

<b>Zeitschrift:</b>	Berichte der Schweizerischen Botanischen Gesellschaft = Bulletin de la Société Botanique Suisse
<b>Herausgeber:</b>	Schweizerische Botanische Gesellschaft
<b>Band:</b>	73 (1963)
<b>Artikel:</b>	Action du 2,4-dinitrophénol et de l'acide -indolyl-acétique sur l'accumulation des produits de la dégradation auxinique
<b>Autor:</b>	Kobr, Michel
<b>DOI:</b>	<a href="https://doi.org/10.5169/seals-51551">https://doi.org/10.5169/seals-51551</a>

### Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. [Mehr erfahren](#)

### Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. [En savoir plus](#)

### Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. [Find out more](#)

**Download PDF:** 11.01.2026

**ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>**

# Action du 2,4-dinitrophénol et de l'acide $\beta$ -indolyl-acétique sur l'accumulation des produits de la dégradation auxinique

Par *Michel Kобр*

Laboratoire de Physiologie végétale  
(Université de Lausanne)

Manuscrit reçu le 3 septembre 1962

## *I. Introduction*

Nous avons montré ailleurs (Kобр, 1963) que l'acide  $\beta$ -indolyl-acétique (ABIA) accroît la sensibilité de la réponse respiratoire à l'administration de 2,4-dinitrophénol (DNP): une variation donnée, dans le sens d'une stimulation comme dans celui d'une inhibition, nécessite pour se réaliser des concentrations de DNP moins fortes si le tissu est traité avec de l'ABIA. Cette sensibilisation, qui porte sur l'intensité de l'absorption d'oxygène comme sur les valeurs du quotient respiratoire, est d'autant plus marquée que la concentration d'ABIA est plus forte.

L'interprétation de ce fait pourrait se baser sur les données suivantes:

- 1<sup>o</sup> l'adjonction d'ABIA au milieu de culture fournit une grande quantité de substrat aux auxines-oxydases;
- 2<sup>o</sup> le DNP stimule l'activité de ces enzymes.

La présence simultanée des deux effecteurs aboutirait à la formation de taux élevés de produits de la dégradation enzymatique de l'ABIA. Si l'un au moins de ces produits est inhibiteur de la respiration, on comprend que la conjugaison d'ABIA et de DNP puisse, à partir de certaines concentrations, contrecarrer une activation respiratoire produite par de faibles ou moyennes concentrations de DNP, ou encore, accentuer l'inhibition produite par de fortes concentrations d'agent découpant.

En partant d'un matériel biologique comparable à celui déjà utilisé pour l'analyse de l'activité auxines-oxydase (Pilet, 1960, a, b, c, 1961, 1962), nous nous proposons:

- a) de repérer les produits de la dégradation enzymatique de l'ABIA et de comparer nos résultats avec ceux qui ont été obtenus pour des extraits enzymatiques voisins;

- b) de savoir comment le DNP, l'ABIA, ou un mélange de ces deux effecteurs, peuvent faire varier le taux des produits de dégradation;
- c) d'étudier le comportement de la respiration en présence de chacun de ces produits.

## *II. Matériel et méthodes*

### *II. 1. Culture*

Nous utilisons les segments apicaux de la racine du *Lens culinaris* Med. Ils sont cultivés suivant la technique décrite par Pilet, Kобр и Siegenthaler (1960), pendant 12 heures, sur un milieu contenant de l'ABIA, du DNP, ou un mélange de ces deux effecteurs dans les proportions indiquées ci-dessous :

Lot	DNP	ABIA
A	$1.10^{-\infty}$	$1.10^{-\infty}$
B	$1.10^{-5}$	$1.10^{-\infty}$
C	$1.10^{-4}$	$1.10^{-\infty}$
D	$1.10^{-\infty}$	$1.10^{-5}$
E	$1.10^{-5}$	$1.10^{-5}$
F	$1.10^{-4}$	$1.10^{-5}$

Toutes ces concentrations sont indiquées en unités molaires.

### *II. 2. Préparation des extraits*

Le mode de préparation des extraits est celui décrit par Pilet et Galston (1955). Nous y apportons quelques modifications de détail :

- 1<sup>o</sup> la centrifugation s'opère à 10 000 g pendant 20 minutes. Elle est répétée deux fois, avec un rinçage intermédiaire du mortier et une remise en suspension du culot;
- 2<sup>o</sup> la température est maintenue à —2<sup>o</sup> C;
- 3<sup>o</sup> l'extrait est amené à un volume final de 20 ml.

### *II. 3. Incubation des extraits*

On ajoute à chaque extrait 100 µg d'ABIA 2-C<sup>14</sup>.

Après 2 heures d'incubation dans les conditions standard (25 °C, pH 6,1) définies par Pilet (1957a), l'activité auxines-oxydase est suspendue par une prise de KCN solide. Le broyat est alors acidifié par HCl 1-n jusqu'à pH 3,5 (virage du méthyl-orange), puis épuisé par trois fois son volume d'éther déperoxydé.

L'éther est réduit à 2 ml dans des burettes parcourues par des bulles d'azote, puis déposé sur les papiers chromatographiques (obscurité totale, une nuit environ) par des microsiphons, suivant la technique mise au point par Athanasiadès-Mercanton.

### *II. 4. Chromatographie*

La technique employée ici est celle de Stowe et Thimann (1954), exposée par Nitsch (1956) et reprise par Pilet (1958). Il s'agit d'une chromatographie ascendante,

sur papier Whatman N° 1, avec le solvant: isopropanol (80) – ammoniaque 28% (10) – eau (10) (v/v). Chaque chromatogramme est enfermé dans un tube particulier pour éviter l'effet de transfert signalé par Nitsch et Nitsch (1960).

De nombreuses indications techniques sont empruntées à Smith (1958).

## II. 5. *Electrophorèse*

Nous attendons de l'électrophorèse deux choses:

- 1<sup>o</sup> une séparation de deux taches chromatographiques empiétant l'une sur l'autre;
- 2<sup>o</sup> une première caractérisation approchée de la substance.

L'électrophorèse se fait en cuve Elphor, suivant la technique décrite par Pilet et Athanasiadès-Mercanton (1961), avec un tampon  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ - $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  1/15 M, pH 7,3; elle s'opère à basse température (+4 °C), ce qui permet de travailler à 300 V et de réduire sa durée à 6 heures.

La séparation se réalise directement à partir d'une fraction de chromatogramme correspondant à 0,05 unité de Rf. Le fragment de papier chromatographique est déposé sur l'ouverture ménagée à cet effet dans le papier destiné à l'électrophorèse, sans élution intermédiaire.

## II. 6. *Mesure de la radioactivité*

Les détails techniques de l'appareillage sont décrits par Pilet et Lerch (1960).

Pour obtenir une bonne précision, nous décidons de faire des mesures individuelles dans chaque zone du chromatogramme ou de l'électrophorégramme.

Le chromatogramme est découpé en 20 parties égales, correspondant chacune à 0,05 unité de Rf. L'électrophorégramme est découpé en 24 parties de 1 cm de longueur.

Le volet masquant normalement la fenêtre du compteur est totalement ouvert, pour améliorer la géométrie de l'appareil. Les impulsions sont totalisées pendant 10 min.

La diminution du pouvoir de résolution résultant de l'emploi d'une telle méthode est largement compensée par sa haute sensibilité et sa grande précision.

Notons encore que l'ABIA 2-C<sup>14</sup> est fourni par Tracerlab Inc. avec une activité spécifique de 6,3  $\mu\text{C}/\text{mg}$ ; nous avons utilisé aussi de l'ABIA marqué fourni par le Centre d'études nucléaires de Saclay (France) (activité spécifique: 6,6  $\mu\text{C}/\text{mg}$ ) sans constater de divergence avec les résultats obtenus avec de l'ABIA d'origine américaine. Remarquons toutefois que la pureté de l'ABIA marqué est loin d'atteindre celle de l'ABIA non marqué, ce qui se traduit par un traînage plus ou moins accentué.

## II. 7. *Action des produits de dégradation sur la respiration*

Dans une première série d'expériences, nous avons étudié l'action sur la respiration des divers produits de la dégradation enzymatique de l'ABIA, séparés par chromatographie.

Un certain nombre de papiers, provenant de divers chromatogrammes, sont répartis par zones de Rf correspondants. L'activité totale pour un Rf donné est sensiblement identique pour tous les lots: elle correspond à l'équivalent de 14,6  $\mu\text{g}$  d'ABIA par ml, une fois le mélange réalisé.

Après élution dans 2 ml de tampon sacchrosé, un volume de 0,5 ml est pipété dans le bras latéral de fioles de Warburg.

Des segments de 4,25 mm de longueur, ayant poussé 12 heures dans les conditions habituelles, sont transférés dans les fioles. Après 90 minutes de respiration en absence d'effecteur, on déplace dans le récipient général le contenu du bras latéral. On continue à suivre l'absorption d'oxygène pendant 5 heures.

Dans une seconde série d'expériences, nous mesurons l'action du scatole, sur la croissance et la respiration, dans les conditions décrites précédemment (Kobr, 1963).

### *III. Résultats*

#### *III. 1. Action sur la vitesse de dégradation*

La figure 1 (A à F) montre, après 2 heures, l'évolution de l'activité pour les diverses régions des chromatogrammes correspondant aux 6 lots établis.

Sans vouloir discuter ici la nature des produits de dégradation, nous pouvons être assuré du fait que l'ABIA chromatographie à un Rf compris entre 0,45 et 0,55, conformément à toutes les déterminations faites dans ce laboratoire (Pilet, 1958). On remarque la décroissance de la radioactivité relative de cette zone, lorsqu'on passe des lots A à E (le lot F constitue une exception discutée plus loin).

Nous pouvons établir que :

- 1<sup>o</sup> le DNP active la dégradation de l'ABIA ;
- 2<sup>o</sup> le prétraitement à l'ABIA accroît encore le taux de cette inactivation ;
- 3<sup>o</sup> la conjonction d'ABIA et de DNP entraîne une disparition quasi totale de l'ABIA présent au début de l'incubation.

En contrepartie de cette diminution de la radioactivité dans la zone de Rf 0,45–0,50, on constate :

- 1<sup>o</sup> une augmentation progressive de la radioactivité dans des Rf compris entre 0,80 et 0,85 ;
- 2<sup>o</sup> l'apparition, en présence de DNP seul, d'une «tache» située à 0,65 Rf environ ; cette zone ne manifeste plus d'activité lorsque l'ABIA est fortement dégradé (cas D et E) ;
- 3<sup>o</sup> paradoxalement, la radioactivité des Rf 0,80–0,85 est plus faible lorsque la totalité de l'ABIA est détruite (cas E), que lorsqu'il en subsiste une certaine quantité (cas D).

Ce dernier fait suggère la possibilité de formation d'un produit qui n'a pas été extrait dans les conditions décrites.

Dans les conditions d'extraction à pH 3,5, le lot F ne donne généralement pas de chromatogrammes utilisables : le bruit de fond masque les

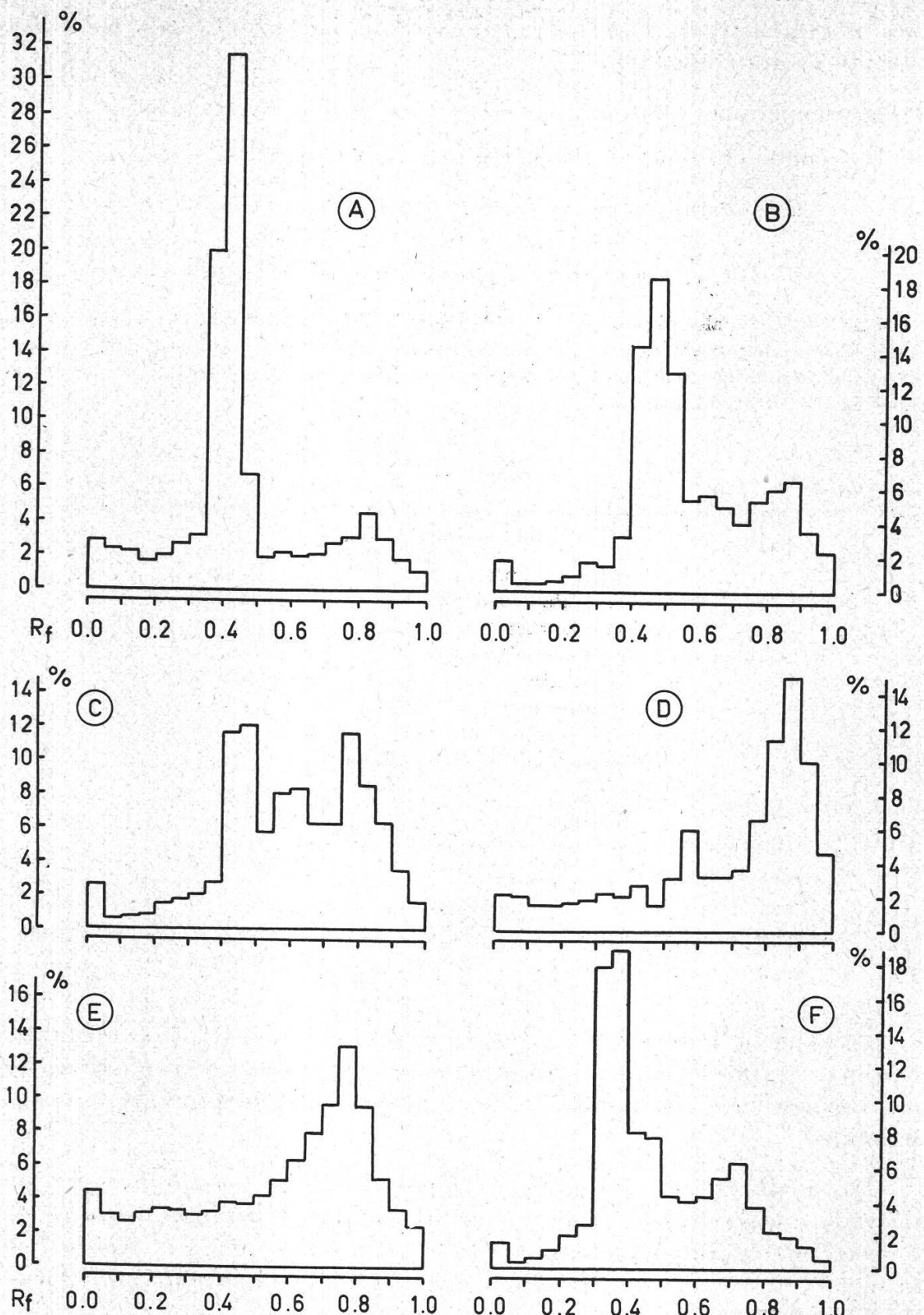


Figure 1

Action de l'ABIA, du DNP, et d'un mélange de ces deux effecteurs sur la dégradation enzymatique de l'ABIA et l'apparition des produits résultant du catabolisme auxinique (voir texte p. 6). Radioactivité relative (%) des diverses régions des chromatogrammes (R<sub>f</sub>).

pics de radioactivité. Par contre, en extraction à pH 6,1, deux nouvelles substances apparaissent :

- 1<sup>o</sup> la première chromatographie nettement autour du Rf 0,35;
- 2<sup>o</sup> la seconde chromatographie très mal vers le Rf 0,75.

Ces deux substances peuvent déjà apparaître dans le lot D.

### III. 2. Propriétés ionographiques et de coloration

Une des principales difficultés rencontrées lors de l'électrophorèse tient au fait que les composés chromatographiés se dégradent spontanément lors des manipulations, même si elles se font en lumière verte. C'est pourquoi il est difficile de n'obtenir qu'une seule substance sur l'électrophorégramme.

Tableau I

Caractéristiques chromatographiques, ionographiques, et réactions colorées des produits de dégradation de l'ABIA.

		électrophorèse à pH 7	El.ph.
	Rf	réaction de Salkowski	S
		réaction d'Ehrlich	E
		fluorescence en ultraviolet	Fl.
		réaction positive	+
		réaction négative	—
		non testé; réaction incertaine	?
		apparaît toujours en faibles quantités	*
Produit	Rf	El.ph.	S + Fl.
ABIA	0,50	+7,8	+
I	0,85	—2	—
II	0,65	+3	?
III	0,35	+7,8	+
IV	0,75	±5*	?
		E	E + Fl.
		+	—
		+	—
		?	?
		—	—
		?	?
		?	?

Le tableau I donne la correspondance entre les Rf des substances chromatographiées et leur distance de migration en électrophorèse. Les réactions colorées indiquent qu'il s'agit toujours de produits à noyau indolique.

Le cas du produit chromatographiant à 0,75 Rf est significatif d'une dégradation spontanée : il ne se retrouve jamais en grande quantité sur l'électrophorégramme, et toujours en deux régions opposées ! Notons que la région —5 cm contient certainement un produit de la photo-oxydation de l'ABIA (Athanasiadès-Mercanton).

La fluorescence en lumière ultraviolette est d'interprétation délicate. La sensibilité de ce mode de caractérisation varie beaucoup avec la nature du produit. De plus, la fluorescence se modifie avec le temps ; d'anciens

chromatogrammes présentent une fluorescence de presque toutes les taches, même au niveau de celles qui en étaient dépourvues initialement, immédiatement après le séchage du chromatogramme; elle est peut-être due, soit à l'autodégradation, soit à la polymérisation des noyaux indoliques, qui peut même aboutir à la formation d'un pigment brunâtre visible sans aucun moyen de révélation, comme le signale aussi Fischer (1954).

### III. 3. Identification du scatole

Aucune de ces données ne permet de caractériser définitivement un produit de dégradation. Nous avons observé (v. p. 12) que la substance présente dans la zone de Rf 0,80–0,85 possède une certaine action inhibitrice sur la respiration. Avec le solvant utilisé, deux composés indoliques sont à retenir: la  $\beta$ -indolyl-aldéhyde, et le scatole, qui migrent au même Rf.

On peut les différencier à l'aide des réactions colorées mises au point sur des substances pures, en solution alcoolique (tableau II). Appliquées aux chromatogrammes, ces réactions permettent de détecter le scatole, mais pas la  $\beta$ -indolyl-aldéhyde. Est-elle en trop faible quantité? Son existence est cependant probable, car nous savons qu'elle se dégrade en donnant un premier produit qui migre à —2 cm environ, puis une substance réagissant positivement au Salkowski (réaction immédiate). Il est possible que ce soit la substance électrophorésant à +5 cm.

Tableau II

Réactions colorées (voir tableau I) du scatole et de la  $\beta$ -indolyl-aldéhyde.

solv. I: isopropanol 80 – ammoniaque (28 %) 10 – eau 10  
 solv. II: isopropanol 200 – ammoniaque (28 %) 10 – eau 20

	Scatole	$\beta$ -indolyl-aldéhyde
Rf		
solv. I	0,85	0,85
Rf		
solv. II	0,92	0,92
S	brun; immédiat	orange; retard
E	violet à bleu	brun à rose
Fl.	—	bleu (retard ?)
S+Fl.	brun	orange
E+Fl.	—	jaune

### III. 4. Action sur la respiration

Le tableau III résume les variations subies par la respiration des segments radiculaires lors d'un traitement par les diverses substances

Tableau III

Variations de la respiration, en fonction du temps, sous l'action de divers produits de dégradation de l'ABIA, caractérisés par leur Rf (témoin = 100).

Heures	Produits de dégradation; Rf				
	0,85	0,80	0,65	0,35	0,45
1	100	97	104	106	103
2	98	95	105	106	100
3	94	92	107	106	100
4	90	87	106	106	102
5	81	80	105	104	105

séparées par chromatographie. On constate que seul le produit migrant dans la région 0,80–0,85 Rf est doté d'une certaine action, inhibitrice, qui a tendance à s'accentuer avec le temps.

Nous savons que deux produits indoliques sont capables de chromatographier dans cette zone: le scatole (identifié) et la  $\beta$ -indolyl-aldehyde (que nous n'avons pu identifier). Cette dernière substance est pratiquement insoluble dans l'eau; sa solubilisation apparente après 84 heures d'agitation (solution aqueuse  $1.10^{-3}$  M) est probablement le fait d'une dégradation totale (Collet, 1962).

Tableau IV

Action du scatole sur les diverses caractéristiques de la croissance des segments radiculaires.

Allongement, en mm	$\Delta L$
Poids frais, pour 10 segments, en mg	PF
Poids sec, pour 10 segments, en mg	PS
Teneur en eau absolue, pour 10 segments, en mg	TE/FR
Teneur en eau relative, en mg, pour 100 mg de poids frais	TE/PF
Variation en % du témoin	%

#### Concentrations du scatole en M

Grandeurs	$1.10^{-\infty}$	$1.10^{-7}$	$1.10^{-6}$	$1.10^{-5}$	$5.10^{-5}$	$1.10^{-4}$	$5.10^{-4}$	$1.10^{-3}$
$\Delta L$	1,77	1,77	1,86	1,55	1,13	0,99	0,57	0,33
%	$\pm 0,0$	$\pm 0,0$	+5,1	—12,4	—36,2	—44,1	—67,8	—81,4
PF	34,00	35,50	34,55	32,97	29,64	27,91	16,96	14,59
%	$\pm 0,0$	+4,4	+1,6	—3,0	—12,8	—17,9	—50,1	—57,0
PS	3,30	3,49	3,28	3,26	3,11	2,99	2,20	2,11
%	$\pm 0,0$	+5,8	—1,0	—1,2	—5,8	—9,4	—33,4	—36,1
TE/FR	30,70	32,01	31,27	29,71	26,53	24,92	14,76	12,48
%	$\pm 0,0$	+4,3	+1,9	—3,2	—13,9	—18,8	—51,9	—59,4
TE/PF	90,3	90,4	90,5	90,1	89,5	89,3	87,0	85,5

Ce seul fait permet déjà de douter de son importance comme effecteur métabolique.

Le scatole est par contre relativement bien soluble.

Les résultats de son action sur la croissance sont reportés dans le tableau IV, et ceux se rapportant à son effet sur la respiration, dans le tableau V.

On constate que tous les paramètres de la croissance sont diminués par le scatole, d'autant plus qu'il est à plus forte concentration. L'allongement est particulièrement inhibé. Mais cette action dépressive ne commence à se manifester que pour des doses supérieures à  $1.10^{-6}$  M.

Tableau V

Action du scatole sur la respiration ( $Q_{O_2}$  en  $\mu l/60$  mn et  $Q_{CO_2}$  en  $\mu l/60$  mn) des segments radiculaires.

	$Q_{O_2}$ pour 10 segments	$Q_{CO_2}$ pour 10 segments	Variation de l'absorption d'oxygène, en % du témoin	$O_2/FR$	$CO_2/FR$	$\%O_2$
Concentrations de scatole en M						
Grandeurs	$1.10^{-\infty}$	$1.10^{-7}$	$1.10^{-6}$	$1.10^{-5}$	$5.10^{-5}$	$1.10^{-4}$
$O_2/FR$	23,1	22,4	22,8	21,9	22,3	22,8
$\%O_2$	$\pm 0,0$	-2,8	-1,1	-4,9	-3,2	-1,0
$CO_2/FR$	22,6	21,7	21,4	20,8	21,4	22,4
QR	0,98	0,97	0,94	0,95	0,96	0,98
						1,00
						1,03

La consommation d'oxygène n'est pratiquement pas modifiée par des concentrations faibles ou moyennes. Mais elle est brusquement inhibée dès que la concentration dépasse  $1.10^{-5}$  M. La variation du quotient respiratoire n'est guère significative.

#### IV. Discussion

##### IV. 1. Action sur la vitesse de dégradation

L'action activatrice du DNP sur l'activité auxines-oxydasique de la racine du *Lens culinaris* a été déjà démontrée par Pilet (1957b). Le 2,4-dichlorophénol et le dinitrocrésol jouissent de la même propriété. L'action favorisante des monophénols sur l'inactivation de l'ABIA a été préalablement reconnue par Hillman et Galston (1956), ainsi que par Waygood, Oaks et MacLachlan (1956a, b). Goldacre (1961) expose le schéma de Kenten; pour cet auteur, le phénol agit sur la destruction de l'ABIA par ses propriétés d'oxydo-réducteur. Oxydé par la décomposition enzymatique d'un peroxyde, il oxyde à son tour le  $Mn^{++}$  en  $Mn^{+++}$ , qui catalyse directement l'oxydation de l'ABIA.

Goldacre et Galston (1953) constatent que les phénols monohydriques inhibent la catalase. Ils exerceraient ainsi un effet protecteur sur l'eau oxygénée nécessaire à la dégradation de l'ABIA.

Le fait d'une accélération de la destruction de l'ABIA à la suite d'un traitement auxinique a été démontré par Galston et Dalberg (1954). Ces auteurs constatent que les auxines autres que l'ABIA, comme l'ANA ou le 2,4-D, sont aussi capables d'accélérer l'inactivation de l'ABIA. Ils parlent d'une formation adaptative d'enzyme, réponse à un taux auxinique élevé.

Pilet (1959) confirme ce résultat. Mais il critique la notion de synthèse adaptative ; en effet, dans les tissus jeunes du *Lens culinaris*, l'addition de dichlorophénol, non seulement supprime le temps de latence, mais encore élève l'activité des auxines-oxydases à un niveau supérieur à celui atteint dans les tissus âgés. Ainsi les auxines-oxydases sont présentes, mais leur activité est normalement ralentie dans les tissus jeunes. Le dichlorophénol leverait cette inhibition.

Il est de première importance d'étudier l'interaction entre le phénol (dichloro- ou dinitro-) et l'ABIA dans la détermination de l'activité auxines-oxydase. Nos expériences montrent que l'activité est encore plus prononcée quand les deux effecteurs sont combinés ; mais nos mesures sont trop imprécises pour indiquer s'il existe entre eux une certaine interaction.

Nous devons nous borner à constater que le mélange des deux effecteurs entraîne une accumulation des produits de dégradation de l'ABIA.

#### IV. 2. Nature et ordre d'apparition des produits de dégradation

Ray (1958) passe en revue les produits de dégradation. Il mentionne entre autres, une aminoacétophénone (Manning et Galston, 1955). Ces derniers auteurs reconnaissent en outre plusieurs substances neutres, non identifiées. Pilet (1962), tout en critiquant le schéma de dégradation proposé par Ray et Thimann (1955), retrouve le 3-hydroxy-3-méthyl-oxindole, par comparaison de son spectre avec celui de la substance qui chromatographie à 0,69 Rf.

Un certain nombre d'auteurs s'accordent à retrouver de la  $\beta$ -indolyl-aldéhyde. Postulée par Tang et Bonner (1947), elle est mise en évidence par Racusen (in: Ray, 1958). Stutz (ibidem) la détecte en faibles quantités, après inactivation de l'ABIA par un extrait enzymatique du *Lupinus*. Mais, en présence de cytochrome-oxydase et de cytochrome c, l'extrait transforme la moitié de l'ABIA en  $\beta$ -indolyl-aldéhyde, via l'acide  $\beta$ -indolyl-glycolique. D'une façon générale, deux voies de dégradation paraissent possibles : l'une concerne la chaîne latérale, l'autre, le noyau indolique.

Sur le *Lens*, Pilet (1960a, b, c; 1961a), ainsi que Pilet et Lerch (1961), signalent que la dégradation progressive de l'ABIA, avec le temps, donne naissance à trois substances différentes : le produit I, Salkowski positif, chromatographie à 0,83 Rf ; son apparition est immédiate. Il est identifié à la  $\beta$ -indolyl-aldehyde. Puis se forme le produit II (Rf 0,18), Salkowski négatif, suivi du produit III (Rf 0,35), dont l'importance est toujours réduite. Récemment Pilet (1962) fait état d'un produit IV (Rf 0,69), qui dériverait du produit I.

Sans nous attacher pour l'instant à préciser leur nature, il faut remarquer que nous n'avons pu retrouver tous les produits mentionnés par Pilet ; d'autre part, nous observons une séquence d'apparition différente ; enfin, les réactions colorées (Salkowski et Ehrlich) sont positives pour la plupart des produits que nous avons séparés.

Nous retrouvons des activités dans les zones de Rf 0,35, 0,50, 0,65, 0,75 (?) et 0,80–0,85. Mais aucun chromatogramme ne manifeste d'activité notable au Rf 0,18.

La première substance résultant de la dégradation enzymatique de l'ABIA chromatographie effectivement à un Rf compris entre 0,80 et 0,85 ; elle apparaît très rapidement.

La deuxième chromatographie a un Rf de 0,65 environ ; elle ne se forme jamais en grandes quantités.

Un fait curieux apparaît lors de la comparaison des chromatogrammes correspondant aux lots C et D : entre ces deux lots, l'ABIA subit une nouvelle destruction. Parallèlement, le produit «0,65» disparaît presque entièrement, alors que la radioactivité de la région terminale augmente fortement. Ce fait suggère la transformation du produit «0,65» en un produit «0,85», qui chromatographie au même endroit que le premier ; d'où un renforcement considérable de la radioactivité de cette région.

Ainsi, l'ABIA se décomposerait suivant deux voies différentes :

- 1<sup>o</sup> ABIA —————→ 0,80–0,85
- 2<sup>o</sup> ABIA —————→ 0,65 —————→ 0,80–0,85.

Mais on ne peut décider si le produit de la décomposition directe de l'ABIA est le même que celui résultant de sa transformation indirecte, via la substance «0,65» ; l'électrophorèse de papiers découpés dans le Rf 0,80–0,85 du chromatogramme ne livre jamais qu'une activité dans la zone —2 cm. C'est d'ailleurs là qu'apparaît un produit de la dégradation spontanée de la  $\beta$ -indolyl-aldehyde (Athanasiadès-Mercanton).

Il est prématuré de caractériser les divers produits de la dégradation de l'ABIA sur la base des quelques résultats obtenus. La présence de

$\beta$ -indolyl-aldéhyde est très probable, bien que nous n'ayons pas pu la mettre en évidence; Pilet l'a caractérisée, nous retrouvons ce qui peut être un de ses produits de dégradation spontanée.

Le produit «0,65» pourrait être rapproché de l'acide  $\beta$ -indolyl-glycolique, obtenu par Fischer (1954) dans les mêmes conditions de chromatographie et d'électrophorèse; il détermine un Rf de 0,64 et une migration de quelques centimètres (++++) du côté de l'anode. Cependant, certains auteurs (voir: Ray, 1958) critiquent ce résultat en montrant que l'acide  $\beta$ -indolyl-glycolique chromatographie entre l'ABIA et le spot initial dans ce genre de solvant.

Bennet-Clark et Wheller (1959) chromatographient avec le même solvant les produits de dérivation formés aux dépens de l'ABIA par des disques de pommes de terre. Ils trouvent un produit baptisé «V», qu'ils identifient à l'acide  $\beta$ -indolyl-acétyl-aspartique, isolé pour la première fois par Andreae et Good (1955). Entre l'ABIA et cette substance apparaît une autre tache (produit «P»), non identifiée. A cet endroit, un seul produit indolique pourrait chromatographier avec le solvant utilisé: l'acide  $\beta$ -indolyl-carboxylique (Rf 0,30: Fawcett, Wain et Wightman, 1961). Cette identification pourrait confirmer la détermination électrophorétique de Fischer (1954): cet acide se déplace dans le même sens et à la même vitesse que l'ABIA (cf. notre résultat, tableau I). Mais une divergence subsiste alors avec cet auteur à propos du Rf, qu'il fixe à 0,54 en moyenne.

Cet acide est en tout cas reconnu par Meyer (1957) comme le produit de l'oxydation enzymatique (broyat de coléoptiles d'avoine) de la  $\beta$ -indolyl-aldéhyde.

La présence de scatole a été signalée par Fischer (1954) et Bitancourt, Nogueira et Schwarz (1961) comme un produit de la photolyse de l'ABIA. Ray (1956) montre que l'enzyme extraite de l'*Omphalia* donne un premier produit intermédiaire (A), qui se transforme spontanément en deux autres substances B<sub>1</sub> et B<sub>2</sub>, sous l'action catalytique du ion H<sup>+</sup>. Le produit A, selon Ray, pourrait être du scatole oxydé de quelque manière. Stutz (1957) admet que le CO<sub>2</sub> produit lors de l'oxydation de l'ABIA par les auxines-oxydases du *Lupinus* provient du groupe carboxyle. Waygood, Oaks et MacLachlan (1956a, b) notent que, lors de l'attaque de l'ABIA par un extrait purifié de feuilles de blé, le dégagement de CO<sub>2</sub> précède l'absorption de l'oxygène; la première étape de la transformation de l'ABIA est donc une décarboxylation aboutissant à la formation de scatole.

Un autre indice vient confirmer la présence de scatole: ce dérivé ne migre pas en électrophorèse (Fischer, 1954). Or, après électrophorèse, le

carré de papier sur lequel est déposé l'extrait éthéré, tout comme le scatole synthétique, stimulent l'activité auxines-oxydase (Collet, 1962).

Cependant Libbert (1961), dans son étude des voies de dégradation du tryptophane et de ses dérivés (dont l'ABIA), ne retrouve pas de scatole dans les produits terminaux de la réaction enzymatique.

#### IV. 3. Action du scatole sur la croissance et la respiration

Il paraît établi que l'une au moins des substances résultant de la dégradation de l'ABIA est capable d'inhiber la respiration des segments radiculaires. Cette substance est caractérisée par un noyau indolique et migre à un Rf élevé; tout porte à croire que c'est le scatole.

Sur la croissance des segments radiculaires, il se comporte comme un inhibiteur. Il affecte tous les paramètres de la croissance avec la même efficacité. En cela, son action se distingue de celle de l'ABIA: la substance de croissance inhibe fortement l'allongement, mais ne touche que faiblement le gain en poids sec; le mode d'action du scatole se différencie aussi de celui du DNP: ce poison respiratoire entrave gravement l'accroissement en matériel sec, sans altérer notablement l'allongement (Kobr, 1963).

A notre connaissance, deux travaux seulement étudient l'effet du scatole sur la croissance. Thimann (1958) met en évidence ses propriétés inhibitrices, tant sur le test d'élongation de segments de tiges de pois, que sur le test de courbure (test *Pisum*); il considère le scatole comme une substance capable d'entraver la croissance sans agir par l'intermédiaire du taux auxinique.

Pilet, Bonhôte et Baillod (1959) étudient l'action du scatole sur la croissance en longueur des racines du *Lens*. Ils montrent que cet effecteur, à la concentration de  $1.10^{-5}$  M, inhibe l'allongement radiculaire, et que cette inhibition s'accroît avec le temps. Contrairement à ce qui se passe sur la tige du *Pisum*, il se manifeste dans la racine du *Lens* une nette interaction entre l'ABIA et le scatole; celui-ci entre en antagonisme avec celui-là dès le début du traitement; mais après 4 jours, l'inhibition finale est supérieure à la somme des inhibitions partielles: il se produit un synergisme entre l'ABIA et le scatole.

Nous ne connaissons aucun travail étudiant l'action du scatole sur la respiration.

La réponse de ce phénomène à un traitement au scatole se rapproche beaucoup de celle provoquée par l'ABIA. Comme en présence d'auxine, la consommation d'oxygène n'est inhibée que pour de fortes concentrations.

## *V. Conclusion*

Ainsi, l'hypothèse de travail postulant que l'un au moins des produits de la dégradation enzymatique de l'ABIA est inhibiteur de la respiration, se vérifie.

Nous estimons qu'il est cependant impossible d'interpréter sur cette base l'interaction entre l'ABIA et le DNP au niveau de la respiration.

Il faut rappeler que l'inhibition de la respiration produite par le scatole ne s'installe qu'à partir de concentrations supérieures à  $1.10^{-4}$  M. Or nous avons montré (Kobr, 1963) que l'atténuation par l'ABIA de la stimulation respiratoire produite par le DNP peut survenir pour des concentrations d'ABIA égales à  $5.10^{-6}$  M. A moins de supposer une accumulation de scatole telle que sa concentration dépasse largement celle de l'ABIA endogène qui lui a donné naissance, il faut renoncer à expliquer l'interaction observée par un mécanisme auxines-oxydase.

## *Résumé*

Le traitement combiné de segments radiculaires avec de l'acide  $\beta$ -indolyl-acétique et du 2,4-dinitrophénol entraîne une forte accumulation des produits de la dégradation enzymatique de l'auxine. L'un de ceux-ci, assimilé au scatole, se révèle inhibiteur, et de la croissance, et de la respiration.

## **Bibliographie**

- Andraeae W.A., Good N.E. (1955). Studies on 3-indoleacetic acid metabolism. IV. Conjugation with aspartic acid and ammonia as process in the metabolism of carboxylic acids. *Plant Physiol.* **32**, 566.
- Athanasiades-Mercanton M. Thèse, Fac. Sc. Univ. Lausanne (en préparation).
- Bennet-Clark T.A., Wheeler A.W. (1959). The metabolism of 3-indoleacetic acid in plant tissues. *Jour. exp. Bot.* **10**, 468.
- Bitancourt A.A., Nogueira A.P., Schwarz K. (1961). Pathways of decomposition (catabolic lattice) of indole derivatives. In: *Plant Growth Regulation*, p. 181. The Iowa State University Press, Ames.
- Collet G. (1962). Thèse, Fac. Sc. Univ. Lausanne (sous presse).
- Fawcett C.H., Wain R.L., Wightman F. (1961). Chromatographic investigations on the metabolism of certain indole acids and their amides, nitriles and methylesters in wheat and pea tissues. In: *Plant Growth Regulation*, p. 71. The Iowa State University Press, Ames.
- Fischer A. (1954). Über die papierchromatographische und papierelektrophoretische Trennung von Indolderivaten. *Planta* **43**, 288.
- Galston A.W., Dalberg L.Y. (1954). The adaptive formation and physiological significance of indoleacetic acid oxidase. *Amer. Jour. Bot.* **41**, 373.

- Goldacre P.L. (1961). The indole-3-acetic acid oxidase-peroxidase of peas. In: Plant Growth Regulation, p. 143. The Iowa State University Press, Ames.
- Galston A.W. (1953). The specific inhibition of catalyse by substituted phenols. Arch.Biochem.Biophys. **43**, 169.
- Hillman W.S., Galston A.W. (1956). Interaction of manganese and 2,4-dinitrophenol in the enzymatic destruction of indoleacetic acid. Physiol.Plant. **9**, 230.
- Kobr M. (1963). Actions de l'acide  $\beta$ -indolyl-acétique et du 2,4-dinitrophénol sur la croissance et la respiration des segments apicaux de la racine du *Lens*. Thèse Fac.Sc. Univ.Lausanne. Mém.Soc.vaud.Sc.nat. (sous presse).
- Libbert E. (1961). Die enzymatische Auxinbildung aus Tryptophan unter Einfluß eines nativen Inhibitors. Planta **56**, 1.
- Manning D.T., Galston A.W. (1955). On the nature of the enzymatically catalysed oxidation products of indoleacetic acid. Plant Physiol. **30**, 225.
- Meyer J. (1958). Die photolytischen Abbauprodukte der 3-Indoleessigsäure und ihre physiologische Wirkung auf das Wachstum der *Avena*-Koleoptile. Zeitschr.Bot. **46**, 125.
- Nitsch J.P. (1956). Methods for the investigation of natural auxins and growth inhibitors. In: The Chemistry and Mode of Action of Plant Growth Substances. Wain & Wightman, editors.
- C., Nitsch J.P. (1960). An artefact in chromatography of indolic auxins. Plant Physiol. **35**, 450.
- Pilet P.E. (1957a). Dosage photocalorimétrique de l'acide  $\beta$ -indolyl-acétique : application à l'étude des auxines-oxydases. Rev.gén.bot. **64**, 106.
- (1957b). Variation de l'activité des auxines-oxydases dans les racines du *Lens*. Experientia **13**, 35.
  - (1958). Analyse biochromatographique des auxines radiculaires. Rev.gén.bot. **65**, 605.
  - (1959). Un cas d'adaptation auxines-oxydase (racine). Rev.gén.bot. **66**, 450.
  - (1960a). Dégradation enzymatique de l'acide  $\beta$ -indolyl-acétique C<sup>14</sup>. Rev.gén.bot. **67**, 298.
  - (1960b). Le catabolisme auxinique. Bull.Soc.franc.Physiol.vég. **6**, 119.
  - (1960c). In vitro destruction of auxin labeled with C<sup>14</sup>. Physiol.Plant. **13**, 766.
  - (1961). Auxins and the process of ageing in root cells. In: Fourth international Conference on Plant Growth Regulation, Boyce-Thomson Institute for Plant Research, New York.
  - (1962) L'hydroxy-3 méthyl-3 oxo-2 indole, un des produits possibles du catabolisme de l'acide  $\beta$ -indolylacétique. Bull. Soc. Chim. biol. **44**, 875.
  - Athanasiades-Mercanton M. (1961). Séparation par électrophorèse des composés auxiniques. Techniques et premiers résultats. Bull.Soc.vaud.Sc.nat. **67**, 513.
  - Bonhôte J., Baillod M. (1959). Etude de deux effecteurs auxiniques : le scatole et l'indole. C.R.Acad.Sc. **249**, 2098.
  - Galston A.W. (1955). Auxin destruction, peroxidase activity and peroxide genesis in the roots of *Lens culinaris*. Physiol.Plant. **8**, 888.
  - Kobr M., Siegenthaler P.A. (1960). Proposition d'un test «racine» -*Lens*- pour le dosage auxinique. Méthode et applications. Rev.gén.bot. **67**, 573.
  - Lerch P. (1960). Etude du catabolisme des auxines marquées par du radiocarbone ; méthodes et premiers résultats. Mém.Soc.vaud.Sc.nat. **12**, 213.
- Ray P.M. (1956). The destruction of indoleacetic acid. II. Spectrophotometric study of the enzymatic reaction. Arch.Biochem. **64**, 193.
- (1958). Destruction of auxin. Ann.Rev.Plant Physiol. **9**, 81.
  - Thimann K.V. (1955). Steps in the oxidation of indoleacetic acid. Science **122**, 187.

- Smith I. (1958). Chromatographic techniques. Clinical and biochemical applications. Ivor Smith, editor, London.
- Stowe B., Thimann K.V. (1954). The paper chromatography of indole compounds and some indole-containing auxins of plant tissues. Arch. Biochem. **51**, 499.
- Stutz R.E. (1957). The indole-3-acetic oxidase of *Lupinus albus*. Plant Physiol. **32**, 31.
- Tang Y.W., Bonner J. (1947). The enzymatic inactivation of indoleacetic acid. I. Some characteristics of the enzyme contained in pea seedlings. Arch. Biochem. **13**, 11.
- Thimann K.V. (1958). Auxin activity of some indole derivatives. Plant Physiol. **33**, 311.
- Waygood E.R., Oaks A., Machlachlan G.A. (1956a). On the mechanism of indole-acetic acid oxidation by wheat leaf enzymes. Can. Jour. Bot. **34**, 54.
- (1956b). The enzymically catalysed oxidation of indoleacetic acid. Can. Jour. Bot. **34**, 905.