

ABSTRACT

Contribution of C and N reserves to regrowth of *Medicago sativa* L. after shoot removal was studied in controlled and field conditions.

Using a ^{15}N and ^{13}C pulse chase experiment in order to label storage compounds of organs remaining after defoliation, it has been shown that 73 and 34% of labelled C and N, respectively, were mobilized in source organs within 30 days. While all ^{15}N from source organs was recovered in the regrowing tissue, ^{13}C was lost mainly as root (61%) or shoot (8%) respired CO_2 and was found to a lesser extent in sink tissues (5%). Isotopic analysis of different chemical fractions of plant tissue suggested that between 58 and 14,5% of shoot C derived from source organs were linked to mobilization of N compounds (and proteins specifically) rather than of those of carbohydrates.

SDS-PAGE analysis of proteins showed the presence of three prominent polypeptides of 15, 19 and 32 kilodaltons representing 28% of total soluble proteins extracted from tap root, the day of cutting. These polypeptides underwent rapid and extensive mobilization between days 0 and 6 of regrowth followed by a progressive re-accumulation. Similar cycle of mobilisation/restoration was observed in alfalfa taproot during regrowth after cutting in controlled and field conditions. These proteins were localized (using immunocytochemistry) principally in parenchyma cells of wood rays, secondary in bark parenchyma, and were accumulated in vacuole as an electron-dense, fibrillar material. These data support the view that these 3 polypeptides may act as vegetative storage proteins (VSP).

At the population level, by using 2 genotypes submitted to 2 harvest frequencies, and by sampling plants at different levels in the canopy, alfalfa plants with contrasting accumulation of N and starch in taproot, were studied. Higher shoots biomass was obtained with populations having high N and starch contents in taproots (genotype and harvest effects). On the opposite, within the alfalfa population (intra-genotypic variation), shoot yield was found to be linearly correlated to soluble proteins and more specifically to VSP contents in taproots, while initial N or starch contents of taproots were not correlated.

Key words : *Medicago sativa* L., Regrowth, ^{15}N and ^{13}C labelling, N and C translocations, Vegetative Storage Protein, Starch, Reserves, Shoot yield.

AVICE Jean-Christophe, 1996. Mobilisation des réserves azotées et carbonées chez *Medicago sativa* L. : étude par marquage ^{15}N et ^{13}C , caractérisation des protéines de réserve du pivot et relations avec le potentiel de repousse après une coupe. Thèse de l'Université de Caen, 143 p.

Résumé : La contribution des réserves azotées et carbonées des organes laissés en place par la coupe (organes sources) à l'élaboration de la biomasse aérienne (organes puits) a été étudiée chez *Medicago sativa* L., à l'échelle de la plante isolée (conditions contrôlées) ou du peuplement (conditions de plein champ).

Grâce à un marquage de chasse $^{15}\text{NO}_3^{15}\text{NH}_4$ et $^{13}\text{CO}_2$, il a été montré que 73 et 34% respectivement du marquage initial en ^{13}C et ^{15}N des organes sources sont mobilisés au cours de 30 jours de repousse. Alors que l'essentiel du ^{13}C est perdu par respiration racinaire (61%) ou foliaire (8%), une faible proportion est retrouvée dans les feuilles et les tiges en repousse (5%). A l'inverse, l'ensemble du ^{15}N mobilisé est retrouvé dans les organes puits. L'analyse isotopique de différentes fractions biochimiques suggère qu'entre 58 et 14,5% du ^{13}C retrouvé dans les organes néoformés proviennent directement de la mobilisation des réserves azotées (et plus spécialement de la fraction protéique).

L'analyse des profils électrophorétiques (SDS-PAGE) des protéines hydrosolubles du pivot révèle la présence de 3 polypeptides de 15, 19 et 32 kilodaltons représentant 28% du contenu protéique hydrosoluble initial (jour de coupe). Ces polypeptides subissent une mobilisation rapide et importante entre J=0 et J=6 suivie d'une accumulation. Le même phénomène est observé chez les plantes isolées ou en peuplement. Ces protéines sont localisées (par immunocytochimie) principalement dans le parenchyme ligneux, secondairement dans le parenchyme libérien, et s'accumulent sous forme fibrillaire dans la vacuole. L'ensemble de ces éléments suggèrent que ces polypeptides assurent une fonction de mise en réserve de l'azote (VSP: vegetative storage protein).

A l'échelle du peuplement, en étudiant 2 génotypes de luzerne soumis à 2 rythmes d'exploitation, et en analysant des plantes occupant des positions contrastées dans le couvert végétal, il a été possible d'obtenir des luzernes présentant des niveaux d'accumulation différents en réserves N et C. La production de biomasse aérienne la plus importante est assurée par les populations de luzerne ayant les teneurs en N et en amidon du pivot les plus élevées (effets génotypique ou du rythme d'exploitation). Par contre, dans le cadre de la hiérarchie s'exerçant entre plante au sein du peuplement (hétérogénéité intravariétale), le potentiel de repousse d'une plante est linéairement corrélé à la teneur en protéines hydrosolubles du pivot, et plus spécifiquement à celle en protéines de réserve (VSP), alors que les teneurs initiales en N total ou en amidon ne sont pas corrélées.

Mots clefs : *Medicago sativa* L., Repousse, Marquage ^{15}N et ^{13}C , Redistribution N et C, VSP, Amidon, Réserves, Biomasse aérienne.