

**Essai de remplacement de la réfrigération vernalisante
par des applications d'acide gibbérellique chez la Jusquiame
noire bisannuelle (*Hyoscyamus niger* L.)**

CATHERINE MUGNIER

Laboratoire de Biologie Cellulaire et Physiologie de la Floraison.
Université de Paris VI, Paris*

An Attempt to Replace Vernalization by Application of Gibberellic Acid in Biennial *Hyoscyamus niger* L.

Abstract. Applications of various amounts of GA₃ onto the shoot apex of biennial rosette-plant *Hyoscyamus niger* L., exposed to long days and non vernalized, caused internodes formation and stem elongation. The stem length was proportional to the amount of GA₃ applied. Number and length of developed internodes and the whole length of the shoot were maximal in plants treated with a greater amount of GA₃. In the end, stem elongation stopped and plants formed perched-rosettes without flowering. Hence, gibberellic acid participates in mechanisms of flowering only by indirect effect on stem elongation and not directly on flower formation itself.

Chez les plantes bisannuelles en rosette à l'état végétatif, la mise à fleur s'accompagne presque toujours d'un changement de port aboutissant à la formation d'une hampe florifère. En conditions naturelles, sous nos climats, ce changement de port ne peut se réaliser qu'après que les rosettes aient subi l'influence des basses températures pendant les saisons automnale et hivernale.

La vernalisation, définie comme l'acquisition de l'aptitude à fleurir sous l'influence des abaissements de température, se présente, en fait, pour ces plantes, comme l'acquisition conjuguée de l'aptitude à la croissance caulinaire et de l'aptitude à l'organogénèse florale.

Les résultats variés obtenus sur les nombreuses plantes étudiées à ce jour tendent à prouver le rôle, dans la période automne-hiver, des divers facteurs de l'environnement (essentiellement température, photopériode, éclairage). L'influence conjuguée de ces multiples facteurs contribuerait, en agissant sur la physiologie du végétal, à provoquer le changement de rythme de croissance accompagnant le passage de l'état végétatif à l'état reproducteur (PICARD 1968).

Arrivé le 19 mai 1976

* Adresse: 4, Place Jussieu, Tour 53, 75230 Paris, France.

Par ailleurs, la réfrigération a pu être remplacée, dans son action vernalisante, soit par une exposition prolongée à des journées courtes (chez des espèces héméropériodiques) (WELLENSIEK 1953), soit par des applications adéquates d'acide gibbérellique (LANG 1956a, b), soit par une exposition à des températures élevées (LARRIEU 1964), soit enfin par des conditions tropiques particulières (TRAN THANH VAN 1964).

Les essais de remplacement total de la réfrigération vernalisante par les gibbérellines exogènes ont donné jusqu'ici des résultats variables, d'une part en fonction des espèces étudiées, d'autre part en fonction du type de gibbérelline employé et de son mode d'application.

C'est ainsi, par exemple, que LANG (1956a, b) obtient, grâce à des traitements adéquats par l'acide gibbérellique, l'élongation puis la floraison de la Jusquiame noire bisannuelle en l'absence de toute réfrigération. Ayant été récemment conduit à reprendre des expériences impliquant des applications d'acide gibbérellique à des Jusquiames noires bisannuelles non vernalisées, HOUIVET (1975) observe uniquement l'élongation des plantes sans jamais pouvoir déceler de signe de mise à fleur. Les divergences entre ces deux séries de travaux, tous effectués sur la Jusquiame noire bisannuelle, pouvant être imputées à des modalités techniques différentes, nous avons voulu, avec le même matériel végétal, approfondir cette question.

Matériel et méthodes

Les expériences sont réalisées sur des Jusquiames noires bisannuelles, *Hyoscyamus niger* L., provenant de la germination de semences sélectionnées dans le laboratoire de Génétique du Professeur Melchers, à Tübingen. Au cours du développement des plantules, les deux cotylédons s'étalent, tandis que les feuilles qui se développent ensuite sont légèrement redressées. Les premières feuilles présentent un limbe non denté; le limbe commence à être découpé à partir de la quatrième ou de la cinquième feuille formée. La disposition des feuilles est alterne. Le plastochrone est de cinq jours en moyenne. Ainsi se forment en serre des rosettes de feuilles bien vertes, à limbe allongé et à pétiole assez long.

Technique de culture des plantes

Les plantes sont cultivées en serre tiède: la température est de 20 à 22 °C le jour; elle ne s'abaisse pas en dessous de 18 °C la nuit. L'humidité relative est comprise entre 40 % et 65 %. Les Jusquiames noires bisannuelles, héméropériodiques absolues (MELCHERS et LANG 1943), reçoivent un éclairage de journées longues (18 h d'éclairage par 24 h); celui-ci est assuré par la lumière naturelle, avec un appoint permanent fourni par des tubes Gro-lux de 40 W. Ainsi est assuré au niveau des plantes un éclairage de 15 à 100 klx selon les conditions naturelles d'ensoleillement. Les jours de fort ensoleillement, l'écoulement continu d'une nappe d'eau sur le toit de la serre évite un trop grand échauffement à l'intérieur. Les expériences ont été effectuées pendant la période automne-hiver.

Les semences sont mises à germer dans des terrines emplies de terreau de feuilles. Un mois après le semis, les jeunes plantules sont repiquées en pots de 8 cm de diamètre. Elles ont alors formé deux à trois feuilles en plus des cotylédons. Les rosettes se développent ainsi et les plantes ne subissent

pas d'autre rempotage pendant toute la durée de nos expériences. Elles sont arrosées deux fois par jour. Au début de l'expérimentation, les plantes ont formé onze à douze feuilles ayant achevé leur croissance.

Traitements par l'acide gibbérellique: Doses et fréquence des dépôts

Les traitements sont réalisés avec l'acide gibbérellique (GA_3) Fluka, $C_{19}H_{22}O_6$, en solution aqueuse, à raison de 50 μg de GA_3 pour 100 μl de solution. Une micropipette permet de déposer au niveau de l'apex de chaque plante un volume connu de cette solution (50 μl). Les dépôts de 25 μg de GA_3 sont effectués pendant des durées variables à raison de trois dépôts par semaine.

Appréciation des résultats

Pour chaque plante, le début d'une élongation macroscopiquement repérable (environ 2 mm) est soigneusement noté. Des mesures de la longueur des tiges, effectuées trois fois par semaine, permettent de suivre régulièrement l'évolution de la croissance des plantes; parallèlement, les entre-noeuds sont dénombrés et mesurés. Les résultats regroupés dans les tableaux représentent les valeurs moyennes calculées dans chaque lot. Le calcul de l'écart-type et celui du coefficient de variation permettent d'apprécier la variabilité des résultats obtenus dans chaque lot.

Pour exprimer l'évolution de la croissance caulinaire, des courbes sont réalisées à partir de valeurs moyennes obtenues dans chaque lot de plantes. En ce qui concerne les longueurs des entre-noeuds successifs, des courbes sont réalisées pour chaque lot à partir d'une plante prise comme référence (celle qui, dans chaque lot, présente les plus faibles écarts à la moyenne), cette façon de faire étant plus représentative de la variation discontinue qui s'observe dans la succession des entre-noeuds; de plus, les faibles variations individuelles dans un lot de plantes autorisent ce mode de représentation des résultats.

Résultats

L'acide gibbérellique a été appliqué aux plantes selon un traitement progressif, à raison de 25 μg par plante trois fois par semaine (Tableau 1). Les lots, de huit plantes chacun, ne diffèrent entre eux que par la durée du traitement, donc par la dose totale de GA_3 reçue par chaque plante.

TABLEAU 1

Plan des expériences de traitement des Jusquiames noires bisannuelles non vernalisées par l'acide gibbérellique

Lot	Durée du traitement [semaines]	Nombre total de dépôts de 25 μg de GA_3 reçus par chaque plante	Dose totale de GA_3 reçue [μg /plante]
1	1	3	75
2	2	6	150
3	3	9	225
4	4	12	300

Action de l'acide gibbérellique sur l'élongation caulinaire de la *Jusquiame* noire bisannuelle

Quelle que soit la dose totale de GA_3 reçue, les plantes réagissent de la façon suivante (Fig. 1): Après un temps de latence d'environ quatre jours, l'élongation caulinaire devient macroscopiquement repérable. La vitesse d'élongation augmente rapidement et devient maximale au bout de huit jours. Au terme de cette phase, la vitesse de croissance diminue et s'annule lorsque l'élongation maximale est atteinte. La courbe, d'abord exponentielle, s'achève par un plateau.

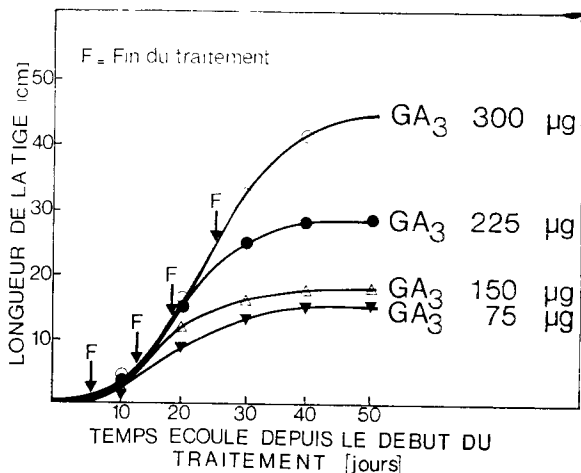


Fig. 1. Elongation des tiges de *Jusquiames* noires bisannuelles non vernalisées en fonction du temps écoulé depuis le début d'un traitement par des doses diverses d'acide gibbérellique.

L'observation et la comparaison des différentes courbes appellent les commentaires suivants:

- 1 — La vitesse de croissance commence à ralentir environ cinq jours après l'arrêt du traitement par l'acide gibbérellique.
- 2 — Ce sont les plantes qui ont subi le traitement le plus long et qui ont donc reçu la plus forte dose de GA_3 , qui gardent le plus longtemps une vitesse de croissance maximale et dont la durée totale de croissance caulinaire est la plus grande (Tableau 2).
- 3 — La hauteur finale des tiges est d'autant plus importante que la dose totale de GA_3 reçue a été plus forte (Tableau 2).
- 4 — La dose totale de GA_3 reçue par les *Jusquiames* diffère de 75 μg entre chacun des lots successifs (ce qui correspond à des durées de traitement différant entre elles d'une semaine).

Or, pour un apport supplémentaire de 75 μg (invariant entre chacun des lots), la différence observée dans la longueur finale des plantes ainsi traitées, varie beaucoup, selon les lots successifs que l'on compare deux à deux: c'est ainsi que la différence de longueur des tiges des plantes est de deux cm entre les lots 1 et 2; elle est de 10 cm si l'on compare les *Jusquiames* des lots 2 et 3 et elle atteint même 18 cm entre les plantes des lots 3 et 4. D'une manière générale, on peut donc dire que l'apport de 75 μg supplémentaires de GA_3 (qui implique une prolongation de une semaine de la durée du traitement expérimental) provoque une réaction d'autant plus importante que la dose

de GA_3 préalablement appliquée est plus forte. Cela tient probablement, au moins en partie, à ce que, avant de recevoir les 75 derniers μg de GA_3 , les Jusquiames, préalablement traitées par une certaine quantité de GA_3 , ont commencé à réagir par des phénomènes de multiplications et d'élongation cellulaires permettant le début du développement des entre-nœuds caulinaires. La présence de ces tissus en croissance active rend alors les plantes de plus en plus sensibles aux ultimes applications d'acide gibbérellique.

TABLEAU 2

Elongation maximale atteinte par les tiges de Jusquiames noires bisannuelles sous l'effet de doses diverses d'acide gibbérellique (coefficient de variation compris entre 9% et 13%)

Lot	Dose totale de GA_3 reçue [μg /plante]	Hauteur finale de la tige [cm]	Durée de la croissance caulinaire [jours]
1	75	15	35
2	150	17	35
3	225	27	40
4	300	45	45

Influence de l'acide gibbérellique sur le nombre et la longueur des entre-nœuds caulinaires

Quelle que soit la dose totale de GA_3 reçue par les plantes, les tiges forment un premier entre-nœud court, de longueur inférieure à 0,5 cm; le deuxième entre-nœud s'allonge beaucoup plus, atteignant 1 à 2 cm; le maximum d'élongation est atteint pour le troisième entre-nœud, qui peut mesurer jusqu'à 5 cm (Fig. 2).

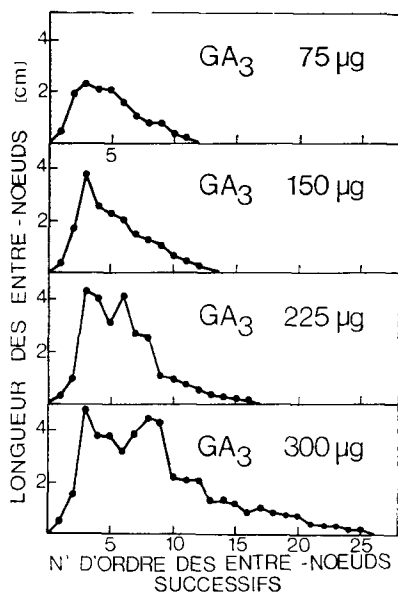


Fig. 2. Longueur finale des entre-nœuds successifs des Jusquiames noires bisannuelles traitées par des doses diverses d'acide gibbérellique.

L'observation et la comparaison des courbes appellent les commentaires suivants:

- 1 — Le nombre d'entre-nœuds formés augmente avec la dose totale de GA₃ reçue par la plante (Tableau 3).
- 2 — Le nombre d'entre-nœuds de longueur supérieure à 2 cm augmente de la même façon (Tableau 3).

TABLEAU 3

Caractéristiques des entre-nœuds caulinaires des *Jusquiames* noires bisannuelles traitées par des doses diverses d'acide gibbérellique (coefficient de variation compris entre 8% et 15%)

Lot	Dose totale de GA ₃ reçue [μ g/plante]	Nombre total d'entre-nœuds formés par plante	Nombre d'entre-nœuds de plus de 2 cm de long par plante
1	75	12	3
2	150	14	4
3	225	17	6
4	300	26	10

Evolution finale des plantes

Le ralentissement de l'élongation caulinaire, observé environ un mois après la fin du traitement par l'acide gibbérellique, s'accompagne de la chute progressive des feuilles portées par les tiges. En même temps que se développent les derniers entre-nœuds, de plus en plus courts, les feuilles nouvellement formées sont de plus en plus proches les unes des autres. Lors de l'arrêt total de la croissance caulinaire, commencent à se former des rosettes perchées caractéristiques très comparables aux rosettes témoins, à la seule différence que les feuilles présentent un aspect gaufré, dû à des inégalités de croissance, peut-être imputables à l'acide gibbérellique exogène. Aucune plante ne se met à fleur.

Discussion

Les résultats auxquels nous parvenons sont tout à fait comparables à ceux obtenus par HOUIVET (1975). Dans ce cas, l'auteur traite des *Jusquiames* noires bisannuelles, de même origine que nos plantes, par des applications d'acide gibbérellique plus importantes (50 μ g au lieu de 25 μ g), administrées selon un rythme plus rapide (une application quotidienne au lieu de trois applications par semaine), les conditions de culture des plantes étant par ailleurs identiques à celles du présent travail. Au terme de nos expériences, les plantes ayant reçu 150 μ g de GA₃ évoluent finalement en rosettes perchées au sommet de tiges atteignant 17 cm de hauteur en moyenne; au terme des expériences réalisées par HOUIVET, les plantes ayant reçu cette même dose évoluent de la même façon en rosettes perchées et les tiges atteignent 19 cm de hauteur. En ce qui concerne notre lot expérimental no. 3, les plantes qui ont reçu en tout 225 μ g de GA₃, ont formé des rosettes perchées au sommet de tiges atteignant 27 cm de hauteur, tandis que, dans le travail de HOUIVET, les plantes traitées par 200 μ g de GA₃ se sont allongées de 24 cm en moyenne. Aussi bien dans les conditions expérimentales réalisées par HOUIVET que dans

celles du présent travail, les Jusquiames noires bisannuelles non vernalisées ne parviennent jamais à la mise à fleur par le seul traitement par l'acide gibbéréllique.

Ces résultats diffèrent donc de ceux obtenus précédemment par LANG sur cette même espèce mais selon d'autres modalités de traitement. En effet, cultivées en conditions que LANG nomme « non-inductives » en ce qui concerne la floraison, c'est à dire en serre tiède et en eupériode, les Jusquiames noires bisannuelles parviennent à se mettre à fleur au bout d'un traitement par GA₃ appliqué sous forme de dépôts quotidiens de petites quantités: L'application quotidienne pendant quatre semaines de 10 µg de GA₃ sur le bourgeon terminal de chaque plante provoque d'abord une élongation des tiges, qui atteignent 36 cm au bout de cinq semaines (LANG 1956a); deux semaines plus tard, on observe la floraison de la quasi totalité des plantes ainsi traitées (LANG 1956b); l'effet produit serait comparable à celui résultant d'une réfrigération des plantes à 5 °C pendant six semaines. Au cours d'expériences ultérieures, LANG obtient également la floraison des Jusquiames noires bisannuelles au terme de traitements par GA₃ appliqués selon d'autres modalités; la hauteur finale qu'atteignent alors les tiges varie en fonction de la dose totale de GA₃ reçue par les plantes, de la quantité de GA₃ appliquée à chaque dépôt, et enfin de la fréquence des dépôts (LANG *et al.* 1957).

Nous rapprocherons par contre nos résultats de ceux obtenus par PICARD (1965) sur l'Onagre bisannuelle, *Oenothera biennis* L. var. *sulfurea* DE VRIES. En effet, sur cette plante également en rosette, bisannuelle et héméropériodique, l'application d'acide gibbéréllique, effectuée en serre tiède (18 °C à 22 °C) et en eupériode (journées longues de 16 h sur 24 h), en l'absence de toute réfrigération, provoque la formation et l'élongation d'entre-nœuds caulinaires. Mais cette élongation n'est en aucun cas suivie de floraison. L'application quotidienne pendant 30 jours de 10 µg de GA₃ sur le bourgeon terminal de chaque plante provoque la montaison des plantes. Les tiges ainsi formées atteignent 6 cm si les plantes avaient formé 55 feuilles au début du traitement par GA₃. Au terme de cette élongation, les Onagres bisannuelles forment des rosettes perchées. Aucune floraison n'a été observée, même en augmentant la dose de GA₃ appliquée à chaque dépôt, ou en espaçant les dépôts. Là encore, l'élongation caulinaire est d'autant plus importante que la dose totale de GA₃ reçue par les plantes a été plus grande. L'Onagre bisannuelle est plus sensible à des applications hebdomadaires de doses assez fortes de GA₃ qu'à un traitement consistant à appliquer la même dose totale par petites quantités, quotidiennement. PICARD attire également l'attention sur l'âge des plantes (ou plutôt leur stade de développement, évalué en nombre de feuilles) au début du traitement, les Onagres aquérant, au cours de leur croissance végétative, une plus grande sensibilité à l'acide gibbéréllique.

Sur la Jusquiame noire bisannuelle, nos essais de remplacement de la réfrigération vernalisante par des applications d'acide gibbéréllique n'ont pas abouti à la mise à fleur des plantes: L'acide gibbéréllique provoque une croissance caulinaire en rapport avec la dose appliquée, mais une fois l'élongation maximale atteinte, les plantes, ne présentant aucun signe de mise à fleur, poursuivent leur vie végétative en formant des rosettes perchées.

Bibliographie

- HOUIVET, J.-Y.: Etude de l'influence de l'acide gibbérellique (GA₃) sur la mise à fleur de *la* Jusquiame noire bisannuelle (en l'absence de toute réfrigération); participation éventuelle de l'AMP cyclique à l'action de GA₃. — D.E.A. Physiologie végétale approfondie. Univ. Paris VI, 55 pp. Paris 1975.
- LANG, A.: Induction of flower formation in biennial *Hyoscyamus* by treatment with gibberellin. — *Naturwissenschaften* **43** : 284—285, 1956a.
- LANG, A.: Gibberellin and flower formation. — *Naturwissenschaften* **43** : 544, 1956b.
- LANG, A., SANDOVAL, J. A., BEDRI, A.: Induction of bolting and flowering in *Hyoscyamus* and *Samolus* by a gibberellin-like material from a seed plant. — *Proc. nat. Acad. Sci. USA* **43** : 960 à 964, 1957.
- LARRIEU, C.: Un nouveau type de vernalisation exigeant le froid ou le chaud, présenté par une plante vivace, *Scrofularia alata* GILIB. — *Comp. rend. Acad. Sci. (Paris)* **259** : 2121—2124, 1964.
- MELCHERS, G., LANG, A.: Die photoperiodische Reaktion von *Hyoscyamus niger*. — *Planta* **33** : 653—702, 1943.
- PICARD, C.: Contribution à la connaissance de la vernalisation, de ses particularités et de sa signification chez *Oenothera biennis* L. var. *sulfurea* DE VRIES. — *Ann. Sci. nat. Bot.* **6** : 197 à 314, 1965.
- PICARD, C.: Aspects et Mécanismes de la Vernalisation. — Masson, Paris 1968.
- TRAN THANH VAN, M.: Vernalisation sans réfrigération par les facteurs trophiques de la vigueur, grande luminosité et niveau élevé de la nutrition minérale, chez le *Geum urbanum* L. — *Comp. rend. Acad. Sci. (Paris)* **259** : 4783—4786, 1964.
- WELLENSIEK, S. J.: De physiologie der bloemknopvorming in *Campanula medium*. [Physiology of flower bud formation in *Campanula medium*]. — *Versl. kon. ned. Akad. Wet.* **62** : 115—118, 1953.

BOOK REVIEW

ELLENBERG, H., ESSER, K., MERXMÜLLER, H., SCHNEPF, E., ZIEGLER, H. (ed.): **Fortschritte der Botanik. Morphologie. Physiologie. Genetik. Systematik. Geobotanik.** 37. Band. — Springer-Verlag Berlin—Heidelberg—New York 1975. 20 Fig., 1 Tab. XVII, 402 S. 120,— DM.

Der 37. Band der „Fortschritte“ ist wie üblich in 5 thematische Abschnitte gegliedert. Die meisten Übersichten sind in englischer Sprache abgefasst und stützen sich auf die Literatur der letzten 2—3 Jahre.

Im morphologischen Abschnitt werden die Struktur und Elemente von Endomembranen, die Zytologie und Morphogenese von Pilzzellen, die Morphologie und Morphogenese von Zellen der höheren Pflanzen sowie die Morphologie und Anatomie von Vegetations- und Reproduktionsorganen der höheren Pflanzen behandelt. Membrantransport und Elektrophysiologie der Zelle, der Wasserhaushalt der Pflanzen, die Aufgabe der Mineralelemente im Mineralnährstoffwechsel, die biophysikalischen Aspekte der Photosynthese, der Kohlenstoffmetabolismus von Monosacchariden bis zu Stärke, die Steroidbiosynthese in Pflanzen, Entwicklungs- und Bewegungsphysiologie bilden den Inhalt des physiologischen Abschnitts. In der Genetik werden Replikation des Chromosoms, die Rekombination, Mutation, genetische Regulierungsmechanismen bei Pilzen und die extrakaryotische Vererbung behandelt. Im taxonomischen Abschnitt werden die Fortschritte auf dem Gebiet der Systematik und Evolution der Samenpflanzen und der Paläobotanik zusammengefasst. Auf dem Gebiet der Geobotanik beschäftigt sich dieser Band mit den neuen Ergebnissen der floristischen und soziologischen Geobotanik, der experimentellen Ökologie und Blütenökologie sowie der Geschichte der Flora und Vegetation im Laufe des Quartärs. Das Buch schließt mit einem Sachregister. Es wurde in Offsetdruck herausgegeben.

Der Vorteil der „Fortschritte der Botanik“ besteht in der Vermittlung bearbeiteter, kondensierter Information über die neuesten Forschungsergebnisse auf Grund des Zusammentragens einer Literatúrauswahl aus der ganzen Welt.

INGRID TICHÁ (Praha)