

EFFETS D'UNE TEMPERATURE FRAICHE ET D'UN APPORT EXOGENE DE REGULATEURS DE CROISSANCE SUR DES SEMIS DE CHENE LIEGE

Malika Rached-Kanouni, PhD

Fayçal Benmansour, Ing.

Djamel Alatou, Prof.

Laboratoire de développement et valorisation des ressources phyto-génétiques, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Département d'Ecologie et Biologie, Université Mentouri, Constantine, Algérie

Abstract

The seedlings of Cork oak (*Quercus suber* L.) cultivated in uniform conditions at 25°C for a duration of long day of 16 hours are transferred for a week to a cool temperature of 5°C, to precise morphological stages. After coming back to initial conditions of cultivation, the temporal and spatial modifications are observed on waves. When the seedlings are transferred to “full bloom bud”, the caulinar strength phase last more time, and the component “rest period” is abolished. Concerning the other stages of transfer “swollen bud and rest period”, the duration of rest period and the formation of scales increase with the formation of semi-phase for the first stage. So, some spatio-temporel modifications appear, they are similar to those observed by the application of growth's regulators of type gibberelic acid at full-bloom bud stage and rest period and cytokinin (kinetic) at swollen stage.

Keywords: Cork oak, cool temperature (5°C), morphogenesis, growth regulators

Résumé

Les semis de chêne liège (*Quercus suber* L.) cultivés en conditions contrôlées à 25°C en jour long de 16h sont transférés durant une semaine à une température fraîche de 5°C, à des stades morphologiques précis (bourgeon gonflé, bourgeon épanoui et repos apparent). Après retour aux conditions initiales de culture, les variations spatio-temporelles sont

observées sur la vague n, n+1 et n+2. Les résultats obtenus montrent que les semis transférés au stade « bourgeon épanoui », présentent une phase d'allongement caulinaire plus longue, alors que la composante repos est abolie. Pour les deux autres stades de transfert (repos apparent et bourgeon gonflé), la durée de repos apparent et la formation d'écailles augmentent fortement avec formation d'un mini étage pour le premier stade (n). Ainsi, apparaissent quelques variations spatio-temporelles identiques à celles observées par l'application de régulateurs de croissance de type acide gibbéréllique (GA₃) au stade bourgeon épanoui et repos apparent, et cytokinine (kinétine) au stade bourgeon gonflé de la deuxième vague de croissance.

Mots clefs : chêne liège, choc thermique (5°C), morphogenèse, régulateurs de croissance

Introduction

La croissance rythmique endogène des arbres est caractérisée par le fait que dans un milieu permettant un développement optimum, les tiges manifestent des alternances de temps d'activité et de repos assez régulières pour qu'apparaisse une périodicité (Champagnat et al, 1986a). Ainsi, la tige s'édifie par des vagues de croissance successives qui d'un point de vue morphologique se traduisent par la superposition de différents étages ainsi que par la production, au cours de chaque vague de croissance, de différents types foliaires. Ce dernier phénomène est qualifié de développement hétéroblastique. Ce mode de croissance est fréquemment rencontré chez les espèces ligneuses des régions tempérées et méditerranéennes (Chênes, Bouleau, Châtaignier, Saule...) mais c'est dans le monde équatorial et tropical (Crabbé, 1993) qu'il trouve sa pleine expansion (Hévéa, Cacaoyer, Manguier...).

Parmi les différentes espèces utilisées pour étudier le déterminisme de la croissance rythmique, les chênes dont le chêne liège (*Quercus suber* L.) occupent une place importante. Cette espèce présente en effet un rythme de croissance de la tige marqué, que l'on peut aisément obtenir en conditions contrôlées. Ainsi, placée à 25°C, en jours longs, cette espèce produit une vague de croissance toutes les 5 semaines (Alatou et al, 1995). La fréquence des vagues de croissance rend donc son utilisation très favorable à l'expérimentation. Chaque vague de croissance formée est composée d'ensembles foliaires de nature différente (ensembles foliaires à stipules écailleuses, ensembles foliaires à limbe assimilateur et ensembles foliaires à limbes avortés qui marquent la fin de la vague répartie sur un axe orthotrope, ce phénomène est qualifié de développement hétéroblastique ou polymorphisme foliaire. De plus, il a été suggéré que le défaut d'accessibilité

des nutriments ou des régulateurs de croissance constituerait des limitations majeures à l'une ou l'autre des manifestations de la croissance et pourrait ainsi intervenir dans l'apparition et l'expression du rythme (Champagnat et al, 1986b ; Barnola et al, 1990). Cependant, à l'heure actuelle trop d'incertitudes subsistent quant à l'enchaînement des phénomènes conduisant à l'expression de la croissance rythmique. L'objectif de ce travail est donc d'étudier les mécanismes contrôlant l'expression du rythme de croissance chez le chêne liège, à travers l'étude de l'une de ces manifestations, l'expression du développement hétéroblastique. Pour cela, l'observation des effets de l'apport exogène de régulateurs de croissance (acide gibbérellique : GA₃ et cytokinine : kinétine) et l'application d'une température fraîche sur les feuilles assimilatrices à différents stades de développement de croissance afin de modifier le rythme de croissance et obtenir des plants ne présentant plus de développement hétéroblastique.

Matériel et méthodes

Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué des jeunes plants du chêne liège issus de la germination. Les glands utilisés ont été récoltés dans la région d'Azzaba (Skikda, Est-Nord Algérien).

Germination et culture en pots

Les glands sont mis à germer à l'obscurité dans la vermiculite saturée d'eau à une température ambiante de 16°C, afin de limiter la production de semis à tiges multiples (Guibert et Pichon, 2001). Les glands sélectionnés (hypocotyle de 6 à 14 cm et un épicotyle de 1 à 2 cm de longueur), sont transférés en pots remplis d'un sol de chênaie. Les pots sont arrosés régulièrement une fois par semaine, et placés en conditions semi contrôlées (à une température de 25°C ± 2°C et sous une intensité lumineuse de 6000 lux à la base des plants).

Etude morphologique de vagues

Description des stades et choix de prélèvement du matériel végétal

La totalité de l'étude porte sur la deuxième vague de croissance qui débute en moyenne 5 semaines après la mise en pots de semis. Le choix de la deuxième vague de croissance se justifie par Payan (1982) qui montre que le premier étage n'est pas représentatif de l'étage moyen car il se développe encore sous l'influence des réserves cotylédonaire qui varient d'un gland à l'autre (Alouie-Sossé et al, 1994). Cette influence devient négligeable lors de l'installation de la 2^{ème} vague de croissance, choisie ici pour l'étude. La terminologie utilisée pour décrire les stades de développement, est conforme à celle décrite par Alatou et al (1989). Ces stades sont :

- Stade bourgeon gonflé : 1^{er} et 2^{ème} jour de la deuxième vague de croissance, bourgeon écailleux de 1 à 2 mm.

- Stade bourgeon épanoui : 5^{ème} et 6^{ème} jour de la deuxième vague de croissance, la pousse fait 30 à 40 mm, les limbes assimilateurs de petite taille (moins de 10 mm) sont dressés et accolés à la tige.

- Stade repos apparent : 25^{ème} et 30^{ème} jour de la deuxième vague de croissance.

Transfert à 5°C

Les plants de chêne liège sont transférés à une température de 5°C en jour long (16h) durant une semaine, puis replacés en conditions initiales de culture.

L'apport exogène de régulateurs de croissance

Deux régulateurs de croissance ont été testés à une même concentration (100 mg. l⁻¹): une gibbérelline (GA₃) et une cytokinine (kinétine). La pulvérisation foliaire de ces deux substances est réalisée pendant trois jours successifs.

Pour chaque condition, 7 plants de même stade morphologique ont été choisis.

L'effet de l'apport des différents régulateurs de croissance et de la température fraîche (5°C) a été suivi par les mesures des composantes spatio-temporelles tous les deux jours, ce sont : les durées en jours des phases de croissance en longueur de la tige et de repos du bourgeon apical ; le nombre d'ensembles foliaires formés par unité de temps ou (plastochrone apparent) et la morphogenèse de ces ensembles qui sont en nombre de trois :

- Les ensembles foliaires à stipules écailleux (les écailles) ;
- Les ensembles foliaires à limbe assimilateur (les feuilles proprement dites)
- Les ensembles foliaires à limbe avorté.

Les mesures ont été réalisées à partir de la 2^{ème} vague de croissance jusqu'à la fin de la 4^{ème} vague.

Résultats

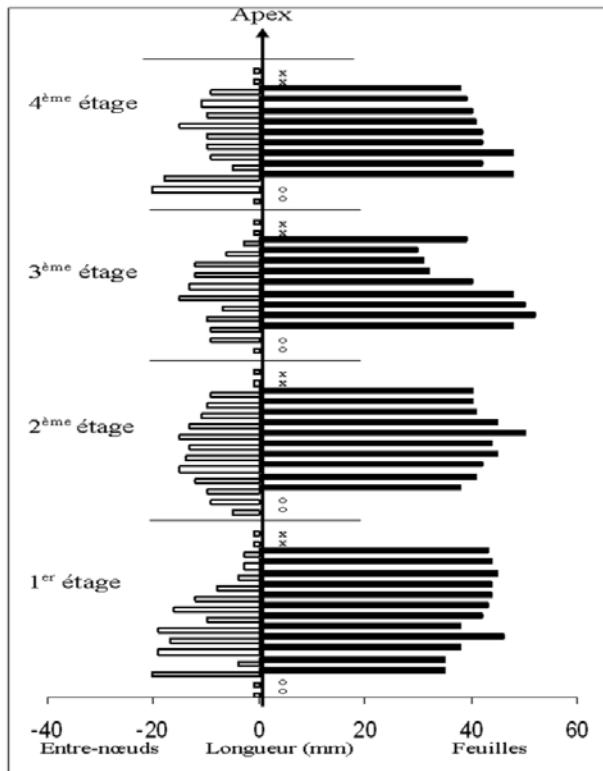
Le chêne liège cultivé à 25°C présente une croissance rythmique caractérisée par une succession d'unités structurales identiques (vagues ou flushs) (Fig. 1). Une vague de croissance dure en moyenne 5 semaines, réparties respectivement en une phase d'allongement caulinaire qui dure 15 jours et une phase de repos apparent de trois semaines (Tab. 1). Le nombre d'ensembles foliaires à limbe assimilateur diminue progressivement d'une vague de croissance à la suivante et l'hétéroblastie reste faible et marquée par un nombre de 2 à 3 écailles, ces résultats sont similaires à ceux obtenus par Alatou et al (1995).

Tableau 1: Durées moyennes (en jours) des phases d’allongement de la tige, de repos apparent du bourgeon apical et ensembles foliaires des semis de chêne liège cultivés à 25°C ± 2°C, en jours longs de 16h, (n=7).

| Vagues de croissance | Allongement caulinaire (js) | Repos apparent (js) | Ecailles | Limbes assimilateurs | Limbes avortés |
|----------------------|-----------------------------|---------------------|-----------|----------------------|----------------|
| 1 | 19.33 ± 1.5 | 26.2 ± 3.2 | 2.7 ± 0.2 | 12.16 ± 1 | 1.7 ± 0.4 |
| 2 | 14.3 ± 1.4 | 21.3 ± 1.6 | 2.5 ± 0.4 | 10.2 ± 1.4 | 2.2 ± 0.2 |
| 3 | 15.6 ± 0.7 | 22.5 ± 3.6 | 2.2 ± 0.7 | 9.3 ± 1.6 | 2.4 ± 0.5 |
| 4 | 16 ± 1.2 | 20 ± 4.5 | 2.5 ± 1.0 | 9.0 ± 1.3 | 2.6 ± 0.5 |

Figure 1 : Morphogénèse d’un semis de chêne liège cultivé en conditions contrôlées à 25°C en jours longs de 16heures (plant témoin).

Le diagramme montre la longueur des entre-nœuds selon leur rang sur la tige (partie gauche) et la nature des ensembles foliaires avec la longueur des limbes assimilateurs (partie droite).
0 : écailles ; **x :** limbes avorté.



Stade bourgeon gonflé
Composantes temporelles

A la fin de la deuxième vague de croissance, les résultats obtenus montrent que les durées d’allongement sont identiques aux témoins (25°C) pour les traitements de 5°C et des cytokinines, alors que les périodes de

repos sont importantes (Tab. 2). En effet, elles varient entre un mois pour 50% de l'effectif à 5°C et 28% de l'effectif traité par les cytokinines à 3 mois pour 50% de l'effectif qui reste pour le premier traitement et 4 mois environ, pour 72% de la population qui reste pour le deuxième traitement. Pour les GA₃, les résultats obtenus montrent une hétérogénéité au niveau des phases d'allongement où 57% des plants traités présentent des durées très longues (50 ± 5.07 jours) et 43% des plants présentent des périodes d'allongement identiques à celles observées chez les témoins (14.16 ± 2.4 jours). Les périodes de repos sont variables entre les individus mais restent toujours proches de celle du témoin pour 57% de l'effectif alors qu'elles sont plus longues pour les 43% restants (126.5 ± 2.16 jours).

Tableau 2 : Durées moyennes des phases d'allongement de la tige et de repos (en jours) des plants de chêne liège cultivés à 25°C en jours longs de 16h traités par les différents traitements (GA₃, kinétine et 5°C) au stade bourgeon gonflé (n=7).

| T | V | Allongement de la tige (js) | Repos apparent (js) | Ecailles | Limbes assimilateurs | Limbes avortés |
|-----------------|---|--------------------------------------|--|-----------------------------|-------------------------------------|----------------|
| 5°C | 1 | 19.33 ± 1.52 | 26.2 ± 3.2 | 2 | 13.75 ± 1.66 | 2.12 ± 0.99 |
| | 2 | 18.37 ± 3.5 | 19.25 ± 9.6 (50%) 92 ± 16 (50%) | 5.4 ± 0.89 | 4.6 ± 1.8 | 2.82 ± 1.25 |
| | 3 | 14.66 ± 4.16 | 83.5 ± 10.75 | 4.75 ± 1.5 | 7.8 ± 1.48 | 2 ± 0.7 |
| | 4 | - | - | - | - | - |
| GA ₃ | 1 | 19.33 ± 1.52 | 26.2 ± 3.2 | 2 ± 0.4 | 14.14 ± 1.43 | 1.14 ± 0.37 |
| | 2 | 50 ± 5.07 (57%) 14.16 ± 2.4 (43%) | 23.25 ± 1.25 (57%) 126.5 ± 2.16 (43%) | 1.42 ± 0.78 | 21 ± 2.64 (57%) 10.6 ± 1.8 (43%) | 2.82 ± 1.06 |
| | 3 | 13.66 ± 3.38 | 31.15 ± 3.8 | 1.22 ± 0.3 | 8.75 ± 1.81 | 2.1 ± 0.3 |
| | 4 | 11.66 ± 0.57 (43%) | - | 1.52 ± 0.7 (43%) | 6.32 ± 2.4 (43%) | 1.98 ± 0.13 |
| Cks | 1 | 19.33 ± 2.34 | 26.2 ± 3.2 | 2.37 ± 0.74 | 13.23 ± 1.43 | 1.71 ± 0.75 |
| | 2 | 13.78 ± 1.4 | 23 ± 2.82 (28%) 94 ± 16.1 (72%) | 1.37 ± 1.5 (62%) 0 (38%) | 11.62 ± 1.83 | 2.62 ± 1.06 |
| | 3 | 16.12 ± 3.87 | 38 ± 14.9 | 3.87 ± 0.83 | 5.12 ± 2.41 | 2.5 ± 0.53 |
| | 4 | - | - | - | - | - |

Composantes spatiales

Pour le deuxième stade de croissance, les GA₃ favorisent l'augmentation de la durée d'allongement qui s'accompagne d'une augmentation du nombre de feuilles assimilatrices, dont le nombre est 21 ± 2.64 feuilles pour les plants présentant une phase d'allongement de 50 ± 5.07 jours (Tab. 2). Ces limbes assimilateurs sont de taille réduite (longueur < à 30 mm) et séparés par des entre-nœuds courts (5 mm en moyenne) sur la moitié inférieure de l'étage (Fig. 2) ; alors que les suivants sont d'une longueur normale (50 mm) et séparés par des entre-nœuds longs (11 mm en moyenne).

Les résultats obtenus montrent que l'expression spatiale est la plus touchée chez les plants traités par les cytokinines, en effet, la cytokinine a modifié l'hétéroblastie et on constate que 62% de l'effectif présente une

hétéroblastie identique au témoin, alors que 38% restant présente une hétéroblastie très atténuée, où l'axe ne présente aucune écaille, et un étalement de limbe assimilateur. Il faut noter que ce traitement conduit à une modification de la succession : écaille- limbe assimilateur-limbe avorté (une paire d'écailles entre deux limbes assimilateurs est observée. Les plants transférés à 5°C (Fig. 3) présentent également une hétéroblastie accentuée (formation d'un mini étage). Une augmentation du nombre d'écailles (5.4 ± 0.89), qui s'accompagne d'une réduction du nombre de feuilles à limbe assimilateur.

Pour le troisième stade de croissance, le nombre et la morphologie des ensembles foliaires ne diffèrent pas de celles observées chez les témoins pour le traitement par les GA₃. Pour les Cks, l'hétéroblastie reste bien marquée par un nombre relativement élevé d'écailles (3 à 5) mais une réduction remarquable du nombre de feuilles à limbe assimilateur. Pour les Cks, le développement est moins affecté que la précédente, une augmentation du nombre d'écailles, 4 à 5 écailles. Le nombre d'ensembles foliaires à limbe assimilateur est sensiblement réduit par rapport au témoin (Tab. 2).

Figure 2 : Morphogenèse d'un semis de chêne liège cultivé en conditions contrôlées de 25°C en jours longs de 16 heures et traité par l'AG₃. Stade de traitement : Bourgeon gonflé de la 2^{ème} vague de croissance.

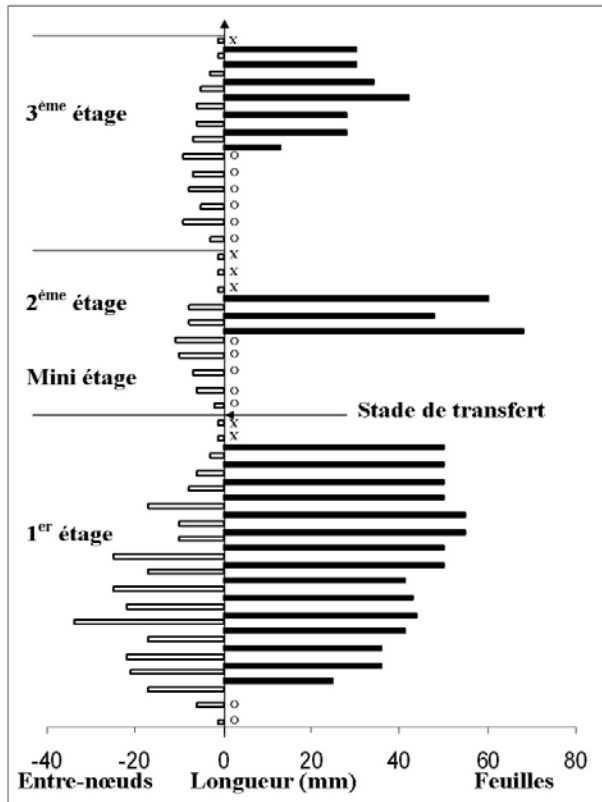
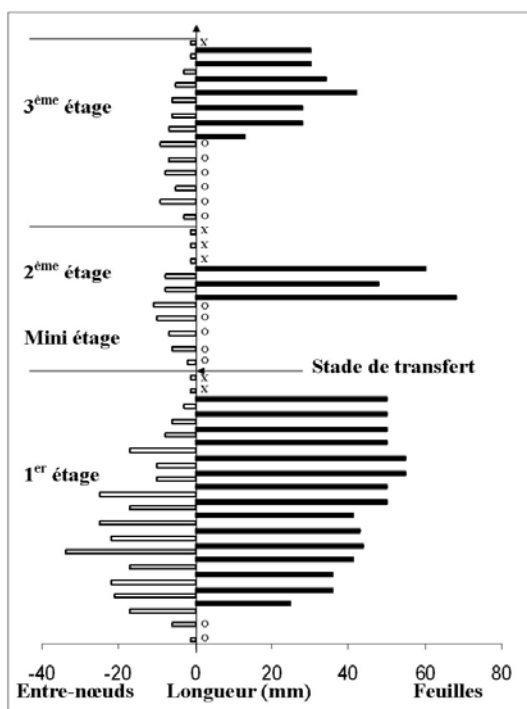


Figure 3 : Morphogenèse d'un semis de chêne liège transféré durant une semaine à 5°C et retour aux conditions initiales (25°C). Stade de transfert : Bourgeon gonflé de la 2^{ème} vague de croissance.



Allongement caulinaire et plastochrone apparent

Chez les plants traités par les GA₃, l'allongement journalier de l'axe caulinaire est faible : les maximums d'allongement, atteint au 5^{ème}, 27^{ème} et 44^{ème} jours de croissance sont respectivement 12.5 mm/j, 8 mm/j et 16 mm/j. Le plastochrone apparent suit la même évolution que celle de l'allongement de la tige et atteint son maximum 2 feuilles par jour au 42^{ème} jour. Chez les plants traités par les cytokinines, l'allongement moyen journalier de l'axe de la troisième vague est relativement faible par rapport à la deuxième vague, avec les maximums de 17.5 mm/ j et de 15 mm/j correspondant au 6^{ème} jour de croissance de la deuxième vague et au 9^{ème} j de croissance de la troisième vague. Le plastochrone apparent atteint son maximum (2 feuilles/j) au 5^{ème} jour de la croissance de la deuxième vague et (0.6 feuilles/ j) au 9^{ème} jour de croissance de la troisième vague.

A 5°C, l'allongement de l'axe caulinaire est nul au niveau de la deuxième vague de croissance ; après retour aux conditions initiales de culture à 25°C, il s'élève puis s'abaisse rapidement où il atteint un maximum de 0.5 mm/j pendant 6 jours. Au-delà, il s'élève rapidement jusqu'au 16^{ème}

jour où il atteint son maximum de 7.33 mm/j, au même moment, le plastochrone apparent atteint son maximum de (1feuille/ j).

Stade bourgeon épanoui

Composantes temporelles

A la 2^{ème} vague de croissance (n), les durées des phases d'allongement varient en fonction des stades morphologiques atteints en fin de traitement. Elles sont de 11.16 ± 0.98 j pour les plants présentant des feuilles épanouies (43%) et de 42 ± 4.2 j pour les semis conservant leur stade initial de bourgeon épanoui (57%) pour le traitement GA₃; alors que ces durées d'allongement sont comparables à celles obtenus chez les témoins pour les CkS et la température 5°C. Les phases de repos sont fortement prolongées (43 ± 12.16 j pour 57%) et très réduites (3 ± 0.7 j pour 43%), soit une diminution de 80% environ.

Dans cette situation, le débourrement anticipé de la 3^{ème} vague de croissance coïncide avec l'étalement foliaire de la 2^{ème} vague pour les Cks. Le transfert de semis à 5°C permet de supprimer la composante repos, la phase d'allongement est d'une période de 37 j en moyenne pour 57% de la population (Tab. 3). A la 3^{ème} vague, les résultats obtenus montrent une proportionnalité inverse entre les allongements caulinaires de la 2^{ème} vague et la 3^{ème} vague de croissance (les individus présentant des durées d'allongement très longues 42 ± 4.2 au 2^{ème} stade, ont une durée relativement courte à la 3^{ème} vague fait 11.5 ± 0.5). Les phases de repos sont variables entre les différents stades. Elles sont d'un mois à 3 mois pour ces deux dernières vagues.

Tableau 3 : Durées moyennes des phases d'allongement de la tige et de repos (en jours) des plants de chêne liège cultivés à 25°C en jours longs de 16h traités par les différents traitements (GA₃, kinétine et 5°C) au stade bourgeon épanoui (n=7).

| T | V | Allongement de la tige (jours) | Repos apparent (jours) | Ecailles | Limbes assimilateurs | Limbes avortés |
|-----------------|------------|--|---|---------------------------------------|---------------------------------------|----------------|
| 5°C | 1 | 19.33 ± 1.52 | 26.2 ± 3.2 | 2 | 14.12 ± 1.53 | 1.5 ± 0.7 |
| | 2 | 12 ± 2.5 (43%) | 28.7 ± 4 | 2.22 ± 1.13 | 19 ± 2.94 (57%) | 1.5 ± 0.5 |
| | | 37 ± 8.48 (53%) | | | 10.6 ± 1.64 (43%) | |
| | 3 | 14 ± 2.85 | 21 ± 1.4 (29%) 45.8 ± 11.18 (71%) | 1.16 ± 0.62 | 10 ± 1.41 | 1.37 ± 0.2 |
| 4 | 13.2 ± 1.3 | 20 ± 1.3 | 1.25 ± 1.06 | 9 ± 1.85 | 1.5 ± 0.5 | |
| GA ₃ | 1 | 19.33 ± 1.52 | 26.2 ± 3.2 | 2.28 ± 0.48 | 13.28 ± 2.75 | 1.71 ± 0.48 |
| | 2 | 42 ± 4.2 (57%) | 23.83 ± 6.91 | 2 ± 0.61 | 22 ± 3.6 (57%) | 2.42 ± 0.96 |
| | | 11.16 ± 0.98 (43%) | | | 11.75 ± 2.21 (43%) | |
| | 3 | 25.08 ± 1.46 (43%) 11.5 ± 0.7 (57%) | 28.33 ± 4.5 (50%) 67.33 ± 5.8 (50%) | 2.16 ± 0.75 | 16.3 ± 1.2 (43%) 9.75 ± 2.21 (57%) | 2 ± 0.75 |
| 4 | 14 ± 3.6 | 35.33 ± 4.6 | 2.2 ± 0.41 | 9.13 ± 1.12 | 1.83 ± 0.4 | |
| Cks | 1 | 19.33 ± 1.52 | 26.2 ± 3.2 | 2.28 ± 0.48 | 12.85 ± 3.67 | 1.71 ± 0.75 |
| | 2 | 12.14 ± 2.19 | 43 ± 12.16 (57%) | 1.42 ± 0.53 | 9.85 ± 1.57 | 2.62 ± 1.06 |
| | | | 3 ± 0.7 (43%) | | | |
| | 3 | 18.33 ± 4.8 | 76.66 ± 10.4 (57%) 46.33 ± 9.8 (43%) | 1.52 ± 0.83 (43%) 5.3 ± 1.07 (57%) | 9.3 ± 1.2 (43%) 5.25 ± 0.95 (57%) | 2.5 ± 0.53 |
| 4 | 7.2 ± 1.5 | - | 1.8 ± 0.83 | 7.02 ± 1 (29%) 3.2 ± 1.8 (71%) | 1.8 ± 1.08 | |

Les composantes spatiales

A la 2^{ème} vague de croissance, les caractéristiques foliaires de la vague traitée par le froid sont proches de celles des plants de gibbérelline au stade bourgeon épanoui. Dans les deux cas, l'augmentation de la durée de l'allongement s'accompagne d'une augmentation du nombre des feuilles assimilatrices dont la taille reste réduite à la moitié inférieure de l'étage pour les plants traités par le froid (Fig. 4). On note 19 ± 2.94 feuilles assimilatrices et 22 ± 3.6 pour les plants gibbérellinés séparées par des entre-nœuds allongés. A la 3^{ème} vague les individus caractérisés par des durées d'allongement relativement longues (25.08 ± 1.64 j) présentant un nombre élevé des feuilles à limbe assimilateur par rapport aux témoins (16.3 ± 1.2 feuilles) dont la longueur ne dépasse pas 40 mm et sont souvent associés par des entre-nœuds longs pour les GA₃. Pour les Cks, 57% des plants présentant un repos très long durant la 2^{ème} vague, l'hétéroblastie est accentuée (4 à 5 écailles produits) mais l'axe reste court et ne possède seulement que 5.25 ± 0.95 feuilles assimilatrices (Fig. 5).

A la 4^{ème} vague de croissance, 71% présente un étage très réduit caractérisé par une réduction sévère de nombre de feuilles à limbe assimilateur (2 à 4 feuilles) et une modification notable dans la succession : écaille-limbe assimilateur-limbe avorté.

Pas de changement pour la 3^{ème} vague de croissance pour les GA₃ et la température 5°C.

Figure 4 : Morphogenèse d'un semis de chêne liège transféré durant une semaine à 5°C et retour aux conditions initiales (25°C). Stade de transfert : Bourgeon épanoui de la 2^{ème} vague de croissance.

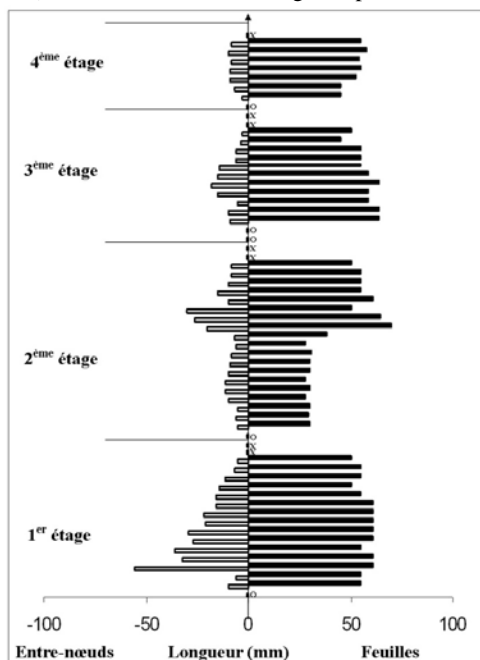
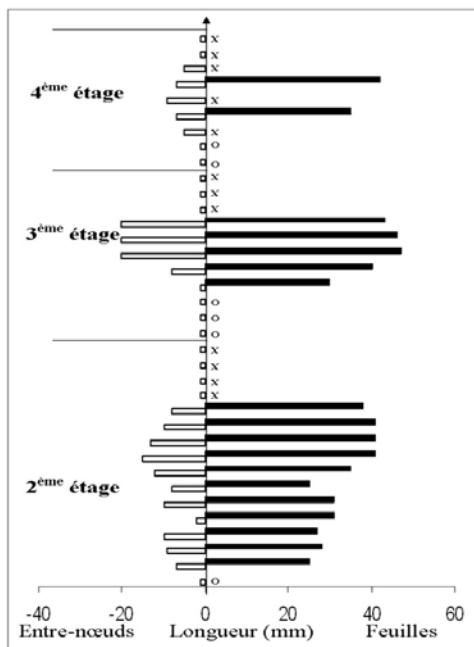


Figure 5 : Morphogénèse d'un semis de chêne liège ayant subi une pulvérisation de la cytokinine (kinétine). Stade de traitement : Bourgeon épanoui de la 2^{ème} vague de croissance.



Allongement caulinaire et plastochrone apparent

Pour les plants où la période caulinaire est très longue (40 jours en moyenne) à la 2^{ème} vague de croissance, les maximums d'allongement journalier de l'axe sont atteints aux 12^{ème} et 33^{ème} jours, correspondant respectivement à des vitesses d'allongement de 15 mm/j et 20 mm/j). Les maximums de plastochrone apparent au nombre de deux (1.91 feuilles/j et 1.5 feuilles/j) correspondent aux maximums de vitesse d'allongement caulinaire. Pour les cytokinines, les plants ayant une durée de repos très brève (3 ± 0.7 j), leur cinétique d'allongement et de plastochrone apparent durant la 2^{ème} vague est identique au témoin alors que la 3^{ème} vague anticipée présente des valeurs d'allongement très faible (1 mm/j) durant les premiers jours, puis, elle augmente pour atteindre un maximum de 6 mm/J au 16^{ème} jour de croissance. La cinétique d'allongement de la tige et le plastochrone apparent de la 4^{ème} vague de croissance reste inchangée par rapport au témoin. Au niveau de la 2^{ème} vague traitée, l'allongement caulinaire devient nul à 5°C et reprend après le transfert à 25°C pour atteindre son maximum (10 mm/j) au 24^{ème} jour de croissance. Le plastochrone reste faible avec 0.5 feuille/j.

Repos apparent

Composantes temporelles

Les résultats obtenus montrent que les durées d'allongement de la tige observées durant la 3^{ème} et la 4^{ème} vague de croissance des plants traités

par les GA₃ sont identiques à celles obtenues chez les témoins pour toute la population alors que les périodes de repos varient entre les individus d'une même vague et d'une vague à l'autre.

Pour la kinétine et 5°C, on note une augmentation forte des durées de repos, elle est de 3 mois environ pour le premier traitement et d'un mois pour 5°C alors que la phase d'allongement est très réduite, elle est de 11 ± 2.5 jours (Tab. 3).

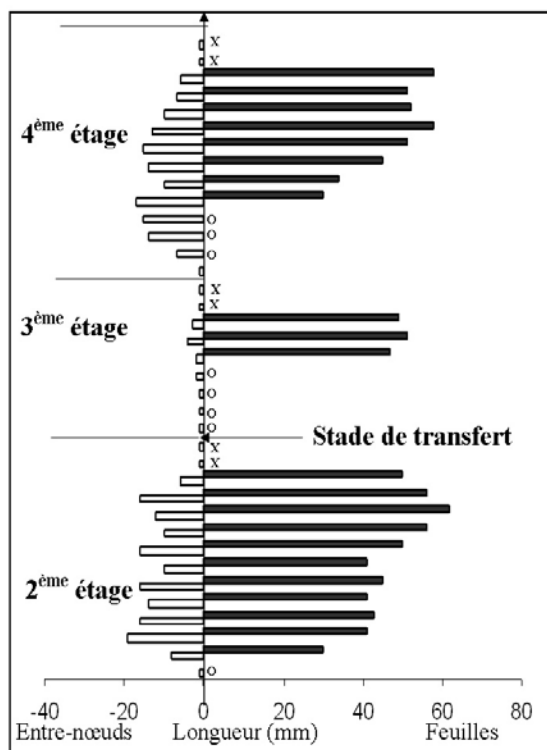
Composantes spatiales

Le nombre d'ensembles foliaires à stipules écaillieux des semis traités par GA₃ est sensiblement augmenté par rapport aux témoins, on note 4 écailles en moyenne pour la 3^{ème} et la 4^{ème} vague.

Allongement caulinaire et plastochrone apparent

La formation des phases d'allongement conduit à la formation d'un mini étage pour 57% et le nombre d'écailles est augmenté alors que le nombre de feuilles à limbe assimilateur est diminué pour la 3^{ème} vague de croissance pour la cytokinine (Fig. 6). Concernant les semis traités par les GA₃, l'évolution de la tige et du plastochrone apparent reste inchangée par rapport aux témoins.

Figure 6 : Morphogenèse d'un semis de chêne liège traité par la cytokinine (kinétine) au stade de repos apparent de la 2^{ème} vague de croissance.



Discussion

Les semis de chêne liège, cultivés à 25°C présentent une croissance rythmique caractérisée par une succession d'unités structurales identiques, vagues de croissance, étages ou flushs. Une vague de croissance se caractérise respectivement par une phase d'allongement caulinaire et une phase de repos apparent. Chez certaines espèces comme le cultivar MM106 du pommier ou le châtaignier, une croissance rythmique est obtenue lorsque la partie aérienne est à 25°C et la partie racinaire à 12 °C (Zanette, 1981 ; Si-Mohamed, 1983).

Les modifications de l'acide gibbérellique sont observées sur la vague de traitement (n) et la vague suivante (n+1). L'effet de l'AG₃ se traduit sur l'expression temporelle du rythme par l'abolition du repos apparent. Dans ce cas, les phases d'allongement et le nombre d'ensembles foliaires à limbe assimilateur sont fortement augmentés. Ces limbes assimilateurs restent de taille réduite et séparés par des entre-nœuds courts sur la moitié inférieure de l'étage alors que les suivants (feuilles et entre-nœuds) sont morphologiquement identiques au témoin. L'apport exogène des régulateurs de croissance est également connu pour modifier la croissance rythmique mais également le développement hétéroblastique chez le chêne pédonculé cultivé en serre (Champagnat et al, 1986b ; Parmentier, 1993) ou in vitro (Juncker, 1993), le chêne rouge (Collin et al, 1996) et le cacaoyer (Abo-Hamed et al, 1981). Parmi les différents régulateurs de croissance appliqués, il a été rapporté que seules la gibbérelline A₃ et la cytokinine sous forme 6-BAP ont un effet sur l'expression du rythme de croissance. L'étage obtenu est plus grand que celui des plants non traités chez le chêne rouge (Collin et al, 1996) et un plus grand nombre de feuilles assimilatrices est produit chez le chêne pédonculé (Parmentier, 1993). Cependant, chez cette espèce, le développement hétéroblastique n'est pas affecté par l'apport de GA₃. Cette gibbérelline induirait donc plutôt un effet prolongateur sur la vague de croissance sans intervenir dans l'expression de l'hétéroblastie. Chez le manguier, une étude plus détaillée des GAs présente au sein du bourgeon et des feuilles au cours des différentes vagues de croissance a été réalisée (Davenport et al, 2000). Par contre, la présence majoritaire de GA₃ dans les bourgeons est inhabituelle mais pas unique chez les plantes supérieures (Abdala et al, 2002). Les variations du contenu en GA₃ endogène montrent qu'elles ne sont pas directement liées à une inhibition de la croissance. Il se peut cependant que la GA₃ participe lorsqu'elle est appliquée de façon exogène en affectant le ratio auxine/cytokinine. En fait, les GAs agiraient de façon indirecte, en association avec l'AIA pour permettre la différenciation des cellules méristématiques en cellules foliaires (Vogler et Kuhlemeier, 2003).

Les résultats obtenus montrent une grande hétérogénéité pour le traitement de la kinétine. Au niveau de l'expression temporelle du rythme, on observe : une réduction de 80% dans les durées de repos apparent. Au niveau de l'expression spatiale, les modifications ne concernent pas la vague de traitement, mais les étages suivants : on observe une augmentation du nombre d'ensembles foliaires écaillés, situation accompagnée par la formation d'un mini-étage.

Les cytokinines semblent donc être notamment impliquées dans la prolifération cellulaire. Or dans sa définition même, la dormance est caractérisée par une suspension temporaire de l'activité du méristème (Lang, 1987). Ainsi, une implication des Cks dans le déterminisme de la dormance serait fortement envisageable. Chez les espèces à croissance rythmique, comme le cacaoyer ou le chêne, l'apport de cytokinines sous forme de zéatine (Z) ou de 6-BAP induit une augmentation de la durée de la phase de croissance (Abo Hamed et al, 1981 ; Parmentier, 1993). En conditions de culture *in vitro* sur milieu solide, l'effet de l'apport exogène de 6-BAP a également été testé dans le cadre de l'étude du rythme de croissance chez le chêne pédonculé (Juncker, 1993). Deux types de croissance ont ainsi été obtenus en présence de 6-BAP dans le milieu de culture.

Pour une concentration de 0.44 μM de 6-BAP, une croissance prolongée est obtenue. C'est à dire que la phase d'élongation de la tige est deux fois plus longue que pour les vitro plants témoins (sans 6-BAP). Dans ces conditions, la production d'un plus grand nombre de feuilles assimilatrices est obtenue mais la différenciation des trois types foliaires est maintenue. Pour une concentration comprise entre 0.44-0.88 mM de 6-BAP, une croissance continue est observée sans différenciation de feuilles à limbe avorté et d'écaillés. Cependant, Juncker (1993), précise que cette croissance est instable puisqu'elle ne peut être maintenue que pendant 2 ou 3 subcultures. Chez ces espèces, les Cks agiraient donc en prolongeant l'élongation de la tige, en stimulant l'activité organogène du méristème mais également en intervenant dans le développement hétéroblastique.

L'absence de Cks chez les mutants d'*Arabidopsis* conduit à l'augmentation de l'initiation foliaire, une diminution de la surface foliaire ainsi que la production de feuilles épinastriques et lancéolées (Werner et al, 2001). Au cours de la formation d'une feuille, une phase de division cellulaire est suivie par l'expansion des cellules et leur différenciation. La surexpression du gène hydrolysant les Cks conduit à une diminution significative de la surface foliaire causée principalement par une diminution des divisions cellulaires au cours du développement foliaire et qui est compensée en partie par une augmentation de la taille des cellules (Werner et al, 2003). L'absence de Cks pourrait coordonner et limiter la prolifération cellulaire durant la croissance de la feuille, conduisant ainsi à l'obtention de

phénotypes nains. Chez le chêne pédonculé, l'apport de 6-benzylaminopurine (6-BAP) est le seul régulateur de croissance capable de modifier l'expression spatiale du rythme en s'opposant efficacement à la transformation d'une feuille assimilatrice en stipule écaillée (Parmentier, 1993).

Les modifications d'une température fraîche de 5°C restent rémanentes pendant plusieurs vagues. Les résultats obtenus montrent que le stress thermique reste proche à ceux observés pour le traitement par l'acide gibbérellique (l'AG₃) aux stades repos apparent et bourgeon gonflé et le traitement par la kinétine au stade bourgeon gonflé. Chez l'Alisier torminal par contre, ce sont les faibles températures (5°C) qui induisent une diminution du temps de repos entre deux vagues (Barnola et al, 1993b). Au niveau cellulaire, l'application d'une température basse (5°C) à des plantules de la fève (*Vicia faba* L.) induit une augmentation de la teneur en sucres dans les tissus. Ainsi, les températures fraîches agissent sur la perméabilité cellulaire et induisent une augmentation des gibbérellines et des cytokinines dans les végétaux (Cottignies, 1987). L'effet des températures fraîches chez le chêne pédonculé, se traduit sur l'expression spatiale du rythme par une augmentation des ensembles foliaires écaillés (Parmentier, 1993), et sur l'expression temporelle par la suppression de la composante repos (Barnola et Crabbé, 1993).

Conclusion

Un passage d'une semaine à 5°C (jour long de 16h) entraîne des modifications dans l'expression spatio-temporelle du rythme de croissance. En effet, ces modifications portent essentiellement sur : la composante repos apparent où la croissance se réalise sans repos apparent au stade bourgeon épanoui, avec une phase d'allongement qui dure en moyenne 37 jours ; avec un repos assimilé à un état de dormance aux stades bourgeon gonflé et repos apparent, et sur l'hétéroblastie où le comportement des semis est variable selon le stade de transfert (au stade bourgeon gonflé et repos apparent, l'hétéroblastie est accentuée par un nombre élevé d'ensembles foliaires écaillés et au stade bourgeon épanoui, l'hétéroblastie est supprimée, le passage d'un étage à un autre se fait sans écailles pour la vague où la composante repos est supprimée. Les résultats du stress thermique de 5°C restent proches à ceux observés pour le traitement d'acide gibbérellique aux stades bourgeon épanoui et repos apparent et au stade bourgeon gonflé par le traitement de kinétine.

References:

Alaoui-Sossé, B., Parmentier, C., DIZengremel, P., Barnola, P. Rhythmic growth and carbon allocation in *Quercus robur*. Starch and sucrose. *Plant Physiol. Biochem*, 32, 331-339, 1994

Alatou, D., Barnola, P., Lavarenne, S., Gendraud, M. Caractérisation de la croissance rythmique du Chêne pédonculé. *Plant Physiol. Biochem*, 27, 275-280, 1989

Alatou, D., Aissani, R., Bousba, D. Les composantes de la croissance de deux chênes méditerranéens. *Sciences et technologie, Université de Constantine*, 6, 7-22, 1995

Abdala, G., Castro, G., Miersch, O., Pearce, D. Changes in jasmonate and gibberellin levels during development of potato plants (*Solanum tuberosum*). *Plant Growth Regulation*, 36, 25-30, 2002

Abo-Hamed, S., Collin, H.A., Hardwick, K. Biochemical and physiological aspects of leaf development in cocoa (*Theobroma cacao*). VI. Hormonal interaction between matures leaves and the shoot apex. *New Phytol*, 89, 191-200, 1981

Barnola, P., Alatou, D., Lecointe, A., Lavarenne, S. Etude biologique et biochimique du déterminisme de la croissance rythmique du chêne pédonculé (*Quercus robur*). Effets de l'ablation des feuilles. *Annual Science Forester*, 21, 619-631, 1990

Barnola, P., Crabbe, J. L'activité cambiale, composante active ou passive dans les réactions de croissance de l'arbre. *Acta. Bot. Gallica*. 140(4), 430-412, 1993

Barnola, P., Durand, P., Parmentier, C. Recherches préliminaires sur la croissance et la morphogenèse de l'alisier torminal. *Revue Forestière Française LIII*, 3, 261- 278, 1993b

Champagnat, P., Barnola, P., Lavarenne, S. Quelques modalités de la croissance rythmique endogène. *Naturalia monspeliensia n° hors série*, 279-302, 1986a

Champagnat, P., Payan, E., Champagna, T.M., Barnola, P., Lavarenne, S., Bertholon, C. La croissance rythmique de jeunes Chênes pédonculés cultivés en conditions contrôlées et uniformes. *Naturalia monspeliensia n° hors série*, 303-337, 1986b

Collin, P., Badot, P.M., Millet, B. Croissance rythmique et développement du chêne rouge d'Amérique, *Quercus rubra* L, cultivé en conditions contrôlées. *Annual Science Forester*, 53, 1059-1069, 1996

Cottignies, A. Dormance. *Annales des Sciences Naturelles, Botanique* (13): 8, 93-142, 1987

Crabbe, J. La croissance rythmique des arbres, base de leur organisation temporelle. In : Groupe d'Etude de l'Arbre, Le rythme de croissance, base de l'organisation temporelle de l'arbre . *Angers*, 25-26 mars 1993, 1-11, 1993

Davenport, T.L., Pearce, D. W., Rood, S. B. Correlation of endogenous gibberellic acid with initiation of mango shoot growth. *Journal of Plant Growth Regulation*, 20, 308-315, 2000

Guibert, M., Le Pichon, C. Influence de la température sur la germination, la levée et sur les taux de semis à tiges multiples chez le chêne sessile. *Revue Forestière Française LIII* 1, 44-54, 2001

- Juncker, B. Le chêne (*Quercus robur* L.) *in vitro* : Propagation, mode de croissance. Thèse de doctorat. *Université de Nancy I*, 206 p, 1993
- Lang, G. A. Dormancy: A new universal terminology. *Science*, 22, 817-820, 1987
- Parmentier, C. Etude physiologique et biochimique de la croissance rythmique endogène du chêne pédonculé. Recherche de son déterminisme. *Thèse de doctorat. Université Nancy I*, 88 p, 1993
- Payan, E. Contribution à l'étude de la croissance rythmique chez de jeunes Chênes pédonculés (*Quercus pedunculata* Ehrh.) . Thèse de Doctorat. *Université Blaise Pascal*, 102p, 1982
- Si-Mohamed, C. Germination, rythmes de croissance et morphogenèse chez de jeunes plants de *Castane sativa*. Thèse de doctorat. *Université Blaise Pascal, Clermont-Ferrand*, 201p, 1983
- Vogler, H., Kuhlemeier, C. Simple hormones but complex signalling. *Current Opinion in Plant Biology*, 6, 51-56, 2003
- Werner, T., Motyka, V., Strnad, M., Schmölling, T. Regulation of plant growth by cytokinin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98, 10487-10492, 2001
- Werner, T., Schmölling T., Motyka, V., Laucou, V., Smets R., Van Onckelen, H. Cytokinin-Deficient Transgenic Arabidopsis Plants Show Multiple Developmental Alterations Indicating Opposite Functions of Cytokinins in the Regulation of Shoot and Root Meristem Activity. *Plant Cell*, 15, 2532-2550, 2003
- Zanette, F. Recherches descriptives et expérimentales sur la morphogenèse des systèmes aériens et racinaires de quelques porte-greffes de Pommier. Thèse de doctorat. *Université Blaise Pascal, Clermont-Ferrand*, 127p, 1981