

J. BRZOWSKA

**ÉTUDE
DE LA CARENCE EN SOUFRE
ET QUELQUES ASPECTS
DU MÉTABOLISME DU SOUFRE
CHEZ L'ARACHIDE**

OFFICE DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

ET TECHNIQUE OUTRE-MER





ÉDITIONS DE L'OFFICE DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE OUTRE-MER

RENSEIGNEMENTS, CONDITIONS DE VENTE

Pour tout renseignement, abonnement aux revues périodiques, achat d'ouvrages et de cartes, ou demande de catalogue, s'adresser à :

SERVICE CENTRAL DE DOCUMENTATION DE L'ORSTOM
70-74, route d'Aulnay, 93 - BONDY (France)

— Tout paiement sera effectué par virement postal ou chèque bancaire barré, au nom du Régisseur des Recettes et Dépenses des SSC de l'ORSTOM, 70-74, route d'Aulnay, 93 - BONDY; compte courant postal n° 9.152-54 PARIS.

— Achat au comptant possible à la bibliothèque de l'ORSTOM, 24, rue Bayard, PARIS (8°).

REVUES ET BULLETINS DE L'ORSTOM

I. CAHIERS ORSTOM

a) Séries trimestrielles :

- Pédologie (1) — Sciences humaines
- Océanographie — Hydrologie
- Hydrobiologie — Entomologie médicale et Parasitologie

Abonnement : France 90 F ; Etranger 110 F ; le numéro 25 F

b) Série semestrielle :

- Géologie.

Abonnement : France 70 F ; Etranger 75 F

c) Séries non encore périodiques :

- Biologie (3 ou 4 numéros par an)
- Géophysique

Prix selon les numéros

II. BULLETINS ET INDEX BIBLIOGRAPHIQUES

- Bulletin analytique d'Entomologie médicale et vétérinaire Mensuel

Abonnement : France 70 F ; Etranger : 80 F ; le numéro 8 F

- Index bibliographique de Botanique tropicale Trimestriel

Abonnement : France 25 F ; Etranger 30 F

(1) Masson et Cie, 120, bd Saint-Germain, Paris-VI*, dépositaires de cette série à compter du vol. VIII, 1970. Abonnement étranger : 124 F.

Dans la même collection des Mémoires de l'ORSTOM doit paraître au cours du 4^e trimestre de l'année 1971 :

P. HANOWER :

Répercussion de la déficience en soufre sur certains aspects du métabolisme de l'azote chez l'arachide, format 21 x 27, 115 pages, 27 fig., 1 pl. couleur.

ÉTUDE
DE LA CARENCE EN SOUFRE
ET QUELQUES ASPECTS
DU MÉTABOLISME DU SOUFRE
CHEZ L'ARACHIDE

.....
« La loi du 11 mars 1957 n'autorisant, aux termes des alinéas 2 et 3 de l'article 41, d'une part, que les « copies ou reproductions strictement réservées à l'usage privé du copiste et non destinées à une utilisation collective » et, d'autre part, que les analyses et les courtes citations dans un but d'exemple et d'illustration, « toute représentation ou reproduction intégrale, ou partielle, faite sans le consentement de l'auteur ou de ses ayants droit ou ayants cause, est illicite » (alinéa 1^{er} de l'article 40).

Cette représentation ou reproduction, par quelque procédé que ce soit, constituerait donc une contrefaçon sanctionnée par les articles 425 et suivants du Code Pénal.

.....

MÉMOIRES O.R.S.T.O.M. N° 49

ÉTUDE
DE LA CARENCE EN SOUFRE
ET QUELQUES ASPECTS
DU MÉTABOLISME DU SOUFRE
CHEZ L'ARACHIDE

Janina BRZOWSKA

O.R.S.T.O.M.
PARIS
1971

NOTE LIMINAIRE.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à Monsieur le Professeur G. CAMUS, Directeur Général de l'Office de la Recherche Scientifique et Technique Outre-Mer, qui m'a permis de réaliser ce travail dans le cadre du laboratoire de Métabolisme de l'O.R.S.T.O.M. et qui m'a fait le grand honneur de présider ce Jury.

J'exprime aussi ma vive reconnaissance à Monsieur le Professeur C. LIORET qui m'a encouragée à entreprendre cette thèse, en a suivi de près l'élaboration et m'a aidée par ses précieux conseils.

Mes remerciements vont également à Monsieur le Professeur A. BRUNEL, dont les suggestions m'ont été d'une grande utilité.

J'exprime toute ma reconnaissance à Mademoiselle M. GOAS, Professeur à la Faculté des Sciences de Rennes, d'avoir bien voulu accepter de suppléer au Jury de cette thèse, Monsieur le Professeur A. BRUNEL accidenté.

Je tiens encore à rendre hommage à Monsieur le Docteur P. PREVOT, qui m'a mise sur la voie de mes recherches sur le métabolisme du soufre chez l'arachide.

Que Monsieur le Docteur P. SEGALEN, Directeur des Services Scientifiques Centraux de l'O.R.S.T.O.M., trouve ici l'expression de ma sincère reconnaissance pour le concours qu'il m'a apporté dans la réalisation matérielle de mon travail.

Monsieur P. HANOWER, qui a étroitement collaboré à cette étude, m'a constamment fait bénéficier de toute sa compétence. Qu'il soit assuré de ma profonde gratitude.

Je remercie également Monsieur A. KOBYLANSKY, traducteur à l'O.R.S.T.O.M., pour ses conseils relatifs à la rédaction de ce mémoire.

Enfin j'adresse des remerciements tous particuliers à Messieurs CAS et CHEZEAU, Mademoiselle LEBLANC et Madame RAILLOT, techniciens du Laboratoire de Métabolisme, ainsi qu'à Messieurs BILLARD, CHRISTMANN et PELLETIER, chargés des travaux de culture, pour leur précieuse collaboration technique.

TABLE DES MATIÈRES

| | |
|---|----|
| INTRODUCTION..... | 1 |
| <i>Première partie : MATÉRIEL ET TECHNIQUES</i> | 3 |
| 1. — CULTURES..... | 3 |
| 2. — ÉCHANTILLONNAGE DU MATÉRIEL VÉGÉTAL..... | 7 |
| 3. — MÉTHODES ANALYTIQUES..... | 9 |
| A. <i>Dosage du soufre</i> | 9 |
| B. <i>Dosage de l'azole</i> | 10 |
| C. <i>Chromatographie sur papier des acides aminés</i> | 10 |
| D. <i>Détermination de l'activité décarboxylante due aux composés thiols</i> | 11 |
| 4. — UTILISATION DU SOUFRE RADIOACTIF..... | 12 |
| A. <i>Fourniture de $^{35}\text{SO}_4^{--}$</i> | 12 |
| B. <i>Autoradiographie</i> | 12 |
| C. <i>Autoradiochromatographie</i> | 14 |
| D. <i>Mesure de la radioactivité</i> | 14 |
| <i>Deuxième partie : PARTIE EXPÉRIMENTALE</i> | 17 |
| I. -- Influence de la carence en soufre sur la croissance et le développement .. | 17 |
| A. — INTRODUCTION..... | 17 |
| B. -- RÉSULTATS..... | 19 |
| 1° <i>Appareil végétatif</i> | 20 |
| a) <i>Coloration</i> | 20 |
| b) <i>Morphologie</i> | 21 |
| c) <i>Développement pondéral</i> | 25 |
| 2° <i>Appareil reproducteur</i> | 28 |
| a) <i>Floraison</i> | 28 |
| b) <i>Fructification</i> | 29 |
| 3° <i>Matière sèche totale</i> | 32 |
| C. --- CONCLUSIONS..... | 33 |

| | |
|---|----|
| II. — Répartition du soufre entre différents organes de la plante. Variations au cours du cycle végétatif..... | 35 |
| A. — INTRODUCTION..... | 35 |
| B. — RÉSULTATS ET DISCUSSION..... | 41 |
| 1° <i>Évolution du soufre total au cours de la croissance.....</i> | 41 |
| a) Teneurs des plantes en soufre..... | 42 |
| b) Soufre en mg par organes de dix plantes..... | 49 |
| 2° <i>Différentes formes de soufre.....</i> | 51 |
| 3° <i>L'effet de la carence sur la teneur des protéines en soufre....</i> | 58 |
| C. — CONCLUSIONS..... | 59 |
| III. — Recherche de l'activité décarboxylante due aux composés thiols..... | 61 |
| A. — INTRODUCTION..... | 61 |
| B. — RÉSULTATS..... | 62 |
| C. — CONCLUSIONS..... | 64 |
| IV. — Absorption et transport du ³⁵ S..... | 65 |
| A. — INTRODUCTION..... | 65 |
| B. — RÉSULTATS ET DISCUSSION..... | 68 |
| 1° <i>Vitesse d'absorption et de transport du ³⁵S chez l'arachide..</i> | 68 |
| a) Absorption racinaire..... | 69 |
| b) Absorption foliaire..... | 69 |
| 2° <i>Absorption et distribution du ³⁵S en fonction du temps de contact avec le traceur et de l'âge de la plante — autoradiographie.....</i> | 70 |
| a) Arachide au stade de 5-6 feuilles..... | 70 |
| b) Arachide au stade de la floraison..... | 71 |
| 3° <i>Redistribution du ³⁵S en fonction de la durée de la période qui suit le contact — autoradiographie.....</i> | 71 |
| 4° <i>Influence de la carence en soufre sur l'absorption et la redistribution du ³⁵S.....</i> | 73 |
| a) Autoradiographie..... | 73 |
| b) Mesures de radioactivité..... | 77 |
| C. — CONCLUSIONS..... | 81 |
| V. — Utilisation du ³⁵ S..... | 85 |
| A. — INTRODUCTION..... | 85 |
| B. — RÉSULTATS..... | 88 |
| 1° <i>Arachide au stade de 3 feuilles — plantes sur eau.....</i> | 88 |
| a) Radioactivité des fractions soluble et protéique en fonction du temps de contact avec le radio-sulfate — comptage..... | 89 |

| | |
|--|-----|
| <i>b)</i> Incorporation du ^{35}S dans les composés solubles et dans les acides aminés protéiques en fonction du temps de contact avec le radiosulfate..... | 91 |
| 2° <i>Arachide carencée et non carencée en soufre au stade jeune du développement (7-8 feuilles)</i> | 97 |
| <i>a)</i> Répartition de la radioactivité entre les fractions soluble et insoluble — comptage..... | 97 |
| <i>b)</i> Autoradiochromatographie..... | 98 |
| C. — DISCUSSION ET CONCLUSIONS..... | 105 |
| CONCLUSIONS GÉNÉRALES | 109 |
| BIBLIOGRAPHIE | 115 |

INTRODUCTION

L'existence de relations étroites entre le soufre et la matière vivante a été reconnue dès la plus haute antiquité. Depuis longtemps également, le soufre a été considéré comme un constituant constant des tissus végétaux et animaux — déjà LIEBIG (1803-1873) signalait la présence de cet élément dans la plante.

Cependant à cause d'une connaissance imparfaite des quantités de soufre présentes dans les tissus végétaux, que l'on croyait être très faibles, son rôle dans la nutrition des plantes a été longtemps sous-estimé, et par là-même, les réserves de soufre contenues dans les sols ont été considérées comme largement suffisantes pour couvrir les besoins des cultures en cet élément.

Ce n'est que dans les années 20-30 de notre siècle que la grande importance, non seulement qualitative mais également quantitative, du soufre pour la croissance et le développement des végétaux a pu être mise en évidence.

Simultanément le problème de la nécessité d'une alimentation suffisante des plantes en soufre a été posé, des nombreux cas de carence ayant été signalés, tout d'abord dans les sols d'Amérique, ensuite en Australie et en Nouvelle-Zélande ; les cas, quoiqu'isolés, d'extrême pauvreté des sols en soufre ont pu même être décelés en Europe et notamment en France. Plus tard, les expériences conduites en Afrique (Haute-Volta, Sénégal, Nigéria, Ghana, Tchad) ont permis de constater que les cas de carence en soufre sont relativement fréquents sur les cultures tropicales et notamment sur l'arachide et le cotonnier.

Ce n'est que récemment que le problème de la nécessité de restituer au sol le soufre exporté par les récoltes s'est posé.

Les besoins de la plante sont élevés et très variables suivant les espèces, d'où l'intérêt de connaître leurs teneurs en soufre, ce qui permettrait une restitution judicieuse de cet élément au sol.

Dans les cultures tropicales l'approvisionnement des sols en soufre est particulièrement important. En effet, ces sols subissent des pertes sensibles en cet élément par suite du lessivage. D'autre part, le soufre organique ne peut pas être dégradé par les microorganismes du sol par suite de la sécheresse.

A la lumière de ces considérations, des recherches sur l'absorption et le mouvement du soufre au sein de la plante révèlent un intérêt nouveau. D'autant plus que le problème de sa mobilité a été controversé. Ces controverses, quoique moins manifestes, subsistent encore.

Enfin, les techniques modernes (chromatographie, radioéléments) ont ouvert un champ nouveau aux recherches biochimiques. Avec le développement de nos connais-

sances dans ce domaine, de nouvelles modalités de la participation du soufre aux phénomènes vitaux sont apparues. Toutefois, malgré les progrès énormes qu'a fait, ces dernières années, la biochimie des composés soufrés en général, certains aspects du métabolisme du soufre chez les végétaux restent encore obscurs, entre autres, le mécanisme de la réduction des sulfates et les voies métaboliques conduisant du soufre minéral aux composés soufrés organiques.

C'est en tenant compte de toutes ces considérations que nous avons entrepris, au Laboratoire du Métabolisme de l'O.R.S.T.O.M., en collaboration avec M. HANOWER, des recherches sur l'action de la déficience en soufre sur le métabolisme général de l'arachide, du cotonnier et du mil.

Une partie de ces recherches fait l'objet de la présente thèse.

Première partie

MATÉRIEL ET TECHNIQUES

1. CULTURES.

A. — Choix du matériel végétal.

Nous avons eu à notre disposition deux variétés d'arachide sélectionnées par le Centre de Recherches Agronomiques de Bambey, au Sénégal : 28.204, appartenant au type Spanish, précoce, à port subdressé et 28.206, du type Virginia, tardive, subrampante à rampante.

Après une série d'essais préliminaires, nous avons retenu, comme matériel d'étude, la variété 28.204. Les symptômes visibles de la déficience en soufre chez cette variété apparaissaient très tôt et étaient très marqués, contrairement à ce que nous avons pu observer sur la 28.206. D'autre part, étant une variété précoce, — son cycle de vie s'étend au Sénégal à 90 jours — elle nous offrait l'avantage de pouvoir mener les cultures jusqu'à un stade avancé. Toutefois, dans nos conditions culturales, le cycle vital se prolonge sensiblement. De ce fait et étant donné que la période d'expérimentation dans une serre non chauffée s'étend à 4-4 mois $\frac{1}{2}$ au maximum, la pleine maturité est difficile à atteindre.

B. — Semis.

Les études portant sur la déficience en soufre, nous avons pris soin d'éviter que les gousses et les graines destinées aux semis soient traitées par des insecticides dans la composition desquels cet élément entre.

Les poids des graines d'arachide en provenance de Bambey varient entre 70 et 700 mg.

Nous avons sélectionné, pour les semis, des graines pesant entre 400 et 500 mg, lesquelles étaient les plus représentatives et constituaient plus du tiers des lots.

Les semis ont été effectués sur sable jaune à grains ronds, lavé à l'acide chlorhydrique et rincé à l'eau permutée.

C. — Conditions culturelles.

Les plantes ont été cultivées en serre à Bondy en culture sans sol, sous éclairage naturel. Pour toutes les études n'impliquant pas l'emploi des radiotraceurs, la technique de la culture en pots sur sable et par solutions récupérées a été utilisée, les semis étant généralement faits sur place. Les cultures ont été aérées de nuit. Les pots en grès très lourds et peu maniables utilisés jusqu'à 1964 (fig. 1a) ont été remplacés en 1966 par des pots « Riviera » modifiés (fig. 1b).

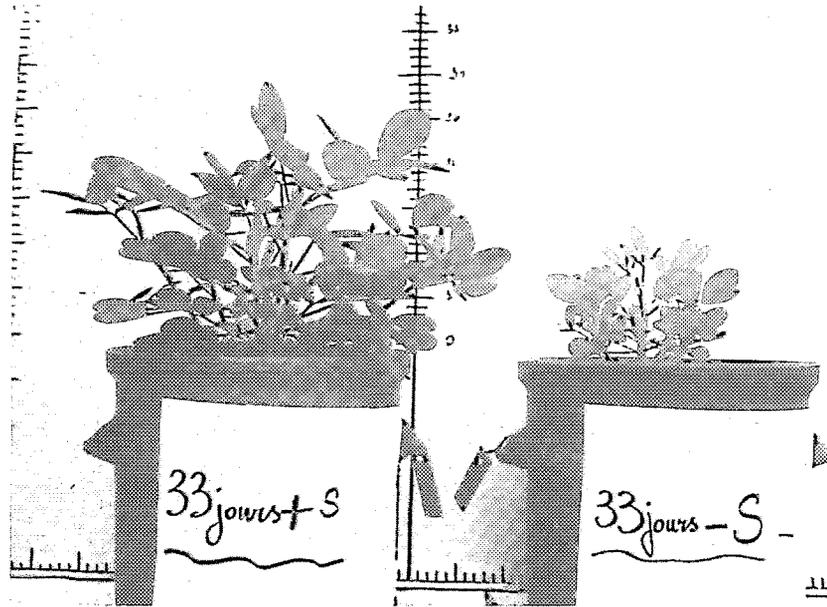


Fig. 1 a. — Culture sur sable (Pots en grès)

Durant les expériences de 1962-1963, après l'élimination des germinations défectueuses, 4 plantes étaient laissées par pot ; 3 d'entre elles étaient prélevées aux stades de développement relativement peu avancés, de sorte qu'à la fin de l'expérimentation il ne restait qu'une seule plante par pot. Cette technique présentait cependant des inconvénients :

- les plantes se gênaient mutuellement en se masquant partiellement la lumière ;
- il était pratiquement impossible de prélever entièrement le système racinaire intact et de petits débris de racines restant, dans le sable, pouvaient constituer une source de soufre pour les plantes sans S.

C'est pourquoi à partir de l'année 1964, des pots individuels ont été employés dès le stade de 2-3 feuilles.

Pour les études avec les radiotraceurs, où les plantes étaient mises en contact racinaires avec la solution radioactive, la technique d'aquiculture en bocal individuel a été utilisée, afin d'éviter toute possibilité de traumatiser les racines (fig. 2). Les racines ont été aérées par barbotage continu de l'air.

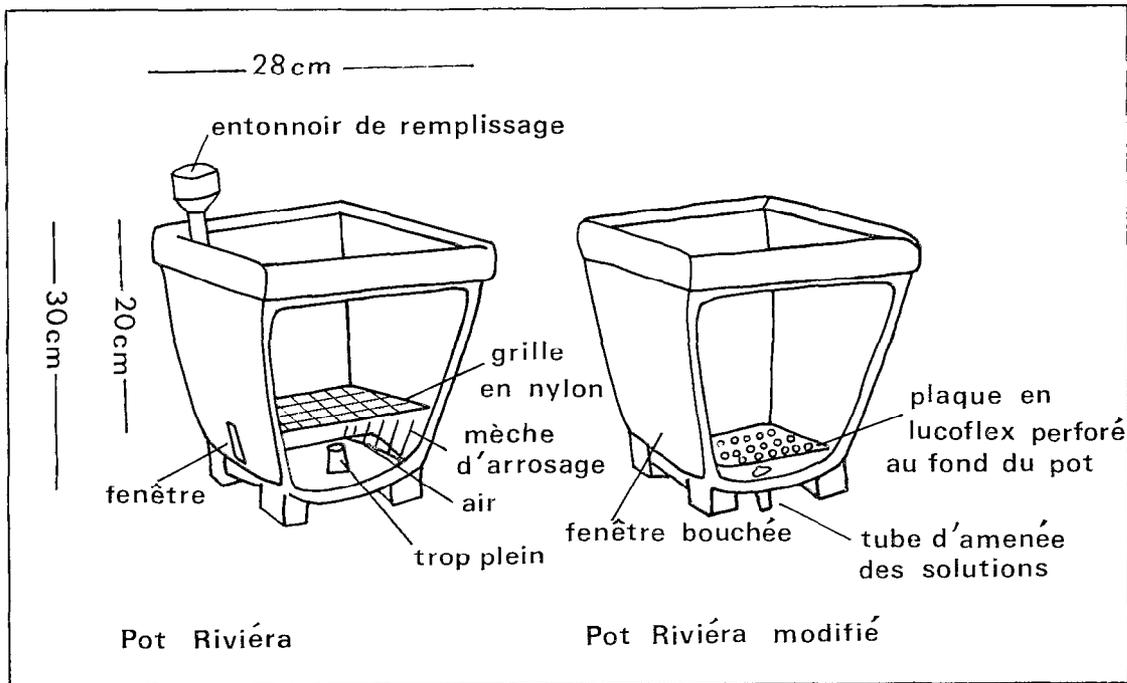


Fig. 1 b. — Culture sur sable (Pot Riviera modifié)

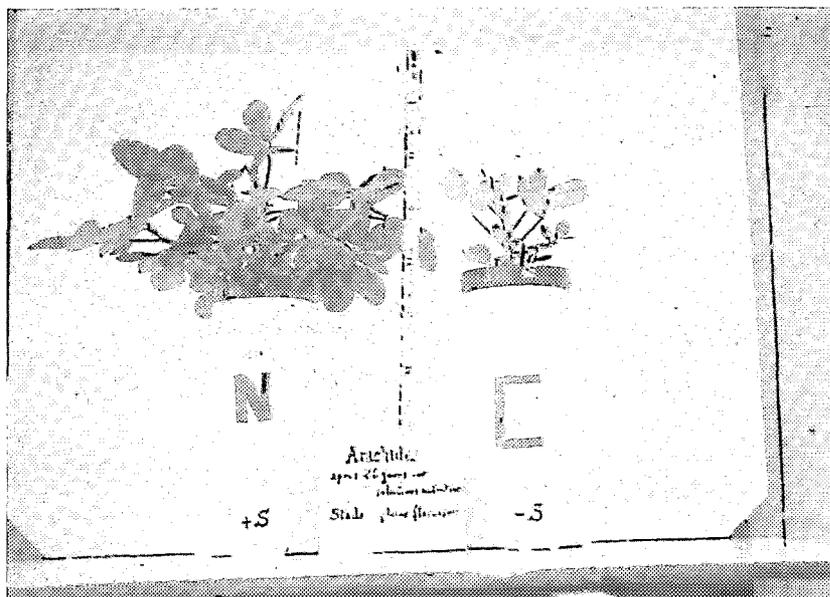


Fig. 2. — Aquiculture.

SOLUTIONS NUTRITIVES

Au stade de 3 feuilles deux régimes nutritionnels ont été appliqués : solution nutritive complète (+S) et solution nutritive sans soufre (-S).

La solution nutritive adoptée, du type LONG ASHTON [125], avait la composition suivante :

Macro-éléments

| | |
|---|----------|
| NO_3K | 202 mg/l |
| $(\text{NO}_3)_2\text{Ca}$ anhydre..... | 656 mg/l |
| $\text{PO}_4\text{H}_2\text{Na}$, 2 H_2O | 208 mg/l |
| SO_4Mg , 7 H_2O | 368 mg/l |

ou

| | |
|---|----------|
| Cl_2Mg , 6 H_2O | 304 mg/l |
|---|----------|

Micro-éléments

| | |
|---|------------|
| Cl_3Fe (transformé en citrate)..... | 16,25 mg/l |
| Cl_2Mn , 4 H_2O | 1,98 mg/l |
| Cl_2Cu , 2 H_2O | 0,17 mg/l |
| Cl_2Zn anhydre..... | 0,14 mg/l |
| BO_3H_3 | 1,86 mg/l |
| Mo_7O_{24} $(\text{NH}_4)_6$, 4 H_2O | 0,035 mg/l |

Somme des cations et des anions en méq/l

| <i>Cations</i> | | <i>Anions</i> | |
|------------------------|------|--------------------------|------|
| K^+ | 2 | NO_3^- | 10 |
| Ca^{++} | 8 | PO_4^{--} | 4 |
| Na^+ | 1,3 | SO_4^{--} | 3 |
| Mg^{++} | 3 | ou | |
| H^+ | 2,7 | Cl^- | |
| <hr/> | | <hr/> | |
| Total..... | 17,0 | Total..... | 17,0 |

Le pH de la solution prête à l'emploi = 5,5-5,6.

P.O. en atm. = 0,5.

Dans la solution -S l'ion chlorure remplaçait l'ion sulfate. C'est la raison pour laquelle on ajoutait aux deux solutions en plus des sels mentionnés ci-dessus, 58,5 mg/l de ClNa , soit 1 méq/l.

Le fer a été ajouté sous forme de citrate ferrique, préparé selon HEWITT [125].

ENTRETIEN ET RENOUVELLEMENT DES SOLUTIONS NUTRITIVES

Chaque semaine les solutions nutritives étaient renouvelées après ringage des plantes avec de l'eau déminéralisée.

En plus des renouvellements hebdomadaires, on ajoutait tous les deux jours du citrate ferrique, pour pallier la perte due à la précipitation partielle du fer.

Jusqu'en 1965, l'irrigation et l'aération s'effectuaient manuellement. Tous les soirs vers 17 heures les solutions étaient récupérées dans des bouteilles. Chaque matin la perte occasionnée par l'évaporation et la transpiration a été compensée par addition d'eau désionisée. Vers 9 heures, les solutions étaient versées dans les pots de culture.

A partir de 1965 ces opérations s'effectuaient automatiquement au cours de la nuit. Chaque nuit chacune des solutions (+S et -S) étaient récupérées, complétées à leur volume initial et homogénéisées.

De ce fait les concentrations en sels étaient rigoureusement les mêmes dans chaque pot et pour chacun des lots.

Le système, imaginé à cet effet, a grandement facilité le travail. Il eut aussi l'avantage d'uniformiser et d'homogénéiser les conditions dans les pots de culture : l'évaporation étant automatiquement compensée par de l'eau échangée et les solutions en provenance des pots étant rebrassées et uniformément réparties dans tous les pots. L'avantage de ce système, et non le moindre, consiste dans le fait qu'il permet d'apporter les solutions nutritives très tôt le matin et de mettre les racines en aération tard dans la soirée.

Afin d'éviter la formation d'algues on a pris soin de couvrir le sable dans chaque pot d'une couche de granulés en plastique noir.

TEMPÉRATURE ET HUMIDITÉ

La température dans la serre, chauffée uniquement par un chauffage d'appoint, variait évidemment dans de larges limites. La température de nuit n'est cependant jamais descendue au-dessous de 18° C. Par contre, le jour, en plein été, des maxima de 35 à 40° C ont été enregistrés.

L'hygrométrie convenable de la serre était assurée par des humidificateurs du type « Defensor ».

NODOSITÉS

Il est à noter que dans nos conditions culturales les racines d'arachide se développaient sans formation de nodosités.

2. ÉCHANTILLONNAGE DU MATÉRIEL VÉGÉTAL.**A. — Prélèvement des échantillons.**

En vue des analyses, des prélèvements ont été effectués aux différents stades de la végétation à raison de deux échantillons par traitement nutritionnel. Chaque échantillon était constitué de 5 à 10 plantes. Aux jeunes stades (2-3 feuilles) les échantillons se composaient de 20 à 30 plantules.

B. — Préparation des échantillons en vue des analyses.

FIXATION

Avant 1965, les plantes sont fractionnées en divers organes. Une partie du matériel est fixée dans l'alcool bouillant, l'autre séchée à l'étuve, sous vide, à la température de 60° C.

A partir de 1965, les plantes sont introduites dans une enceinte réfrigérée à —20° C (construite à cet effet), congelées et fractionnées dans l'enceinte en divers organes. Après le fractionnement, les échantillons sont lyophilisés pendant une nuit dans un appareil RP-10 SOGEV. Après broyage, les poudres végétales sont séchées pendant 24 heures à la température ambiante, sous vide, et en présence de chlorure de calcium et conservées à froid sous vide.

EXTRACTION ALCOOLIQUE

Après décantation de l'alcool de fixation, les organes végétaux sont broyés le plus finement possible et les broyats épuisés par de l'alcool à 80° GL sous réfrigérant ascendant à chaud.

Les solutions hydro-alcooliques sont concentrées sous vide à 40° C dans des évaporateurs rotatifs.

Une partie de la solution hydro-alcoolique sert aux dosages du soufre soluble.

L'autre partie de cette solution évaporée à sec dans l'évaporateur rotatif et reprise par de l'eau, sert pour la chromatographie des acides aminés libres.

Sur le résidu insoluble obtenu après épuisement par l'alcool on effectue les dosages de l'azote et du soufre protéiques ; il sert également, après hydrolyse par ClH (voir plus loin) pour la chromatographie des acides aminés protéiques.

Les échantillons lyophilisés sont soumis à cinq extractions successives :

- deux à l'alcool à 95° à froid,
- deux à l'alcool à 80° à froid,
- une à l'alcool à 80° à chaud.

HYDROLYSE DES PROTÉINES

Le résidu insoluble dans l'alcool aqueux est hydrolysé par de l'acide chlorhydrique 6N, à la température de 120° C, pendant 24 heures sous réfrigérant à reflux [53] [266].

Le liquide recueilli est évaporée sous vide jusqu'à siccité.

Le résidu sec est repris par l'eau et évaporé à nouveau à 6 reprises successives, pour éliminer totalement l'acide chlorhydrique.

Le résidu final est repris quantitativement par de l'eau.

Cette solution sert à la chromatographie des acides aminés protéiques.

3. MÉTHODES ANALYTIQUES.

A. — Dosage du soufre.

MINÉRALISATION

La poudre végétale est soumise à une minéralisation en présence d'une solution de nitrate de magnésium, suivie d'une calcination, selon la méthode A.O.A.C. [14] [140].

Ce processus d'oxydation est long et délicat ; cependant la présence de magnésium a pour conséquence d'augmenter la sensibilité du dosage néphéométrique.

DOSAGE DE L'ION SO_4^{--} PAR NÉPHÉLOMÉTRIE

Après toute une série d'essais préliminaires, nous avons retenu le mode opératoire de KROBER et HOWELL [140] modifié. Les modifications, d'après BUTTERS et CHENERY [54] concernent la substitution :

- 1/ de la solution de chlorure de baryum par du Cl_2Ba solide, broyé et calibré ;
- 2/ du dipropylène-glycol par une solution aqueuse de gomme d'accacia en tant qu'agent tensio-actif.

De plus, afin de réduire le fer (Fe^{+++}), éventuellement présent dans la solution à doser, nous l'additionnons d'une solution de chlorhydrate d'hydroxylamine.

Les mesures d'absorption ont été effectuées au spectrophotomètre Jean et Constant à 4680 Å.

Le soufre total a été dosé dans les poudres végétales finement broyées et dont la totalité a été passée au tamis de 0,4 mm.

Le soufre soluble a été dosé dans les extraits hydro-alcooliques et le soufre protéique dans les résidus insolubles dans l'alcool aqueux (voir extraction alcoolique).

De plus, en 1967, on a procédé à un fractionnement plus poussée des composés soufrés selon le schéma ci-dessous (fig. 3).

Le schéma primitif comportait encore un traitement du résidu insoluble dans l'alcool aqueux par HCl à 2,5 % (2 heures sous réfrigérant) suivi du dosage direct, dans l'extrait acide, du SO_4^{--} éventuellement libéré, d'après le procédé indiqué par ERGLE et EATON [95]. Mais les résultats des dosages n'ayant pas révélé la présence de soufre dans cette fraction, cette étape du fractionnement a été supprimée. Le soufre dosé dans le résidu insoluble dans l'alcool aqueux, après sa minéralisation, est considéré comme étant du soufre protéique.

La différence entre le soufre soluble total (minéral et organique) et le soufre des sulfates représente le soufre organique soluble.

Les dosages du soufre dans l'extrait chloroformique n'ont été effectués que pour les folioles et les tiges. On sait, en effet, que les glucolipides soufrés se trouvent uniquement dans les chloroplastes.

Étant donné les possibilités d'erreur dues aux faibles quantités de soufre à doser dans la fraction soluble des organes —S, à chaque série d'échantillons à doser, il est ajouté un témoin constitué par une solution de méthionine de concentration connue. Au cas où la différence trouvée pour la méthionine dépasse 5 %, tous les autres résultats obtenus pour la série sont éliminés et les dosages sont repris.

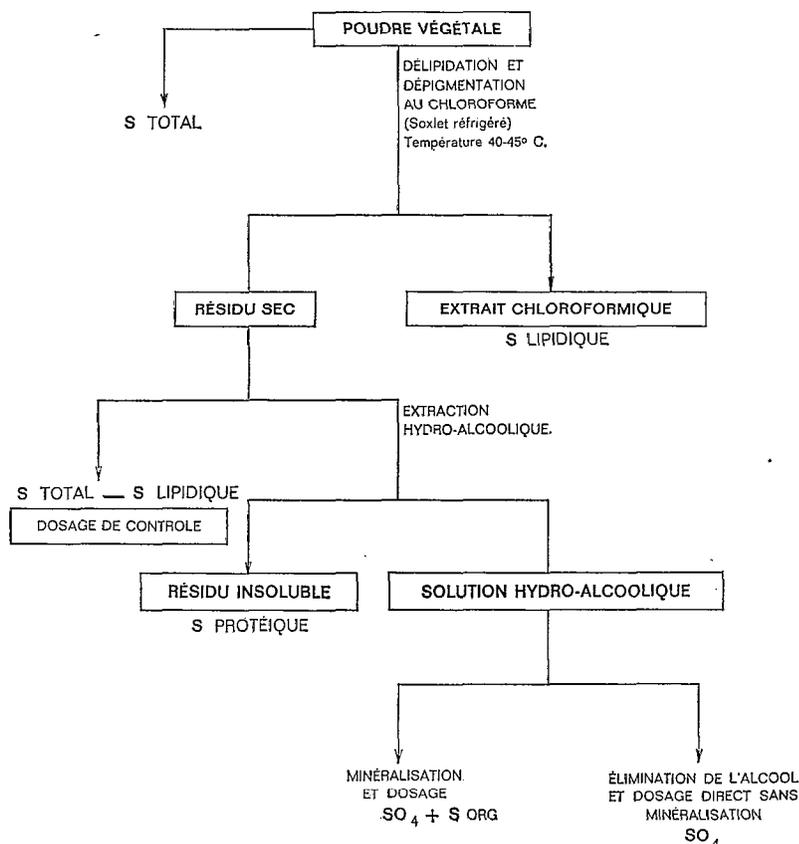


Fig. 3. — Schéma du fractionnement du soufre.

B. — Dosage de l'azote.

L'azote protéique est dosé par la méthode de KJELDAHL [42] dans les résidus insolubles dans l'alcool aqueux.

C. — Chromatographie sur papier des acides aminés.

Nous avons effectué des chromatographies sur papier bidimensionnelles descendantes, des acides aminés présents dans les solutions aqueuses des extraits végétaux d'une part, des acides aminés protéiques présents dans les solutions après hydrolyse acide des résidus végétaux insolubles d'autre part.

Pour la fraction dite soluble, les quantités de l'extrait déposées sur chromatogrammes correspondent soit à 40 mg de matière fraîche (essai 1965), soit à 6 mg de matière sèche (essai 1966-1967).

Pour la fraction dite protéique, les quantités de l'hydrolysate du résidu insoluble dans l'alcool aqueux déposées sur chromatogrammes correspondent, soit à 20 µg d'azote protéique (1965), soit à 1 mg de matière végétale sèche (1966-1967).

Les acides aminés soufrés sont, soit oxydés par l'acide performique [210] ou par

le perhydrol additionné de molybdate [235] avant d'être chromatographiés, soit chromatographiés directement sans oxydation préalable.

Le papier employé est du Whatman n° 1, les mélanges développants sont composés de phénol saturé d'eau en première dimension (entraînement de 18 à 21 heures, le phénol étant préalablement purifié selon la technique de DRAPER et POLLARD [82]) et butanol+acide acétique+eau (4/1/5) en deuxième dimension (entraînement de 28 heures) ; le mélange pour saturation des cuves se compose de la solution eau-phénol contenant 3 % d'ammoniaque, additionnée de CNK [235] [53]. La révélation des taches est réalisée par pulvérisation d'une solution de ninhydrine à 2 % dans de l'alcool à 95° contenant 2 % d'un mélange de collidine-lutidine (1 : 3), à laquelle on ajoute une pincée d'hydrindantine [236].

Le développement des chromatogrammes est réalisé dans une salle conditionnée à la température de 20° C.

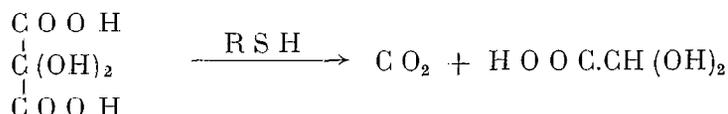
La révélation des taches s'effectue dans une atmosphère d'azote saturée par des vapeurs d'alcool, à la température de 60° C.

L'identification des composés soufrés positifs à la ninhydrine est faite par cochromatographie avec des solutions témoins, par l'emploi de témoins internes et par la réaction caractéristique au nitroprussiate (SH) [15].

D. — Détermination de l'activité décarboxylante due aux composés thiols.

PRINCIPE

L'activité mésoxalique déterminée selon la méthode décrite par BRUNEL-CAPELLE [43] [106], est basée sur la propriété des groupes —SH de provoquer la décarboxylation de l'acide mésoxalique selon la réaction :



La mesure de l'activité décarboxylante permet ainsi de localiser et d'apprécier, chez un végétal, l'ensemble des thiols solubles et protéiques.

L'importance de la décarboxylation peut être déterminée, soit par le dosage colorimétrique de l'acide glyoxylique engendré, soit par la mesure manométrique de l'anhydride carbonique.

Dans notre travail nous avons dosé l'acide glyoxylique.

La méthode est basée sur la mesure de l'intensité de la coloration rouge que donne l'acide glyoxylique avec le réactif de SHRYVER-FOSSE [97] (chlorhydrate de phénylhydrazine, ferricyanure de potassium, acide chlorhydrique concentré). La condensation de l'acide glyoxylique avec la phénylhydrazine a lieu en milieu neutre ; la phénylhydrazone qui se forme alors, est oxydée par le ferricyanure de potassium en présence d'acide chlorhydrique concentré.

PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL

| | E (essai) | T (témoin) |
|--|-----------|------------|
| Solution M/25 de mésoxalate de sodium dans un tampon phosphate-acide citrique de pH 2,2..... | 5 ml | — |
| Tampon phosphate-acide citrique de pH 2,9..... | — | 5 ml |
| Eau déminéralisée..... | 5 ml | 5 ml |
| Matériel végétal..... | 100 mg | 100 mg |
| Toluène..... | 0,05 ml | 0,05 ml |
| Température..... | 38° C | 38° C |
| Durée de l'essai..... | 2 heures | 2 heures |

Nota : l'addition au tampon de pH 2,2 du mésoxalate de sodium (M/25) amène ce pH à 2,9.

4. UTILISATION DU SOUFRE RADIOACTIF.

A. — Fourniture de $^{35}\text{SO}_4^-$.

Le soufre radioactif, sous forme de $^{35}\text{SO}_4\text{H}_2$, sans entraîneur, provient du C.E.A. de Saclay.

La dose généralement employée est de 1 mCi par litre de solution nutritive.

Dans les expériences réalisées en 1962, le $^{35}\text{SO}_4^-$ est ajouté à la solution nutritive complète et se trouve ainsi dilué par le sulfate non radioactif.

A partir de 1963, une modification a été apportée tendant à augmenter l'intensité de l'absorption du ^{35}S : le $^{35}\text{SO}_4^-$ est ajouté à la solution nutritive exempte de soufre.

Une expérience réalisée en 1962, a porté sur l'absorption foliaire du ^{35}S : lors du contact, une des feuilles — soit celle du sommet soit celle du milieu — a été trempée dans la solution radioactive tandis que les racines restaient plongées dans la solution non radioactive.

Dans toutes les autres expériences le contact des plantes avec le radiosulfate est radicaire.

Différents temps de contact plante—solution radioactive furent essayés allant de 15 secondes à 6 jours.

Suivant l'expérience, le contact avec la solution radioactive est suivi ou non d'une période de redistribution du ^{35}S au sein de la plante, soit dans H_2O , soit dans une solution nutritive non radioactive. La durée de la redistribution, variable selon le but poursuivi, est échelonnée de 15 minutes à 40 jours (pour l'étude du transport du ^{35}S au cours de la croissance).

B. — Autoradiographie.

PRÉPARATION DU MATÉRIEL VÉGÉTAL

Les plantes ont été autoradiographiées soit entières — lors des essais préliminaires — soit après sectionnement en feuilles, tiges et racines.

Nous avons été amené à procéder au sectionnement des plantes afin d'éviter la migration du radioélément d'un organe à un autre au cours du séchage précédant la mise en contact avec le radio-film.

La racines, très fortement radioactives, sont généralement éliminées et seules les tiges et les feuilles sont autoradiographiées.

Dans les cas où les racines sont radiographiées, elles sont rincées trois fois immédiatement après le contact avec le ^{35}S , à l'eau distillée.

La préparation du matériel végétal, en vue de l'autoradiographie, pose un problème assez difficile à résoudre d'une manière satisfaisante. Suivant la technique employée, des artéfacts dus au déplacement des éléments marqués au cours du séchage peuvent intervenir et modifier leur localisation au sein de la plante.

Ainsi par exemple, MILLIKAN [167] observe le phénomène de migration du manganèse radioactif du mésophylle vers les nervures dans les feuilles de pois séchées lentement à la température ambiante.

BIDDULPH et coll. [30] considèrent que toute lésion telle que le sectionnement des organes provoque un déplacement du radioélément à l'intérieur des tissus. Ils préconisent le séchage rapide, à l'étuve, des plantes intactes et emploient cette technique pour les plants de haricot ayant absorbé le ^{35}S .

Cependant RICE et coll. [197] signalent le mouvement de 2-4 D marqué lors du séchage des plantes entières à 60° C, et préconisent leur sectionnement. De même PALLAS et coll. [180] constatent un mouvement du 2-4 D marqué dans les feuilles et les tiges de haricot, au cours du séchage. Ils soulignent l'importance qu'il y a à procéder par fixation du matériel végétal par le froid, suivie de lyophilisation.

NELSON et coll. [175], à la suite d'une étude comparative des différents modes de préparation des autoradiogrammes des feuilles de soja traitées par ^{14}C et ^{32}P , préconisent une technique de fixation des feuilles découpées à -80° C suivie d'une exposition sur film à -20° C.

LEVY [148] signale un artéfact observé dans l'autoradiographie des plantes de haricot séchées à l'étuve à différentes températures. Contrairement aux constatations de MILLIKAN déjà cité, cet auteur observe que les nervures se vident du ^{32}P , qui s'accumule dans les tissus parenchymateux de la feuille. Le phénomène ne se produit pas dans les feuilles séchées par le froid sous vide.

L'emploi du froid exige cependant des installations spéciales et onéreuses. D'autre part, cette technique appliquée aux organes végétaux entiers rend difficile leur manipulation, plus particulièrement leur étalement sur films, les tissus végétaux rapidement congelés, plongés par exemple dans l'air liquide, devenant extrêmement fragiles et cassants.

Dans nos expériences, le séchage des plantes à l'air libre, utilisé en 1962, a été remplacé en 1963 par un séchage rapide à l'étuve à 120-130° C, suivi d'une dessiccation à une température plus basse. Ce mode de séchage a l'avantage de stopper rapidement le déplacement du ^{35}S à l'intérieur des organes. En effet, lors du séchage à l'air libre, nous avons observé la migration du radiotraceur des nervures vers le limbe de la feuille. Ce transport ne se produit pas lors du séchage rapide.

Le sectionnement de la plante en organes dès la fin du traitement permet une comparaison valable du marquage des feuilles de divers étages.

TECHNIQUE AUTORADIOGRAPHIQUE

Les organes végétaux secs sont mis en contact direct avec le film KODIREX (support bleu, émulsionné sur deux faces). Le temps d'exposition au film varie selon le taux de radioactivité des organes étudiés. Ce temps écoulé, le film est développé selon les méthodes classiques.

C. — Autoradiochromatographie.

Les chromatogrammes des acides aminés libres et protéiques sont réalisés dans les conditions décrites ailleurs (voir page 10).

Le film radiographique KODIREX est fixé sur le papier chromatographique et laissé en contact pendant un temps qui varie selon le taux de radioactivité de la fraction étudiée. Pour la fraction soluble, dont la radioactivité est plus importante, le temps d'exposition est généralement plus court, s'échelonnant entre 1 semaine et 2 mois ; pour la fraction insoluble ce temps variait entre 1 et 3 mois.

Ensuite le film est développé selon les méthodes classiques.

La superposition du film sur le chromatogramme, révélé à la ninhydrine, permet de localiser les composés radioactifs marqués au ^{35}S . La comparaison avec les taches de composés soufrés, utilisés comme témoins non radioactifs, révélés à la ninhydrine, facilite leur identification.

La radiochromatographie simultanée de la solution radioactive, avant le contact avec les plantes, rend possible la localisation des taches correspondant au ^{35}S minéral.

D. — Mesure de la radioactivité.

PRINCIPE

Les mesures de la radioactivité due au ^{35}S ont été effectuées selon la technique de DOHLMAN [80] modifiée.

Le principe de la technique de DOHLMAN repose sur une oxydation de la matière organique par un mélange sulfo-nitrique, complétée par l'action du perhydrol. Le résidu, après minéralisation, repris par H_2O , est déposé sur des coupelles en plomb, où le SO_4^- précipite, puis on passe ces dernières sous le compteur.

La modification que nous avons apportée concerne la fin des opérations : les coupelles en plomb utilisées par DOHLMAN, ont été remplacées par des rondelles de papier chromatographique WHATMAN n° 1.

La raison de cette modification est la suivante : lors du séchage du liquide sur coupelle, son centre se dessèche plus rapidement que les bords, où le liquide se rassemble en formant une couche plus épaisse ; de plus, malgré l'emploi de la graisse silicone, préconisée par DOHLMAN, les sulfates ont tendances à grimper le long des bords de la coupelle et à redescendre sur les parois externes. Outre les pertes possibles de substance à compter on risque de contaminer ainsi le support-coupelle.

De plus, la décontamination des coupelles est une opération longue et difficile

et le renouvellement de leur stock après chaque utilisation est impossible du fait de leur coût élevé.

Enfin, la reproductibilité des résultats s'est avérée meilleure avec des disques en papier qu'avec des coupelles.

MODE OPÉRATOIRE

Une partie aliquote du résidu aqueux (après minéralisation) est déposée sur une rondelle de papier WHATMAN n° 1 de 30 mm de diamètre. Après séchage, la rondelle est fixée par l'intermédiaire d'un plastique adhésif dans l'ouverture d'une coupelle de comptage en acier percée au centre sur un diamètre de 31 mm. Nous disposons ainsi d'une couche homogène dont l'épaisseur est identique, quelles que soient les quantités de traceur présent dans l'échantillon.

L'autoabsorption du rayonnement dans la source constituée de cette façon est par conséquent toujours la même et rend les échantillons parfaitement comparables les uns avec les autres.

On passe les coupelles ainsi préparées au compteur GEIGER-MÜLLER.

CARACTÉRISTIQUES DU COMPTEUR

— Compteur type cloche sans fenêtre à circulation de gaz constitué de 90 % d'argon et 10 % de méthane.

— Faible mouvement propre — 3 impulsions minute — par montage anti-coïncidence éliminant le bruit de fond dû aux causes secondaires.

— Très haute tension jusqu'à 5000 volts.

— Ensemble de comptage électronique à 5 décades à lampes.

— Un passeur automatique pour coupelles de 60 mm de diamètre et un imprimeur-marqueur de temps sur précomptage d'impulsions permettant des comptages par séries de 30 coupelles.

Le diamètre des disques de papier de 30 mm correspond à la moitié de la surface utile du compteur, ce qui assure une très bonne géométrie.

Le rendement est relativement élevé, c'est-à-dire 13 %.

La radioactivité totale des divers organes de la plante ayant absorbé le traceur est déterminée dans les poudres végétales finement broyées.

Les mesures de la radioactivité de la fraction soluble (^{35}S soluble) sont effectuées dans l'extrait aqueux utilisé pour la chromatographie des acides aminés libres, celles de la fraction protéique (^{35}S protéique) dans le résidu insoluble dans l'alcool aqueux.

Les taches des chromatogrammes correspondant aux différents composés radioactifs ont été découpées et leur radioactivité déterminée directement (sans minéralisation) de la manière décrite ci-dessus.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

1 — INFLUENCE DE LA CARENCE EN SOUFRE SUR LA CROISSANCE ET LE DÉVELOPPEMENT

A. — INTRODUCTION

La croissance de la plante est directement fonction, dans sa dépendance du milieu, d'un approvisionnement suffisant en éléments plastiques (protides, lipides) et, indirectement, de la fourniture en quantités suffisantes des éléments catalytiques (coenzymes). Le soufre est, à ce double titre, un élément essentiel pour la croissance des végétaux.

Cependant, pendant longtemps, la place du soufre dans la nutrition végétale a été négligée. Alors que beaucoup de recherches sont consacrées à la physiologie comparée des végétaux normaux et déficients en éléments minéraux tels que l'azote, le phosphore et le potassium, un nombre de travaux relativement restreint ont pour sujet la carence en soufre. Au reste, la plupart d'entre eux datent des 40 dernières années.

L'action du soufre sur la croissance se manifeste par le développement pondéral, dimensionnel ou morphologique du végétal ou par le rendement agronomique, c'est-à-dire le rendement en tel ou tel organe en particulier. C'est cet aspect agronomique qui est pris en considération dans la plupart des travaux portant sur le soufre. Leur but principal est l'amélioration des récoltes. Ce sont en premier lieu les cultures importantes du point de vue économique qui en font l'objet.

On peut citer à cet égard, à titre d'exemple, les travaux réalisés aux États-Unis [193] [164] [75] [185] [174] [247] [276] [119] [34] [69] [194] [156] [136] [121] [133] [74] [189], au Canada [20] [55], en Australie [4] [203] [5] [126] [259] [221] [219], en Nouvelle Zélande [211] [154] [261] [151] [160] [150], au Brésil [157] [158] [152], au Japon [6], en Afrique [109] [110] [263] [177] [205] [179] [62] [198] [220] [40] [187], en France [36] [37] [137] [66], aux Pays-Bas [253], en Suède [132] [112], en Norvège [178], ainsi que des articles de synthèse et de compilation [3] [76] [124] [105] [61] [136] [63] [98] [254] [129] [260].

Il ressort de l'ensemble de ces données que le manque de soufre se traduit par une réduction des rendements plus ou moins sensible selon le degré de carence et les espèces végétales. Parmi les symptômes visibles de carence, le plus caractéristique est la chlorose des feuilles qui ressemble à celle observée chez les plantes déficientes en azote.

Outre les travaux agronomiques, un certain nombre de recherches physiologiques ont été consacrées à l'étude des répercussions de la déficience en soufre sur la croissance et le développement des végétaux, de sorte qu'on possède des données abondantes sur les symptômes de carence chez certaines espèces.

Parmi ces recherches il faut citer, en premier lieu, l'étude sur la tomate de NIGHTINGALE et coll. [176], devenue classique, et suivie par toute une série d'études analogues d'EATON réalisées successivement sur le soja [84], le tournesol [85] [86], la moutarde noire [87] et la tomate [88]. Leur contribution à une meilleure compréhension du rôle du soufre dans les processus nutritionnels est incontestable.

La déficience en soufre en rapport avec la croissance a été étudiée par STOREY et LEACH sur le thé [223] qui représente le cas le mieux connu de maladie de carence, par McMURTREY sur le tabac [161] [162] et HEISERICH sur le tabac et le maïs [122], par HAAS et par CHAPMAN et BROWN sur les agrumes [113] [60], par ERGLE et EATON sur le cotonnier [95] [94], par MOSOLOV et VOLLEIDT sur le haricot, le sarrasin, la moutarde et l'avoine [170] et plus récemment, par TOKUNAGA et TOKUOKA sur le riz [243] [239] [242], par ASHBY et MIKA sur *Tiliar americana* [13], par ACCORSI et coll. sur le goyavier [1], par FUJIWARA et TORII sur 6 espèces végétales (betterave, tomate, blé, riz, soja, orge) [103], par CRANE et STEWARD sur la menthe [73], par Coïc et coll. sur l'orge [65] et le blé [66] et par BOUMA sur *Trifolium subterraneum L.* [38], pour ne mentionner que les travaux les plus caractéristiques.

Les symptômes généraux de carence décrits par les auteurs sont les suivants : croissance ralentie, réduction de poids et, dans la majorité des cas, de la taille des plantes, du diamètre des tiges, de la superficie des feuilles ; système racinaire moins fourni mais plus étendu ; rapport racines/parties aériennes plus élevé ; chlorose du feuillage (teinte jaunâtre). On note aussi, toutefois, des différences entre diverses espèces quant à leurs réponses au manque de soufre. Parfois même pour la même espèce les faits notés varient d'un auteur à l'autre, comme c'est le cas pour la tomate [176] [88].

Ainsi, selon l'espèce, les symptômes de carence apparaissent tôt — tournesol [85], tomate [88], cotonnier [95], ou se développent tardivement — soja [84], tomate [176]. La chlorose des feuilles commence par les feuilles supérieures — soja [84], moutarde noire [87], tomate [88], thé [223], oranger [60], menthe [73], ou inférieures — tomate [176], blé [66], ou encore se manifeste simultanément à tous les étages foliaires, sans gradient — tournesol [85], cotonnier [95]. Les feuilles, d'habitude décolorées uniformément sur toute leur surface, peuvent se transformer en mosaïque — thé [223]. Au jaunissement de feuilles s'ajoute parfois la formation d'anthocyane, modifiant leur teinte — tomate [176] [88], moutarde noire [87], canne à sucre [83]. La concentration en chlorophylle, caraténoides et xanthophylle diminue — luzerne [228] [231], cotonnier [94] et autres [179] [225].

Les tiges sont, soit de longueur réduite [85] [87] [95] [13], soit allongées anormalement [176]. Dans la tige la proportion de tissus lignifiés peut augmenter [176] [87] [67].

Le plus souvent la chlorose précède la réduction de la croissance [95] [73] [88] [161] [162] [223] mais l'inverse peut aussi se produire [87]. Il y a des cas où les deux symptômes se manifestent simultanément [85] [84]. Chez certaines espèces, les feuilles de base tombent — cotonnier [95], soja [84].

La floraison et la fructification peuvent être accélérées [176] [87].

Cette brève revue, tout en soulignant les ressemblances et les traits communs entre tous les végétaux, met en évidence les réponses particulières de chaque espèce au manque de soufre. D'où l'intérêt que peut présenter une recherche sur l'effet de la carence chez une espèce qui n'a pas encore été étudiée sous ce rapport. C'est le cas de l'arachide.

En effet, aucune étude systématique des répercussions de la déficience en soufre sur la croissance et le développement de l'arachide, basée sur des données numériques, n'a été réalisée. Les données trouvées dans la littérature sont incomplètes et fragmentaires.

Ainsi BURKHART et COLLINS [50] rapportent la coloration vert-pâle à jaunâtre des feuilles des jeunes plantes d'arachide carencées en soufre.

BLEDSE et HARRIS [35] comparent les effets de différentes carences minérales sur la croissance, la floraison et la fructification de l'arachide en supprimant la nutrition, soit du système racinaire, soit du système fruitier. Aucun symptôme extérieur n'est observé en cas de carence en soufre, hormis la croissance des plantes qui se trouve être réduite. La production de fleurs ne semble pas être affectée.

Les expériences de GREENWOOD [109] [110] au Nigéria du Nord mettent en évidence l'importance du soufre dans la nutrition de l'arachide. Les répercussions de la déficience en cet élément se traduisent par un jaunissement et une réduction de la superficie des feuilles, par une diminution du nombre des nodosités et surtout par des faibles rendements en graines et en parties aériennes.

WEBB [263] observe la décoloration du feuillage chez diverses espèces végétales carencées en soufre et parmi elles — chez l'arachide — mais ne constate pas de réduction de la masse végétale.

OLLAGNIER et PRÉVOT [179] [187] signalent les cas de carence en soufre sur l'arachide au Sénégal. Les réponses à cet élément sont très significatives et se traduisent par des augmentations importantes de rendement des gousses. Les plantes sans soufre se caractérisent par une teinte vert-pâle-jaunâtre et une croissance réduite.

Avant de présenter nos résultats concernant les répercussions de la déficience en soufre sur le développement, il nous semble utile de rappeler brièvement quelques notions générales sur la physiologie de l'arachide [186] [35].

L'arachide est sexuée très tôt, bien avant l'apparition des fleurs. Les premières fleurs proviennent de petits bourgeons situés à la base des bourgeons cotylédonaire, lesquels sont déjà bien formés dès la germination.

La plante forme ensuite successivement des gynophores, des fruits non mûrs et des fruits mûrs, les gousses. L'arachide est une des rares plantes dont l'ovaire de la fleur aérienne doit être transféré sous terre par un gynophore pour que la maturation du fruit puisse se produire normalement.

A la fin de son cycle vital la même plante présente à la fois ces diverses formations : fleurs, gynophores et gousses.

B. — RÉSULTATS

L'effet de la carence en soufre sur la croissance et le développement de l'arachide a été étudié au cours des années 1962-1967.

Lors de la première expérience réalisée en 1962 nous n'avons suivi le cycle évolutif qu'à partir du stade de 6 feuilles et jusqu'au début de la fructification, c'est-à-dire jusqu'à la formation des gynophores.

Par la suite, d'autres stades physiologiques ont été étudiés, d'une part plus jeunes, et d'autre part plus avancés, ce qui a permis de suivre le cycle évolutif de l'arachide dès son début jusqu'à la maturation des gousses. La pleine maturité n'a pas pu être atteinte, dans nos conditions expérimentales, à cause de la durée limitée de la période des cultures.

Les plantes ont été cultivées en serre, sur sable, dans les conditions décrites en détail dans le chapitre « Matériel et Techniques ».

Le dispositif expérimental comportait deux séries de pots de culture destinées aux traitements +S et -S.

Les semis ont été effectués à des époques différentes, entre avril et juin, selon l'année.

L'apport des solutions nutritives +S et -S a eu lieu au stade de 2-3 feuilles.

À divers stades du développement les plantes ont été prélevées, mesurées et fractionnées en organes, examinés et pesés séparément.

Les stades physiologiques ont été déterminés par rapport aux plantes témoins, se développant normalement.

Comme nous le verrons plus loin, dans leur ensemble les résultats des expériences de 1962 à 1967 concordent en ce qui concerne les principaux effets de la carence sur la croissance et le développement de l'arachide. Toutefois, ces expériences révèlent aussi des variations sensibles d'une année à l'autre, tant en ce qui concerne la croissance des plantes témoins que le degré de carence présenté par les plantes dépourvues de soufre.

Les différences entre les années résultent vraisemblablement des conditions météorologiques variables (température, ensoleillement) d'une part et des apports incontrôlés de soufre par l'atmosphère, dus aux fumigations insecticides plus ou moins fréquentes selon l'année (dans les serres voisines) d'autre part.

La carence la plus spectaculaire a été observée au cours des expériences de 1962 et 1966. L'année 1966 a été en même temps extrêmement favorable à la croissance des plantes d'arachide cultivées sur milieu complet.

Nous allons examiner successivement les effets du manque de soufre sur :

- l'appareil végétatif ;
- la floraison et la fructification.

Pour terminer, une estimation globale de la croissance sera effectuée en retenant, comme critère, l'évolution de la matière sèche totale.

1° — Appareil végétatif.

a) COLORATION

L'arachide se montre très sensible à la carence en soufre et ceci en dépit de ses réserves importantes contenues dans les cotylédons.

Les premiers symptômes visibles de carence apparaissent tôt, au stade de 5-6 feuilles, deux semaines environ après la levée, ce qui correspond à 10-11 jours de cultures sur milieu nutritif sans soufre ; ils se manifestent par un jaunissement, d'abord à peine perceptible, des feuilles les plus jeunes.

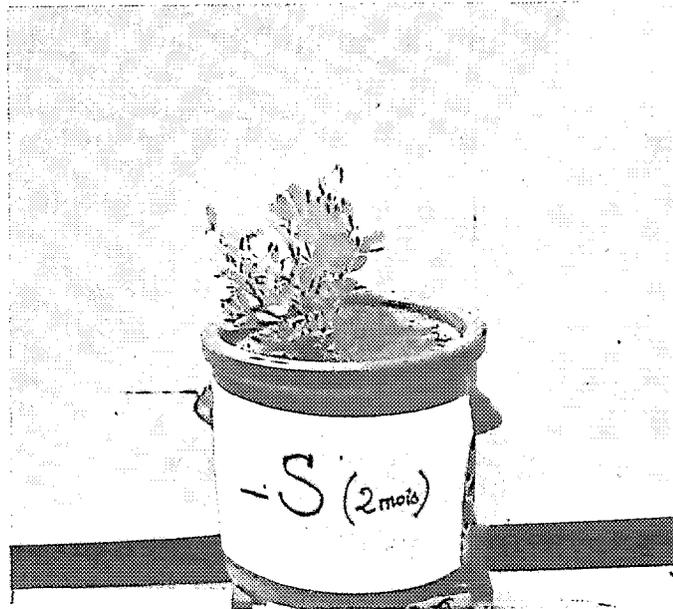


Fig. 4. — Plantes +S et -S après deux mois de nutrition

Le jaunissement commence à la base des folioles et, tout en s'intensifiant, envahit leur surface entière. Après 2-3 jours supplémentaires de croissance, la chlorose des feuilles supérieures devient très nette, tandis que les autres feuilles restent toujours bien vertes, de même que celles des plantes témoins.

Par la suite, la chlorose s'étend aux autres étages foliaires et gagne progressivement toutes les feuilles ainsi que les tiges. Au bout de 25-28 jours de croissance la partie aérienne tout entière devient vert clair, jaunâtre (fig. 4). On observe toujours cependant, un gradient de la décoloration qui va en diminuant du haut vers le bas de la plante. Le sommet se distingue du reste de la plante par une teinte plus claire, plus jaune.

Le même gradient est aussi visible sur les rameaux latéraux. Toutefois, aux stades avancés du développement, vers la fin du cycle évolutif, on observe un léger reverdissement du feuillage des rameaux latéraux. Leur teinte reste néanmoins toujours vert-jaunâtre, claire, et tranche nettement sur le vert foncé des plantes témoins. Les feuilles de la tige principale des plantes carencées demeurent décolorées, toutes pâles, sans le moindre signe de reverdissement.

Contrairement aux organes de l'appareil végétatif, les organes de réserve des plantes privées de soufre — les cotylédons — se distinguent par une teinte verte vive, plus nette que celle des cotylédons +S qui est terne.

b) MORPHOLOGIE

Sous l'effet de la carence en soufre la morphologie de la plante se trouve modifiée. Les modifications portent sur la forme, la taille et le nombre des organes végétaux.

L'influence du manque de soufre se fait sentir surtout sur la partie aérienne dont la croissance est très compromise. Un des symptômes caractéristiques de la carence est la superficie réduite des folioles et leurs forme allongée, un peu pointue, visible surtout sur les feuilles des étages supérieurs (fig. 5). Sur la fig. 6 on aperçoit également le pétiole —S, nettement plus court et plus mince que le pétiole +S.

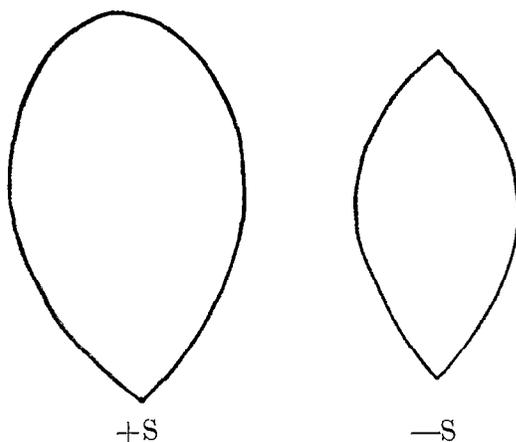


Fig. 5. — Empreintes des folioles supérieures du 7^e étage foliaire (20 jours de cultures +S et —S — 1964)

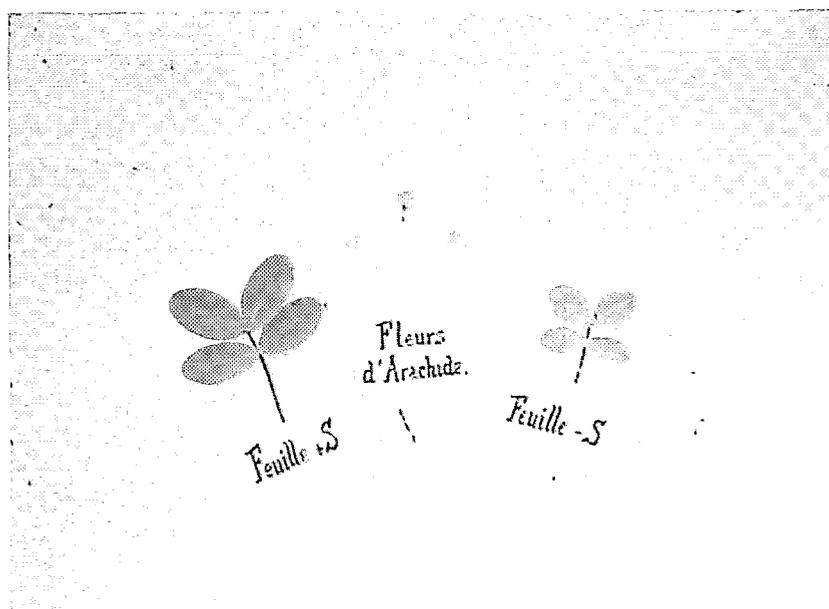


Fig. 6. — Feuilles des plantes +S et —S au début de la floraison.

Les mesures réalisées en 1967, au stade de formation des graines, sur les feuilles +S et —S (tableau I), permettent de chiffrer les différences de surface foliaire et de

TABLEAU I

CARACTÉRISTIQUES DES FEUILLES ET DES PÉTIOTES DES PLANTES +S ET —S AU STADE DE FORMATION DES GOUSSES

(81 jours après la levée — 1967)

| Traitement | +S | | | —S | |
|--|---------|---------|---------|---------|---------|
| | 6° | 9° | 13° | 6° | 9° |
| Folioles supérieures : Longueur maximum/Largeur maximum en cm..... | 4,9/2,8 | 5,4/2,8 | 6,8/3,2 | 3,4/2,3 | 2,4/1,1 |
| Pétiotes : Longueur en cm... | 7,7 | 7,9 | 8,7 | 6,0 | 1,5 |

longueur des pétiotes. On constate que l'effet de la carence s'accroît d'étage foliaire en étage foliaire dans le sens ascendant. Ainsi pour la 6^e feuille, les paramètres de la surface foliaire et la longueur du pétiote ne sont réduits que d'environ un quart tandis que pour la 9^e feuille, qui s'est développée plus tard, à l'époque où la carence est devenue plus aiguë, cette réduction est beaucoup plus importante : la longueur et la largeur de

la foliole deviennent respectivement 2,2 et 2,5 fois moins grandes et la longueur du pétiole 5,3 fois plus courte. De sorte qu'on observe des tendances opposées chez les plantes témoins et carencées. Pour les premières, les dimensions des folioles et des pétioles augmentent, pour les secondes, au contraire, elles s'amenuisent d'une manière très sensible.

Les tiges des plantes carencées deviennent raides et cassantes. Elles se distinguent de celles des plantes témoins par le diamètre et la longueur, fortement réduits, et les entrenœuds plus courts.

Les différences de taille entre les plantes +S et —S sont illustrées par les données réunies dans le tableau II. La hauteur maximum de la partie aérienne mesurée lors de l'essai 1962 y est remplacée en 1964 et 1967 par les mesures de la hauteur de la tige principale.

TABLEAU II

TAILLE DES ORGANES ET NOMBRE DE FEUILLES ET DE RAMEAUX LATÉRAUX DES PLANTES +S ET —S
A DIVERS STADES DU DÉVELOPPEMENT

| Année | Date | Nombre de jours après la levée | Hauteur de la partie aérienne en cm | | Hauteur de la tige principale en cm | | Longueur des racines en cm | | Nombre de feuilles de la tige principale | | Nombre de rameaux latéraux | |
|------------|------------|--------------------------------|-------------------------------------|----|-------------------------------------|----|----------------------------|----|--|-------|----------------------------|-----|
| | | | +S | —S | +S | —S | +S | —S | +S | —S | +S | —S |
| Traitement | | | | | | | | | | | | |
| 1962 | 10-VII.... | 18 | 17 | 13 | — | — | 14 | 13 | 6 | 5-6 | 2 | — |
| | 20-VII.... | 28 | 21 | 15 | — | — | 18 | 17 | 7-8 | 7 | 4 | 2 |
| | 31-VII.... | 39 | 29 | 16 | — | — | 24 | 24 | 9-10 | 8-9 | 4-5 | 2 |
| | 16-VIII... | 55 | 46 | 17 | — | — | 26 | 29 | 13-14 | 11 | 6 | 2 |
| 1964 | 2-VI..... | 22 | — | — | 8 | 7 | 16 | 16 | — | — | 4 | 2-4 |
| | 4-VI..... | 24 | — | — | — | — | — | — | 8 | 7-8 | — | — |
| | 9-VI..... | 29 | — | — | 10 | 8 | 19 | 18 | — | — | 6 | 4 |
| | 11-VI..... | 31 | — | — | — | — | — | — | 9-10 | 9 | — | — |
| | 18-VI..... | 38 | — | — | 14 | 10 | — | — | 11-12 | 10-11 | 6-7 | 4-5 |
| | 25-VI..... | 45 | — | — | — | — | — | — | 13-14 | 12 | — | — |
| | 30-VI..... | 50 | — | — | 26 | 14 | 24 | 27 | — | — | 8 | 4-5 |
| | 2-VII.... | 52 | — | — | — | — | — | — | 15-16 | 13 | — | — |
| | 9-VII.... | 59 | — | — | — | — | — | — | 17-18 | 14 | — | — |
| | 16-VII.... | 66 | — | — | 35 | 17 | — | — | 19-20 | 14-15 | 8-9 | 4-5 |
| | 11-VIII... | 92 | — | — | 46 | 21 | 42 | 49 | — | — | 9-10 | 5 |
| 1967 | 20-IX..... | 81 | — | — | 35 | 9 | 37 | 43 | 21-22 | 11 | 8 | 4 |

Quoique des variations sensibles d'une année à l'autre aient été observées, les différences entre les plantes témoins et carencées ont toujours été très importantes, surtout aux stades avancés de la végétation (fig. 4).

En 1962, à la fin de l'expérimentation (55 jours après la levée), la taille de la partie aérienne des plantes —S est presque trois fois plus petite que celle de la partie aérienne des plantes +S.

En 1967, à 81 jours de la levée, la hauteur de la tige principale des plantes —S n'atteint que 1/4 de celle des plantes +S.

Un fait intéressant est à noter en ce qui concerne le rapport entre la taille de la tige principale et celle des rameaux latéraux chez les plantes carencées. La dominance apicale de la tige principale, très marquée pendant la première phase de croissance, disparaît par la suite et aux stades avancés du développement on observe un phénomène inverse : ce sont les rameaux latéraux qui dépassent largement en hauteur, la tige principale.

Des tendances semblables mais beaucoup moins prononcées sont observées chez les plantes normales ; la carence les accentue.

La croissance plus intense des rameaux latéraux des plantes —S vers la fin du cycle évolutif coïncide avec le reverdissement déjà mentionné de leur feuillage.

Le ralentissement du rythme de croissance sous l'effet du manque de soufre se traduit, entre autres, par un retard dans le développement des feuilles de la tige principale. Le nombre de ces feuilles est toujours inférieur chez les plantes —S en comparaison avec celui des plantes +S. Les chiffres du tableau II montrent l'aggravation progressive du phénomène. En 1964, les feuilles furent dénombrées tous les 7 jours pendant une période de 7 semaines. Le retard d'une demi-feuille, observé au début de la croissance, devient de plus en plus important à mesure que la carence se prolonge. Tandis que les plantes témoins développent régulièrement 2 feuilles par semaine, les plantes carencées n'en développent au début, qu'une et demie, ensuite une seule et, enfin, une demi feuille, ce qui conduit après deux mois de cultures +S et —S à un écart de 5 feuilles entre les deux lots des plantes.

A la fin de l'expérimentation de 1967, au stade du développement le plus avancé (formation des gousses), la différence dans le nombre des feuilles chez les plantes témoins et carencées est encore plus spectaculaire : 22 feuilles chez les premières contre 11 feuilles seulement chez les secondes. Il faut cependant noter, qu'à cette époque, un certain nombre de feuilles de la base, déjà senescentes, sont tombées, tant chez les plantes +S que chez les —S, le phénomène étant plus marqué chez ces dernières.

La répercussion de la carence sur la croissance de la partie aérienne de la plante se traduit aussi par un nombre fortement réduit des rameaux latéraux. Selon l'année, ce nombre a été de deux à trois fois plus faible que chez les plantes +S.

Le système racinaire des plantes —S, peu fourni, devient plus allongé, mais le phénomène n'apparaît qu'après une durée prolongée de la carence. Trois mois après la levée (1964), l'allongement des racines des plantes —S par rapport aux racines des plantes témoins est très net, de l'ordre de 17 %. Une élongation du même ordre (16 %) est observée en 1967, après 81 jours de végétation.

Enfin la dernière observation se rapporte aux cotylédons. Contrairement à ce qu'on pourrait supposer, à savoir qu'en l'absence de soufre dans le milieu nutritif ils s'épuiseraient plus rapidement pour compenser en cet élément la plante carencée, leur aspect semble témoigner d'un degré d'utilisation des réserves moindre que chez les plantes témoins. Ils se distinguent des cotylédons +S, rapidement flétris, par leur texture bien ferme. Ils sont aussi plus fortement attachés à la plante que les cotylédons des témoins.

c) DÉVELOPPEMENT PONDÉRAL

L'évaluation de la croissance de divers organes des plantes +S et —S est basée sur l'évolution de leur matière sèche.

Nous avons constaté, en effet, que le manque de soufre ne se répercute pas d'une manière sensible sur la teneur en eau de la matière végétale (tableau III). Pour les racines de deux lots des plantes, ces teneurs sont même quasiment identiques. Quant à la partie aérienne, la carence semble provoquer une légère augmentation de la teneur en eau des folioles alors qu'au contraire, elle fait baisser celle des autres organes, y compris les cotylédons.

TABLEAU III
TENEURS EN EAU DES DIVERS ORGANES DES PLANTES +S ET —S

| Année | Stade du développement | ORGANES VÉGÉTAUX | | | | | | | | | |
|-------|-------------------------------------|------------------|------|--------------------------------|------|------------------------------|------|-------------|------|---------|------|
| | | Cotylédons | | Folioles des tiges principales | | Tiges principales + pétioles | | Hypocotyles | | Racines | |
| | | +S | —S | +S | —S | +S | —S | +S | —S | +S | —S |
| 1963 | 6 feuilles..... | 83,8 | 82,0 | 84,6 | 85,1 | 87,2 | 86,5 | — | — | 90,2 | 90,0 |
| | Floraison..... | 87,9 | 85,4 | 83,3 | 85,0 | 85,6 | 85,1 | — | — | 87,7 | 87,6 |
| | Gynophores formés..... | — | — | 81,8 | 83,9 | 82,9 | 81,8 | — | — | 87,1 | 86,8 |
| 1964 | 7-8 feuilles..... | 85,6 | 83,8 | 82,6 | 82,9 | 84,2 | 83,3 | — | — | 90,0 | 89,9 |
| | Préfloraison..... | 86,4 | 85,0 | 82,0 | 82,4 | 84,3 | 82,1 | — | — | 89,0 | 89,0 |
| | Début formation des gynophores..... | — | — | 81,3 | 82,5 | 83,4 | 81,7 | — | — | 87,8 | 87,6 |
| | Formation des graines... | — | — | 81,1 | 83,0 | 81,8 | 81,2 | — | — | 87,7 | 87,9 |
| 1965 | 6-7 feuilles..... | 84,3 | 83,4 | 82,5 | 82,7 | 85,7 | 84,4 | 82,5 | 80,5 | 89,6 | 89,4 |
| | Début floraison..... | — | — | 81,3 | 82,9 | 83,8 | 82,9 | 82,2 | 80,6 | 89,2 | 89,1 |
| | Début formation des gynophores..... | — | — | 81,7 | 82,9 | 83,2 | 82,5 | 81,6 | 79,5 | 87,7 | 87,0 |

Nota : en 1963 et 1964 — hypocotyles inclus dans la fraction tiges+pétioles.

Bien que les différences constatées ne soient pas importantes, le fait qu'on retrouve les mêmes tendances au cours des expériences de diverses années leur confère une certaine signification.

La figure 7 illustre l'évolution de la matière sèche des organes +S et —S au cours de l'expérience de 1966. Notons que l'échelle des valeurs portées en ordonnées (matière sèche) diffère selon l'organe. L'âge des plantes, porté en abscisses, est exprimé en nombre de jours après la levée. Les stades physiologiques atteints par les témoins au moments des prélèvements ont été les suivants :

6 jours — stade de 2-3 feuilles (début des traitements +S et —S) ;
 19 jours — stade de 6-7 feuilles ;
 34 jours — début de la floraison ;
 82 jours — formation des gousses ;

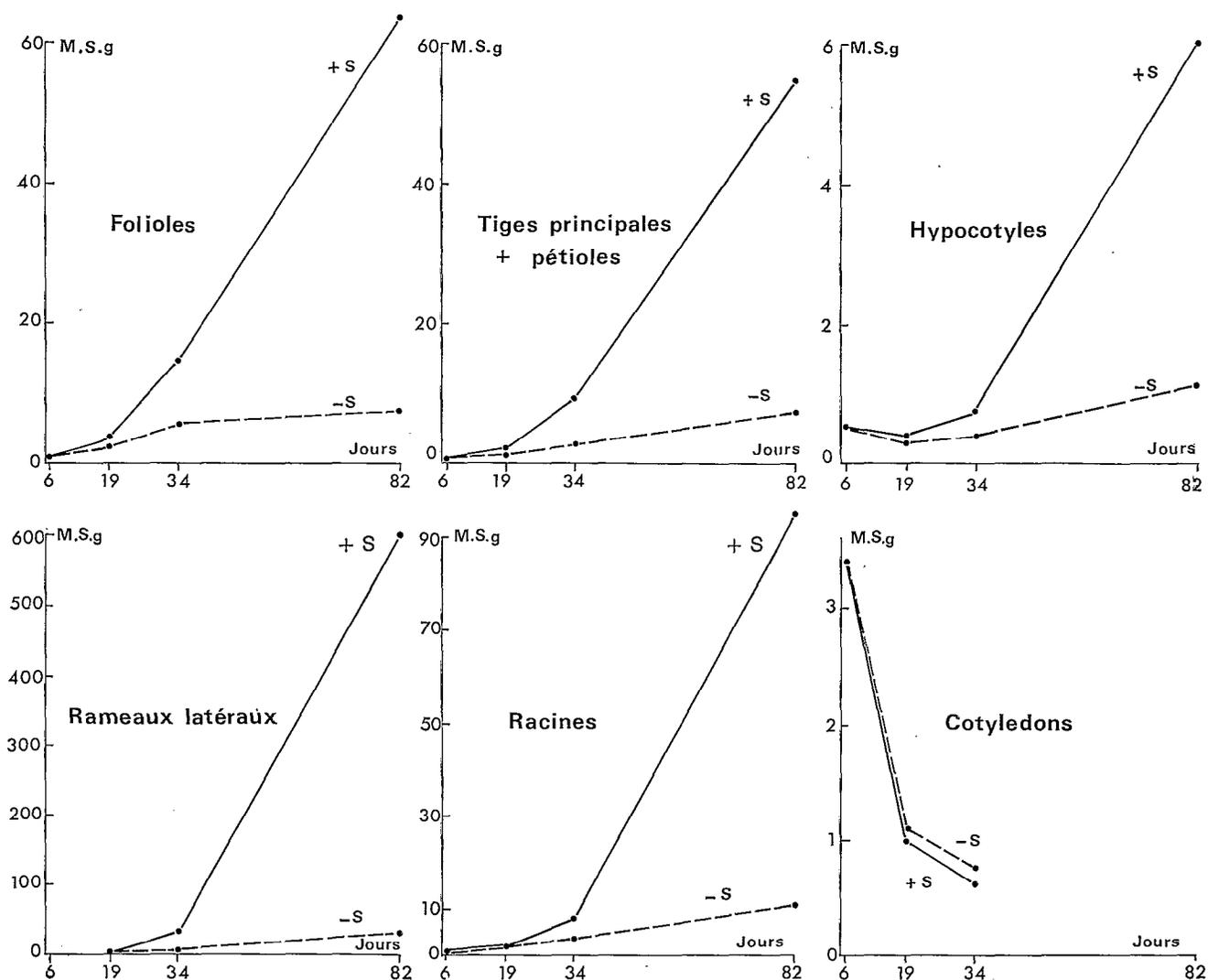


Fig. 7. — Évolution de la matière sèche des différents organes des plantes +S et —S (en grammes par 10 plantes) 1966.

Avant d'examiner l'incidence de la carence sur le développement de l'appareil végétatif proprement dit, notons un fait se rapportant à l'utilisation des réserves cotylédonaire par les deux lots des plantes.

α) Cotylédons

Six jours après la levée les cotylédons constituent encore la partie prépondérante

des jeunes plantules et leur matière sèche dépasse largement celle de tous les autres organes pris ensemble.

Une chute considérable des réserves accompagne le développement rapide de l'appareil végétatif au cours des 13 jours de culture sur milieu +S et —S, qui séparent les deux prélèvements successifs : la matière sèche des cotylédons diminue de 3,4 fois chez les témoins et de 3,0 fois chez les plantes carencées. En dépit du fait que ces dernières ne vivent que sur leurs réserves de soufre cotylédonaires, leur épuisement semble se produire un peu plus lentement. L'écart entre les deux lots de plantes est faible et on pourrait penser qu'il n'est qu'accidentel. Cependant, au début de la floraison, après deux nouvelles semaines de croissance, cet écart se maintient toujours et la matière sèche des cotylédons —S est légèrement supérieure à celle des cotylédons +S. Il est à souligner qu'une tendance analogue a aussi été observée au cours des expériences des autres années.

β) *Organes aériens*

L'effet dépressif du manque de soufre sur la croissance des organes aériens se manifeste dès le stade de 6-7 feuilles, ce qui coïncide avec l'apparition très nette des symptômes visibles de carence (jaunissement des feuilles) décrits précédemment.

Avant cette période, au stade de 4-5 feuilles par exemple, étudié en 1965, aucune différence avec les témoins n'a été décelée.

Les différences pondérales entre les organes +S et —S, d'abord faibles, deviennent très sensibles à partir du début de la floraison. Ce sont les rameaux latéraux dont la croissance est la plus compromise. Plus jeunes que les autres organes, ils trouvent difficilement du soufre disponible pour leur édification. Leur poids est 5,4 fois plus faible que celui des rameaux latéraux +S, alors que le poids des folioles, des tiges principales +pétioles et des hypocotyles n'est, respectivement, que 2,5, 2, 9 et 1,8 fois inférieur à celui des témoins.

Au dernier prélèvement, la matière sèche des organes des plantes carencées n'atteint, par rapport à celle des organes témoins, que :

- 12 % — pour les folioles ;
- 14 % — pour les tiges principales +pétioles ;
- 19 % — pour les hypocotyles ;
- 6 % — pour les rameaux latéraux.

L'écart de la normale est donc toujours de loin le plus sensible pour les rameaux latéraux et ceci, en dépit du fait que leur masse, chez les plantes carencées, s'est accrue considérablement — de près de 6 fois — dans l'intervalle des 48 jours qui sépare les deux derniers prélèvements. Dans le même laps de temps le poids des folioles —S n'a changé que très peu (de 5,7 à 7,6 g), témoignant ainsi d'un arrêt quasi total de leur développement alors que celui des autres organes —S est devenu environ deux fois et demi plus élevé.

Les gains en poids des organes aériens des témoins pour la même période ont été incomparablement plus importants, surtout pour les rameaux latéraux dont la matière sèche a augmenté de 18 fois ; le poids des folioles et des tiges principales +pétioles s'est accru respectivement de 4,5 et 6 fois.

γ) *Système racinaire*

Le système racinaire est moins affecté par la carence que l'appareil aérien. Au

stade de 6-7 feuilles, la matière sèche des racines —S est équivalente à celle des racines +S. Le développement normal des racines se poursuit jusqu'au stade de 7-8 feuilles, comme en témoignent les chiffres suivants se rapportant aux expériences de 1962 et 1964 :

| Année | Stade | Matière sèche des racines (en g pour 10 plantes) | |
|-------|--------------|---|-----|
| | | +S | —S |
| 1962 | 7-8 feuilles | 2,4 | 2,2 |
| 1964 | 7-8 " | 2,6 | 2,6 |
| 1964 | 9 " | 4,9 | 4,0 |

L'effet de la carence sur la croissance des racines, qui s'amorce vers le stade de 9 feuilles, s'accroît au début de la floraison tout en demeurant moins marqué que chez les organes chlorophylliens.

Par la suite l'écart entre les racines +S et —S ne fait que croître et au dernier prélèvement il devient du même ordre que pour les folioles et les tiges principales +pétioles.

δ) Rapport partie aérienne/racines

Le manque de soufre se répercutant différemment sur les divers organes provoque une baisse nette du rapport partie aérienne/racines. Lors de la première phase de la végétation, cette baisse —2,9 contre 4,2 chez +S au stade de 6-7 feuilles — a pour cause l'absence d'action de la carence sur le système racinaire. Aux stades plus avancés du développement, la faible valeur du rapport partie aérienne/racines —4,7 contre 7,6 chez +S au moment de la formation des gousses — résulte surtout de la masse particulièrement réduite, en comparaison avec les témoins, des rameaux latéraux.

2° — Appareil reproducteur.

a) FLORAISON

Dans nos conditions expérimentales les plantes d'arachide témoins cultivées sur milieu complet, commencent à fleurir environ 4 semaines après la levée, vers le stade de 10 feuilles. La floraison s'étend rapidement à l'ensemble du lot +S. En l'espace de 3 jours, la majorité des plantes est en fleurs.

La carence en soufre entraîne non seulement un retard dans l'apparition des premières fleurs, variable selon l'année et allant de 2-3 jours à 1 semaine ou même plus (comme en 1962), mais aussi empêche l'extension rapide de la floraison à l'ensemble des plantes. Un laps de temps important, qui peut atteindre 3-4 semaines, sépare l'éclosion des fleurs chez la première et la dernière plante —S, comme le montrent les données réunies dans le tableau IV se rapportant aux expériences 1964 et 1966. Entre les deux extrêmes se situe le début de floraison de la majorité des plantes carencées, retardé d'environ une semaine par rapport à celui de la floraison des plantes témoins.

Les fleurs apparaissent d'abord indépendamment du traitement +S ou —S, surtout à la base de la tige principale. En période de pleine floraison, cependant, 1 mois environ après son début, la zone de floraison s'étend vers les rameaux latéraux. Mais alors que, chez les plantes +S, les fleurs se forment tout au long des tiges, tant principales que latérales, elles apparaissent, chez les plantes —S, presque exclusivement sur les rameaux latéraux et par ailleurs se concentrent plutôt à leur base.

TABLEAU IV
APPARITION DES PREMIÈRES FLEURS CHEZ LES PLANTES +S ET -S

| Nombre de jours après la levée | 26 | 27 | 28 | 29 | 30 | 31 | 32 | 33 | 34 | 35 | 36 | 39 | 46 | 51 | 56 | |
|-----------------------------------|------|----|----|----|----|----|-----|-----|----|----|----|----|----|----|-----|-----|
| Pourcentage des plantes en fleurs | 1964 | | | | | | | | | | | | | | | |
| | +S | — | — | 5 | 35 | 75 | 90 | 100 | | | | | | | | |
| | -S | — | — | — | — | — | 10 | 15 | 15 | 30 | 45 | 55 | 70 | 90 | 100 | |
| | 1966 | | | | | | | | | | | | | | | |
| | +S | 8 | 26 | 52 | 76 | 90 | 100 | | | | | | | | | |
| | -S | — | — | 4 | 6 | 14 | 20 | 32 | 44 | 52 | 64 | 70 | 80 | 92 | 96 | 100 |

La floraison est beaucoup moins abondante chez les plantes -S que chez les +S. Ceci est mis en évidence par les résultats du dénombrement des fleurs formées quotidiennement par les plantes des deux lots, réalisé en 1964. Le nombre moyen de fleurs est de 2-3 par jour, pour une plante +S, contre une seule tous les deux-trois jours, pour une plante carencée. Ces chiffres se rapportent à la phase initiale de la floraison. Par la suite, celle-ci s'intensifie. Elle devient très abondante chez les plantes témoins mais demeure toujours peu active chez les carencées.

De ce fait l'écart entre les deux lots de plantes, pour ce qui est du nombre total des fleurs et, par là-même — de leur masse, s'accroît avec le temps, ainsi qu'en témoignent les chiffres ci-contre se rapportant à l'expérience 1966 :

| Époque du prélèvement : | Matière sèche des fleurs (en grammes par 10 plantes) | |
|----------------------------|---|------|
| | +S | -S |
| Début de la floraison..... | 0,81 | 0,17 |
| Formation des gousses..... | 9,05 | 0,64 |

b) FRUCTIFICATION

L'effet de la déficience en soufre sur la fructification s'avère encore plus néfaste qu'il ne l'était sur la croissance végétative et sur la floraison.

La carence entraîne tout d'abord un retard notable dans la formation des premiers gynophores, retard qui est en rapport avec la floraison tardive et irrégulière des plantes dépourvues de soufre. La formation des premiers fruits puis leur maturation sont à leur tour de plus en plus retardées par rapport aux plantes témoins.

On peut calculer que dans nos conditions expérimentales, chez les plantes se développant normalement, les premières fleurs donnent de gynophores après 8-10 jours ; les premiers gynophores portent les fruits immatures après environ 2 semaines et ces derniers donnent les premiers fruits mûrs après environ 5 semaines.

Pour les plantes carencées la formation des premiers gynophores est retardée de 10 jours à 3 semaines et plus. Les premiers fruits non mûrs ne se forment qu'après

3-5 semaines. Très peu d'entre eux arrivent à maturation et ceci pas avant 6 semaines — 2 mois après leur apparition.

Mais l'effet principal de la carence en soufre porte sur la réduction, par rapport aux témoins, du nombre et de la masse des gynophores et des fruits, comme le montrent la figure 8 et les tableaux V et VI.

TABLEAU V
TENEURS EN EAU ET MATIÈRE SÈCHE DES ORGANES REPRODUCTEURS +S ET —S

| Organes | Année | Nombre de jours après la levée | Teneurs en eau % | | Matière sèche en g par 10 plantes | |
|------------------------------------|-------|--------------------------------|------------------|------|-----------------------------------|------|
| | | | +S | —S | +S | —S |
| Formation des gynophores | | | | | | |
| Gynophores | 1964 | 50 | 83,0 | 83,2 | 4,0 | 0,5 |
| | 1963 | 67 | 84,7 | 85,3 | 11,2 | 1,9 |
| Formation des premiers fruits mûrs | | | | | | |
| Gynophores | 1966 | 82 | 83,4 | 84,0 | 41,4 | 1,2 |
| Gousses | | | 73,9 | 86,8 | 54,7 | 0,7 |
| Gynophores | 1964 | 93 | 83,4 | 83,0 | 30,7 | 2,3 |
| Gousses | | | 68,0 | 86,7 | 138,7 | 3,3 |
| Maturation des fruits | | | | | | |
| Gynophores | 1966 | 128 | 78,1 | 77,0 | 415,9 | 2,2 |
| Gousses | | | 58,8 | 65,6 | 747,5 | 10,1 |

Les différences pondérales entre les organes reproducteurs +S et —S déjà importantes en 1963 et 1964, années où la carence n'était pas très aiguë, deviennent particulièrement marquées en 1966. 128 jours après la levée, le poids de la matière sèche accumulée dans les gynophores et les gousses des plantes carencées est respectivement 193 et 74 fois plus faible que celui des organes correspondants des plantes témoins.

Les teneurs en eau des gousses —S, toujours de beaucoup supérieures à celles des gousses +S, indiquent leur moindre degré de maturité.

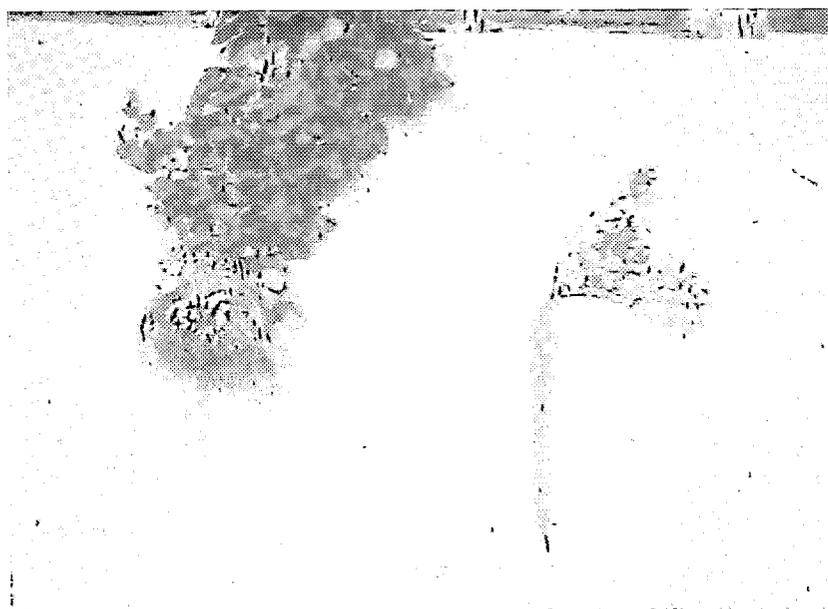


Fig. 8. — Arachide +S et -S au stade de la formation des gousses.

Le tableau VI illustre l'effet de la carence sur le nombre et le poids moyen des gousses et des graines. Les résultats ne portent que sur les gousses bien formées mais non encore mûres, récoltées 93 et 81 jours après la levée.

En tenant compte de la différence d'âge entre les gousses de 1964 et 1967 et des variations saisonnières habituelles entre les années on constate que dans les deux cas la carence se répercute de la même manière et entraîne une réduction du même ordre du nombre et du poids des gousses et des graines.

Ainsi le nombre des gousses par plante est réduit de 13 à 15 fois et le poids moyen

TABLEAU VI

EFFET DE LA CARENCE EN SOUFRE SUR LE NOMBRE ET LE POIDS DES GOUSSSES ET DES GRAINES

| Année | Nombre de jours après la levée | GOUSSSES | | | | | | GRAINES | | | | | | Rapport % | |
|-------|--------------------------------|-------------------------|-----|--------------------|------|------------|------|-------------------------|----|--------------------|------|------------|------|------------------|----|
| | | Nombre moyen par plante | | Matière sèche en g | | | | Nombre moyen par plante | | Matière sèche en g | | | | m.s. des graines | |
| | | | | Par plante | | Par gousse | | | | Par plante | | Par graine | | m.s. des gousses | |
| | | +S | -S | +S | -S | +S | -S | +S | -S | +S | -S | +S | -S | +S | -S |
| 1967 | 81 | 59 | 4-5 | 17,64 | 0,63 | 0,30 | 0,14 | 105 | 6 | 8,66 | 0,13 | 0,08 | 0,02 | 49 | 21 |
| 1964 | 93 | 31 | 2 | 13,87 | 0,33 | 0,45 | 0,16 | 54 | 3 | 7,92 | 0,09 | 0,15 | 0,03 | 57 | 27 |

d'une gousse de 2 à 3 fois. En ce qui concerne les graines, les valeurs sont réduites, respectivement de 17 à 18 fois et de 4 à 5 fois.

Il en ressort que le nombre et le poids de graines diminuent dans une proportion plus importante que ceux des gousses. La carence affecte donc avant tout la formation des graines.

3° — Matière sèche totale.

La figure 9 représente l'accroissement, en fonction du temps, de la matière sèche totale synthétisée par les plantes témoins et carencées.

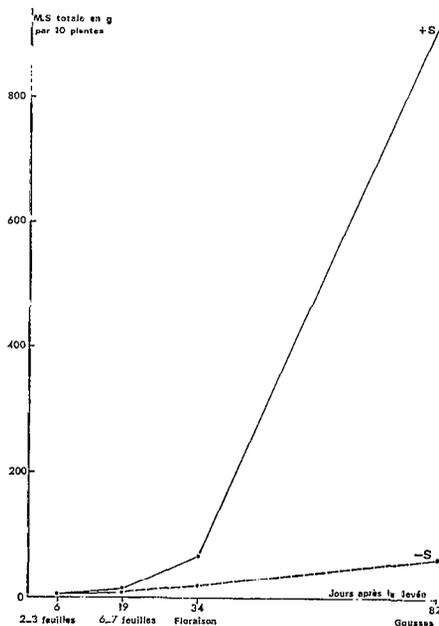


Fig. 9. — Évolution de la matière sèche totale, 1966.

Jusqu'au stade de 6-7 feuilles la courbe des plantes —S suit de près celle des plantes +S. A partir de ce moment les deux courbes s'éloignent l'une de l'autre et, au début de la floraison, l'écart entre elles est déjà important. Il continue à s'accroître, la faible augmentation du poids des plantes privées de soufre contrastant avec l'accumulation intense de la matière sèche dans les plantes témoins. Au dernier prélèvement, au moment de la formation des gousses, les plantes carencées pèsent presque 15 fois moins que les plantes témoins.

Au cours des 76 jours de végétation qui séparent le premier et le dernier prélèvement le poids de la matière sèche des plantes —S est passé de 5,5 g à 63,8 g et ainsi n'a augmenté que de 12 fois, tandis que celui des plantes témoins en passant de 5,5 g à 927 g s'est accru de 170 fois.

C. — CONCLUSIONS

Les études sur le cycle évolutif de l'arachide nous ont permis d'établir des coordonnées de croissance et de développement des différents organes des plantes alimentées normalement d'une part et privées du soufre du milieu d'autre part, dans nos conditions culturales.

Bien que ces conditions soient très différentes des conditions d'origine — nous avons notamment constaté que le cycle végétatif est beaucoup plus long qu'en Afrique — elles permettent néanmoins d'étudier valablement les répercussions de la carence en soufre sur le comportement des plantes comparativement aux témoins.

En examinant sous cet angle les différents organes végétaux à différents moments de la croissance, nous avons pu mettre en évidence les divers effets de la carence sur chacun d'eux et apporter ainsi un complément d'information sur l'action du soufre sur l'arachide, plante qui n'a pas fait, jusqu'à présent, l'objet d'une étude systématique de ce genre.

L'arachide (variété 28.204) que nous avons étudiée, se montre extrêmement sensible à la carence en soufre. Les points suivants en témoignent :

1. Apparition rapide de symptômes visibles de carence : chlorose des feuilles des étages supérieurs se manifestant très tôt, au stade de 5-6 feuilles, c'est-à-dire 2 semaines environ après la levée. Les symptômes internes, toutefois, devancent les symptômes extérieurs et apparaissent déjà au stade de 4-5 feuilles.

2. Retard très net de la croissance et du développement des plantes carencées par rapport aux plantes témoins :

- ralentissement du rythme de la croissance végétative ;
- apparition des fleurs et formation de gynophores et des gousses — retardées.

Sur ce point nos résultats sur l'arachide ne concordent pas avec ceux obtenus par NIGHTINGALE et coll. pour la tomate [176] et EATON pour la moutarde noire [87]. Le premier auteur constate une accélération de la floraison et de la reproduction chez les plantes privées de soufre ; le second n'a pas noté une influence de la carence sur la floraison, tout en confirmant l'effet accélérateur sur la reproduction constaté par NIGHTINGALE.

3. Modifications morphologiques entraînées par la carence et notamment :

- coloration plus claire, jaunâtre des parties aériennes ;
- superficie sensiblement réduite et forme plus allongée et plus pointue des folioles ;
- nombre réduit de feuilles ;
- pétioles plus courts et plus minces ;
- longueur et diamètre des tiges fortement réduits ;
- entrenœuds plus courts ;
- modification de la texture des tiges qui deviennent fragiles et cassantes ;
- nombre de rameaux latéraux sensiblement réduit ;
- baisse appréciable du rapport rameaux latéraux/tige principale ;
- système racinaire plus allongé ;

- baisse très nette du rapport parties aériennes/racines ;
- nombre des fleurs, des gynophores et des gousses fortement réduits ;
- taille réduite des graines.

4. Réduction très sensible du poids des plantes carencées — pour tous les organes sans exception, la matière sèche produite est très fortement diminuée ; cependant l'effet dépressif est moins marqué pour certains d'entre eux (p. ex. les racines) que pour les autres, notamment les graines.

La réduction de la production globale de la matière sèche, à la récolte, peut atteindre 93 %, ce qui classe l'arachide parmi les espèces dont la réaction à la carence en S est particulièrement nette. A cet égard on peut la comparer au cotonnier pour lequel ERGLE et EATON [95] signalent une réduction du poids de 95 %.

Du point de vue pratique, l'importance de l'alimentation en soufre pour la production des graines mérite d'être soulignée ; elle explique la forte augmentation du rendement des gousses (600 à 900 kg/ha) obtenue grâce à un apport de sulfate d'ammoniaque (40 kg/ha) au Sénégal [179].

II — RÉPARTITION DU SOUFRE ENTRE DIFFÉRENTS ORGANES DE LA PLANTE. VARIATIONS AU COURS DU CYCLE VÉGÉTATIF

A. — INTRODUCTION

Les plantes supérieures pourvoient généralement à leurs besoins en soufre en utilisant les sels inorganiques. Le soufre est absorbé par les racines, essentiellement sous forme de sulfates. Toutefois les feuilles sont capables d'absorber le soufre sous forme de SO_2 gazeux, pourvu que sa concentration soit faible [232] [212] [228] [229] [100].

Les végétaux peuvent également assimiler le soufre élémentaire [36] [137] [70] [249]. Divers autres composés soufrés tant inorganiques qu'organiques sont d'ailleurs assimilables, soit par les plantes entières [273] [165] [258] [251], soit par les fragments de tissus végétaux [123] [99]. Les sulfates demeurent néanmoins la source principale d'alimentation des végétaux en soufre.

Dans la plante, une partie du sulfate absorbé est réduite et utilisée dans les synthèses des divers composés organiques, l'autre partie, en excès par rapport aux besoins en composés organiques, semble rester inchangée.

L'importance du soufre pour les plantes est due en premier lieu au fait qu'il est un constituant des acides aminés — la cystéine et la méthionine et donc des protéines —, d'un tripeptide d'une grande importance biologique — le glutathion —, des substances telles que le coenzyme A et l'acide lipoïque, indispensables à des réactions fondamentales du métabolisme glucidique, lipidique et protidique, des vitamines comme la thiamine et la biotine dont la présence dans les végétaux est universelle.

Ces dernières années un nouveau champ d'investigation s'est ouvert avec la découverte des sulfolipides dans les plantes [138] [19]. Leur rôle dans la structure de l'appareil photosynthétique et dans les processus mêmes de la photosynthèse a été envisagé [68] [217].

D'autres composés soufrés ne se rencontrent que chez certaines espèces ou certaines familles de plantes, par exemple les glucosides — la sinigrine et la sinalbine et les produits de leur hydrolyse enzymatique — les isothiocyanures de vinyle et d'allyle (huiles de moutarde) — chez la moutarde blanche ou les divers sulfures, disulfures (p. ex. disulfure d'allyle) et mercaptanes — chez l'ail, l'oignon, le poireau, la ciboulette etc... Leur signification physiologique est totalement inconnue.

Récemment [256] les divers glutamyl-peptides ont été isolés à partir de l'oignon et de l'ail ; certains sont des substances de réserve et participent activement au métabolisme de l'azote.

Au nombre de composés soufrés déjà connus s'ajoutent chaque année d'autres substances d'origine végétale, nouvellement isolées, dont le rôle reste d'ailleurs souvent encore obscur.

Toutes ces acquisitions dans le domaine de la biochimie du soufre sont relativement récentes. Pendant longtemps on ignorait non seulement la diversité des composés organiques soufrés dont certains sont de nos jours reconnus comme essentiels, mais aussi les quantités réelles du soufre contenu dans les végétaux. C'est que, comme l'ont démontré BERTRAND et SILBERSTEIN [23], toutes les analyses effectuées auparavant sur les cendres végétales donnaient des chiffres incertains et souvent même tout-à-fait erronés, car lors de l'incinération on perdait une grande partie de composés soufrés organiques, surtout ceux à caractère volatil. Actuellement, en utilisant des techniques modernes d'attaque de la matière végétale par voie humide, de calcination en présence de nitrate de magnésium ou de fusion avec du peroxyde, on trouve des valeurs de beaucoup supérieures (jusqu'à 100 fois).

De ce fait on dispose de relativement peu de renseignements valables concernant les teneurs en soufre des diverses espèces de plantes (normales ou anormales, déficientes) ainsi que la nature et la distribution des différents composés soufrés parmi les organes végétaux.

Cette lacune n'a été qu'en partie comblée ces dernières années grâce à un certain nombre de travaux consacrés au problème de la nutrition des plantes et du métabolisme du soufre.

On note chez diverses espèces d'importantes variations quant à leur teneur en soufre. Alors que certaines plantes halophytes sont particulièrement riches en cet élément (jusqu'à 2,94 de S % de matière sèche), des arbres, comme les conifères se distinguent par leur extrême pauvreté en soufre (0,10-0,11 % dans les aiguilles de pin) [230]. De même les plantes de culture révèlent une variabilité considérable de leurs teneurs en soufre. Les Crucifères, certaines Liliacées, Ombellifères, Capparidacées et Résédacées qui synthétisent des composés soufrés organiques très spécifiques se distinguent par des teneurs en soufre particulièrement élevées. Les quelques exemples ci-dessous mettent en évidence ces différences (S en % m.s.) :

| | |
|----------------------------------|---|
| céleri..... | 1,767-1,811 [26], |
| choux..... | 1,16 [18] [69] ; 1,919 [25], |
| colza..... | 0,9888 [24] ; 1,105-1,225 [22], |
| poireau..... | 0,874 [25], |
| sarrasin..... | 0,298 [22], |
| luzerne..... | 0,210 [255] ; 0,29 [18] [69] [21] [254] ; 0,337 [26], |
| trèfle blanc..... | 0,130 [255] ; 0,16 [18] [69] ; 0,203 [25], |
| blé (grain)..... | 0,158 [255] ; 0,18 [18] [69] ; 0,23 [66], |
| pommes de terre (tubercules).... | 0,116 [255] ; 0,12 [18] [69] ; 0,14 [21] [254]. |

Divers auteurs [22] [25] [26] [18] [71] [69] [21] [254] comparent les teneurs des plantes en soufre aux teneurs en phosphore. Chez certaines espèces les valeurs pour S et P sont très voisines — p. ex. chez la luzerne : 0,29 % S et 0,28 % P [18] [69] ; le soja : 0,230 % S et 0,258 % P [25] ; le cotonnier : 0,28 % S et 0,24 % P [71], leur rapport S/P se rapprochant de 1. Chez d'autres, par contre, ce rapport varie dans de larges

limites — entre 0,34 pour le sarrazin [22] et 3 [18] [69] et 4 [25] pour le chou ; dans le cas du céleri il peut atteindre une valeur encore plus élevée — 7,5 à 11,17 [26].

La répartition du soufre dans les différents organes de la plante n'est pas uniforme. Elle varie également en fonction du stade de développement de la plante [176] [84] [255] [227] [230] [105] [95] [94] [170] [30] [61] [49] [254] [202] [133] [163] [188] [57] [39].

Selon VENEMA [254], l'absorption du soufre par les jeunes plantes est relativement faible ; elle devient plus importante au milieu de la période végétative.

Chez l'orge [202], l'absorption du soufre s'accroît durant toute la période végétative jusqu'à complète maturation des plantes. Le trèfle et la tomate, à la différence de l'orge, absorbent le soufre plus intensivement durant le stade de croissance végétative (avant le début de la floraison).

L'absorption du soufre par les plantes de haricot se produit tout au long de la période végétative [170].

Chez la luzerne la teneur en soufre baisse au cours de la croissance [188].

Dans les toutes jeunes plantules de haricot [30], les feuilles composées et les racines contiennent plus de soufre que les tiges et les feuilles primaires.

Chez la luzerne et le trèfle [230], le taux du soufre dans les tiges ne représente que 1/4 et sa teneur dans les fleurs — 3/5 du taux du soufre dans les feuilles.

Une répartition du soufre très irrégulière se rencontre dans la vigne, le limbe pouvant être dix fois plus riche que le pétiole [57].

Dans le cotonnier avant la floraison [95], ce sont les feuilles qui recèlent la grande majorité du soufre de la plante — 87 % ; la teneur en soufre de ces organes est respectivement 4,5 et 10 fois plus élevée que celle des tiges + pétioles et des racines. Au début de la fructification le taux du soufre dans les organes végétatifs baisse.

A la maturité une grande partie du soufre est concentrée dans les organes reproducteurs — les graines [170].

Au cours de la maturation du blé et de l'orge 60 à 80 % du soufre migre vers la graine [227].

Dans la plante mûre du maïs, la distribution du soufre entre les différents organes est la suivante : 40 % dans les feuilles, 23 % dans la tige, 26 % dans les graines et 11 % dans les racines [105].

D'après ROGALEV [202] le taux du soufre pour beaucoup de plantes est un peu plus faible dans les fruits et les graines que dans les feuilles ; ainsi p. ex. chez le trèfle il est de 0,332 % dans les feuilles et de 0,276 % dans les graines. Cependant cette règle n'est pas toujours valable et ainsi, chez la tomate, la différence entre la teneur en S des feuilles et celle des fruits est très sensible : 0,566 % dans les feuilles et 0,216 % seulement dans les fruits.

Chez le blé les teneurs en soufre de la graine et de la paille sont très voisines : 0,18 et 0,17 % [69].

Les formes sous lesquelles on trouve les composés soufrés dans les plantes diffèrent suivant les espèces, les organes et les stades du développement de la plante.

Ainsi par exemple, les feuilles du cotonnier [95] [94] se distinguent par leur richesse particulière en sulfate lequel, tout au long de la croissance, constitue la forme prédominante du soufre dans ces organes.

Dans les jeunes feuilles de la luzerne [226], le soufre se trouve principalement sous

forme de composés organiques solubles alors que dans les feuilles âgées et les racines c'est la fraction insoluble, protéique, qui prédomine. Le soufre insoluble constitue aussi la majeure partie du soufre des racines du blé et de l'avoine. Dans les tiges on trouve beaucoup de sulfate.

Chez le haricot [170], au moment de la récolte, le soufre minéral constitue la forme principale du soufre des feuilles et des tiges ; les graines, par contre, ne contiennent que du soufre organique. Dans les graines de la moutarde qui, en tant que Crucifère, représente un cas très spécial, on trouve à côté de grandes quantités de soufre organique, des quantités importantes de soufre minéral.

Ces quelques exemples mettent en évidence les grandes différences qui existent entre les diverses espèces.

Enfin la teneur globale des plantes en soufre ainsi que la répartition des divers composés soufrés au sein du végétal restent en rapport étroit avec le niveau de cet élément dans le milieu nutritif mis à la disposition de la plante.

Dans le cas d'une alimentation abondante en soufre on note, en général, un accroissement de sa teneur dans la plante.

Certains auteurs [159] [230] signalent un accroissement notable de la teneur en soufre de la végétation dans les régions industrielles où l'atmosphère est particulièrement riche en SO_2 . Le même phénomène est observé à proximité des sources sulfureuses [230].

D'après THOMAS et coll. [230], le taux du soufre dans la plante varie dans de très larges limites en fonction du niveau du soufre dans le sol et dans l'atmosphère. Par exemple dans les feuilles de la luzerne, la teneur en soufre total peut s'accroître de 12 fois. Pour certaines espèces cet accroissement est encore plus important. C'est le sulfate qui s'accumule, alors que le soufre organique subit peu de changement. Les mêmes auteurs constatent que dans les feuilles de beaucoup de plantes le soufre organique se maintient à un niveau constant entre 0,2 et 0,4 % par rapport à la matière sèche. Une teneur plus faible témoigne d'une carence en soufre.

Divers auteurs signalent une augmentation significative de la teneur en soufre total des plantes cultivées [261] [262] [135], en particulier des légumineuses [34] [195] [189], à la suite d'une fertilisation sulfatée.

D'après SHEDD [213], chez le trèfle et la luzerne, l'apport du soufre fait accroître les valeurs du soufre total et du sulfate sans modifier pour autant la fraction organique ; chez le soja, cependant, il y a une faible mais significative augmentation de la teneur en soufre organique.

TISDALE et coll. [237] démontrent que la teneur en acides aminés soufrés de la luzerne peut s'accroître avec l'accroissement du niveau de sulfates dans la solution nutritive.

De même SHELDON et coll. [214] notent une influence très nette des différents apports du soufre du milieu sur la teneur en méthionine de la luzerne et du soja.

JONES [133] constate que les doses croissantes de sulfates dans le milieu nutritif provoquent tout d'abord l'accroissement du soufre organique et ensuite surtout celui de l'ion SO_4^{--} , dans les feuilles du trèfle souterrain.

Une constatation analogue est faite par SAALBACH et coll. [206] à la suite d'expériences sur une Crucifère, le colza.

Selon BARBIER cependant [16], il n'y a pas de consommation « de luxe » du soufre

par les végétaux et sa teneur dans la plante demeure constante et indépendante des doses croissantes de sulfate apportées dans le sol :

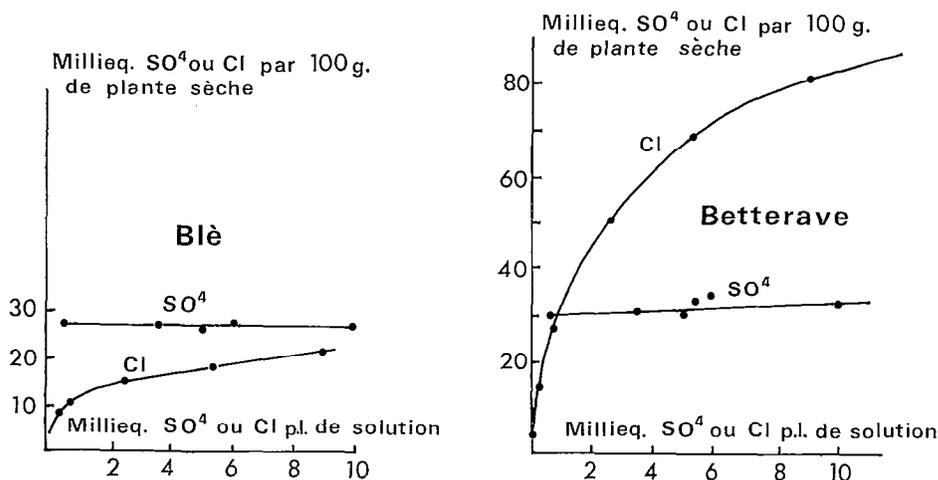


Fig. 10. — Mise en évidence de la non consommation de luxe de l'ion SO_4^- par le blé et la betterave d'après Barbier (16)

Dans le cas d'une déficience en soufre, la plante s'appauvrit sensiblement en cet élément.

Les premières études systématiques de l'influence de la déficience en soufre sur la distribution des différentes formes de soufre dans diverses parties de la plante ont été réalisées sur la tomate par NIGHTINGALE et coll. [176] et sur le soja, le tournesol, la moutarde et la tomate [84] [85] [87] [88] par EATON. Le même problème a fait l'objet d'une étude très complète de ERGLE et EATON [95] [94] sur le cotonnier et de TOKUNAGA et TOKUOKA sur le riz [243] [244] [239].

D'autres auteurs signalent les faibles teneurs en soufre chez les végétaux cultivés en l'absence d'une alimentation suffisante en ion sulfate [230] [17] [261] [170] [194] [135] [79] [250] [66] [64] [121] [133] [188].

Les réponses à la déficience en soufre des plantes expérimentées sont très différentes. Ceci est dû probablement aux particularités biologiques des plantes et aux besoins différents en soufre selon les espèces.

Ainsi par exemple, le cotonnier [95] se montre extrêmement sensible à l'insuffisance du soufre dans le milieu et la baisse du taux du soufre est très importante au niveau de tous les organes et plus particulièrement des feuilles, alors que chez le soja [84] cette baisse est relativement faible et affecte nettement plus les tiges que les feuilles. Chez la tomate [176], si les feuilles $-S$ sont beaucoup plus pauvres en soufre que les feuilles $+S$, pour les racines et les tiges les différences sont moindres. Dans les feuilles et les tiges de haricot $-S$ [170], la réduction du taux de soufre est du même ordre.

Parmi les deux plantes étudiées par EATON [87] [85] — la moutarde noire et le tournesol, dont seules les tiges ont été sélectionnées pour les analyses du soufre, la première montre une chute très forte du taux du soufre au niveau de ces organes sous l'effet de la déficience ; la réponse à la carence chez la deuxième est faible.

On ne peut que difficilement comparer la répercussion de la carence sur les diverses

formes de soufre, le fractionnement n'ayant pas été effectué de la même manière pour toutes les plantes étudiées. Certains faits méritent cependant d'être notés.

Alors que le soufre organique total (soluble et insoluble) se trouve nettement réduit dans les tiges ainsi que dans les feuilles —S du cotonnier [95], il ne subit par contre aucun changement dans les tiges du soja, par rapport aux organes +S ; les feuilles —S de soja se montrent même plus riches en soufre organique que les feuilles +S [84].

En ce qui concerne le soufre insoluble on note son absence totale dans les tiges —S de la moutarde et la diminution sensible de sa teneur dans les tiges —S du tournesol ainsi que dans les organes —S du cotonnier. Pour la tomate, les résultats d'après NIGHTINGALE [176] restent en désaccord avec ceux obtenus par EATON [88] : selon le premier auteur il n'y a que très peu de soufre insoluble dans les tiges —S et la baisse par rapport aux organes +S est très importante ; selon le second, les teneurs dans les tiges +S et —S sont identiques.

La déficience peut provoquer soit l'accroissement de la fraction du soufre organique soluble, comme c'est le cas des tiges de la tomate [176], soit sa diminution, comme le révèlent les organes du cotonnier.

Chez les plantes pour lesquelles des dosages de sulfate ont été effectués, cette forme de soufre dans les organes —S se trouve ou sensiblement réduite (soja, riz), ou en quantités de traces (tomate) ou même totalement absente (tiges de cotonnier).

Enfin quelques auteurs ont étudié plus particulièrement la répercussion de la déficience en soufre sur les acides aminés soufrés de la fraction soluble et protéique. Quoiqu'on admette généralement que la composition des protéines est relativement stable, on signale des cas où cette composition subit des modifications sous l'effet de la carence en soufre.

Ainsi ERGLE et EATON [95] observent les variations de la teneur en soufre des protéines chez le cotonnier cultivé sur des milieux de plus en plus pauvres en sulfate. Les protéines foliaires s'enrichissent en soufre tandis que sa teneur diminue dans celles des tiges.

TOKUNAGA et TOKUOKA [245] [238] [240] démontrent que la déficience en soufre provoque une baisse de la teneur en acides aminés soufrés du riz, la cystine étant plus affectée que la méthionine.

THOMPSON et coll. [234] étudient l'influence des diverses carences minérales sur la composition en acides aminés de la fraction soluble et protéique chez le navet. Alors qu'ils constatent une baisse, sous l'effet de la déficience en soufre, de la teneur en acides aminés soufrés de la fraction libre, ils ne trouvent pas de différences sensibles entre les teneurs en méthionine des protéines de feuilles +S et —S.

FUJIWARA et TORII [103] ont étudié l'effet de la déficience en soufre sur les fractions cellulaires de six espèces végétales (betterave, tomate, blé, riz, soja, orge). Selon ces auteurs la déficience provoque une réduction pondérale de la fraction des protéines cytoplasmiques sans pour autant affecter leurs teneurs en N, P et S.

COIC et coll. [65] trouvent que sous l'influence de la déficience en soufre la cystine disparaît dans la fraction des acides aminés libres et diminue dans les protéines de l'orge.

D'après SAALBACH et coll. [206], le niveau d'alimentation du colza en soufre se répercute sur la qualité de la protéine en provoquant les variations de la proportion des acides aminés soufrés.

JORDAN [134], à la suite de ses expériences sur l'avoine cultivée sur un sol déficient

en soufre avec et sans apport extérieur en cet élément, démontre que les proportions des acides aminés dans les protéines des plantes $+S$ et $-S$ restent sensiblement les mêmes.

ALLAWAY et THOMPSON [2] soutiennent l'opinion selon laquelle la composition des protéines est considérée comme étant stable et peu dépendante des variations du régime nutritionnel de la plante. En cas d'alimentation insuffisante en soufre, les concentrations de tous les acides aminés protéiques, y compris les acides aminés soufrés, tendent à diminuer dans la même proportion.

WILLENBRINK [268] étudie les chloroplastes isolés des feuilles de tomate. Il constate que la déficience en soufre modifie peu le rapport S protéique/N protéique dans les chloroplastes tout en provoquant une baisse sensible de la teneur en S des protéines cytoplasmiques.

La revue bibliographique citée ci-dessus démontre que le problème de la répartition du soufre dans le règne végétal, ainsi que celui des répercussions de la déficience en soufre sur la teneur des différentes fractions soufrées des organes végétaux sont loin d'être définitivement résolus.

En ce qui concerne l'arachide, rares sont les travaux qui touchent au problème de la nutrition en soufre de cette espèce.

BURKHART et PAGE [51] étudient la distribution des divers éléments minéraux solubles et, accessoirement, du sulfate dans le but de sélectionner les organes les plus appropriés pour le diagnostic des besoins nutritionnels de l'arachide.

HARRIS [118] rapporte, dans son étude comparative de l'absorption et du mouvement du ^{35}S appliqué soit aux racines soit aux gynophores, quelques valeurs pour la teneur en soufre des tiges et des feuilles des plantes mûres.

A la suite de la mise en évidence par OLLAGNIER et PRÉVOT [179] [187] de cas de déficience en soufre chez l'arachide au Sénégal, des analyses de diagnostic foliaire portant sur le soufre ont été effectuées à l'I.R.H.O. D'après ces auteurs les teneurs en soufre dans les feuilles varient de 0,15 à 0,35 %. Les chiffres cités pour les amandes se situent entre 0,19 et 0,24 %. Une corrélation positive a été trouvée entre le soufre et le phosphore.

Dans notre travail nous avons analysé les teneurs en soufre des différents organes de l'arachide déficiente ou non en soufre à divers stades de sa croissance.

De plus, sur un certain nombre d'échantillons, nous avons déterminé les différents composés soufrés après fractionnement du soufre en ses diverses formes selon le schéma présenté au chapitre « Matériel et Techniques ».

B. — RÉSULTATS ET DISCUSSION

1° — Évolution du soufre total au cours de la croissance.

Les dosages du soufre total furent effectués systématiquement sur les récoltes provenant des expériences 1962 à 1966.

Du fait des différences pondérales très importantes existant entre les plantes témoins et carencées, deux modes d'expression des résultats ont été retenus :

- a) par rapport à la matière sèche (S en % de la m. s.) ;
- b) pour un nombre déterminé d'individus (S en mg par organes de 10 plantes).

a) TENEURS DES PLANTES EN SOUFRE

L'évolution des teneurs en soufre des différents organes végétaux est représentée sous forme de graphiques dans les fig. 11 *a, b, c, d, e* et *f*. Les valeurs se rapportant aux organes reproducteurs sont réunis dans le tableau VII.

Les résultats provenant de l'expérience 1962 n'y figurent pas car cette année les dosages ont porté uniquement sur les parties aériennes prises ensemble et sur les racines.

Pour certains stades on n'a que les résultats d'une seule année. Pour d'autres, par contre, on dispose des chiffres provenant des expériences des différentes années. Dans ce dernier cas on constate une assez bonne concordance entre les résultats, ce qui est assez surprenant si on se rappelle les variations saisonnières importantes dans la croissance de ces mêmes cultures. En ce qui concerne les plantes —S, les valeurs les plus élevées sont observées en 1963, année où le degré de la carence a été faible, et les valeurs les plus basses — en 1966, année marquée par une carence particulièrement prononcée.

Dans les graines non germées, la teneur en soufre varie entre 0,187-0,199 %.

Chez les jeunes plantules âgées de 4-6 jours qui se développent sur H₂O et ne vivent que sur leurs propres réserves, le taux du soufre dans les cotylédons est un peu plus faible que dans les graines. Quant aux organes végétatifs ce sont les folioles qui ont les teneurs en soufre les plus élevées, puis viennent les racines et enfin les tiges + pétioles et les hypocotyles.

α) Plantes témoins

Durant la première phase de la croissance des plantes sur milieu nutritif +S, les teneurs en soufre de tous les organes végétaux augmentent. Cet accroissement est particulièrement sensible dans les racines. De ce fait leur teneur en soufre devient, au stade de 4-5 feuilles, supérieure à celle des folioles ; les tiges + pétioles présentent le taux le plus faible.

Cette situation se maintiendra tout au long de la croissance.

Examinons à présent plus en détail l'évolution des teneurs en soufre pour chacun des organes végétaux.

Cotylédons.

La teneur en soufre des cotylédons augmente à mesure que s'épuisent leurs réserves. Cette augmentation traduit en fait la complexité des processus qui se déroulent au niveau de ces organes, tels que la dégradation des substances protéiques, lipidiques et glucidiques ; la migration des divers composés solubles vers les organes en croissance active ; l'afflux, à partir de ces organes, d'autres composés lesquels sont à leur tour utilisés dans des nouvelles synthèses et des échanges avec le milieu nutritif. Ainsi ces organes en voie de dépérissement jouent non seulement un rôle d'organes de réserve ou de transport, mais participent activement à des métabolismes divers.

Folioles.

Les folioles ont les teneurs en soufre les plus élevées aux jeunes stades de la végétation, alors que l'activité métabolique est très intense.

Le taux du soufre, après avoir atteint sa valeur maximum entre le stade de 4-5

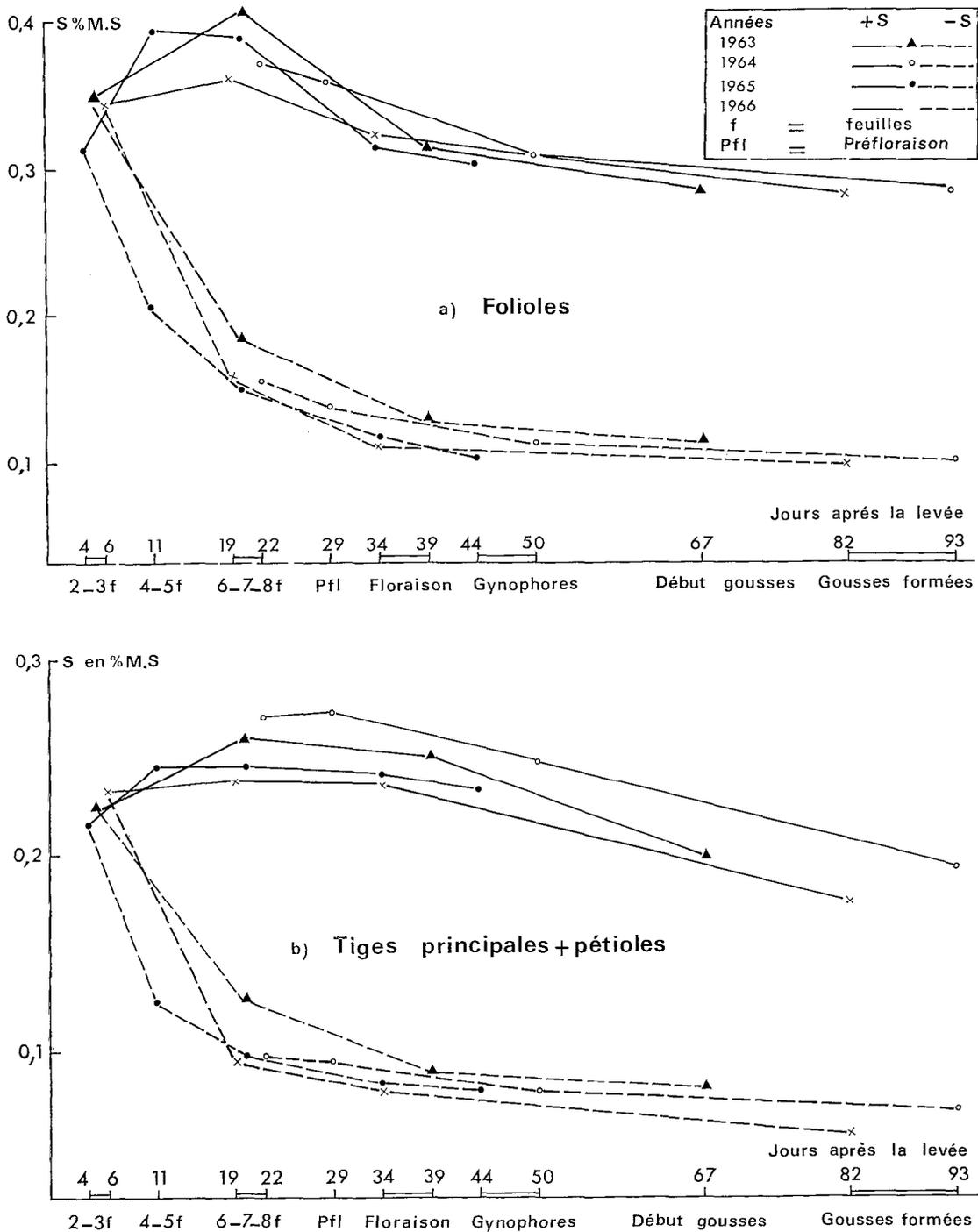


Fig. 11. — Variations du soufre total.

(le signe x doit être intercalé dans la légende de ce cliché entre — et --- pour 1966).

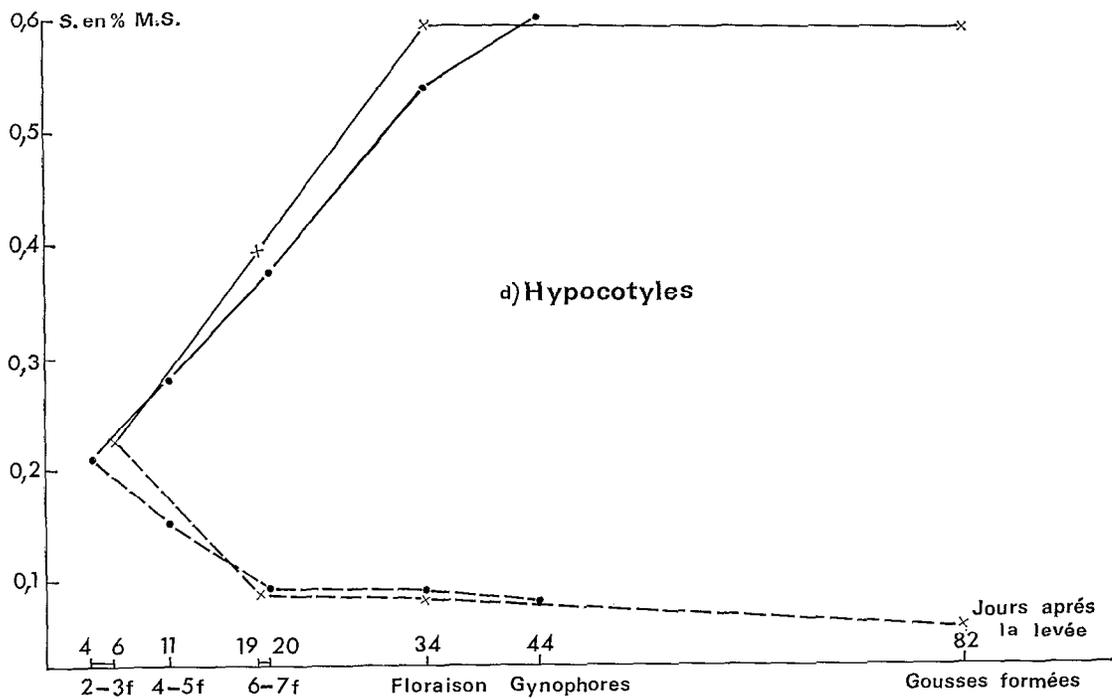
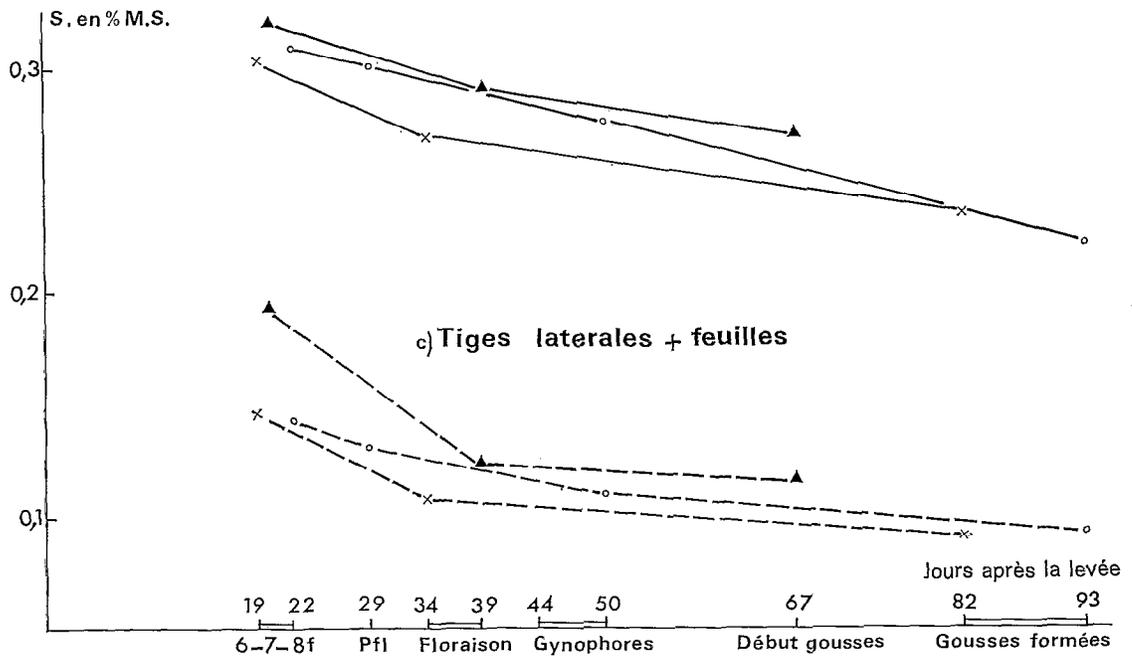


Fig. 11 (suite). — Variations du soufre total.

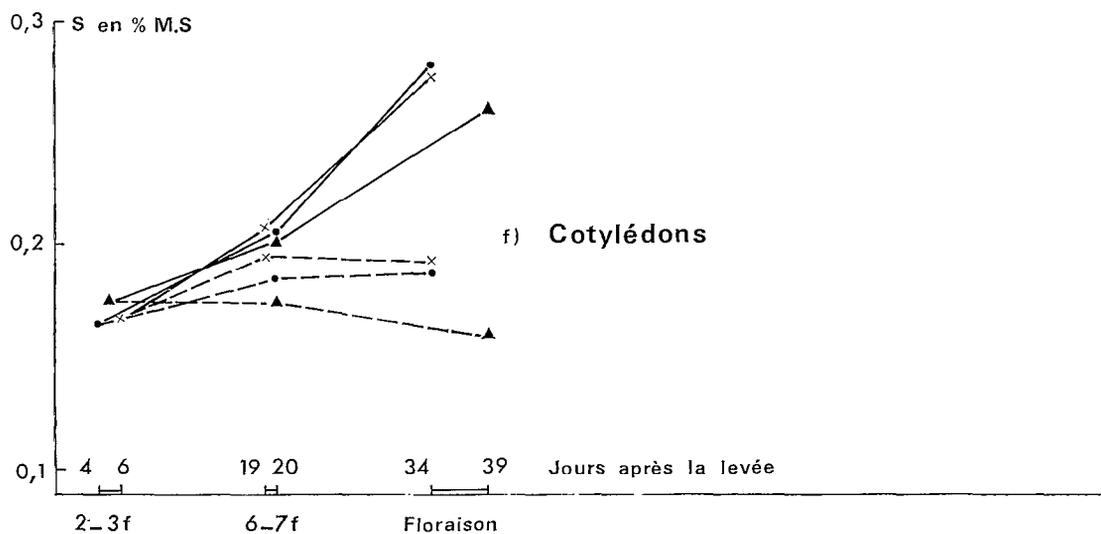
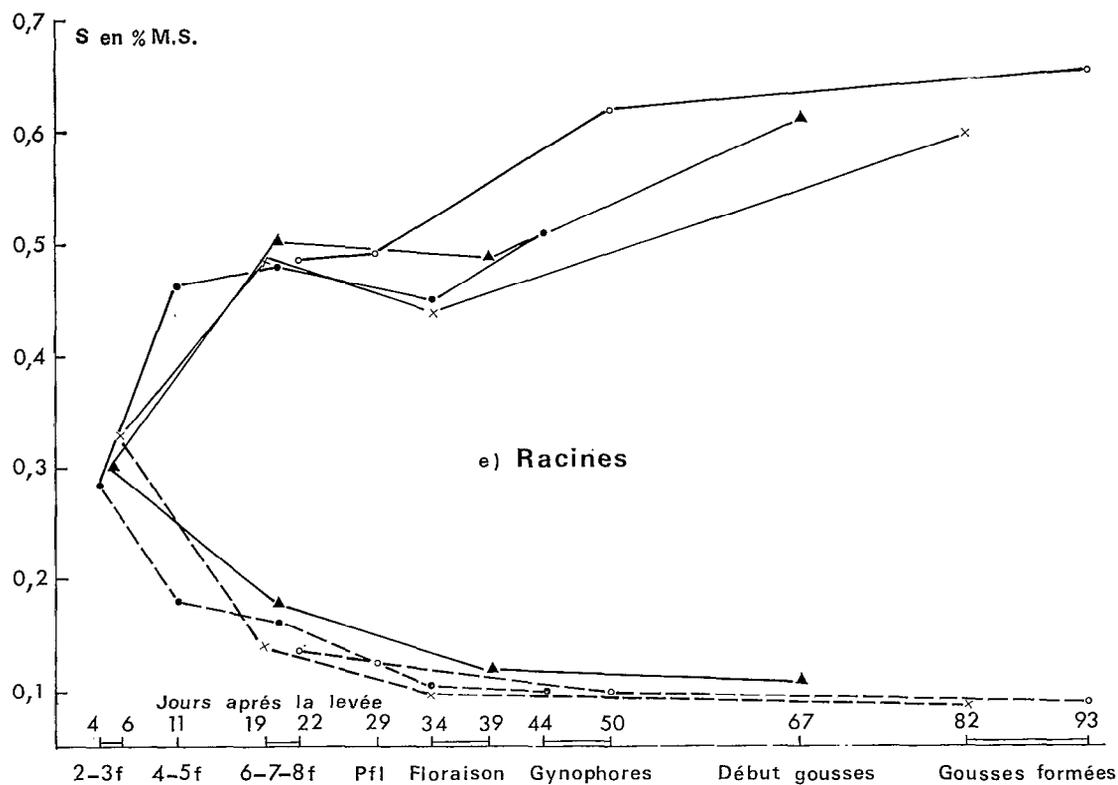


Fig. 11 (suite). — Variations du soufre total.

TABLEAU VII
TENEURS EN SOUFRE DES ORGANES REPRODUCTEURS — S EN % DE LA MATIÈRE SÈCHE

| Stade du développement | Année | ORGANES | | | | | |
|------------------------------------|-------|---------|-------|------------|-------|--------------------|-------|
| | | FLEURS | | GYNOPHORES | | GOUSSES | |
| | | +S | —S | +S | —S | +S | —S |
| Début de floraison | 1963 | 0,203 | 0,121 | — | — | — | — |
| | 1966 | 0,195 | 0,105 | — | — | — | — |
| Formation des gynophores | 1964 | — | — | 0,303 | 0,090 | — | — |
| | 1965 | — | — | 0,293 | 0,096 | — | — |
| Début de formation des gousses | 1963 | 0,189 | 0,098 | 0,286 | 0,101 | — | — |
| Formation des premiers fruits mûrs | 1964 | — | — | 0,291 | 0,087 | — | — |
| | 1966 | 0,192 | 0,092 | 0,276 | 0,084 | 0,207 | 0,096 |
| Maturation des fruits | 1966 | — | — | 0,257 | 0,086 | 0,217 | 0,098 |
| | | | | | | Graines : 0,225 | |
| | | | | | | Écorces : 0,196 | |

et 7-8 feuilles, baisse nettement au début de la floraison, l'absorption du soufre ne parvenant pas à compenser sa dilution dans le tissu végétal dont la croissance est très rapide. La baisse, quoique relativement lente, se poursuit jusqu'à la fin de l'expérimentation, c'est-à-dire jusqu'au stade de formation des gousses.

Tiges principales + pétioles.

Ces organes de transport se caractérisent par une relative pauvreté en soufre, dont le taux ne dépasse jamais les 2/3 de celui des folioles. Ce taux ne varie pratiquement pas entre le stade de 4-5 feuilles et le début de la floraison, se montrant particulièrement stable. Ceci indiquerait que pendant toute cette période une zone d'équilibre s'établit entre les folioles et les racines. La baisse ne s'amorce qu'au moment de la formation des organes reproducteurs — les gynophores et les gousses.

Une légère augmentation des teneurs en soufre, observée en 1963 et 1964 aux stades

de 6-7 et 7-8 feuilles, peut être attribuée à la présence des hypocotyles inclus dans la fraction tiges + pétioles (on n'a commencé à les traiter séparément qu'à partir de l'année 1965).

Tiges latérales + feuilles.

Comme chez les tiges principales + pétioles et les folioles la teneur en soufre de ces organes diminue au cours de la croissance.

Hypocotyles.

Les hypocotyles se distinguent des autres organes par leur comportement tout-à-fait particulier vis-à-vis du soufre.

Ils peuvent, suivant le stade physiologique, être les plus pauvres (cotylédons mis à part) ou les plus riches en soufre. Le premier cas se présente tout au début de la croissance, au stade de 2-3 feuilles, alors que les plantes vivent encore sur leurs propres réserves, le second — au début de la floraison ; à cette époque les teneurs en soufre des hypocotyles dépassent largement celles des racines. Entre ces deux stades, le taux du soufre dans les hypocotyles a plus que doublé. Des différences aussi importantes en fonction du stade physiologique ne se rencontrent dans aucun autre organe.

Le taux élevé du soufre atteint au début de la floraison se maintient jusqu'à la maturation des gousses.

Généralement on attribue aux hypocotyles qui occupent une position anatomique intermédiaire entre les racines et la tige et qui, de plus, sont en relation directe avec les cotylédons par leurs éléments vasculaires, un rôle important dans le transport des substances dissoutes.

Le comportement des hypocotyles par rapport au soufre semble mettre en évidence leur rôle d'organes de réserve et de régulation.

Racines.

La capacité des racines de l'arachide de retenir le soufre provenant du milieu nutritif, dès qu'elles se trouvent au contact avec ce dernier, mérite d'être soulignée.

En effet, pour d'autres espèces telles que p. ex. le haricot [29], la luzerne [231] [226] et surtout le cotonnier [95], les auteurs signalent un bas niveau du soufre dans ces organes. De même d'après nos propres expériences avec le cotonnier et le mil, les racines présentent des teneurs en soufre inférieure à celle des feuilles.

La tendance des racines à accumuler le soufre paraît donc être propre à l'arachide et reste vraisemblablement en rapport avec la physiologie spécifique de cette plante. Leur teneur en soufre suit une courbe très différente de celle observée chez les organes chlorophylliens : à l'exception d'un léger infléchissement qu'on observe au début de la floraison, elle s'élève à mesure que la végétation se poursuit. Cette tendance, si surprenante qu'elle soit, se trouve confirmée par toutes les expériences réalisées entre 1962 et 1966.

Au moment de la maturation des gousses les teneurs en soufre des racines atteignent des valeurs très élevées, deux fois supérieures à celles des folioles.

Compte tenu du fait que les résultats obtenus pour les racines ont été tout à fait inattendus, nous avons cru nécessaire de vérifier si le taux élevé du soufre ne provient pas de la rétention du SO_4^{--} de la solution nutritive à la surface des racines par simple adsorption, à la suite de l'insuffisance de leur ringage. Un essai de contrôle a été effectué

en 1967 au début de la formation des gynophores, comportant deux modes de rinçage des racines :

- I. 3 rinçages successifs dans des récipients remplis d'eau échangée ;
- II. 5 rinçages successifs prolongés dans des récipients remplis d'eau échangée.

Le soufre total a été dosé dans les racines et dans les hypocotyles. Ci-dessous les résultats de ce contrôle :

| | S total en % de la m. s. | |
|------------------|--------------------------|-------|
| | I | II |
| Racines..... | 0,441 | 0,449 |
| Hypocotyles..... | 0,546 | 0,539 |

Il en résulte qu'un rinçage plus abondant reste sans influence sur les teneurs en soufre des racines et des hypocotyles.

Organes reproducteurs.

Au moment de l'apparition des fleurs et, plus tard, de la formation des gynophores et des gousses, une partie du soufre des organes végétatifs migrent vers ces organes reproducteurs.

Comme le montrent les chiffres du tableau VII, la teneur en soufre des fleurs se situe à un niveau plus bas que celui des organes chlorophylliens à la même époque.

Les teneurs des gynophores sont tout à fait comparable à celles des folioles.

Le taux du soufre dans les gousses ne représente que les 3/4 de celui des gynophores.

Dans les gousses bien formées, au début de leur maturation, la teneur en soufre est un peu plus élevée dans la graine que dans l'écorce ; la différence cependant est faible.

β) Plantes carencées

L'absence du soufre dans le milieu nutritif provoque très rapidement une baisse de son taux dans tous les organes végétaux sans exception.

Cotylédons.

Les cotylédons sont les organes dont le taux de soufre est, d'abord, relativement peu affecté par la carence. Ce n'est qu'au début de la floraison qu'une différence nette apparaît entre les teneurs en soufre des cotylédons +S et -S. Cette différence provient essentiellement de l'augmentation des teneurs en cet élément chez les cotylédons +S, celles des -S se maintenant presque inchangées.

Organes végétatifs.

L'allure des courbes correspondant aux organes végétatifs des plantes carencées est tout à fait différente de celle des cotylédons. La chute la plus brutale se produit au cours de la première semaine de la végétation sur milieu nutritif -S, entre les stades de 2-3 et 4-5 feuilles, alors que, comme on se le rappelle, la croissance des plantes se poursuit encore normalement et qu'aucun symptôme visible de carence ne se manifeste. Cette chute est, cependant, plus ou moins sensible, suivant l'organe. Ainsi dans les tiges +pétioles le taux du soufre baisse de 2/5, dans les folioles et les racines — de 1/3 et dans les hypocotyles — de 1/4 du taux initial.

Les tiges + pétioles s'appauvrissent donc le plus rapidement en soufre et présentent, au stade de 4-5 feuilles, les teneurs les plus basses. Les folioles demeurent, comme au début de la végétation, les organes les plus riches en soufre.

Entre les stades de 4-5 et de 6-7 feuilles, le taux du soufre continue à baisser très rapidement dans tous les organes —S et plus particulièrement dans les hypocotyles moins affectés lors de la première phase de la carence. Par la suite, la chute — moins brusque, mais nette — se poursuit partout jusqu'à la floraison, exception faite pour les hypocotyles (dont la teneur en soufre reste sensiblement constante). Vers cette époque les teneurs en S des organes —S approchent de leur niveau, en quelque sorte, critique. On se souvient que c'est à partir de la floraison que le ralentissement de la croissance des plantes —S se fait particulièrement ressentir.

Au cours de la croissance ultérieure des plantes sur solution dépourvue de soufre, son taux dans les organes végétaux ne diminue que peu.

A la fin de l'expérimentation, au stade de gousses, les teneurs en soufres des organes chlorophylliens —S sont près de 3 fois plus faibles que celles des organes +S. Pour les racines et les hypocotyles l'écart est encore plus important, leurs teneurs étant respectivement, environ 7 et 10 fois inférieures à celles des témoins.

On remarque qu'en valeurs absolues les teneurs en S des folioles et des racines —S sont assez voisines et nettement plus élevées que celles des organes de transport.

Organes reproducteurs.

Comme le montrent les chiffres du tableau VII la déficience se répercute également sur les teneurs en soufre des fleurs, des gynophores et des gousses, nettement inférieures chez les plantes —S, bien que la composition des organes reproducteurs soit généralement assez stable et dépende peu des variations du niveau d'alimentation de la plante en éléments minéraux. EATON [86] trouve le même pourcentage de soufre dans les graines de tournesol déficient et non déficient en cet élément. Coïc [66] cependant constate que la teneur en soufre du grain de blé d'hiver reflète la déficience subie par la plante.

Chez l'arachide, la réduction la plus sensible est observée au niveau des gynophores, dont le taux est 3 fois plus faible que chez les plantes +S.

Les teneurs en soufre de tous ces organes sont très voisines et se rapprochent de celles des racines —S aux mêmes stades.

b) SOUFRE EN MG PAR ORGANES DE DIX PLANTES

Les valeurs du soufre calculées d'après les résultats de l'expérience 1966 sont réunies dans le tableau VIII.

L'examen de ces chiffres permet de constater qu'au début de la croissance (plantes sur H₂O), près de la moitié du soufre total de la plante se trouve encore dans les cotylédons. Les folioles en referment beaucoup moins mais davantage que les autres organes. Ceci prouve qu'une grande partie des réserves contenues dans les cotylédons n'a pas encore été utilisée.

A mesure du développement des jeunes plantes le soufre des cotylédons diminue. On remarque alors que les valeurs du soufre pour les cotylédons +S et —S sont assez voisines ; l'utilisation des réserves soufrées par les plantes carencées ne semble donc être ni plus rapide ni beaucoup plus complète que chez les témoins. De toute évidence, le soufre des cotylédons ne peut pas se substituer à celui du milieu extérieur.

TABLEAU VIII
DISTRIBUTION DU SOUFRE ENTRE LES ORGANES DES PLANTES +S ET —S AU COURS DE LA CROISSANCE —
S EN MG PAR ORGANE DE 10 PLANTES. 1966.

| Stade du développement | ORGANES VÉGÉTAUX | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|------------------|--------------------------------|------------------------------|-------------|----------------------------|---------|--------|------------|---------|------------------|--------|------|-------|------|---------|------|---------|------|---------|-------|--------|-------|
| | Cotylédons | Folioles des tiges principales | Tiges principales + pétioles | Hypocotyles | Tiges latérales + feuilles | Racines | Fleurs | Gynophores | Gousses | Plantes entières | | | | | | | | | | | | |
| PLANTES SUR H ² O | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 2-3 feuilles... | 5,69 | 2,03 | 0,87 | 1,24 | — | 1,78 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | 11,61 | | |
| PLANTES SUR SOLUTIONS NUTRITIVES +S ET —S | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | +S | —S | +S | —S | +S | —S | +S | —S | +S | —S | +S | —S | +S | —S | +S | —S | +S | —S | +S | —S | | |
| 6-7 feuilles... | 2,10 | 2,21 | 13,10 | 4,02 | 4,86 | 1,45 | 1,54 | 0,30 | 4,06 | 1,14 | 8,47 | 2,52 | — | — | — | — | — | — | — | — | 34,13 | 11,64 |
| Début de floraison..... | 1,83 | 1,46 | 45,97 | 6,51 | 21,11 | 2,43 | 4,37 | 0,34 | 191,73 | 6,74 | 35,66 | 3,99 | 1,58 | 0,18 | — | — | — | — | — | — | 202,25 | 21,65 |
| Formation des gousses. | — | — | 178,59 | 7,23 | 95,15 | 4,32 | 35,16 | 0,69 | 1418,55 | 30,74 | 571,27 | 9,95 | 15,46 | 0,59 | 114,24 | 1,00 | 113,31 | 0,71 | 2541,73 | 55,23 | — | — |
| Maturation des fruits... | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | 1068,71 | 1,85 | 1622,01 | 9,94 | — | — | — | — |

Dans les autres organes des plantes témoins, le soufre augmente considérablement tout au long de la végétation.

Chez les plantes carencées, par contre, durant la première phase de croissance (entre les stades de 2-3 et 6-7 feuilles) la quantité totale du soufre ne varie pas mais les $\frac{3}{5}$ du soufre contenu initialement dans les cotylédons et les $\frac{3}{4}$ de celui des hypocotyles sont distribués entre les autres organes des jeunes plantes, en premier lieu — les folioles.

Par la suite, et jusqu'à la fin de l'expérimentation, le soufre augmente également chez les plantes —S.

En l'absence de tout apport intentionnel des sulfates dans le milieu, cette accumulation ne peut être expliquée que par les apports incontrôlés du soufre de l'atmosphère et des impuretés des sels servant à la préparation des solutions nutritives.

Les gains en soufre des plantes carencées sont toutefois incomparablement plus faibles que ceux des témoins. Au cours des 76 jours de végétation sur solutions nutritives +S et —S, période qui sépare le stade initial (2-3 feuilles) du dernier stade analysé (formation des gousses), le soufre des plantes +S s'est accru de 219 fois alors que celui des plantes —S n'a même pas quintuplé. Le gain en soufre pendant cette période est de 44 mg pour les plantes —S contre 2530 mg pour les plantes +S soit 58 fois plus important chez ces dernières. A ce dernier stade, la quantité totale du soufre accumulé dans les plantes témoins est 46 fois supérieure à celle des plantes carencées alors que la matière sèche produite par les plantes +S n'est, à cette époque, que 15 fois plus élevée. Cette différence traduit donc à la fois la réduction très sensible de la croissance et la baisse notable du taux global du soufre chez les plantes carencées.

A tous les stades étudiés, tant chez les plantes témoins que chez les carencées, le soufre des parties aériennes constitue la partie prépondérante du soufre total de la plante : entre 68 et 81 % pour les +S et 59 et 78 % pour les —S. Ce sont les folioles qui en contiennent les quantités les plus importantes. Le soufre des racines représente, suivant le stade et le traitement, entre 18 et 25 % du contenu soufré.

Il en ressort que la carence n'affecte pas d'une manière très sensible la répartition du soufre entre les différents organes végétatifs, sinon en ce qui concerne sa distribution entre les tiges principales et latérales, feuilles comprises : le rapport S des tiges principales +feuilles/S des tiges latérales+feuilles est toujours plus élevé chez les plantes —S que chez les plantes +S ; ceci reste en rapport avec le faible développement des pousses latérales chez les plantes carencées.

L'influence de la carence sur la proportion du soufre contenu dans les organes reproducteurs est, par contre, très nette. Alors que chez les plantes témoins, au stade de formation de gousses, le soufre des gynophores+gousses représente 9 % du soufre total, chez les plantes carencées ils ne constituent que 3 %. En valeur absolue les organes reproducteurs+S en contiennent 133 fois plus que les organes correspondant —S. Cet écart s'accroît encore au début de la maturation des fruits, après 37 jours supplémentaires de végétation ; la quantité du soufre accumulée dans les gynophores et gousses des plantes témoins est 228 fois plus élevée que celle de ces mêmes organes chez les plantes carencées. Ceci résulte en premier lieu, de l'arrêt presque complet, sous l'effet de la carence, de la production des fruits et ensuite, quoiqu'à un degré beaucoup moindre, de la baisse du taux de soufre dans les organes reproducteurs —S.

2° — Différentes formes de soufre.

Jusqu'à présent il n'a été question que de la distribution du soufre total dans les différents organes au cours de la croissance des plantes. Il importe d'étudier également la répartition du soufre sous ses diverses formes et en particulier du sulfate minéral soluble, du soufre organique soluble et du soufre organique insoluble.

Le tableau IX rend compte de la répartition des différentes formes de soufre selon les organes et les stades du développement. Les résultats sont exprimés en pourcentages de la matière sèche. Les mêmes résultats, mais calculés en % du S total, sont reproduits dans le tableau X. De plus, dans le tableau XI nous avons réuni quelques chiffres se rapportant aux dosages du soufre de la fraction « lipidique » (effectués sur l'extrait chloroformique).

Examinons tout d'abord les organes de jeunes plantules se développant sur H₂O.

Dans leurs cotylédons la presque totalité du soufre se trouve sous forme organique dont les 2/3 sont constitués par le soufre protéique, ce qui confirme qu'une grande partie des protéines de réserve n'a pas encore été utilisée.

Les folioles sont déjà le siège d'une protéogénèse intense, comme l'indique la valeur maximum du soufre protéique présentée par ces organes, tant en pourcentage de la matière sèche — 0,233 %, qu'en pourcentage du soufre total — 67 %. Un peu plus de la moitié de la fraction soluble des folioles est constituée par les composés soufrés organiques. De ce fait le sulfate ne représente qu'un faible pourcentage du soufre total de ces organes et la proportion du soufre organique atteint la valeur très élevée de 84%.

Pour les autres organes des jeunes plantules cette proportion est moins importante mais le soufre organique constitue néanmoins la forme prépondérante de leur contingent soufré.

Dans les tiges+pétioles les fractions insoluble et soluble sont identiques ; cette dernière est constituée aux 3/5 par le sulfate. Dans les racines et hypocotyles l'équilibre entre les deux formes de soufre est déplacé vers les composés solubles. Mais alors que dans les racines le soufre du sulfate ne dépasse que légèrement le soufre organique soluble, la fraction soluble des hypocotyles est nettement dominée par le sulfate qui représente un pourcentage important du soufre total (42 %). Cette proportion élevée de sulfate au niveau des hypocotyles dès le début de la croissance mérite d'être soulignée.

Au cours de la végétation des plantes sur milieu complet ou dépourvu de soufre, la distribution des différentes fractions soufrées au sein du végétal subit des modifications et des différences essentielles apparaissent entre les organes +S et -S.

a) PLANTES TÉMOINS

α) Cotylédons

Soufre soluble et insoluble.

Nous n'avons, par manque de matériel, procédé qu'aux déterminations du soufre soluble (organique+minéral) et protéique.

On observe qu'à mesure que les plantes se développent les réserves protéiques des cotylédons s'épuisent : la fraction soufrée protéique diminue au profit de la fraction soluble, laquelle devient prédominante au début de la floraison.

TABLEAU IX
DISTRIBUTION DES DIFFÉRENTES FORMES DE SOUFRE DANS LES ORGANES DES PLANTES +S ET -S :
S EN % DE M.S. 1966

| ORGANES VÉGÉTAUX | S SOLUBLE | | | S INSOLUBLE | S ORGANIQUE soluble+ insoluble | S TOTAL | | S TOTAL Dosage direct | | | | | | |
|---|---------------------------------|-------------|--|-------------|--------------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|-----------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | S-SO ₄ ²⁻ | S organique | S-SO ₄ ²⁻ + S organique | | | Somme : soluble+ insoluble | Somme : soluble+ insoluble | | | | | | | |
| PLANTES SUR H ₂ O | | | | | | | | | | | | | | |
| stade : 2-3 feuilles | | | | | | | | | | | | | | |
| Cotylédons... | 0,010 | 0,052 | 0,062 | 0,110 | 0,162 | 0,172 | 0,167 | 0,167 | | | | | | |
| Folioles..... | 0,055 | 0,059 | 0,114 | 0,233 | 0,292 | 0,347 | 0,344 | 0,344 | | | | | | |
| Tiges princ. +pétioles... | 0,073 | 0,048 | 0,121 | 0,120 | 0,168 | 0,241 | 0,234 | 0,234 | | | | | | |
| Hypocotyles... | 0,100 | 0,050 | 0,150 | 0,086 | 0,136 | 0,236 | 0,225 | 0,225 | | | | | | |
| Racines..... | 0,102 | 0,089 | 0,191 | 0,143 | 0,232 | 0,334 | 0,330 | 0,330 | | | | | | |
| PLANTES SUR SOLUTIONS NUTRITIVES +S ET -S | | | | | | | | | | | | | | |
| | +S | -S | +S | --S | +S | -S | +S | -S | +S | -S | +S | -S | +S | -S |
| stade : 6-7 feuilles | | | | | | | | | | | | | | |
| Cotylédons... | | | | | 0,102 | 0,091 | 0,114 | 0,106 | | | 0,216 | 0,197 | 0,208 | 0,196 |
| Folioles*..... | 0,092 | 0,016 | 0,052 | 0,017 | 0,144 | 0,033 | 0,228 | 0,135 | 0,280 | 0,152 | 0,372 | 0,168 | 0,362 | 0,154 |
| Tige princ. +pétioles... | 0,107 | 0,013 | 0,042 | 0,015 | 0,149 | 0,028 | 0,094 | 0,070 | 0,136 | 0,085 | 0,243 | 0,098 | 0,238 | 0,094 |
| Hypocotyles... | 0,275 | 0,016 | 0,046 | 0,017 | 0,321 | 0,033 | 0,089 | 0,057 | 0,135 | 0,074 | 0,410 | 0,090 | 0,394 | 0,087 |
| Tiges latér. +feuilles.... | | | | | 0,148 | 0,039 | 0,159 | 0,108 | | | 0,307 | 0,147 | 0,303 | 0,144 |
| Racines..... | 0,241 | 0,017 | 0,064 | 0,019 | 0,305 | 0,036 | 0,184 | 0,108 | 0,248 | 0,127 | 0,489 | 0,144 | 0,484 | 0,140 |
| stade : début de floraison | | | | | | | | | | | | | | |
| Cotylédons... | | | | | 0,153 | 0,101 | 0,128 | 0,091 | | | 0,281 | 0,192 | 0,277 | 0,192 |
| Folioles*..... | 0,095 | 0,015 | 0,039 | 0,017 | 0,134 | 0,032 | 0,200 | 0,083 | 0,239 | 0,100 | 0,334 | 0,115 | 0,319 | 0,114 |
| Tige princ. +pétioles... | 0,131 | 0,013 | 0,025 | 0,015 | 0,156 | 0,028 | 0,085 | 0,049 | 0,110 | 0,064 | 0,241 | 0,077 | 0,234 | 0,079 |
| Hypocotyles... | 0,482 | 0,014 | 0,037 | 0,017 | 0,519 | 0,031 | 0,090 | 0,054 | 0,127 | 0,071 | 0,609 | 0,085 | 0,598 | 0,085 |
| Tiges latér. +feuilles.... | | | | | 0,115 | 0,026 | 0,167 | 0,086 | | | 0,282 | 0,112 | 0,269 | 0,107 |
| Racines..... | 0,225 | 0,015 | 0,048 | 0,019 | 0,273 | 0,034 | 0,177 | 0,071 | 0,225 | 0,090 | 0,450 | 0,105 | 0,437 | 0,102 |
| Fleurs..... | | | | | 0,102 | 0,031 | 0,101 | 0,078 | | | 0,203 | 0,109 | 0,195 | 0,105 |
| stade : formation des gousses | | | | | | | | | | | | | | |
| Folioles*..... | 0,068 | 0,011 | 0,023 | 0,014 | 0,091 | 0,025 | 0,192 | 0,075 | 0,215 | 0,089 | 0,283 | 0,100 | 0,282 | 0,096 |
| Tige princ. +pétioles... | 0,094 | 0,007 | 0,020 | 0,012 | 0,114 | 0,019 | 0,062 | 0,038 | 0,082 | 0,050 | 0,176 | 0,057 | 0,175 | 0,057 |
| Hypocotyles... | 0,434 | 0,008 | 0,034 | 0,016 | 0,468 | 0,024 | 0,128 | 0,039 | 0,162 | 0,055 | 0,596 | 0,063 | 0,590 | 0,061 |
| Tiges latér. +feuilles.... | | | | | 0,120 | 0,028 | 0,124 | 0,063 | | | 0,244 | 0,091 | 0,235 | 0,090 |
| Racines..... | 0,416 | 0,009 | 0,037 | 0,021 | 0,453 | 0,030 | 0,150 | 0,064 | 0,187 | 0,085 | 0,603 | 0,094 | 0,598 | 0,092 |
| Gynophores... | 0,143 | | 0,060 | | 0,203 | 0,025 | 0,086 | 0,065 | 0,146 | | 0,289 | 0,090 | 0,276 | 0,084 |
| Gousses..... | 0,090 | | 0,045 | | 0,135 | 0,027 | 0,083 | 0,071 | 0,128 | | 0,218 | 0,098 | 0,207 | 0,096 |
| stade : maturation des fruits | | | | | | | | | | | | | | |
| Gynophores... | 0,126 | 0,009 | 0,055 | 0,016 | 0,181 | 0,025 | 0,088 | 0,066 | 0,143 | 0,082 | 0,269 | 0,091 | 0,257 | 0,086 |
| Gousses..... | 0,043 | 0,007 | 0,042 | 0,014 | 0,085 | 0,021 | 0,136 | 0,081 | 0,178 | 0,095 | 0,221 | 0,102 | 0,217 | 0,098 |
| Graines..... | | | | | 0,056 | | 0,169 | | | | 0,225 | | 0,225 | |
| Écorces..... | | | | | 0,112 | | 0,089 | | | | 0,201 | | 0,196 | |

* Folioles des tiges principales.

TABLEAU X
DIFFÉRENTES FORMES DE SOUFRE EN % DU SOUFRE TOTAL
(S total = S soluble + S insoluble)

| ORGANES VÉGÉTAUX | SOUFRE SOLUBLE | | | S INSOLUBLE | S ORGANIQUE soluble + insoluble | | | | | |
|---|--------------------------------|-------------|---|-------------|---------------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | S-SO ₄ ⁻ | S organique | S-SO ₄ ⁻ + S organique | | | | | | | |
| PLANTES SUR H ² O | | | | | | | | | | |
| stade : 2-3 feuilles | | | | | | | | | | |
| Cotylédons..... | 5,82 | 30,23 | 36,05 | 63,95 | 94,18 | | | | | |
| Folioles..... | 15,85 | 17,00 | 32,85 | 67,15 | 84,15 | | | | | |
| Tiges principales + pétioles..... | 30,29 | 19,92 | 50,21 | 49,79 | 69,71 | | | | | |
| Hypocotyles..... | 42,37 | 21,19 | 63,56 | 36,44 | 57,63 | | | | | |
| Racines..... | 30,54 | 26,65 | 57,19 | 42,81 | 69,46 | | | | | |
| PLANTES SUR SOLUTIONS NUTRITIVES +S ET -S | | | | | | | | | | |
| | +S | -S | +S | -S | +S | -S | +S | -S | +S | -S |
| stade : 6-7 feuilles | | | | | | | | | | |
| Cotylédons..... | | | | | 47,22 | 46,19 | 52,78 | 53,81 | | |
| Folioles*..... | 24,73 | 9,52 | 13,98 | 10,12 | 38,71 | 19,64 | 61,29 | 80,36 | 75,27 | 90,48 |
| Tiges principales + pétioles..... | 44,03 | 13,26 | 17,29 | 15,31 | 61,32 | 28,57 | 38,68 | 71,43 | 55,97 | 86,74 |
| Hypocotyles..... | 67,07 | 17,78 | 11,22 | 18,89 | 78,29 | 36,67 | 21,71 | 63,33 | 32,93 | 82,22 |
| Tiges latérales + feuilles..... | | | | | 48,21 | 26,53 | 51,79 | 73,47 | | |
| Racines..... | 49,28 | 11,81 | 13,09 | 13,19 | 62,37 | 25,00 | 37,63 | 75,00 | 50,72 | 88,19 |
| stade : début de floraison | | | | | | | | | | |
| Cotylédons..... | | | | | 54,45 | 52,60 | 45,55 | 47,40 | | |
| Folioles*..... | 28,44 | 13,05 | 11,68 | 14,78 | 40,12 | 27,83 | 59,88 | 72,17 | 71,56 | 86,95 |
| Tiges principales + pétioles..... | 54,36 | 16,88 | 10,37 | 19,48 | 64,73 | 36,36 | 35,27 | 63,64 | 45,64 | 83,12 |
| Hypocotyles..... | 79,15 | 16,47 | 6,07 | 20,00 | 85,22 | 36,47 | 14,78 | 63,53 | 20,85 | 83,53 |
| Tiges latérales + feuilles..... | | | | | 40,78 | 23,21 | 59,22 | 76,79 | | |
| Racines..... | 50,00 | 14,29 | 10,67 | 18,09 | 60,67 | 32,38 | 39,33 | 67,62 | 50,00 | 85,71 |
| Fleurs..... | | | | | 50,25 | 28,44 | 49,75 | 71,56 | | |
| stade : formation des gousses | | | | | | | | | | |
| Folioles*..... | 24,03 | 11,00 | 8,13 | 14,00 | 32,16 | 25,00 | 67,84 | 75,00 | 75,97 | 89,00 |
| Tiges principales + pétioles..... | 53,41 | 12,28 | 11,36 | 21,05 | 64,77 | 33,33 | 35,23 | 66,67 | 46,59 | 87,72 |
| Hypocotyles..... | 72,82 | 12,70 | 5,70 | 25,40 | 78,52 | 38,10 | 21,48 | 61,90 | 27,18 | 87,30 |
| Tiges latérales + feuilles..... | | | | | 49,18 | 30,77 | 50,82 | 69,23 | | |
| Racines..... | 68,99 | 9,57 | 6,13 | 22,34 | 75,12 | 31,91 | 24,88 | 68,09 | 31,01 | 90,43 |
| Gynophores..... | 49,48 | | 20,76 | | 70,24 | 27,78 | 29,76 | 72,22 | | 50,52 |
| Gousses..... | 41,29 | | 20,64 | | 61,93 | 27,55 | 38,07 | 72,45 | | 58,71 |
| stade : maturation des fruits | | | | | | | | | | |
| Gynophores..... | 46,84 | 9,89 | 20,45 | 17,58 | 67,29 | 27,47 | 32,71 | 72,53 | 53,16 | 90,11 |
| Gousses..... | 19,46 | 6,86 | 19,00 | 13,73 | 38,46 | 20,59 | 61,54 | 79,41 | 80,54 | 93,14 |
| Graines..... | | | | | 24,89 | | 75,11 | | | |
| Écorces..... | | | | | 55,72 | | 44,28 | | | |

* Folioles des tiges principales.

TABLEAU XI
SOUFRE DE L'EXTRAIT CHLOROFORMIQUE : S EN % DE M. S.

| Stade du développement | ORGANES | | | VÉGÉTAUX | | | | |
|---|------------|--------------------------------|------------------------------|----------|-------|-------|-------|-------|
| | Cotylédons | Folioles des tiges principales | Tiges principales + pétioles | Racines | | | | |
| PLANTES SUR H ₂ O | | | | | | | | |
| 2-3 feuilles | trace | 0,009 | 0,006 | | | | | |
| PLANTES SUR SOLUTIONS NUTRITIVES +S ET -S | | | | | | | | |
| | +S | -S | +S | -S | +S | -S | +S | -S |
| Début de floraison | | | 0,009 | 0,008 | 0,004 | trace | trace | trace |

β) Organes végétatifs

Soufre protéique.

En évaluant la part du soufre protéique dans le contenu soufré de divers organes, on constate qu'il constitue, tout au long de la croissance, la fraction prédominante du soufre total des folioles, ce qui indique l'existence dans ces dernières d'une protéogénèse active. Sa proportion varie peu en fonction du stade du développement (entre 60 à 68 % du soufre total).

Dans tous les autres organes végétatifs, la proportion du soufre protéique est de beaucoup moins élevée, la fraction soluble y étant nettement dominante. Ceci est particulièrement marqué dans les hypocotyles, dont le soufre protéique ne représente que 1/5 du soufre total.

Dans les tiges + pétioles et les racines, la proportion du soufre protéique est sensiblement la même : elle évolue entre 35 et 39 % en subissant peu de modification au cours du cycle évolutif, sauf dans les racines au dernier stade — celui de la formation des gousses, où elle tombe à environ 25 %.

Cependant, exprimé en % de la matière sèche, le soufre protéique des tiges est beaucoup moins abondant que celui des racines, siège de processus métaboliques tendant à la mise en réserve des protéines.

Si, à présent, on compare les teneurs en soufre protéique de tous les organes végétatifs, on constate que les folioles ont les teneurs les plus élevées. Les valeurs les plus basses sont enregistrées pour les tiges + pétioles.

Dans tous les organes, les hypocotyles exceptés, le taux du soufre protéique diminue progressivement au cours de la croissance. L'accroissement du taux de soufre protéique dans les hypocotyles vers la fin de l'expérimentation peut être attribué au fait qu'à ce stade avancé du développement, les hypocotyles font plutôt partie des racines, en formant leur collet.

Soufre organique soluble.

Le soufre organique soluble ne représente qu'un faible pourcentage du soufre total, pourcentage très comparable d'un organe à l'autre et qui diminue avec l'âge des organes.

Exprimé en % de la matière sèche le taux des composés organiques soufrés solubles est le plus élevé dans les racines et le plus bas dans les tiges + pétioles.

Soufre « lipidique ».

Si on examine les résultats réunis dans le tableau XI, se rapportant aux dosages de soufre dans des extraits chloroformiques, on constate qu'une faible fraction du soufre organique liée aux lipides et, de quelque manière, aux pigments — probablement les sulfolipides — est présente dans les organes verts. Cette fraction est plus élevée dans les folioles, riches en chloroplastes, que dans les tiges + pétioles.

Soufre organique total : soluble et protéique.

Vu les faibles valeurs du soufre organique soluble, c'est le soufre protéique qui conditionne, dans une large mesure, celles du soufre organique total.

La plupart des constatations faites à propos du soufre protéique sont aussi valables pour le soufre organique total et notamment :

— les teneurs les plus élevées s'observent chez les folioles et les plus basses, chez les tiges + pétioles ;

— exception faite pour les hypocotyles, ces teneurs diminuent avec l'âge des organes ;

— la proportion du soufre organique total dans le contenu soufré des différents organes est la plus importante dans les folioles et la plus faible dans les hypocotyles.

D'une manière générale ces proportions ne varient que peu au cours de la croissance.

Comme le montrent les chiffres du tableau X le soufre organique représente, en moyenne, et à quelques exceptions près :

— les 3/4 du soufre total des folioles ;

— près de la moitié du soufre total des tiges + pétioles ;

— la moitié à 1/3 du soufre total des racines ;

— 1/3 du soufre total des hypocotyles.

Soufre inorganique.

La fraction inorganique du soufre est constituée par le sulfate. Sa distribution dans les différents organes est très hétérogène. Un trait commun à tous les organes est cependant à noter : l'accroissement très net du taux de sulfate entre le stade initial, alors que les plantules vivent encore sur H₂O et le stade de 6-7 feuilles, après environ 2 semaines de culture sur milieu nutritif complet contenant du sulfate.

A tous les stades de la végétation c'est dans les folioles que le taux de sulfate est le plus bas. Par rapport au soufre total il ne représente que le quart.

Dans les organes de transport — tiges + pétioles — la proportion de soufre inorganique est nettement plus élevée. Au moment de la floraison un peu plus de la moitié du soufre total est constitué par le sulfate. Cette proportion se maintient jusqu'à la fin de l'expérimentation.

Mais c'est au niveau des racines et plus encore des hypocotyles qu'on observe les teneurs les plus élevées en soufre inorganique. Dans les racines le taux de sulfate déjà élevé aux jeunes stades de la croissance, s'accroît encore considérablement vers la fin de l'expérimentation, au moment de la formation des gousses. Le soufre inorganique constitue à cette époque la fraction soufrée prépondérante des racines (69 % du soufre total) alors qu'elle ne représentait que la moitié du soufre total aux stades précédents.

Dans les hypocotyles le taux de soufre inorganique est encore plus élevé que dans les racines. Tout au long de la croissance (sur milieu nutritif) la plus grande partie du soufre de ces organes (67 à 79 %) se trouve sous forme de sulfate. Ceci témoigne en faveur du rôle régulateur des hypocotyles.

γ) *Organes reproducteurs*

Le soufre des fleurs se trouve divisé en parties égales entre les fractions soluble et protéique. Les teneurs des deux formes de soufre, soluble et insoluble, sont ici plus faibles que dans les autres organes de la plante, à l'exception du soufre insoluble dans les hypocotyles et les tiges, organes dans lesquels cette forme de soufre est d'ailleurs la moins bien représentée par rapport aux autres organes.

Par manque du matériel, les autres formes de soufre n'ont pas pu être déterminées.

Dans les gynophores le taux du soufre soluble est de loin supérieur au taux du soufre protéique. La fraction soluble est constituée en majeure partie par le sulfate qui représente près de la moitié du soufre total de ces organes. Ceci indiquerait que les apports de soufre venant des autres organes se font principalement sous forme de sulfate. Toutefois, la proportion du soufre organique soluble dans le contenu soufré des organes reproducteurs (gynophores et gousses) — 1/5 du soufre total — est plus important que celle observée dans les organes végétatifs.

D'autre part, alors que dans les gousses en formation la fraction des composés soufrés solubles reste prédominante, dans les gousses proches de la maturité le rapport entre la fraction soluble et protéique est inversé. C'est le soufre protéique qui devient la forme prédominante. Le soufre organique constitue la plus grande partie — les 4/5 — du soufre total de ces organes.

Le soufre protéique est principalement localisé dans la graine où il représente les 3/4 du soufre total. Une proportion aussi forte ne se rencontre dans aucun autre organe de la plante.

b) PLANTES CARENCÉES

α) *Cotylédons*

Les cotylédons sont les seuls organes où la répartition du soufre entre les fractions soluble et protéique ne subit pratiquement pas de modification sous l'influence de la carence en soufre (tableau X).

β) *Organes végétatifs*

Le développement sur milieu nutritif sans soufre est suivi de modifications importantes des diverses formes de soufre.

L'effet de la déficience se répercute rapidement sur la fraction soluble et en premier lieu sur le sulfate qui se trouve fortement réduit dans les organes —S et ceci dès le stade de 6-7 feuilles. Son taux est sensiblement le même dans tous les organes et diminue au cours de la croissance. On pourrait en conclure que la plante utilise le peu de soufre dont elle dispose pour élaborer de la matière organique.

La forme organique du soufre est beaucoup moins affectée par la déficience que la forme minérale. Au début de la carence, il y a réduction sensible du taux du soufre organique soluble et, à un moindre degré, du soufre protéique. Aux stades plus avancés,

à mesure que la déficience se prolonge, son effet se fait ressentir de plus en plus au niveau du soufre protéique dont le taux diminue sensiblement dans tous les organes.

Le taux du soufre organique soluble ne varie que peu d'un organe à l'autre et reste stationnaire au cours de la végétation. Celui du soufre protéique, comme chez les plantes +S, est le plus élevé dans les folioles et le plus bas dans les organes de transport, tiges + pétioles et les hypocotyles.

Examinons à présent l'importance de la réduction de chacune des formes de soufre sous l'effet de la carence au dernier stade étudié (tableau IX). Comparé aux plantes +S, le taux de sulfate est réduit de 6 à 54 fois, suivant l'organe, celui du soufre organique soluble d'environ 2 fois et celui du soufre protéique de près de 2 à 2,5 fois.

Mis à part les hypocotyles, les différences les plus importantes entre les organes +S et —S, en ce qui concerne les teneurs en sulfate, s'observent au niveau des racines. Quant au soufre protéique, la réduction de sa teneur est du même ordre pour les folioles et les racines et un peu moins sensible pour les tiges + pétioles.

La proportion du soufre organique, tant soluble que protéique, dans les contingents soufrés de tous les organes —S est beaucoup plus élevée que dans les organes +S (tableau X). Tout au long de la croissance le soufre protéique constitue la forme prépondérante du soufre de tous les organes des plantes carencées. Le soufre organique (soluble et insoluble) représente un pourcentage très élevé du soufre total : entre 82 % et 90 %, suivant les organes.

γ) Organes reproducteurs

Les observations faites au sujet des organes végétatifs sont en général également valables pour les organes reproducteurs (fleurs, gynophores et gousses) : ici aussi le soufre se trouve principalement sous forme organique et en premier lieu sous forme insoluble. Il est cependant à noter que les différences entre les taux du soufre protéique dans les organes +S et —S sont ici moins importantes que chez les organes végétatifs.

3° — L'effet de la carence sur la teneur des protéines en soufre.

Étant donné la baisse sensible du taux du soufre protéique dans les organes végétatifs des plantes déficientes, il nous a paru intéressant de vérifier si et dans quelle mesure l'effet de la déficience se répercute sur la composition même des protéines et notamment sur leur teneur en soufre.

Nous avons consigné dans le tableau XII les chiffres représentant le rapport S protéique/N protéique. Ce rapport met en lumière les variations dans la composition des protéines.

On constate que dans tous les organes et à tous les stades de la croissance étudiés, le rapport S/N est inférieur chez les plantes carencées en comparaison avec les plantes témoins. Par conséquent les protéines brutes insolubles des plantes —S sont moins riches en composés soufrés que celles des plantes +S.

On voit de même que si les protéines des organes +S s'enrichissent au cours de la croissance en composés soufrés, il n'en est pas de même pour les organes des plantes —S chez lesquels c'est le contraire qui se produit.

Il est à noter également que les protéines de différents organes aux mêmes stades de la croissance n'ont pas la même composition du point de vue de leur teneur en soufre ; les protéines des racines contiennent la plus grande quantité de composés soufrés, viennent ensuite celles des folioles et enfin celles des tiges. Ceci est vrai aussi bien chez les plantes +S que chez les plantes —S.

TABLEAU XII
TENEURS DES PROTÉINES EN SOUFRE : S EN MG PAR G DE N-PROTÉIQUE

| STADE DU DÉVELOPPEMENT | ORGANES | | | | VÉGÉTAUX | | | |
|---|--------------------------------|------------------------------|----------------------------|---------|----------|------|------|------|
| | Folioles des tiges principales | Tiges principales + pétioles | Tiges latérales + feuilles | Racines | | | | |
| PLANTES SUR H ₂ O | | | | | | | | |
| 2-3 feuilles..... | 47,6 | 39,7 | | | | | 48,8 | |
| PLANTES SUR SOLUTIONS NUTRITIVES +S ET -S | | | | | | | | |
| | +S | -S | +S | -S | +S | -S | +S | -S |
| 6-7 feuilles..... | 54,0 | 43,0 | 49,0 | 40,0 | 45,0 | 41,2 | 68,7 | 48,0 |
| Début de floraison..... | 57,0 | 40,9 | 53,1 | 33,3 | 54,2 | 39,6 | 73,1 | 41,3 |
| Formation des gousses..... | 64,4 | 39,9 | 62,6 | 30,6 | 60,2 | 38,4 | 91,5 | 42,1 |

C. — CONCLUSIONS

L'ensemble des résultats montre que la répartition du soufre entre les divers organes de l'arachide est très inégale, les uns étant beaucoup plus riches en cet élément que les autres. Cette répartition varie également dans de larges limites en fonction du stade du développement de la plante et du traitement nutritionnel (+S et -S).

Chez les toutes jeunes plantules qui vivent sur leurs propres réserves, ce sont les folioles qui présentent les teneurs en soufre les plus élevées ; la forme protéique constitue la fraction prépondérante de leur contingent soufré ce qui témoigne de l'existence dans ces organes d'une protéogénèse active. La prédominance du soufre protéique caractérise les folioles tout au long de la végétation.

Durant la première phase de la croissance des plantes témoins sur la solution nutritive complète, il y a absorption intense de sulfate et le taux du soufre dans tous les organes végétaux augmente.

Par la suite, l'évolution du soufre en fonction de l'âge de la plante manifeste des tendances inverses chez les organes chlorophylliens et les racines. Dans les premiers, le taux du soufre, après avoir atteint un maximum aux jeunes stades de la croissance, diminue progressivement au cours du cycle évolutif. Chez les secondes, par contre, il continue à augmenter jusqu'à la fin de l'expérimentation. Dans les hypocotyles également, le taux du soufre s'accroît notablement jusqu'au stade de la floraison, puis il marque un palier. De ce fait, les teneurs en soufre des racines et des hypocotyles devien-

ment beaucoup plus fortes que celles des folioles. La plus grande partie du soufre total de ces organes est constituée par la forme minérale, le sulfate.

Ainsi, chez les plantes +S ayant à leur disposition un certain excès de soufre, il y a absorption de grandes quantités de soufre minéral du milieu, dont une partie seulement se trouve être entraînée dans le transport vers les parties aériennes et dans les processus métaboliques actifs. L'autre partie est retenue, sous forme de sulfate, par les racines et ne dépasse pas le niveau des hypocotyles, dont le rôle régulateur se manifeste à cette occasion.

Les tiges et les pétioles qui transportent le soufre des racines vers les folioles, le lieu de son utilisation, présentent tout au long de la végétation les teneurs les plus basses en cet élément. C'est la fraction mobile, soluble qui y prédomine.

Quant aux organes reproducteurs, le taux du soufre dans les gynophores est comparable à celui des folioles. Pour les gousses ce taux est moins élevé ; le soufre protéique qui constitue la majeure partie de leur contingent soufré est localisé principalement dans la graine.

L'expression des résultats en mg par organes de dix plantes permet de constater que l'absorption du soufre se poursuit tout au long de la végétation : sa quantité augmente notablement dans tous les organes végétaux sauf, bien entendu, dans les cotylédons.

A tous les stades de la croissance la majeure partie du soufre se trouve dans les parties aériennes, parmi lesquelles les folioles sont les plus riches en cet élément.

Au moment de la maturation une fraction importante du soufre est mobilisée pour la formation des fruits.

Enfin l'absence du soufre dans le milieu nutritif se répercute rapidement sur son taux dans les organes végétaux. La chute la plus brutale se produit au début de la carence (cotylédons exceptés) ; puis elle se ralentit, le taux du soufre ne paraissant pas pouvoir s'abaisser au-dessous d'une valeur minimum.

La carence entraîne également un abaissement sensible de la teneur en soufre des organes reproducteurs.

A la fin de l'expérimentation son taux global dans les plantes —S est environ 3 fois plus faible que dans les plantes +S.

Les organes de transport présentent les teneurs les plus faibles. Pour les autres organes —S les valeurs sont assez voisines.

Contrairement aux plantes témoins, c'est la forme protéique qui prédomine nettement dans tous les organes des plantes carencées. La proportion du soufre organique total (soluble et protéique) varie selon les organes entre 82 % et 93 %.

Les plantes —S utilisent très rapidement le peu de soufre minéral dont elles disposent pour fabriquer des protéines, surtout dans les organes jeunes. Ceci semble indiquer que le mécanisme même de la protéosynthèse n'est pas bloqué par la carence. Toutefois, les protéines des plantes —S contiennent moins de composés soufrés que celles des plantes +S.

On trouve néanmoins toujours dans les organes —S une petite fraction de soufre minéral qui pourrait provenir de la dégradation des molécules constitutives des organes âgés. On sait, en effet, depuis les expériences de MOTHES [171], que les tissus végétaux sont capables de minéraliser le soufre des acides aminés soufrés à l'état de sulfate. On sait aussi que le sulfate est la forme principale du transport de soufre dans la plante [226].

III — RECHERCHE DE L'ACTIVITÉ DÉCARBOXYLANTE DUE AUX COMPOSÉS THIOLS

A. — INTRODUCTION

Le rôle joué par les composés à fonction thiol dans le métabolisme végétal a été pressenti depuis très longtemps [196] [107].

Mais ce sont des recherches relativement récentes qui ont mis en évidence les possibilités multiples de l'intervention des groupes SH dans les processus métaboliques les plus divers.

Ainsi, par exemple, l'acide aminé soufré essentiel, la cystéine, grâce à son groupe thiol se montre capable d'activer certains enzymes.

Le glutathion, le coenzyme du métabolisme intermédiaire, largement répandu dans les cellules végétales, agit en tant qu'activateur ou inhibiteur de nombreux enzymes, intervient dans les processus d'oxydo-réduction cellulaire, participe au transfert du radical acyle et joue un rôle dans le mécanisme des isomérisations cis-trans.

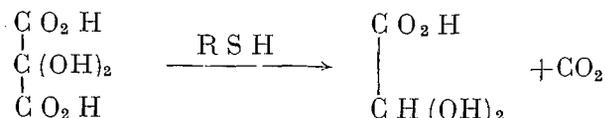
Un autre dérivé sulfhydrylé — le coenzyme A -- apparaît comme étant indispensable à toute une série de réactions du métabolisme glucidique, lipidique et protidique. C'est au groupe thiol qui constitue le groupe actif de la molécule et intervient comme transporteur de radicaux variés que le coenzyme A doit sa remarquable activité biologique.

De nombreux enzymes tels que les oxydo-réductases, les hydrolases ou les transférases appartiennent au groupe des thiols-protéines, des « thiols fixés ». Leur activité est liée à la présence, dans leurs molécules, de radicaux SH provenant des résidus de la cystéine.

Les recherches dans le domaine de la physiologie ont confirmé l'importance des composés thiols pour les processus vitaux en mettant en évidence l'intervention des groupes SH dans les phénomènes de germination, de division et de croissance cellulaires, de cicatrisation, de dormance et de résistance au froid, à la sécheresse et à la salinité, quoique le mécanisme de leur activité reste, le plus souvent, encore obscur.

En 1955 BRUNEL-CAPELLE [43] met en évidence une nouvelle propriété du groupe SH, jusqu'alors inconnue : celle de catalyseur de décarboxylation ; elle donne la possibilité d'évaluer l'ensemble des groupements thiols, solubles et insolubles. Ces groupes, qu'ils soient portés par des composés de faible poids moléculaire (glutathion, cystéine) ou non (acide thiomalique) ou qu'ils soient engagés dans des molécules protéiques, sont capables

de provoquer la décarboxylation de l'acide mésoxalique. Il s'agit d'une décarboxylation simple conduisant à la formation d'acide glyoxylique et de gaz carbonique, corps faciles à doser :



BRUNEL-CAPELLE utilise cette réaction pour comparer l'activité de composés thiols de nombreuses espèces et des organes d'une même plante à des âges physiologiques différents en exprimant les résultats en valeur mésoxalique, expression basée sur la définition d'une unité d'activité, puisqu'il s'agit d'un processus catalytique.

L'utilisation de cette méthode par GOAS [106] sur les Liliacées, lui a permis de démontrer que tout organe en voie de croissance rapide se distingue par une valeur mésoxalique élevée.

Les propriétés décarboxylantes de la cystéine et de l'homocystéine font l'objet des études détaillées de GUITTON [111] et de TOUZÉ [248].

Plus tard GADAL [104] étudie le mécanisme de la décarboxylation du mésoxalate par les composés thiols de faible poids moléculaire.

Enfin un travail récent de BRUNEL-CAPELLE et COMMANAY [44] porte sur l'influence d'une carence en soufre sur le métabolisme sulfhydryle et azoté de *Lens culinaris Med.*, toujours en utilisant l'acide mésoxalique en tant que réactif du radical SH. Les auteurs y constatent des variations importantes de la valeur mésoxalique sous l'action du déséquilibre nutritif.

A la lumière de ces résultats, il nous a paru intéressant de comparer la valeur mésoxalique, reflet de l'activité des groupes thiols, de divers organes des plants d'arachide à différents stades du développement d'une part et d'étudier les répercussions de la carence en soufre sur cette activité des composés sulfhydrylés d'autre part.

B. — RÉSULTATS

Les plants d'arachide ont été cultivés en serre, sur sable, dans les conditions habituelles.

En vue des mesures de l'activité mésoxalique les prélèvements ont été réalisés aux stades suivants : 2-3 feuilles, 6-7 feuilles, début de floraison, formation des gousses et maturité.

Les déterminations de la valeur mésoxalique ont été effectuées selon la méthode de BRUNEL-CAPELLE [43] basée sur le dosage colorimétrique de l'acide glyoxylique engendré par décarboxylation.

Les essais préliminaires ont démontré que l'activité décarboxylante diminue au cours de la conservation des échantillons bien que ceux-ci soient gardés sous vide et au froid.

Les mesures de l'activité doivent donc être effectuées aussitôt après la récolte. Il s'est avéré également que l'activité décarboxylante de certains organes, comme par exemple les cotylédons, est très faible. D'autre part cette activité disparaît presque totalement dans la plante à maturité.

En tenant compte de tous ces faits nous nous sommes trouvés dans l'obligation,

en reprenant la même expérience, de réduire sensiblement le programme initialement prévu.

On n'a retenu que trois stades de développement : 2-3 feuilles, 6 feuilles et début de floraison.

Les mesures portaient principalement sur les folioles dont l'activité s'est montrée la plus importante.

Dans le tableau XIII sont consignés les résultats des mesures de l'activité décarboxylante se rapportant à trois stades du développement, exprimés en valeurs mésoxaliques. La valeur mésoxalique (V. Mx) représente par définition le nombre d'unités mésoxaliques contenues dans 10 grammes de végétal sec. L'unité d'activité mésoxalique (U. Mx) correspond à la décarboxylation en 2 heures, dans le tampon phosphate-acide citrique de McILVAINE de pH 2,2 et à 38° C de 136 mg (10^{-5} Moles) d'acide mésoxalique, la concentration en substrat étant de 0,02 M.

TABLEAU XIII
ÉVOLUTION DES VALEURS MÉSOXALIQUES AU COURS DE LA CROISSANCE

| ORGANES VÉGÉTAUX | VALEURS MÉSOXALIQUES | |
|------------------------------|-------------------------|------|
| PLANTES SUR H ₂ O | | |
| Stade : 2-3 feuilles | | |
| Folioles..... | 3,17 | |
| Racines..... | 0,49 | |
| PLANTES SUR MILIEU +S ET -S | | |
| | +S | -S |
| Stade : 6 feuilles | | |
| Folioles..... | 3,40 | 0,29 |
| Stade : Début de floraison | | |
| Folioles..... | 1,88 | 0,04 |

Chez les jeunes plantules de 2-3 feuilles se développant sur H₂O les organes chlorophylliens, les folioles, présentent des valeurs mésoxaliques nettement plus élevées que les racines, dont le pouvoir décarboxylant est peu marqué.

Dès le stade de 6 feuilles, c'est-à-dire dès le début de la carence en soufre, les différences d'activité apparaissent entre les organes des plantes +S et -S.

Alors que les propriétés décarboxylantes des folioles +S changent peu par rapport au stade précédent, celles des folioles —S se montrent fortement réduites, à peine existantes.

Après avoir atteint un maximum au stade jeune de 6 feuilles, la valeur mésoxalique présentée par les folioles des plantes témoins diminue rapidement. Au début de la floraison, elle devient près de deux fois plus faible qu'au stade précédent.

A la même époque, on observe une disparition presque complète du pouvoir décarboxylant des folioles des plantes carencées.

C. — CONCLUSIONS

Les résultats obtenus sur l'arachide s'intègrent dans l'ensemble des données déjà rapportées par BRUNEL-CAPELLE [43] [44] et GOAS [106] pour d'autres espèces ; ils peuvent être résumés comme suit :

— L'activité décarboxylante est la plus importante aux jeunes stades du développement et diminue rapidement aux stades plus avancés pour devenir insignifiante à la maturité.

— Les organes chlorophylliens et en croissance active présentent les valeurs mésoxaliques les plus élevées.

— La carence en soufre conduit à une diminution sensible de l'activité mésoxalique qui est un reflet du métabolisme sulfhydrylé.

— Les racines manifestent dès le jeune stade une faible activité mésoxalique.

L'ordre de grandeur des valeurs mésoxaliques obtenues pour l'arachide la classe parmi les espèces à faible activité décarboxylante.

Un fait est à noter : les lectures au photolorimètre se rapportant aux essais témoins T (voir « Matériel et Techniques » p. 11) donnent des valeurs relativement élevées, particulièrement au stade jeune du développement ; ceci indique la présence, dans notre matériel végétal, de certaines substances capables de donner, dans les conditions expérimentales adoptées une réaction colorée plénylhydrazinique. Il serait intéressant de les étudier.

IV — ABSORPTION ET TRANSPORT DU ^{35}S

Dans cette partie de notre travail nous allons étudier l'absorption et le transport du soufre à l'aide du ^{35}S , chez les plantes $+\text{S}$ et $-\text{S}$.

Les études de l'absorption et du transport du ^{35}S ont été effectuées à l'aide de la méthode d'autoradiographie sur deux cultures tropicales : arachide et cotonnier. Les contacts avec le traceur ont été généralement de durée relativement courte. Les temps de redistribution — là où elle a eu lieu — de même. En ce qui concerne le cotonnier uniquement, on a étudié, de plus, la distribution et l'accumulation du traceur au cours de la croissance. La même étude chez l'arachide a été confiée à l'un des techniciens de notre laboratoire comme sujet de mémoire pour l'obtention d'un diplôme du CNAM [59].

Nos travaux autoradiographiques qui ont déjà fait l'objet de publications séparées [117] [116] [45] [46] [47] ont été complétées dans le cas de l'arachide par des mesures de radioactivité.

A. — INTRODUCTION

L'étude de l'absorption, du transport et de la distribution des éléments minéraux chez les végétaux a fait l'objet d'un très grand nombre de travaux. Relativement peu nombreux sont ceux qui se rapportent au soufre. L'histoire de ces recherches se divise assez nettement en deux périodes : avant et après l'utilisation des atomes marqués, cette dernière ayant ouvert une voie nouvelle à l'étude des processus se réalisant au sein de la plante.

L'évolution des opinions au cours du dernier demi-siècle sur la mobilité du soufre reste en rapport avec le développement des techniques de recherche dans ce domaine.

Ainsi RIPPÉL (1921) [199] classe le soufre à côté du calcium dans le groupe des « éléments peu mobiles ». Il constate que chez les arbres à feuillage caduc il n'y a pas de migration du soufre depuis les régions d'accumulation vers les tissus jeunes, au début de la croissance au printemps.

MARSH (1923) [155] trouve peu de soufre dans les feuilles de pommier à l'époque précédant la défoliation et en conclut que le soufre ressemble au calcium par son caractère peu mobile.

NIGHTINGALE et coll. (1932) [176] cependant constatent que, chez les plantes déficientes en S, cet élément est capable de migrer depuis les tissus âgés vers le méristème où il est utilisé.

WOOD et BARRIEN (1939) [274] signalent l'accumulation de sulfate dans les feuilles de graminées déficientes en S, en expliquant ce fait par l'absence du transport du sulfate vers les tiges et les racines.

WOOD (1942) [272] considère que chez les plantes en pleine maturité, le sulfate contenu dans les feuilles est relativement immobile.

L'emploi des isotopes radioactifs et le développement de la technique autoradiographique marquent une étape nouvelle dans les études de l'absorption et du mouvement du soufre au sein de la plante et conduisent à la révision des opinions antérieures quant à son immobilité.

THOMAS et coll. (1944) [227] sont les premiers à utiliser le radiosoufre dans des études sur les végétaux. A la suite de leurs travaux sur du blé et de l'orge carencés et sur du maïs non carencé en S, réalisés à l'aide de la technique de comptage de la radioactivité du ^{35}S , ils concluent à la mobilité de cet élément. Ils constatent d'abord le transport rapide du traceur des racines vers les feuilles, puis sa migration vers les graines à mesure du développement de la plante. Les plantes déficientes en soufre absorbent le radiosulfate plus rapidement que les plantes non déficientes.

La technique autoradiographique avec le ^{35}S est appliquée pour la première fois par HARRISON et coll. (1944) [120] sur des coupes de feuilles et de graines de blé.

FRIED (1948) [100] utilise la technique autoradiographique pour l'étude de la distribution du radiosulfate chez la luzerne cultivée sur un milieu pauvre en S. Il constate une accumulation du soufre absorbé par les racines, surtout dans les jeunes feuilles et plus particulièrement dans le mésophylle.

THOMAS et coll. (1950) [231] démontrent la mobilité du soufre en étudiant l'absorption foliaire du radiosulfate par la luzerne à tiges multiples et l'absorption radiculaire chez la luzerne déficiente en S. Dans le premier cas, le ^{35}S se trouve être transporté vers les racines, puis apparaît dans les feuilles des tiges non traitées ; dans le deuxième cas, le radiosulfate migre vers les feuilles.

Cependant, l'étude autoradiographique de KYLIN (1953) [142] effectuée sur les plantes de blé déficientes et non déficientes en soufre l'amène à partager l'opinion de WOOD [272] quant à l'immobilité relative du sulfate au sein du végétal. Il constate une certaine migration du ^{35}S , très faible, à partir de la première feuille vers les organes jeunes.

BIDDULPH et coll. (1953, 1954, 1956) [27] [28] [30], qui étudient l'absorption, le transport et la redistribution du ^{35}S dans les jeunes plantes de haricot, expriment l'opinion contraire. Ils considèrent le soufre comme un élément très mobile qui migre librement à travers les différents organes de la plante. Les racines et les feuilles primaires, plus âgées, cèdent le ^{35}S aux jeunes feuilles trifoliales en développement. Ils constatent ensuite (1958) [29] que le radiosulfate absorbé par le système radiculaire migre depuis les racines vers les jeunes feuilles du sommet en quantités beaucoup plus importantes que vers les premières feuilles plus âgées. Dans les jeunes tissus le soufre est rapidement intégré dans les processus métaboliques et ainsi immobilisé. Cette fixation métabolique du soufre qui ne laisse qu'une petite fraction à la libre circulation dans la plante, explique en partie, selon BIDDULPH, les opinions antérieures sur l'immobilité de cet élément.

HARRIS (1956) [118] compare l'absorption et le mouvement du ^{35}S appliqué sous forme de sulfate, d'une part aux racines et d'autre part aux gynophores de l'arachide. Il en déduit que le soufre migre librement depuis ou vers les gynophores, suivant l'organe auquel il a été appliqué. En cas de déficience en soufre dans la zone radiculaire, les gyno-

phores absorbent plus de soufre afin de compenser la carence. L'auteur en conclut que le soufre est plus mobile que le calcium.

BISWAS et SEN (1957, 1959) [32] [33] constatent un transport rapide du ^{35}S dans les jeunes plantes de pois et son accumulation dans les jeunes feuilles. En moins de 15 minutes après son absorption par les racines, le ^{35}S apparaît dans la feuille du sommet. Les feuilles inférieures deviennent radioactives à mesure que l'on prolonge le contact radiculaire avec le radiosulfate.

De même BUGAKOVA (1959) [48] observe que chez les plantes de soja ayant absorbé du ^{35}S , le temps du transport du radioélément jusque dans les feuilles augmente avec leur âge.

MITSUI et coll. (1961) [169] signalent une accumulation plus importante du $^{35}\text{SO}_4^-$ dans les jeunes feuilles de haricot en comparaison avec les feuilles plus âgées.

Parmi les auteurs qui ont étudié l'absorption et le transport du ^{35}S à l'aide de la technique autoradiographique, certains définissent un mode déterminé de distribution du soufre ^{35}S au sein de la plante. Cette distribution-type, qui devrait être caractéristique du soufre, varie cependant d'un auteur à l'autre.

Ainsi par exemple LANGSTON (1956) [145], décrivant le mode de distribution du ^{35}S dans les plantes de tomate et de menthe, souligne l'accumulation du radiosoufre dans le mésophylle et son absence dans les nervures des feuilles âgées. Sa répartition dans les jeunes feuilles est plus uniforme.

BIDDULPH et coll., déjà cités (1958) [29], mettent l'accent sur l'accumulation préférentielle du soufre ^{35}S dans les jeunes feuilles du sommet, contrairement aux autres éléments comme par exemple le calcium ^{45}Ca .

DEJAEGERE (1963) [78] dans son travail sur la distribution du ^{35}S chez le cotonnier met en évidence une répartition assez uniforme du traceur suivant les différents étages foliaires ; toutefois, à long terme, il y a tendance à l'accumulation dans les feuilles âgées. A l'intérieur de la feuille, l'accumulation est plus prononcée dans le mésophylle que dans le système conducteur.

Cette brève revue des travaux portant sur l'absorption et la distribution du soufre fait ressortir des faits qui semblent contradictoires et révèlent un manque d'interprétation cohérente des phénomènes observés.

Certaines de ces divergences ne sont qu'apparentes. Souvent, les résultats obtenus par les divers auteurs ne sont pas comparables. Ils se rapportent à des essais réalisés dans des conditions tout à fait différentes (divers niveaux d'alimentation des plantes en soufre, divers temps d'absorption et de distribution du ^{35}S , divers stades du développement de la plante, différents modes de préparation du matériel végétal en vue de l'autoradiographie, etc...). De plus les auteurs ont travaillé sur des espèces différentes et le mode de distribution trouvé pour une espèce n'est pas toujours valable pour une autre.

En ce qui concerne la vitesse de l'absorption et du transport des éléments minéraux, dont le soufre, dans les plantes intactes on trouve très peu de chiffres dans la littérature.

Selon ARNON et coll. [8] la vitesse du transport du phosphore radioactif dans le xylème de la tomate est de 4,5 cm/minute.

D'après BIDDULPH et coll. [31] [28], la vitesse du transport du ^{32}P dans le phloème du cotonnier est d'environ 1 cm/minute et de 0,75 cm/minute pour le haricot ; celle du ^{35}S dépasse 0,68 cm/minute ; pour le ^{55}Fe , la vitesse est supérieure à 0,71 cm/minute.

Le ^{32}P est considéré comme l'élément le plus mobile parmi ceux qui ont été étudiés (P, S, Ca, Fe).

CANNY [56] critique les résultats de BIDDULPH et trouve ses chiffres trop élevés. Il s'ensuit que dans ce domaine également des doutes subsistent.

Devant ces controverses, que font apparaître les travaux passés en revue, nous avons entrepris une révision des données acquises sur l'absorption, le transport et la distribution du soufre au sein du végétal.

Nous avons voulu, en particulier, vérifier, dans quelle mesure l'intensité de l'absorption et le mode de distribution du ^{35}S dans les organes végétaux peuvent être influencés par différents facteurs, tels que l'espèce végétale, le stade du développement de la plante, le temps de contact avec le radioélément et la durée de la redistribution.

Toutes ces études ont été effectuées de manière comparative chez les plantes déficientes et non déficientes en soufre.

B. — RÉSULTATS ET DISCUSSION

1° — Vitesse d'absorption et de transport du ^{35}S chez l'arachide.

Dans cette étude [117] nous avons tenté de déterminer le temps nécessaire pour déceler la présence du traceur, absorbé par le système racinaire, au niveau du sommet de la plante.

Nous avons de même essayé d'évaluer la rapidité du mouvement en sens inverse, feuilles-racines.

Les expériences ont été effectuées avec des plantes intactes d'arachide aux stades de 6 feuilles et en pleine floraison provenant des cultures sur milieu liquide complet.

Les plantes ont été mises en contact avec du radiosulfate à la dose de 1 mCi/litre de solution nutritive complète. Le ^{35}S s'est ainsi trouvé dilué par le soufre non radioactif (contenu dans la solution nutritive).

Dans le cas de l'absorption racinaire, les temps minima de contact avec $^{35}\text{SO}_4^-$ ont été de 15 secondes au stade de 6 feuilles et de 30 secondes à la floraison.

Selon toute vraisemblance, les racines plongeant dans le milieu liquide n'ont pas été traumatisées et par conséquent, l'absorption du ^{35}S n'était pas une succion directe de la solution par le xylème, mais comportait le passage de la solution par la voie normale des cellules corticales.

Immédiatement après le contact avec le traceur chaque plante a été sectionnée en quatre parties : 1° racines ; 2° base de la tige ; 3° milieu de la tige ; 4° sommet de la tige. Ensuite les feuilles ont été coupées au niveau du pulvinus pétiolaire. Les racines qui se sont trouvées en contact avec le soufre marqué ont été écartées.

Dans le cas de l'absorption foliaire, le temps minimum de contact — soit de la feuille sommitale, soit de la feuille de milieu — avec le $^{35}\text{SO}_4^-$ a été de 5 minutes.

Ces feuilles trempaient dans la solution nutritive radioactive, tandis que les racines restaient plongées dans la solution nutritive non radioactive. Aussitôt le traitement terminé, la feuille qui avait été en contact avec le $^{35}\text{SO}_4^-$ a été coupée et éliminée. On a coupé, simultanément, les racines et les feuilles.

Les plantes ainsi sectionnées ont été séchées à l'air libre et radiographiées. Le temps d'exposition au film était de 96 à 98 jours.

a) ABSORPTION RADICULAIRE

L'examen des autoradiogrammes révèle que l'absorption radiculaire est quasi instantanée.

Après 15 secondes de contact, on trouve du ^{35}S dans les trois sections de la tige et dans la feuille du sommet en formation. Les autres feuilles ne sont pas encore marquées par le ^{35}S après ce temps si bref de contact. Elles ne le seront pas même après 30 secondes. L'absence du marquage des feuilles autres que celle du sommet montre bien que l'impression du film par cette dernière n'est pas un artéfact. Le fait d'avoir décelé la présence du traceur, absorbé par le système radiculaire, dans les feuilles du sommet, à l'exclusion des feuilles médianes, semble confirmer la thèse de BIDDULPH [29] sur la migration du ^{35}S directement des racines vers les feuilles les plus jeunes.

En ne considérant que les deux sections inférieures de la tige, la distance parcourue par le soufre marqué, absorbé par les racines pendant 15 secondes, est de l'ordre de 10 cm dans les plantes à 6 feuilles et de l'ordre de 20 cm dans les plantes en floraison, restées en contact avec $^{35}\text{SO}_4^{--}$ pendant 30 secondes.

Par mesure de précaution, nous avons exclu la section du sommet de la tige de notre calcul, étant donné que la technique de préparation du matériel végétal en vue de l'autoradiographie (séchage à l'air libre) rend possible un déplacement du traceur à l'intérieur d'une section de tige. De même, il est permis de supposer que le ^{35}S pouvait se déplacer vers la jeune feuille lors du séchage.

b) ABSORPTION FOLIAIRE

Après 5 minutes de contact on trouve du ^{35}S dans toute la tige ainsi que dans les racines. En ne tenant compte que de la longueur des tiges comprise entre la feuille traitée et la base, la distance parcourue par le ^{35}S est de l'ordre d'au moins 10 cm.

En résumé, la rapidité avec laquelle le ^{35}S est absorbé et transporté est au minimum de 40 cm/minute dans le cas de l'absorption radiculaire et de 2 cm/minute dans celui de l'absorption foliaire. Toutefois en comparant ces deux vitesses on ne doit pas perdre de vue que les temps de contact avec la solution radioactive ont été très différents : 15 secondes et 5 minutes et que pour l'absorption foliaire, des temps de contact inférieurs à 5 minutes n'ont pas été testés.

Les vitesses de transport trouvées sont de beaucoup supérieures à celles notées jusqu'à présent par les auteurs.

Il faut noter que pendant les 15 ou 30 secondes le ^{35}S a non seulement été transporté sur une distance minimale de 10 à 20 cm, mais aussi a traversé les poils absorbants, l'épiderme, les cellules corticales et l'endoderme jusqu'au xylème du cylindre central.

On a déjà trouvé des vitesses de transport de colorants introduits dans le xylème comparables à celles observées ici [72].

Les théories actuelles [92] [147] [90] [7] [224] [146] [91] [168] [201] [204] [52] [141] [77] [41] sur l'absorption des ions ne permettent pas de rendre compte d'une telle vitesse d'absorption et de transport dans la racine, si l'on suppose que les ions doivent

franchir les barrières cytoplasmiques de diverses cellules. On est donc amené à supposer que le transport des ions, au moins jusqu'à l'endoderme, se fait par une autre voie, par exemple les parois cellulaires.

2° — Absorption et distribution du ^{35}S en fonction du temps de contact avec le traceur et de l'âge de la plante — autoradiographie.

Ces essais [45] ont été effectués en 1962 sur les plantes d'arachide cultivées sur milieu complet, à deux stades du développement : 5-6 feuilles et floraison (11 feuilles).

Les temps de contact radiculaire avec le $^{35}\text{SO}_4^-$ (à 1 mCi/l de solution nutritive complète) étaient de 5 mn, 15mn, 30 mn, 45 mn, 1 h et 2 h — au stade de 5-6 feuilles, et de 30 mn, 1 h et 2 h — à la floraison.

Le temps d'exposition au film était de 8 jours.

a) ARACHIDE AU STADE DE 5-6 FEUILLES

Déjà après 5 minutes de contact avec $^{35}\text{SO}_4^-$ les autoradiogrammes permettent de constater la présence du traceur dans la tige ainsi que dans les feuilles. Donc, après ce laps de temps, le radiosulfate absorbé a pu non seulement être transporté par le courant ascendant de la sève vers le sommet de la plante mais aussi réparti latéralement entre les différents étages foliaires, ce qui n'a pas été observé lors du contact de 15 secondes (voir p. 69).

L'intensité du marquage des organes végétaux augmente à mesure que l'on prolonge le temps de contact avec le radiosoufre. De même, plus le contact plante-solution radioactive est long, plus la différence d'intensité de marquage des feuilles en fonction de leur âge s'accroît. Ainsi par exemple, après 2 heures de contact, on observe une gradation très nette du marquage des feuilles de la base au sommet de la plante (fig. 12).

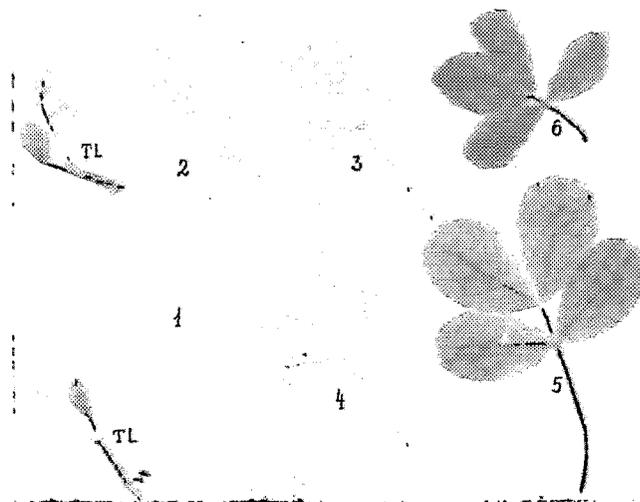


Fig. 12. — Arachide au stade de 5-6 feuilles — Absorption. Contact avec ^{35}S : 2 h.
(TL — tiges latérales+feuilles ; feuilles de la tige principale numérotées dans l'ordre de leur apparition).

Ce sont toujours les feuilles les plus jeunes, en croissance active, qui accumulent le plus le ^{35}S . Ceci est valable tant pour les feuilles de la tige principale que pour celles des tiges latérales.

La radioactivité des feuilles âgées ne croît que peu en fonction de la durée du contact.

Il est possible qu'une migration d'une feuille vers l'autre a également lieu lors d'un contact prolongé avec le traceur ; elle s'effectuerait alors au profit des étages supérieurs.

Nos constatations concordent avec celles de la plupart des auteurs ayant étudié le mouvement et la distribution du radiosoufre chez les végétaux, comme par exemple BIDDULPH et coll. [29], BISWAS et coll. [32] [33], BUGAKOVA [48], MITSUI et coll. [169].

A l'exception des feuilles les plus jeunes, plutôt uniformément marquées par le radiosoufre, dans toutes les autres feuilles, les nervures sont très distinctes et plus marquées que le mésophylle. De même les organes de transport, tiges et pétioles, apparaissent sur les autoradiogrammes fortement marqués par le ^{35}S .

b) ARACHIDE AU STADE DE LA FLORAISON

A ce stade de la croissance, l'absorption du ^{35}S par la plante semble relativement moins intense qu'au stade de 5-6 feuilles, pour un temps égal de contact. L'ensemble des parties aériennes impressionne peu les films.

En examinant la répartition du ^{35}S entre les feuilles de différents étages, on constate un mode de distribution particulier : les 4^o et 5^o feuilles impressionnent davantage les films que les trois premières ; puis l'intensité de marquage diminue pour les 6^e et 7^e, ensuite et jusqu'au sommet, les feuilles sont de plus en plus marquées. La feuille du sommet se montre, comme au jeune stade du développement, la plus radioactive de toutes.

Nous reviendrons plus loin sur ce phénomène.

Ici également le ^{35}S marque bien les nervures des feuilles âgées, plus que le mésophylle. Dans les feuilles plus jeunes, à partir de la 8^e, les nervures principales se trouvent cependant vidées de ^{35}S .

3^o — Redistribution du ^{35}S en fonction de la durée de la période qui suit le contact — autoradiographie.

Il existe pour une espèce végétale donnée, un temps de contact plante — solution marquée et un temps d'exposition plante radioactive — film, tels que le soufre ^{35}S n'apparaît dans les feuilles, sur les films, que lors de la « redistribution ». En échelonnant les temps de cheminement de l'isotope absorbé après avoir supprimé le contact plante — solution radioactive, on peut suivre le mouvement du ^{35}S dans les parties aériennes de la plante. C'est ce que nous avons désigné par le terme « redistribution ».

L'étude de la redistribution [45] a été réalisée en 1962 sur les plantes d'arachide au stade de 5-6 feuilles, cultivées sur milieu complet. Elles ont été mises en contact radriculaire avec le $^{35}\text{SO}_4^-$ (à 1 mCi/l de solution nutritive complète) pendant 15 et 30 minutes. Puis, les racines, après avoir été rincées, ont été plongées dans l'eau échangée

pour des périodes allant de 15 minutes à 24 heures. Le temps d'exposition au film était de 24 jours.

En comparant les autoradiogrammes, on peut suivre la migration du ^{35}S . Au début, après 15 et 30 mn de redistribution, on observe peu de différence dans l'intensité du marquage des différentes feuilles des plantes qui sont restées en contact avec le ^{35}S pendant 15 mn. A mesure que le séjour des plantes dans l'eau se prolonge, les feuilles des étages inférieures se vident de ^{35}S , lequel remonte et marque de plus en plus la feuille du sommet. Après 24 heures de redistribution, on ne voit pratiquement sur les autoradiogrammes que les 5^e et 6^e feuilles.

Les autoradiogrammes des plantes ayant été en contact avec ^{35}S pendant 30 mn sont plus marqués que ceux des plantes n'ayant eu que 15 mn de contact, tout en présentant les mêmes tendances à l'accumulation progressive du ^{35}S dans la feuille du sommet.

De plus, ces autoradiogrammes semblent indiquer que les feuilles médianes se vident avant les feuilles plus âgées (fig. 13).

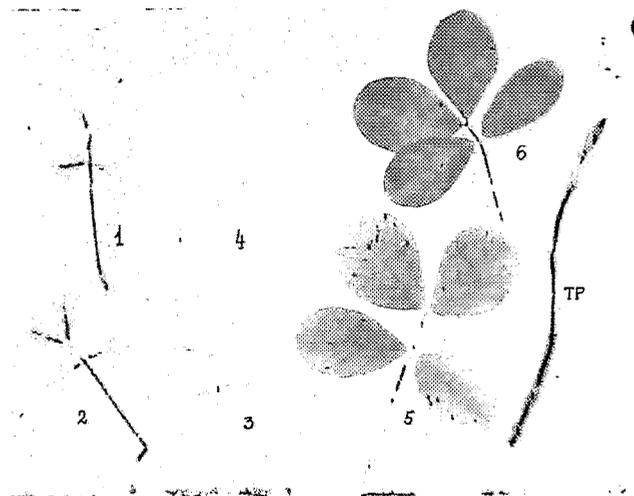


Fig. 13. — Arachide au stade de 6 feuilles. — Redistribution. Contact avec ^{35}S : 30 mn. Séjour dans H_2O : 24 h. (TP — tige principale)

Comme on l'a déjà observé lors de l'absorption seule (sans redistribution dans H_2O), le ^{35}S se localise surtout dans les tissus conducteurs — les tiges, les pétioles et les nervures centrales et secondaires — le mésophylle restant nettement moins marqué. Le marquage des feuilles très jeunes est plus uniforme : les nervures principales sont invisibles ou peu visibles, et le mésophylle, fortement impressionné par le radioélément, ce qui plaiderait en faveur d'une incorporation du ^{35}S dans les protéines foliaires.

La localisation préférentielle du ^{35}S au niveau des tissus conducteurs observée chez l'arachide se trouve en désaccord avec les résultats de BIDDULPH et coll. [29] sur le haricot et de DEJAEGERE [78] sur le cotonnier.

Ces auteurs constatent une répartition du ^{35}S plus prononcée dans le mésophylle que dans les tissus conducteurs des feuilles.

De même LANGSTON [145] travaillant sur la tomate et la menthe classe le ^{35}S parmi les radioéléments dont le type de distribution se caractérise par leur accumulation dans le mésophylle et leur absence dans les nervures des feuilles âgées.

Dans nos essais nous n'avons observé le retrait du ^{35}S des nervures principales (vers le mésophylle) qu'à la suite d'un lent séchage des plantes au stade de floraison, lesquelles avaient absorbé très peu de ^{35}S (p. 13).

Nous partageons l'avis de LEVY [148] quant aux artéfacts possibles dûs au mode de préparation du matériel végétal en vue de l'autoradiographie.

Il faut cependant noter que les études de BIDDULPH portaient sur de toutes jeunes plantules et que, dans le cas des études de DEJAEGERE et de LANGSTON, la durée de l'absorption et de la redistribution du traceur s'étendait sur plusieurs jours.

Nos propres expériences semblent montrer que dans les parties aériennes, une fraction importante du radiosoufre se trouve à l'état mobile et circule librement dans les tissus conducteurs. Une partie seulement du ^{35}S serait fixée dans les tout jeunes organes en croissance active, siège d'une activité métabolique intense.

4° — Influence de la carence en soufre sur l'absorption et la redistribution du ^{35}S .

a) AUTORADIOGRAPHIE

Cette étude [45] comportait deux séries d'essais réalisées, l'une en 1962, au stade de floraison, et l'autre en 1963, au stade plus jeune de préfloraison (9 feuilles).

Nous n'exposerons ici que les résultats de l'expérience de 1963, beaucoup plus complets, et qui, dans leurs grandes lignes, confirment ceux de l'année 1962.

Les essais ont été effectués parallèlement sur 3 lots de plantes : 1° plantes non carencées (4 semaines de culture sur solution nutritive complète) ; 2° plantes partiellement carencées en S (2 semaines de culture sur solution nutritive complète suivies de 2 semaines de culture sur solution nutritive sans soufre) ; 3° plantes carencées en S dès le début (4 semaines de culture sur solution nutritive sans soufre).

Contrairement aux expériences précédentes, les plantes ont été mises en contact radiculaire avec le ^{35}S sans entraîneur, le $^{35}\text{SO}_4^-$ ayant été ajouté à la solution nutritive sans soufre (à raison de 1 mCi/l).

Schéma de l'expérience :

α) Absorption : contact avec ^{35}S - 5 et 15 mn ;

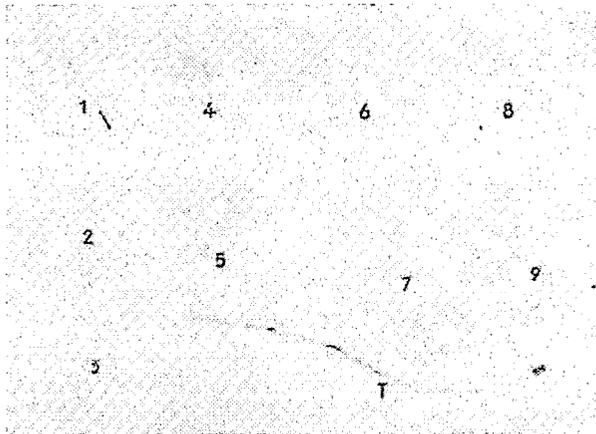
β) Redistribution : contact avec ^{35}S - 5 et 15 mn ; séjour dans H_2O - 24 h ;

Temps d'exposition au film - 24 jours.

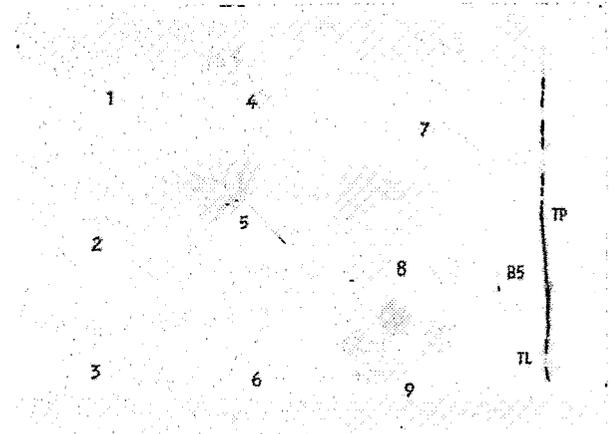
α) Absorption

En comparant les autoradiogrammes de toute cette série (fig. 14 a, b, c, d, e, f), on constate qu'un contact de courte durée — 5 minutes — marque davantage les feuilles des plantes non carencées que celles des plantes carencées. Plus la carence est prononcée, moins les feuilles sont impressionnées par le traceur. Dans le cas où il y a carence dès le début de la végétation, la presque totalité du radiosoufre transportée vers les parties aériennes se trouve encore au niveau de la tige. La feuille du sommet est la seule qui apparaisse, à peine visible, sur l'autoradiogramme.

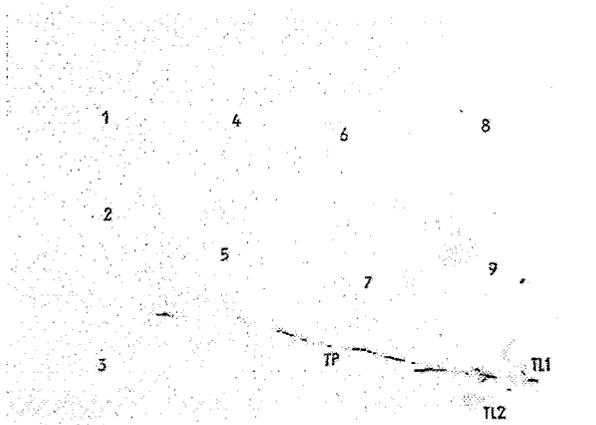
Après 15 minutes de contact, les parties aériennes sont plus marquées qu'après 5 minutes. Mais si la différence est minime pour les plantes non carencées, elle est,

ABSORPTION DE ^{35}S A 1 $\mu\text{Ci/l.}$ Contact ^{35}S : 5 minutesContact ^{35}S : 15 minutes

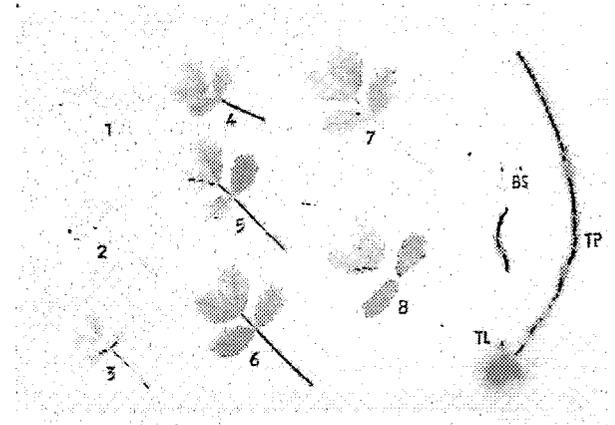
a) Non carencée



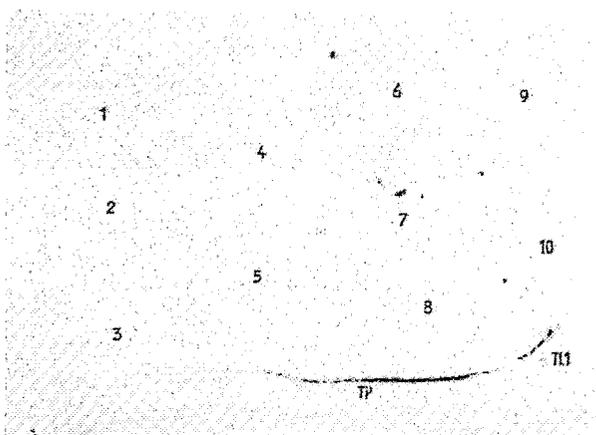
b) Non carencée



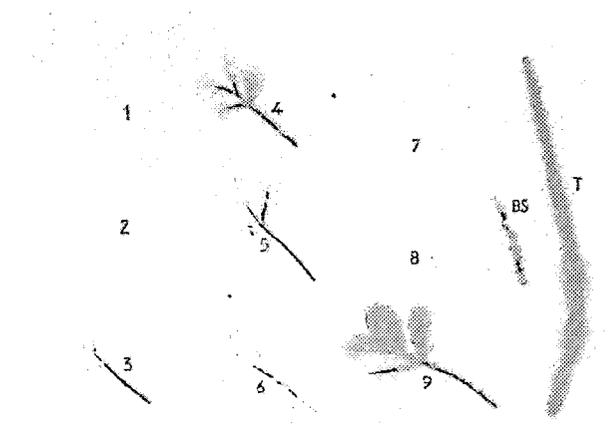
c) Partiellement carencée



d) Partiellement carencée



e) Carencée des repiquage



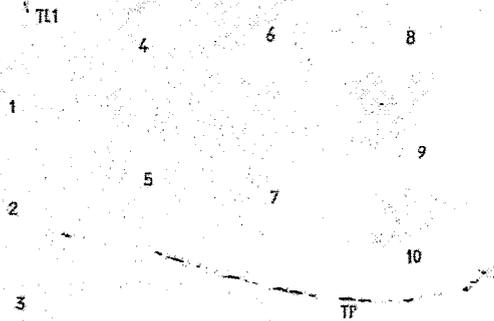
f) Carencée des repiquage

Fig. 14. — Autoradiogrammes.

REDISTRIBUTION

Contact ^{35}S : 5 minutes. Séjour H_2O : 24 heures

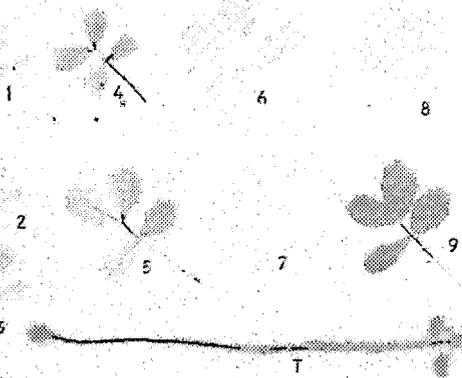
Contact ^{35}S : 15 minutes. Séjour H_2O : 24 heures



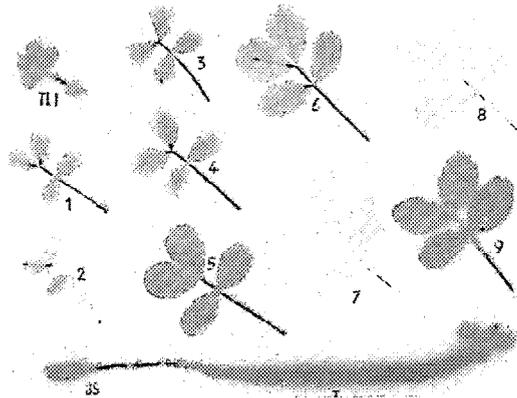
g) Non carencée



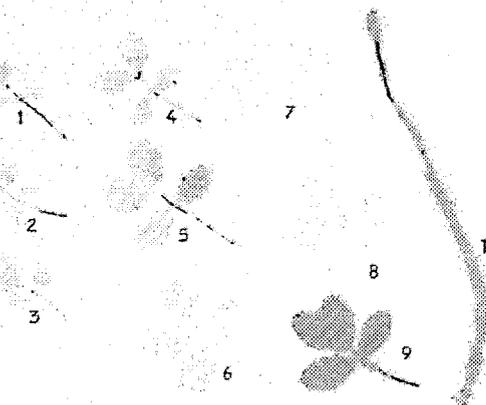
h) Non carencée



i) Partiellement carencée



j) Partiellement carencée



k) Carencée dès repiquage



l) Carencée dès repiquage

Fig. 14 (suite). — Autoradiogrammes.

au contraire, très importante pour les plantes -S. De sorte qu'après 15 minutes de contact, la tendance s'inverse : plus la plante est carencée plus la partie aérienne est radioactive. Ceci est particulièrement visible au niveau des tiges. En ce qui concerne les feuilles, ce ne sont pas celles des plantes les plus déficientes en S, mais celles des plantes partiellement carencées qui révèlent le marquage le plus intense. Les tiges et pétioles des plantes carencées dès le début, bien que très radioactives, n'ont cédé aux feuilles que peu de ^{35}S . Ce sont surtout les 4^e et 9^e feuilles qui en ont profité.

La différence dans l'intensité de marquage des feuilles de divers étages est observée non seulement chez les plantes carencées mais également chez les témoins ; chez ces dernières elle est toutefois moins prononcée. Les deux maxima de radioactivité sont présentés, l'un par la feuille du sommet, et l'autre par les feuilles médianes, 4^e et 5^e. Nous avons déjà noté ce mode particulier de distribution du ^{35}S entre les différents étages foliaires chez l'arachide au stade de la floraison (p. 71).

β) *Redistribution*

L'examen des autoradiogrammes reproduits sur la figure 14 g, h, i, j, k, l, permet de constater que contrairement à l'absorption seule, la redistribution qui suit le contact de 5 mn marque bien plus les parties aériennes des plantes carencées que celles des plantes non carencées.

La différence, déjà importante, entre les unes et les autres, s'accroît encore dans le cas de la redistribution après 15 mn de contact et surtout entre les plantes non carencées et carencées dès le début.

Les autoradiogrammes des plantes carencées dès le début correspondant à 15 minutes de contact suivi de 24 heures de redistribution sont le plus fortement impressionnés de toute la série.

Tout comme après l'absorption seule, chez les plantes non carencées, il y a peu de différence entre la redistribution après 5 ou 15 mn de contact, alors que chez les plantes carencées et surtout carencées depuis le début, cette différence est très importante. Le marquage après 15 mn est beaucoup plus fort.

Les deux maxima de radioactivité apparaissent sur les autoradiogrammes d'une manière encore plus nette qu'à la suite de l'absorption seule, surtout dans le cas de la carence.

Chez les plantes non carencées, le tissu conducteur est toujours plus marqué que le mésophylle ; chez les plantes carencées les nervures des jeunes feuilles ne sont pas ou peu visibles, les mésophylles des folioles étant uniformément et beaucoup plus marqués que ceux des plantes non carencées.

En résumé, en ne prenant en considération que l'intensité de marquage des feuilles après l'absorption seule de 5 minutes, on pourrait supposer que les plantes carencées ont absorbé moins de ^{35}S que les plantes témoins et expliquer ce phénomène par la réduction du système racinaire ou par la moindre vigueur des plantes dépourvues de soufre. En considérant toutefois le marquage des parties aériennes après la redistribution de 24 heures, force est d'admettre que déjà après 5 minutes d'absorption, les plantes carencées avaient absorbé un fort contingent de traceur et que seule la migration vers les parties aériennes s'est trouvée être retardée par rapport aux plantes non carencées.

Un tel raisonnement est confirmé par les résultats obtenus après un contact plus long, de 15 minutes. Ici, déjà à la suite de l'absorption seule, le marquage des parties

aériennes est plus fort dans le cas de la carence. Il s'accroît considérablement après 24 heures de redistribution : les feuilles des plantes carencées deviennent fortement radioactives. Les tiges, paraissant particulièrement chargées en radiosoufre, continuent à puiser le ^{35}S des racines.

Reste à savoir si la carence stimulait, après un ralentissement initial, le transport du $^{35}\text{SO}_4^-$ vers les parties aériennes ou bien l'absorption par les racines.

C'est pour répondre à cette question que nous avons réalisé une autre expérience en radiographiant les racines des deux lots de plantes.

La figure 15 représente les autoradiogrammes des racines des plantes +S et -S au stade de 8 feuilles, après 15 minutes de contact avec le $^{35}\text{SO}_4^-$. La réponse est nette : l'absorption est bien plus intense chez les plantes carencées.

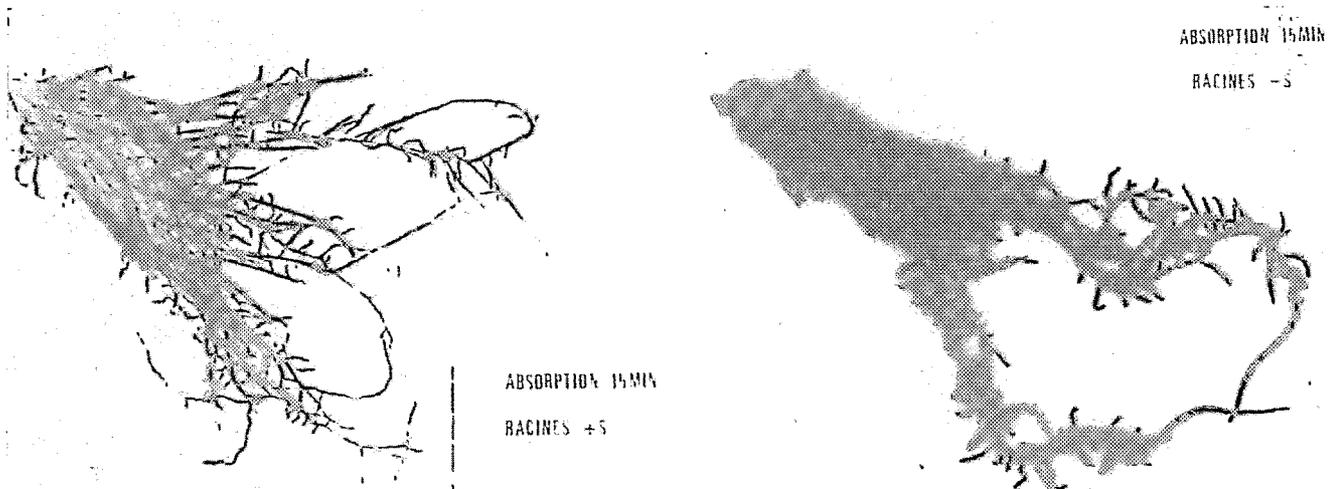


Fig. 15. — Autoradiogrammes des racines +S et -S. Contact avec ^{35}S : 15 mn ; exposition au film : 1 h.

b) MESURES DE RADIOACTIVITÉ

La technique autoradiographique présente des avantages incontestables quant aux possibilités de l'étude rapide de l'absorption, du transport et de la distribution du radiotracer au sein du végétal. Elle rend possible la comparaison directe du degré de marquage de différents organes végétaux représentés sur le film et, donc, de leur radioactivité. Cependant cette évaluation n'est que semi-quantitative. Étant donné l'importance de l'autoabsorption du soufre ^{35}S , la radioactivité des organes dont l'épaisseur est relativement grande, comme par exemple les tiges, est inévitablement sous-estimée.

Seul le comptage de la radioactivité présentée par les divers organes de la plante permet une interprétation quantitative des phénomènes étudiés. Il constitue un complément utile de la méthode autoradiographique.

Les renseignements réunis lors des études autoradiographiques nous ont guidé dans le choix des conditions de cette expérience.

Les conditions suivantes d'étude ont été retenues :

— carence en soufre dès le début de la croissance — pour le lot des plantes -S :

- stade jeune du développement ;
- temps de contact avec ^{35}S -15 minutes ;
- temps de redistribution dans H_2O -24 heures.

Les plantes d'arachide ont été cultivées en serre, sur milieu liquide +S et —S, dans les mêmes conditions que celles ayant servi à l'autoradiographie (voir chapitre « Matériel et Techniques »).

Après 2 semaines de cultures sur solutions nutritives +S et —S les plantes témoins ont atteint le stade de 7 feuilles (8^e en formation) alors que les plantes carencées n'en ont développé que 6.

A ce stade les 6 plantes les plus représentatives et les plus homogènes de chacun des deux lots ont été mises en contact racinaire avec le $^{35}\text{SO}_4^-$ à raison de 1 mCi/l de solution nutritive exempte de soufre 32 pour 15 minutes, suivi de 24 heures de redistribution dans l'eau. Immédiatement après les plantes ont été congelées à -20°C et divisées, dans l'enceinte froide, de la manière suivante :

- les racines sectionnées au niveau du collet ;
- 2 folioles de la 1^{re}, 3^e et 5^e feuilles ainsi que de la feuille du sommet, prélevées séparément. De plus chez les plantes +S on a également prélevé la 8^e qui était en formation ;
- toutes les folioles restantes mises ensemble ;
- les tiges principales + pétioles rassemblées en un seul lot.

Les cotylédons et les tiges latérales + feuilles ont été rejetés.

Chaque échantillon était constitué des organes de 3 plantes. On disposait de 2 répétitions par échantillons.

Le matériel lyophilisé et broyé était conservé sous vide dans la chambre froide.

α) Le taux de la radioactivité en fonction des étages foliaires

Les résultats des radiocomptages sur les folioles de différents étages foliaires des plantes +S et —S sont réunis dans le tableau XIV. La radioactivité totale est exprimée en impulsions par minute (i.p.m.) par mg de matière sèche.

Au premier examen des chiffres du tableau deux remarques s'imposent :

- la radioactivité s'accroît d'étage foliaire en étage foliaire, du bas vers le haut, pour atteindre son maximum au sommet ;
- le taux de radioactivité des folioles —S est nettement supérieure à celui des folioles +S.

Chez les plantes carencées, le gradient de la radioactivité entre la première et la dernière feuilles s'avère plus important que chez les plantes témoins : le rapport taux au sommet/taux au 1^{er} étage est égal à 38 pour les folioles —S ; il n'est que de 22 pour les folioles +S. De même, la différence entre les taux de radioactivité des folioles des deux dernières feuilles (les plus jeunes) est beaucoup plus grande en cas de déficience en soufre.

Bien que le nombre de feuilles développées par les plantes témoins et carencées ne soit pas le même, il est néanmoins possible de constater qu'à tous les étages foliaires analysés la radioactivité des folioles —S est très supérieure à celle des folioles +S correspondantes.

TABLEAU XIV

DISTRIBUTION DU ^{35}S TOTAL ENTRE LES FOLIOLES DES PLANTES +S ET -S EN FONCTION DE L'ÉTAGE FOLIAIRE

| FOLIOLES | ÉTAGES FOLIAIRES | | | | | |
|----------|--|-------|-------|--------|-------|----------------------|
| | 1° | 3° | 5° | 6° | 7° | 8° (en formation) |
| | ^{35}S en i.p.m. par mg de m.s. | | | | | |
| +S | 13,3 | 27,3 | 143,5 | | 164,2 | 294,0 |
| -S | 117,5 | 188,5 | 754,0 | 4445,0 | | |

Un écart maximum apparaît au niveau des feuilles du sommet dont le taux de radioactivité chez les plantes -S est 15 fois supérieur à celui des plantes +S.

La localisation préférentielle du ^{35}S dans les jeunes feuilles en croissance active, constatée à la suite des études autoradiographiques, se trouve ainsi confirmée par les résultats du comptage de la radioactivité.

β) La radioactivité totale des divers organes des plantes +S et -S

Dans le tableau XV nous avons consigné les données se rapportant aux mesures de radioactivité ainsi qu'à la matière sèche des différentes parties végétales étudiées.

La radioactivité de l'ensemble des folioles a été recalculée en tenant compte, d'une part, des résultats de comptages effectués précédemment sur les folioles de divers étages foliaires prélevées séparément et d'autre part, des mesures de radioactivité effectuées sur les folioles restantes.

La radioactivité est exprimée en i.p.m. par mg de matière sèche et également en i.p.m. par organe d'une plante. Ce dernier mode d'expression tient compte des différences pondérales entre les organes de deux lots des plantes, différences très nettes pour les organes aériens, surtout en ce qui concerne les folioles, dont le poids chez les plantes -S est plus de deux fois inférieur à celui des folioles +S.

Comme le montre le tableau, pour tous les organes étudiés les radioactivités enregistrées chez les plantes carencées sont toujours de beaucoup supérieures à celles des témoins. Les différences les plus importantes apparaissent au niveau des organes de transport, les tiges et les pétioles, lesquels, chez les plantes -S, ont accumulé une quantité considérable de ^{35}S ; ce fait a déjà été constaté lors de l'étude autoradiographique, où les tissus conducteurs -S apparaissent sur les autoradiogrammes très fortement marqués par le radiosoufre. D'après les résultats de comptages, leur taux de radioactivité (i.p.m./mg m.s.) est 27 fois plus élevé que celui des organes +S et la radioactivité totale accumulée 20 fois supérieure.

Pour les folioles et les racines ces différences, quoique moindres, sont néanmoins notables, les taux de radioactivité étant respectivement, 11 et 13 fois plus élevés que ceux des organes correspondants des plantes témoins. Rapportée aux organes d'une

TABLEAU XV

DISTRIBUTION DU ^{35}S TOTAL ENTRE LES DIVERS ORGANES DES PLANTES +S ET -S

| ORGANES VÉGÉTAUX | Matière sèche par organe d'une plante en mg | | ^{35}S TOTAL | | | |
|---------------------------------|---|-----|---|------|---|-------|
| | | | Taux de radio- activité en i.p.m./mg m.s. | | Radioactivité par organe d'une plante en i.p.m. $\times 10^{-2}$ | |
| | +S | -S | +S | -S | +S | -S |
| Folioles..... | 617 | 300 | 158 | 1811 | 975 | 5433 |
| Tige principale + pétioles..... | 269 | 195 | 210 | 5725 | 565 | 11164 |
| Racines..... | 338 | 306 | 584 | 7775 | 1974 | 23792 |
| Total (somme)..... | 1224 | 801 | | | 3514 | 40389 |

plante, la radioactivité des folioles -S n'est que 6 fois supérieure à celle des folioles +S.

La différence entre la radioactivité des racines +S et celle des -S est du même ordre, quel que soit le mode d'expression des résultats.

Pour la radioactivité de l'ensemble des organes étudiés (sans tenir compte de la radioactivité des cotylédons et des tiges latérales qui ont été écartés), on constate qu'au cours de 15 minutes de contact avec le sulfate radioactif les plantes carencées ont absorbé 11 fois plus de ^{35}S que les plantes témoins.

Enfin la répartition de la radioactivité entre les différents organes montre que, bien qu'un important transfert de ^{35}S ait lieu, au cours de 24 heures de redistribution du traceur, à partir du système racinaire vers la partie aérienne, la majeure partie de la radioactivité se trouve cependant toujours accumulée dans les racines. Ceci est valable tant pour les plantes témoins que pour les carencées. La proportion de ^{35}S recueillie par les organes aériens -S n'est que légèrement supérieure à celle des organes +S : 44 % contre 41 % du radiosoufre total contenu dans l'ensemble des organes étudiés. Les différences dans la distribution du traceur apparaissent au niveau des parties aériennes elles-mêmes. Alors que les folioles des plantes témoins, malgré le taux de radioactivité un peu plus bas, ont accumulé plus de soufre ^{35}S que les tiges + pétioles, c'est l'inverse qui se produit dans les organes aériens des plantes carencées. Les tiges + pétioles de ces dernières sont 2 fois plus riches en traceur que les folioles et ceci en dépit de leur poids nettement inférieur. C'est que le taux de radioactivité au niveau des organes de transport -S est 3 fois supérieur à son taux dans les folioles -S. Ceci indiquerait qu'une redistribution très intense est toujours en train de s'effectuer au sein des plantes carencées, des quantités importantes de ^{35}S étant mises en mouvement dans les tissus conducteurs et s'acheminant vers les lieux de synthèse — les folioles.

En résumé, les résultats des radiocomptages montrent que la radioactivité de tous les organes végétaux des plantes carencées, y compris les racines, est de beaucoup supérieure à celle que l'on trouve dans les organes correspondants des plantes témoins.

C. — CONCLUSIONS

Les études réalisées sur l'arachide par les méthodes d'autoradiographie et de radiocomptage ont permis d'apporter quelques informations concernant l'absorption, la migration et la distribution du ^{35}S dans la plante et de mettre en évidence l'influence, sur ces phénomènes, d'un certain nombre de facteurs. Parmi ces derniers, les plus importants étaient la durée de contact avec ^{35}S et de redistribution dans l'eau, le stade du développement et le niveau d'alimentation en soufre.

Ainsi nous avons pu conclure que :

1° — Le $^{35}\text{SO}_4^-$ est absorbé et transporté avec une très grande rapidité aussi bien dans le cas d'un contact racinaire que dans celui d'un contact foliaire.

2° — L'accumulation du ^{35}S dans les parties aériennes est plus intense au jeune stade de 5-6 feuilles qu'au stade de la floraison.

3° — Pour les mêmes temps de contact avec la solution radioactive l'intensité de marquage des organes aériens est toujours nettement plus grande à la suite de la redistribution (contact avec ^{35}S suivi d'un séjour dans l'eau) qu'après absorption seule. Il y a donc migration intense de ^{35}S absorbé par les racines pendant le premier temps d'expérience. Toutefois, le comptage de la radioactivité a permis de constater, qu'après 24 heures de redistribution, une partie importante du traceur se trouve toujours dans les racines ; c'est au niveau de ces organes que le taux de radioactivité est le plus élevé. Leur capacité de retenir le radiosoufre est très grande.

4° — En général, la localisation du ^{35}S est plus prononcée dans les tissus conducteurs, les tiges, les pétioles et les nervures, que dans le mésophylle. Les toutes jeunes feuilles constituent une exception, la distribution du traceur entre les nervures et le mésophylle y étant plutôt uniforme. On peut en déduire que dans les conditions expérimentales étudiées (durée maximum de redistribution = 24 heures), une fraction importante du ^{35}S transporté vers les parties aériennes circule librement dans les organes de transport, probablement sous forme de $^{35}\text{SO}_4^-$.

Dans les régions méristématiques, il y aurait, par contre, une rapide métabolisation et incorporation du ^{35}S dans les protéines foliaires, d'où le marquage intense du mésophylle des jeunes feuilles.

5° — La distribution du soufre 35 entre les différents étages foliaires se caractérise par la localisation préférentielle du traceur dans les feuilles les plus jeunes, en croissance active. Ce sont ces feuilles qui apparaissent le plus fortement marquées par le ^{35}S sur les autoradiogrammes.

Les mesures de radioactivité, effectuées au jeune stade du développement, ont confirmé que le taux maximum de radioactivité se situe dans la feuille du sommet.

Au stade plus avancé du développement (préfloraison et floraison) bien qu'il y ait également tendance à l'accumulation du radiosoufre dans les feuilles les plus jeunes, on constate l'existence d'un deuxième « pic » de radioactivité. En dehors de la jeune feuille terminale, toujours la plus fortement impressionnée par le traceur, ce sont les 4^e et 5^e feuilles qui présentent le marquage le plus intense, c'est-à-dire celles correspondant aux feuilles déjà différenciées de la proplantule dans la graine et qui ont terminé leur croissance au début de la floraison.

Ce mode particulier de distribution du ^{35}S selon le rang de la feuille démontre la complexité des phénomènes de transport et d'accumulation dans la plante, phénomènes probablement liés aux caractéristiques métaboliques des tissus.

Il est difficile à l'heure actuelle d'interpréter ces phénomènes. Des recherches sur les caractéristiques métaboliques des feuilles de divers étages devraient être réalisées.

6° — La carence en soufre se répercute d'une manière très sensible sur l'absorption, le transport et la distribution du ^{35}S dans la plante. Sous ce rapport deux faits importants sont à souligner :

— les plantes carencées absorbent pour une durée égale de contact, beaucoup plus de ^{35}S que les plantes témoins. Il y a lieu d'admettre, par conséquent, l'existence d'un système de régulation de l'absorption du SO_4^{--} , lequel serait fonction des besoins des plantes en soufre ;

— le processus du transport du traceur vers la partie aérienne et de sa distribution dans les feuilles paraît être plus long à se déclancher chez les plantes $-S$ que chez les plantes $+S$.

Il nous semble opportun de rappeler nos études autoradiographiques avec le ^{35}S chez le cotonnier, complémentaires de celles effectuées sur l'arachide. L'une d'elles portait sur l'absorption et la distribution de ^{35}S , d'une courte durée, au jeune stade de développement. L'autre concernait la distribution et l'accumulation du ^{35}S au cours de la croissance du cotonnier ; l'absorption du traceur, également de courte durée, y était suivie d'une période de redistribution, plus ou moins longue, pendant laquelle des nouvelles feuilles se sont développées.

Les résultats de ces études ont fait l'objet de publications séparées [46] [47] que nous ne reproduisons pas ici. Elles ont permis, d'une part, de confirmer un certain nombre de résultats obtenus avec l'arachide, et d'autre part, de dégager un complément d'informations relatives à l'absorption, la migration et la distribution du ^{35}S . C'est pourquoi il nous paraît tout de même nécessaire d'en mentionner les principaux points.

La grande rapidité avec laquelle s'effectue l'absorption et le transport du ^{35}S a donc pu être confirmée. De même, il a été possible de montrer l'influence du niveau de l'alimentation des plantes en soufre sur l'intensité de l'absorption du $^{35}\text{SO}_4^{--}$: le cotonnier carencé absorbe bien plus de traceur que le cotonnier témoin ; l'existence d'un système de régulation de l'absorption du sulfate se trouve ainsi confirmée.

A ce propos il y a lieu d'évoquer un travail tout récent de VALLÉE [252] sur *Chlorella pyrenoidosa*. L'auteur constate que les vitesses d'entrée de SO_4^{--} augmentent dans le cas d'une carence en sulfate et diminuent en présence de cet ion. Il en conclut qu'il existe des mécanismes de régulation de l'entrée.

Toutefois les études sur le cotonnier réalisées dans les mêmes conditions que les travaux sur l'arachide font également ressortir certaines différences dues à l'espèce. C'est le cas du comportement des feuilles cotylédonaire. Bien qu'aux stades étudiés (de 3 à 5 feuilles), ces feuilles soient déjà complètement formées, leur marquage par le ^{35}S est toujours nettement plus intense que celui des deux premières feuilles, moins âgées. Les deux maxima de radioactivité sont présentés par la feuille du sommet d'une part et les feuilles cotylédonaire d'autre part. On peut supposer que ces dernières accumulent une fraction importante du traceur en tant qu'organes de réserves, probablement sous forme inorganique, alors que la fraction transportée vers la jeune feuille du sommet est très rapidement métabolisée et transformée en composés organiques.

En cas de carence, le marquage des feuilles cotylédonaire est, par contre, toujours très faible. La radioactivité des feuilles est fonction décroissante de leur âge.

Quant à la localisation du radioélément dans le limbe foliaire, elle revêt, chez le cotonnier +S, un aspect punctiforme, très caractéristique, ce qui n'a pas été observé chez l'arachide.

Le cotonnier carencé ne présente pas cette particularité. Elle semble donc être liée, non seulement à l'espèce, mais aussi à la quantité du soufre disponible dans la plante.

L'étude de la distribution et de l'accumulation du ^{35}S au cours de la croissance du cotonnier, étude qui n'a pas été effectuée chez l'arachide, permet de dégager quelques conclusions supplémentaires.

Chez les plantes normales, le soufre ^{35}S s'accumule dans les feuilles cotylédonaire et les feuilles âgées, lesquelles existaient déjà lors du contact avec le traceur. Toutefois les feuilles plus jeunes, qui se sont formées après le contact, alors que les plantes n'avaient plus à leur disposition de soufre marqué en provenance du milieu nutritif, sont toutes, bien que faiblement, marquées par le radioélément. Le ^{35}S y a été donc transporté depuis les racines et les feuilles plus âgées. Ceci indique qu'une fraction du ^{35}S absorbé circule au sein de la plante. Cette fraction est cependant assez faible par rapport à celle « fixée » dans les tissus.

Chez les plantes carencées, le mode de distribution du radioélément dans les parties aériennes revêt un aspect différent de celui qu'on observe chez les plantes normales. Les feuilles formées après le contact avec le ^{35}S sont autant ou même plus marquées que les feuilles déjà existantes lors de l'absorption du traceur. De plus, et contrairement aux plantes témoins, les feuilles cotylédonaire des plantes carencées sont toujours moins radioactives que toutes les autres feuilles. Il en ressort, que dans le cas de la carence en soufre, le ^{35}S est beaucoup plus facilement mobilisable que dans les conditions d'une alimentation normale. On peut supposer que le soufre radioactif, transporté depuis les organes plus âgés pour une réutilisation dans les jeunes tissus en croissance active, privés de toute autre source de soufre, provient, en partie au moins, de la protéolyse. Cette protéolyse serait d'autant plus intense que les plantes sont plus carencées en soufre.

Quant à la répartition du ^{35}S entre les vaisseaux conducteurs et le mésophylle, elle apparaît également différente de celle observée après une redistribution de courte durée. Ceci est valable tant pour les plantes témoins que pour les carencées. Lors d'une longue redistribution, en absence d'un nouvel apport de radiosoufre du milieu, les nervures des feuilles basales se vident du traceur, alors que le mésophylle reste marqué par le radiosoufre fixé dans les protéines : la fraction libre de ^{35}S chemine vers les parties sommitales de la plante où elle participe à l'édification des nouvelles feuilles. Le marquage de ces dernières, contrairement aux feuilles âgées, paraît assez uniforme ; les nervures ne se distinguant pas du mésophylle.

Nos études nous permettent de conclure qu'il n'existe pas un type unique de distribution du ^{35}S chez les végétaux, mais, au contraire, des modes multiples de cette distribution. Ceux-ci dépendent de l'espèce végétale étudiée et des conditions expérimentales, notamment du temps de redistribution et du niveau d'alimentation de la plante en soufre non radioactif.

V — UTILISATION DU ³⁵S

A. — INTRODUCTION

La constitution électronique du soufre et la facilité avec laquelle il change, dans les conditions physiologiques, ses valences en passant d'un état d'oxydation à un autre confèrent aux molécules qui le contiennent des propriétés particulières.

Le soufre est à son état d'oxydation maximum dans les sulfates (+6) et minimum dans les sulfures (-2).

Par la diversité des réactions dans lesquelles cet atome intervient, soit comme centre actif d'un catalyseur biologique, soit comme activateur ou inhibiteur d'un système, soit encore comme simple métabolite, le soufre joue un rôle très important dans toute matière vivante tant animale que végétale. Aussi, l'étude des transformations biochimiques des composés soufrés naturels revêt en biologie un intérêt particulier.

L'utilisation du soufre minéral pour la synthèse des composés organiques constitue une caractéristique commune des organismes autotrophes : des plantes vertes et de nombreux microorganismes. Chez les bactéries et d'autres organismes inférieurs, le mécanisme de la réduction du sulfate en composés soufrés organiques a été étudié d'une manière très complète [269] et divers stades intermédiaires ont pu être mis en évidence chez certains d'entre eux comme par exemple chez *Aspergillus nidulans* [128] [215] [172], *Penicillium chrysogenum* [173], *Desulfovibrio desulfuricans* [184] [131] [166], *Escherichia coli* [144] [200] ou *Neurospora* [200] [130] [190] ainsi que chez les levures [271] [270] [11] [127] [208].

Des études analogues sur les organismes chlorophylliens sont beaucoup plus restreintes — certaines par exemple ont été réalisées sur *Euglena* [108] et sur *Chlorella* [264] [207] — et nos connaissances des voies métaboliques conduisant du soufre minéral au soufre organique restent encore très incomplètes, surtout en ce qui concerne les végétaux supérieurs.

Cette situation est cependant en train de changer et ces derniers temps on accorde de plus en plus d'attention au déchiffrement du mécanisme de la réduction du sulfate et de l'incorporation du soufre dans les acides aminés libres et les protéines en faisant, d'ailleurs, constamment appel au soufre ³⁵S.

Encore avant l'emploi du ³⁵S, NIGHTINGALE et coll. [176], en utilisant les méthodes microchimiques, ont été les premiers à signaler l'apparition du sulfite et du groupe —SH dans les tissus méristématiques des plants de tomate déficients en soufre peu après l'addition du sulfate à la solution nutritive.

Mais, ce sont les travaux avec utilisation du ^{35}S de FROMAGEOT et PEREZ-MILAN sur les feuilles détachées du tabac [101] [102] et de ASAHİ et coll. successivement sur les feuilles de haricot velu [12] [9] [139] et, *in vitro*, sur les extraits des feuilles d'épinard [10] qui ont apporté la preuve irréfutable que le sulfite et le sulfure sont bien les stades intermédiaires de la réduction du sulfate. Ils ont montré ainsi pour la première fois que le mécanisme de la réduction du sulfate, découvert chez les bactéries, les levures et les algues, fonctionne également chez les végétaux supérieurs.

D'autre part, le rôle de donneur d'électrons lors de la réduction du sulfate en sulfite peut être joué par le système photosynthétique transmetteur d'électrons dans les chloroplastes.

Les voies ultérieures de l'incorporation du soufre dans les acides aminés restent assez obscures.

Des doutes subsistent notamment en ce qui concerne les premiers termes d'incorporation du soufre minéral dans les molécules organiques dont un grand nombre n'a pas encore pu, d'ailleurs, être identifié. De même la rapidité de la métabolisation du soufre ainsi que celle de l'incorporation des acides aminés soufrés dans les protéines varient considérablement suivant que l'on considère les résultats de tel auteur ou de tel autre. Enfin le problème de la localisation des processus ci-dessus mentionnés reste peu clair. Au sujet de ce dernier point il faut rapporter la constatation faite par FROMAGEOT et PEREZ-MILAN ainsi que par ASAHİ et coll. et soutenue par les travaux de DOMAN [81] sur le haricot et de KYLIN [143], sur le blé, *Vallisneria* et *Crassula*, à savoir que la lumière est indispensable pour la réduction du sulfate.

Ainsi les processus métaboliques n'auraient lieu que dans les tissus photosynthétiques.

Cette opinion ne peut cependant être partagée sans restriction depuis que l'incorporation du ^{35}S du sulfate dans les acides aminés soufrés a pu être mise en évidence dans les racines isolées [149], ainsi que dans d'autres organes ou tissus non photosynthétiques [114] [89] [181] [143] (graines en germination, explants de betterave, fragments de tiges étiolées de *Pisum*, feuilles albinos d'orge). Il semble que la réduction du sulfate a lieu dans tous les tissus où a lieu une synthèse active des protéines, c'est-à-dire dans les régions méristématiques de la plante [269] [153] [182].

Quant à la nature des composés soufrés organiques formés en priorité dans la plante à partir du soufre inorganique (fourni soit sous forme de SO_4^{4-} soit sous forme de SO_2), les résultats obtenus par divers auteurs et chez diverses espèces sont assez divergents comme le montre des exemples cités ci-dessous.

Dans les travaux classiques de THOMAS et coll. sur l'utilisation de SO_4^{4-} (absorption radiculaire) et du SO_2 (absorption foliaire) par les plantes intactes de céréales, de luzerne et de betterave sucrière [227] [229] [231] [226], on trouve peu de renseignements en ce qui concerne les réactions initiales. Dans le cas de l'absorption radiculaire le sulfate est transporté sous forme inchangée vers les feuilles où il est incorporé dans la cystéine, la cystine et la méthionine puis dans les protéines. L'anhydride sulfureux absorbé par les feuilles est également métabolisé et incorporé dans la cystéine et la méthionine des protéines foliaires.

L'opinion suivant laquelle le sulfate est la seule forme de transport du soufre est aussi soutenue par TOLBERT et WIEBE [246] qui ne trouvent que du $\text{S}^*\text{O}_4^{2-}$ dans l'exudat des tiges de jeunes plantes ayant absorbé le radiosulfate.

STEWART et coll. [222] sont les premiers à utiliser la technique autoradiochromato-

graphique pour l'identification des acides aminés soufrés libres et protéiques dans les feuilles de plantes de luzerne se développant sur milieu nutritif contenant du S^+O_4^- . La cystine et une autre substance non identifiée, qui après hydrolyse donne la cystine (probablement le glutathion), sont les seuls composés radioactifs de la fraction soluble marquée par le ^{35}S . La méthionine en est absente. Dans la fraction protéique, la méthionine prédomine sur la cystine.

D'après les résultats de KYLIN [142], les jeunes plantules de blé (privées de réserves contenues dans la graine) sont capables de métaboliser très rapidement le S^+O_4^- absorbé par les racines. La cystine et la méthionine deviennent radioactives en même temps, c'est-à-dire après 11 minutes d'absorption du $^{35}\text{SO}_4^-$, et ceci aussi bien dans la fraction soluble que dans la fraction protéique.

BISWAS et SEN [32] trouvent plus de 25 composés marqués au ^{35}S sur les radiochromatogrammes d'un extrait des feuilles sommitales de jeunes plantules de pois ayant absorbé le sulfate radioactif pendant 1 heure ; leur nombre diminue sensiblement dans les feuilles plus âgées. Dans les racines le composé prédominant est la méthionine.

Ces mêmes auteurs signalent l'incorporation très rapide (après 5 secondes) du ^{35}S dans la taurine, lors de l'incubation de fragments d'organes isolés (racines, tiges et feuilles) avec du $^{35}\text{SO}_4\text{Na}_2$. La taurine serait par la suite utilisée dans la synthèse d'autres composés soufrés tels que la méthionine, la cystine, l'homocystéine et l'acide cystéique ainsi que d'un certain nombre de substances non identifiées.

ASAHI et MINIMIKAWA [12], à la suite des essais déjà mentionnés avec les feuilles détachées de haricot n'excluent pas l'hypothèse suivant laquelle le stade intermédiaire de la réduction du sulfate peut être l'acide cystéine-sulfinique ou quelque autre composé soufré non encore identifié, sans passer nécessairement par le sulfite, pourvu qu'une conversion rapide ait lieu entre ce dernier et le composé intermédiaire.

Les résultats obtenus par SINHA et COSSINS [218] sur les jeunes plantules de radis alimentées en radiosulfate par les hypocotyles, montrent que l'incorporation du ^{35}S dans la cystéine a lieu après 15 minutes de contact alors que la taurine et la méthionine n'apparaissent marquées qu'après 30 minutes. A l'obscurité, l'incorporation dans la méthionine est retardée et n'a lieu qu'après 1 heure de contact avec le $^{35}\text{SO}_4^-$.

L'étude de WEIGL et ZIEGLER [265] constitue une autre approche du problème de l'utilisation du soufre inorganique par la plante. Ces auteurs, après avoir fait absorber le $^{35}\text{SO}_2$ gazeux aux feuilles d'épinard ont procédé à l'extraction des produits de métabolisation en présence de N-éthylmaléimide.

L'incorporation du ^{35}S dans la cystéine, le glutathion et d'autres composés non identifiés, tant solubles qu'insolubles, a eu lieu après 2 heures d'exposition au $^{35}\text{SO}_2$; en même temps une partie importante du SO_2 absorbé a été oxydée en sulfate.

Le fait que les feuilles ne sont pas les seuls organes capables de réduire les sulfates en sulfhydryles est prouvé par le travail de HABER et TOLBERT [114] sur la métabolisation du $^{35}\text{SO}_4^-$ au cours de la germination des graines de laitue. La radioactivité au niveau de la cystéine, de la méthionine et de nombreux autres composés non identifiés a été détectée au bout de 3 heures d'imbibition des graines à tégument perforé. Dans les graines intactes, l'apparition des composés organiques marqués au ^{35}S coïncide avec la percée de la radicule (15 à 18 heures d'imbibition).

LIVERMAN et RAGLAND [149] ayant étudié l'absorption du $^{35}\text{SO}_4^-$ par les plantes intactes de Pois d'Alaska ont pu mettre en évidence l'incorporation extrêmement rapide du ^{35}S dans les acides aminés soufrés des racines ; elle débutait après 2 minutes

de contact. Les expériences avec les racines isolées démontrent une incorporation encore plus rapide.

Dans une étude plus récente, PATE [182] a démontré la capacité des racines de *Pisum arvense* L. de réduire une faible proportion de radiosulfate absorbé et de synthétiser les composés organiques soufrés. Une partie de ces composés est transportée vers la partie aérienne, principalement sous forme de méthionine et, à un moindre degré, sous forme de cystéine et de glutathion. Mais alors que dans les racines les acides aminés soufrés libres et protéiques apparaissent marqués au ^{35}S après 1 heure de contact avec $^{35}\text{SO}_4^-$, dans la partie aérienne ils ne deviennent radioactifs qu'après 4 heures.

Pendant d'après les travaux de certains auteurs russes, la métabolisation des sulfates dans les plantes intactes serait un processus beaucoup plus lent. Ainsi des expériences avec du sulfate radioactif ont permis à VLASJUK et coll. [257] d'établir que le ^{35}S est incorporé, dans la cystine et la méthionine, 3 jours et, dans les protéines, 6 jours seulement après l'introduction du sulfate marqué dans les plantes de blé.

De même SHEVJAKOVA [216] signale qu'après 24 heures de croissance de plants de fève fourragère sur milieu contenant du radiosulfate, le ^{35}S n'est observé que dans la cystéine-cystine, et après 5 jours seulement — dans 5 acides aminés y compris la cystéine-cystine et la méthionine.

D'autre part LOUGHMAN [153] en comparant la vitesse de la métabolisation du phosphate avec celle du sulfate constate également que cette dernière est relativement lente et attribue à ce fait le manque d'intérêt dont on a témoigné pendant des années pour le problème de l'utilisation du soufre inorganique par les végétaux.

Enfin un certain nombre d'études a été consacré plus particulièrement à l'incorporation du soufre dans les protéines, entre autre celle de KYLIN [143] sur les feuilles de blé, d'orge, de *Vallisneria gigantea* et de *Crassula argentea*, de RAGOT [191] sur les feuilles entières détachées de *Bryophyllum* et de WILLENBRINK [267] sur les feuilles et les racines des plantes de tomate.

La conclusion qui se dégage de l'ensemble des travaux cités ci-dessus est que le métabolisme du soufre dans l'organisme végétal est, malgré les progrès accomplis ces toutes dernières années, encore peu connu.

A notre connaissance aucune étude de ce genre n'a été effectuée sur les cultures tropicales. Nous avons pensé que nos expériences réalisées sur l'arachide pourraient apporter un complément utile aux connaissances acquises dans ce domaine. Ces expériences ont été effectuées par les méthodes d'autoradiochromatographie et de radiocomptage.

B. — RÉSULTATS

1° — Arachide au stade de 3 feuilles, plantes sur H_2O .

Contact radiculaire avec $^{35}\text{SO}_4^-$ s'échelonnant de 15 minutes à 8 heures : 15 mn, 30 mn, 2 h, 4 h, 8 h.

Dans cette expérience nous avons tenté de déterminer, par autoradiochromatographie, les premiers termes organiques auxquels s'incorpore le $^{35}\text{SO}_4^-$.

En même temps, ont été évaluées par radiocomptage les répartitions de la radioactivité, en fonction du temps de contact avec $^{35}\text{SO}_4^-$, entre les deux fractions, soluble et insoluble, d'une part et entre les divers composés solubles et insolubles, d'autre part.

Nous avons choisi comme matériel végétal les jeunes plantules maintenues sur H_2O , sans apport extérieur de soufre, chez lesquelles, à la lumière des résultats d'expériences avec les plantes $+\text{S}$ et $-\text{S}$ (voir plus loin), la métabolisation du radiosulfate devrait être assez rapide.

Lors des essais préliminaires les plantes ont été mises en contact avec la solution de $^{35}\text{SO}_4^-$ dans l'eau pendant 15 et 30 minutes. En absence de sels, l'absorption était lente et la radioactivité des organes végétaux très faible.

Sur les autoradiochromatogrammes, on n'a pas décelé d'incorporation du radiosulfate, ni dans les composés organiques solubles, ni dans les protéines. Toute la radioactivité était localisée au niveau du soufre minéral.

Partant de ces résultats préliminaires, nous avons repris la même expérience en appliquant des temps de contact racines — ^{35}S plus longs : 2, 4, 8 heures. Le sulfate radioactif (1 mCi/l) a été ajouté à la solution nutritive sans soufre et non plus à H_2O , comme précédemment.

Après deux heures de contact avec cette solution, tous les organes végétaux à l'exception des cotylédons se sont montrés très fortement radioactifs. Les autoradiochromatogrammes correspondants ont révélé la présence de toute une série de taches radioactives, aussi bien dans la fraction soluble que dans la fraction protéique. On a pu en conclure que les temps de contact de 2 heures est déjà trop long pour déterminer le premier terme d'incorporation du sulfate dans les molécules organiques. Ceci nous a amenés à reprendre la même expérience en appliquant des temps de contact plus brefs, déjà employés lors des essais préliminaires — soit 15 et 30 minutes — mais en ajoutant le radiosulfate à la solution nutritive exempte de soufre. Nous allons donc examiner conjointement les résultats obtenus dans ces expériences et portant sur des temps de contact avec le $^{35}\text{SO}_4^-$ s'échelonnant de 15 minutes à 8 heures.

a) RADIOACTIVITÉ DES FRACTIONS SOLUBLE ET PROTÉIQUE EN FONCTION DU TEMPS DE CONTACT AVEC LE RADIOSULFATE-COMPTAGE

En examinant les résultats réunis dans le tableau XVI, on constate que chez les racines, organes qui sont en contact direct avec la solution radioactive, après 15 minutes d'absorption du $^{35}\text{SO}_4^-$, la radioactivité est très importante au niveau de la fraction soluble et l'incorporation du ^{35}S très appréciable dans les protéines. Après le même temps de contact, on ne décèle qu'une faible radioactivité dans la fraction soluble et des traces du ^{35}S dans la fraction protéique des folioles. L'incorporation du traceur dans les protéines foliaires ne commence pratiquement, dans nos conditions expérimentales, qu'après 30 minutes de contact radiculaire avec la solution radioactive.

L'accroissement de la radioactivité des deux fractions, soluble et insoluble, en fonction du temps de contact, est de loin le plus important pour les racines. Sa vitesse maximum se situe, pour la fraction soluble, tout au début du contact, entre 0 et 15 minutes, puis elle décroît progressivement à mesure que l'on prolonge le temps de contact avec le $^{35}\text{SO}_4^-$. L'incorporation du ^{35}S dans la fraction protéique des racines s'avère être la plus intense entre 30 minutes et 2 heures de contact. Pendant cette même période, on observe également un transport très intense du ^{35}S vers les folioles. L'accroissement le plus rapide de la radioactivité de la fraction soluble ainsi que l'incorporation la plus intense dans les protéines de ces organes ont lieu entre 30 minutes et 2 heures d'absorption du $^{35}\text{SO}_4^-$.

TABLEAU XVI

RADIOACTIVITÉ DES FRACTIONS SOLUBLE ET PROTÉIQUE EN FONCTION DU TEMPS DE CONTACT AVEC $^{35}\text{SO}_4^-$

| ORGANES VÉGÉTAUX | TEMPS DE CONTACT | RADIOACTIVITÉ — EN I.P.M. PAR MG DE M.S. | | | |
|--|---------------------|--|---------------------------|---|------------------------|
| | | ^{35}S Soluble | ^{35}S Insoluble | Somme : ^{35}S Sol. + ^{35}S Insol. | ^{35}S Total* |
| Folioles | 15 mn | 56 | 8 | 64 | 68 |
| | 30 mn | 610 | 100 | 710 | 790 |
| | 2 h | 8300 | 2600 | 10900 | 11700 |
| | 4 h | 10300 | 3800 | 14100 | 14400 |
| | 8 h | 16700 | 6300 | 23000 | 23400 |
| Hypocotyle + tige + pétioles | 2 h | 7800 | 680 | 8480 | 8300 |
| | 4 h | 13800 | 1200 | 15000 | 15700 |
| | 8 h | 21900 | 1900 | 23800 | 25000 |
| Racines | 15 mn | 18300 | 330 | 18630 | 18700 |
| | 30 mn | 25600 | 900 | 26500 | 28000 |
| | 2 h | 68500 | 6700 | 75200 | 77200 |
| | 4 h | 101000 | 13500 | 114500 | 132000 |
| | 8 h | 144000 | 22800 | 166800 | 168000 |

* Comptages sur poudre végétale primitive (avant extractions).

En ce qui concerne les tiges+pétioles et les hypocotyles, pour lesquels (vu leur faible radioactivité au niveau des protéines) on ne dispose que des chiffres se rapportant à 2, 4 et 8 heures de contact avec le $^{35}\text{SO}_4^-$, on peut constater que la radioactivité des deux fractions soluble et insoluble s'est également accrue le plus rapidement entre 0 et 2 heures de contact et qu'ensuite l'accroissement est plus lent.

Pour tous les temps de contact expérimentés le ^{35}S soluble est la forme dominante du soufre radioactif dans tous les organes végétaux étudiés.

La proportion du ^{35}S protéique par rapport au ^{35}S total est la plus élevée dans les folioles et la plus faible dans les hypocotyles et les tiges+pétioles.

Dans les folioles et les racines, cette proportion s'accroît avec le temps de contact et atteint, au bout de 8 heures d'absorption, respectivement 27 % et 14 %.

Dans les organes de transport, hypocotyles et tiges+pétioles, par contre, la proportion du ^{35}S protéique reste inchangée (8 %) entre 2 et 8 heures de contact.

b) INCORPORATION DU ^{35}S DANS LES COMPOSÉS SOLUBLES ET DANS LES ACIDES AMINÉS PROTÉIQUES EN FONCTION DU TEMPS DE CONTACT AVEC LE RADIOSULFATE

α) Autoradiochromatographie

La figure 16 représente un radiochromatogramme bidimensionnel de la solution du $^{35}\text{SO}_4^-$ déposée juste avant le contact radiculaire.

SOLUTION $^{35}\text{SO}_4^-$
100/1
AVANT CONTACT
RADICULAIRE



Fig. 16. — Autoradiochromatogramme de la solution $^{35}\text{SO}_4^-$.

Sur la figure 17 sont reproduits quelques autoradiochromatogrammes correspondant à 15 minutes, 30 minutes et 2 heures de contact avec le radiosulfate. Nous ne présentons pas ceux réalisés après 4 et 8 heures de contact, puisqu'ils ne révèlent pas la présence d'autres taches radioactives que celles déjà constatées sur les autoradiochromatogrammes après 2 heures de contact avec $^{35}\text{SO}_4^-$. La seule différence consiste en ceci que les composés radioactifs apparaissent beaucoup plus fortement marqués par le traceur après un contact plus long : de 4 et 8 heures.

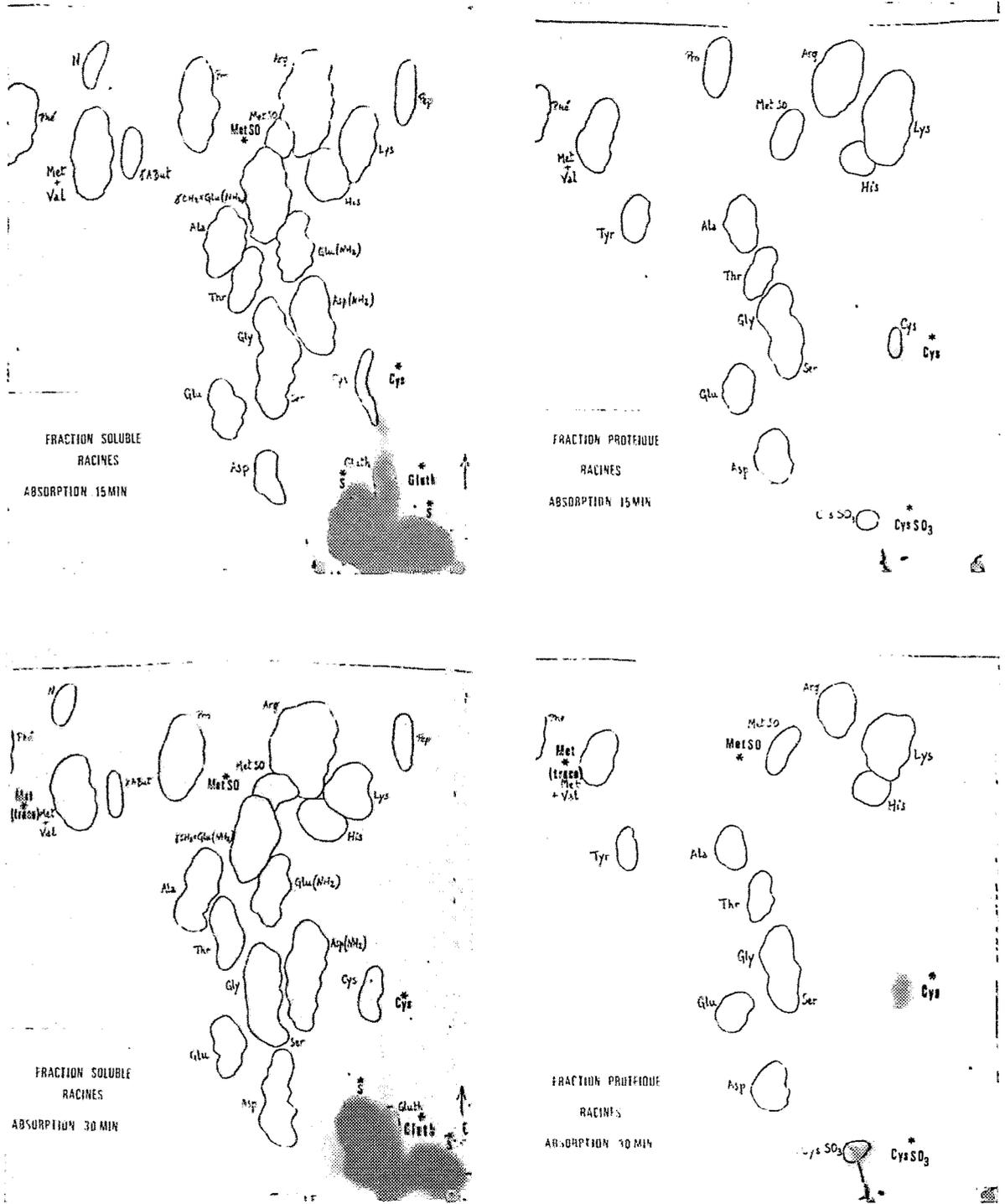
Les films Kodirex superposés aux copies des chromatogrammes ont été photographiés ensemble afin que l'on puisse mieux localiser les composés radioactifs.

Les quantités de l'extrait soluble déposées sur les chromatogrammes correspondent à 6 mg de matière sèche, celles de l'hydrolysate des protéines à 1 mg de matière sèche.

Dans les racines, après 15 minutes de contact avec le radiosulfate, il y a incorporation du ^{35}S dans les acides aminés libres — cystéine-cystine et méthionine, le tripeptide — glutathion, et dans quelques autres composés solubles non identifiés.

Le traceur s'est également incorporé dans les protéines où la radioactivité apparaît

a) Racines



* Composés radioactifs identifiés : S = soufre inorganique ; Cys = cystéine-cystine ; Cys SO₃ = acide cystéique ; Met = méthionine ; MetSO = méthionine-sulfoxyde ; Gluth = glutathion.

Fig. 17. — Autoradiochromatogrammes

b) Folioles

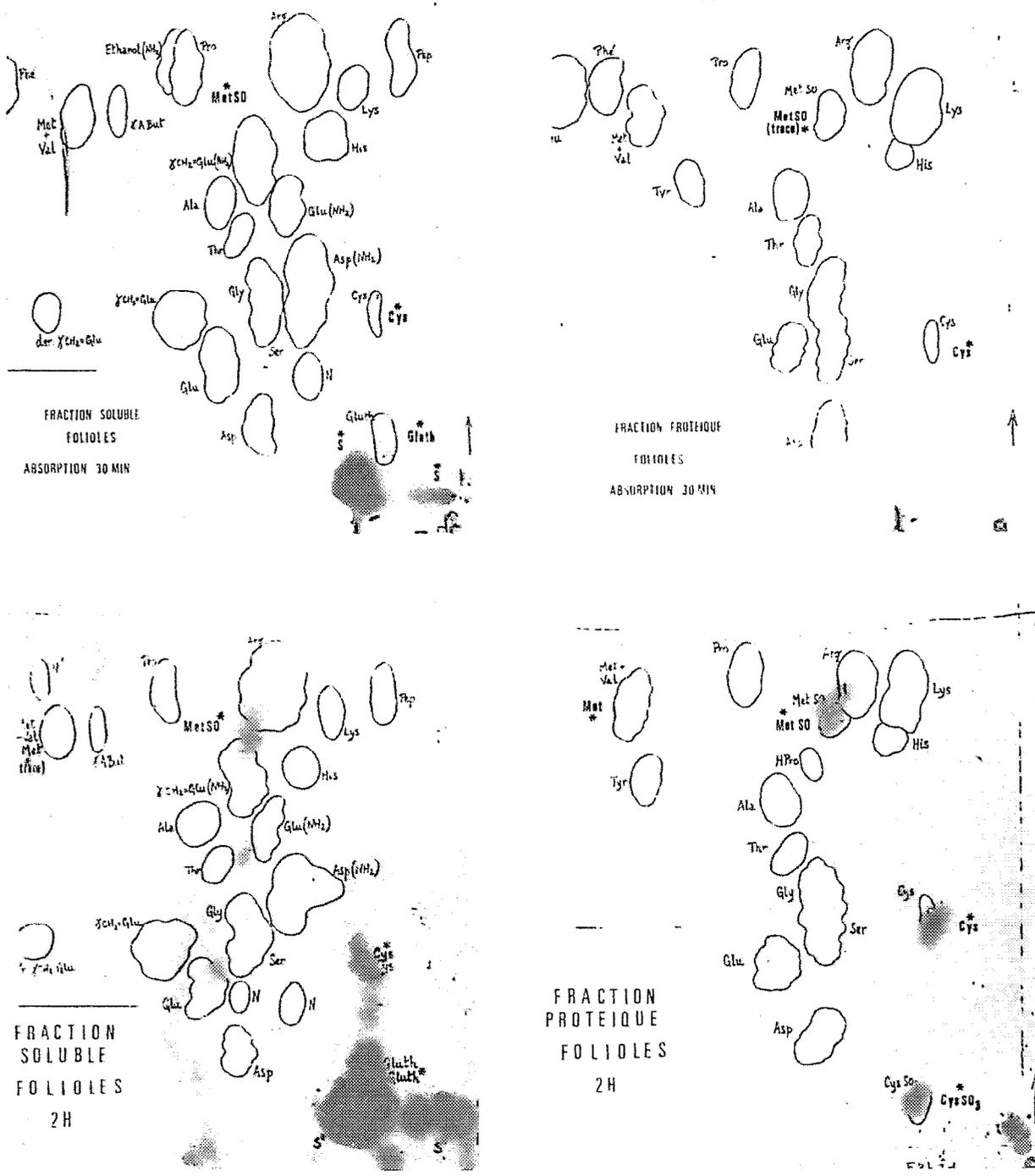


Fig. 17 (suite). — Autoradiochromatogrammes

c) Tiges

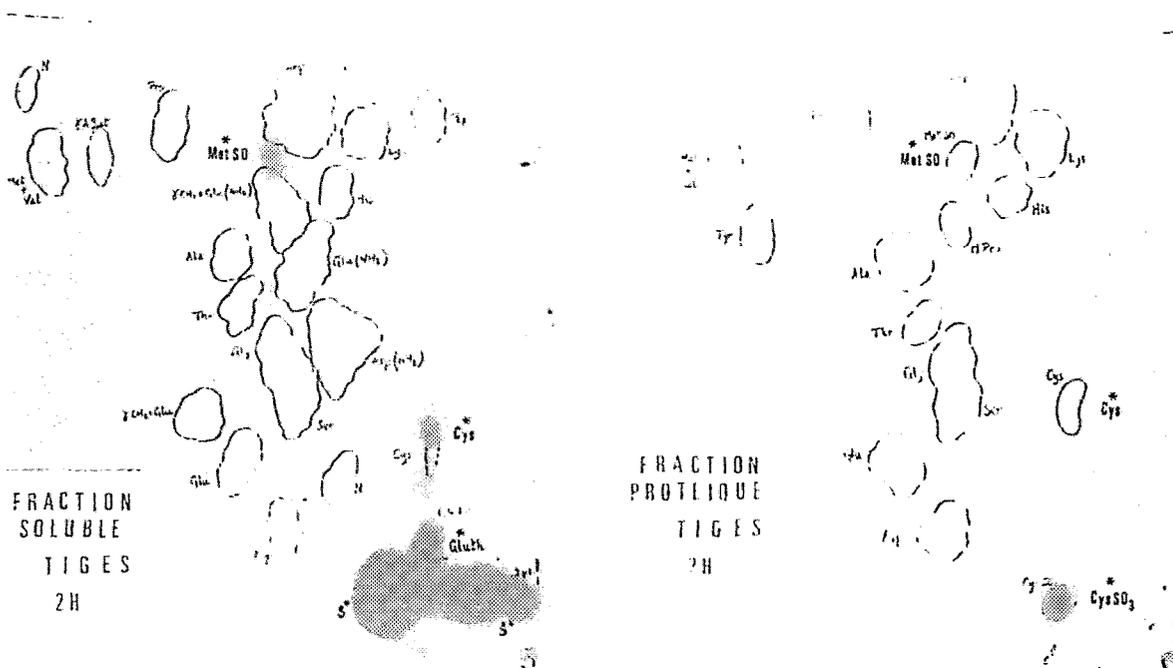


Fig. 17 (suite). — Autoradiochromatogrammes.

au niveau de la cystéine-cystine. La méthionine protéique, par contre, ne devient radioactive qu'après 30 minutes de contact avec le $^{35}\text{SO}_4^-$.

Dans les folioles, le contact de 15 minutes avec le traceur ne laisse apparaître la radioactivité qu'au niveau du soufre inorganique.

Les autoradiochromatogrammes des protéines ne sont pas marqués par le ^{35}S après ce court laps de temps de 15 minutes. Ce n'est qu'après 30 minutes que la radioactivité apparaît au niveau de ces deux acides aminés sulfurés, cystéine-cystine et méthionine, libres et protéiques ainsi que dans le glutathion. On distingue aussi une trace de radioactivité dans une substance soluble non identifiée. Plusieurs autres taches non identifiées marquées au ^{35}S apparaissent sur les autoradiochromatogrammes de l'extrait soluble des folioles après 2 heures de contact avec le radiosulfate.

Il en est de même pour les racines où le nombre de composés solubles radioactifs non identifiés s'accroît entre 30 minutes et 2 heures de contact avec le $^{35}\text{SO}_4^-$.

Tant sur les autoradiochromatogrammes des folioles que sur ceux des racines, l'intensité du marquage de toutes les taches radioactives déjà présentes après 30 minutes d'absorption augmente d'une manière sensible après 2 heures d'absorption.

Pour les hypocotyles et les tiges + pétiotes, le temps de contact avec le $^{35}\text{SO}_4^-$ le plus bref que l'on ait étudié est celui de deux heures. Après ce délai on observe la radioactivité au niveau des mêmes composés solubles et insolubles que ceux identifiés dans les extraits des folioles et des racines.

3) Comptage des taches radioactives

Après identification des composés marqués au ^{35}S sur les chromatogrammes, les taches radioactives ont été découpées et passées sous le compteur en vue de l'évaluation de la répartition de la radioactivité entre les divers composés soufrés.

Composés solubles.

Si l'on compare, à présent, la répartition quantitative de la radioactivité entre les différents composés soufrés en fonction du temps de contact avec le radiosulfate (tableau XVII), on constate que dans les fractions solubles de tous les organes végétaux

TABLEAU XVII
RADIOACTIVITÉ DES COMPOSÉS SOLUBLES EN FONCTION DU TEMPS DE CONTACT AVEC $^{35}\text{SO}_4^-$

| COMPOSÉS SOUFRÉS | RADIOACTIVITÉ | | | | | | | | | |
|------------------------------|---------------------|--------|--------|--------|---------|--|-------|------|------|------|
| | en i.p.m. par tache | | | | | en % de la radioactivité totale des composés solubles | | | | |
| | 15 mn | 30 mn | 2 h | 4 h | 8 h | 15 mn | 30 mn | 2 h | 4 h | 8 h |
| FOLIOLES | | | | | | | | | | |
| S Inorganique.. | 290 | 5700 | 52100 | 60700 | 91700 | 100 | 92,7 | 87,0 | 86,4 | 83,2 |
| Cystéine et dérivées..... | — | 140 | 1300 | 1500 | 3400 | | 2,3 | 2,2 | 2,1 | 3,1 |
| Méthionine et dérivées..... | — | 110 | 700 | 890 | 1700 | | 1,8 | 1,1 | 1,3 | 1,5 |
| Glutathion..... | — | 200 | 4500 | 5500 | 10100 | | 3,2 | 7,5 | 7,8 | 9,2 |
| X*..... | — | trace | 1300 | 1700 | 3300 | | | 2,2 | 2,4 | 3,0 |
| TOTAL..... | 290 | 6150 | 59900 | 70290 | 110200 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| HYPOCOTYLE + TIGE + PÉTIOLÉS | | | | | | | | | | |
| S Inorganique.. | | | 65000 | 111000 | 169000 | | | 94,4 | 95,1 | 94,3 |
| Cystéine et dérivées..... | | | 730 | 1000 | 1300 | | | 1,1 | 0,9 | 0,7 |
| Méthionine et dérivées..... | | | 680 | 810 | 1100 | | | 1,0 | 0,7 | 0,6 |
| Glutathion..... | | | 2100 | 3300 | 6800 | | | 3,0 | 2,8 | 3,8 |
| X*..... | | | 340 | 580 | 1000 | | | 0,5 | 0,5 | 0,6 |
| TOTAL..... | | | 68850 | 116690 | 179200 | | | 100 | 100 | 100 |
| RACINES | | | | | | | | | | |
| S Inorganique.. | 211000 | 258000 | 541000 | 881000 | 1160000 | 98,9 | 97,8 | 96,1 | 97,1 | 93,1 |
| Cystéine et dérivées..... | 370 | 400 | 2200 | 3500 | 11400 | 0,2 | 0,1 | 0,4 | 0,4 | 0,9 |
| Méthionine et dérivées..... | 210 | 480 | 2700 | 4900 | 14600 | 0,1 | 0,2 | 0,5 | 0,6 | 1,2 |
| Glutathion..... | 1600 | 4100 | 13600 | 13800 | 33600 | 0,7 | 1,6 | 2,4 | 1,5 | 2,7 |
| X*..... | 270 | 850 | 3700 | 3800 | 25900 | 0,1 | 0,3 | 0,6 | 0,4 | 2,1 |
| TOTAL..... | 213450 | 263830 | 563200 | 907000 | 1245500 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |

* Composés non identifiés.

et pour tous les temps de contact étudiés, la majeure partie du traceur est localisée au niveau du sulfate (entre 83 et 100 %).

Dans les folioles et, à un moindre degré, dans les racines, la proportion du ^{35}S organique par rapport à la radioactivité totale de la fraction soluble augmente en fonction du temps de contact avec la solution radioactive. Dans les organes de transport, hypocotyles et tiges+pétioles, le rapport entre le ^{35}S inorganique et le ^{35}S organique demeure à peu près constant.

Dans tous les organes, le glutathion est de loin le plus important composé organique soluble marqué au ^{35}S . Sa proportion apparaît particulièrement élevée dans les folioles : après 8 heures de contact avec le $^{35}\text{SO}_4^-$ le traceur localisé au niveau du glutathion représente environ 9 % de la radioactivité totale de la fraction soluble, soit 3 fois plus que le ^{35}S incorporé dans la cystéine-cystine et 6 fois plus que celui de la méthionine.

Quant à la répartition du traceur entre la cystéine-cystine et la méthionine, on constate que dans la partie aérienne de la plante, surtout dans les folioles, la radioactivité au niveau de la cystéine-cystine est supérieure à celle de la méthionine. Une tendance inverse est observée dans les racines.

Si, cependant, on additionne la radioactivité de la cystéine-cystine et celle du glutathion, due également à la cystéine, cela fait ressortir la prédominance très nette de cette dernière sur la méthionine radioactive dans la fraction soluble de tous les organes, y compris les racines.

Acides aminés soufrés des protéines.

En examinant les chiffres du tableau XVIII, on constate que lors de l'incorporation du ^{35}S dans les acides aminés protéiques la radioactivité apparaît tout d'abord dans

TABLEAU XVIII
INCORPORATION DU ^{35}S DANS LES ACIDES AMINÉS DES PROTÉINES EN FONCTION DU TEMPS

| COMPOSÉS SOUFRÉS | RADIOACTIVITÉ | | | | | | | | | |
|-----------------------------|---------------------|-------|------|------|-------|---|-------|-----|-----|-----|
| | en i.p.m. par tache | | | | | en % de la radioactivité totale des protéines (somme Cys+Mét) | | | | |
| | 15 mn | 30 mn | 2 h | 4 h | 8 h | 15 mn | 30 mn | 2 h | 4 h | 8 h |
| FOLIOLES | | | | | | | | | | |
| Cystéine et dérivées..... | — | 74 | 1240 | 1420 | 2360 | | 68 | 53 | 46 | 47 |
| Méthionine et dérivées..... | — | 35 | 1110 | 1690 | 2670 | | 32 | 47 | 54 | 53 |
| Somme : Cys+Mét..... | — | 109 | 2350 | 3110 | 5030 | | 100 | 100 | 100 | 100 |
| HYPOCOTYLE+TIGE+PÉTIOLLES | | | | | | | | | | |
| Cystéine et dérivées..... | | | 630 | 930 | 970 | | | 71 | 68 | 55 |
| Méthionine et dérivées..... | | | 260 | 440 | 800 | | | 29 | 32 | 45 |
| Somme : Cys+Mét..... | | | 890 | 1370 | 1770 | | | 100 | 100 | 100 |
| RACINES | | | | | | | | | | |
| Cystéine et dérivées..... | 380 | 630 | 2610 | 3530 | 6170 | 100 | 79 | 60 | 48 | 48 |
| Méthionine et dérivées..... | — | 170 | 1730 | 3760 | 6670 | | 21 | 40 | 52 | 52 |
| Somme : Cys+Mét..... | 380 | 800 | 4340 | 7290 | 12840 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |

la cystéine (et dérivés) et ensuite seulement, après 30 minutes d'absorption du $^{35}\text{SO}_4^-$, également dans la méthionine (et dérivés). A mesure que l'on prolonge le temps de contact avec le radiosulfate la proportion de la cystéine radioactive diminue et celle de la méthionine radioactive s'accroît. Cette tendance est visible dans tous les organes végétaux étudiés. Dans les folioles et les racines, au bout de 4 heures de contact, la radioactivité de la méthionine devient même légèrement supérieure à celle de la cystéine.

2° — **Arachide carencée et non carencée en soufre au stade jeune du développement (7-8 feuilles).**

Contact racinaire avec $^{35}\text{SO}_4^-$: 15 minutes.

Redistribution dans H_2O : 24 heures.

Cette étude a été réalisée sur le matériel végétal provenant de l'expérience décrite précédemment (p. 77-78).

Les extractions à l'alcool aqueux, ont été suivies d'une part, des comptages de la radioactivité des fractions soluble et insoluble et d'autre part, de l'autoradiographie des composés solubles et protéiques.

La quantité d'extrait déposée sur les chromatogrammes de la fraction soluble correspondait à 40 mg de matière fraîche.

Sur les chromatogrammes de la fraction insoluble on déposait 125 μg de protéines soit 20 μg d'azote protéique.

a) **RÉPARTITION DE LA RADIOACTIVITÉ ENTRE LES FRACTIONS SOLUBLE ET INSOLUBLE-COMPTAGE**

Les résultats du tableau XIX rendent compte de l'influence de la déficience en soufre sur la répartition du traceur entre les fractions soluble et insoluble des divers organes végétaux +S et —S.

On constate une différence très importante entre les plantes témoins et carencées en soufre. Dans les organes —S l'incorporation du ^{35}S dans les protéines est très intense :

TABLEAU XIX

RADIOACTIVITÉ DES FRACTIONS SOLUBLE ET PROTÉIQUE DES DIVERS ORGANES DES PLANTES +S ET —S
(exprimée en i.p.m. par mg de m.s.)

| ORGANES VÉGÉTAUX | Fraction soluble | | Fraction protéique | |
|---------------------------------|------------------|-----|--------------------|------|
| | +S | —S | +S | —S |
| Folioles..... | 62 | 64 | 75 | 1735 |
| Tige principale + pétioles..... | 118 | 580 | 53 | 5038 |
| Racines..... | 297 | 658 | 253 | 6328 |

environ 90 % de la radioactivité se retrouve dans la fraction insoluble. Ceci est valable aussi bien pour la partie aérienne (folioles et tiges + pétioles) que pour les racines.

L'incorporation dans les protéines est nettement plus faible chez les plantes témoins.

De plus, alors que dans les folioles et les racines la radioactivité est répartie d'une manière à peu près égale entre les fractions soluble et protéique, dans les tiges + pétioles le traceur sous forme soluble prédomine très nettement.

b) AUTORADIOCHROMATOGRAPHIE

La distribution du ^{35}S entre les divers composés des fractions soluble et insoluble est illustrée par les autoradiogrammes des figures 18 et 19.

Les résultats de comptages des taches radioactives découpées sur les chromatogrammes sont consignés dans les tableaux XX et XXI.

α) Composés solubles marqués au ^{35}S

Plantes témoins.

L'examen de la figure 18 a, b, c, et des chiffres du tableau XX permet de constater que dans tous les organes des plantes témoins la majeure partie du traceur (de 92 à 96 %) se trouve sous forme inorganique, vraisemblablement sous forme de sulfate.

Le glutathion apparaît comme le seul composé organique des organes chlorophylliens marqué, très légèrement, au ^{35}S . On le décèle à peine sur les radiochromatogrammes. Dans les racines, en plus du glutathion, on observe une très faible radioactivité au niveau d'une autre substance non identifiée (près de l'acide glutamique).

Plantes carencées en soufre.

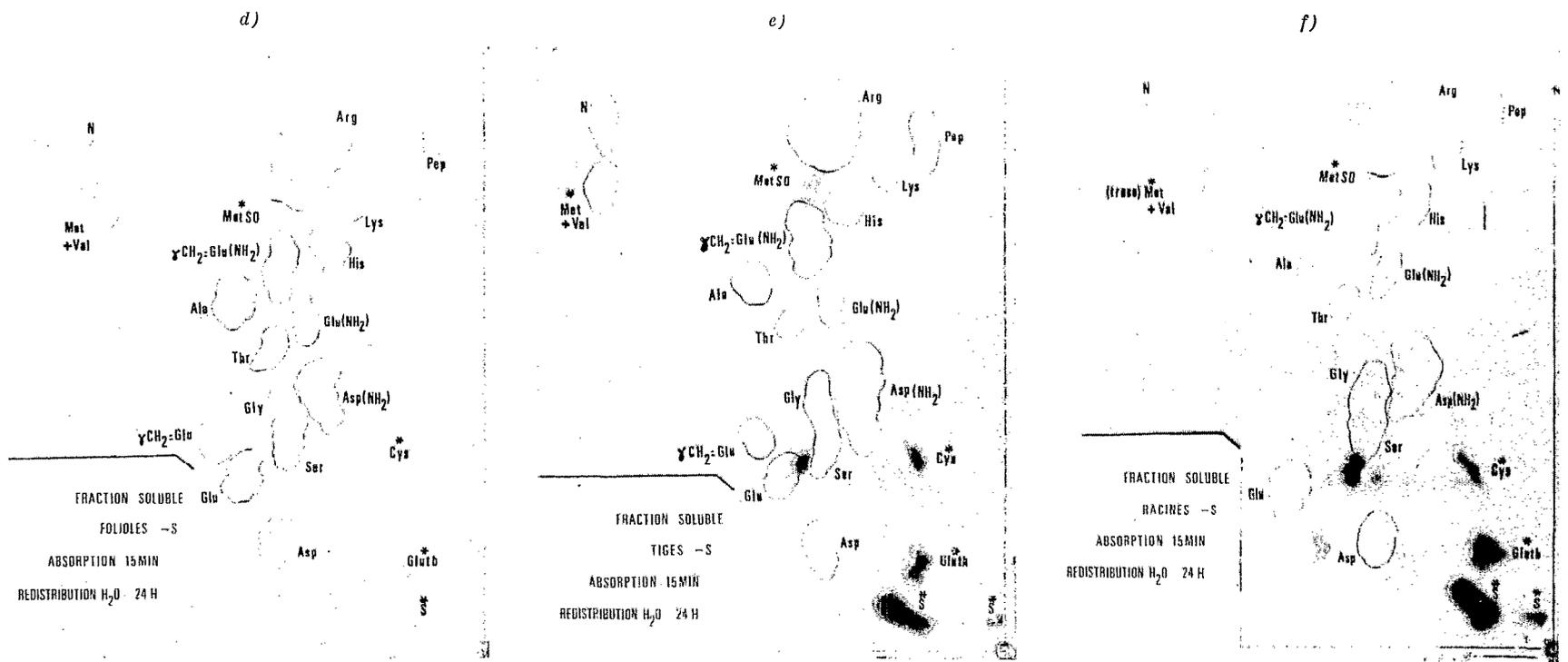
Dans les organes des plantes carencées en soufre, la métabolisation du $^{35}\text{SO}_4^-$ absorbé est beaucoup plus intense. Sur les radiochromatogrammes de la fraction soluble (fig. 18 d, e, f) on trouve en plus de la forme inorganique, toute une série de composés marqués au ^{35}S , dont la cystéine-cystine, la méthionine (libre et sous forme de sulfoxyde) et le glutathion ainsi que de nombreux composés non identifiés.

Dans les folioles (tableau XX) la radioactivité au niveau du soufre inorganique ne constitue que 16 % de la radioactivité totale de la fraction soluble. Ce pourcentage se montre plus élevé dans les organes de transport (tiges + pétioles) et dans les racines où il se situe aux environs de 40 %.

Le glutathion est le principal composé radioactif soluble des folioles : il représente 30 % du ^{35}S de la fraction soluble.

Dans les tiges + pétioles et les racines, la proportion du traceur incorporé dans le glutathion est plus faible (respectivement 9 et 13 %) ; par contre une quantité plus importante de radiosoufre se trouve au niveau des composés non identifiés.

Un fait est à noter en ce qui concerne la répartition du ^{35}S entre la cystéine-cystine et la méthionine. Alors que dans les folioles et les racines le traceur est reparti d'une manière à peu près égale entre ces deux acides aminés, dans les tiges la radioactivité au niveau de la cystéine-cystine est nettement supérieure à celle incorporée dans la méthionine.



* Composés radioactifs identifiés : S = soufre inorganique ; Cys = cystéine-cystine ; Mét = méthionine ; MétSO = méthionine-sulfoxyde ; Gluth = glutathion.

Fig. 18 (suite). — Autoradiochromatogrammes de la fraction soluble.

TABLEAU XX
RADIOACTIVITÉ DES DIVERS COMPOSÉS SOUFRÉS SOLUBLES

| ORGANES VÉGÉTAUX | COMPOSÉS SOUFRÉS | RADIOACTIVITÉ | | | |
|-------------------------------------|---------------------|---------------------|------|--|-----|
| | | en i.p.m. par tache | | en % de radioactivité totale des composés solubles | |
| | | +S | -S | +S | -S |
| Folioles | S inorganique..... | 353 | 64 | 92 | 16 |
| | Gluth..... | 32 | 122 | 8 | 30 |
| | Cys..... | — | 60 | — | 15 |
| | MétSO..... | — | 68 | — | 17 |
| | X*..... | — | 92 | — | 22 |
| | TOTAL..... | 385 | 406 | 100 | 100 |
| Tige principale + pétioles | S inorganique..... | 579 | 1611 | 95 | 39 |
| | Gluth..... | 33 | 379 | 5 | 9 |
| | Cys..... | — | 662 | — | 16 |
| | MétSO..... | — | 227 | — | 5 |
| | Mét..... | — | 191 | — | 5 |
| | Mét+MétSO..... | — | 418 | — | 10 |
| | X*..... | — | 1083 | — | 26 |
| | TOTAL..... | 612 | 4153 | 100 | 100 |
| Racines | S inorganique..... | 2155 | 2335 | 96 | 44 |
| | Gluth..... | 35 | 684 | 2 | 13 |
| | Cys..... | — | 342 | — | 6 |
| | MétSO..... | — | 146 | — | 3 |
| | Mét..... | — | 218 | — | 4 |
| | Mét+MétSO..... | — | 364 | — | 7 |
| | X*..... | 58 | 1632 | 2 | 30 |
| | TOTAL..... | 2248 | 5357 | 100 | 100 |

* Composés non identifiés.

β) Acides aminés protéiques marqués au ^{35}S

Plantes témoins.

Dans la partie aérienne la radioactivité au niveau des acides aminés protéiques (fig. 19 a, b) se révèle très faible, surtout dans les folioles où seul l'acide cystéique apparaît à peine marqué au ^{35}S ; dans les tiges+pétioles on trouve des traces du ^{35}S tant dans la cystéine (acide cystéique) que dans la méthionine (sulfoxyde de méthionine).

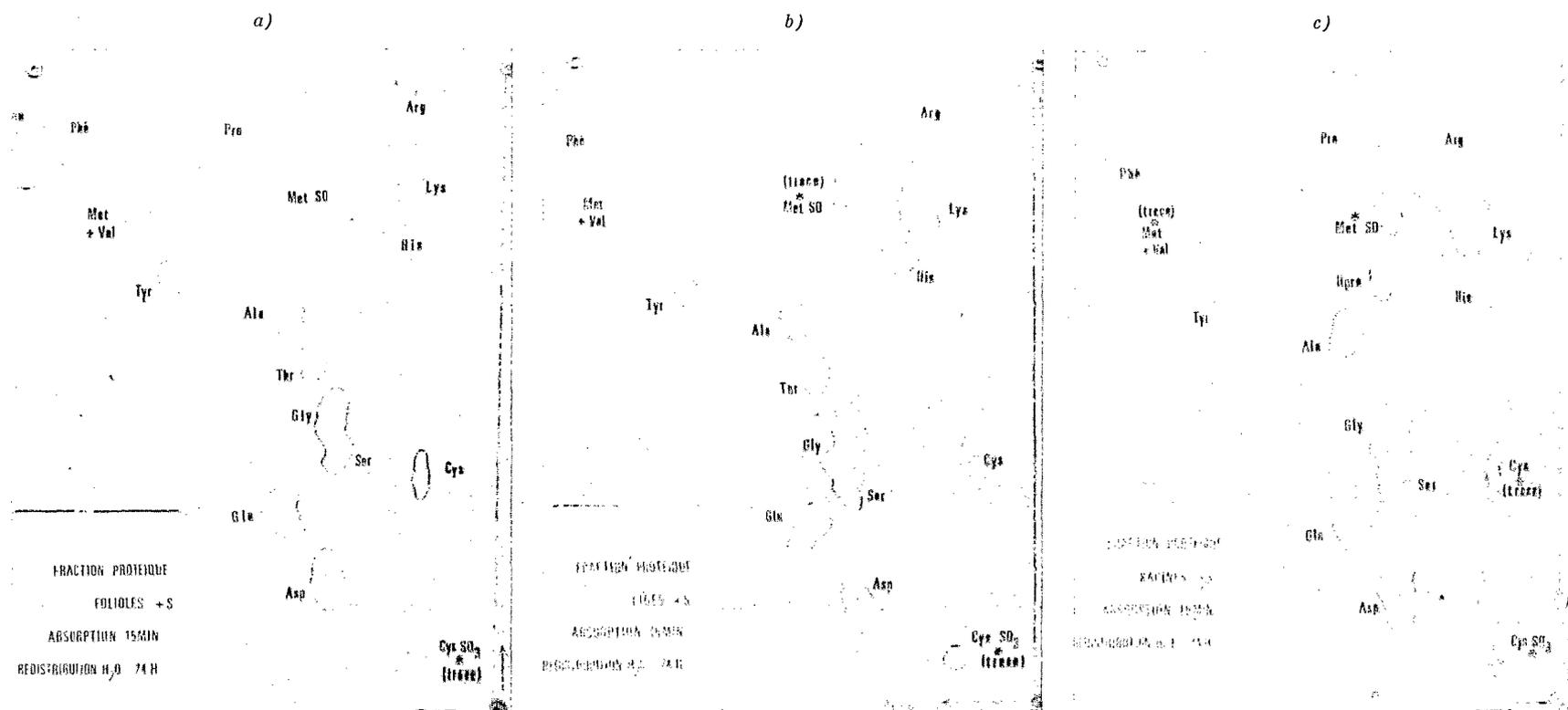
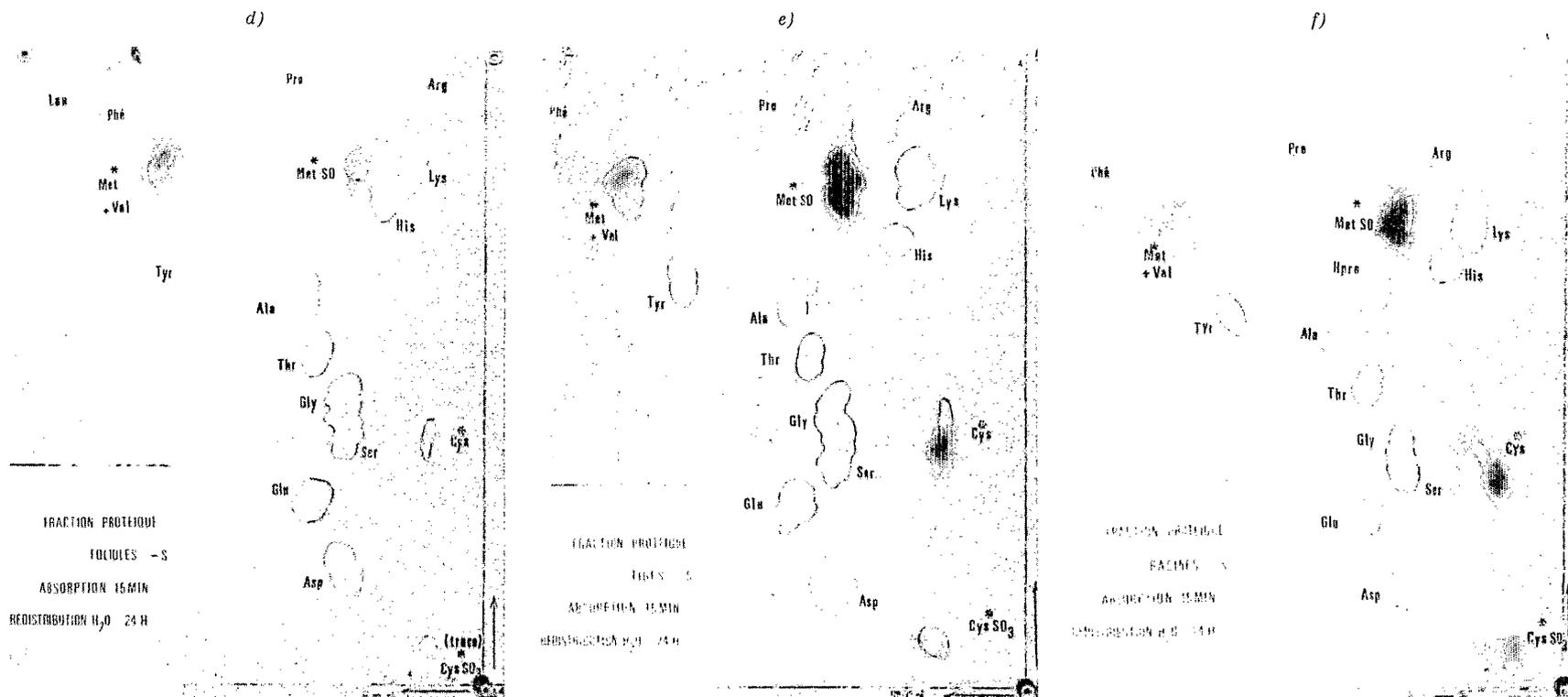


Fig. 19. — Autoradiochromatogrammes de la fraction protéique.



Cys SO₃ = acide cystéique.

Fig. 19 (suite). — Autoradiochromatogrammes de la fraction protéique.

Les deux acides aminés soufrés et leurs dérivés n'apparaissent nettement marqués par le ^{35}S que sur les radiochromatogrammes des racines (fig. 19 c). Comme en témoignent les chiffres du tableau XXI, la radioactivité au niveau de la cystéine est deux fois plus élevée que celle de la méthionine.

TABLEAU XXI
RADIOACTIVITÉ DES ACIDES AMINÉS DES PROTÉINES

| ORGANES VÉGÉTAUX | ACIDES AMINÉS SOUFRÉS | RADIOACTIVITÉ | | | |
|-------------------------------------|--------------------------|---------------------|------|--|-----|
| | | en i.p.m. par tache | | en % de radioactivité totale des protéines (somme Cys+Mét) | |
| | | +S | —S | +S | —S |
| Folioles | Cys et dérivées..... | 21 | 167 | 100 | 19 |
| | Mét et dérivées..... | — | 700 | — | 81 |
| | Somme : Cys+Mét.. | 21 | 867 | 100 | 100 |
| Tige principale + pétioles | Cys et dérivées..... | 36 | 906 | 44 | 19 |
| | Mét et dérivées..... | 45 | 3855 | 56 | 81 |
| | Somme : Cys+Mét.. | 81 | 4761 | 100 | 100 |
| Racines | Cys et dérivées..... | 144 | 1270 | 67 | 40 |
| | Mét et dérivées..... | 72 | 1902 | 33 | 60 |
| | Somme : Cys+Mét.. | 216 | 3172 | 100 | 100 |

Plantes carencées en soufre.

L'incorporation intense du ^{35}S dans les protéines se traduit par un fort marquage des taches correspondant à la cystéine et à la méthionine sur les radiochromatogrammes de la fraction insoluble des organes —S (fig. 19 d, e, f), plus particulièrement sur ceux des tiges+pétioles et des racines. A ce propos, rappelons que l'on a déposé sur les chromatogrammes des quantités d'hydrolysats du résidu insoluble calculées par rapport à l'azote protéique — 20 μg d'azote protéique dont la teneur a été déterminée préalablement.

Ce qui frappe à l'examen des radiochromatogrammes et des chiffres du tableau XXI c'est la répartition de la radioactivité entre les deux acides aminés soufrés, laquelle se révèle être très inégale, surtout au niveau des organes chlorophylliens ; la majeure partie du traceur se trouve incorporée dans la méthionine : 4/5 dans les folioles et les tiges+pétioles et 3/5 dans les racines.

C. — DISCUSSION ET CONCLUSIONS

1. Arachide au stade de 3 feuilles.

Les jeunes plantules d'arachide cultivées sur H_2O sont capables de métaboliser rapidement le radiosulfate.

L'incorporation du ^{35}S dans les molécules organiques se montre particulièrement rapide dans les racines.

Déjà après 15 minutes de contact radiculaire avec la solution de $^{35}\text{SO}_4^{--}$, la radioactivité y apparaît au niveau de deux acides aminés soufrés libres, la cystéine-cystine et la méthionine, du glutathion et de quelques autres composés solubles non identifiés, ainsi que dans les protéines, au niveau de la cystéine-cystine. La méthionine protéique ne devient radioactive, qu'après 30 minutes de contact.

Dans les folioles, l'incorporation du ^{35}S dans les composés solubles s'avère plus lente. Ceci peut être expliqué par la nécessité du transport préalable du radiosulfate absorbé par les racines vers la partie aérienne de la plante. Seul le ^{35}S inorganique est décelable au niveau des folioles après 15 minutes de contact avec la solution radioactive.

Ceci corroborerait les résultats des auteurs précédemment cités [231] [226] [246], selon lesquels le soufre est transporté à partir des racines vers le sommet de la plante exclusivement sous forme de sulfate.

Le traceur ne s'incorpore dans les molécules organiques des folioles qu'après 30 minutes de contact en marquant la cystéine-cystine et la méthionine, libres et protéiques, le glutathion et un composé soluble non identifié.

Les résultats obtenus montrent que, tant dans les racines que dans les folioles, quoique après un temps de contact différent, la radioactivité apparaît à la fois dans toute une série de composés organiques. Il est donc difficile d'en déduire quel est le premier terme d'incorporation du $^{35}\text{SO}_4^{--}$ dans les molécules organiques.

Cependant le fait est que dans les racines, après 15 minutes de contact, on trouve non seulement la cystéine-cystine radioactive libre, mais aussi liée dans le glutathion et dans les protéines, alors que la méthionine radioactive n'apparaît que sous forme libre. On peut en déduire que c'est la cystéine-cystine qui est un des premiers composés organiques auxquels s'incorpore le ^{35}S minéral et que la méthionine radioactive n'est formée que plus tard. D'autant plus que la radioactivité due à la cystéine-cystine libre et protéique et du glutathion pris ensemble se montre plus de 20 fois supérieure à la radioactivité localisée dans la méthionine.

Cette hypothèse s'accorderait bien avec les opinions d'un certain nombre d'auteurs [209] [208] [108] [269] [257] [267] [89] [265] [218] [216] selon lesquels la cystéine pourrait être un précurseur de la méthionine.

L'incorporation plus tardive du traceur dans la méthionine pourrait également expliquer la variation, en fonction du temps de contact avec le radiosulfate, de la proportion entre la cystine et la méthionine au niveau des protéines. Nos résultats ont, en effet, démontré la prédominance très nette du ^{35}S localisé au niveau de la cystéine protéique au début de l'absorption, après un contact bref, et l'accroissement progressif de la proportion de la méthionine protéique radioactive à mesure que l'on prolongeait le temps de contact avec le $^{35}\text{SO}_4^{--}$.

Il nous paraît important de souligner que le glutathion apparaît comme le principal composé organique radioactif de la fraction soluble dans tous les organes végétaux. Sa proportion se montre particulièrement élevée dans les folioles. Ceci met en évidence l'importance de ce tripeptide dans le processus de la métabolisation du soufre chez l'arachide.

Il est à noter que le glutathion a été isolé à partir de nombreuses espèces végétales entre autres à partir de l'arachide par REEVES et GUTHRIE [192].

Ces toutes dernières années, l'attention a été portée sur le glutathion ainsi que sur d'autres γ -glutamyl-peptides [96] [58] en rapport avec la métabolisation du radiosulfate chez les plantes supérieures.

En ce qui concerne les taches radioactives non identifiées, notons que nos essais ont démontré qu'elles ne correspondent ni à la taurine, ni à l'homocystéine, ni à la S-méthyl-cystéine. Une incertitude subsiste quant à la présence possible de traces d'acide cystéine-sulfinique. Ce point demande à être confirmé.

2. Arachide carencée et non carencée en soufre.

La métabolisation du radiosulfate absorbé par les plantes intactes d'arachide ainsi que son incorporation dans les protéines restent en rapport étroit avec le niveau de leur alimentation antérieure en soufre non radioactif.

Ces processus sont nettement plus intenses chez les plantes déficientes en cet élément, chez lesquelles le ^{35}S constitue la source quasi unique de soufre disponible. Au bout de 24 heures de la redistribution qui suit le contact de 15 minutes avec le $^{35}\text{SO}_4^-$, la presque totalité du traceur absorbé par les plantes —S se trouve être transformée en composés organiques solubles et protéiques. L'incorporation du ^{35}S dans les protéines est très intense — dans tous les organes —S, environ 90 % du traceur est fixé dans les protéines.

Chez les plantes témoins, qui ont le sulfate non radioactif du milieu nutritif à leur disposition pendant toute la période précédant le contact avec le traceur, et qui ont pu, de ce fait, accomplir normalement tous les processus métaboliques, l'utilisation du radiosulfate est beaucoup plus lente et le degré de sa transformation en composés organiques beaucoup plus faible. Après le même laps de temps (24 heures) une partie importante du traceur se trouve toujours sous forme inorganique. La plus forte proportion du ^{35}S protéique est observée au niveau des folioles (plus de la moitié du traceur absorbé par ces organes) et la proportion la plus faible dans les tiges + pétioles (1/3 seulement).

Dans la fraction soluble des organes +S, le traceur se trouve presque exclusivement sous forme de sulfate. Le glutathion est le seul composé organique identifié dans lequel on décèle des traces de radioactivité. Dans les organes —S, par contre, le ^{35}S est incorporé dans toute une série de composés solubles identifiés (dont la cystéine-cystine, la méthionine et le glutathion) et non identifiés. Le fait qu'ici également une quantité relativement importante de la radioactivité est localisée au niveau du glutathion (surtout dans les folioles) indique, une fois de plus, que ce tripeptide joue un rôle particulier dans le métabolisme du soufre.

Sur ce point nos résultats concernant l'arachide corroborent ceux obtenus par d'autres auteurs, notamment par TOKUNAGA avec le riz [241], WEIGL et ZIEGLER avec les feuilles d'épinard [265], WILLENBRINK avec les feuilles et les racines de *Solanum*

lycopersicum [267], ELLIS avec les explants de betteraves [89] et PATE [182] avec l'exsudat des racines de *Pisum arvense* L. Ces travaux signalent l'incorporation du ^{35}S dans le glutathion.

Dans la fraction protéique des organes $-\text{S}$, où une forte proportion du traceur a été incorporée, la radioactivité au niveau de la méthionine est très nettement supérieure à celle de la cystéine. Une tendance plutôt contraire est observée dans les organes $+\text{S}$ (folioles et racines), où l'incorporation du ^{35}S est très faible.

Ceci confirme les résultats obtenus avec les jeunes plantules cultivées sur H_2O , d'après lesquels l'incorporation du ^{35}S dans les protéines débute par la cystéine ; ce n'est que par la suite, à mesure que le processus se poursuit, que la méthionine devient de plus en plus radioactive et prédominante dans les protéines.

STEWART et coll. [222], lors de leur étude sur la luzerne, ont également constaté que dans la fraction protéique la méthionine radioactive prédomine sur la cystine.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

La présentation adoptée tout au long de cette étude nous a conduit à discuter les résultats obtenus au fur et à mesure de leur exposition. A la fin de chaque chapitre figurent les conclusions que les données acquises nous ont permis de dégager.

Nous ne rappellerons donc ici que l'essentiel des faits, en soulignant certains problèmes qu'ils soulèvent.

1^o RÉACTION A LA CARENCE

Il est bien établi que le manque de soufre se répercute sur la croissance et le développement des végétaux. Toutefois son effet est plus ou moins prononcé selon l'espèce.

L'arachide réagit très rapidement et d'une manière particulièrement sensible à la carence en soufre. Les premiers symptômes, jaunissement des feuilles des étages supérieurs, se manifestent tôt, au stade de 5-6 feuilles. Ils sont suivis d'un ralentissement notable de la croissance végétative et d'un retard dans la floraison et la fructification. L'aspect morphologique de la plante change, en particulier en ce qui concerne la pigmentation, la forme des feuilles, la texture des tiges et le rapport partie aérienne/racines. La croissance dimensionnelle et pondérale des plantes —S se trouve fortement réduite par rapport aux témoins. La diminution de la matière sèche produite atteint, à la récolte, 93 %. L'effet dépressif est le plus marqué pour les graines, dont le nombre, la taille et le poids sont particulièrement réduits. Ceci met en évidence l'aspect pratique du problème : l'importance d'une alimentation suffisante en soufre pour la production des gousses.

2^o UTILISATION DES RÉSERVES COTYLÉDONAIRES

Sur le plan physiologique, un point mérite d'être évoqué, sans qu'on puisse toutefois donner, à l'heure actuelle, une interprétation valable du phénomène observé. Il apparaît que la dégradation et l'utilisation par les plantes carencées des réserves soufrées contenues dans les cotylédons n'est, malgré leurs grands besoins, ni plus rapide ni plus complète que chez les témoins. De toute évidence le soufre en provenance des cotylédons ne peut pas se substituer à celui du milieu extérieur.

C'est probablement une des raisons de l'apparition aussi rapide, chez l'arachide, plante à réserves très importantes, des symptômes de carence.

A ce propos il est intéressant de noter que chez une autre légumineuse, le soja [84],

la réaction à la carence en soufre était très difficile à provoquer et ne se manifestait que très tardivement.

La réponse particulièrement nette de l'arachide à la carence la distingue, d'ailleurs, de la plupart des espèces qui ont fait l'objet d'études analogues, telles, p. ex. que la tomate [176] [88], la moutarde noire [87], le tournesol [85], le trèfle blanc [67], la menthe [73] ou le riz [243]; le cotonnier [95] [94] est, à notre connaissance, la seule plante qui s'est montrée encore plus sensible à la déficience en soufre que l'arachide.

Il faut en conclure que la place qu'occupe le soufre dans la nutrition de l'arachide est de tout premier ordre et ses besoins en cet élément très importants.

3° UTILISATION DU SOUFRE PAR LES PARTIES AÉRIENNES, ACCUMULATION DU SO_4^- DANS LES RACINES, RÔLE RÉGULATEUR DE L'HYPOCOTYLE

L'absorption du soufre par l'arachide normalement alimentée en cet élément se poursuit tout au long du cycle évolutif. Elle est cependant la plus intense aux jeunes stades de la croissance, avant la floraison, alors que l'activité métabolique des plantes est la plus grande. C'est à cette époque que le taux du soufre dans les organes chlorophylliens atteint sa valeur maximum.

A tous les stades du développement, la majeure partie du soufre de la plante se trouve dans les parties aériennes. Les folioles en contiennent les quantités les plus importantes. Le soufre protéique insoluble constitue la forme prépondérante de leur contingent soufré, alors que celui des organes de transport, tiges et pétioles, est nettement dominé par les composés solubles.

Les racines et les hypocotyles se distinguent des autres organes par leurs teneurs particulièrement élevées en soufre minéral.

On peut en déduire qu'il y a, chez les plantes ayant à leur disposition du soufre en abondance, absorption de grandes quantités de soufre minéral du milieu, dont une partie seulement se trouve être entraînée dans le transport vers les parties aériennes et dans les processus métaboliques actifs. L'autre partie est retenue sous forme de sulfate par les racines et ne dépasse pas le niveau des hypocotyles dont le rôle régulateur dans la distribution se manifeste à cette occasion.

La capacité des racines d'accumuler de grandes quantités de sulfate paraît être propre à l'arachide et reste vraisemblablement en rapport avec la physiologie spécifique de cette plante. Selon ERGLE et EATON [95], la mise en réserve du soufre chez le cotonnier a lieu dans les feuilles dont le taux en sulfate se montre particulièrement élevé.

4° MOBILISATION DU SOUFRE POUR LA FORMATION DES ORGANES RÉPRODUCTEURS

Au moment de la fructification de l'arachide, une fraction importante de soufre est mobilisée pour la formation des gousses et des graines. Il est à noter que c'est dans les graines que l'on rencontre la proportion la plus élevée du soufre protéique.

5° LA CARENCE EN SOUFRE ET LA PROTÉOGENÈSE

L'absence du soufre dans le milieu nutritif se répercute rapidement sur son taux dans la plante. La carence entraîne non seulement un abaissement très sensible des

teneurs en soufre de tous les organes végétaux, mais aussi un remaniement profond de leur contingent soufré. Contrairement à ce qui a été observé pour les plantes témoins, c'est la forme protéique qui prédomine très nettement dans tous les organes des plantes carencées. La proportion du soufre organique, soluble + protéique, y est particulièrement élevée.

Autrement dit l'utilisation du soufre minéral dans la formation des combinaisons organiques et dans la synthèse des protéines est beaucoup plus complète en cas de carence en soufre que dans les conditions d'une alimentation abondante en cet élément.

Cette constatation trouve par ailleurs une confirmation dans les résultats de nos travaux réalisés à l'aide du ^{35}S . Nous avons pu constater que le $^{35}\text{SO}_4^{--}$ absorbé par les plantes carencées est rapidement et presque complètement transformé en composés organiques et incorporé dans les protéines, alors que le taux de son utilisation par les plantes témoins est très faible.

La conclusion qui s'en dégage est que le mécanisme même de la protéosynthèse n'est pas bloqué par la carence en soufre.

Il est cependant évident que si le soufre et, par là même, les acides aminés soufrés constituants essentiels des protéines, font défaut, la protéogénèse ne peut pas avoir lieu normalement. C'est un fait bien établi que la déficience en soufre entraîne une baisse sensible du taux des protéines, baisse qui a été également constatée chez l'arachide au cours de l'étude du métabolisme azoté [115].

D'autre part il est généralement admis, encore qu'avec quelques restrictions, que la composition des protéines pour une espèce donnée est constante, sa synthèse étant commandée par le matériel génétique des cellules.

Or nous avons pu constater que les protéines de différents organes des plantes carencées contiennent moins de composés soufrés que celles des organes correspondants des témoins.

Il faut cependant préciser que nous n'avons pas procédé au fractionnement des protéines et qu'il s'agit des protéines totales insolubles.

Par conséquent il n'est pas possible de dire si la carence en soufre a entraîné une modification de la composition proprement dite des protéines ou, seulement, une variation des proportions des différentes fractions protéiques au profit des fractions moins riches en soufre.

Une étude plus approfondie, impliquant l'isolement et la purification des différentes fractions protéiques, pourrait seule apporter la réponse à cette question.

Une telle étude s'impose d'autant plus que les modifications entraînées par la carence ne se limitent pas aux composés soufrés mais s'étendent aussi à l'arginine [115].

Il convient de souligner, à propos de l'incidence possible du manque du soufre sur la composition des protéines, que les données de la littérature sont souvent difficilement conciliables et même, parfois, contradictoires.

Citons quelques exemples qui mettent cependant en évidence une telle incidence.

D'après les résultats de YOSHINO et McCALLA [275] concernant les protéines de réserve, la déficience en soufre se répercute sur la qualité du gluten de blé ; sa teneur en composés soufrés, tant en groupes —SH qu'en groupes —SS— se trouve significativement diminuée.

L'incidence de la carence est plus souvent observée au niveau des protéines constitutives.

ERGLE et EATON [95] constatent que, chez le cotonnier, la teneur en soufre des protéines des tiges diminue très sensiblement sous l'effet de la déficience, alors que celle des protéines des feuilles, au contraire, augmente ; cette dernière constatation étant en contradiction avec nos résultats sur l'arachide. Le pourcentage accru du soufre dans les protéines foliaires du cotonnier —S indique, selon les auteurs, qu'une fraction inhabituellement importante du soufre protéique est localisée dans les chloroplastes. WILLENBRINK [268] cependant, comparant les fractions chloroplastiques et cytoplasmiques des feuilles de *Solanum lycopersicum*, constate que la carence modifie peu le rapport S protéique/N protéique dans les chloroplastes, tout en provoquant une baisse très nette de la teneur en soufre des protéines cytoplasmiques. Il en résulte que les protéines totales des feuilles —S deviennent moins riches en soufre.

KYLIN [142] observe une augmentation du rapport N protéique/S protéique dans les parties aériennes des plantes de blé, à mesure que la carence en soufre se prolonge. Il en conclut qu'il y existe au moins deux types différents de protéines, l'une riche et l'autre pauvre en soufre. En cas de carence, la protéine riche en soufre est dégradée, alors que la synthèse de la protéine « pauvre » se poursuit jusqu'à un certain point.

6° LA PROTÉOLYSE ET LE RENOUVELLEMENT (« TURN-OVER ») DES COMPOSÉS SOUFRÉS

Ce qui précède pose le problème, très controversé, de l'existence, dans les conditions de la carence en soufre, d'une hydrolyse des protéines et d'une réutilisation du soufre. Le soufre provenant de la dégradation des molécules constitutives des organes âgés serait transporté vers les organes jeunes et réutilisé pour la synthèse des nouvelles protéines.

Bien qu'il semble logique qu'en cas de pénurie en soufre de tels processus aient lieu, les preuves formelles de leur existence font en général défaut.

Les expériences de NIGHTINGALE [176] et de EATON [84] [85] [87] [88] ne sont pas concluantes à cet égard.

De même, ERGLE n'a pas pu mettre en évidence la protéolyse chez le cotonnier déficient en soufre [94], alors qu'elle était très nette dans le cas d'une déficience en azote [93].

Nos expériences avec l'arachide et le cotonnier semblent cependant plaider en faveur de l'existence d'une protéolyse dans le cas de la carence en soufre également.

Cette conclusion peut être tirée de deux faits. D'une part, nous avons démontré, sur l'arachide, que les plantes carencées utilisent très rapidement et très complètement le soufre minéral pour la fabrication des protéines, le soufre protéique constituant la forme prépondérante du contingent soufré de tous les organes —S. D'autre part, l'étude de la distribution et de l'accumulation du ³⁵S au cours de la croissance du cotonnier a permis de constater que, chez les plantes —S, un important transfert du ³⁵S a lieu depuis les organes plus âgés, lesquels existaient déjà lors du contact avec le radio-sulfate, vers les feuilles plus jeunes qui se sont formées après ce contact.

Ce transport ne peut se produire que s'il est précédé par une libération du traceur fixé initialement dans les protéines des organes âgés.

Les constatations que nous avons faites sur le cotonnier ont été confirmées au cours d'une étude analogue, réalisée dans notre laboratoire sur l'arachide [59]. Chez l'arachide aussi, en cas de carence, les organes formés après le contact avec le traceur présentaient une forte radioactivité, indiquant une participation importante, à leur édification, du ³⁵S en provenance des organes plus âgés.

Par ailleurs, les expériences avec l'induction et la correction de la déficience en soufre chez l'arachide [115] apportent un autre argument en faveur de la protéolyse. Celle-ci, bien qu'étant un processus plus lent que la protéogénèse, est nettement observable lors de l'induction de la carence.

7° LES PREMIERS PRODUITS RÉSULTANT DE LA RÉDUCTION DU SULFATE

En ce qui concerne la forme sous laquelle le soufre minéral s'incorpore dans les protéines et, d'une façon plus générale, dans les composés organiques, nos études avec le $^{35}\text{SO}_4^-$ permettent de supposer que le premier terme est bien la cystéine.

En effet, si dans les racines, déjà après 15 minutes de contact avec le $^{35}\text{SO}_4^-$, on a pu observer de la radioactivité dans la cystéine protéique, la méthionine protéique ne devient radioactive qu'après 30 minutes de contact.

Dans la fraction soluble des racines une durée de contact de 15 minutes s'avère trop longue pour qu'on puisse déterminer le premier terme organique d'incorporation. Après ce laps de temps le ^{35}S se trouve déjà dans toute une série de composés organiques, comme la cystéine-cystine, la méthionine, le glutathion.

Toutefois, du point de vue quantitatif, même après cette courte durée de contact, la radioactivité due à la cystéine libre et protéique ainsi qu'au glutathion se trouve être dans son ensemble, 20 fois supérieure à celle localisée dans la méthionine.

Ceci semble plaider en faveur de l'hypothèse suivant laquelle la cystéine serait dans la plante un précurseur de la méthionine [269] [89] [257] [267] [218] [216] [265].

Quant au glutathion, rappelons qu'il est le principal composé radioactif organique de la fraction soluble dans tous les organes végétaux. Sa proportion est particulièrement élevée dans les folioles. Ce tripeptide paraît donc jouer un rôle très important dans le processus de métabolisation du soufre chez l'arachide.

8° LA MIGRATION DU SOUFRE ABSORBÉ

En ce qui concerne le mouvement et la localisation du soufre dans la plante nos études avec le radiosulfate nous permettent de les schématiser de la manière suivante :

— tout au début de l'absorption, une partie du traceur migre très rapidement et directement vers la feuille du sommet ;

— ensuite, une autre partie est distribuée latéralement et marque les feuilles des autres étages ;

— plus le contact avec le traceur est long, plus il y a tendance au marquage des feuilles les plus jeunes, où le ^{35}S est intensément utilisé ;

— il existe aussi cependant une spécificité de localisation du soufre selon l'espèce considérée, comme p. ex. la mise en réserve du traceur dans les feuilles cotylédonaire chez le cotonnier ou la localisation préférentielle du ^{35}S dans les 4^o et 5^o feuilles, en plus de la feuille sommitale, chez l'arachide ;

— enfin nous avons pu dégager un certain nombre de différences dans le comportement des plantes +S et -S vis-à-vis du traceur. En particulier, au cours d'une redistribution du ^{35}S de longue durée, une partie du traceur fixé dans les protéines des plantes -S se déplace, après hydrolyse, depuis les racines et les feuilles âgées vers les plus jeunes feuilles, pour y être réutilisé. Dans les cas des plantes +S c'est la fraction de ^{35}S circulant librement dans le végétal qui se porte vers les jeunes organes en formation.

9° L'EXISTENCE D'UN MÉCANISME DE RÉGULATION DE L'ABSORPTION DE L'ION SO_4^-

Il y a un point sur lequel nous insistons plus particulièrement, à savoir que pour une durée égale de contact, l'absorption du $^{35}\text{SO}_4^-$ par les plantes carencées est beaucoup plus intense que celle des plantes non carencées.

Ce fait nous amène à admettre l'existence d'un système de régulation de l'absorption du soufre, lequel serait fonction des besoins des plantes en cet élément. La forte teneur en ions SO_4^- , observée dans les racines non carencées, inhiberait ainsi l'absorption des ions externes. Les résultats acquis ne nous permettent pas de proposer une explication définitive à ce sujet, mais des hypothèses de travail peuvent être présentées. Elles impliquent toutes l'existence de systèmes de transport relativement spécifiques vis-à-vis de SO_4^- [92] [147] [90] [91] :

— *a*) l'excès d'ions SO_4^- empêcherait l'absorption par simple effet d'action de masse ; l'absorption de SO_4^- ne serait pas, contrairement à tout ce qui est connu, un processus de transport actif ;

— *b*) les ions SO_4^- internes (ou un métabolite intermédiaire) jouerait le rôle d'effecteur allostérique ; un excès maintiendrait le système de transport sous une forme inhibée ;

— *c*) l'ion SO_4^- pourrait peut-être aussi intervenir comme co-répresseur des gènes commandant la synthèse des systèmes de transport.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] ACCORSI W. R., HAAG H. P., DE MELLO F. A. F., BRASIL SOBRINKO M. O. C. — An. Esc. Agric. Luiz de Queiroz, Bras., 17, 3 (1960).
- [2] ALLAWAY W. H., THOMPSON J. F. — Soil Sci., 101, 240 (1966).
- [3] ALWAY F. G. — J. Amer. Soc. Agron., 32, 913 (1940).
- [4] ANDERSON A. J. — J. Austr. Inst. Agr. Sci., 18, 135 (1952).
- [5] ANDREW C. S., KIPPS E. H., BAIDFORD H. — Austr. J. Agric. Res., 4, 111 (1953).
- [6] ARAKI M. — Nagyo Oyobi Engei., 29, 1447 (1954).
- [7] ARISZ W. H. — Protoplasma, 46, 5 (1956).
- [8] ARNON D. I., STOUT P. R., SIPOS F. — Amer. J. Botany, 27, 791 (1940).
- [9] ASAHI T. — J. Biochem. Tokyo, 48, 772 (1960).
- [10] ASAHI T. — Biochem. Biophys. Acta, 82, 58 (1964).
- [11] ASAHI T., BANDURSKI R. S., WILSON L. G. — J. Biol. Chem., 236, 1930 (1961).
- [12] ASAHI T., MINIMIKAWA T. — J. Biochem. Tokyo, 48, 548 (1960).
- [13] ASHBY W. C., MIKA E. S. — Bot. Gaz., 121, 28 (1959).
- [14] ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS — Official methods of analysis — 10th ed., p. 103, Ed. A.O.A.C., Washington D.C. (1965).
- [15] BAILLEY J. L. — Techniques in protein chemistry — p. 25, Ed. Elsevier Pub. Co., Amsterdam, London, New York (1962).
- [16] BARBIER G. — C. R. Acad. Agric., 23, 699 (1937).
- [17] BEAR F. E., WALLACE A. — New Jers. Exp. Sta. Bul., 748 (1950).
- [18] BEESON K. C. — U. S. Dept. Agr. Misc. Pub., 369, 1 (1941).
- [19] BENSON A. A., DANIEL H., WISER R. — Proc. Nat. Acad. Sci. Wash., 45, 1582 (1959).
- [20] BENTLEY C. F., GAREAU L., RENNER R., McERLOY L. W. — Canad. J. Agric. Sci., 36, 315 (1956).
- [21] BERTRAMSON B. R., FRIED M., TISDALE S. L. — Soil Sci., 70, 27 (1950).
- [22] BERTRAND G., GHITESCU V. — C. R. Acad. Agric., 20, 1052 (1934).
- [23] BERTRAND G., SILBERSTEIN L. — Ann. Sci. Agron., 47, 319 (1930).
- [24] BERTRAND G., SILBERSTEIN L. — Ann. Sci. Agron., 47, 324 (1930).
- [25] BERTRAND G., SILBERSTEIN L. — C. R. Acad. Sc., 201, 1449 (1935).
- [26] BERTRAND G., SILBERSTEIN L. — Ann. Agron., 7, 333 (1937).
- [27] BIDDULPH O. — Kansas Agr. Exp. Sta. Rep., 4, 48 (1953).
- [28] BIDDULPH O. — dans : Analyse des plantes et problèmes des engrais minéraux — p. 7, Colloque Inter. Congr. Bot., 8^o, Paris, Ed. I.R.H.O., Paris (1954).
- [29] BIDDULPH O., BIDDULPH S., CORY R., KOONTZ H. — Plant Physiol., 33, 293 (1958).

- [30] BIDDULPH O., CORY R., BIDDULPH S. — *Plant Physiol.*, 31, 28 (1956).
- [31] BIDDULPH O., MARKLE J. — *Amer. J. Botany*, 31, 65 (1944).
- [32] BISWAS B. B., SEN P. — *Sci. and Culture*, 22, 697 (1957).
- [33] BISWAS B. B., SEN P. — *Indian J. Plant Physiol.*, 2, 1 (1959).
- [34] BLEDSE R. W., BLASER R. E. — *J. Amer. Soc. Agron.*, 39, 146 (1947).
- [35] BLEDSE R. W., HARRIS H. — *Plant Physiol.*, 25, 63 (1950).
- [36] BOISCHOT P., DROUINEAU G. — *C. R. Acad. Agric.*, 24, 336, (1938).
- [37] BOISCHOT P., DROUINEAU G., HERVIAUX J. — *C. R. Acad. Agric.*, 25, 939 (1939).
- [38] BOUMA D. — *Austr. J. Biol. Sci.*, 20, 51 (1967).
- [39] BOUMA D. — *Austr. J. Biol. Sci.*, 20, 613 (1967).
- [40] BRAUD M. — *Cot. Fib. Trop.*, 17, 1 (1962).
- [41] BROUWER R. — *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 16, 241 (1965).
- [42] BRUNEL A. — *Traité pratique de chimie végétale* — t. II, p. 441, Ed. Georges Frères, Tourcoing (1948).
- [43] BRUNEL-CAPELLE G. — *Thèse Doct. Sci. Nat.*, Paris (1955).
- [44] BRUNEL-CAPELLE G., COMMANAY L. — *C. R. Acad. Sc.*, 259, 2288 (1964).
- [45] BRZOWSKA J., HANOWER P. — *Oléagineux*, 19, 663 (1964).
- [46] BRZOWSKA J., HANOWER P. — *Cot. Fib. Trop.*, 20, 311 (1965).
- [47] BRZOWSKA J., HANOWER P. — *Mended. Landbouw. Gent*, 30, 837 (1965).
- [48] BUGAKOVA A. N. — *Dokl. Akad. Nauk S.S.S.R.*, 126, 1362 (1959).
- [49] BUGAKOVA A. N. — *Dokl. Akad. Nauk S.S.S.R.*, 141, 1236 (1961).
- [50] BURKHART L., COLLINS E. R. — *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, 6, 272 (1941).
- [51] BURKHART L., PAGE N. R. — *J. Amer. Soc. Agron.*, 33, 743 (1941).
- [52] BURSTRÖM H. — *Fortschr. Bot.*, 23, 206 (1961).
- [53] BUSSON F., CARBIENER R., LANZA J. — *Méthodes chromatographiques de dosage des acides aminés* — p. 8 et 13, Ed. C.N.R.S. (1960).
- [54] BUTTERS B., CHENERY E. — *Analyst*, 84, 239 (1959).
- [55] CAIRNS R. R., CARSON R. B. — *Canad. J. Plant Sci.*, 41, 709 (1961).
- [56] CANNY M. J. — *Biol. Rev.*, 35, 507 (1960).
- [57] CARLES J., MAGNY J. — *C. R. Acad. Sc.*, 262, 1773 (1966).
- [58] CARNEGIE P. R. — *Biochem. J.*, 89, 459 (1963).
- [59] CAS S. — *Diplôme du C.N.A.M.* — en préparation.
- [60] CHAPMAN H. D., BROWN S. M. — *Hilgardia*, 14, 185 (1941).
- [61] CHARLIERS N., CARPENTIER L. J. — *Bull. Docum. I.S.M.A.*, 19, 1 (1956).
- [62] CHILD R. — *Tea Res. Inst. East Africa Pamphl.*, 14 (1957).
- [63] COÏC Y. — *Bull. Docum. I.S.M.A.*, 29, 1 (1961).
- [64] COÏC Y., FOUCONNEAU G., PION R. — *C. R. Acad. Sc.*, 255, 999 (1962).
- [65] COÏC Y., FOUCONNEAU G., PION R., LESAIN C., GODEFROY S. — *Ann. Physiol. Vég.* 4, 295 (1962).
- [66] COÏC Y., LEFEBVRE J. M. — *C. R. Acad. Agric.*, 46, 436 (1960).
- [67] COLEMAN R. G. — *Austr. J. Biol. Sci.*, 10, 50 (1957).
- [68] COLLIER R., KENNEDY G. Y. — *J. Mar. Biol. Ass. U. K.*, 43, 605 (1963).
- [69] CONRAD J. P. — *Soil Sci.*, 70, 43 (1950).
- [70] CONRAD J. P., HALL H. L., CHAUGULE B. A. — *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, 12, 275 (1948).
- [71] COOPER H. P., MITCHELL J. H. — *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, 2, 374 (1946).
- [72] CRAFTS A. S., CURRIER H. B., STOCKING C. R. — *Water in the physiology of plants* — p. 168, Ed. *Chronica Botanica Co.*, Waltham, Mass. (1949).

- [73] CRANE F. A., STEWARD F. C. — Cornell Univ. Agric. Exp. Sta. Mem. 379, 91 (1962).
- [74] CRESSMAN H. K., DAVIS J. F. — Agron. J., 54, 341 (1962).
- [75] CROCKER W. — J. Amer. Soc. Agron., 15, 129 (1923).
- [76] CROCKER W. — Soil Sci., 60, 149 (1945).
- [77] DAINTY J. — Ann. Rev. Plant Physiol., 13, 379 (1962).
- [78] DEJAEGERE R. — Ann. Physiol. Végét. Univ. Bruxelles, 8, 1 (1963).
- [79] DIJKSHOORN W., LAMPE J. E. M., VAN BURG P. F. J. — Plant and Soil, 13, 227 (1960).
- [80] DOHLMAN C. H. — Arkiv. f. Kemi, 11, 255 (1957).
- [81] DOMAN N. G. — Biokhimija, 22, 715 (1957).
- [82] DRAPER O. J., POLLARD A. L. — Science, 109, 448 (1949).
- [83] DUTT A. K. — Empire J. Exp. Agr., 30, 257 (1962).
- [84] EATON S. V. — Bot. Gaz., 97, 68 (1935).
- [85] EATON S. V. — Bot. Gaz., 102, 536 (1941).
- [86] EATON S. V. — Plant Physiol., 17, 422 (1942).
- [87] EATON S. V. — Bot. Gaz., 104, 306 (1942).
- [88] EATON S. V. — Bot. Gaz., 112, 300 (1951).
- [89] ELLIS R. J. — Phytochemistry, 2, 129 (1963).
- [90] EPSTEIN E. — Ann. Rev. Plant Physiol., 7, 1 (1956).
- [91] EPSTEIN E. — Amer. J. Bot. 47, 393 (1960).
- [92] EPSTEIN E., HAGEN C. F. — Plant Physiol., 27, 457 (1952).
- [93] ERGLE D. R. — Bot. Gaz., 114, 417 (1953).
- [94] ERGLE D. R. — Bot. Gaz., 115, 225 (1954).
- [95] ERGLE D. R., EATON F. M. — Plant Physiol., 26, 639 (1951).
- [96] ETTALA T., VIRTANEN A. I. — Acta Chem. Scand., 16, 2061 (1962).
- [97] FOSSE R., BRUNEL A., THOMAS P. E. — C. R. Acad. Sc., 192, 1615 (1931).
- [98] FRENEY J. R., BARROW N. J., SPENCER K. — Plant and Soil, 17, 295 (1962).
- [99] FRIČ F., KOLEK J. — Biologia (Bratislava), 17, 697 (1962).
- [100] FRIED M. — Soil Sci. Soc. Amer. Proc., 13, 135 (1948).
- [101] FROMAGEOT P., PEREZ-MILAN H. — C. R. Acad. Sc., 243, 1061 (1956).
- [102] FROMAGEOT P., PEREZ-MILAN H. — Biochim. Biophys. Acta, 32, 457 (1959).
- [103] FUJIWARA A., TORII K. — Tohoku J. Agric. Res., 12, 277 (1961).
- [104] GADAL P. — Thèse Doct. Spécialité, Toulouse (1963).
- [105] GILBERT F. A. — Bot. Rev., 17, 671 (1951).
- [106] GOAS M. — Thèse Doct. Sci. Nat., Toulouse (1963).
- [107] GOLA G. — Malpégia, 16, 368 (1902).
- [108] GOODMAN N. S., SCHIFF J. A. — J. Protozool., 11, 120 (1964).
- [109] GREENWOOD M. — Empire J. Exp. Agr., 19, 225 (1951).
- [110] GREENWOOD M. — Intern. Soc. Soil Sci. 5th Congr. (Léopoldville), 3, 214 (1954).
- [111] GUITTON Y. — Diplôme d'Études Sup., Toulouse (1956).
- [112] GUNNARSSON O. — Grundförbättring, 13, 13 (1960).
- [113] HAAS A. R. C. — Soil Sci., 42, 435 (1936).
- [114] HABER A. H., TOLBERT N. E. — Plant Physiol., 34, 376 (1959).
- [115] HANOWER P. — Thèse Doct. Sci. Nat., Paris (1969).
- [116] HANOWER P., BRZOWSKA J. — Agrochimica, 8, 263 (1964).

- [117] HANOWER P., BRZOWSKA J., PRÉVOT P. — C. R. Acad. Sc. 257, 496 (1963).
- [118] HARRIS H. C. — in : Proceedings of the International Conference on the Peaceful Uses of Atomic Energy-vol. 12, p. 203, Ed. United Nations Pub., New York (1956).
- [119] HARRIS H. C., BLEDSOE R. W., CALHOUN P. W. — J. Amer. Soc. Agron., 37, 323 (1945).
- [120] HARRISON B. F., THOMAS M. D., HILL G. R. — Plant Physiol., 19, 245 (1944).
- [121] HARWARD M. E., CHAO T. T., FANG S. C. — Agron. J., 54, 101 (1962).
- [122] HEISERICH E. S. — Z. f. Pflanzenern. D. B., 37, 55 (1935).
- [123] HELLER R. — C. R. Acad. Sc., 241, 234 (1955).
- [124] HEVITTE E. J. — Ann. Rev. Plant Physiol., 2, 25 (1951).
- [125] HEVITTE E. J. — Sand and water culture methods used in study of plant nutrition — p. 189 et 194, Ed. Comm. Agr. Bureau (1952).
- [126] HILDER E. J. — Austr. J. Agric. Res., 5, 39 (1954).
- [127] HILTZ H., KITTLER M., KNAPE G. — Biochem. Z., 332, 151 (1959).
- [128] HOCKENHULL D. J. D. — Biochem. Biophys. Acta., 3, 326 (1949).
- [129] HOMÈS M. V. — Agrochimica, 8, 303 (1964).
- [130] HOROWITZ N. H. — Advances Genet. 3, 33 (1950).
- [131] ISHIMOTO M., FUJIMOTO D. — Proc. Japan Acad., 35, 243 (1959).
- [132] JOHANSSON O. — Ann. Roy. Agr. Coll. Sweden, 25, 57 (1959).
- [133] JONES M. B. — Soil Sci. Soc. Amer. Proc., 26, 482 (1962).
- [134] JORDAN H. V. — U. S. Dep. Agr. Tech. Bull., 1297 (1964).
- [135] JORDAN H. V., BARDSLEY C. E. — Soil Sci. Soc. Amer. Proc., 22, 254 (1958).
- [136] JORDAN H. V., ENSMINGER L. E. — Advances Agron., 10, 407 (1958).
- [137] JORET G., MALTERRE H. — C. R. Acad. Agric., 25, 597 (1939).
- [138] KATES M. — Biochem. Biophys. Res. Comm., 1, 238 (1959).
- [139] KAWASHIMA N., ASAHI T. — J. Biochem. Tokyo, 49, 52 (1961).
- [140] KROBER O. A., HOWELL R. W. — J. Agric. Food Chem., 6, 591 (1958).
- [141] KURSANOV A. L. — Izvest. Akad. Nauk. S.S.S.R. Ser. Biol., 5, 740 (1962).
- [142] KYLIN A. — Physiol. Plantarum, 6, 775 (1953).
- [143] KYLIN A. — Physiol. Plantarum, 13, 366 (1960).
- [144] LAMPEN J. O., ROEPKE R. R., JONES M. J. — Arch. Biochem., 13, 55 (1947).
- [145] LANGSTON R. — Proc. Amer. Soc. Hort. Sci., 68, 370 (1956).
- [146] LATIES G. G. — Ann. Rev. Plant Physiol., 10, 87 (1959).
- [147] LEGGET J. E., EPSTEIN E. — Plant Physiol., 31, 222 (1956).
- [148] LEVY C. — Science, 137, 343 (1962).
- [149] LIVERMAN J. L., RAGLAND J. B. — Plant Physiol., 31, vii (1956).
- [150] LOBB W. R. — Proc. N. Z. Grassl. Ass., 24, 42 (1962).
- [151] LOBB W. R., BENNETTS R. L. — N. Z. J. Agron., 99, 317 (1959).
- [152] LOTT W. L., McCLUNG A. C., MEDCALF J. C. — J.B.E.C. Res. Inst. (N.Y.) Bul., 22 (1960).
- [153] LOUGHMAN B. C. — Agrochimica, 8, 189 (1964).
- [154] LYNCH P. B. — N. Z. Soil News, 4, 79 (1954).
- [155] MARSH R. S. — Bot. Gaz., 75, 400 (1923).
- [156] MARTIN W. E. — Calif. Agr., 12, 10 (1958).
- [157] McCLUNG A. C., FREITAS L. M. M. — Ecology, 40, 315 (1959).

- [158] McCLUNG A. C., FREITAS L. M. M., LOTT W. L. — *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, 29, 221 (1959).
- [159] McCool M. M., JOHNSON A. N. — *Boyce Thompson Inst. Contrib.*, 9, 371 (1938).
- [160] McLEOD C. C. — *N. Z. J. Agron.*, 102, 225 (1961).
- [161] McMURTREY J. E. — *U. S. Dept. Agr. Tech. Bul.*, 340 (1933).
- [162] McMURTHEY J. E. — *U. S. Dept. Agr. Tech. Bul.*, 612 (1938).
- [163] MICA B. — *Albrecht Thear Arch.*, 7, 231 (1963).
- [164] MILLER H. G. — *J. Agr. Res.*, 17, 87 (1919).
- [165] MILLER L. P. — *Boyce Thompson Inst. Contrib.*, 14, 443 (1947).
- [166] MILLET J. — *C. R. Acad. Sc.*, 240, 253 (1955).
- [167] MILLIKAN C. R. — *Austr. J. Sci. Res.*, B 4, 28 (1951).
- [168] MITCHELL J. W., SCHNEIDER I. R., GAUCH H. G. — *Science*, 131, 1863 (1960).
- [169] MITSUI S., KUMAZAWA K., MAESAWA T. — *J. Sci. Soil Tokyo*, 32, 121 (1961).
- [170] MOSOLOV I. N., VOLLEIDT L. P. — *Dokl. Akad. Nauk. S.S.S.R.*, 105, 1045 (1955).
- [171] MOTHES K. — *Planta*, 29, 67 (1939).
- [172] NAKAMURA T., SATO R. — *Nature*, 185, 163 (1960).
- [173] NAVATIO F., BALLIO A., BRANDL E., CHAIN E. B., DENTICE DI ACCADIA F. — *Proc. Inter. Congr. Biochem.*, IVth (Vienna-1958), 15, 134 (1960).
- [174] NELLER J. R. — *Wash. Agr. Exp. Sta. Bul.*, 190, 1 (1925).
- [175] NELSON C. D., KROTKOV G. — *Plant Physiol.*, 37, 27 (1962).
- [176] NIGHTINGALE G. T., SCHERMERHORN L. G., ROBBINS W. R. — *Plant Physiol.*, 7, 565 (1932).
- [177] NYE P. H. — *Empire J. Exp. Agr.*, 22, 101 (1954).
- [178] ØDELIEN M. — *Forsk og Forsøk. Landbr.*, 8, 377 (1957).
- [179] OLLAGNIER M., PRÉVOT P. — *Oléagineux*, 12, 539 (1957).
- [180] PALLAS J. E., CRAFTS A. S. — *Science*, 125, 192 (1957).
- [181] PALMER J. M., LOUGHMAN B. C. — *New Phytologist*, 63, 217 (1964).
- [182] PATE J. S. — *Science*, 149, 547 (1965).
- [183] PETERSON W. H. — *J. Amer. Chem. Soc.*, 36, 1290 (1914).
- [184] POSTAGE J. — *Ann. Rev. Microbiol.*, 13, 505 (1959).
- [185] POWERS W. L. — *Oreg. Agr. Exp. Sta. Bul.*, 199, 5 (1923).
- [186] PRÉVOT P. — *Oléagineux*, 4, 1 (1949).
- [187] PRÉVOT P., OLLAGNIER M. — *Agrochimica*, 8, 210 (1964).
- [188] PUMPHREY F. V., MOORE D. P. — *Agron. J.*, 57, 237 (1965).
- [189] PUMPHREY F. V., MOORE D. P. — *Agron. J.*, 57, 364 (1965).
- [190] RAGLAND J. B., LIVERMAN J. L. — *Arch. Biochem. Biophys.*, 76, 496 (1958).
- [191] RAGOT J. — *Physiol. Vég.*, 1, 273 (1963).
- [192] REEVES W. A., GUTHRIE J. D. — *Arch. Biochem.*, 26, 316 (1950).
- [193] REIMER F. C., TATAR H. V. — *Oreg. Agr. Exp. Sta. Bul.*, 163, 5 (1919).
- [194] RENDIG V. V. — *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, 20, 237 (1956).
- [195] RENDIG V. V., McCOMB E. A. — *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, 23, 377 (1959).
- [196] REY-PAILHADE (DE) J. — *C. R. Acad. Sc. France*, 106 (1888).
- [197] RICE E. L., ROHRBAUGH L. M. — *Bot. Gaz.*, 115, 76 (1953).
- [198] RICHARD L. — *Cot. Fib. Trop.*, 13, 293 (1958).
- [199] RIPPEL A. — *Biochem. Zeits.*, 113, 125 (1921).
- [200] ROBERTS R. B., ABELSON P. H., COWIE D. B., BOLTON E. T., BRITTEN R. J. — *Carnegie Inst. Wash. Publ.*, 607, 318 (1955).

- [201] ROBERTSON R. N. — *Biol. Rev.*, 35, 231 (1960).
- [202] ROGALEV I. E. — *Dokl. Akad. Nauk. S.S.S.R.*, 143, 467 (1962).
- [203] ROSSITTER R. C. — *Austr. J. Agric. Res.*, 3, 7 (1952).
- [204] RUSSEL R. S., BARBER D. A. — *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 11, 127 (1960).
- [205] ROUX J. B., GUTKNECHT J. — *Cot. Fib. Trop.*, 11, 137 (1956).
- [206] SAALBACH E., KESSEN G., JUDEL G. K. — *Z. f. Pflanzenern. D. B.*, 93, 18 (1961).
- [207] SCHIFF J. A. — *Plant Physiol.*, 39, 176 (1964).
- [208] SCHLOSSMAN K., BRUGGEMANN J., LYNEN F. — *Biochem. Z.*, 336, 258 (1962).
- [209] SCHNEIDER J. F., WESTLEY J. — *J. Biol. Chem.*, 238, 3516 (1963).
- [210] SCHRAM E., MOORE S., BIGWOOD E. J. — *Bioch. J.*, 57, 33 (1954).
- [211] SEARS P. D. — *N. Z. J. Sci. Tech.*, 35, 1 (1953).
- [212] SETTERSTROM P. W., ZIMMERMAN P. W., CROCKER W. — *Boyce Thompson Inst. Contrib.*, 9, 179 (1938).
- [213] SHEDD O. M. — *J. Agric. Res.*, 11, 91 (1917).
- [214] SHELDON V. L., BLUE W. G., ALBRECHT W. A. — *Plant and Soil*, 3, 36 (1951).
- [215] SHEPHERD C. J. — *J. Gen. Microbiol.*, 15, 29 (1956).
- [216] SHEVJAKOVA N. I. — *Dokl. Akad. Nauk. S.S.S.R.*, 167, 471 (1966).
- [217] SHIBUYA I., MARUO B., BENSON A. A. — *Plant Physiol.*, 40, 1251 (1965).
- [218] SINHA S. K., COSSINS E. A. — *Nature*, 199, 1109 (1963).
- [219] SPENCER K. — *Austr. J. Agric. Res.*, 10, 500 (1959).
- [220] STEPHENS D. — *Empire J. Exp. Agr.*, 28, 151 (1960).
- [221] STEPHENS C. G., DONALD C. M. — *Advances Agron.*, 10, 167 (1958).
- [222] STEWARD F. C., THOMPSON J. F., MILLAR F. K., THOMAS M. D., HENDRICKS R. H. — *Plant Physiol.*, 26, 123 (1951).
- [223] STOREY H. H., LEACH R. — *Ann. Appl. Biol.*, 20, 23 (1933).
- [224] SUTCLIFFE J. F. — *Biol. Rev.*, 34, 159 (1959).
- [225] TENDILLE C., GERVAIS C., GABORIT T. — *Ann. Physiol. Vég.*, 8, 271 (1966).
- [226] THOMAS M. D. — in : *Handbuch der Pflanzenphysiologie* — vol 9, p. 37, Red. Ruhland W., Ed. Springer-Verlag, Berlin — Göttingen — Heidelberg (1958).
- [227] THOMAS M. D., HENDRICKS H. R., BRYNER L. C., HILL G. R. — *Plant Physiol.*, 19, 227 (1944).
- [228] THOMAS M. D., HENDRICKS R. H., COLLIER T. R., HILL G. R. — *Plant Physiol.*, 18, 345 (1943).
- [229] THOMAS M. D., HENDRICKS R. H., HILL G. R. — *Plant Physiol.*, 19, 212 (1944).
- [230] THOMAS M. D., HENDRICKS R. H., HILL G. R. — *Soil Sci.*, 70, 9 (1950).
- [231] THOMAS M. D., HENDRICKS R. H., HILL G. R. — *Soil Sci.*, 70, 19 (1950).
- [232] THOMAS M. D., HILL G. R. — *Plant Physiol.*, 12, 309 (1937).
- [233] THOMPSON J. F. — *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 18, 59 (1967).
- [234] THOMPSON J. F., MORRIS C. J., GERING R. K. — *Qualitas Plant. Mater. Veget.*, 6, 261 (1960).
- [235] THOMPSON J. F., STEWARD F. C. — *Plant Physiol.*, 26, 421 (1951).
- [236] THOMPSON J. F., ZACHARIUS R. M., STEWARD F. C. — *Plant Physiol.*, 26, 375 (1951).
- [237] TISDALE S. L., DAVIS R. L., KINGSLEY A. F., MERTZ E. R. — *J. Amer. Soc. Agron.*, 42, 221 (1950).
- [238] TOKUNAGA Y. — *J. Sci. Soil Tokyo*, 30, 171 (1959).
- [239] TOKUNAGA Y. — *J. Sci. Soil Tokyo*, 30, 237 (1959).
- [240] TOKUNAGA Y. — *J. Sci. Soil Tokyo*, 31, 189 (1960).

- [241] TOKUNAGA Y. — *J. Sci. Soil Tokyo*, 31, 268 (1960).
[242] TOKUNAGA Y. — *J. Sci. Soil Tokyo*, 31, 327 (1960).
[243] TOKUNAGA Y., TOKUOKA M. — *J. Sci. Soil Tokyo*, 27, 415 (1957).
[244] TOKUNAGA Y., TOKUOKA M. — *J. Sci. Soil Tokyo*, 28, 215 (1957).
[245] TOKUNAGA Y., TOKUOKA M. — *J. Sci. Soil Tokyo*, 28, 397 (1957).
[246] TOLBERT N. E., WIEBE H. — *Plant Physiol.*, 30, 499 (1955).
[247] TOLMAN B., STOKER G. L. — *J. Amer. Soc. Agron.*, 33, 1072 (1941).
[248] TOUZÉ A. — *Diplôme d'Études Sup.*, Toulouse (1956).
[249] TURRELL F. M., WEBER J. R. — *Science*, 122, 119 (1955).
[250] ULRICH A. — *Am. Inst. Biol. Sci. Publ.*, 8, 190 (1961).
[251] ULRICH J. M., LUSE R. A., McLAREN A. D. — *Physiol. Plantarum*, 17, 683 (1964).
[252] VALLÉE M. — *Bull. Soc. Fr. Physiol. Vég.* (à paraître).
[253] VAN KOESTVELD E. E. — *Tijdschr. Diergencesb.*, 80, 525 (1955).
[254] VENEMA K. C. V. — *Potash and Trop. Agric.*, 5, 42 (1962).
[255] VINCENT, SARAZIN, HERVIAUX. — *Ann. Agron.*, 6, 20 (1936).
[256] VIRTANEN A. I. — *Phytochem.*, 4, 207 (1965).
[257] VLASJUK P. A., KOSMATYI E. S., KLIMOVITSKAJA Z. M. — *Tr. Inst. Fiziol. Rast. Agrokhim. Acad. Nauk U.S.S.R.*, 9, 33 (1955).
[258] VLASJUK P. A., KOSMATYI E. S., KLIMOVITSKAJA Z. M. — *Fiziol. Rasten.*, 4, 432 (1957).
[259] WALKER T. W. — *Soil and Fertl.*, 18, 185 (1955).
[260] WALKER T. W. — *Agrochimica*, 9, 1 (1964).
[261] WALKER T. W., ADAMS A. F. R., ORCHISTON H. D. — *N. Z. J. Sci. Tech.*, A 36, 470 (1955).
[262] WALKER T. W., ADAMS A. F. R., ORCHISTON H. D. — *Plant and Soil*, 7, 290 (1956).
[263] WEBB R. A. — *Intern. Soc. Soil Sci.*, 5 Congr. (Léopoldville) 3, 214 (1954).
[264] WEDDING R. T., BLACK M. K. — *Plant Physiol.*, 35, 72 (1960).
[265] WEIGL J., ZIEGLER H. — *Planta*, 58, 435 (1962).
[266] WELCHER F. J. — *Standard methods of chemical analyses* — 6^o éd., vol. 2A, p. 922, Ed. Van Nostrand Co., New York (1963).
[267] WILLENBRINK J. — *Z. Naturforschg.*, 19, 356 (1964).
[268] WILLENBRINK J. — *Z. Pflanzenphysiol.*, 56, 427 (1967).
[269] WILSON L. G. — *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 13, 203 (1962).
[270] WILSON L. G., ASAHI T., BANDURSKI R. S. — *J. Biol. Chem.*, 236, 1822 (1961).
[271] WILSON L. G., BANDURSKI R. S. — *J. Biol. Chem.*, 233, 975 (1958).
[272] WOOD J. G. — *Chronica Botanica*, 7, 1 (1942).
[273] WOOD J. G., BARRIEN B. S. — *New Phytol.*, 38, 125 (1939).
[274] WOOD J. G., BARRIEN B. S. — *New Phytol.*, 38, 265 (1939).
[275] YOSHINO D., McCALLA A. G. — *Canad. J. Biochem.*, 44, 339 (1966).
[276] YOUNGE O. R. — *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, 6, 215 (1941).

IMPRIMERIE A. BONTEMPS

LIMOGES (FRANCE)

Dépôt légal : 3^e trimestre 1971

Les Editions de l'Office de la Recherche Scientifique et Technique Outre-Mer tendent à constituer une documentation scientifique de base sur les zones intertropicales et méditerranéennes et les problèmes que pose le développement des pays qui s'y trouvent.

CAHIERS ORSTOM.

— Séries périodiques :

- **entomologie médicale et parasitologie** : articles relatifs à l'épidémiologie des grandes endémies tropicales transmises par des invertébrés, à la biologie de leurs vecteurs et des parasites, et aux méthodes de lutte.
- **géologie** : études sur les trois thèmes suivants : altération des roches, géologie marine des marges continentales, tectonique de la région andine.
- **hydrobiologie** : études biologiques des eaux à l'intérieur des terres, principalement dans les zones intertropicales.
- **hydrologie** : études, méthodes d'observation et d'exploitation des données concernant les cours d'eau intertropicaux et leurs régimes en Afrique, Madagascar, Amérique du Sud, Nouvelle-Calédonie...
- **océanographie** : études d'océanographie physique et biologique dans la zone intertropicale, dont une importante partie résulte des campagnes des navires océanographiques de l'ORSTOM ou utilisés par lui.
- **pédologie** : articles relatifs aux problèmes soulevés par l'étude des sols des régions intertropicales et méditerranéennes (morphologie, caractérisation physico-chimique et minéralogique, classification, relations entre sols et géomorphologie, problèmes liés aux sels, à l'eau, à l'érosion, à la fertilité des sols) ; résumés de thèses et notes techniques.
- **sciences humaines** : études géographiques, sociologiques, économiques, démographiques et ethnologiques concernant les milieux et les problèmes humains principalement dans les zones intertropicales.

— Séries non périodiques :

- **biologie** : études consacrées à diverses branches de la biologie végétale et animale.
- **géophysique** : données et études concernant la gravimétrie, le magnétisme et la sismologie.

MÉMOIRES ORSTOM : consacrés aux études approfondies (synthèses régionales, thèses...) dans les diverses disciplines scientifiques (44 titres parus).

ANNALES HYDROLOGIQUES D'OUTRE-MER : depuis 1959, deux séries sont consacrées : l'une, aux Etats africains d'expression française et à Madagascar, l'autre aux Territoires et Départements français d'Outre-Mer.

FAUNE TROPICALE : ouvrages concernant l'Afrique du Nord, l'Afrique tropicale, Madagascar, la Réunion et la partie orientale de l'Atlantique tropical (18 titres parus).

INITIATIONS/DOCUMENTATIONS TECHNIQUES : mises au point et synthèses au niveau, soit de l'enseignement supérieur, soit d'une vulgarisation scientifiquement sûre (15 titres parus).

TRAVAUX ET DOCUMENTS DE L'ORSTOM : cette collection, très souple dans ses aspects et ses possibilités de diffusion, a été conçue pour s'adapter à des textes scientifiques ou techniques très divers par l'origine, la nature, la portée dans le temps ou l'espace, ou par leur degré de spécialisation (6 titres parus).

L'HOMME D'OUTRE-MER : exclusivement consacrée aux sciences de l'homme, cette collection est maintenant réservée à des auteurs n'appartenant pas aux structures de l'ORSTOM (13 ouvrages parus).

De nombreuses **CARTES THÉMATIQUES**, accompagnées de **NOTICES**, sont éditées chaque année, intéressant des domaines scientifiques ou des régions géographiques très variées.

BULLETINS ET INDEX BIBLIOGRAPHIQUES : Bulletin analytique d'entomologie médicale et vétérinaire (mensuel) et Index bibliographique de botanique tropicale (trimestriel).

O.R.S.T.O.M.

Direction Générale :
24, rue Bayard, PARIS-8^e

Service Central de Documentation :
70 - 74, route d'Aulnay, 93 - BONDY