours de culture. I7

III - Action des rayons X sur les tissus de feuilles;..... 24

A) Irradiations avant la mise en culture..... 24
I° Explantats placés perpendiculairement au milieu, 24
2° " " horizontalement sur le milieu. 4I

B) Irradiations après 5 ou II jours de culture..... 49

C) Culture en milieu de Murashige et Skoog..... 54

D) Action des rayons X sur les phénomènes de rhizogénèse. 62

IV - Action des rayons X sur les phénomènes de polarité..... 66

CONSIDERATIONS GENERALES..... 68

BIBLIOGRAPHIE..... 72

TABLE DE MATIERES..... 74

BIBLIOTHÈQUE UNIVERSITAIRE SECTION DE SCIENCES LILLE