

Sur la rhizogenèse chez la vigne

par

B. JULLIARD

Deux groupes d'hypothèses ont été formulés pour interpréter la rhizogenèse. Celle de BOUILLENNE fait intervenir un facteur spécifique: la rhizocaline, mobilisée par l'auxine (1). Les travaux de SIRONVAL (11), HESS (3), GAUTHERET (2) s'inscrivent dans ce cadre en le précisant. A l'opposé, dans l'hypothèse de SKOOG (12), l'auxine réagit avec des substances banales dont l'adénine et la rhizogenèse apparaît comme le résultat de leur interaction. Pour LEBBERT (9) enfin, la rhizogenèse résulte d'une levée d'inhibition. Nos expériences poursuivies depuis 1963 avaient pour but de confronter ces différentes hypothèses. Quelques résultats expérimentaux permettent de construire un modèle schématique dont le principal but est d'orienter d'autres travaux.

Matériel et méthode

Le matériel mis en oeuvre est réduit à des portions de mérithalles sans noeud, ni bourgeon, prélevées des sarments aoûtés dès la chute des feuilles ou durant le repos végétatif. Les boutures sont prélevées en tenant compte de la polarité et de leur rang d'insertion sur le sarment. Les sarments sont utilisés, soit de suite, soit après conservation en caisses remplies de sciure de bois humide, en chambre froide (0 à 4°). L'auxine, acide β -indol-acétique (AIA), est apportée par trempage d'un pôle de la bouture durant 24 heures. La culture a lieu en serre, dans des caisses de stratification utilisées pour le greffage. Selon le cas, la sciure est humectée avec de l'eau, une solution minérale complète sucrée ou non. A 25°, les cals apparaissent dès le 8ème jour, les premières racines vers le 12ème jour, mais le contrôle n'intervient qu'après trois semaines. Le contrôle consiste en une notation des cals à l'apex et à la base selon une échelle de zéro à cinq; le comptage des racines néoformées sur chaque bouture, une estimation de leur longueur et parfois une pesée. L'étiquetage est assuré par des bagues de polyéthylène marquées au pyrograveur et chaque lot, parcelle élémentaire de 20 boutures, est isolé par un film de polyéthylène.

Résultats

1. L'aptitude à la rhizogenèse est une propriété génétique. Certains Vitis, placés dans un milieu physique convenable, prolifèrent et forment des racines, d'autres prolifèrent sans différencier de racines, d'autres enfin ne manifestent aucune activité. Des résultats détaillés seront donnés par ailleurs (8). Disons simplement que les portions de mérithalle de *V. vinifera* L. Chasselas blanc, ne prolifèrent pas, que *V. Davidii* ROM. forme des cals abondants aux deux pôles de la bouture et que *V. riparia* МИСНХ. Grand glabre forme des cals discrets accompagnés de racines à la base. On retrouve tous ces types, avec tous les intermédiaires à l'intérieur de l'espèce *V. vinifera* L. et comme tous les bois proviennent de la même collection (la collection ampélographique de Bergheim), qu'ils ont été prélevés en une seule fois et cultivés ensemble, les différences observées doivent provenir de propriété intrinsèque des

cultivars testés. Remarquons toutefois qu'accidentellement les potentialités d'une variété peuvent être altérées par la présence de viroses.

2. L'auxine, stimule légèrement la collogénèse et très fortement la rhizogénèse. Par exemple, *V. Labrusca* L. Isabelle, cultivé sans auxine, a produit 0,5 racine en moyenne par bouture; cultivé après un trempage de 24 h dans une solution contenant 100 parties par million ppm d'AIA des boutures identiques ont produit 22 racines en moyenne. Chez le *V. vinifera* L. Chasselas blanc, il est courant qu'un apport d'auxine de 40 ppm multiplie par 20 le nombre moyen de racines par bouture, celui-ci passant par exemple de 0,2 chez le témoin à 4 dans les lots traités.

3. L'apport d'auxine à l'extrémité apicale est plus efficace qu'un apport à la même concentration réalisé à la base. Ce fait a été observé initialement dans des essais qui visaient à remplacer le stimulus produit par le bourgeon par une stimulation hormonale définie. Il a été retrouvé constamment chez les différents cultivars de *V. vinifera*. Mais les résultats les plus nets ont été obtenus chez *V. Berlandieri* PLANCH., puisque l'auxine appliquée à la base n'induit qu'une rhizogénèse très discrète, tandis qu'après une application apicale d'auxine, le pourcentage de boutures racinées a dépassé 60%, comme on le constate au tableau 1. WENT avait déjà observé des faits similaires chez le pois, mais n'en avait pas tiré de conclusion particulière (13).

Tableau 1

Nombres moyens de racines et pourcentages de boutures racinées en fonction du lieu d'application et de la dose d'auxine (moyenne de 100 boutures)

	Doses d'acide indolyl- β -acétique à l'apex			
	0	$1,5 \cdot 10^{-4}$	$3 \cdot 10^{-4}$	$4,5 \cdot 10^{-4}$
Apex	0	0,12	0,19	0,16
Base	0	0,69	1,60	1,41
Total*	0	0,81	1,79	1,57
Pourcentage de boutures racinées	0	23	43	43
	Doses d'acide indolyl- β -acétique à la base			
	0	$1,5 \cdot 10^{-4}$	$3 \cdot 10^{-4}$	$4,5 \cdot 10^{-4}$
Apex	0	0	0	0
Base	0	0,06	0,07	0,02
Total*	0	0,06	0,07	0,02
Pourcentage de boutures racinées	0	4	6	2

* Total moyen par bouture.

4. L'intensité de la rhizogénèse est fonction de la quantité d'auxine apportée. Au-delà d'un optimum variable avec l'espèce et pour une espèce donnée variable avec l'époque de prélèvement, apparaissent des phénomènes de toxicité qui réduisent la rhizogénèse.

5. L'auxine apportée à la base fait apparaître des racines en amont si une section transversale sépare la bouture en deux tronçons (fig. 1). Toutefois, si la section est trop précoce (24 h après l'application) ou trop tardive (plus de 15 jours après l'apport

d'auxine), il n'apparaît pas de racines à la base de la demi-bouture apicale. Cette expérience met en évidence un transport anti-polaire de l'auxine. NISTERAKIS avait déjà observé une circulation basifuge des auxines chez la vigne (10).

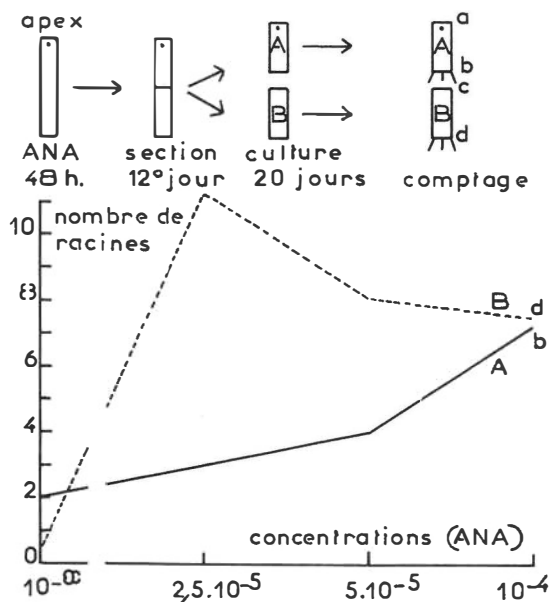


Fig. 1: Démonstration d'un transport antipolaire de l'auxine dans les tiges de vigne.

6. L'intensité de la rhizogénèse varie avec le rang d'insertion de la bouture sur le sarment, les modalités de la conservation et surtout l'époque de prélèvement. Les gradients de la rhizogénèse observés sur des boutures portant un oeil, pourraient

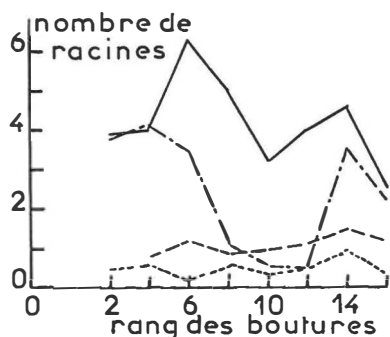


Fig. 2: Gradients de la rhizogénèse des sarments de Pinot gris. Prélèvement: X. 1963.

- boutures éborgnées sans auxine.
- mérihalles sans auxine.
- . - . - mérihalles avec auxine.
- boutures avec oeil.

provenir de différences de l'activité sécrétrice des bourgeons, de sorte qu'il est préférable d'employer des boutures sans bourgeon. Dans ce cas, si les gradients observés sont constants, la cause pourrait être structurale et de toute façon fixée. Si, au contraire, les gradients observés sont variables d'un prélèvement à l'autre, la cause doit en être un facteur mobile. Les exemples des fig. 2, 3, sont en faveur de cette dernière hypothèse.

Au moment de la chute des feuilles, les tissus de la tige du Chasselas sont capables de proliférer spontanément et de produire de nombreuses racines. Un mois plus tard, ces mêmes tissus ne prolifèrent plus spontanément mais le font en présence d'auxine qui induit alors la rhizogénèse. Lorsque ces expériences sont renou-

velées à intervalle de temps régulier, on constate que l'intensité de la rhizogenèse diminue. La diminution est importante en novembre, décembre, pour devenir plus faible ensuite.

7. Le nombre de racines croît avec la longueur des boutures comme on le constate sur la fig. 4.

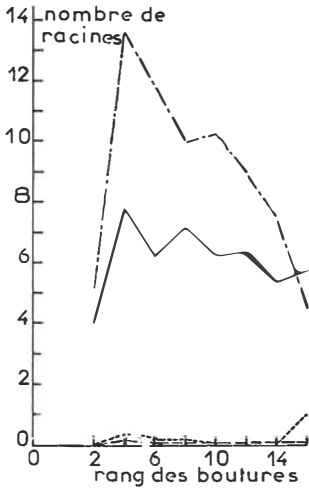


Fig. 3: Gradients de la rhizogenèse des sarments de Pinot gris.
Prélèvement: XII. 1963.

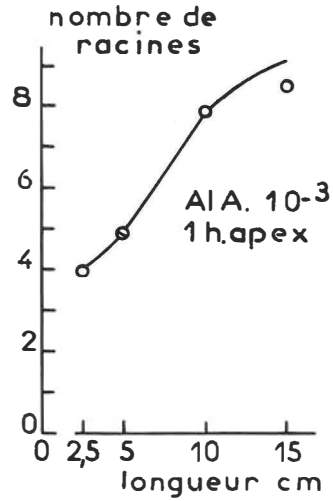


Fig. 4: Relation entre la longueur des boutures et le nombre de racines néoformées.

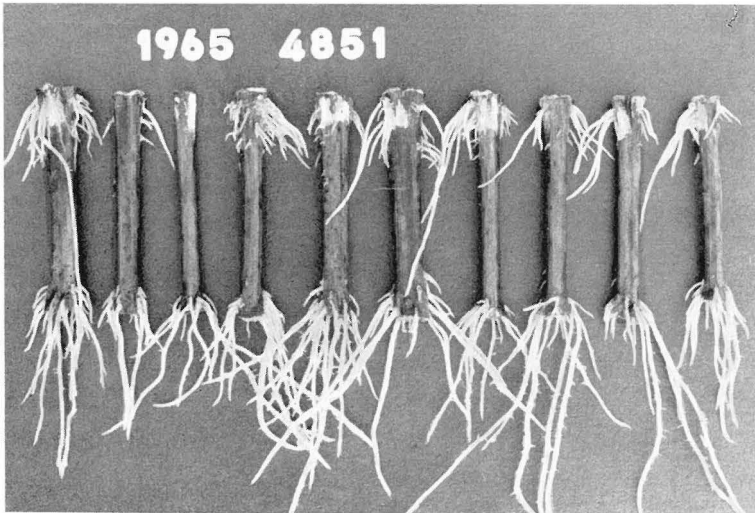


Fig. 5: Rhizogenèse bipolaire induite par une concentration élevée d'auxine appliquée à l'apex.

8. L'auxine appliquée à l'apex à forte concentration fait apparaître des racines aux deux pôles et rarement dans la partie médiane. La fig. 5 montre des boutures de Chasselas traitées par de l'AIA à la concentration de $8 \cdot 10^{-5}$, soit 80 ppm.

9. Une section longitudinale selon un diamètre des boutures effectuées avant l'application apicale de l'auxine, ne modifie pas la disposition des racines par rapport à celle qu'induit la même dose d'auxine sur des boutures non fendues. Les blessures n'ont donc pas d'effet propre sur la rhizogenèse.

10. L'information qui induit la rhizogenèse des boutures à la base, n'y parvient qu'après plusieurs jours. Par des sections de la partie basale à des intervalles de temps donnés après une application apicale d'auxine, il est possible de déterminer le moment et l'importance de l'arrivée des facteurs morphogènes à la base. Dans nos conditions de culture, ceux-ci n'y parviennent qu'entre le 3ème et le 12ème jour (5). Remarquons que ces délais sont considérables par rapport à la vitesse de migration de l'auxine qui est voisine de 10 mn à l'heure.

11. Certains inhibiteurs de la synthèse ou de la réplication du DNA, tels que la 5-fluorodeoxyuridine (FU DR) et le phényléthylalcool (PEA), bloquent la rhizogenèse si on les introduit dans le milieu avant l'arrivée des facteurs morphogènes à la base. Le tableau 2 montre que la FU DR introduite dans le milieu après le 6ème jour de culture, n'a plus aucun effet sur la rhizogenèse. Des résultats similaires ont été obtenus avec le PEA (7). Sa présence pendant la première semaine dans le milieu de culture, suffit à inhiber la rhizogenèse. La poursuite du traitement pendant 4 semaines n'augmente pas le pourcentage d'inhibition, de même son adjonction dans le milieu après le 8ème jour ne cause pas d'inhibition. Enfin et surtout l'inhibition est réversible, le report en milieu normal mais avec adjonction d'auxine rétablit la rhizogenèse à un niveau normal. Le PEA inhibe donc une réaction qui précède la différenciation sans altération de structure.

Tableau 2

Inhibition de la rhizogenèse par la 5-fluorodeoxyuridine en fonction de l'époque de l'intervention. Epoque des traitements:

Jours	0			6				13			
Traitements	0	1	1	1		1	0	1	1		0
Cals a *	2,7	2,7	0	1,2	0,7	0,5	4,0	3,2			
Cals b	5,0	5,0	3,0	4,0	3,7	4,0	5,0	5,0			
Racines **	9,32	4,71	2,37	11,52	8,20	9,64	9,94	10,50			

0: Trempage dans le milieu de base sans 5-fluorodeoxyuridine.

1: Trempage dans le milieu de base contenant la 5-fluorodeoxyuridine à la concentration de $2,5 \cdot 10^{-4}$.

a: apex de la bouture.

b: base de la bouture.

* Notation visuelle de 0 à 5 d'après le volume.

** Moyenne de 100 boutures.

Discussion

Ces différents éléments du problème ont été rassemblés sur la fig. 6. Les symboles suivants ont été utilisés:

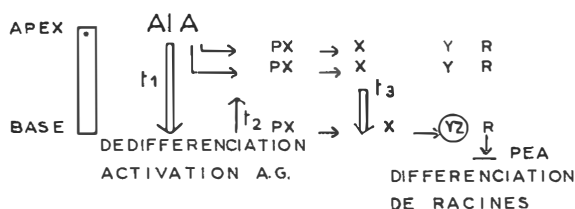


Fig. 6: Modèle de la rhizogenèse chez la vigne.

AIA

L'auxine. Pendant la période de croissance active et peu après la chute des feuilles, des fragments de tige de vigne peuvent proliférer et former des racines en l'absence d'auxine exogène. Mais bientôt, une stimulation hormonale est indispensable à la rhizogenèse. Dans les conditions naturelles, elle provient du bourgeon en croissance. Elle peut être remplacée par une auxine synthétique. De toute façon, l'auxine apparaît comme un facteur important et sans doute indispensable de la rhizogenèse. Les portions de mérithalle aoûtées du Chasselas constituent à cet égard un bon matériel d'étude puisque leur rhizogenèse est pratiquement nulle en l'absence d'auxine. Les boutures prélevées sur les tiges en croissance ou peu après la chute des feuilles, contiendraient un reliquat d'auxine.

t 1

Cette flèche verticale de haut en bas représente le transport polaire de l'auxine. Il aurait une capacité limitée, puisque les fortes concentrations d'auxine font apparaître une rhizogenèse bipolaire, c'est-à-dire à l'apex et à la base.

t 2

Cette flèche de sens opposé à t 1 indique que la polarité du transport n'est pas absolue. Une application basale d'auxine peut déterminer des effets en amont. Des résultats analogues ont été obtenus sur *Coleus* (4). L'intensité de la polarité est variable avec le génotype, mais aussi avec l'âge des tissus. Chez *V. Berlandieri* PLANCH., elle serait plus stricte, de sorte que l'auxine appliquée à la base n'intéresserait que les tissus proches du point de trempage.

P X

Serait un facteur de rhizogenèse réparti inégalement selon les espèces (propriété génétique) et réparti inégalement dans les organes d'où les gradients de la rhizogenèse. Il pourrait être synthétisé par les feuilles, comme le suggère BOUILLENNE et s'accumuler dans les tissus à la fin du cycle végétatif. La rhizogenèse est à son niveau le plus élevé au moment de la chute des feuilles. Ce facteur serait labile puisque l'aptitude au bouturage baisse considérablement durant le début de l'hiver. Ce facteur ne serait pas trophique, mais spécifique puisque, durant cette période, les réserves glucidiques évoluent peu. Leur perte ne serait que de 0,5% pendant 1 mois. D'autre part, il n'a pas été possible par une alimentation optimum: solution minérale complète de HELLER sucrée, de remplacer ce facteur devenu déficient. P X serait mobile, en effet, les gradients de la rhizogenèse ne sont pas constants; on note une tendance à une accumulation basale. Dans l'hypothèse de BOUILLENNE, l'auxine

mobilise la rhizocaline mobile, facteur spécifique. Or, l'auxine appliquée à l'apex, est plus efficace que mise directement à la base et le nombre de racines dépend de la longueur de la bouture. On peut en déduire que l'auxine agit tout au long de la bouture, ce que nous avons suggéré par les flèches coudées. Si l'auxine, appliquée à l'apex, migrait à la base, pour créer un appel par suite du gradient de concentration, l'auxine appliquée directement à la base, devrait avoir le même effet, ce que les faits contredisent.

Comment agit l'auxine? A ce problème capital nous n'avons que des réponses très fragmentaires et insuffisantes. On peut penser qu'une partie de l'auxine migre directement à la base où, en interaction avec d'autres facteurs, elle provoque l'activation de l'assise génératrice et la dédifférenciation de cellules au niveau du phloème. Les premières mitoses suivent rapidement l'apport d'auxine. Nous avons vu que l'arrivée des facteurs morphogènes à la base est très faible avant le 4ème jour qui suit l'apport d'auxine. Ceci suggère que le facteur P X n'est qu'un précurseur indispensable à la synthèse du facteur actif X. Celui-ci migre d'une manière polaire comme le montre les expériences de sectionnement à différents moments d'où le symbole t 3.

R

Cette lettre symbolise le récepteur, le site d'action de l'auxine et du facteur X. Dans la nature, la rhizogenèse est polarisée, c'est-à-dire que les inducteurs de la rhizogenèse traversent des zones tissulaires, en particulier au milieu de la bouture, sans y provoquer la rhizogenèse. Nous imaginons donc un facteur Y qui protège R de l'action des facteurs rhizogènes. Lorsque la rhizogenèse est très élevée, les portions médianes de la bouture sont parcourues par un flux important d'auxine et de facteurs morphogènes sans réagir. Ce flux est sans doute plus important que celui qui parvient à la base lorsque l'induction hormonale est faible, mais qui suffit alors à produire quelques racines. C'est la raison pour laquelle nous introduisons Z qui représente une propriété de la base liée à la polarité. Toute section transversale d'un organe fait apparaître la polarité. Celle-ci est donc inhérente à l'organe et non le fait de corrélation avec d'autres organes, bourgeons ou racines. Dans notre schéma Z modifie Y et rend R disponible. Dans l'hypothèse d'une intervention du contrôle génétique qui est rendu vraisemblable par l'emploi de divers inhibiteurs et analogues, R pourrait être un polycistron, Y un répresseur. Remarquons cependant que dans d'autres essais, l'actinomycine D, qui bloque la synthèse de m RNA à partir du DNA modèle, n'a pas inhibé l'action de l'auxine.

Conclusions

Replacé dans le cadre de la différenciation, le déterminisme de la rhizogenèse apparaît comme un problème difficile. La présence d'un facteur spécifique semble nécessaire et abonde dans le sens de l'hypothèse de BOUILLENNE. Mais la «mobilisation» de la rhizocaline ne semble pas être le fait du gradient de la concentration d'auxine, lui-même conséquence de la polarité. La polarité du transport de l'auxine n'est d'ailleurs pas absolue et celle de la rhizogenèse est plus stricte. De plus, le facteur spécifique ne serait qu'un précurseur, qu'une réaction induite par l'auxine transformerait en facteur actif, mobile, soumis au transport polaire. Une meilleure connaissance des modalités du transport de l'auxine dans les tissus de vigne pourrait permettre de préciser son rôle et, pour étayer notre hypothèse de la participation du contrôle génétique, une étude de l'évolution des acides nucléiques, après la stimulation hormonale, est nécessaire.

Bibliographie

1. BOUILLENNE, R., 1964: Aspects physiologiques de la formation des racines. Bull. Soc. R. Bot. Belg. 95 (2), 193—209.
2. GAUTHERET, R. J., 1966: Les phytohormones et l'organogenèse. Recherches sur la rhizogenèse des tissus de topinambour cultivés in vitro. Congrès et Colloques Université de Liège, 38, 83—94.
3. HESS, C. E., 1962: Characterization of the rooting cofactors extracted from *Hedera Helix* L. and *Hibiscus rosa-sinensis* L. 16^e Int. Hort. Congr., Brussels 4, 382—388.
4. JACOBS, W. P., V. RACHAVAN and M. P. KAUSHIK, 1965: in: Proceed. Int. Conf. on Plant Tissue Culture. Mc Cuthan. Calif. p. 225—241.
5. JULLIARD, B., 1966: Cinétique de la migration de la rhizocaline dans les boutures de vigne (*Vitis vinifera* L.). C. R. Acad. Sc. Paris 263, 257—259.
6. — — , 1966: Intervention du contrôle génétique dans l'élaboration de la rhizocaline chez la vigne (*Vitis vinifera* L.). C. R. Acad. Sc. Paris 263, 816—818.
7. — — , 1966: Inhibition de la rhizogenèse des boutures de vigne (*Vitis vinifera* L.) par le phényléthylalcool. C. R. Acad. Sc. Paris 263, 1459—1462.
8. — — , 1967: Etude physiologique de la rhizogenèse de la vigne et essais d'application à la multiplication végétative (à paraître).
9. LIBBERT, E., 1956: Planta 48, 157—189.
10. NYSTERAKIS, F., 1947: Circulation basifuge des auxines dans les tissus de la vigne. C. R. Acad. Sc. 224 (16), 1177.
11. SIRONVAL, C., 1947: Les radicaux diphenoliques en tant que constituants d'hormone règlent la néoformation des racines chez le fraisier des quatre saisons. Lejeunia 2, 45—54.
12. SKOOG, F., 1950: Chemical control of growth and organ formation in plant tissues. Ann. Biol., 26, 545—562.
13. WENT, F. W., 1938: Plant Physiology 13 (1), 55—81.

Eingegangen am 14 8. 1967

B. JULLIARD
 Stat. Rech. Viticoles et Oenologiques
 8, rue Kléber
 Colmar (68)
 France