

CHAPITRE

7

La croissance des cellules végétales et son contrôle

Manuel, pages 121 à 139

• Objectifs généraux du chapitre

Cette partie met l'accent sur l'un des mécanismes cellulaires responsables de la morphogenèse du végétal : l'auxèse, ou grandissement cellulaire. Après avoir insisté sur la particularité structurale et fonctionnelle que constitue la paroi des cellules végétales, on montre que cette matrice extracellulaire est un cadre susceptible de se déformer sous l'effet de la « pression de turgescence » exercée par le contenu vacuolaire, permettant par là-même l'élongation cellulaire. Ces mécanismes sont soumis à un contrôle hormonal, lui-même sous la dépendance de facteurs de l'environnement.

• Pré-requis

- L'organisation d'une cellule (Seconde).
- Les particularités de la structure de la cellule végétale (Seconde).
- Les grands mécanismes responsables de la morphogenèse (Première S, chapitre 6).
- La relation génotype/phénotype (Première S : partie 1 et partie 2, chapitre 5).
- L'influence de l'environnement (Première S : partie 1 et partie 2, chapitre 5).

• Découpage du chapitre, choix des Activités pratiques proposées

Ce chapitre comporte deux séances de travaux pratiques, correspondant aux deux semaines du programme, réparties en deux doubles pages chacune (notées TP 1 et 2, TP 3 et 4).

Première séance

TP 1

Ce TP permet à l'élève de retrouver l'organisation des cellules végétales ; la paroi végétale est mise en évidence

à partir de montages simples de cellules turgescentes et de cellules plasmolysées ; la nature biochimique de la paroi et de la lamelle moyenne est dégagée.

TP 2

La capacité à se déformer de cette paroi est montrée, tout d'abord à l'échelle d'un fragment d'organe, avec l'expérience des « frites », puis à l'échelle cellulaire sur des cellules d'algues filamenteuses d'organisation très simple (Spirogyre par exemple) ; l'interaction entre paroi et contenu cellulaire lors de la turgescence est abordée à partir du comportement de protoplastes.

Deuxième séance

TP 3

Ce TP s'attache à dégager le contrôle hormonal de l'élongation cellulaire avec la mise en évidence du rôle de l'auxine sur la croissance de coléoptile.

TP 4

L'interaction entre lumière, auxine et élongation est appréhendée à partir de l'exemple du phototropisme.

Des *Documents pour mieux comprendre* peuvent venir compléter, au cours des séances de travaux pratiques, à la maison, ou en séquence de cours, les informations tirées des observations des élèves. Le premier document sur la structure et la composition chimique de la paroi peut être proposé en prolongement du TP 1, le document 2, associé au TP 2 afin de bien dégager la relation pression de turgescence/croissance cellulaire. Les documents 3 et 4 complètent la connaissance de l'auxine, sa découverte (document 4) ou l'influence de la lumière sur sa répartition (document 3). La synthèse est construite à partir des informations tirées à la fois des travaux pratiques et des documents pour mieux comprendre.

TP 1**La paroi, cadre des cellules végétales**

Manuel, pages 122 et 123

• Intentions pédagogiques**→ Objectifs notionnels**

- La paroi constitue un cadre extracellulaire autour de la cellule végétale, qui lui confère sa forme.
- Cette matrice extracellulaire est de nature pecto-cellulosique.

→ Objectifs méthodologiques

- Réalisation de préparations de cellules végétales et observation au microscope optique.
- Réalisation d'un test coloré permettant de révéler des constituants biochimiques.

• Commentaires des documents proposés**Cellules épidermiques d'un bulbe d'Oignon violet**

- L'épiderme externe d'Oignon violet présente l'avantage d'avoir des cellules dont les vacuoles sont normalement colorées en violet. Deux montages sont effectués, l'un dans l'eau et l'autre dans une solution molaire de saccharose. Ils permettent d'observer des cellules turgescentes puis des cellules plasmolysées ; ces dernières permettent de mieux visualiser la paroi.
- Un montage réalisé sur des cellules d'épiderme interne d'écaille d'Oignon blanc, monté en présence de divers colorants spécifiques, permet de mettre en évidence la nature cellulosique de la paroi.

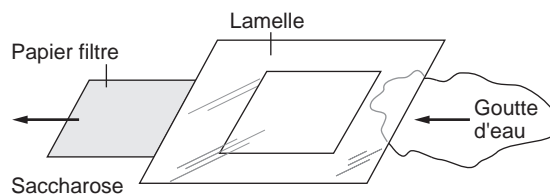
**INFORMATION
COMPLÉMENTAIRE**

Le montage dans l'eau, correspondant à des cellules turgescentes, permet un rappel de la structure de la cellule végétale vue en classe de Seconde et permet d'insister sur la présence d'une paroi et d'une vacuole.

Le montage dans la solution de saccharose concentrée, conduisant à la plasmolyse des cellules, permet de mettre en évidence la différence entre paroi et membrane plasmique et donc de montrer que la paroi est une matrice extracellulaire.

La vacuole spontanément colorée permet de suivre les changements de volume et l'augmentation de la coloration permet de suggérer que ce changement de volume est dû à des mouvements d'eau (dont on n'explicitera pas le mécanisme).

Pour réaliser la déplasmolyse, sur le bord gauche de la lamelle, absorber la solution de saccharose à l'aide d'un papier filtre et déposer sur le bord droit une goutte d'eau.



Changement de milieu
sous le microscope.

Cette manipulation montre que le changement de volume cellulaire en fonction de la concentration du milieu de montage est réversible.

Une première approche de la nature biochimique de la paroi est faite à l'aide de colorants caractéristiques comme le carmin aluné qui permet également de mieux visualiser la lamelle moyenne qui unit des cellules jointives. Celle-ci reste verte alors que les parois primaires « rosissent ».

• Correction de l'exploitation

- a.** Dans la cellule turgescente, on ne distingue que la vacuole qui semble emplir toute la cellule ainsi que le noyau. Dans la cellule plasmolysée, la membrane plasmique et un liséré de cytoplasme sont visibles autour de la vacuole dont le volume a diminué.
- b.** La comparaison du document a et du document b montre que la paroi est toujours présente et n'a pas changé de forme ; d'autre part, sur le document b on voit que la membrane plasmique est à l'intérieur du cadre délimité par la paroi, celle-ci est donc une structure (matrice) extracellulaire.
- c.** La paroi entoure la cellule : c'est donc un cadre ; elle lui confère une forme plus ou moins rigide ; elle constitue une sorte de squelette extracellulaire, d'où le terme de cadre squelettique.

ACTIVITÉ COMPLÉMENTAIRE

Si l'on ne dispose pas d'Oignon violet, on peut préalablement colorer la vacuole en réalisant un montage dans du rouge neutre à 1 % puis remplacer le liquide de montage par une solution de saccharose molaire.

On peut aussi utiliser des épidermes colorés autres que celui de l'Oignon violet comme celui du Chou rouge ou ceux de pétales de fleurs, par exemple, d'Anémone, de Tulipe, d'Éillet.

On peut également faire réaliser une expérience de déplasmolyse spontanée en montant un épiderme coloré dans une solution molaire d'urée (60 g/L) : à une phase de turgescence succède, sans changement de milieu, une déplasmolyse, dite spontanée. Le phénomène s'explique par un changement de concentration du suc vacuolaire, dû à la pénétration différée dans la cellule de substances dissoutes dans le milieu extérieur. La plasmolyse initiale et la déplasmolyse finale s'expliquent par le fait que les échanges d'eau et de substances dissoutes ne se font pas à la même vitesse.

TP 2

Structure de la paroi et croissance de la cellule végétale

Manuel, pages 124 et 125

• Intentions pédagogiques

→ Objectifs notionnels

- La cellule, et donc sa paroi, présentent une certaine élasticité mise en évidence par les variations de volume de la cellule lors de la plasmolyse et de la turgescence.
- À l'état turgescent, l'intérieur de la cellule, exerce une pression sur la paroi : en son absence (protoplaste), la cellule éclate.

→ Objectifs méthodologiques

- Acquérir des données expérimentales (expérience des frites) et traiter de l'information sous forme graphique.
- Éprouver une hypothèse sur le rôle de la paroi (comparaison du comportement cellulaire avec et sans paroi).

• Commentaires des documents proposés

1 L'élongation à l'échelle d'un organe

L'expérience des frites permet de montrer l'influence de la concentration, d'une part sur la longueur de l'organe, d'autre part sur sa consistance. On peut prendre la précaution de marquer par une légère encoche l'un des grands côtés pour être sûr de faire les mesures sur le même côté.

Cette expérience à l'échelle de l'organe permet une amplification des phénomènes qui rend mesurable les changements de volume cellulaire en fonction des solutions de montage. Ce document permet d'émettre l'hypothèse qu'il existe une relation entre allongement-consistance rigide et turgescence, et raccourcissement-consistance molle et plasmolyse.

2 Effets des variations de volume sur des cellules végétales

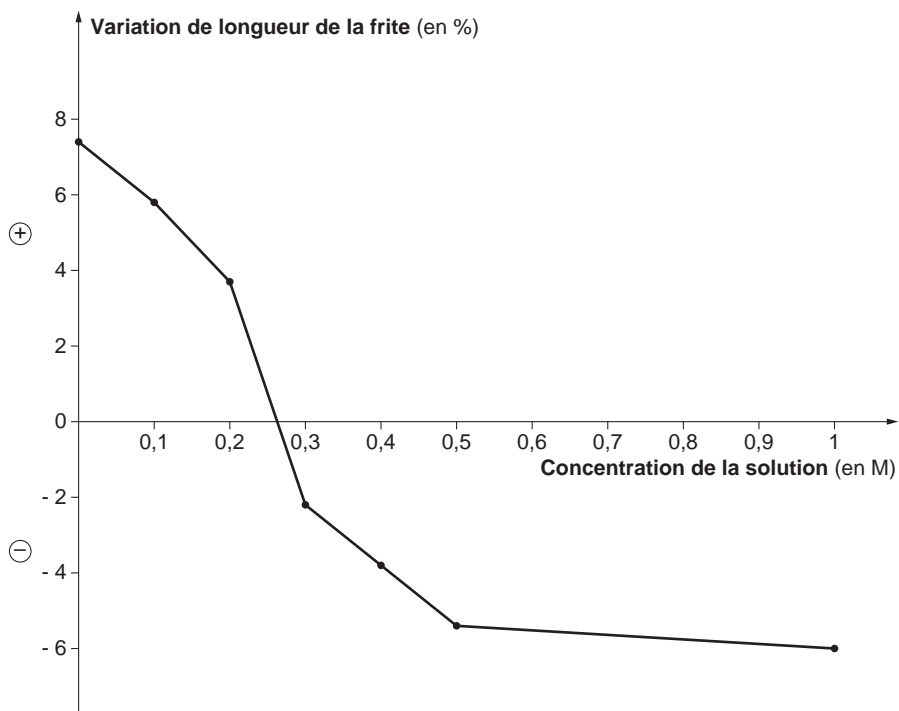
A. On cherche à visualiser, à l'échelle cellulaire, les variations de volume au cours de la plasmolyse et de la turgescence. Pour cela, on choisit des cellules faciles d'utilisation et pouvant exprimer facilement leurs variations de volume : des cellules de *Spirogyre*, algue formée d'une seule file de cellules. Les cellules sont dilatées sous l'effet de la turgescence, avec déformation de la paroi. Les variations de longueur des frites peuvent donc bien être interprétées comme la résultante des variations de volume des cellules qui les constituent.

B. On s'intéresse au comportement des cellules dépourvues de paroi, les protoplastes. On montre ainsi d'une part que ce cadre est responsable de la forme des cellules végétales, d'autre part que lors de la turgescence il empêche, s'il est présent, l'éclatement de la cellule : dans une cellule végétale munie de sa paroi une force s'exerce donc sur la paroi si la cellule est turgescence.

• Correction de l'exploitation

Document 1

a. Graphique demandé.



Variations de la longueur d'une frite en fonction de la concentration en saccharose.

b. Le raccourcissement des frites peut être interprété comme lié à la plasmolyse des cellules pour des valeurs de concentration supérieures à 0,26 M, d'après le graphique. Pour des valeurs inférieures, les cellules sont turgescentes.

Document 2

a. On étudie le comportement d'une cellule (presqu')isolée munie d'une paroi (algue filamenteuse, documents a et b) et d'une cellule dépourvue de paroi (document c) en fonction de la concentration du milieu. Ces résultats valident les résultats précédents : on observe bien une augmentation de volume cellulaire dans le cas des cellules turgescentes (qui peut conduire à l'éclatement en l'absence de paroi) qui rend compte de l'accroissement de la taille des frites pour les faibles concentrations de saccharose.

b. Pour que l'élongation de la cellule végétale puisse avoir lieu la paroi doit être extensible.

c. Les protoplastes sont des cellules végétales dont on a supprimé la paroi. On constate, d'une part le changement de forme de la cellule qui devient sphérique et d'autre part l'éclatement de la cellule lorsque le montage a lieu dans l'eau : la paroi qui entoure la cellule constitue un cadre plus ou moins rigide et résistant assimilable à une structure squelettique extracellulaire.

INFORMATION COMPLÉMENTAIRE

La masse moléculaire du saccharose ($C_{12}H_{22}O_{11}$) est de 342 g ; une solution molaire contient 342 g de saccharose par litre. Une solution 0,5 M contient 171 g.L⁻¹.

Pour obtenir les solutions aux différentes concentrations, on procède de la façon suivante :

N° du tube	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
cm ³ de solution de saccharose	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
cm ³ d'eau distillée	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0

Le numéro du tube exprime en M/10 la concentration de la solution qu'il contient.

Ex : tube n° 5, concentration en saccharose 5 M/10 soit 0,5 M.

ACTIVITÉ COMPLÉMENTAIRE

Il est possible de réaliser des observations sur des cellules complètement isolées munies de paroi en réalisant le protocole suivant :

1. Découper une feuille de Liseron en petites lanières de 1 cm.
2. Les placer dans un broyeur de Potter avec un peu de solution de saccharose 0,1 M (3,4 %) puis actionner plusieurs fois le piston pour broyer les morceaux de feuille.
3. Filtrer sur un tamis fin ou une toile à bluter (diamètre = 100 μm) ou éventuellement une passoire fine de cuisine (type « chinois »).
4. Monter une goutte de suspension entre lame et lamelle et observer.
5. Mélanger un peu de suspension avec une goutte d'eau.

Il est aussi possible d'obtenir des cellules isolées en utilisant une pectinase.

TP 3**Le contrôle de la croissance des cellules végétales**

Manuel, pages 126 et 1257

• Intentions pédagogiques**→ Objectifs notionnels**

- Il existe un contrôle hormonal de l'élongation des cellules végétales.
- L'hormone impliquée est l'auxine produite par les apex.

→ Objectifs méthodologiques

- Réaliser un protocole expérimental.
- Analyser des données.
- Mettre en relation des informations.

• Commentaires des documents proposés**1 Influence de l'auxine sur l'élongation cellulaire**

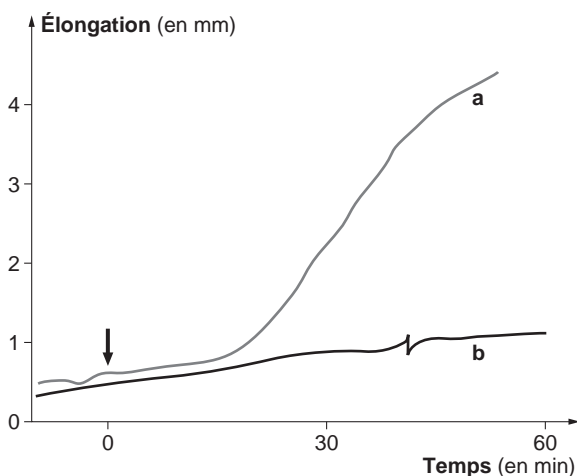
On choisit de travailler sur des coléoptiles de Poacée (Graminée), gaines foliaires qui ont la particularité de ne devoir leur croissance en longueur qu'à une augmentation de la taille des cellules et non du nombre des cellules. On met à germer les grains de blé à l'obscurité pour éliminer l'influence de la lumière sur la croissance. Lorsque les coléoptiles ont atteint environ 1 cm, on place les germinations dans des boîtes de Pétri contenant du liquide de Knop avec ou sans auxine. L'auxine en poudre est utilisée avec une concentration voisine de 10^{-3} à 10^{-4} g par litre.

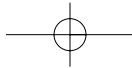
2 Rôle de l'apex dans l'élongation cellulaire

Après avoir mis en évidence le rôle stimulateur de l'auxine apportée dans le milieu de culture sur l'élongation cellulaire, on cherche à déterminer s'il existe une production endogène d'auxine. On émet l'hypothèse d'une production localisée au niveau de l'apex. On compare la croissance, sur liquide de Knop, de coléoptiles intacts (qui servent de témoin) et de coléoptiles décapités. Puis on compare la croissance de ces coléoptiles décapités avec celle de coléoptiles également décapités mais poussant sur liquide de Knop enrichi en auxine.

• Correction de l'exploitation**Document 1**

a. Courbes d'élongation d'un coléoptile, avec (a) en sans auxine (b).

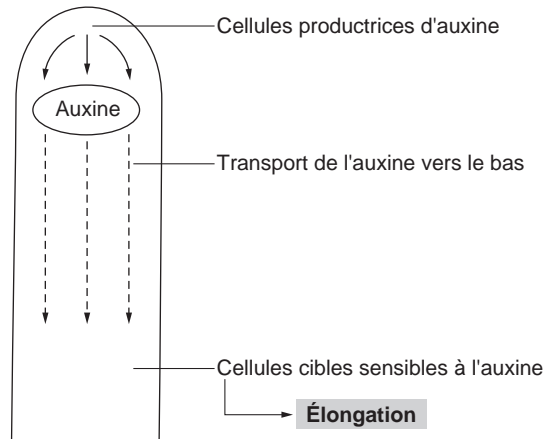




b. L'auxine stimule la croissance en longueur des cellules.

Document 2

a. L'apex produit de l'auxine qui diffuse vers les cellules du coléoptile et provoque leur élongation.



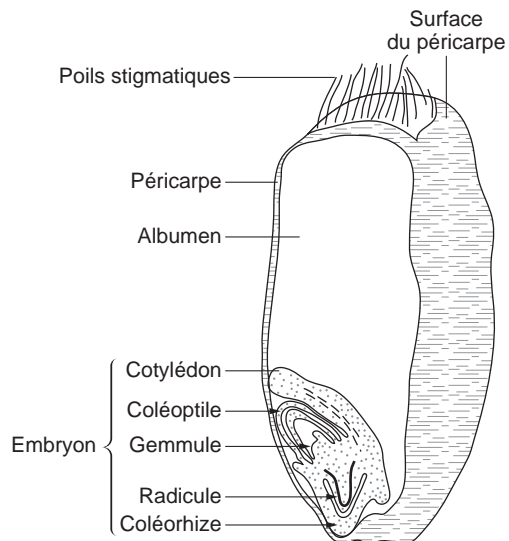
b. L'auxine est une substance produite par des cellules particulières : les cellules de l'apex, capable d'agir à distance : ici sur les autres cellules du coléoptile, en provoquant une action spécifique : l'élongation ; elle peut être assimilée en première approche à une hormone en se fondant sur le modèle animal.

c. Nous avons dégagé précédemment que l'élongation nécessitait un relâchement de la paroi avant synthèse de nouvelles molécules permettant l'augmentation de la surface cellulaire, couplée à une pression de turgescence ; on peut émettre l'hypothèse que l'auxine exerce une action sur la paroi (relâchement) ainsi que sur la vacuole (augmentation de son volume) et peut-être sur le matériel génétique (synthèse de nouvelles molécules).

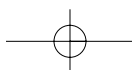
INFORMATION COMPLÉMENTAIRE

1. Grain de Blé et coléoptile

Le grain de Blé est un caryopse, c'est un akène c'est-à-dire un fruit sec indéhiscent. Le tégument de la graine est indissociable du péricarpe du fruit. Il constitue une semence.

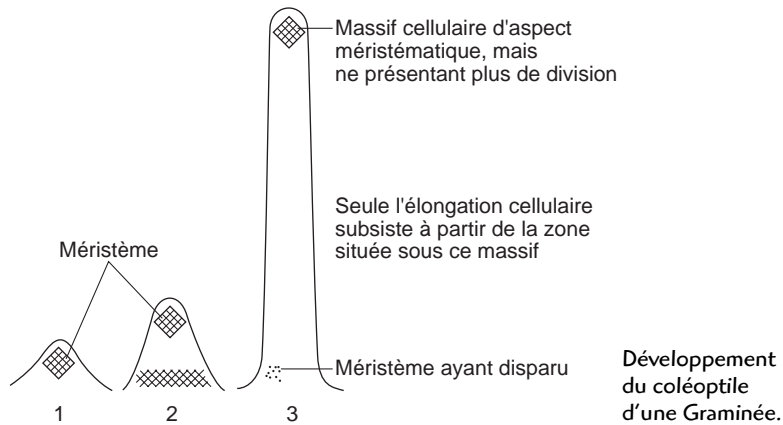


Coupe longitudinale de caryopse de Blé.



Au cours de la germination, la gemmule est d'abord protégée par une gaine foliaire, le coléoptile, qui grandit de quelques centimètres avant de se percer et laisser croître les feuilles de la gemmule.

Pour étudier la croissance par élongation cellulaire, ce coléoptile de Graminée est un matériel intéressant. Le méristème situé à la base de cette gaine foliaire a dégénéré et les petites cellules dérivées de ce méristème ne se divisent plus mais peuvent s'allonger.



2. L'auxine et son mode d'action

Auxine = acide-indolyl-acétique noté IAA ou AIA. Il existe différents dérivés de cette molécule. La synthèse a lieu dans les apex caulinaires au niveau des méristèmes et des jeunes feuilles.

Son transport est polarisé : il s'effectue préférentiellement depuis l'apex caulinaire vers les racines surtout par le phloème ($v = 10$ à 20 mm/h).

L'effet sur l'élongation cellulaire représente la fonction principale de l'auxine. Cet effet est variable selon la concentration et selon l'organe (cf. exercice 7 p. 139).

Mode d'action de l'auxine :

- l'effet inducteur de l'auxine sur l'élongation commence après un temps de latence d'une dizaine de minutes ;
- l'auxine stimule l'élongation en augmentant l'extensibilité de la paroi. Cet effet demande un métabolisme actif et peut être reproduit en milieu acide ; une des actions importantes de l'auxine est d'induire la sortie de H^+ vers la paroi par les pompes H^+ ATPase.

Deux mécanismes sont proposés pour expliquer la sortie de protons, soit une stimulation directe des pompes présentes dans la membrane plasmique, soit une stimulation de la synthèse de nouvelles pompes.

L'auxine est captée par des récepteurs membranaires.

La transduction pourrait faire intervenir des phospholipases membranaires par l'intermédiaire de protéines G. Ceci entraînerait :

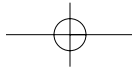
- à court terme, un relâchement rapide de la structure de la paroi par activation d'une pompe à protons entraînant l'acidification à l'origine de la rupture de liaisons entre les molécules de paroi ; une entrée de K^+ participant à la turgescence ;
- à plus long terme, une stimulation de l'entrée de solutés et synthèse de composés de paroi par stimulation de l'expression de certains gènes.

Quelques autres rôles de l'auxine :

L'auxine possède aussi un pouvoir rhizogène.

Elle stimule la multiplication des cellules cambiales.

Elle participe à la dominance apicale : la dominance apicale est due à la production par le bourgeon terminal d'auxine, qui inhibe le développement des bourgeons axillaires.



3. Les autres « phytohormones » agissant sur la morphogenèse

- Les cytokinines sont synthétisées surtout au niveau des racines et circulent avec la sève brute dans les vaisseaux de xylème. Elles stimulent la croissance en agissant sur la multiplication cellulaire en présence d'auxines.

Elles induisent la formation de bourgeons et la croissance de ceux qui sont inhibés (par exemple ceux soumis à la dominance apicale) : elles favorisent la levée de dormance. Elles s'opposent au développement des racines. Elles retardent la sénescence.

- Les gibbérellines sont synthétisées dans tous les sites de multiplication intense : apex, jeunes feuilles et embryon. Leur transport non polarisé s'effectue par le phloème et le xylème. Elles provoquent un allongement important des entre-noeuds (comme le champignon ascomycète parasite : *Gibberella fujikuroi*). De grandes quantités sont libérées par les embryons des caryopses de Graminées au moment de la germination. Elles peuvent lever la dormance de beaucoup de semences et de bourgeons ; elles sont alors antagonistes de l'acide abscissique responsable du maintien de la dormance.

- L'acide abscissique provoque l'abscission = chute des feuilles (et des fruits) et contrôle la fermeture des stomates. C'est un inhibiteur de croissance : il s'oppose notamment aux effets des gibbérellines en freinant la croissance des entre-noeuds et en maintenant la dormance des bourgeons et des semences.

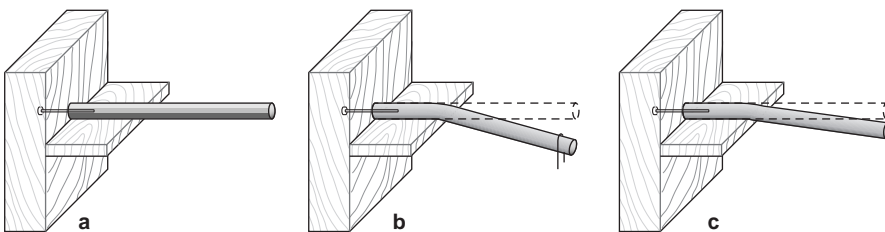
- L'éthylène stimule la sénescence : chute des feuilles. Sa synthèse est augmentée en cas de stress. Il inhibe de nombreux aspects du développement, par exemple la croissance des bourgeons de tubercule de Pomme de terre.

- D'autres régulateurs de croissance

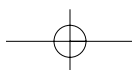
Polyamines, oligopeptides, oligosaccharines, jasmonates, brassinostéroïdes et acide salicylique...

ACTIVITÉ COMPLÉMENTAIRE

Un segment de coléoptile fiché par une extrémité sur une pointe horizontale (a) reçoit un petit cavalier sous le poids duquel il s'incline (b) ; après enlèvement du cavalier il ne reprend pas exactement sa position initiale (c). L'écart est nettement plus grand pour un coléoptile entier, ou dont la pointe a été remplacée par un bloc de gélose contenant de l'auxine que pour un segment de coléoptile préalablement décapité.



Cette expérience permet de faire la différence entre la notion d'élasticité de la paroi et la notion de plasticité ; on entend par élasticité, la déformation réversible observée sous l'effet d'une contrainte. La plasticité, au sens strict (dans l'acception utilisée aussi en Géologie), correspond à une déformation due à une contrainte, mais qui demeure même lorsque la contrainte cesse, elle correspond donc à une déformation irréversible. La déformation observée en b est en fait à la fois de type élastique et de type plastique. La déformation de la paroi lors des alternances turgescence/plasmolyse est réversible : elle correspond à un comportement élastique de la paroi. Lorsque la cellule subit une elongation, il y a changement irréversible de la forme de la paroi, celle-ci subit une déformation de type plastique. Dans un sens moins strict, la plasticité désigne la capacité à se déformer.



TP 4**Influence de la lumière sur la croissance d'un végétal**

Manuel, pages 128-129

• Intentions pédagogiques**→ Objectifs notionnels**

- Un végétal peut présenter une croissance orientée en réponse à une anisotropie du milieu.
- Cette croissance orientée est due à une inégale répartition des hormones sous l'effet du facteur anisotrope de l'environnement.

→ Objectifs méthodologiques

- Mise en place et réalisation d'un protocole expérimental.
- Formulation d'hypothèses éprouvées par l'expérimentation.
- Élaboration d'un modèle explicatif du phototropisme.

• Commentaires des documents proposés**1 Influence de la lumière**

On utilise des grains de Blé germés que l'on soumet à des conditions d'éclairement différentes : un premier lot ne reçoit la lumière que par le dessus (éclairage isotrope), un deuxième reçoit latéralement de la lumière (éclairage anisotrope). Ces deux récipients sont fixes. Un troisième lot est soumis à un éclairage latéral, mais il tourne lentement sur lui-même.

2 Mise en évidence du rôle de l'apex dans l'orientation de la croissance**A. Apex et éclairage orienté**

On cherche à tester le rôle de l'apex dans la réponse phototropique. Pour cela on compare le comportement de trois lots de coléoptiles lors d'un éclairage anisotrope : on utilise des germinations de Blé de trois jours dont les coléoptiles sont bien droits.

Lot 1 : coléoptiles intacts ; ils servent de témoin.

Lot 2 : coléoptiles sans apex : enlever les 2 mm de l'extrémité à l'aide d'une lame de rasoir.

Lot 3 : coléoptiles recouverts sur 2 mm d'un petit capuchon : prendre un morceau de papier d'aluminium et former le capuchon en s'aidant de la pointe d'un stylo.

Pour maintenir les germinations droites on peut les piquer sur des punaises traversant un support rigide recouvert d'un papier-filtre humide, pour maintenir les germinations en bon état.

L'ensemble est éclairé latéralement et les résultats sont observés au bout de deux heures environ.

On observe une courbure phototropique uniquement pour le coléoptile intact. L'apex est donc la zone de réception du stimulus lumineux. On peut remarquer aussi que la zone de courbure se situe plus bas que l'apex : il y a donc dissociation entre zone réceptrice et zone effectrice d'où l'hypothèse d'un messager entre les deux zones.

B. Auxine et phototropisme

On a mis en évidence dans le TP 3 que l'apex était producteur d'auxine. Le document A a confirmé ce résultat. On teste ici l'influence de l'auxine (déposé sur un bloc de gélose) sur l'élongation et on recherche l'effet d'une inégale répartition de l'auxine sur une orientation de la croissance.

On réalise des petits blocs de gélose (1 mm x 1 mm environ) enrichis en auxine.

Préparer 100 mL de solution d'auxine à 10^{-4} M dans le tampon phosphate 5 mM pH 6,5 puis ajouter 1 g de gélose et faire bouillir.

Couler la gélose dans une boîte de Pétri en une couche fine de 1 mm environ et laisser refroidir. Découper de petits cubes de 1 x 1 mm.

Préparer les germinations en sectionnant les coléoptiles des plantules dont les coléoptiles sont bien droits ; elles sont maintenues par des punaises comme dans l'expérience précédente.

Pour installer le bloc sur un côté seulement du coléoptile on veille à ne couper que la gaine du coléoptile sur 1 mm environ de façon à conserver les jeunes feuilles contre lesquelles on appuie le bloc de gélose (opération délicate).

Le tout est placé à l'obscurité pour supprimer l'influence de l'éclairement.

On constate une croissance du coléoptile, non orientée si le bloc est posé sur la totalité de la section et orientée du côté opposé au bloc de gélose si celui-ci est sur une moitié de la section.

INFORMATION COMPLÉMENTAIRE

Préparation des blocs de gélose

Mélanger 1 g de gélose avec 100 mL d'eau ; amener à ébullition en agitant continuellement ; verser un film mince dans la boîte de Pétri et laisser refroidir. La gélose reste liquide jusque vers 40 °C puis prend en masse brutalement.

– Pour préparer les cubes avec auxine remplacer l'eau par une solution d'auxine préparée dans du tampon phosphate :

la masse moléculaire relative de l'auxine est de 175 donc une solution molaire contient 175 g par litre d'auxine, une solution 10^{-3} M contient 175 mg pour 1 000 mL soit 17,5 g pour 100 mL. Pratiquement, peser sur la balance 17,5 mg d'auxine, ajouter 1 mL d'éthanol absolu, agiter quelques instants, ajouter 100 mL d'eau distillée et agiter. Les solutions physiologiques à 10^{-4} sont préparées dans du tampon phosphate 5 mM, pH 6,4 : mettre 10 mL de la solution 10^{-3} M dans 100 mL de tampon phosphate. Utiliser cette solution à la place de l'eau pour préparer les cubes de gélose (d'après R. Prat).

• Correction de l'exploitation

Document 1

a. On cherche à comprendre les courbures observées sur certains organes en croissance comme, par exemple, l'orientation des germinations vers la fenêtre.

Hypothèses :

- un éclairage isotrope permet la croissance des germinations mais ne provoque pas de courbure ;
- un éclairage anisotrope appliqué à des germinations immobiles entraîne leur courbure ;
- c'est l'exposition prolongée d'une face à l'éclairage anisotrope qui est responsable de la courbure d'où l'hypothèse d'une croissance différentielle des deux faces sous l'effet de l'éclairage anisotrope.

b. Oui, les résultats valident les hypothèses : il existe bien une croissance orientée des germinations du côté de la source de lumière = phototropisme positif. Ce phototropisme n'existe pas si l'éclairage est isotrope ou si les différentes faces des germinations sont également soumises à un éclairage anisotrope.

Document 2

- a.** L'apex intervient dans la perception du stimulus et dans la production d'auxine.
- b.** On émet l'hypothèse d'une relation entre éclairage anisotrope, apex, auxine et courbure des coléoptiles, il est nécessaire de placer les coléoptiles à l'obscurité pour déterminer si l'auxine seule est capable de déclencher une courbure du coléoptile et dans quelles conditions.
- c.** La croissance non orientée du coléoptile dont la section est recouverte par le bloc imprégné d'auxine sur sa totalité est due à une répartition homogène de l'auxine issue de l'apex.
- d.** La courbure ne s'observe que sur des organes en croissance. La concavité correspond à la face qui présente une croissance en longueur inférieure à celle de la face convexe.
- e.** L'application délocalisée du bloc de gélose imprégné d'auxine provoque une courbure du côté opposé : la face située sous le bloc présente donc une croissance plus importante que la face opposée. On peut émettre l'hypothèse qu'une concentration plus importante d'auxine en est responsable.

Le modèle est donc le suivant :

- l'apex est à la fois le lieu de perception du stimulus et de production de l'auxine ;
- la lumière créerait une inégale distribution de l'auxine telle qu'elle soit plus concentrée sur la face non soumise à l'éclairage ;
- l'auxine migrerait vers des cellules sous-jacentes capables d'y répondre ;
- ces cellules-cibles subiraient une elongation d'autant plus importante que la concentration en auxine est plus forte d'où la courbure.

INFORMATION COMPLÉMENTAIRE

La valeur optimale d'énergie lumineuse pour obtenir une courbure phototropique dirigée vers la lumière (phototropisme positif) est de l'ordre de 1 à 10 J.m⁻² en lumière blanche ce qui correspond à quelques centièmes de seconde en éclairage solaire direct. La courbure débute quelques millimètres au-dessous de l'apex, après un temps de latence de 15 à 20 min ; elle descend progressivement vers le milieu du coléoptile et atteint une valeur maximale (de l'ordre de 30° en général) en 1 h 30 à 2 h.

Remarque : la courbure phototropique est fonction de l'éclairage ; pour des éclairages plus intenses, de l'ordre de 100 J.m⁻², le phototropisme devient négatif, au-delà de 500 J.m⁻² il redevient positif.

La perception du stimulus a lieu au niveau de l'apex dans un territoire situé entre 50 µm et 1 mm de l'extrémité grâce à des photorécepteurs dont une flavoprotéine (NPH1). L'auxine est produite au niveau de l'apex et le phototropisme résulte d'une inégale répartition de l'auxine, l'auxine étant plus concentrée du côté non éclairé que du côté éclairé.

ACTIVITÉ COMPLÉMENTAIRE

On peut également s'intéresser à l'influence d'autres facteurs du milieu comme l'influence de la gravité avec l'étude du gravitropisme. On peut utiliser des germinations de Pois par exemple dont la racine vient de percer le tégument. On peut les fixer sur un bouchon en les disposant soit verticalement soit horizontalement et suivre la croissance de la racine. On note dans ce dernier cas une courbure vers le bas = gravitropisme positif de la racine.

Documents pour mieux comprendre

Manuel, pages 131 à 133

1 Structure, composition et origine de la paroi

La paroi est une matrice extracellulaire qui entoure la cellule végétale ; son épaisseur est de l'ordre de 0,1 micromètre à plusieurs micromètres ; elle impose une vie immobile aux végétaux.

Dans un tissu à cellules jointives, chaque paroi est liée à ses voisines par la lamelle moyenne. Dans une cellule jeune, les parois cellulaires sont minces et semi-rigides, on parle de parois cellulaires primaires. Elles peuvent s'étendre au cours de la croissance de la cellule. Quand la croissance est terminée, le plus souvent la cellule produit une paroi cellulaire secondaire soit en épaississant la paroi primaire soit en la doublant par l'intérieur de nouvelles couches de composition différente.

Il existe une grande variation dans la composition et l'organisation des parois primaires des végétaux supérieurs, mais elles présentent une organisation commune à toutes les matrices extracellulaires qui leur confère une résistance élastique :

- de longues fibres, résistantes aux tensions, d'un polysaccharide : la cellulose ;
- une matrice résistante aux compressions, formée de deux autres polysaccharides : hémicelluloses et pectines, plus des glycoprotéines. La paroi primaire est de nature pecto-cellulosique.

• Complément d'informations sur la biochimie des molécules de la paroi

Les hémicelluloses représentent un groupe hétérogène de polysaccharides ramifiés constituant la matrice qui se lient de manière non covalente entre elles et à la surface de chaque microfibrille de cellulose.

Les pectines correspondent au troisième type de polysaccharides majeurs des parois cellulaires ; ce sont des molécules hétérogènes ramifiées, contenant de nombreux résidus d'acide galacturonique chargés négativement.

Les glycoprotéines constituent jusqu'à 10 % de la masse de la paroi.

• Modifications de la paroi

La paroi secondaire correspond à un dépôt d'autres molécules de cellulose entre la paroi primaire et la membrane plasmique, parfois en couches successives.

D'autres molécules peuvent modifier la composition de la paroi. La lignification est un dépôt de lignine, polyphénols résistants et hydrophobes, caractéristique du bois. La subérification correspond à un dépôt de subérine, polymère lipidique qui constitue un revêtement protecteur imperméable ; elle conduit à la formation de suber ou liège. La cutinisation correspond à un dépôt

de cutine, polymère d'acides gras, du côté externe (cas des cellules épidermiques).

2 Action de la pression de turgescence sur l'élongation cellulaire

• Conditions nécessaires à l'extension

La paroi doit paradoxalement permettre à la fois le soutien et l'extension :

- nécessité d'un relâchement de la trame de la paroi primaire pour l'adjonction de nouvelles molécules ;
- nécessité d'un moteur qui pousse sur les parois lié au développement de l'appareil vacuolaire qui entretient la pression de turgescence. Dans la vacuole, la présence de solutés développe une certaine pression osmotique responsable d'un appel d'eau : il se crée une pression de turgescence correspond aux forces qui s'exercent sur la paroi perpendiculairement à la surface des cellules. Cette pression constitue le moteur de l'extension (document 2) ;
- nécessité de l'apport de nouveaux matériaux à la paroi, qui empêche son amincissement quand la surface augmente.

• Modalité de grandissement de la paroi

Les cellules jeunes ont une paroi primaire extensible, les cellules ayant achevé leur croissance ont une paroi secondaire inextensible. Le grandissement de la surface nécessite un relâchement de la trame (rupture des liaisons) et un étirement. La croissance se fait par dépôt de la matrice entre les composés existants : intussusception, et par dépôt de cellulose sur la face interne : phénomène d'apposition.

3 Auxine et courbure phototropique

a et b : La concentration d'auxine est identique dans le bloc de gélose sur lequel repose l'apex, que celui-ci soit exposé à l'obscurité ou à une lumière unidirectionnelle : il n'y a pas de modification quantitative de l'auxine présente à la base de l'apex en fonction des conditions d'éclairage.

c et d : lorsqu'une lame isole les deux moitiés de l'apex mais non la gélose, on observe les mêmes résultats que précédemment.

e : si la lame isolant les deux moitiés de l'apex se poursuit dans le bloc de gélose, on constate une égale répartition de la concentration d'auxine entre les deux moitiés telle que le total soit égal à ce qui a été observé en D. f : si la lame n'isole pas l'extrémité de l'apex mais isole le reste de celui-ci et le bloc de gélose, on constate une inégale répartition de l'auxine telle que la concentra-

tion soit plus importante du côté opposé à la lumière. Il y a donc, sous l'effet de la lumière, au niveau de l'extrémité de l'apex, une inégale distribution de l'auxine qui correspond à une concentration plus importante à l'opposé de la source de lumière.

Cette inégale concentration est responsable des inégalités de croissance des cellules sous-jacentes et donc de la réaction de courbure.

4 La découverte de l'auxine

Ces expériences sont à l'origine de la mise en évidence d'une hormone de croissance chez les végétaux. Elles sont réalisées sur le coléoptile d'Avoine.

Une première série d'expériences est réalisée sous éclairage unidirectionnel :

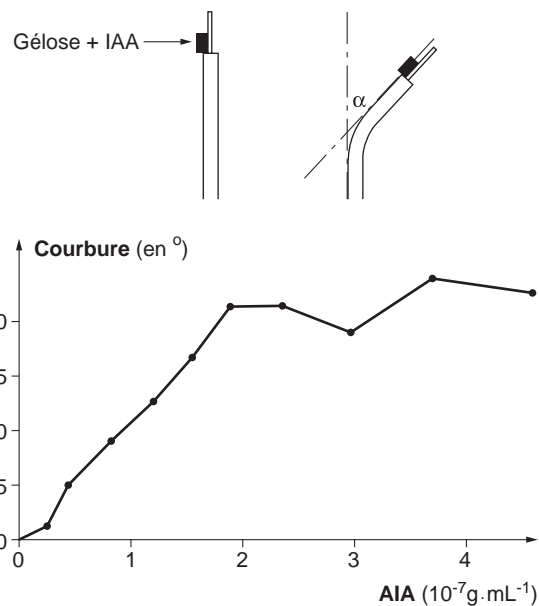
- En 1880, Darwin montre que la zone de réception du stimulus est l'extrémité et que la zone de courbure est sous-jacente.

- Boysen-Jensen (1910-1913) montre qu'en remettant la pointe sur le coléoptile décapité, on restitue la réponse phototropique : il existe donc une transmission d'un stimulus qui peut diffuser au niveau de la section. Cette transmission n'est pas arrêtée par une lame de gélose (elle l'est par une lame de mica disposée sur toute la section).

- Paal (1919) réalise des expériences en lumière isotope : en plaçant la pointe décapitée de façon décentrée sur le coléoptile décapité il obtient une courbure dont la convexité est du côté de la pointe : la dissymétrie causée par le décalage de la pointe du coléoptile est comparable à celle engendrée par la dissymétrie de l'éclairement. Il existe une substance qui n'est pas arrêtée par la cou-

che de gélatine (substance hydrosoluble) produite par l'apex qui diffuse et agit sur les cellules sous-jacentes, l'effet dépendant de la concentration.

- Went (1928) isole la substance et met au point un test biologique de dosage de l'auxine. Le test Avoine de Went consiste à faire diffuser l'auxine depuis des pointes de coléoptiles vers de la gélose puis découper celle-ci en petits blocs que l'on pose latéralement sur des coléoptiles décapités ; l'angle de courbure enregistré après 90 min donne la concentration de l'extrait après étalonnage avec des solutions d'auxine de concentrations connues.



Corrigés des exercices

Manuel, pages 138 et 139

Restitution des connaissances

1. La paroi, structure limitante de la cellule

L'observation de cellules plasmolysées montre que la cellule végétale située à l'intérieur de la paroi perd sa forme alors que la paroi conserve pratiquement son aspect : elle forme donc un cadre présentant une certaine rigidité. Par ailleurs, la suppression de la paroi dans le cas des protoplastes modifie l'aspect de la cellule. La paroi forme donc une structure qui soutient la cellule et lui confère sa forme : elle est assimilable à un squelette extracellulaire.

2. L'auxine et son action sur la croissance

L'auxine est un facteur de croissance assimilable à une hormone végétale. Elle est produite par les cellules de l'apex caulinaire. Elle agit sur la croissance des cellules

végétales en provoquant d'une part un relâchement pariétal d'autre part une augmentation de la turgescence de la vacuole ; elle agit aussi de façon moins immédiate sur le génome en stimulant des gènes impliqués dans la synthèse de nouvelles molécules de paroi.

3. Une interaction entre hormones et facteurs du milieu : le phototropisme

Le phototropisme correspond à une orientation de la croissance induite par un éclairage anisotrope. La courbure se fait vers la source de lumière : il s'agit d'un phototropisme positif.

Cette courbure correspond à une inégale croissance cellulaire sur les deux faces de la tige (ou du coléoptile), la face éclairée présentant une croissance moins importante que l'autre face.

Cette croissance différentielle est due à une concentration d'auxine plus importante sur la face non éclairée

que sur la face éclairée ; cette auxine diffuse depuis l'apex (lieu de production) vers les cellules sous-jacentes qui lui sont sensibles.

Cette inégale répartition de l'auxine est consécutive à la perception de la lumière par des photorécepteurs situés au niveau de l'apex.

Application des connaissances

5. Auxine et expression génétique

1. Comparaison des deux électrophorèses :
 - la plupart des traces sont identiques pour le témoin et le sujet traité à l'auxine ;
 - certaines n'apparaissent que chez le sujet traité à l'auxine : 1, 2, 3 ;
 - d'autres correspondent à une quantité plus importante : 4 ;
 - d'autres diminuent : 5 et 6.
2. Sachant que les protéines sont les produits d'expression de gènes, on peut émettre l'hypothèse que l'auxine stimule l'expression de certains gènes.
3. L'auxine peut agir en stimulant à plus ou moins long terme des gènes codant des enzymes impliquées dans la synthèse et la mise en place des composés de la paroi.

6. Obtenir des protoplastes

1. Un protoplaste est une cellule dépourvue de sa paroi.
2. a) Pied de Pomme de terre ; b) Prélèvement de fragment de feuille débarrassé de son épiderme ; c) Incubation en présence d'enzymes : les pectinases et la cellulase, qui hydrolysent les lamelles moyennes et les parois ;

d) Obtention de protoplastes ; e à g) multiplication du nombre de cellules, formation d'un cal ; h et i) développement d'une plantule et régénération d'un nouveau pied.

3. b) Prélèvement de cellules de l'appareil végétatif (à $2n$ chromosomes) spécialisées : cellules de l'intérieur de la feuille (cellules de parenchyme foliaire) ; ce sont des cellules qui ont normalement perdu le pouvoir de se diviser puisqu'elles sont différenciées ; c) Les enzymes permettent d'obtenir des cellules dissociées ; d à i) Mises dans des milieux appropriés, les cellules vont récupérer leur capacité de se diviser et régénérer une plante entière.

7. Auxine et élongation des cellules végétales

1. L'auxine agit sur l'élongation des cellules des différentes parties de l'appareil végétatif. Pour un organe donné, l'action peut être positive ou négative en fonction de la concentration d'auxine. La courbe traduisant l'évolution de l'élongation en fonction de la concentration en auxine présente une allure en cloche pour chaque organe ; on constate qu'il existe une valeur de la concentration pour laquelle l'élongation est maximale. En comparant la réponse des organes, on constate que pour une concentration donnée la réponse est différente voire opposée, selon les organes.
2. Pour les racines, il existe une stimulation de la croissance uniquement pour de faibles valeurs de concentration en auxine avec un maximum pour 10^{-10} g.mL⁻¹. Pour les bourgeons, la stimulation de l'élongation est maximale pour une concentration de 10^{-8} g.mL⁻¹. Les tiges ont des cellules présentant une élongation maximale pour une concentration de 10^{-5} g.mL⁻¹.