

CHAPITRE VI : LES PRINCIPALES ETAPES DU CYCLE DE DEVELOPPEMENT

VI – A – PHYSIOLOGIE DE LA GERMINATION :

La multiplication végétative et la multiplication sexuée :

La germination que nous allons approfondir dans ce chapitre est associée à un des moyens mis en jeu par les végétaux pour assurer leur propagation : la multiplication sexuée qui comprend séquentiellement la formation de fleurs, de gamètes, la fécondation, la formation de graines et la germination.

Parallèlement les végétaux peuvent se reproduire par l'intervention de la multiplication végétative, c'est-à-dire le développement d'un nouvel individu autonome à partir d'une portion d'appareil végétatif de la plante mère.

Cette deuxième voie de propagation des végétaux se rencontre chez différentes formes végétales dont les plus évoluées (monocotylédones par exemple) et est beaucoup plus développée que chez les animaux où elle intervient seulement chez des espèces inférieures (vers, spongiaires...).

Chez les végétaux la multiplication végétative est soit naturelle soit se fait par l'intervention humaine. Cette multiplication végétative a une grande importance en horticulture et agriculture.

La multiplication végétative naturelle :

On peut distinguer la fragmentation pure et simple de l'intervention de mécanismes spécialisés.

- Fragmentation :

Chez les végétaux qui ont une ramification abondante de leurs axes aériens ou souterrains au niveau du sol, on peut constater une différenciation de ces axes (enracinement des parties aériennes par exemple) suivie d'une séparation ultérieure.

De nombreuses graminées (chiendent) forment des racines à partir des axes aériens.

Iris, Sceau de Salomon, Bambou produisent des tiges feuillées à partir d'organes souterrains ex : rhizomes

- Intervention d'organes spécialisés :

Stolons : (Fraises – Ronces) tiges grêles horizontales susceptibles d'enracinement.

Drageons : Peuplier, racines horizontales susceptibles de bourgeonner.

Bulbilles : Bourgeons charnus en vie ralentie capables de repasser rapidement en vie active (lieu de formation variable), à l'aisselle des feuilles : *Ranunculus ficaria*, sur le limbe foliaire : *Bryophyllum* et de donner un individu autonome.

La multiplication végétative artificielle :

La multiplication végétative artificielle est pratiquée par l'homme en mettant en jeu diverses techniques pour répondre aux motivations suivantes :

- Multiplication d'espèces dont la reproduction sexuée est impossible.
- Espèces qui ne fructifient pas en dehors de leur climat d'origine (espèces exotiques en climat tempéré).
- Espèces dioïques ou 1 seul sexe a été implanté (élodée).
- Espèces dont on a sélectionnée des variétés sans graines ou dont la constitution génétique interdit la multiplication sexuelle : bananier.
- Accélération de la production (exemple de la pomme de terre : graines – 4 ans, tubercule – 1 an). La multiplication végétative accélère le cycle de développement par rapport au semis (palmier dattier).
- Maintien de la constitution génétique et obtention d'un clone dans le cas de plante à propriétés intéressantes.

Les techniques utilisées sont classiques le bouturage (Peuplier, Vigne, Hortensia), le marcottage, la greffe.

Des régulateurs de croissance sont utilisés pour faciliter la rhizogénèse dans le cas du bouturage, ce sont des composés auxiniques aux noms évocateurs : exubérone, rootone.

VI-A1- Introduction – Problème de terminologie concernant la germination :

Plusieurs aspects de la germination se révèlent particulièrement intéressants. Pour la plante il s'agit d'une étape très importante du cycle de développement, c'est le départ d'une nouvelle vie, la perpétuation de l'espèce.

Pour le chercheur il s'agit d'une transition vie ralentie vers vie active facile à étudier sur le plan métabolique et biochimique.

Pour l'économie, les graines sont à la fois un élément de compétition économique (industrie des semences) et ont une grande importance dans l'alimentation de l'homme et des animaux. Le contrôle de la germination est un élément essentiel de l'obtention des plantes cultivées en Agriculture.

Quelques problèmes de termes : la graine est un élément caractéristique des spermaphytes (plantes à graines : angiospermes, gymnospermes) qui assure la propagation des espèces.

Le terme graine a une signification botanique bien précise. Il s'agit de l'organe résultant de la double fécondation de l'ovule, contenant l'embryon, un tissu de réserve et des téguments.

La propagation des espèces n'est cependant pas assurée par des graines uniquement, on parle plus généralement de semences : il s'agit de l'organe ou de la partie de l'organe que l'on sème : graine le plus souvent mais aussi fruit (le caryopse est un fruit), groupe de graines ou de fruits (betterave). Par extension, le terme de semences concerne les tubercules (de pomme de terre) ou les bulbes.

Germination : Processus physiologique qui permet à l'embryon contenu dans la graine de donner une jeune plantule.

- Conception courante : la germination recouvre la séquence des événements allant de la graine au repos jusqu'à l'obtention d'une plantule autotrophe (viable).
- Conception des physiologistes : la germination commence avec l'imbibition de la graine et finit avec la percée des téguments par la radicule ou par l'hypocotyle s'il sort le premier, les étapes ultérieures étant des étapes de croissance.

D'une manière générale la séquence d'événements intervenant est la suivante :

1. imbibition des éléments vivants déshydratés et gonflement de la graine.
2. démarrage de la digestion des réserves.
3. grandissement des cellules de la radicule déjà formée dans l'embryon puis prolifération des cellules du méristème racinaire.
4. éclatement des téguments et sortie de la radicule.
5. développement de la partie aérienne et libération des téguments

VI-A2- Conditions de formation et viabilité des graines :

La double fécondation caractéristique des Angiospermes (voir par ailleurs rappel sur l'anatomie et la cytologie des tissus concernés) conduit à la formation de la graine. L'œuf principal donnant l'embryon avec des ébauches de gemmule et de radicule, l'œuf accessoire (initialement triploïde et syncytial mais redevenant rapidement diploïde) aboutissant à la formation de l'albumen ou tissu de réserve. Les téguments de l'ovule donnent pour leur part les téguments de la graine alors que la paroi de l'ovaire donne la chair du fruit.

On distingue généralement :

- Les graines à albumen (céréales)
- Les graines à cotylédon (légumineuses)
pour lesquelles les cotylédons ont digéré l'albumen
- Les graines à périspermes peu nombreuses (caféier) dans lesquelles le nucelle tissu entourant l'ovule persiste.

La maturation des semences se produit généralement sur la plante mère associée à une déshydratation très poussée (les graines ne renferment que 10 % d'eau) ce qui entraîne leur entrée en vie ralentie.

Les graines sont maintenues dans les fruits au niveau de la plante mère ou rapidement dispersées par déhiscence des siliques par exemple. Un niveau important de l'amélioration des plantes cultivées a porté sur le blocage de cette dispersion spontanée afin de préserver la récolte sur pied.

Les graines sont très variables dans leurs dimensions, une des plus volumineuses est celle d'une variété de Palmier (*Lodoicea maldivica*) qui se forme pendant environ 7 ans et pèse environ 10 kg.

D'autres graines sont de véritables poussières (Orchidées) ou sont de très petite taille sans relation avec la taille finale de l'individu (Carotte, tabac).

En résumé, une graine est toujours fondamentalement constituée d'un embryon élément essentiel, d'un tissu de réserve à rôle nourricier et d'enveloppes (téguments ou autre : péricarpe).

Le problème des réserves sera développé ultérieurement mais on peut dire que l'on connaît très mal la façon dont les éléments nutritifs sont transportés des organes assimilateurs : feuilles vers les organes de réserves, comme les graines, ceci rejoint le problème dont je vous ai déjà parlé de la distribution des assimilats.

Il est évident qu'il est intéressant de mieux connaître ces phénomènes pour mieux les orienter. Ce qui est assez remarquable c'est que l'information génétique pour certaines protéines ne va pas s'exprimer que dans les tissus de la graine ou vont s'accumuler un nombre très limité de protéines dont la synthèse est très active pendant un temps très court (exemple globuline) .

La déshydratation et la nature des téguments souvent durs, sclérifiés, résistants et imperméables peuvent conférer aux graines une résistance tout à fait remarquable aux conditions défavorables : froid – chaud (des semences sèches peuvent survivre après avoir été plongées dans azote liquide vers -180 °C).

La viabilité des semences varie selon les espèces. Elle dépasse souvent 15 ans et peut atteindre une centaine d'années (graines viables retrouvées dans les herbiers).

Exemples de viabilité :

- *Mimosa glomerata* 221 ans
- *Lupinus articus* 10 000 ans à l'état gelé dans le Yukon.

A l'opposé certaines graines ont une viabilité limitée comme le Peuplier ou *Acer saccharinum* et meurent en quelques semaines à la T° ambiante (les basses T°, l'atmosphère sèche prolongent la survie).

La peroxydation et l'oxydation des acides gras insaturés des lipides provoquent des radicaux libres hautement réactifs, des hydroperoxydes, et des produits secondaires qui accélèrent le vieillissement via des dégâts causés aux membranes, aux enzymes et à la chromatine.

VI-A3- Aspects biochimiques de la germination

- Caractéristiques biochimiques des graines, Nature biochimique des réserves :

Ces réserves ont une grande importance car elles assurent l'alimentation du jeune embryon en cours de germination ce qui lui permet d'atteindre l'autotrophie. Même dans de petites graines comme celles de Laitue (*Lactuca sativa*) pesant seulement quelques **mg** les réserves peuvent autoriser la croissance de l'embryon pendant plusieurs jours. Chez des graines comme la fève pesant jusqu'à 1 g les réserves sont suffisantes pour plusieurs semaines.

Ces réserves concentrées à un niveau jamais atteint dans les autres parties de la plante sont également importantes pour la nutrition de l'homme et des animaux. Les céréales sont une des bases de l'alimentation humaine. D'autres graines : Tournesol, Colza, Soja, Sorgho, Féverole, Pois, Haricot ont un rôle économique important. On peut rappeler l'impact provoqué il y a une vingtaine d'années par l'arrêt des exportations de Soja par les USA (alimentation des animaux). Parmi les graines celles contenant une forte proportion de protéines sont particulièrement recherchées et actuellement on cherche à réduire notre dépendance par

rapport à l'importation de semences protéagineuses par le développement en France d'espèces comme le pois protéagineux, la fèverole dont les graines sont riches en protéines.

Les protéines :

On définit 4 groupes de protéines basée sur des différences de solubilité ce qui représente une définition opérationnelle.

- Albumine : hydrosolubles
- Globulines : solubles dans des solutions salines
- Glutélines : solubles dans des acides ou bases faibles
- Prolamines : solubles dans alcool

Les céréales contiennent des prolamines : zéine (maïs), hordéine (orge)
des glutélines : gluténines du blé qui interviennent en donnant une structure au pain.

Les légumineuses contiennent des globulines : légumine, viciline.

Ces protéines sont stockées dans ce qu'on appelle des corps protéiques, (appellation ancienne grains d'aleurones) généralement répartis dans tout l'organe de réserves, ou concentrés à la périphérie de la graine chez les céréales par exemple (couche de cellules à aleurone).

Ce sont des organelles cellulaires bordés par une membrane qui proviendraient de la transformation de vacuoles avec déshydratation.

Ces corps protéiques ont un diamètre de 0,1 à 25 μ . Ils ont une structure variable avec ou sans inclusions (globoïde et cristalloïde)

La composition moyenne des corps protéiques est la suivante :

- Protéines : 70-80 %
- Phytine : 10 %
- Enzymes : Protéase, Phosphatases, glycosidases, ribonucléases.

La principale forme de réserve de phosphate dans les grains de céréales et les graines oléagineuses est constituée par l'acide phytique (myo-inositol hexa phosphate). Le phosphate de l'acide phytique peut constituer jusqu'à 90 % du phosphate total de la graine, dans le cas du maïs notamment. L'acide phytique forme de plus un sel complexe de K, Mg, Ca, Zn, et Fe appelé phytine et qui représente une réserve importante de minéraux dans la graine. Pour permettre l'utilisation du phosphate et des cations minéraux contenus dans la phytine, celle-ci doit être hydrolysée par des phosphatases spécifiques appelées phytases. L'activité phytase est généralement très faible dans les graines en cours de maturation ou dans les graines sèches. Cette activité augmente considérablement en début de germination.

En alimentation animale, la phytine contenue dans les graines utilisées pour la nutrition des animaux monogastriques est considérée comme l'un des principaux facteurs limitants de la valeur nutritive des graines. En effet, la phytine des graines ne contenant pas de phytase à l'état sec (ce qui est le cas du maïs) n'est pas digérée dans le tube digestif de ces animaux et elle est rejetée intacte dans les excréments, causant de graves problèmes d'eutrophisation des eaux dans les régions d'élevage intensif. En l'absence d'hydrolyse de la phytine, les minéraux fortement chélatés sont de plus inutilisables par l'animal, d'où la nécessité paradoxale d'ajouter du phosphate inorganique et des cations minéraux aux aliments à base de graines dépourvues de phytase, bien que ces graines possèdent déjà des teneurs élevées en ces éléments.

La présence dans les grains secs de maïs d'une phytase endogène (comme cela est le cas pour le blé dont le son possède une activité phytase élevée), serait particulièrement intéressante. De nombreux travaux ont envisagé le transfert par génie génétique des gènes de phytase fongique ou végétale associés à des promoteurs graines spécifiques et plus particulièrement spécifiques de compartiments de la graine qui ne contiennent pas de phytine (cas de l'albumen chez le maïs). Une phytase « latente » serait alors mise au contact de la phytine au cours des phases de mastication et de prédigestion (par décompartimentation) et devrait permettre d'améliorer la qualité nutritive des grains et de diminuer les pollutions liées à l'excrétion de la phytine non digérée par les animaux.

Les glucides :

L'amidon constitue la forme principale des réserves glucidiques, notamment chez les Graminées dont il forme presque tout l'albumen. Il représente le composé glucidique le plus important de notre régime alimentaire.

Les hémicelluloses constituent les albumens cornés ou indurés type datte (polymères de pentoses et hexoses).

Les sucres solubles sont en petites quantités dans la graine au repos (saccharose chez l'Amande ou le Ricin).

Les lipides :

Si la notion de réserve des graines est souvent associée aux glucides en raison de leur rôle dans l'alimentation humaine, ce sont les lipides qui constituent la forme de réserve la plus répandue, dans 9/10 des plantes. La plus grande partie de ces réserves est constitué d'ester, de glycérol et d'acides oléique et palmitique, présents en gouttelettes de différentes tailles appelées oléosomes.

Phénomènes biochimiques de la germination :

- Le premier phénomène réside dans une inhibition de la graine c'est-à-dire une phase d'hydratation du protoplasme qui amène la teneur en eau à environ 50 à 60 % du poids frais.

Cette phase d'hydratation permet la reprise des activités métaboliques qui se manifeste très rapidement dès le début de l'inhibition. La synthèse de nucléotides est détectable 15 minutes après le début de l'imbibition chez la graine de laitue.

Cette reprise d'activités métaboliques est liée à l'augmentation du niveau d'activité de certaines enzymes.

- A) Les enzymes d'hydrolyse des réserves** qui vont donner les métabolites nécessaires à la synthèse des constituants des nouvelles cellules ou utilisés comme substrats respiratoires.

Nous avons déjà parlé de ces phénomènes à propos de l'action des gibberellines sur la germination de l'Orge. Il est à noter que chaque catégorie de graines possède des enzymes en relation avec son contenu en réserve (voir tableau).

- Réserves amylacées : amylase, maltase, phosphorylase

amidon + P1 → glucose 1 phosphate

– Réserves lipidiques :

Les triglycérides sont d'abord hydrolysés par des lipases → qui donnent du glycérol et des acides gras. Les acides gras sont ensuite oxydés en acétyl CoA puis transformés en glucides par le cycle glyoxylique ou intégrés dans le cycle de KREBS.

– Réserves protéiques

Protéases → peptides, ac. aminés utilisés dans la synthèse protéique ou intégrés dans le cycle de KREBS après transamination.

B) Les enzymes du cycle respiratoire qui vont fournir de l'ATP à partir de substrats libérés par les enzymes d'hydrolyse. L'intensité respiratoire s'accroît très fortement au cours des premiers stades de la germination et s'accompagne parfois d'un dégagement de chaleur.

– Mode de formation de ces enzymes :

Soit ces enzymes sont déjà présentes dans la graine et l'imbibition et la réhydratation des tissus permet leur activité (cas d'enzymes de la respiration).

Soit encore on peut assister à une activation d'enzymes préexistantes sous une forme inactive (action de protéases par exemple). Cependant dans le cas le plus fréquent les enzymes sont synthétisées « de novo » dès le début de la germination.

Dans cette synthèse d'enzymes deux mécanismes ont été mis en évidence qui peuvent d'ailleurs intervenir séquentiellement.

- Stimulation de la transcription avec synthèse de nouveaux mRNA (cf amylase chez l'Orge).
- Stimulation de la traduction par une transition monosomes → polysomes (l'activité de traduction est beaucoup plus importante quand plusieurs ribosomes se déplacent sur une même molécule de RNA formant plusieurs copies du polypeptide dans un même temps).

Dans ce second cas il faut considérer que des ARN préexistants sont dans les graines pour permettre la reprise rapide de la synthèse protéique (on a utilisé le terme d'informosomes pour les caractériser)

Contrôle hormonal de la transcription :

Les interactions hormonales entre embryons et tissus de réserves que nous avons examinées dans l'action des gibberellines sur la germination du grain d'orge sont certainement très répandues. Par exemple chez le Pois l'ablation de l'embryon empêche la synthèse de protéases au niveau des cotylédons.

VI-A4- Aspects Physiologiques de la germination :

- Conditions de la germination :

La germination de la graine dépend :

- Des conditions externes liées aux facteurs de l'environnement
 - Des conditions internes liées à l'état physiologique et aux caractéristiques de la graine.
- Conditions externes :
 - Eau : nécessaire à l'hydratation de la graine et à la reprise des activités métaboliques (trop d'eau empêche cependant la germination : asphyxie).
 - O₂ : nécessaire à la respiration.
 - Température : convenable pour les activités métaboliques.
 - Lumière : 3 catégories :
 - germination induite par la lumière 70 %
 - germination inhibée par la lumière
 - germination indifférente

Ces dernières exigences sont plus théoriques que réelles car elles se manifestent pour des semences fraîchement récoltées et à des t° élevées alors que la germination dans les régions tempérées se produit dans un contexte de températures fraîches.

- Conditions internes :

Lorsque des graines arrivées à maturité sont placées dans des conditions optimales de température, d'humidité et d'oxygénation pour leur croissance et qu'elles ne germent pas, plusieurs types de causes sont à envisager : la dormance de l'embryon ou les inhibitions de germination.

On peut d'ailleurs souligner que les caractéristiques de germination des espèces cultivées résultent d'une sélection très poussée qui a contribué à éliminer un grand nombre de mécanismes de contrôles naturels et qui conduit à une germination rapide et uniforme nécessaire dans le cas des plantes cultivées.

- Inhibition de germination (tout phénomène qui s'oppose à la germination d'un embryon non dormant) :
 - a. Inhibition tégumentaire : les téguments assurent normalement la protection des graines mais dans de nombreux cas ils peuvent empêcher la germination en jouant un rôle de :
 - Barrière physique = résistance mécanique, imperméabilité à l'eau
 - Barrière chimique = piégeage de l'oxygène par des composés phénoliques, présence d'inhibiteurs de germination dans les téguments.

Certaines graines ne germent qu'après de très fortes pluies et l'on pense que c'est un lessivage d'inhibiteurs de germination qui autorise le phénomène au-delà d'une simple réhydratation.

Dans les différents cas évoqués on peut démontrer effectivement le rôle des téguments en réalisant leur ablation qui permet la germination.

Dans les conditions naturelles le gel de l'hiver (craquèlement, putréfaction partielle), les pluies peuvent altérer l'intégrité des téguments. Cette inhibition par les téguments joue un rôle adaptatif car dans les conditions naturelles elle demande une période

correspondant à l'hiver pour être levée et diffère ainsi d'une germination précoce pouvant se produire dans de mauvaises conditions.

Au laboratoire ou lors de la réalisation de semis par des horticulteurs ou pépiniéristes différents traitements sont utilisés pour fragiliser ou altérer les téguments :

- Abrasions : papier de verre
- Incisions : scarification
- Traitements chimiques : H_2O_2 , solvants, SO_4H_2 dilué.

b. La dormance de l'embryon :

Par définition on dit que la dormance est d'origine embryonnaire quand la graine étant débarrassée de ses téguments et placée dans des conditions convenables ne germe pas. L'embryon peut être dormant au moment de la récolte de la semence on parle alors de dormance I.

Dans d'autre cas l'embryon des semences fraîchement récoltées est parfaitement capable de germer mais il perd cette aptitude sous l'influence de différents facteurs externes (T° , privation d' O_2), on parle de dormance II.

Différents traitements peuvent lever la dormance au plan expérimental :

- Traitement par le froid : le traitement généralement utilisé, la stratification, consiste à placer les graines dans du sable en couches superposées à basses températures. Dans les conditions naturelles c'est le froid de l'hiver qui réalise la levée de dormance
- Traitement par la lumière : avec le froid, la lumière est le facteur de l'environnement actif, avec une portée cependant moins importante que le froid (voir remarque précédente).

• Contrôle hormonal de la levée de dormance des semences :

En particulier dans les levées de dormance par le froid il semble que l'on soit en présence d'un équilibre entre ABA et gibberelline analogue à celui décrit pour la dormance des bourgeons. L'acide abscissique semble être l'inhibiteur fondamental, il est présent dans de nombreuses graines et il présente un puissant effet inhibiteur sur la germination quand il est apporté de façon exogène. Par ailleurs, il existe des corrélations entre degré de dormance d'espèces voisines dans un même genre et la teneur en acide abscissique.

Le froid pourrait intervenir en diminuant le taux d'ABA des graines. De plus, des stimulateurs comme l'acide gibberellique semblent impliqués dans la germination. Ce point est confirmé par l'inaptitude de nombreux embryons dormants de céréales à synthétiser des gibberellines, les potentialités de synthèse reprenant avec la levée de dormance. D'autre part, l'acide gibberellique exogène favorise la germination des graines dormantes chez le Noisetier, et le froid a un effet favorable chez ce même végétal dans la production d'acide gibberellique.

On retrouve donc le même type de mécanisme que celui déjà mentionné pour la dormance des bourgeons un équilibre entre inhibiteurs et stimulateurs qui serait sous la dépendance des conditions de l'environnement.

Enfin, le rôle de l'acide gibberellique est clairement démontré par le comportement de mutants déficitaires en GA qui ne germent pas sans apport exogène de GA.

Au-delà de variations dans l'équilibre entre hormones stimulatrices et inhibitrices pour le contrôle de la dormance, on a noté **des changements de sensibilité aux hormones** chez, par exemple, l'embryon de Tournesol.

Il s'agit ici de variations se produisant au cours du développement (à distinguer des mutants de sensibilité qui induisent des variations irréversibles).

Ainsi la sensibilité à GA décroîtrait lors de l'entrée en dormance et augmenterait dans les conditions favorisant la levée de dormance (ce qui entraîne des réponses variables pour une même concentration en GA).

Parallèlement des mutants de synthèse de l'ABA n'entrent pas en dormance (mutants vivipares de maïs germent sur le pied mère, mutants de tomates rin avec des graines germant dans le fruit...). Un autre argument en faveur du rôle de l'ABA est la suppression de l'entrée en dormance par la Fluridone inhibiteur de synthèse de l'ABA.

Un mutant vivipare de maïs Vp1 ou (AB1 3) correspond à la perte d'un gène cloné et étudié en détail. Ce gène code une protéine présentant des caractéristiques de facteurs de transcription extrémité acide aminé terminale acide et trois domaines basiques B1, B2, B3.

Des études biochimiques et moléculaires ont montré que la protéine VP1 a 2 fonctions séparées. Elle active la transcription du promoteur EM (embryo maturation specific protein), elle réprime la transcription du promoteur d' α -amylase dans les couches d'aleurones. Cette double action permet le contrôle de deux processus qui doivent s'exclure :

1. maturation
2. germination

Des homologues de VP 1 ont été clonés chez différentes espèces avec un haut degré d'homologie.

D'une façon générale : Développement de la graine et germination sont 2 processus opposés – 2 stades physiologiques qui présentent des évolutions inverses et sont séparées par une période de vie ralentie pendant laquelle la graine est fortement déshydratée.

Développement de la graine

- Mise en place des réserves
- Déshydratation
- Acquisition de la tolérance à la dessiccation

Germination

- Réhydratation
- Utilisation des réserves

L'ABA est un signal de la mise en place des réserves protéiques des graines : hélianthine, cruciférine et de polypeptides de protection contre la dessiccation (dehydrines).

L'ABA intervient donc à plusieurs niveaux : il joue un rôle stimulateur dans les étapes de formation et de déshydratation de la graine et inhibe de façon générale, la germination précoce qui est ensuite empêchée par la dessiccation. Son taux peut ensuite décroître pendant la période de conservation. Ainsi l'ABA n'est pas à son maximum dans les graines dormantes où il a au préalable fixé la dormance.

Des équilibres multiples entre teneurs en hormones, variations de sensibilité aux hormones, taux de facteurs régulateurs peuvent expliquer les différents comportements observés au niveau de la dormance.

VI-A5-L'industrie des semences en France :

Les travaux de recherche des sélectionneurs conduisent constamment à de nouvelles variétés qui procurent à l'agriculteur un produit de haute qualité en fonction de leurs objectifs et de leur environnement.

Au-delà de la création variétale l'industrie des semences s'intéresse au contrôle, au tri, au traitement et au conditionnement des semences.

La France est le premier producteur Européen de semences, le 2^{ème} producteur mondial derrière les USA et le 3^{ème} exportateur mondial.

Quelques chiffres	- Production des semences en tonnes	1 300 000
au niveau national	- Chiffres d'affaires	1,7 milliard d'€
	- Exportations	500 millions d'€

La répartition des espèces dans le chiffre d'affaires est la suivante :

Maïs et sorgho	35 %	Fourragères, gazon et protéagineux	9%
Céréales à paille	15 %	Oléagineux et fibres	8 %
Potagères et florales	18 %	Betteraves	8 %
		Pommes de terre	7 %

On assiste d'une manière générale à un développement de l'utilisation des semences certifiées par opposition « aux semences de ferme ».

L'industrie des semences où la compétition est très vive entre firmes concurrentes en raison d'un marché de taille limitée (surfaces cultivées constantes) voit des évolutions fréquentes dans le périmètre des sociétés (rachats, absorption).

Biogemma en France, Syngenta à l'international sont des exemples de sociétés semencières.

VI-A6- La graine organe cible pour les transformations génétiques :

L'expression de gènes a été souvent ciblée vers la graine dans des expériences de génie génétique dans le cadre de deux objectifs majeurs.

1. une meilleure valorisation du contenu de la graine.

Ex : phytase mais aussi glucanase pour améliorer la mobilisation des glucanes chez l'orge, lipase pour favoriser directement la production de diester (biocarburant) sans hydrolyse chimique des triglycérides.

2. une accumulation de molécules à intérêt pharmaceutique – molecular pharming peptides / proteins (exemple : lipase gastrique pour le traitement de la mucoviscidose produite dans le grain de maïs par la firme Meristem therapeutics).

VI-B- PHYSIOLOGIE DE LA FLORAISON

Après la germination et le développement végétatif la floraison représente une transition particulièrement complexe du cycle de développement. Les approches utilisées dans l'étude de la floraison ont exploité des méthodes de la physiologie puis plus récemment des outils moléculaires.

La fleur est l'organe le plus complexe de la plante avec des parties stériles – sépales (rôle de protection), pétales (rôle d'attraction) – et des parties fertiles – étamines (pollen), pistil (ensemble de carpelles contenant ovaires/ovules).

- Près de 70 % des angiospermes sont des hermaphrodites vrais portant les 2 sexes ♂ et ♀ sur un même individu (espèces monoïques). Environ 5 % ne portent qu'un seul sexe (espèces dioïques : chanvre, peuplier, kiwi, asperge, mercuriale...).
- La floraison comprend schématiquement 3 phases :
 1. l'initiation florale ou évocation florale qui correspond à l'étape de transition méristème végétatif → méristème floral avec formation de primordia d'organes floraux.
 2. la formation des ébauches florales (bourgeons floraux)
 3. l'anthèse ou épanouissement des fleurs qui peut intervenir un temps assez long après la phase 2.

La formation des fleurs correspond à une étape typique de différenciation associée à la mise en place de protéines et de métabolites spécifiques. Les plus apparents de ces métabolites sont les pigments floraux (flavanoïdes, caroténoïdes) qui donnent leur couleur aux fleurs. Toutes les cellules contiennent les gènes correspondants mais ceux-ci ne vont s'exprimer souvent massivement que lors de la formation des fleurs.

Pour terminer cette introduction rappelons que :

1. l'apparition des angiospermes ou plantes à fleurs a représenté un succès évolutif, les angiospermes colonisant tous les biotopes. Différents types d'innovations ont en effet émergés
 - formation d'un fruit entraînant une amplification des possibilités de dissémination des graines par les animaux
 - phénomènes d'autoincompatibilité entraînant un brassage génétique
 - l'accumulation des réserves plus efficace que chez les gymnospermes.
2. la floraison représente une transition importante pour la plante
 - c'est un préalable à la reproduction sexuée
 - c'est l'arrêt de la croissance et du développement végétatif chez les plantes monocarpiques (plantes à floraison unique).
3. la production florale est une activité économique importante d'un chiffre d'affaires de l'ordre d'un peu moins d'un milliard d'Euros en France, avec une forte focalisation sur un nombre limité d'espèces : roses 40 %, œillets 20 % et une localisation géographique sur le VAR et les Alpes Maritimes.

La production s'effectue en serres pour l'essentiel et il s'agit d'un secteur fortement déficitaire au plan de la balance commerciale avec une forte pénétration des produits Hollandais. La connaissance et le contrôle de la floraison sont importants pour ces activités ainsi qu'au niveau de l'arboriculture fruitière.

En conclusion rappelons que la finalité de la fleur c'est-à-dire la double fécondation des angiospermes (aggeion, receptacle – sperma-graines) plantes ayant des graines « cachées » est une spécificité des végétaux par rapport à tous les autres êtres vivants

l'œuf principal donnant l'embryon, l'œuf accessoire le tissu de réserve comme nous l'avons déjà vu.

VI-B1- Conditions de la floraison :

Les Botanistes ont été de tout temps intrigués par le fait que certaines espèces (Muguet de mai, Chrysanthème, pour donner des exemples concrets) fleurissent à une période bien précise de l'année souvent de façon très reproductible. On connaît maintenant certaines conditions requises pour la floraison, se sont des conditions internes : maturité de floraison, et des conditions externes : action de la lumière – photopériodisme, de la température – vernalisation.

A) Conditions internes :

1. Maturité de floraison :

Pour qu'une plante puisse fleurir il faut qu'elle ait atteint un certain développement végétatif. On appelle ce stade maturité de floraison. L'acquisition de cette maturité de floraison est de durée très variable selon les espèces. Avant ce stade la plante est dans un état dit juvénile et ne pourra fleurir quels que soient les traitements.

A titre d'exemple cette maturité de floraison est atteinte à des stades de développement différents :

Seigle : 7 feuilles

Tomates : 13 entre-nœuds

Chez les arbres ce temps est beaucoup plus long : Poiriers 5 -7 ans, Chêne plusieurs dizaines d'années.

La notion de maturité de floraison repose sur des explications empiriques. La plus vraisemblable est de nature trophique il ne serait pas bon pour une plante de fleurir avant qu'elle ait suffisamment développé son système végétatif (feuilles, racines) afin de permettre l'alimentation des organes le plus souvent non chlorophylliens – fleurs, fruits, graines – qui vont résulter de la floraison.

B) Conditions externes :

Exigences thermiques : la VERNALISATION :

Quand nous parlons ici d'exigences thermiques, il ne s'agit pas des exigences minimales nécessaires aux activités métaboliques et à la croissance mais à des effets indirects de la T° selon la terminologie déjà utilisée des « effets signaux ».

Définition :

C'est une transformation interne opérée par le froid qui confère à certaines plantes l'aptitude à fleurir (aucune modification morphologique).

Il faut tout de suite différencier ce phénomène de la levée de dormance par le froid ou le traitement thermique agit sur un phénomène de croissance.

Il faut aussi insister sur l'expression « aptitude à fleurir » car la vernalisation confère seulement une potentialité à fleurir qui s'exprimera plus tard si d'autres conditions sont remplies. A l'observation macroscopique ou microscopique rien ne distingue un bourgeon vernalisé d'un bourgeon non vernalisé.

VI-B2- La Vernalisation :

VI-B2- a- Mise en évidence :

1. L'exemple du Blé :

Le Blé présente deux types de variétés :

Le Blé d'hiver (plus précoce et d'un meilleur rendement) semé à l'automne passe l'hiver à l'état de jeune plantule fleurit fin du printemps, épiaison au début de l'été.

Le Blé de printemps : semé au printemps fleurit en été, épiaison en été. Cependant semé au printemps le Blé d'hiver ne fleurit pas.

Semé au printemps ou en automne le Blé d'hiver présente à peu près le même état de développement au printemps. Il semble donc que c'est la période d'hiver qui ait un effet sur sa floraison mais non sur le développement et l'acquisition d'une certaine maturité de floraison.

En U.R.S.S. et en particulier en Ukraine la culture du Blé de printemps est impossible (bonne saison trop courte) et celle du Blé d'hiver parfois aléatoire (parfois hiver trop rigoureux), aussi les agronomes soviétiques désiraient faire subir au Blé d'hiver un hiver artificiel pour pouvoir le mettre en terre au printemps. L'agronome LYSENKO montra que si dans les conditions naturelles le froid agit sur une plantule déjà formée le froid est également susceptible d'agir sur la graine non dormante et partiellement imbibée ; celle-ci semée au printemps germe et donne une plante dont la floraison est aussi rapide que si la mise en terre avait eu lieu en automne. L'action du froid a donc en quelque sorte transformé une variété d'hiver en une variété de printemps d'où le nom de vernalisation donné au phénomène (en latin vernalis = printemps).

La vernalisation appliquée aux semences imbibées maintenues à 2° C pendant 1 mois en chambre froide a donné des résultats irréguliers appliquée à grande échelle (jusqu'à 2 millions d'hectares de plantation) et n'a pu être généralisée selon l'optique initiale (on a plutôt cherché à améliorer par sélection les variétés de printemps).

2. Le phénomène peut également être analysé chez beaucoup de plantes bisannuelles comme le Jusquiame noire (*Hyoscyamus niger*), l'Oenothère bisannuelle, la Digitale pourpre. Ces espèces maintenues à des températures tièdes (supérieures ou égales à 16°C) demeurent indéfiniment à l'état de rosette sans jamais fleurir. On ne peut arriver à les faire fleurir que si les rosettes sont exposées pendant une assez longue durée de l'ordre de plusieurs semaines à des températures froides (1 à 5 ° C). Après quoi, en revenant à des températures tièdes et si d'autres exigences concernant en particulier la photopériode sont remplies, les plantes fleuriront. Cette exigence au froid explique leur caractère bisannuel.

Le terme de vernalisation qui désignait à l'origine le traitement qui confère l'aptitude à fleurir (froid naturel de l'hiver ou froid artificiel ou encore d'autres agents) recouvre maintenant également la transformation subie par le végétal devenu apte à fleurir et les phénomènes physiologiques qui s'y rapportent.

Le besoin de vernalisation est une caractéristique importante dans l'amélioration et la sélection des plantes et a conduit à l'identification de variétés d'hiver et de printemps exploitées selon les aires géographiques de culture de différentes espèces.

VI-B2- b- Classification des espèces :

Les besoins de vernalisation sont très variables selon les espèces mais il faut tout de suite dire qu'il s'agit là d'une exigence relativement peu répandue chez les plantes.

On peut classer les plantes en 3 groupes.

Les premières n'ont pas besoin de vernalisation elles sont appelées indifférentes. Ce sont les plantes annuelles qui semées au printemps fleurissent dans le courant de la même année sans avoir eu besoin de froid (céréales de printemps, tabac).

D'autres espèces sont dites préférentes, la vernalisation n'est pas indispensable mais elle hâte la floraison, c'est le cas de la variété de seigle d'hiver (« Petkus »). Vernalisée, la floraison se produit après production de sept feuilles, non vernalisé il faut attendre l'apparition de 25 feuilles pour que la plante puisse fleurir. Les plantes annuelles dites d'hiver se comportent de la même façon, le Blé d'hiver dont nous avons déjà parlé voit sa floraison accélérée par le traitement vernalisant mais si la belle saison était suffisamment longue il arriverait à fleurir sans vernalisation.

Les plantes à vernalisation obligatoire, c'est le cas de la plupart des plantes bisannuelles, celles que nous avons déjà citées mais aussi d'autres espèces telles que Betterave et Choux, Carotte et Céleri, de plantes vivaces ex : *Geum urbanum*, Olivier.

Comme la levée de dormance essentiellement contrôlée par le froid les phénomènes de floraison et donc de reproduction de certaines plantes sont donc limités aux climats dont les hivers sont assez froids. L'adaptation biologique paraît ici moins nette mais il semble que ces espèces doivent accumuler des réserves pendant la première année avant de pouvoir fleurir de manière satisfaisante la 2^{ème} année.

Exemples concernant les plantes vivaces dont simplement certains bourgeons sont vernalisés :

La Benoîte (*Geum urbanum*). Les bourgeons axillaires les plus jeunes de la rosette perçoivent l'induction par le froid hivernal tandis que les autres bourgeons poursuivent leur croissance végétative, assurant la pérennité de l'espèce.

Une scrofulaire (*Scrofularia alata*) fleurit sur la tige principale qui s'allonge après vernalisation et les bourgeons axillaires aux aisselles des feuilles les plus anciennes donneront des rosettes axillaires végétatives.

Un exemple particulièrement net de relation entre l'aire de répartition d'une espèce, et des exigences thermiques et en particulier un besoin de vernalisation est donné par l'olivier :

- L'olivier a besoin chaque année de certains abaissements thermiques durant l'hiver sinon sa floraison est nulle (moyenne thermique de janvier inférieure à 10 ° C).

Ce besoin de froid interdit ainsi l'extension de l'aire de l'olivier vers des régions aux hivers plus chauds que la région méditerranéenne c'est-à-dire la région tropicale, dans ces régions l'olivier peut se montrer vigoureux mais ne fleurit pas.

L'aire de l'olivier est donc limitée au nord par les froids excessifs et au sud par le besoin de froid hivernal qui n'empêche pas la végétation mais interdit la floraison.

Les espèces cultivées ont été sélectionnées pour éliminer ces barrières à la floraison.
Les espèces spontanées dont les aires de répartition à la surface du globe sont les plus larges sont celles qui sont indifférentes.

VI-B2- c- Caractéristiques du phénomène de vernalisation :

Notion de maturité de vernalisation :

Nous avons vu dans le cas du Blé que la vernalisation pouvait être réalisée sur la graine. Cependant, certaines plantes ne sont sensibles aux traitements vernalisants qu'à certains stades de leur développement. C'est le cas de la Jusquiame noire plante bisannuelle qui n'est vernalisable qu'à l'état de rosette.

L'action du froid ne peut donc être effective que sur des plantes ayant atteint un état particulier appelé maturité de vernalisation tout à fait distinct de la maturité de floraison.

Conditions de la vernalisation :

Les températures efficaces sont comprises entre 1 et 10 ° C et la période de froid nécessaire est variable selon les espèces.

L'action est parfois cumulative : chez le Seigle le froid peut être donné en plusieurs périodes séparées par des retours aux températures tièdes. C'est la quantité totale de jours de froid qui compte.

Ceci correspond à l'action des conditions naturelles - alternance périodes froides et périodes plus douces.

La vernalisation n'est pas un phénomène de tout ou rien : sur les plantes préférées comme le seigle on peut obtenir l'épiaison sur des plantes de 7 à 16 feuilles selon la durée de la période de froid.

Lieu de perception du stimulus :

Ce sont des cellules des méristèmes qui sont capables de percevoir le traitement par le froid.

L'état vernalisé peut être qualifié d'autocatalytique c'est-à-dire que tous les bourgeons dérivant de l'apex vernalisé sont vernalisés chez les plantes annuelles. La transformation opérée par le froid semble transmissible au cours des divisions cellulaires.

Dévernalisation :

L'état vernalisé peut être conservé pendant très longtemps : graine inhibée vernalisée puis maintenue au sec conserve un état vernalisé pendant plus d'un an.

Jusquiame : cette plante présente pour fleurir une double exigence : froid puis photopériode. On peut après le traitement vernalisant différer la floraison pendant 200 jours en conservant l'état de compétence. Cependant un trop long délai, des traitements par la chaleur > à 30 ° C, l'anaérobiose suppriment l'état vernalisé.

VI-B2- d- Mécanisme hypothétique de la vernalisation :

Une compréhension des mécanismes moléculaires de la vernalisation a résulté d'études de génétique moléculaire chez *Arabidopsis* en exploitant différents mutants. En résumé le traitement par le froid entraîne la répression du gène FLC qui code un inhibiteur de floraison. Cette expression réduite de FLC est maintenue pendant la suite du développement (après le traitement par le froid) par l'activité des gènes de VERNALISATION (gènes VRN). VRN1 code une DNA-binding protein et VRN2 code un homologue de l'un des gènes du groupe Polycomb qui maintient le « silencing » de certains gènes durant le développement animal.

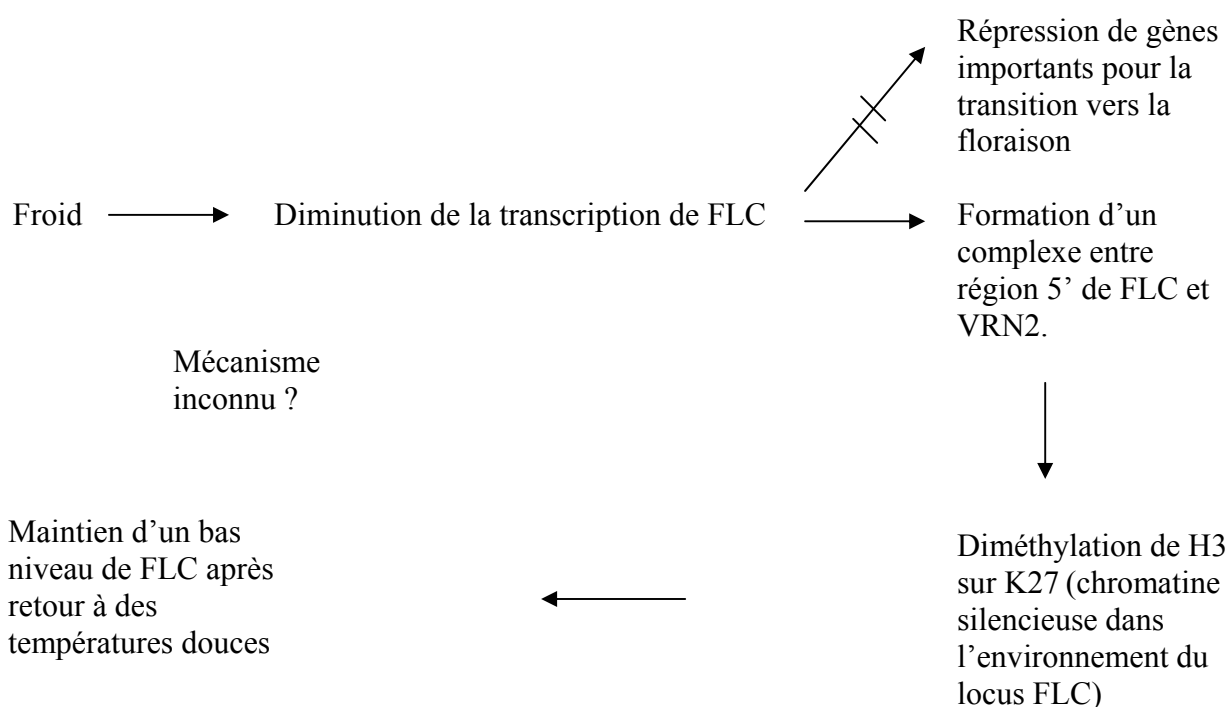
FLC est un régulateur transcriptionnel à boîte MAD qui fonctionne comme un répresseur de floraison en inactivant un ensemble de gènes requis pour la transition d'un méristème végétatif en méristème floral.

Chez les espèces qui n'ont pas d'exigences en vernalisation des gènes comme FCA interviennent dans la répression de FLC.

Un des problèmes qui se pose est de comprendre comment après le traitement par le froid se maintient la répression de FLC et on a suggéré dans ce contexte un mécanisme épigénétique. On a pu récemment montrer (Bastow et collaborateurs Nature 427, 164 (2004) des changements dans le degré de méthylation des histones (diméthylation des lysines 9 et 27 sur l'histone H3) ce qui correspond à une chromatine « silencieuse » chez la drosophile et l'homme. Le phénomène de diméthylation de H3 sur la lysine 27 disparaît chez le mutant VRN2. Ce gène ou son produit au voisinage du gène FLC serait donc impliqué dans la méthylation.

La mémoire épigénétique de l'hiver est ainsi « médiée » par un état des histones qui induit une chromatine silencieuse, ce type de mécanisme semble conservé chez les animaux et les plantes.

Modèle de synthèse



Méthodes utilisées :

- Précipitation de la chromatine par des anticorps spécifiques de différents états (modifications chimiques)
- Transformations génétiques avec la fusion FLC-GUS montrant une forte réduction d'expression du produit de fusion avec le traitement par le froid.

VI-B3- Le photopériodisme : Exigences photopériodiques :

A côté d'exigences thermiques qui correspondent au phénomène de vernalisation et qui concernent un nombre assez limité de plantes, un beaucoup plus grand nombre de végétaux présente pour fleurir des exigences photopériodiques.

Le photopériodisme désigne les réactions de certaines plantes (et de certains animaux) à une alternance définie de lumière et d'obscurité au cours d'un cycle de 24h. Chez les végétaux la mise à fleur constitue la réaction essentielle, mais d'autres réactions comme l'entrée en dormance, l'abscission sont sous contrôle photopériodique.

Chez les animaux, la maturation des gonades chez les oiseaux (induction par jours longs) l'initiation de la diapause chez les insectes, la migration des oiseaux (induction par jours courts) sont des phénomènes contrôlés par la photopériode.

Ces phénomènes physiologiques du développement ou du comportement chez les animaux ne sont possibles ou ne sont induits que pour des conditions d'éclairement dans lesquelles la durée relative du jour et de la nuit au cours d'un cycle de 24 h est bien définie.

A l'Equateur, à Bornéo, la durée du jour et de la nuit est identique toute l'année. Au fur et à mesure que l'on monte en latitude dans l'hémisphère Nord ou que l'on descend dans l'hémisphère Sud on assiste à des variations de plus en plus importantes des durées du jour selon les saisons. Les plantes qui ont évolué dans des conditions où l'environnement lumineux subissait des fluctuations liées aux changements de saison se sont adaptées à ces conditions pour mieux contrôler leur développement.

A titre de rappel à Toulouse :

- Le 23 janvier 11h de jour 13 h de nuit
- Le 24 juin 16 h de jour 8 h de nuit

Il faut noter :

- Que pour une même latitude la durée relative des jours et des nuits est un paramètre de l'environnement qui se reproduit de façon absolument reproductible d'année en année à la même date, c'est donc 1 repère des saisons parfait.
- Les exigences photopériodiques de nombreuses plantes sont extrêmement strictes ce qui explique le calendrier de floraison précis observé : chrysanthème - fin octobre, muguet – fin avril.

VI-B3- a- Mise en évidence de l'influence de la photopériode sur l'initiation florale :

Les travaux de Garner et Allard en 1920 sur la variété de tabac « *Maryland Mammoth* » montrent qu'à l'automne, alors que les autres variétés ont fleuri, celle-ci continue sa croissance végétative jusqu'à ce que le froid l'arrête. Si la plante est élevée en serre elle forme ses fleurs au début de l'hiver en jour court. Si on sème les graines tardivement au début de l'automne la floraison se fait comme précédemment mais sur des plantes plus petites. La longue période végétative observée dans la nature ne correspond donc pas à une maturité de floraison particulièrement difficile à atteindre.

Garner et Allard attribuèrent la mise à fleur à l'influence des jours courts ce qu'il vérifièrent par d'autres expériences. Si en été, on met les plantes à l'obscurité avant la tombée de la nuit de façon à les soumettre à une journée suffisamment courte : elles fleurissent.

Inversement la floraison peut être empêchée en hiver grâce à un éclairage d'appoint donné aux plantes à la fin de la journée. La floraison de la variété de tabac *Maryland Mammoth* dépend donc de la façon absolue d'un facteur saisonnier la durée relative du jour et de la nuit.

Des plants de *Soja biloxi* semés à 15 jours d'intervalle de Mai à Juillet fleurissaient tous à la même période en septembre, malgré des différences de développement végétatif importantes ce qui montre qu'il ne s'agit pas d'une maturité de floraison difficile à atteindre.

Depuis ces recherches sur le photopériodisme se sont multipliées et ont abouti à classer les plantes selon leurs exigences photopériodiques.

On appelle héméropériode la période de lumière, nyctipériode la période d'obscurité et photopériode la séquence héméropériode et nyctipériode au cours d'un cycle de 24h.

VI-B3- b- Classement des espèces suivant leurs exigences photopériodiques :

On peut classer les espèces en 4 grands groupes :

- a) Espèces aphotiques : ces sont les espèces peu nombreuses qui peuvent former leurs ébauches florales à l'obscurité c'est le cas de la Jacinthe. On remarque que toutes ont des réserves abondantes leur permettant une longue survie sans photosynthèse.
- b) Espèces indifférentes : la floraison s'effectue quelle que soit la photopériode à condition cependant qu'elle soit assez longue pour permettre une photosynthèse suffisante. Cette valeur minimale qui est liée non pas à des exigences photopériodiques mais à des exigences photosynthétiques constitue le minimum trophique. La valeur de ce minimum est en général de 5 à 6 heures de lumière solaire par 24 h.
- c) Les plantes de jours courts : ne peuvent fleurir que si l'héméropériode est inférieure à une certaine durée d'éclairement qui est caractéristique de chaque espèce. Cette durée correspond à la notion d'héméropériode critique HC. Ces espèces peuvent être absolues c'est-à-dire qu'elles ne fleurissent jamais en présence d'une photopériode défavorable ou seulement préfèrentes auquel cas une photopériode défavorable retarde seulement leur floraison qui est néanmoins possible.

Absolues : Kalanchoe Blossfeldiana HC : 12 h
Xanthium pensylvanicum HC : 15 h
Préférées : Soja biloxi

- d) Plantes de jours longs : ces plantes ne peuvent fleurir que pour une héméropériode supérieure à une héméropériode critique également caractéristique de chaque espèce. On distingue également des espèces absolues ou préférées.

Absolues : Hyoscyamus niger HC 10 h
Spinacea oleracea HC 13 h
Préférées : Avena sativa
Beta vulgaris
Vicia faba

On peut représenter la réaction de telles plantes par un graphique où l'on porte en abscisse l'héméropériode et en ordonnée le temps nécessaire pour obtenir la floraison de la plante avec une telle héméropériode.

Remarque :

1. le terme de jour court ou de jour long ne signifie pas que la période d'éclairement est courte ou longue en valeur absolue ou même par rapport à la période d'obscurité mais simplement que la floraison n'interviendra que pour une durée d'éclairement plus courte ou plus longue que l'héméropériode critique.
Par exemple le Xanthium plante de jour court ne fleurit que pour une photopériode inférieure à l'héméropériode critique 15 h. Il fleurira donc pour une durée d'éclairement de 14 h 30 plus importante que la durée d'obscurité 9h30 et également plus importante que la durée d'éclairement compatible avec la floraison de certaines plantes de jours longs Epinard HC de 11 à 13 h selon les variétés.
2. d'une façon générale, les plantes originaires des zones tempérées qui fleurissent à partir du milieu du printemps jusqu'à la fin de l'été sont des plantes de jours longs préférées ou absolues. Celles qui fleurissent plus tôt sont des plantes préalablement vernalisées soit des plantes ayant initié leurs ébauches florales l'année précédente et dont la dormance a été levée par le froid. Les plantes qui fleurissent tard à la fin de l'été ou au début de l'automne sont des plantes de jours courts.

VI-B3- c- Etudes physiologiques des mécanismes induisant la floraison en réponse à la photopériode

Précisons tout d'abord que les végétaux utilisent des signaux de l'environnement diversifiés pour réguler la transition vers l'état reproducteur via la floraison. Ces mécanismes visent vraisemblablement à synchroniser la floraison de individus pour faciliter la pollinisation croisée et les brassages génétiques et les facteurs de l'environnement efficaces sont ceux qui présentent une variabilité saisonnière importante : T°, lumière, mais aussi secondairement disponibilité en eau.

Ces facteurs peuvent se substituer les uns aux autres dans des cas particuliers. *Pharbilis* nil peut être induit à fleurir dans des conditions de photopériode défavorable par un changement de température ou de conditions nutritives.

Dans le cas plus spécifique du photopériodisme les mécanismes supposés convertir le stimulus lumineux initial en réponse physiologique appartiennent à 3 catégories :

1. le rôle de facteurs hormonaux
 2. la diversion des nutriments vers l'apex
 3. le contrôle multifactoriel
1. Au plan historique on peut rappeler le concept de florigène, élaboré par le russe ChailaKhyan sur la base de nombreuses expériences de greffe montrant la transmission du stimulus de floraison. La réalité chimique du florigène n'a pu être établie. La notion de florigène a été ensuite étendue à un ensemble d'hormones à action antagoniste dont l'équilibre serait contrôlé par la photopériode. Chez *Sinapis alba* par exemple les cytokinines peuvent déclencher la floraison en conditions non inductrices. La situation n'est cependant pas éclaircie.
 2. la diversion des nutriments (Sachs et Hackett 1983).
Il s'agit d'une théorie qui se rapproche de ce qui a été dit pour la dominance apicale. Les conditions d'induction (bonne photopériode) entraîneraient une meilleure alimentation de l'apex en nutriments déclenchant la transition vers l'état floral.
 3. le contrôle multifactoriel. Il s'agit d'une théorie intermédiaire dans laquelle interviendraient des hormones et des nutriments et qui a été bien illustrée par les travaux de Bernier sur *Sinapis alba*.

Exemples et approches expérimentales

Sinapis alba est un système modèle intéressant. Cette plante de jour long lorsqu'elle est âgée d'environ 2 mois peut être induite à fleurir par une exposition à un seul jour long.

La perception est effective au niveau des feuilles adultes. L'initiation de la transition méristème végétatif / méristème floral commence 2 jours après le traitement inducteur. L'analyse des exsudats au niveau des pétioles après exposition à un seul jour long démontre :

- une augmentation de la teneur en saccharose (résultant de la dégradation de l'amidon), ce saccharose est exporté vers le méristème apical où sa concentration augmente. Il faut noter que des expériences de transgénèse visant à augmenter ou réduire les teneurs en amidon ont des répercussions sur l'aptitude à la floraison.
- Des modifications dans les teneurs en cytokinines au niveau racinaire appréciées par l'analyse des exsudats racinaires (riboside de zéatine, riboside d'isopentenyl adénine). Les cytokinines voient leurs teneurs augmenter de façon rapide et transitoire en réponse au jour long.
Les résultats d'interruption de la circulation des sèves sont particulièrement intéressants.
L'élimination d'un anneau de tissu contenant le phloème empêche la floraison si elle est réalisée vers la 10^{ème} heure de jour long mais non à la 12^{ème} heure ou plus tard.
Ceci indique le transport rapide des feuilles vers les racines d'un signal (saccharose ?) qui conditionne la floraison.
Des essais d'interruption du flux racine/tige ont été réalisés par la conservation des plantes dans 100 % d'humidité. Ces conditions stoppent la transpiration et le mouvement de sève dans le xylème. Ce traitement quand il est appliqué après le JL abolit la réponse de floraison.

Les mouvements de sèves sont essentiels pour la floraison. Le contrôle de la transition vers la floraison est donc multifactoriel chez *Sinapis alba* et fait intervenir des échanges d'information à longue distance à l'échelle de la plante. L'induction photopériodique cause des modifications complexes concernant au minimum le saccharose et les hormones (cytokinines).

Toutes les parties de la plante participent à l'échange de signaux et sont rapidement informées du changement de photopériode auquel sont soumis les feuilles.

Les signaux ne sont sans doute pas universels et peuvent changer d'une plante à l'autre (Gibberellines pour d'autres plantes). Cependant le saccharose et les Cytokinines sont impliqués chez d'autres plantes (*xanthium*). Malheureusement nous n'avons ici que des arguments de type physiologiques basés sur des corrélations mais non des preuves définitives et aucune précision sur les mécanismes initiaux de l'action de la lumière.

VI-B3- d- Intervention du phytochrome et d'autres photorécepteurs dans le contrôle de la floraison – problème de la mesure du temps

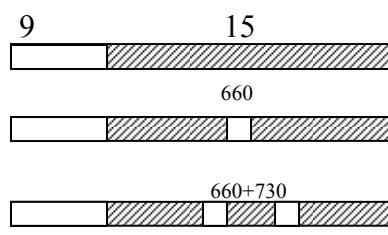
L'induction photopériodique de la floraison implique de la part de la plante.

1. la capacité de distinguer lumière et obscurité (photoperception)
2. la capacité de mesurer les durées de lumière ou d'obscurité
3. la capacité de transmettre l'information reçue sous une forme utilisable (le phytochrome est impliqué à des titres divers dans ces 3 types de phénomènes)

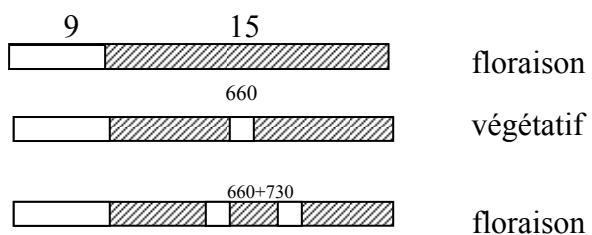
1. dans le cas de la photoperception le phytochrome est un des photorécepteurs.

Nous avons déjà mis en évidence dans le cours sur le phytochrome l'intervention de ce photorécepteur dans le contrôle de la floraison. La démonstration repose sur la nature des spectres d'action et le caractère de photoréversibilité des réponses.

Plantes jours longs HC :12h



Plantes jours courts HC :12h



La floraison fait partie des photoréponses mixtes car la floraison peut être induite ou inhibée par la forme active du phytochrome selon qu'il s'agit d'une plante de jours courts ou de jours longs et selon le moment où la lumière est apportée (interruption nuit).

D'autres photorécepteurs que le phytochrome peuvent être également impliqués soit indépendamment soit en combinaison avec le phytochrome.

Démonstration de l'intervention du cryptochrome dans le contrôle de la floraison (Korneef et al, Nature genetics 201 vol 29 p435) :

Les mécanismes semblent cependant plus complexes et impliquent plusieurs photorécepteurs dont le cryptochrome. Les écotypes d'*Arabidopsis thaliana* correspondent à des individus de la même espèce qui se développent dans des environnements et des sites géographiques très différenciés et qui présentent parfois de profondes différences entre eux sur les plans biochimique et physiologique. On peut parler en quelque sorte de différentes variétés de la même espèce.

Ainsi l'écotype CV1 localisé aux Iles du Cap Vert est peu sensible à la photopériode pour sa floraison à la différence des écotypes Columbia ou Landberg erecta (Ler) qui sont les variétés d'*Arabidopsis* utilisées pour les études de laboratoires (variétés préférées qui fleurissent plus précocement en jour long qu'en jour court).

Des études génétiques ont montré que chez CV1 un seul locus sur le chromosome 1 est responsable de cette sensibilité réduite à la lumière. Le gène correspondant a été caractérisé il s'agit d'un allèle du gène CRY2 codant pour le cryptochrome.

En fait le cryptochrome avait déjà été suggéré intervenir dans le contrôle de la floraison en jour long. L'allèle CV1 ne présente qu'une seule substitution dans la protéine CRY2 une méthionine en position 367 remplace la valine retrouvée chez les variétés Ler ou Columbia.

Cette mutation réduit la dégradation de la protéine CRY2 en réponse à la lumière bleue. Ainsi lors de la transition obscurité lumière il y a une perte progressive de CRY2 chez Ler mais pas chez CV1. La relation entre ce phénomène de dégradation et le contrôle de la floraison par la photopériode n'est pas claire mais on peut intuitivement suggérer qu'une plus grande quantité de CRY2 demande une quantité moindre de lumière pour un effet physiologique donné et donc une floraison pour des jours plus courts.

L'exemple décrit ici est intéressant car il représente une situation pour laquelle une mutation sur un seul nucléotide entraînant une modification d'un seul aminé d'une protéine entraîne une modification physiologique significative chez un variant naturel d'*Arabidopsis*.

2. Problème de la mesure du temps :

Les plantes sont capables d'apprécier de façon extrêmement précise la durée des périodes lumineuses et obscures. Des différences d'une vingtaine de minutes dans la durée du jour pourront empêcher la plante de fleurir.

Le *Xanthium* qui est une plante de jour court avec une HC de 15h40 ne fleurit pas pour une héméropériode de 16h.

La plante est donc capable d'apprécier avec une extrême justesse la durée du paramètre qui constitue l'information photopériodique. Une théorie rendant compte de cette aptitude à la mesure du temps repose sur le concept des rythmes endogènes (la chronobiologie).

Théorie du pendule faisant appel aux rythmes endogènes :

Cette théorie suppose que la mesure du temps est reliée au degré de coïncidence (superposition) entre conditions lumineuses externes et oscillations internes de sensibilité à la lumière.

- De nombreux phénomènes biologiques chez les plantes sont soumis à des fluctuations rythmiques. Les exemples les plus fréquents concernent des rythmes présentant une période de l'ordre de 24 heures – Rythmes circadiens : par exemple les mouvements de repliements nocturne des feuilles de Haricot : *Phaseolus multiflorus*.

Le rythme se manifeste spontanément en conditions naturelles ; il peut se maintenir pendant un certain temps en conditions constantes de lumière ou obscurité mais s'atténue et disparaît à

la longue. En conditions naturelles le rythme est réinitialisé toutes les 24 h par la transition jour nuit.

Dans le contexte de l'étude de ces rythmes circadiens Bünning suggéra l'existence d'une alternance chez les végétaux de phase photophile et de phase scotophile.

Dans la phase photophile la lumière a un effet positif dans la phase scotophile la lumière a un effet négatif ou pas d'effets.

Il proposa également que la réponse des plantes à la lumière dans le cadre du photopériodisme était reliée au moment d'application de la lumière par rapport à ces phases d'un rythme endogène.

Preuve expérimentale : Expériences de Hamner chez Soja biloxi (plante de jour court). Cette plante fleurit normalement lorsqu'elle est placée dans une alternance de 12h jour/ 12h nuit. Elle fleurit également mais moins bien pour une alternance de 8h jour 64h nuit pour des cycles anormaux de 72 h (7 cycles).

L'auteur interrompt la période de nuit de 64 h par des périodes de lumière de 4h situées à différents moments (il faut ici se rappeler qu'un éclair pendant la nyctipériode d'une plante de jour court peut empêcher la floraison).

Il constata que la suppression de la floraison n'intervient que si la lumière est apportée à certaines périodes. La lumière apportée pendant la période où la plante était normalement à l'obscurité – inhibe la floraison – phase scotophile.

La lumière apportée au contraire pendant la période normalement diurne (phase photophile) améliore la floraison.

Les résultats démontrent effectivement l'existence d'un rythme de sensibilité à la lumière dans le cas de la floraison, avec l'existence successive de phases photophiles et scotophiles. Lors des périodes où l'éclairement est sans action on pourrait penser à une insensibilité générale de la plante à la lumière, en fait il n'en est rien car il suffit de changer le critère de réponse physiologique, en mesurant par exemple l'élongation de la tige pour s'apercevoir que la lumière via le phytochrome est parfaitement efficace : il y a donc perception du stimulus lumineux et naissance d'un signal lequel n'est pas lu pour la réponse florale à certaines heures du cycle photopériodique.

Dans la rythmicité et la succession des phases photophiles et scotophiles le rythme est réajusté généralement par le signal « aube ». Si l'on prend le cas de figure d'une alternance de 12h / 12h (photophile / scotophile) il est alors simple d'expliquer le comportement d'une plante de jour court qui aurait une héméropériode critique de 12 heures. Au-delà de cette valeur la lumière rentrant dans la phase scotophile la plante ne fleurit plus. La situation est cependant plus complexe si l'on considère que les plantes ont des héméropériodes critiques variables et qu'il existe également des plantes de jour long !

Le 3^{ème} aspect est celui de la conversion de l'action de la lumière en information utilisable pour la floraison. Nous aborderons ces problèmes avec les aspects moléculaires de la floraison.

VI-B3- e- Photopériodisme et répartitions des espèces :

Les espèces les plus largement distribuées à la surface du globe sont les espèces indifférentes. On peut cependant observer comme nous l'avons vu pour *Arabidopsis thaliana* l'existence de différentes variétés pour une même espèce avec différentes exigences de photopériode.

- *Bouteloua curtipendula* : est une espèce implantée du Canada au Mexique

12 variétés de cette espèce ont été récoltées qui présentent différentes réponses photopériodiques. Les plantes des zones les plus au sud ne pouvaient pas fleurir pour des héméroperiodes plus longues que 14 heures tandis que les races du nord fleurissaient normalement sous ces photopériodes.

Espèces cultivées :

Les variétés primitives d'espèces comme le soja, le sorgho, d'origine tropicale sont des plantes de jours courts. Quand ces plantes sont transférées directement à des latitudes plus élevées le besoin en jours courts est obtenu trop tard dans la saison pour que ces variétés soient productrices.

L'adaptation de ces cultures a exigé la sélection de variétés moins sensibles à la longueur du jour. Du maïs issu directement du Brésil atteint dans nos régions 3 à 4 m de haut et ne fleurit qu'à la fin septembre lorsque les jours ont moins de 12 heures. Ceci peut avoir un intérêt dans le cas de production de fibre (sorgho papetier) si l'on peut se procurer facilement des graines chaque année.

Pour d'autres récoltes comme la betterave à sucre, pour laquelle la floraison réduit le taux de sucre la sélection a été dans l'autre sens c'est-à-dire vers une sélection d'espèces très strictement dépendantes de la longueur du jour. Souvent ces sélections ont été accomplies avant que l'explication du processus soit connue (contrôle de la floraison par la lumière).

VI-B3- f- Aspects moléculaires de la différenciation florale :

Quand les plantes à fleurs ont atteint un certain développement des signaux de l'environnement peuvent déclencher la transition vers le développement floral.

Le méristème apical arrête de produire des primordia foliaires et se met à produire des primordia d'organes floraux : pétales, sépales, étamines, carpelle.

Les nombreuses études de génétique sur le développement de la fleur ont conduit à conclure que ce processus de développement est déterminé par un réseau très complexe et conservé de gènes opérant en cascade et qui s'expriment dans différents territoires spécifiques. La différenciation est, en effet un problème d'expression spatio-temporelle particulière de gènes spécifiques.

Toutes les cellules d'un végétal contiennent les mêmes gènes seuls certains d'entre eux vont s'exprimer lors de la formation de certains organes. Les études sur des mutations qui affectaient la durée de temps nécessaire pour fleurir ou perturbaient la nature et la structure normale de la fleur ont permis d'identifier différents gènes que l'on peut classer dans les 4 catégories suivantes.

- Gènes impliqués dans la chronologie de floraison
- Gènes d'identité du méristème floral
- Gènes d'identité des organes floraux qui agissent plus tardivement dans le développement floral.
- Gènes de construction des organes floraux

Il est à signaler cependant que des mutants qui restent indéfiniment à l'état végétatif n'ont pas été observés, ceci suggère qu'il existe certainement une redondance entre les gènes qui induisent la floraison et que l'inactivation de l'un d'entre eux est partiellement compensée par d'autres.

Par ailleurs, dans les études sur *Arabidopsis* différentes voies de promotion de l'induction florale relativement indépendantes selon les variétés ont été mises en évidence : une induction

autonome soit une induction par l'acide gibberellique ou par les facteurs de l'environnement (vernalisation, photopériode).

a) Gènes de chronologie de floraison :

Chez *Arabidopsis* la floraison est stimulée par les jours longs et chez certains écotypes par les températures froides (vernalisation).

De nombreux mutants à floraison tardive sous conditions inductives ont permis d'identifier de nombreux loci impliqués dans la floraison.

Mutant de type FCA : retard de floraison dans n'importe quelle condition de jour – FCA a été cloné – il code une protéine qui contient deux domaines de liaison à l'ARN et un domaine ww typique des interactions entre protéines suggérant qu'il s'agit d'un facteur régulateur post transcriptionnel (2 tryptophanes séparés par un motif consensus conservé).

Par ailleurs, le mutant Co présente un retard dans la floraison en jour long et une réponse réduite à la vernalisation.

La protéine correspondante à Co contient 2 doigts de Zinc suggérant sa capacité de liaison à l'ADN et son implication dans la régulation de l'expression génique. Son ARN est plus abondant en jour long. Des mutations sur les régions doigt de Zinc abolissent la fonction.

b) Gènes d'identité de méristème floral :

Le méristème apical caulinaire donne des feuilles, des entre nœuds, et des bourgeons axillaires. Il peut après sa transformation en méristème floral donner des organes floraux.

Le méristème floral présente une activité déterminée de divisions cellulaires et d'organogénèse résultant dans la production de 4 cercles d'organes floraux (sépalés, pétales, étamines et carpelles). Chez *Arabidopsis* sépalés et pétales sont des organes protecteurs puis quand la fleur arrive à maturation ces organes jouent un rôle d'attraction des insectes pollinisateurs.

En retenant comme plante modèle *Arabidopsis thaliana* des études de génétique classique et de génétique moléculaire ont permis de caractériser divers gènes associés à la transition méristème végétatif – méristème floral.

Exemple gène Leafy = LFY. Des mutations de LFY causent un blocage de la transition méristème végétatif / méristème floral. Les fleurs sont remplacées par des pousses feuillées.

Hypothèse : la protéine codée par LFY serait un facteur de transcription car elle contient une région riche en proline et des régions acides et basiques caractéristiques des facteurs de transcription.

Une fonction de Leafy serait d'agir comme déclic génétique du développement de la fleur en régulant positivement l'expression en aval de gènes homéotiques. LFY est le 1^{er} gène à être activé durant la transition. L'expression du gène est détectable avant apparition des primordia et s'arrête quand les 4 types d'organes sont en place.

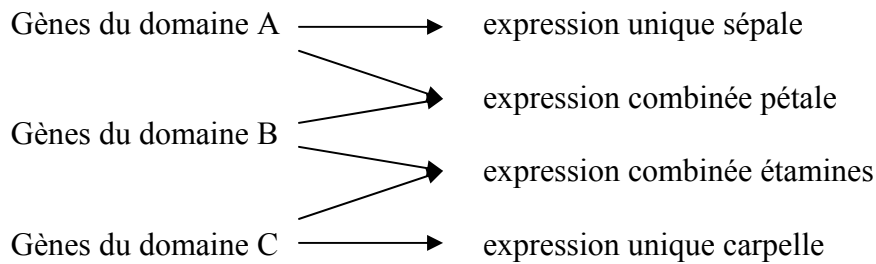
c) Gènes de spécification de l'identité des organes floraux

Modèle ABC

Ces gènes interviennent en aval des gènes d'identité de méristème floral et en amont des gènes de construction des organes floraux.

Le modèle ABC proposé par Meyerowitz, implique des gènes dont l'expression se produit dans 3 domaines A. B. C.

Ce modèle résulte des résultats de l'analyse des pertes de fonction de certains gènes.



<u>Domaines</u>	<u>Gènes</u>	<u>Phénotype perte de fonction</u>
A	Apetala 1	pas de pétale – pas de sépale
B	Apetala 3	pas de pétale – pas d'étamine
C	Agamous	pas de carpelles – pas d'étamines

1. Ces gènes correspondent à des gènes appelés homéotiques. Des mutations qui transforment des parties de l'organisme en structures normalement associées à d'autres positions / localisations sont appelées homéotiques. Des mutants homéotiques ont été initialement trouvés chez la drosophile – remplacement des antennes par des pattes – remplacement des yeux par des ailes.

Ces gènes homéotiques ont des caractéristiques communes de gènes à boîte MAD (MAD box genes) codant des facteurs de transcription comprenant un domaine amino terminal de fixation de l'ADN de 58 ac. aminés très conservé.

Chez ces protéines le domaine MAD fonctionne à la fois dans l'interaction avec l'ADN et avec des protéines (protein-protein interaction) et est hautement conservé au niveau des contrôles développementaux chez différents organismes.

2. Ces gènes sont très conservés entre les espèces (*A. thaliana* et *Antirrhinum majus* par exemple), ils discriminent les types d'organes floraux mais ne donnent pas d'informations ou d'instructions sur le détail de la construction des organes floraux qui implique des gènes réalisateurs en aval.

Ces gènes ont été caractérisés initialement à partir de mutations naturelles ou provoquées puis par des expériences de gène tagging (TDNA) conduisant au même phénotype.

La disponibilité de la séquence a permis de faire des expériences d'hybridation in situ conduisant à montrer la localisation spécifique de l'expression de ces gènes :

Apetala 2	pétale/sépale
Apetala 3	pétale-étamine
Agamous	Etamines-carpelles

L'expression tissu spécifique des gènes homéotiques est contrôlée essentiellement par des interactions négatives. Par exemple l'expression du gène *agamous* (classe C) est réprimée dans les cercles extérieurs par le gène de classe A *apetala 1*. L'activation initiale des gènes

homéotiques est réalisée au moins en partie comme cela a été dit par les produits de gènes exprimés plus précocement comme les gènes d'identité du méristème floral de type LEAFY.

Des gènes autres que les gènes d'identité d'organes doivent contrôler le nombre d'organes dans chaque rang puisque les mutations de ces gènes n'altèrent pas le nombre d'organes mais seulement leur identité.

Un exemple récent :

Le contrôle de la floraison, un réseau complexe d'interactions entre facteurs inducteurs et répresseurs : cas particulier de la régulation du développement des fleurs par GA (Yu et al PNAS – 2004 – 101 – 20 – 7827).

Chez Arabidopsis le mutant Ga1-3 déficient en gibberelline développe des fleurs dont la croissance est nettement retardée au niveau des différents organes floraux qui conservent cependant leur identité.

Les progrès dans la connaissance des mécanismes d'action des gibberellines conduisent à penser que ces hormones contrôlent le développement en supprimant un groupe de protéines nucléaires à fonction de répresseurs : les protéines DELLA qui contiennent en commun un domaine N-terminal « DELLA » qui serait impliqué dans l'inactivation de ces protéines par le signal GA. Il existe 5 protéines DELLA dans le génome d'Arabidopsis (GAI, RGA, RGL1, RGL2, et RGL3). GA entraînerait la disparition de ces protéines répresseurs en induisant leur dégradation par l'intermédiaire de mécanismes ubiquitine / protéasome dépendants.

Comme ces protéines ne renferment pas de domaines typiques de liaison à l'ADN il est supposé que ces régulateurs transcriptionnels formeraient des complexes actifs avec d'autres facteurs de transcription pour contrôler l'expression des gènes.

Il a été montré que la suppression de RGA et de RGL2 (mutations sur les gènes de ces protéines DELLA) restaure un développement floral normal chez le mutant ga1-3 indiquant leur rôle de répresseur dans le développement des fleurs.

Des études ont été réalisées visant à évaluer l'impact de l'apport de GA et la surexpression de RGA sur différents gènes de contrôle de la floraison.

LEAFY un gène en amont n'est pas affecté. En revanche les gènes homéotiques APETALA 3 et AGAMOUS sont induits par GA et réprimés par RGA.

Ces résultats montrent que la croissance des organes floraux nécessite l'expression continue de certains gènes homéotiques.

Il faut enfin mentionner que les protéines DELLA intervenant dans le contrôle d'une large gamme de processus du développement, leur implication dans la floraison doit faire intervenir des régulateurs fleur-spécifique.

Schéma récapitulatif :

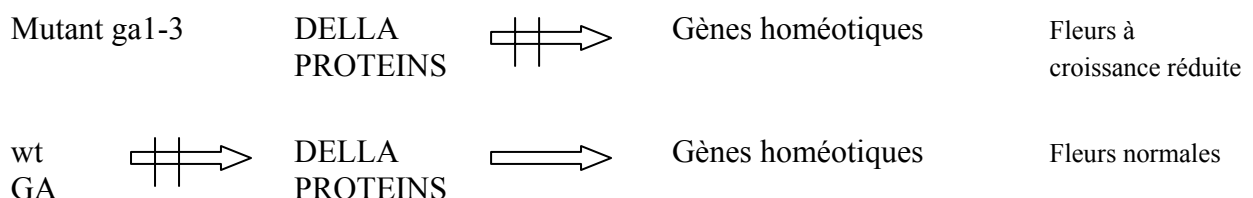
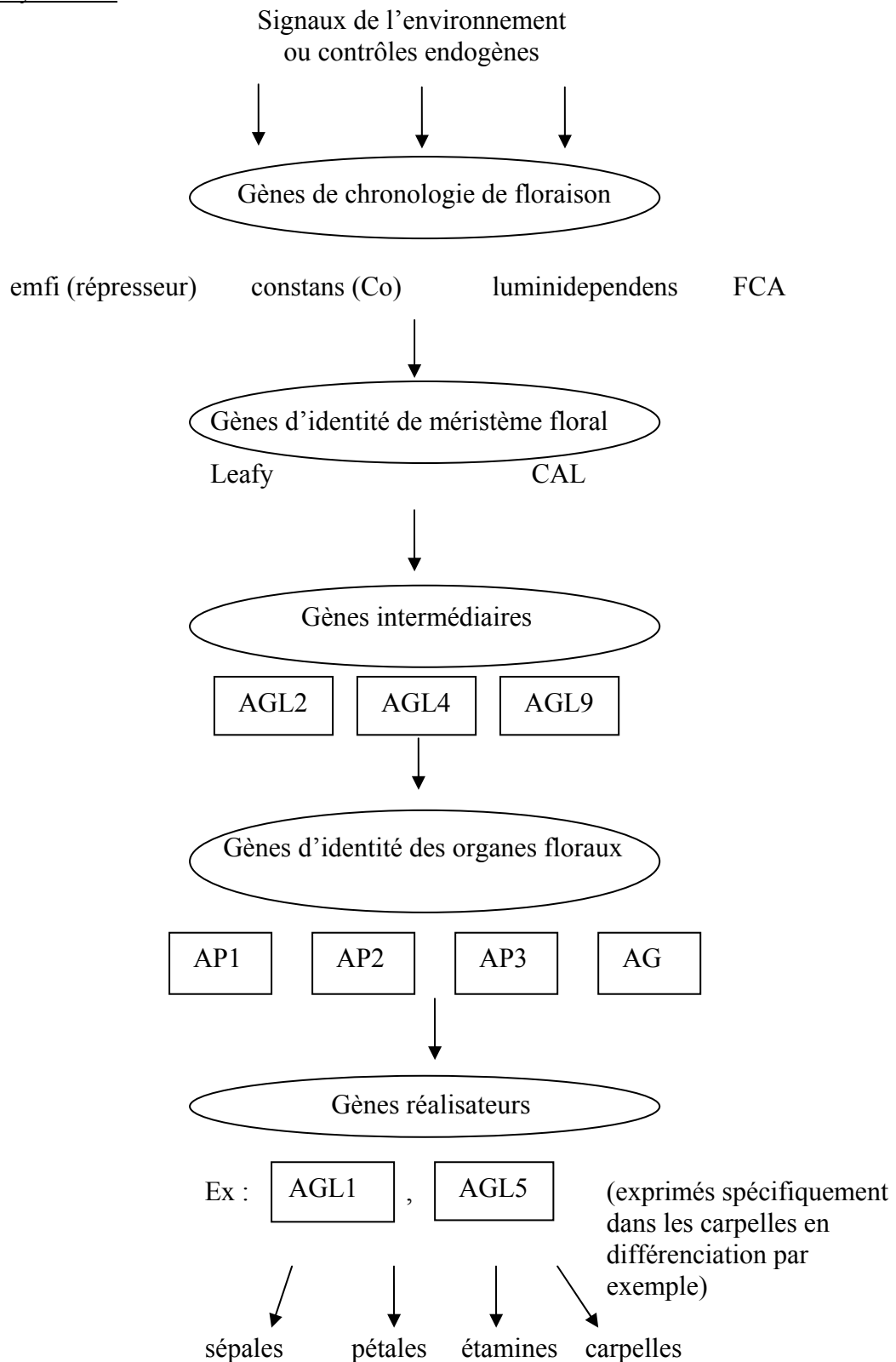


Schéma de synthèse :



- Les gènes encadrés d'un rectangle sont des gènes homéotiques à boîte MAD
- Plus de 80 gènes ont été impliqués dans le contrôle de la floraison chez Arabidopsis. Ces gènes codent fréquemment des régulateurs transcriptionnels et sont en interactions positives ou négatives dans un réseau extrêmement complexe. Les gènes à domaines MAD ont un rôle prépondérant.

VI-C- PHYSIOLOGIE DE LA SÉNESCENCE

La sénescence correspond chez les végétaux à une phase normale du cycle de développement des espèces qui se place après l'état juvénile, la maturité et l'acquisition de l'état reproducteur et au cours de laquelle s'installent des processus de dégénérescence irréversibles des structures et des fonctions cellulaires qui vont conduire à une détérioration des tissus et organes et finalement à la mort de ces organes ou même de l'organisme (au cours de cette phase la plante est en état de sénescence).

En particulier, chez les annuelles la sénescence n'est pas due à des conditions externes défavorables (elle peut être accélérée par ces facteurs), mais à des régulations internes, il s'agit d'un événement programmé. La sénescence peut donc se développer en absence de toute condition extérieure défavorable mais le froid, la sécheresse, l'ombrage, l'élimination de certains organes de la plante peuvent l'induire et l'accélérer.

On a souvent rapproché la sénescence de l'apoptose ou mort cellulaire programmée chez les animaux (PCD).

En fait les phénomènes sont assez distincts :

1. On ne retrouve pas lors de la sénescence des indicateurs biochimiques propres de la PCD
 - Signaux mitochondriaux
 - DNA ladder
 - Intervention de caspases
2. Les analogies seraient plus évidentes au niveau de la réponse hypersensible (HR) qui, chez les végétaux correspond à la mise en place d'une zone de cautérisation par mort cellulaire autour d'un site d'infection empêchant la diffusion du pathogène ou au niveau de phénomènes de mort cellulaire isolés à l'échelle de la plante :
 - Cellules des vaisseaux à l'intérieur du xylème
 - Cellules à aleurone

Enfin on peut évoquer le terme d'oncose pour désigner la mort accidentelle de cellules de plante qui ne sont plus capables de réparer les dommages causés par le stress.

VI-C1- Modalités de la sénescence selon les types de végétaux :

La sénescence peut concerner l'ensemble du végétal ou seulement certaines de ses parties. Ainsi chez les espèces monocarpiques, elle concerne l'ensemble de la plante et se produit dès la floraison (annuelles, bisannuelles, pluriannuelles) seules les graines survivent et assureront la survie de l'espèce.

Chez ces espèces la sénescence au niveau des feuilles peut être progressive et séquentielle par exemple les feuilles âgées meurent les premières alors que les feuilles plus jeunes restent en vie suggérant aux différents niveaux, différents équilibres nutritifs et hormonaux.

Espèces pérennes : Les herbacées peuvent voir leur système aérien mourir chaque année en conditions défavorables mais leur système racinaire reste en vie et permet le départ de la végétation au printemps.

Chez les arborescentes à feuilles caduques seules les feuilles, les fleurs et les fruits entrent en sénescence. Le tronc, les branches, les bourgeons et les racines restent en vie.

Chez les arborescentes à feuilles persistantes, les feuilles les plus âgées deviennent sénescences après une période variables de 1 à 7 ans alors que les feuilles jeunes continuent à croître et l'arbre est toujours couvert de feuilles.

Si la sénescence est directement liée au programme de développement pour les espèces monocarpiques qui entrent en état de sénescence dès la floraison [certaines plantes monocarpiques maintenues dans des conditions d'éclairement défavorables pour la floraison voient leur sénescence différée de plusieurs années], les facteurs responsables du déclenchement de la sénescence sont moins nets et beaucoup plus complexes au niveau des espèces pérennes.

Il existe bien sûr des différences liées aux caractéristiques génétiques, certaines espèces ayant des longévités exceptionnelles, ex : *Pinus aristata* 4000 ans (*Juniperus orestatus*) mais des maladies, des stress divers, des conditions défavorables de nutrition, la difficulté accrue des échanges au sein de l'individu avec l'augmentation de ses dimensions peuvent favoriser la sénescence.

VI-C2- Modifications liées à la sénescence :

La sénescence a été essentiellement étudiée chez les feuilles, les fleurs et les fruits (nous avons parlé des fruits à propos du contrôle de la maturation par l'éthylène, début d'une phase de sénescence, nous considérons seulement ici le cas des feuilles).

a) Modifications visibles :

- Changement de coloration des feuilles – couleur automnale due à la disparition de la chlorophylle qui ne masque plus les caroténoïdes de couleur jaune-orangée et/ou à la synthèse de pigments anthocyaniques rouges/rouges.
- A la suite de la sénescence des feuilles un phénomène visible est l'abscission.

b) Modifications ultrastructurales :

- Diminution de la taille des chloroplastes et des mitochondries puis détérioration, diminution du nombre de ribosomes
- Altération des systèmes membranaires, tonoplaste, disparition de l'ER, dictyosomes, altération du plasmalemmes lors des étapes finales.
- Les ruptures de compartimentation liées aux altérations sont létales pour la cellule : invasion du cytosol par les protéases, décompartimentation ionique

c) Modifications biochimiques :

Elles sont associées aux modifications ultrastructurales précédentes

- Diminution de la photosynthèse avec une destruction des chlorophylles
- Diminution de la respiration
- Diminution de la teneur en protéine : dégradation accrue, synthèse réduite
- Diminution des ac. nucléiques dégradation accrue (Rnase).

Ces modifications peuvent être globalement liées à un ralentissement de la synthèse et à une accélération de la dégradation. D'une manière générale on assiste à une diminution des teneurs en macromolécules à l'exception des constituants pariétaux, et à une augmentation transitoire en petites molécules.

La vacuole jouerait un rôle particulièrement important dans la sénescence avec son rôle lysosomal. Elle renferme en effet des hydrolases normalement séparées du cytoplasme et la détérioration de la membrane vacuolaire (le tonoplaste) permettrait la libération de protéases, nucléases, phosphatases qui hydrolyseraient les constituants cytoplasmiques.

Si la sénescence n'est pas associée à une activité de croissance ou de morphogénèse ce n'est pas un phénomène passif mais un processus de différenciation particulier, associé à l'expression de nouveaux gènes qui ont été regroupés sous l'appellation gènes SAG (sénescence associated genes). La nécessité d'une synthèse protéique est, par ailleurs, démontrée par l'arrêt de sénescence provoquée par des inhibiteurs de la synthèse protéique. Les gènes SAG sont nombreux ils correspondent à diverses fonctions

- Facteur de transcription potentiellement impliqués dans les cascades de signalisation associées à la mise en place de la sénescence ex : WRKY 6 (domaine conservé de 60 acides aminés domaine WRKY).
- Protéases comme SAG12 chez Arabidopsis : Protéase à cystéine
- Chlorophyllase : impliquée dans la dégradation des chlorophylles
- Phospholipase (SAG 101) libère de l'acide oléique à partir de trioléine.

La désorganisation des membranes pendant la sénescence résulte en partie de la dégradation des lipides membranaires par différentes enzymes comme la phospholipase D, la lipoxygénase. Cette dernière enzyme donne lieu à la formation de radicaux libres : oxygène singulet, radical superoxyde très toxiques pour les structures cellulaires et contribue à la formation d'acide jasmonique parfois appelée hormone de mort.

Des études avec des techniques comme la RPE (résonance de spin paramagnétique) montrent une augmentation de ces radicaux avec la sénescence alors que les enzymes de détoxification des radicaux : peroxydase, catalase, superoxyde dismutase voient leur activité diminuer.

VI-C3- Les causes de la sénescence

Causes nutritives :

Cette hypothèse propose que la sénescence des feuilles serait induite par une carence en ressources nutritives en raison du prélèvement de métabolites pour la formation des fleurs, des graines et des fruits : organes non photosynthétiques.

Effectivement l'ablation des jeunes bourgeons floraux ou de jeunes fruits diffère considérablement la sénescence chez des espèces comme le soja ou la tomate.

Ceci est en accord avec la sénescence des espèces monocarpiques qui débute avec la floraison. Cependant cette hypothèse intéressante ne peut-être généralisée. En effet, ces observations ne sont pas retrouvées chez d'autres espèces comme les céréales. Par ailleurs, sur certaines espèces dioïques (Epinard) l'élimination des fleurs mâles a le même effet que l'élimination des fleurs femelles dont les besoins nutritifs sont beaucoup plus importants. Par ailleurs, l'apport massif d'engrais, de substances nutritives ne retarde pas la sénescence chez les plantes ayant fleuri, il semble donc que la floraison soit à l'origine d'un signal systémique marquant le début de la sénescence.

Causes hormonales :

L'effet antisénescence des cytokinines est classique il peut être en partie expliqué au plan mécanistique par une stimulation de la synthèse protéique et un effet de *réten*tion des métabolites en présence des cytokinines (effet MOTHES).

On observe une réduction des teneurs en cytokinines ou de l'excrétion de cytokinines au niveau des exsudats racinaires (Tournesol) lors de l'installation de la sénescence.

L'apport de cytokinines exogènes (mais aussi d'autres hormones comme GA3 ce qui suggère un contrôle multihormonal) retarde la sénescence.

Par ailleurs diverses expériences de transgénèse visant à surexprimer le gène de l'isopentenyltransférase (IPT) dans différentes conditions en particulier en association avec des promoteurs de gène SAGE montrent un retard spectaculaire de la sénescence.

L'éthylène a par ailleurs un effet inducteur de la sénescence particulièrement net chez les fleurs.

VI-C4- La sénescence foliaire une étape de remobilisation des éléments nutritifs pour le remplissage des graines.

La sénescence foliaire s'accompagne de la dégradation des macromolécules (protéines, acides nucléiques..) et de la migration des produits d'hydrolyse et d'une manière générale des petites molécules présentes dans les feuilles vers les parties de la plante encore en développement fruit et surtout graine.

Il s'agit d'un processus très adapté de récupération « utile » des nutriments formés par la plante au cours de son développement végétatif.

Les études ont surtout porté sur les protéines et sur la protéine foliaire la plus abondante : la Rubisco.

VI-C5- Approches Biotechnologiques visant à différer la sénescence :

- Nous avons déjà parlé du problème de la conservation des fruits. En ce qui concerne les fleurs et les feuilles différentes stratégies ont été explorées.

Tout d'abord il faut noter que peu de mutants affectés dans la sénescence ont été caractérisés. On peut signaler le mutant Arabidopsis Ore 9 qui correspond à la perte de fonction d'une « protéine F Box » composante des systèmes de protéolyse *ubiquitine* dépendant. Ce qui confirme l'implication de ce système dans la sénescence.

- Pour les feuilles une préoccupation des sélectionneurs est de privilégier chez certaines cultures le phénotype « stay green » qui permet un maintien prolongé de l'activité photosynthétique.

Des expériences exploratoires de transgénèse ont été envisagées

- Par surexpression du gène IPT
- Par surexpression de gène de superoxyde dismutase ou de catalase.

Par ailleurs un traitement après récolte (laitue par exemple) par acide ascorbique, EDTA ou GA3, a été envisagé pour éviter jaunissement et flétrissement.

Pour les fleurs (la fleur coupée n'a pas achevé sa croissance en général lors de la vente), des solutions nutritives visant 2 objectifs sont commercialisées (type SEVAFLOR) afin d'améliorer la conservation

- Antiseptiques, agents d'acidification pour éviter la formation de bouchons au niveau des vaisseaux (d'origine fongique ou résultant de la précipitation de certains sels – fluorure, sels de Ca^{++})
- Eléments nutritifs de type glucose ou saccharose.

On arrive ainsi à multiplier la longévité par un facteur 3.

VI-C6 – L'abscission :

La phase finale de la sénescence en ce qui concerne les organes comme les feuilles, les fleurs et les fruits consiste en leur séparation de la plante mère lors du phénomène d'abscission.

Considérons le cas des feuilles :

VI-C6- a- Description du phénomène :

L'abscission se produit généralement à la base du pétiole, près de la jonction avec la tige.

- A ce niveau se produit avant l'abscission une période de divisions cellulaires intenses qui aboutit à la mise en place de la zone d'abscission. Cette zone comprend des cellules petites à parois minces et se met en place à des périodes différentes avant l'abscission selon les espèces.
- Il se produit ensuite une augmentation des activités enzymatiques : pectinases, cellulases au niveau de cette zone d'abscission entraînant la lyse de parois des cellules. Les cellules se gélifient et la feuille n'est plus retenue que par les faisceaux conducteurs qui seront rompus mécaniquement par le vent. Enfin une couche de cicatrisation subérisée se met en place (liège) qui protège la section au niveau de la tige des pertes d'eau et de l'invasion des pathogènes.

VI-C6- b- Mécanismes :

Nous avons déjà précisé à propos de l'ABA que cette hormone ne représentait pas le véritable facteur de l'abscission. Il s'agit comme dans de nombreux cas d'un contrôle plurihormonal.

L'AIA produit par la feuille retarde l'abscission tant que la feuille est jeune (des résultats contradictoires ont été initialement obtenus en relation avec l'application d'AIA exogène liée à la production secondaire d'éthylène). Au cours de la sénescence l'auxine diminue progressivement (l'ablation du limbe producteur d'auxine accélère l'abscission. Les cytokinines et gibberellines retardent également l'abscission.

A partir d'un certain moment il y aurait dans les tissus sénescents production d'éthylène qui stimule la production d'enzymes d'hydrolyse (cellulases – pectinase) actives dans l'abscission.

Lors de la sénescence des feuilles, dans le cas des espèces pérennes, les constituants de petits poids moléculaire résultant de l'hydrolyse des réserves (protéines par exemple) migrent soit vers les bourgeons dormant soit vers les rayons ligneux du bois (files de cellules parenchymateuses) où ils seront réutilisés dès le départ de la végétation au printemps. Le contenu en substances minérales et en matière organique des feuilles après abscission ou de l'organisme entier pour les espèces monocarpiques sera repris dans les phénomènes d'humification (formation de l'humus) et après passage par les cycles des éléments de la biosphère pourra être réutilisé par la végétation.

En horticulture et agriculture on peut vouloir prévenir l'abscission prématurée des fleurs ou fruits par application de régulateurs de croissance (auxines de synthèse) ou au contraire favoriser l'abscission des feuilles pour favoriser la récolte d'autres organes (cotonnier).