

Bio et anal

PHYSIOLOGIE VÉGÉTALE. — *Action du potentiel osmotique de la solution nutritive sur la réaction de Hill et la photophosphorylation de chloroplastes de Cotonnier.* Note (*) de MM. **Jorge Bravo Vieira-da-Silva** et **Jan Veltkamp**, présentée par M. Lucien Plantefol.

Les procédés ci-après indiqués nous ont permis d'isoler des chloroplastes de Cotonnier actifs pour la réaction de Hill et pour la photophosphorylation. La carence hydrique induite par diminution du potentiel osmotique de la solution nutritive réduit non seulement la réaction de Hill, mais aussi la photophosphorylation. Les conséquences de cette réduction pour le bilan photosynthétique sont discutées.

INTRODUCTION. — L'influence de la carence hydrique sur la photosynthèse a été étudiée déjà par plusieurs auteurs [(7), (10)]. Selon certains [(5), (13)] le rendement photosynthétique est essentiellement contrôlé par les mouvements hydroactifs des stomates. Selon d'autres (16) ces mouvements agiraient plus sur la transpiration que sur la photosynthèse. Cette différence d'action est due à ce qu'il a été convenu d'appeler résistance du mésophylle et qui englobe, entre autres phénomènes, la plus ou moins grande intensité des réactions photochimiques (14).

L'action du manque d'eau sur ces réactions photochimiques a été démontrée à plusieurs reprises [(4), (9), (12), (14)] et paraît être le résultat d'une sénescence provoquée par la libération d'hydrolases au cours de la sécheresse (15), l'appareil photosynthétique étant très sensible à l'action des enzymes hydrolytiques [(3), (6), (11)].

On a jusqu'ici indiqué que la quantité élevée de composés phénoliques (9) et l'activité des hydrolases (15) rendent très difficile l'isolement d'organites de Cotonnier et notamment l'isolement de chloroplastes actifs (9).

Cependant, les résultats que nous présentons ici, se rapportant à l'influence de la carence hydrique sur l'activité photochimique des chloroplastes de Cotonnier, montrent que cet isolement est possible.

MÉTHODOLOGIE. — Les plantes de Cotonnier des espèces *Gossypium hirsutum* (variété HAR 444.2), *G. arboreum* et *G. thurberi* ont été cultivées dans une solution nutritive de Hoagland modifiée, comme il est décrit ailleurs (14). Après trois mois de culture en serre ces plantes sont séparées en trois lots : le premier continuant à recevoir la solution nutritive normale, de potentiel osmotique de $-0,95 \text{ joules} \cdot \text{mole}^{-1}$, tandis que dans les deux autres, le potentiel osmotique de la solution est abaissé à $-10 \text{ joules} \cdot \text{mole}^{-1}$ et $-20 \text{ joules} \cdot \text{mole}^{-1}$ par l'addition de polyéthylène glycol (PEG) 600 purifié (14). Après 48 h de ce traitement, la troisième feuille à partir de l'apex est récoltée et l'extraction des chloroplastes est faite à une température de $5 \text{ }^\circ\text{C}$, par broyage d'un échantillon de 2,5 g de limbe dans 50 ml de milieu d'extraction, utilisant un homogénéiseur « Virtis » tournant deux fois pendant 40 s à 20 000 tr/mn. Les plus grands morceaux de limbe restant après ce traitement sont d'une taille maximale de $0,5 \text{ cm}^2$ et on obtient ainsi une petite quantité de chloroplastes peu altérés.

O. R. S. T. O. M.

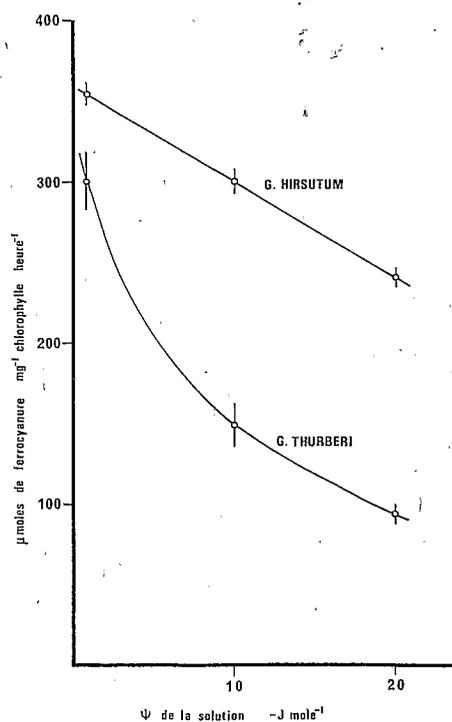
Collection de Référence

n° 4695

15 JUIN 1971

Le milieu de broyage contient, dans le cas des échantillons destinés à la détermination de la réaction de Hill, du saccharose 0,4 M ; du tampon Tris pH 7,8 0,05 M ; de la cystéine 5 mM ; du 2-mercaptoéthanol 5 mM ; du PEG 4000 0,6 % et du polyvinylpyrrolidone 0,2 %. Pour la détermination de la photophosphorylation le milieu contient : du saccharose 0,4 M ; du tampon Tris-HCl pH 7,8 0,05 M ; du NaCl 0,01 M et de l'acide ascorbique 0,02 M.

Les homogénats, après filtration sur deux couches de gaze, sont centrifugés pendant 2 mn à 200 g, pour enlever les débris, et les chloroplastes sédimentés par centrifugation pendant 10 mn à 1 000 g. Le culot chloroplastique est lavé une fois, soit dans un milieu identique à celui de broyage (dans le cas de la détermination de la photophosphorylation), soit dans un milieu différent de celui de broyage, par suppression du PEG, du polyvinylpyrrolidone et des substances réductrices (dans le cas de la détermination de la réaction de Hill).



Influence du potentiel osmotique de la solution nutritive (ψ) sur la réaction de Hill des chloroplastes de Cotonnier extraits après 48 h d'action du traitement

La méthode de dosage de la réaction de Hill est celle proposée par Avron et Shavit⁽²⁾ et, pour le dosage de la photophosphorylation cyclique, la méthode est celle d'Avron⁽¹⁾, avec la modification qui consiste dans l'addition de 0,5 mg d'hexokinase et de 50 μmoles de glucose aux 3 millilitres du milieu de réaction⁽⁸⁾.

RÉSULTATS ET DISCUSSION. — Les résultats de la réaction de Hill, illustrés par la figure, montrent que, dans les deux espèces étudiées, *G. hirsutum* et *G. thurberi*,

l'activité des chloroplastes décroît avec l'augmentation de la carence hydrique qui a été imposée aux plantes pendant 48 h. Dans un travail antérieur (¹⁴), nous avons pu montrer que cette réduction de la réaction de Hill est d'autant plus grande que la carence hydrique est plus prolongée et cette réduction paraît être ainsi un résultat de la sénescence de l'appareil chloroplastique, provoquée par l'augmentation de l'activité hydrolytique due à la sécheresse (¹⁵).

Quant à la photophosphorylation les résultats obtenus dans les expériences préliminaires étaient trop faibles et irréguliers. Ceci nous a fait penser à une action ATP-asiq. En effet, l'addition d'un système contenant de l'hexokinase et du glucose (⁸) double, à peu près, les quantités de phosphore estérifié dosées, sauf pour le traitement osmotique chez le *G. thurberi*, car ici les valeurs sont trop faibles pour qu'une comparaison soit valable (tableau).

TABLEAU

Mesure de la photophosphorylation (μ moles de P estérifié par milligramme de chlorophylle et par heure) dans les chloroplastes de *Cotonnier* extraits de plantes cultivées en solution nutritive normale ou ayant subi pendant 48 h un traitement osmotique de -10 joules \cdot mole⁻¹

		Solution nutritive normale	Traitement osmotique
<i>G. arboreum</i>	Hexokinase + glucose (¹)	676	356
	Témoin	442	205
<i>G. thurberi</i>	Hexokinase + glucose	493	19
	Témoin	248	39

(¹) 0,5 mg d'hexokinase + 50 μ moles de glucose dans 3 ml de volume total du milieu de réaction.

L'influence de la carence hydrique se traduit aussi par une réduction de la photophosphorylation, plus importante chez le *G. thurberi* que chez le *G. arboreum*. Il n'a pas été possible cependant, avec le système d'extraction indiqué, d'obtenir des chloroplastes de *G. hirsutum* capables de photophosphorylation.

Il semblerait donc que la carence hydrique réduisant les activités photochimiques, puisse agir sur le rendement photosynthétique autrement que par la seule modification de l'ouverture stomatique. Ces altérations de l'activité photochimique doivent contribuer à ce qu'on appelle habituellement « la résistance du mésophylle à la diffusion du CO₂ » [(¹⁰), (¹⁴)].

L'importance relative pour l'absorption de CO₂ de cette résistance et de celle qui est due à l'appareil stomatique, dépendrait surtout du temps d'action de la sécheresse, celle-ci provoquant une sénescence plus ou moins grande des chloroplastes, selon la sensibilité protoplasmique au manque d'eau. Il n'est pas étonnant que des mesures effectuées pendant des temps courts constatent un effet fondamental des mouvements stomatiques sur l'absorption de CO₂ sans déceler une appréciable augmentation de la résistance du mésophylle (¹³). Celle-ci n'augmente

que sous l'action prolongée de la carence hydrique dont les conséquences biochimiques sont importantes ⁽¹⁵⁾.

CONCLUSIONS. — Il est possible d'extraire par les procédés indiqués des chloroplastes de Cotonnier capables de réaliser la réaction de Hill, utilisant le ferricyanure comme réactif, et de photophosphoryler (sauf dans le cas du *G. hirsutum* pour cette dernière activité). Ceci est en contradiction avec les résultats de Fry ⁽⁹⁾ qui considère la solution de saccharose comme un milieu inadéquat pour l'isolement de chloroplastes de Cotonnier actifs pour la réaction de Hill.

L'addition d'un système hexokinase glucose paraît nécessaire pour conserver tout le phosphore estérifié au cours de la photophosphorylation.

Les résultats montrent que l'influence de la carence hydrique sur l'activité photochimique des chloroplastes est importante.

(*) Séance du 5 octobre 1970.

- (1) M. AVRON, *Biochim. Biophys. Acta*, 40, 1960, p. 257.
- (2) M. AVRON et N. SHAVIT, *Anal. Bioch.*, 6, 1963, p. 549.
- (3) E. S. BAMBERGER et R. B. PARK, *Plant Physiol.*, 41, 1966, p. 1591.
- (4) J. S. BOYER et B. L. BOWEN, *Plant Physiol.*, 45, 1970, p. 612.
- (5) H. BRIX, *Physiol. Plant.*, 15, 1962, p. 10.
- (6) G. CONSTANTOPOULOS et C. N. KENYON, *Plant Physiol.*, 43, 1968, p. 531.
- (7) A. S. CRAFTS, in : T. T. KOZLOWSKI, *Water deficits and Plant Growth*, New York, 2, 1968, p. 85.
- (8) G. DUCET, A. J. ROSENBERG et G. VANDEWALLE, *Ann. Physiol. Végét.*, 3, 1959, p. 209.
- (9) K. E. FRY, *Plant Physiol.*, 45, 1970, p. 465.
- (10) P. GAASTRA, in : L. T. EVANS, *Environmental Control of Plant Growth*, New York, 1963, p. 113.
- (11) K. E. MANTAI, *Plant Physiol.*, 45, 1970, p. 563.
- (12) I. NIR et A. POLJAKOFF-MAYBER, *Nature*, 213, 1967, p. 418.
- (13) J. H. TROUGHTON et R. O. SLATYER, *Aust. J. Biol. Sc.*, 22, 1969, p. 815.
- (14) J. B. VIEIRA DA SILVA, *Thèse de doctorat*, Orsay, n° CNRS A. O. 4685, 1970.
- (15) J. B. VIEIRA DA SILVA, *Physiol. Végét.*, 8, 1970, p. 413.
- (16) I. ZELITCH, in : SAN PIETRO, *Harvesting the Sun, Photosynthesis in Plant Life*, New York 1967, p. 231.

(Office de la Recherche Scientifique et Technique Outre-Mer,
24, rue Bayard, 75-Paris, 8^e.)