

ANALYSES COLORIMÉTRIQUE ET MANOMÉTRIQUE DE L'INHIBITION AUXINES-OXYDASIQUE

par MM. THOMAS GASPARD [1] et CHARLES KAMINSKI

La présence d'inhibiteurs auxines-oxydasiques dans les tissus verts est connue depuis les travaux de TANG et BONNER [2] et de GALSTON [3]. Bien que la structure exacte de ces inhibiteurs, probablement de nature phénolique [4, 5, 6, 7] ne soit pas encore connue avec exactitude, des travaux récents leur attribuent déjà un rôle dans plusieurs processus physiologiques importants, par exemple dans la régénération d'organes décapités [8] et dans le nanisme [3, 9] ; leur biochimie pourrait même être contrôlée par le système rouge-infrarouge [10]. On connaît peu cependant de leur mode d'action dans la réaction auxines-oxydasique [11].

Cette note a pour objet d'étudier par les techniques colorimétrique et manométrique l'effet d'un extrait de feuilles de *Salvia splendens* sur la dégradation de l'acide β -indol-acétique (AIA) par un extrait de racines de *Lens culinaris*.

Les extraits sont préparés selon la technique antérieurement décrite [12], pour *Lens* à partir de pointes (12 mm) de racines âgées de 48 heures, pour *Salvia* à partir de feuilles vertes bouillies. Le dosage colorimétrique de l'AIA se fait d'après la méthode de PILET [13] en utilisant un spectrophotomètre BECKMAN à 535 m μ . Les mesures manométriques se font par la méthode directe de WARBURG [14].

Pour l'analyse colorimétrique, des solutions d'incubation sont préparées en mélangeant 1, 2 ou 4 ml de l'extrait de *Lens* (100 racines servent à l'obtention de 10 ml d'extrait) avec 0 ou 1,5 ou 3 ml de l'extrait de *Salvia* (200 mg pour 10 ml d'extrait) et 2 ml d'AIA 10^{-3} M (350 μ g) ; on amène à 10 ml au moyen de solution tampon-phosphate [14] de pH 6,1.

Présenté par M. Bouillenne-Walrand, le 17 décembre 1964.

La fig. 1 rapporte la quantité d'AIA détruit après 30, 60, 90 et 120 minutes dans les différents mélanges formés. La destruction de l'AIA par l'extrait de *Lens* en rapport avec la quantité d'extrait a été discutée ailleurs [12]. On voit que la présence de l'extrait de *Salvia* dans une solution auxines-oxydasique de *Lens* a pour effet d'inhiber plus ou moins cette activité. Selon les concentrations en extraits de *Lens* et de *Salvia*, l'extrait de *Salvia* diminue l'activité, ou introduit une période de latence et diminue l'activité ou encore bloque totalement la réaction enzymatique de l'extrait de *Lens*. L'effet inhibiteur de *Salvia* se marque d'autant plus que l'extrait de *Lens* a une activité faible.

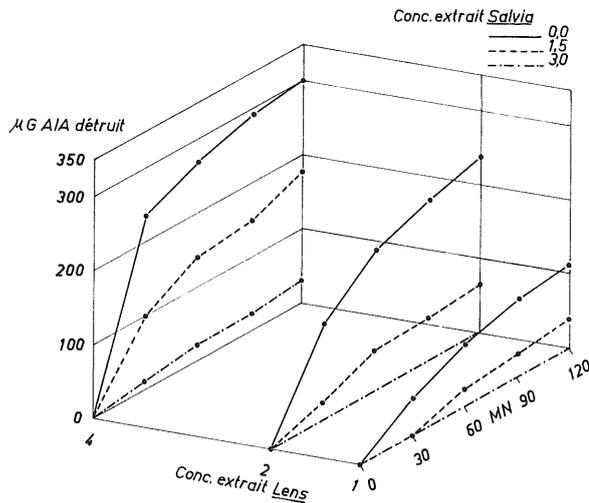


Fig. 1. — Activité auxines-oxydasique d'extraits de racines de *Lens* mélangés à des extraits de feuilles de *Salvia*, exprimée en μg d'AIA détruit pour 10 ml de solution active.

Le temps d'incubation (MN) varie de 0 à 180 minutes.

A l'extrait de racines de *Lens* (1, 2 ou 4 ml), on a ajouté l'extrait de feuilles de *Salvia* (1,5 ou 3 ml).

Extrait de *Lens* : 100 racines pour 10 ml.

Extrait de *Salvia* : 200 mg de feuilles pour 10 ml.

Les solutions actives contiennent 350 μg d'AIA au temps zéro.

Pour les mesures manométriques, on place les extraits de *Lens* (2 ml) et de *Salvia* (0,5 ml) dans le compartiment principal de la nacelle, la potasse (0,2 ml à 20 %) imbibant un rectangle de papier filtre dans le godet central et l'AIA (0,5 ml d'une solution $2 \cdot 10^{-3}$ M) ou de l'eau distillée dans la tubulure latérale des fioles.

Les résultats font l'objet de la figure 2.

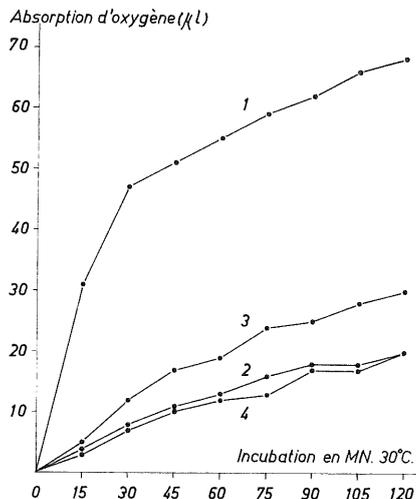


Fig. 2. — Absorption d'oxygène (en μl) par des extraits de *Lens*, seul, en présence d'AIA, en présence d'extrait de *Salvia*, ou d'AIA et de *Salvia*.

Composition des mélanges d'incubation :

1. 2 ml *Lens* + 0,5 ml AIA + 0,5 ml tampon.
2. 2 ml *Lens* + 0,5 ml AIA + 0,5 ml *Salvia*.
3. 2 ml *Lens* + 0,5 ml eau + 0,5 ml tampon.
4. 2 ml *Lens* + 0,5 ml eau + 0,5 ml *Salvia*.

Thermobaromètre : 3,2 ml eau.

Concentration des solutions utilisées :

- AIA : 350 $\mu\text{g/ml}$.
- *Lens* : 2 g/10 ml.
- *Salvia* : 0,5 g/10 ml (bouilli).

La destruction de l'AIA par l'extrait de *Lens* seul se marque par une abondante absorption d'oxygène : la courbe 1 obtenue est comparable à celle de PILET et KOBR [15]. L'inhibition de cette destruction par l'extrait de *Salvia* abaisse la prise d'oxygène (courbe 2) de manière considérable.

On voit également que l'extrait de *Lens* seul « respire » de façon régulière (courbe 3). En présence de l'extrait de *Salvia*, la prise d'oxygène par l'extrait de *Lens* est considérablement diminuée (courbe 4).

En conclusion, l'extrait de *Salvia*, en inhibant la destruction de l'AIA par l'extrait de *Lens*, inhibe la prise d'oxygène qui en résulte.

terait. Le fait n'est pas nouveau [16]. Mais, la mise en évidence, grâce à la technique manométrique, du fait que l'extrait de *Salvia* diminue même la prise d'oxygène par l'extrait de *Lens* seul, en l'absence d'AIA, paraît digne d'intérêt. Si les effecteurs de *Salvia* sont des polyphénols [6, 17], cela confirmerait l'idée de RAY [18] que les inhibiteurs interviennent comme antioxydants. Cette observation pourrait également signifier que certaines oxydases terminales sont impliquées dans la dégradation de l'AIA, et rejoindre ainsi des conclusions de STUTZ [19].

(Laboratoire de Physiologie Végétale
de l'Université de Liège).

RÉFÉRENCES

- [1] Aspirant du F. N. R. S., 3, rue Fusch, Liège (Belgique).
- [2] Y. W. TANG et J. BONNER, *Amer. J. Bot.*, **35**, 1948, p. 570.
- [3] A. W. GALSTON, *Plant Physiol.*, **32** (suppl.), 1957, p. XXI.
- [4] M. FURUYA, A. W. GALSTON et B. B. STOWE, *Nature*, **193**, 1962, p. 456.
- [5] F. E. MUMFORD, D. H. SMITH et J. E. CASTLE, *Plant Physiol.*, **36**, 1961, p. 752.
- [6] TH. GASPAR, M. BASTIN et C. LEYH, *Acad. roy. Belg. Cl. Sc.*, **7**, 1964, p. 799.
- [7] M. BASTIN, *Bull. Soc. Roy. Sc. Liège*, **9-10**, 1964, p. 588.
- [8] P. E. PILET et J. DUBOUCHET, *Physiol. Plant.*, **15**, 1962, p. 518.
- [9] C. LEYH, TH. GASPAR et M. BOUILLENNE-WALRAND, *Bull. Soc. roy. Sc. Liège*, **5-6** (suppl.), 1963, p. 430.
- [10] W. S. HILLMAN et A. W. GALSTON, *Plant Physiol.*, **32**, 1957, p. 129.
- [11] J. A. SACHER, *Plant Physiol.*, **37**, 1962, p. 74. *Amer. J. Bot.*, **50**, 1963, p. 116.
- [12] P. E. PILET et TH. GASPAR, *Physiol. Plant.*, **17**, 1964, p. 324.
- [13] P. E. PILET, *Rev. gén. Bot.*, **64**, 1957, p. 106.
- [14] W. W. UMBREIT, R. H. BURRIS et J. F. STAUFFER, *Manometric Techniques*, Burgess Publishing Co, 1957.
- [15] P. E. PILET et M. KOBR, *Comptes rendus Acad. Sc. Paris*, **248**, 1959, p. 3024.
- [16] E. R. WAYGOOD, A. OAKS et G. A. MACLACHLAN, *Canad. J. Bot.*, **34**, 1956, p. 905.
- [17] TH. GASPAR et P. E. PILET, *Rev. gén. Bot.*, **71**, 1964, p. 22.
- [18] P. M. RAY, *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **9**, 1958, p. 81.
- [19] R. E. STUTZ, *Plant Physiol.*, **32**, 1957, p. 31.