

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

ECOLE NORMALE SUPERIEURE DE KOUBA-ALGER



# THESE

PRESENTEE A L'ECOLE NORMALE SUPERIEURE DE KOUBA-ALGER

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE

**DOCTEUR EN SCIENCES BIOLOGIQUES**

OPTION : BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE VEGETALE

PAR

TOUATI MOSTEFA

**CONTRIBUTION A L'ETUDE DE LA PERMEABILITE CUTICULAIRE  
ET LA LIMITATION BIOPHYSIQUE DE L'ELONGATION  
CELLULAIRE DES FEUILLES DES POACEES**

SOUTENUE LE : 23/06/2016 DEVANT LE JURY COMPOSE DE :

<b>M. BOUDJNIBA M.</b>	<b>Professeur, ENS de Kouba, Alger.</b>	<b>Président</b>
<b>M. KAMELI A.</b>	<b>Professeur, ENS de Kouba, Alger.</b>	<b>Directeur de thèse</b>
<b>M<sup>me</sup>. ABROUS O.</b>	<b>Professeur, USTHB, Alger.</b>	<b>Examinatrice</b>
<b>M. DJEBBAR R.</b>	<b>Maître de conférences A, USTHB, Alger.</b>	<b>Examinateur</b>
<b>M. MOUHOUCHE B.</b>	<b>Professeur, ENSA El-Harrach, Alger.</b>	<b>Examinateur</b>

Année universitaire : 2015/2016

## LISTE DES ABREVIATIONS

**A<sub>cell</sub>**: Surface cellulaire

**AF** : Feuille avec fenêtre

**AQPs** : Aquaporines

**Ctrl** : Témoin

**EmBL**: La portion émergée du limbe de la feuille

**EDTA**: éthylène diamine tétraacétique acide

**Epi**: Epiderme

**ET** : écart type

**FC**: Fusicoccine

**h**: Longueur de la cellule

**IAA** : Acide Indole Acétique

**L**: Coefficient de la conductance hydraulique tissulaire

**LER** : Leaf Elongation Rate, taux d'élongation foliaire

**L<sub>p<sub>cell</sub></sub>**: Conductivité hydraulique cellulaire

**LVDT** : Linear Velocity Displacement Transducer, Capteur de déplacements linéaires

**M** : Coefficient de l'extensibilité de la paroi

**MES** : 2-(N-morpholino)ethanesulfonic acid

**MIPs** : Protéines intrinsèques majeures

**MPa** : Méga Pascal

**NAA**: 1-Naphthalene Acetic Acid

**P**: Turgescence cellulaire

**PEG6000** : Polyéthylène glycol 6000

**PIPs** : Protéines intrinsèques de la membrane plasmique

**r**: rayon

**REGR** : Relative Elemental Growth Rate, taux de croissance élémentaire relative

**RH** : Humidité relative

SF : feuille sans fenêtre

**SIPs** : Petites protéines intrinsèques basiques

**T<sub>1/2</sub>**: Demi-temps d'échange d'eau

**TEA**: Tetra Ethyl Ammonium

**TIPs** : Protéines intrinsèques du tonoplaste

**TRIS** : Tris(hydroxyméthyl)aminométhane

**V<sub>cell</sub>**: Volume cellulaire

**XIPs** : Protéines intrinsèque X

**XTHs** : Xyloglucan endotransglucosylases/hydrolases

**Y**: Seuil de turgescence minimale requise pour la croissance

**ZE** : Zone d'Elongation

**ZMK1** : Zea mays K<sup>+</sup> channel1, canal à K<sup>+</sup> de maïs

: Module d'élasticité volumique cellulaire

$\pi$ : Pression osmotique

: Potential hydrique

: Différence de potentiel hydrique

**Epi-EZ**: Potentiel hydrique des cellules épidermique de la zone d'élongation

**Epi-EmBL**: Potentiel hydrique des cellules épidermique de la portion émergée du limbe

**Medium** : Potentiel hydrique du milieu de la racine

**Xylem-EZ**: Potentiel hydrique du xylème dans la zone d'élongation

**Xylem-EmBL**: Potentiel hydrique du xylème dans la portion émergée du limbe

**Xylem-Root**: Potentiel hydrique du xylème dans la racine

: Coefficient de réflexion de solutés

# TABLE DES MATIÈRES

<b>INTRODUCTION GENERALE</b>	<b>1</b>
------------------------------	----------

## **I. ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE**

1.1. Croissance foliaire chez les graminées	5
1.2. Différents facteurs impliqués dans la croissance	6
1.2.1. Propriétés biophysiques de la croissance	6
1.2.1.1. Propriétés hydrauliques	6
1.2.1.2. Propriétés mécaniques	7
1.2.1.3. Equation de Lockhart et la limitation de la croissance par les propriétés hydrauliques et mécaniques tissulaires	7
1.2.1.4. Relâchement de la paroi	11
1.2.1.5. Expansion cellulaire et contrôle du mouvement d'eau	12
1.2.1.6. Expansion cellulaire et absorption de solutés	15
1.2.2. Propriétés biochimiques de la croissance	18
1.3. Théorie acide de la croissance	21
1.3.1. Fusicoccine et activation de la H <sup>+</sup> -ATPase	24
1.3.2. Dépendance de l'activité de la H <sup>+</sup> -ATPase à l'absorption du potassium	26
1.3.3. Croissance acide et perméabilité cuticulaire	28

## **II. MATÉRIEL ET METHODES**

<b>2.1. Etude de la perméabilité cuticulaire de la zone d'élongation de blé dur et de sorgho</b>	<b>30</b>
2.1.1. Matériel végétal	30
2.1.2. Germination des grains	30
2.1.3. Mise en culture	30
2.1.4. Préparation de la troisième feuille	31
2.1.5. Test de la perméabilité cuticulaire au bleu de toluidine	32
2.1.5.1. Méthode de plusieurs plantes ( <i>multi-plant</i> )	32

2.1.5.2. Méthode d'une seule plante ( <i>single-plant</i> )	32
2.1.6. Dosage des cires cuticulaires	33
<b>2.2. Etude des variations de l'élongation foliaire en relation avec les propriétés hydrauliques et mécaniques tissulaires de la troisième feuille d'orge</b>	<b>34</b>
2.2.1. Matériel végétal	34
2.2.2. Germination des grains	34
2.2.3. Mise en culture	34
2.2.4. Préparation de la zone d'élongation pour l'application des traitements	36
2.2.5. Application des traitements et détermination du taux d'élongation foliaire (LER)	38
2.2.5.1. Mesure du LER par LVDT	38
2.2.5.2. Mesure du LER dans la chambre de culture	40
2.2.5.3. Mesure du LER à proximité de la sonde de pression cellulaire	41
2.2.6. Dérivation des taux relatifs de croissance élémentaires REGR	41
2.2.7. Analyses biophysiques cellulaires au niveau de la zone d'élongation de la troisième feuille	43
2.2.7.1. Mesure de la turgescence cellulaire	43
2.2.7.2. Conductance hydraulique cellulaire, $L_{p_{cell}}$	45
2.2.7.3. Mesure de la pression osmotique	47
2.2.7.3.1. Pression osmotique cellulaire	47
2.2.7.3.2. Pression osmotique tissulaire totale	49
2.2.8. Analyses biophysiques cellulaires au niveau de la portion émergée du limbe (EmBl) de la troisième feuille	50
2.2.9. Calcul du taux net de l'accumulation de solutés dans les cellules en croissance	50
2.3. Analyses statistiques	50

### III. RESULTATS ET DISCUSSIONS

<b>3.1. Perméabilité cuticulaire de la zone d'élongation de la troisième feuille de blé dur et de sorgho</b>	<b>51</b>
3.1.1. Introduction	51
3.1.2. Perméabilité cuticulaire de la troisième feuille de blé dur	53
3.1.2.1. Méthode d'une seule plante ( <i>single-plant</i> )	53

3.1.2.2. Méthode de plusieurs plantes ( <i>multi-plant</i> )	54
3.1.3. Perméabilité cuticulaire de la zone d'élongation de la troisième feuille de sorgho	55
3.1.3.1. Méthode d'une seule plante ( <i>single-plant</i> )	55
3.1.3.2. Méthode de plusieurs plantes ( <i>multi-plant</i> )	56
3.1.4. Teneur en cires épicuticulaires chez le blé et le sorgho	58
3.1.5. Discussion	59
3.1.6. Conclusion	61
<b>3.2. Analyse par LVDT de la variation de l'élongation foliaire en réponse à des agents affectant l'activité des pompes à proton (H<sup>+</sup>-ATPase) de la membrane plasmique et l'acidification de la paroi, le transport du potassium et la conductivité hydraulique</b>	<b>62</b>
3.2.1. Introduction	62
3.2.2. Test de la réponse du système LVDT adopté	64
3.2.3. pH de l'apoplaste	66
3.2.4. Activité des pompes à proton (H <sup>+</sup> -ATPase) de la membrane plasmique et l'acidification de la paroi	67
3.2.5. Transport du potassium K <sup>+</sup>	69
3.2.6. Conductivité hydraulique	71
3.2.7. Discussion	72
3.2.8. Conclusion	78
<b>3.3. Limitation de l'élongation cellulaire des feuilles d'orge (<i>Hordeum vulgare</i> L.) par les propriétés mécaniques et hydrauliques tissulaires</b>	<b>80</b>
3.3.1. Introduction	80
3.3.2. Taux d'élongation foliaire	83
3.3.3. Analyses biophysiques cellulaires au niveau de la zone d'élongation :	83
3.3.3.1. Turgescence des cellules épidermiques de la ZE	83
3.3.3.2. Pression osmotique des cellules épidermiques de la ZE	84
3.3.3.3. Potentiel hydrique des cellules épidermiques de la ZE	85
3.3.3.4. Propriétés hydrauliques des cellules épidermiques de la ZE	87

3.3.4. Analyses biophysiques cellulaires au niveau de la portion émergée du limbe	88
3.3.4.1. Turgescence des cellules épidermiques de la portion émergée du limbe	88
3.3.4.2. Pression osmotique des cellules épidermiques de la portion émergée du limbe	89
3.3.4.3. Potentiel hydrique des cellules épidermiques de la portion émergée du limbe	90
3.3.5. Gamme de $\pi$ du xylème et de $\pi$ entraînant l'absorption de l'eau vers les cellules épidermiques en croissance	91
3.3.6. Application de l'équation de Lockhart	94
3.3.6.1. Relation entre REGR et P	94
3.3.6.2. Relation entre REGR et $\pi$	95
3.3.6.3. Calcul des valeurs du coefficient de l'extensibilité pariétale, M	96
3.3.6.4. Taux net d'accumulation de solutés dans les cellules en croissance (transport)	97
3.3.7. Discussion	99
3.3.7.1. Relation entre REGR et P	99
3.3.7.2. Etablissement du $\pi$ et la limitation de la croissance par les propriétés tissulaires hydrauliques et mécaniques dans la zone d'élongation ZE	100
3.3.7.3. Mécanisme de variation de P et $\pi$ en réponse aux différents traitements	104
3.3.8. Conclusion	108
<b>CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES</b>	<b>111</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b>	<b>116</b>
<b>ANNEXES</b>	<b>132</b>

## LISTE DES FIGURES

<b>Fig. 1.1.</b> La zone d'élongation d'une feuille de graminées	<b>5</b>
<b>Fig.1.2.</b> Influence de la variation du ratio M/L sur la pression de turgescence	<b>8</b>
<b>Fig. 1.3.</b> Le relâchement de la paroi	<b>12</b>
<b>Fig. 1.4.</b> Schéma simplifié représentant les trois voies de transit de l'eau dans un tissu pluricellulaire	<b>13</b>
<b>Fig. 1.5.</b> Structure de la paroi cellulaire primaire	<b>18</b>
<b>Fig. 1.6.</b> Un modèle explicatif de l'action des expansines sur le relâchement pariétal	<b>19</b>
<b>Fig.1.7.</b> Les postulats de la théorie acide de la croissance	<b>22</b>
<b>Fig. 1.8.</b> Schéma montrant les mécanismes de la théorie acide de la croissance	<b>23</b>
<b>Fig. 1.9.</b> La structure chimique de la phytotoxine "Fusicoccine"	<b>24</b>
<b>Fig.1.10.</b> Le complexe 'protéine 14-3-3-fusicoccine-H <sup>+</sup> -ATPase	<b>25</b>
<b>Fig.1.11.</b> Influence des ions de Ca <sup>2+</sup> sur la dépendance de la croissance induite par la FC ou l'auxine à l'absorption du K <sup>+</sup> .	<b>27</b>
<b>Fig. 1.12.</b> Effet de TEA sur la croissance induite par la FC et l'IAA	<b>28</b>
<b>Fig. 1.13.</b> Schématisation de l'effet de l'abrasion de la cuticule et l'écartement de l'épiderme (avec cuticule) sur la pénétration des solutions tampons dans l'apoplaste	<b>29</b>
<b>Fig. 2.1.</b> Germination et culture en pots	<b>31</b>
<b>Fig. 2.2.</b> Les étapes de la préparation de la troisième feuille	<b>31</b>
<b>Fig. 2.3.</b> Les étapes du test de la perméabilité au bleu de toluidine	<b>33</b>
<b>Fig. 2.4.</b> La culture hydroponique des plantules d'orge ( <i>Hordeum vulgare</i> ) dans la chambre de culture	<b>35</b>
<b>Fig. 2.5.</b> Plantule d'orge âgée de 14-16 jours utilisée pour les différentes analyses	<b>37</b>
<b>Fig. 2.6.</b> Schéma montrant la zone de découpage d'une fenêtre dans la zone d'élongation de la troisième feuille d'orge ( <i>Hordeum vulgare</i> )	<b>38</b>
<b>Fig. 2.7.</b> Schéma montrant un bouchon en mousse fendu sur la moitié du diamètre et un erlenmeyer de 250 ml avec une petite ouverture	<b>39</b>
<b>Fig. 2.8.</b> Représentation schématique du dispositif expérimental utilisé pour la mesure du taux d'élongation foliaire LER par le capteur de déplacements linéaires (LVDT)	<b>40</b>
<b>Fig. 2.9.</b> Profils du REGR le long de la zone d'élongation	<b>42</b>
<b>Fig. 2.10.</b> Mesure biophysiques par la sonde de pression cellulaire	<b>44</b>



<b>Fig. 2.11.</b> Schéma de l'enregistrement de la relaxation de pression de turgescence	<b>46</b>
<b>Fig. 2.12.</b> Une représentation schématique d'un picolitre osmomètre	<b>49</b>
<b>Fig. 2.13.</b> Extraction de la sève foliaire totale (bulk leaf sap) par congélation, décongélation et centrifugation	<b>50</b>
<b>Fig. 3.1.</b> Progression de la coloration de la zone d'élongation de la troisième feuille de blé dur au bleu toluidine en fonction du temps selon la méthode ( <i>single-plant</i> ).	<b>53</b>
<b>Fig. 3.2.</b> Progression de la coloration au bleu toluidine de la zone d'élongation de la troisième feuille de blé dur en fonction du temps selon la méthode ( <i>multi-plant</i> ).	<b>54</b>
<b>Fig. 3.3.</b> Comparaison de la perméabilité cuticulaire au bleu de toluidine de la zone d'élongation de la troisième feuille de blé dur selon les deux méthodes ( <i>single-plant</i> et <i>multi-plant</i> ).	<b>55</b>
<b>Fig. 3.4.</b> Progression de la coloration au bleu toluidine de la zone d'élongation de la troisième feuille de sorgho en fonction du temps selon la méthode ( <i>single-plant</i> ).	<b>56</b>
<b>Fig. 3.5.</b> Progression de la coloration au bleu toluidine de la zone d'élongation de la troisième feuille de sorgho en fonction du temps selon la méthode ( <i>multi-plant</i> )	<b>57</b>
<b>Fig. 3.6.</b> Comparaison de la perméabilité cuticulaire au bleu de toluidine de la zone d'élongation de la troisième feuille de sorgho selon les deux méthodes ( <i>single-plant</i> et <i>multi-plant</i> ).	<b>58</b>
<b>Fig. 3.7.</b> La distribution spatiale de la teneur en cires épicuticulaires le long de la troisième feuille de blé dur et de sorgho.	<b>58</b>
<b>Fig. 3.8.</b> (A), Taux d'élongation foliaire (LER) de la troisième feuille d'orge ( <i>Hordeum vulgare</i> ) sans fenêtre « CTRL » ou avec fenêtre « AW ».	<b>64</b>
<b>Fig. 3.9.</b> Variation du taux de l'élongation foliaire de la troisième feuille des plantes d'orge ( <i>Hordeum vulgare</i> ) avec fenêtre en fonction de temps	<b>65</b>
<b>Fig. 3.10.</b> (A), Test de la réponse du système LVDT à deux concentrations de NaCl (100mM, 1M NaCl).	<b>66</b>
<b>Fig. 3.11.</b> L'effet des solutions tampon MES (pH 5.5) et TRIS (pH 8) sur la vitesse de l'élongation foliaire.	<b>67</b>
<b>Fig. 3.12.</b> Variation du taux de l'élongation foliaire de la troisième feuille des plantes d'orge ( <i>Hordeum vulgare</i> ) en réponse à 5 $\mu$ M fusicoccine.	<b>68</b>
<b>Fig. 3.13.</b> Variation du taux de l'élongation foliaire de la troisième feuille des plantes d'orge ( <i>Hordeum vulgare</i> ) en fonction de temps en réponse à 5 et 10 $\mu$ M NAA.	<b>68</b>
<b>Fig. 3.14.</b> Variation du taux de l'élongation foliaire de la troisième feuille des plantes	

d'orge ( <i>Hordeum vulgare</i> ) en fonction de temps en réponse à 5 $\mu\text{M}$ fusicoccine dissoutes dans l'eau ou dans 1mM KCl.	69
<b>Fig. 3.15.</b> L'effet du CsCl (A) et du tétraéthylammonium TEA (B) sur la vitesse d'élongation foliaire	70
<b>Fig. 3.16.</b> Variation du taux de l'élongation foliaire de la troisième feuille des plantes d'orge ( <i>Hordeum vulgare</i> ) en fonction de temps en réponse à 5 $\mu\text{M}$ fusicoccine et un double traitement (5 $\mu\text{M}$ fusicoccine + 50mM TEA).	70
<b>Fig. 3.17.</b> Variation du taux d'élongation foliaire de la troisième feuille des plantes d'orge ( <i>Hordeum vulgare</i> ) en fonction de temps en réponse à 5 $\mu\text{M}$ fusicoccine et un double traitement (5 $\mu\text{M}$ fusicoccine + 5mM CsCl).	71
<b>Fig. 3.18.</b> L'effet du $\text{H}_2\text{O}_2$ et du $\text{HgCl}_2$ sur la vitesse de l'élongation foliaire.	71
<b>Fig. 3.19</b> Taux d'élongation foliaire en réponse à des traitements appliqués à l'extérieur de la zone d'élongation.	83
<b>Fig. 3.20.</b> La turgescence des cellules épidermiques de la ZE de la troisième feuille d'orge exposée aux traitements appliqués à l'extérieur de la ZE.	84
<b>Fig. 3.21.</b> La pression osmotique $\pi$ des cellules épidermiques de la ZE et foliaire totale de la troisième feuille d'orge	85
<b>Fig. 3.22.</b> Le potentiel hydrique ( ) des cellules épidermiques de la ZE de la troisième feuille d'orge	86
<b>Fig. 3.23.</b> Demi-temps d'échange d'eau ( $T_{1/2}$ ), le module d'élasticité volumique cellulaire et la conductivité hydraulique cellulaire ( $L_{p_{\text{cell}}}$ ) des cellules épidermiques de la zone d'élongation de la troisième feuille d'orge.	87
<b>Fig. 3.24.</b> La turgescence des cellules épidermiques de la portion émergée du limbe de la troisième feuille d'orge exposée aux traitements appliqués à l'extérieur de la ZE	88
<b>Fig. 3.25.</b> La pression osmotique $\pi$ des cellules épidermiques de la portion émergée du limbe de la troisième feuille d'orge	89
<b>Fig. 3.26.</b> Le potentiel hydrique ( ) des cellules épidermiques de la portion émergée du limbe de la troisième feuille d'orge	90
<b>Fig. 3.27.</b> Estimation du potentiel hydrique ( ) du xylème dans la zone d'élongation (ZE) ( $\psi_{\text{Xylem-EZ}}$ ) de la troisième feuille d'orge.	93
<b>Fig. 3.28.</b> Le taux de croissance élémentaire relative (REGR) en fonction de la turgescence cellulaire (P) dans la zone d'élongation de la troisième feuille d'orge en croissance	95
<b>Fig. 3.29.</b> Le taux de croissance élémentaire relative (REGR) en fonction de la	

différence du potentiel hydrique ( ) dans la zone d'élongation de la troisième feuille d'orge en croissance.	<b>96</b>
<b>Fig. 3.30.</b> Les coefficients de la conductance hydraulique, $L$ ( $\text{Mpa}^{-1}, \text{s}^{-1}$ ) et de l'extensibilité pariétale $M$ ( $\text{s}^{-1} \text{Mpa}^{-1}$ ).	<b>97</b>
<b>Fig. 3.31.</b> Les taux net d'accumulation de solutés dans les cellules épidermiques de la ZE de la troisième feuille d'orge en croissance.	<b>98</b>
<b>Fig. 3.32.</b> Le transport radial de l'eau dans une tige en élongation, avec des valeurs représentatives (en bars) pour les forces motrices dans l'épicotyle de pois.	<b>102</b>
<b>Fig. 3.33.</b> Schéma d'une coupe transversale montrant un faisceau vasculaire dans la ZE de la troisième feuille d'orge.	<b>103</b>
<b>Fig. 3.34.</b> Modèle expliquant les changements de la turgescence ( $P$ ) de cellules épidermiques de la feuille d'orge en croissance traitée par (CsCl, TEA, $\text{HgCl}_2$ , FC, CTRL)	<b>107</b>

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 2.1.</b> Composition de la solution de Hoagland à demi-concentration utilisée pour la culture hydroponique des plantules d'orge ( <i>Hordeum vulgare</i> ).	<b>36</b>
<b>Tableau 3.1.</b> Les valeurs moyennes de P et de $\pi$ utilisées pour calculer le potentiel hydrique des cellules épidermiques de la zone d'élongation.	<b>86</b>
<b>Tableau 3.2.</b> Les valeurs moyennes de P et de $\pi$ utilisées pour calculer le potentiel hydrique des cellules épidermiques de la portion émergée du limbe de la troisième feuille d'orge.	<b>90</b>
<b>Tableau 3.3.</b> Les valeurs du potentiel hydrique ( , unité MPa) utilisées pour calculer le maximum (Max.), le minimum (Min.) et la moyenne de la différence du potentiel hydrique ( ) entre le xylème et les cellules épidermiques (Epi) dans la zone d'élongation.	<b>92</b>
<b>Tableau 3.4.</b> Les valeurs du LER (mm.h <sup>-1</sup> ; mm.s <sup>-1</sup> ), REGR(s <sup>-1</sup> ), P(MPa) et (MPa)	<b>94</b>
<b>Tableau 3.5.</b> Les valeurs du coefficient de la conductance hydraulique, L (Mpa <sup>-1</sup> ,s <sup>-1</sup> ), coefficient de l'extensibilité pariétale M (s <sup>-1</sup> Mpa <sup>-1</sup> ) et du rapport M/L.	<b>96</b>
<b>Tableau 3.6.</b> Variation des taux net d'accumulation de solutés dans les cellules en croissance (transports)	<b>97</b>

## LISTE DES ANNEXES

<b>ANNEXE 1.</b> Calcul de $\psi_w$ à travers la membrane plasmique des cellules épidermiques des feuilles d'orge en croissance.	<b>133</b>
<b>ANNEXE 2.</b> Courbe d'étalonnage PEG6000	<b>134</b>
<b>ANNEXE 3.</b> Exemple de l'enregistrement de la turgescence mesurée par la sonde de pression cellulaire.	<b>135</b>
<b>ANNEXE 4.</b> Exemple de l'enregistrement de la relaxation de pression de turgescence obtenue par l'application des impulsions de pression ( $\Delta P$ ).	<b>136</b>
<b>ANNEXE 5.</b> Publication parue en <i>Plant and Cell Physiology</i> .	<b>137</b>

## RESUME

### **CONTRIBUTION A L'ETUDE DE LA PERMEABILITE CUTICULAIRE ET LA LIMITATION BIOPHYSIQUE DE L'ELONGATION CELLULAIRE DES FEUILLES DES POACEES**

L'élongation foliaire des poacées est limitée dans la région basale de la feuille qui s'étend sur une longueur de 20 à 50 mm et elle est complètement enveloppée par les gaines des feuilles les plus âgées. De ce fait, cette région pourrait être considérée comme un matériel biologique convenable pour l'application de plusieurs traitements et la mesure des différents paramètres. L'objectif de la première partie de ce travail consiste à évaluer la perméabilité cuticulaire des feuilles de blé dur (*Triticum durum*) et de sorgho (*Sorghum bicolor*) le long de la zone d'élongation de la troisième feuille, par une analyse de la perméabilité des feuilles au bleu de toluidine et un dosage quantitatif des cires cuticulaires. Les résultats de la perméabilité cuticulaire au bleu de toluidine ont montré que la coloration a été localisée au niveau de la base de la feuille analysée (25 à 30 mm) pour le blé dur et (20 à 25 mm) pour le sorgho. La vitesse de coloration était rapide pour les premiers centimètres et elle s'est ralentie par la suite chez les deux espèces. Ces résultats nous laissent conclure que la perméabilité de la cuticule des feuilles de blé dur et de sorgho diminue en s'éloignant du point d'insertion de la feuille. L'analyse quantitative des cires cuticulaires a montré un profil inverse de progression, où la teneur en cire de la cuticule augmente en s'éloignant de la base de la feuille, ce qui peut expliquer le ralentissement de la vitesse de coloration et la diminution de la perméabilité cuticulaire en s'éloignant du point d'insertion de la feuille vers le limbe.

La deuxième et la troisième partie de la présente thèse ont été consacrées à l'évaluation de la relation entre les variations de l'élongation foliaire et les propriétés hydrauliques et mécaniques tissulaires de la troisième feuille d'orge (*Hordeum vulgare* L.) en réponse à des traitements appliqués localement au niveau de la zone d'élongation. Ces traitements affectent l'activité des pompes à proton H<sup>+</sup>-ATPase de la membrane plasmique et l'acidification de la paroi cellulaire (fusiccocine, FC), le transport du potassium (tétraéthylamonium, TEA et le CsCl) et le transport d'eau (HgCl<sub>2</sub> et H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>).

Le suivi à court terme des taux d'élongation foliaire (LERs) par LVDT a montré que la fusiccocine a provoqué une augmentation significative de la vitesse d'élongation foliaire qui s'est déclenchée après un temps de latence de 20 à 25 min du traitement. Cependant, le TEA, le CsCl et l'HgCl<sub>2</sub> ont réduit la vitesse d'élongation foliaire. Une apparente indépendance de la croissance induite par la FC à l'absorption du K<sup>+</sup> a été aussi observée dans cette étude qui peut être expliquée par le fait que les traitements utilisés ne contiennent pas de Ca<sup>2+</sup> ou un autre ion divalent. En outre, l'espace apoplastique de Donnan, qui représente un réservoir de K<sup>+</sup>, peut fournir ces ions en quantités suffisantes pour maintenir la croissance pour plusieurs heures même en absence de K<sup>+</sup>. Après avoir mesuré les paramètres biophysiques et afin d'avoir des informations sur la différence de potentiel hydrique ( ) entraînant l'absorption de l'eau vers les cellules épidermiques de la ZE, l'équation de Lockhart a été appliquée par le traçage des courbes REGR/P et REGR/ . La relation entre REGR et P a été linéaire, positive et significative avec un seuil total apparent de turgescence minimale (Y) de 0.365 MPa. Les différences de croissance entre les traitements pourraient être expliquées par des différences de P. La comparaison de L et M a montré que la croissance a été co-limitée, à des degrés différents, par les propriétés hydrauliques et mécaniques dans tous les traitements appliqués à l'exception de la FC. Ceci a été accompagné par des différences (0.17-0.24 MPa) de potentiel hydrique significatives ( ) entre le xylème et les cellules épidermiques de la zone d'élongation. La limitation hydraulique a été due à une diminution de plus de 50% de la conductance hydraulique. Cette diminution de L a été attribuée d'une part, à l'inhibition d'aquaporines et l'interaction et la co-régulation entre le transport du potassium et de l'eau, et d'une autre part, à des structures anatomiques caractéristiques des feuilles de graminées (les deux gaines entourant les faisceaux vasculaires : la gaine parenchymateuse et la gaine du mestome). Dans les feuilles traitées par la FC, L a augmenté de 10 fois et a été plus grande que M (L >> M) alors que le a été proche de zéro, ce qui suggère que la croissance dans ces feuilles a été limitée par les propriétés mécaniques.

La présente étude a mis en évidence la nécessité de mesurer P et  $\pi$  à l'échelle cellulaire lors de la dérivation de cellulaire (et aussi ) à partir des valeurs de P et  $\pi$  et lors de la conclusion sur les variations de  $\pi$  cellulaire. Une analyse de la pression osmotique tissulaire totale de  $\pi$  aurait masquée la diminution spécifique de  $\pi$  des cellules épidermiques en réponse à la FC. La réponse spécifique de l'épiderme pour la pression osmotique  $\pi$  peut diriger la réponse de la feuille à la FC, car l'épiderme est susceptible de limiter mécaniquement la croissance des organes de la plante.

---

**Mots clés :** Poacées, blé, orge, sorgho, perméabilité cuticulaire, Fusiccocine, élongation foliaire, conductivité hydraulique, équation de Lockhart, la turgescence cellulaire, pression osmotique cellulaire.

## مساهمة في دراسة نفاذية الأدمة والحد البيوفيزيائي لاستطالة خلايا أوراق النجيليات

تنحصر الاستطالة الورقية عند النجيليات في الجزء القاعدي للورقة الممتد على 20 - 50 مم والمحاط كلياً بأغمد هذا يمكن أن تكون هذه المنطقة مادة بيولوجية مناسبة لتطبيق العديد من المعاملات وقياس مختلف العوامل المراد دراستها. الهدف من الجزء الأول من هذه الدراسة يتمثل في تقييم نفاذية الأدمة لأوراق القمح (*Triticum durum*) (*Sorghum bicolor*) على طول منطقة الاستطالة للورقة الثالثة، من خلال تحليل نفاذية الأوراق لأزرق الطولويدين والتقدير الكمي لشد . أظهرت نتائج النفاذية الأدمية لأزرق الطولويدين أن التلوين انحصر في المنطقة القاعدية للورقة المدروسة (25 - 30) (20 - 25) . هذه النتائج سرعة التلوين سريعة في مستوى السنتمرات الأولى ثم تباطأت بعد ذلك عند نوعي الذ . أظهر تحليل شموع باستخلاص أن نفاذية الأدمة لأوراق القمح والسرغو تنخفض كلما ابتعدنا عن نقطة التحام الورقة. أظهر تحليل شموع الأدمة نتائج عكسية من حيث الكم، إذ أن كمية شموع الأدمة تزداد كلما ابتعدنا عن نقطة قاعدة الورقة، وهو ما يفسر تباطؤ سرعة التلوين وانخفاض نفاذية الأدمة كلما ابتعدنا عن قاعدة الورقة.

خصص الجزئين الثاني والثالث من هذه الرسالة لتقييم العلاقة بين تغيرات الاستطالة الورقية والخصائص الهيدروليكية والميكانيكية النسيجية للورقة الثالثة لنبات الشعير (*Hordeum vulgare* L.) تحت تأثير معاملات طبقت موضعياً على مستوى منطقة الاستطالة. تؤثر هذه المعاملات على نشاط مضخة البروتونات  $H^+$ -ATPase (الفيسيوكوكين، FC) ، نقل البوتاسيوم (رباعي إيثيل الأمونيوم، TEA و كلور السيزيوم CsCl) (HgCl<sub>2</sub> et H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). بينت متابعة معدلات الاستطالة الورقية (LERS) على المدى القصير بواسطة جهاز LVDT مادة الفيسيوكوكين أدت إلى ارتفاع معنوي لمعدلات الاستطالة الورقية والتي ظهر كمن يقدر بـ 20 - 25 دقيقة. في حين أن المواد TEA CsCl HgCl<sub>2</sub> أدت إلى انخفاض هذه المعدلات. تم كذلك ملاحظة عدم الارتباط الظاهري بين تحفيز النمو عن طريق الفيسيوكوكين وامتصاص البوتاسيوم والذي يمكن تفسيره بأن المعاملات لم تكن تحتوي على الكالسيوم Ca<sup>2+</sup> أو أيون آخر ثنائي التكافؤ إضافة إلى أن فراغات Donnan والتي تمثل خزان كبير للبوتاسيوم في الجدار الخلوي يمكنها أن توفر هذه الأيونات بكميات كبيرة للحفاظ على النمو لمدة ساعات طويلة حتى في غياب البوتاسيوم.

بعد قياس عوامل البيوفيزيائية وقصد الحصول على معلومات حول فرق الجهد المائي ( ) الذي يسمح بانتقال الماء ن خلايا بشرة منطقة الاستطالة الورقية، تم استعمال معادلة Lockhart من خلال رسم المنحنيات التي تربط REGR P . كانت العلاقة بين REGR P خطية، طردية ومعنوية ذات عتبة ظاهرية كلية انتفاخ يحتاجه النمو (Y) 0.365 MPa. يمكن على أساس هذا تفسير الفروقات في النمو بين مختلف المعاملات من . بينت المقارنة بين M L أنه تم الحد من النمو تعاونياً بين الخصائص الهيدروليكية والميكانيكية وهذا بدرجات متفاوتة في كل المعاملات ما عدا المعاملة بالفيسيوكوكين. ترافق هذا م تسجيل معنوية الجهد المائي ( ) (MPa 0.24-0.17) بين أوعية الخشب وخلايا البشرة لمنطقة الاستطالة. يعود الحد الهيدروليكي 50 % للناقلية الهيدروليكية L. من جهة، تثبيط قنوات نقل aquaporines و التداخل والتنظيم التعاوني بين نقل البوتاسيوم والماء، ومن جهة أخرى إلى بعض التركيب التشريحية الخاصة بأوراق النجيليات والمتمثلة في غمدين يحيطان الحزم الوعائية (الغمد البرنثيمي وغمدة mestome). أما بالنسبة للأوراق التي تم معاملتها بمادة الفيسيوكوكين الناقلية الهيدروليكية L 10 كانت أكبر بكثير من M (L >> M)، في حين أن كان قريباً من الصفر، مما يؤدي إلى اقتراح أن الحد من النمو في هذه الأوراق كان بسبب الخصائص البيوميكانيكية.

أبرزت هذه الدراسة الحاجة إلى قياس ضغط الانتفاخ P على المستوى الخلوي عند اشتقاق قيم الجهد ( ) من قيم P  $\pi$  وعند الاستخلاص حول تغيرات  $\pi$  . إن استعمال قيم الضغط الأسموزي الكلي للورقة يمكنه أن يخفي الانخفاض المميز لـ  $\pi$  لخلايا البشرة استجابة للفيسيوكوكين. إن استجابة خلايا البشرة المميزة للضغط الأسموزي  $\pi$  يمكنها توجيه استجابة الورقة للفيسيوكوكين لأن البشرة قادرة أن تحد ميكانيكياً

## ABSTRACT

### **CONTRIBUTION TO THE STUDY OF CUTICULAR PERMEABILITY AND BIOPHYSICAL LIMITATION OF CELL ELONGATION OF GRASS LEAVES**

Leaf elongation of grasses is limited in the basal region of the leaf which extends to a length of 20 to 50mm and is completely enveloped by sheaths of older leaves. Therefore, this region could be considered as a suitable biological material for the application of different test reagents and the measurement of many parameters. The objective of the first part of this work was to evaluate the cuticular permeability of durum wheat (*Triticum durum*) and sorghum (*Sorghum bicolor*) leaves, by analyzing the time-course of toluidine blue uptake and the cuticular waxes content along the elongation zone of the third leaf. The results of cuticular permeability to toluidine blue showed that staining was localized at the base of the analyzed leaf (25 to 30mm) for durum wheat and (20 to 25mm) for sorghum. In both species, the rate of toluidine blue uptake was fast in the first few centimeters and then it was slow in the distal region of the elongation zone. These results allow us to conclude that the cuticular permeability of durum wheat and sorghum leaves decrease from the leaf insertion point to the distal part of the leaf. Quantitative analysis of cuticular waxes showed an opposite progression profile, cuticular wax content increases from the leaf insertion point to the distal part of the leaf, this may explain the reduced rates of dye uptake and the decrease of cuticular permeability from the leaf insertion point to the distal part of the leaf.

The second and the third parts of this thesis was devoted to evaluate the regulation of leaf elongation through mechanical and hydraulic properties of leaf three of barley (*Hordeum vulgare* L.) in response to agents applied locally to the leaf elongation zone. These treatments affect the PM-H<sup>+</sup>-ATPase activity and wall acidification (Fusicoccin, FC), potassium transport (tetraethylammonium, TEA and CsCl) and water transport (HgCl<sub>2</sub> and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Short term (1-4h) recording of leaf elongation rates (LERs) by LVDT showed that fusicoccin caused a significant increase in LER with a lag time of 20 to 25 min of treatment. However, TEA, CsCl and HgCl<sub>2</sub> reduced leaf elongation rate. An apparently K<sup>+</sup>-independent FC-induced growth was also observed in this study, which may be explained by the fact that this treatment did not contain Ca<sup>2+</sup> or another divalent ion. Furthermore, the apoplastic Donnan space, which is a huge reservoir of K<sup>+</sup>, can provide these ions in sufficient amounts to maintain growth for several hours even in the absence of K<sup>+</sup>. After the measurement of biophysical parameters and in order to obtain information about water potential difference ( ) driving water uptake into growing epidermal cells of the EZ, the Lockhart equation was used by plotting REGR against P and REGR against . The relationship between REGR and P was linear positive and significant with an overall apparent yield threshold (Y) of 0.365 MPa. Differences in growth between treatments could be explained by differences in P. The comparison of M and L showed that growth in all applied treatments except the FC treatment was co-limited, to different extents, through hydraulic and mechanical properties. This was accompanied by significant (0.17-0.24 MPa) differences in water potential ( ) between xylem and epidermal cells in the leaf elongation zone. Hydraulic limitation was due to a decrease of more than 50% of hydraulic conductance. This reduction in L was attributed on one hand to aquaporins inhibition and the co-regulation and the interaction between potassium and water transport, and on the other hand, to some anatomical structures characterizing leaf grasses (two sheaths surrounding vascular bundles: parenchymatous and mestome sheaths). In FC-treated leaves, L increased 10-fold and was greater than M (L >> M), however, was close to zero; this suggests that growth in these leaves was more limited by mechanical properties.

The present study highlights the need to measure P and  $\pi$  at the cell level when deriving cellular (and ) from values of P and  $\pi$  and when concluding on changes in cellular  $\pi$ . A bulk leaf analysis of  $\pi$  would have masked the epidermal cell-specific decrease in p in response to FC. The epidermis-specific response in  $\pi$  may govern the leaf response to FC, as the epidermis is thought to limit mechanically the growth of plant organs.

---

**Key words:** Grasses, wheat, barley, sorghum, cuticular permeability, fusicoccin, leaf elongation, hydraulic conductivity, Lockhart equation, cell turgor, cell osmotic pressure.