

Métabolisme du glucose dans le pulvinus secondaire de *Phaseolus vulgaris* L. au cours du mouvement foliaire circadien

Autor(en): **Degli Agosti, Robert / Naidet, Christine / Millet, Bernard**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Botanica Helvetica**

Band (Jahr): **100 (1990)**

Heft 2

PDF erstellt am: **25.09.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-69723>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Métabolisme du glucose dans le pulvinus secondaire de *Phaseolus vulgaris* L. au cours du mouvement foliaire circadien

Robert Degli Agosti¹, Christine Naidet² et Bernard Millet²

¹Laboratoire de Physiologie végétale, Pavillon des Isotopes, 20 bd. d'Yvoy, CH-1211 Genève 4, Suisse

²Laboratoire de Botanique, Faculté des Sciences, Place Leclerc, F-25030 Besançon Cedex, France

Manuscrit accepté le 30 avril 1990

Abstract

Degli Agosti R. Naidet C. and Millet B. 1990. Glucose metabolism in the secondary pulvinus of *Phaseolus vulgaris* L. during the circadian movement of the leaf. Bot. Helv. 100: 249–256.

In the lower half of the secondary pulvinus which is the motor organ for the circadian leaf movement, the interruption of light leads to either a very rapid or a very slow decay in the glucose content. This effect depends on the time when the dark treatment is given during the circadian cycle. Accordingly, the catabolism of glucose in this part of the pulvinus is high when the energy requirement for the rhythmic leaf movement is high. We suggest that the glucose metabolism, and thus most likely the general carbohydrate metabolism, is under the control of the circadian biological clock.

Introduction

Le mouvement des feuilles primaires de *Ph. vulgaris* se manifeste avec une rythmicité circadienne bien caractérisée (Bünning 1977, Degli Agosti et al. 1983). Il est dû à des fluctuations antagonistes du volume des moitiés inférieures et supérieures du pulvinus secondaire situé à la jonction de la feuille et du pétiole (Botton et al. 1989). Nous avons montré que la moitié inférieure peut être considérée comme l'organe moteur de ce mouvement (Millet et al. 1989). Les variations rythmiques du volume du pulvinus sont principalement provoquées par des redistributions des ions potassium et chlore (Schrempf et Mayer 1980, Starrach et Mayer 1989, Degli Agosti et al. 1989a).

Diverses expériences utilisant des inhibiteurs du métabolisme énergétique tels que le CN^- et le N_3^- (Bünning et al. 1965, Mayer 1981), ainsi que l'effet de basses températures (Bünning 1977, Wagner 1963) ou d'absence d'oxygène (Bünning et al. 1965) ont permis de montrer que dans ce mouvement rythmique se succèdent en alternances une phase dépendante de l'énergie et une autre indépendante. Des travaux plus détaillés (Bünning 1977, Mayer 1981) suggèrent que les besoins énergétiques du mouvement sont en opposition de phase avec ceux qui permettent le fonctionnement de l'horloge biologique. Ainsi,

l'élévation et le maintien de la feuille en position horizontale est une phase demandant de l'énergie, alors qu'elle en serait indépendante pour l'horloge biologique.

Chez les organismes vivants, les sucres, en plus de leur rôle de précurseurs pour la plupart des molécules carbonées, sont également une source très importante d'énergie cellulaire. Il nous a donc paru intéressant d'aborder le problème de l'énergie dans le pulvinus du Haricot, en relation avec le rythme foliaire, par l'examen de son contenu en glucose et plus particulièrement en étudiant la dynamique du métabolisme de ce dernier (Jones 1973, Degli Agosti et Greppin 1987).

Matériel et méthodes

Les plantes de haricot (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Mangetout blanc de juillet) sont cultivées dans les mêmes conditions qu'auparavant (Degli Agosti et al. 1989 a), avec une alternance de 14 h de lumière et 10 h d'obscurité (LD: 14/10). La lumière s'éteint à 21h00 et est rétablie à 07h00.

Les plantes sont utilisées après 15 jours de culture. Chaque pulvinus secondaire des feuilles primaires est sectionné longitudinalement en une moitié supérieure et inférieure. Pendant la phase d'obscurité, les échantillons sont prélevés sous lumière verte de faible intensité.

L'extraction du glucose s'opère en introduisant 8 moitiés de pulvinus (40–50 mg), péalablement pesées, dans des tubes en verre contenant 0,5 ml d'éthanol 80%. Chaque tube est fermé afin de le rendre étanche et placé au bain-marie (100 °C) pendant 15 min, procédure qui extrait totalement ce sucre. La solution alcoolique est évaporée à sec (bain-marie 100 °C), puis reprise dans du tampon phosphate (KH₂PO₄ 25 mM pH 6,0). Le glucose est dosé au moyen d'une méthode enzymatique spécifique (Kunst et al. 1984). Nous avons à cet effet utilisé des réactifs prêt-à-l'emploi (SIGMA, kit no. 510-DA), modifiés comme suit: l'o-dianisidine est ajoutée à l'extrait à une concentration finale (c.f.) de 0,52 mg ml⁻¹. Une première lecture de l'absorption à 450 nm (zéro) est effectuée avec un spectrophotomètre (Jobin-Yvon Labospac). De la glucose-oxydase (65,4 U ml⁻¹, c.f.) et de la peroxidase (13 U ml⁻¹, c.f.), solubilisées dans le tampon de réaction, sont ajoutées. Après 25 min d'incubation à température ambiante (20–25 °C), une seconde lecture de l'absorption à 450 nm est faite. La teneur en glucose est alors déterminée en se référant à une droite d'étalonnage établie dans les conditions du dosage avec des concentrations de 0–20 mg l⁻¹ de glucose pur. Les résultats sont exprimés en μ mole par gramme de matière fraîche (PF). L'adjonction d'un standard interne de cet hexose avant l'extraction se retrouve au dosage (95%–98%).

Le mouvement des feuilles primaires du haricot a été enregistré comme décrit par Millet et al. (1989).

Les analyses de variance sont effectuées comme décrit par Brandt (1976).

Résultats

La fig. 1 représente le mouvement des feuilles primaires d'une plante de haricot âgé de 15 jours. Le rythme est bien synchronisé avec l'alternance jour-nuit (LD: 14/10) et l'on peut aisément constater qu'aussi bien l'élévation que l'abaissement des feuilles débute avant que les signaux d'enclenchement et d'extinction de la lumière n'aient lieu, ce qui est une caractéristique des rythmes biologiques endogènes. Chez les mêmes plantes âgées de 15 jours, lorsqu'après 4 h d'éclairement on éteint la lumière (à 11 h locales), alors les feuilles s'abaissent très rapidement (10–20 min), mais incomplètement, puis retournent à leur position dite de «jour» (fig. 2). Dans ce cas, le début de l'abaissement complet se trouve retardé de quelques heures par rapport au rythme observé dans les conditions normales (comparer fig. 1 et fig. 2). La fig. 3 montre que la masse (ou le poids frais) de la moitié inférieure et supérieure (résultat non illustré) varie de manière rythmique au

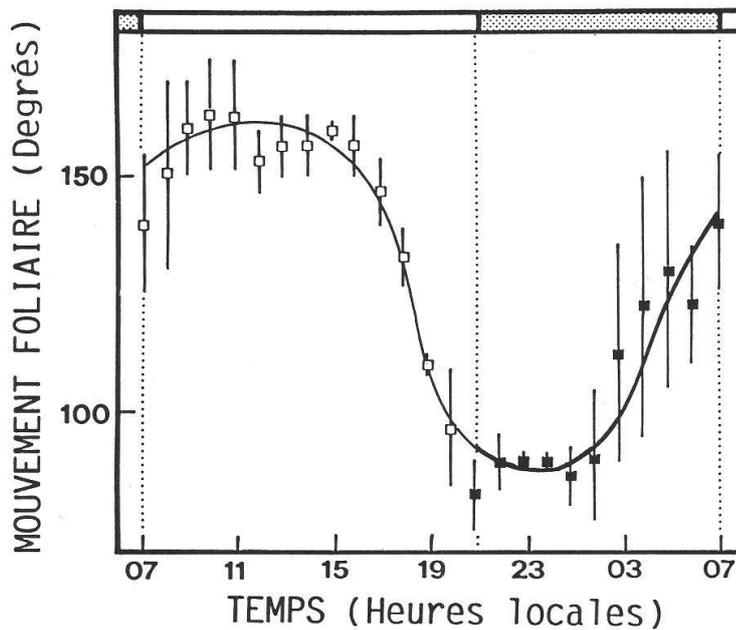


Fig. 1. Mouvement des feuilles primaires du Haricot au cours d'un cycle journalier (LD: 14/10). Un angle de 180° correspond à la position horizontale des feuilles. Les points sont les moyennes et les barres les écarts-types de 3 enregistrements indépendants.

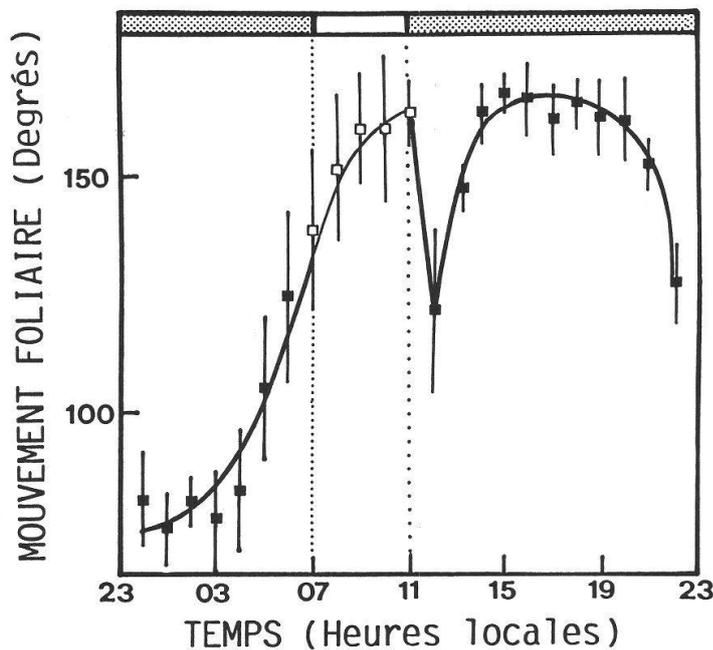


Fig. 2. Effet d'une interruption de la lumière sur le mouvement foliaire des feuilles primaires du haricot. Un angle de 180° correspond à la position horizontale des feuilles. Les points sont les moyennes et les barres les écarts-types de 3 enregistrements indépendants.

cours du temps. Ce rythme est tout à fait en accord avec celui du mouvement foliaire (fig. 1).

La fig. 4 représente l'évolution de la teneur en glucose rapportée au poids frais dans la moitié supérieure du pulvinus du haricot. En régime d'éclairage normal (LD: 14/10), on observe, dès l'enclenchement de la lumière, une élévation de la concentration en

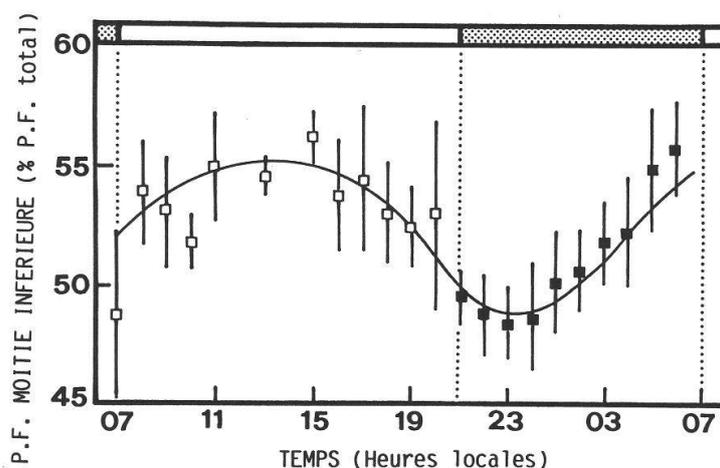


Fig. 3. Evolution du poids frais de la moitié inférieure des pulvinus secondaires exprimé en % du poids frais total au cours d'un cycle journalier (LD: 14/10). Les points sont les moyennes de 3 à 5 mesures et les barres leurs écarts-types. Les valeurs sont significativement dépendantes du temps (analyse simple de variance: $F = 5,2$; $F(21,88) = 3,0$, $P = 0,001$).

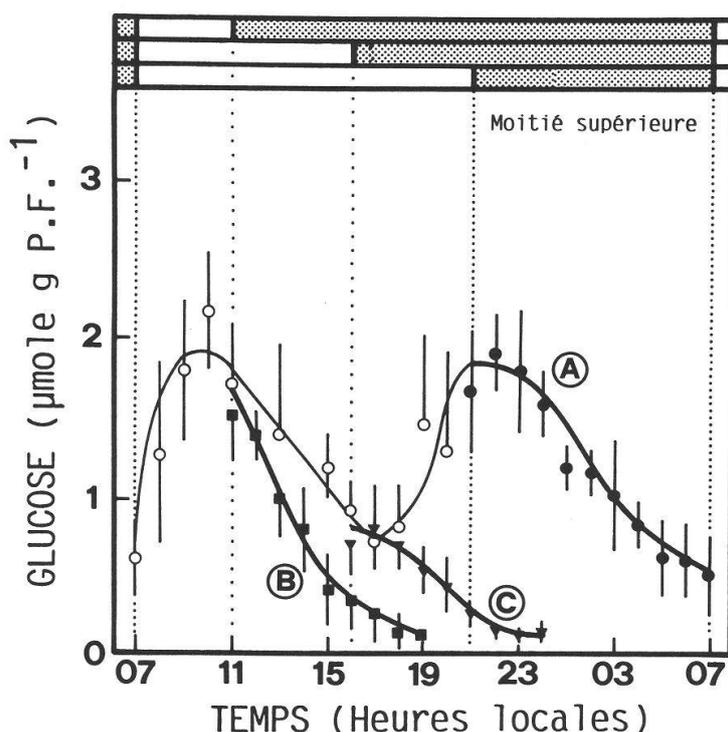


Fig. 4. (A) Evolution de la teneur en glucose de la moitié supérieure du pulvinus secondaire du haricot en fonction du cycle journalier (o, ●). (B) lors d'une extinction à 11 h (■) et (C) à 16 h (▼). Les points sont les moyennes de 3 à 5 extraits et les barres leurs écarts-types. Pour éviter une superposition de ces derniers, la moitié de certaines barres a été omise.

glucose pendant les premières heures, suivie par une diminution progressive jusqu'à environ 17 h. Le minimum est atteint après 10 h de lumière. Ensuite, une brusque élévation de ce sucre a lieu, interrompue par l'extinction de la lumière à 21 h (fig. 4, courbe A). A l'obscurité, après une courte période de latence, le glucose diminue régulièrement. Lorsque la plante est placée à l'obscurité après 4 h d'éclairage (11 h locales,

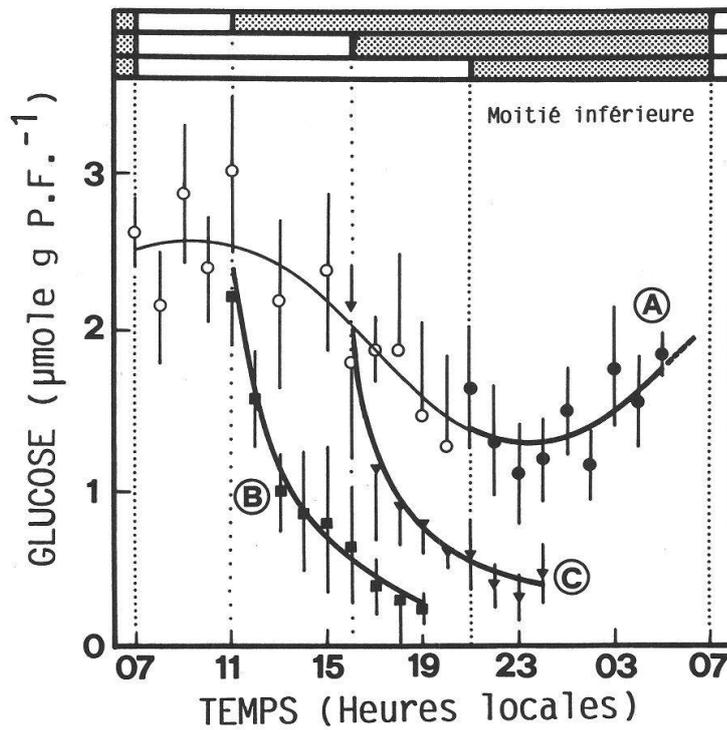


Fig. 5. (A) Evolution de la teneur en glucose de la moitié inférieure du pulvinus secondaire du haricot en fonction du cycle journalier (○, ●). (B) lors d'une extinction à 11 h (■) et (C) à 16 h (▼). Les points sont les moyennes de 3 à 5 extraits et les barres leurs écarts-types. Pour éviter une superposition de ces derniers, la moitié de certaines barres a été omise.

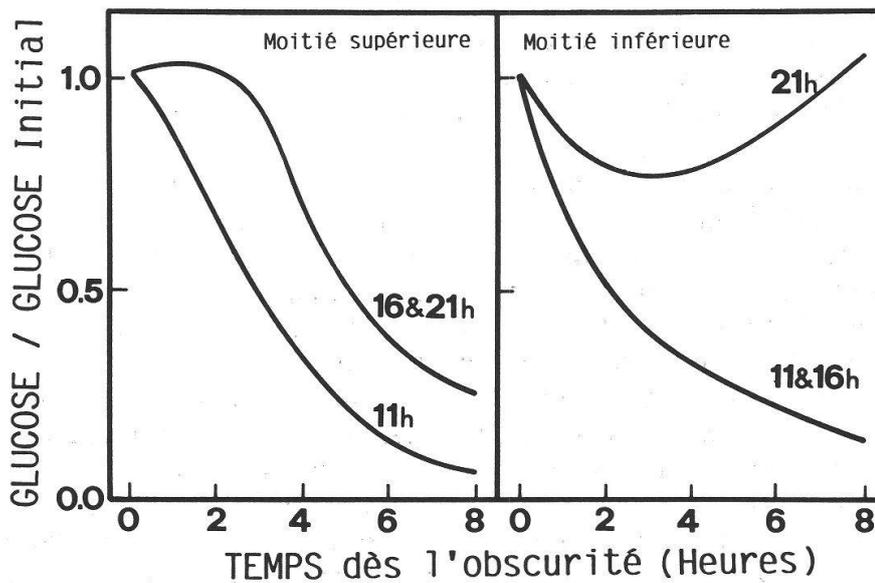


Fig. 6. Représentation schématique des cinétiques normalisées de glucose dans les moitiés supérieures et inférieures de pulvinus secondaire de haricot mis à l'obscurité aux différentes heures mentionnées (11, 16 et 21 h).

fig. 4, courbe B), le glucose diminue très rapidement. L'extinction de la lumière après 9 h d'éclairement (16 h locales, fig. 4, courbe C) provoque également une diminution, mais après une courte phase de latence.

Dans la moitié inférieure du pulvinus du haricot, la teneur en glucose varie au cours du cycle en phase avec le mouvement foliaire (fig. 5, courbe A et fig. 1). L'extinction de la lumière à 11 h ou 16 h locales (fig. 5, courbes B et C) provoque dans les deux cas une rapide diminution de la concentration de cet hexose, ce qui contraste nettement avec l'extinction de la lumière à 21 h (fig. 5, courbe A).

Pour permettre des comparaisons entre les différentes expériences, nous avons normalisé les diminutions de glucose représentées aux figs. 4 et 5 par rapport à la teneur initiale avant l'extinction de la lumière. Des analyses de variance permettent alors de comparer ces données: dans la moitié supérieure des pulvinus la cinétique de 11 h est différente de celle de 16 h ($F = 53.2$; $F(1,126) = 11.3$, $P = 0.001$) et celle-ci est égale à celle de 21 h ($F = 0.6$; $F(1,54) = 4.0$, $P = 0.05$). Pour la moitié inférieure: la cinétique de diminution du glucose à 11 h est la même que celle de 16 h ($F = 3.8$; $F(1,126) = 3.9$, $P = 0.05$), mais celle-ci est différente de celle 21 h ($F = 97.1$; $F(1,54) = 12.0$, $P = 0.001$). Ces derniers résultats sont schématisés à la fig. 6.

Discussion

Les teneurs en glucose des moitiés de pulvinus sont exprimées par rapport au poids frais. Or celui-ci varie lors du mouvement foliaire (fig. 3). Cependant, la variation maximale du poids frais est d'environ 10%, alors que celle du glucose est de l'ordre de 100%. De plus, en ce qui concerne la moitié inférieure, la fluctuation de la concentration en glucose est en phase avec celle du poids frais. Si la variation de poids frais devait être à l'origine des modifications de concentration du glucose, alors on observerait dans le temps deux phénomènes en opposition de phase, ce qui n'est pas le cas (fig. 3 et 5).

L'interruption de la lumière, alors que la feuille est en position élevée, se traduit par un abaissement momentané de celle-ci qui reprend sa position après quelques heures (fig. 2). Dans les mêmes conditions, le glucose diminue dans la moitié inférieure du pulvinus et reste finalement à une concentration très basse (fig. 5, courbe B): ces faits démontrent, contrairement à ce que la comparaison des fig. 3 et 5 aurait pu suggérer, que le glucose ne joue pas un rôle osmotique déterminant dans le mouvement circadien.

Les fluctuations de glucose sont très différentes dans les deux moitiés de pulvinus. Cependant, dans chaque cas les résultats montrent l'existence d'un contrôle endogène autre que photosynthétique de la concentration en glucose dans le temps et donc de son métabolisme local. Ainsi, dans la moitié supérieure, la photosynthèse semble jouer un rôle dans l'élévation de la teneur de cet hexose au début de la phase lumineuse de la journée, mais le fait que ce sucre diminue par la suite, toujours en présence de lumière, montre bien l'aspect local de la régulation, car dans la feuille les sucres, sous l'effet prédominant de la photosynthèse, s'accumulent régulièrement chez le haricot (Fondy et al. 1989). L'hypothèse de la prédominance du contrôle local non photosynthétique est encore renforcée par le fait que l'on observe une brusque augmentation après une durée d'éclairement de 8–9 h (fig. 4, courbe A). Cet accroissement nous paraît de nature très semblable à celui observé chez d'autres plantes après de telles durées de lumière (Degli Agosti et al. 1989 b). Dans ces travaux, il a été montré que de telles augmentations sont sous contrôle d'une horloge biologique. En ce qui concerne la moitié inférieure, la

photosynthèse nous paraît être encore moins impliquée, au profit du contrôle par le pulvinus.

Si l'on admet qu'une grande partie des fluctuations de glucose sont dues aux besoins locaux, alors nous pouvons considérer que la manière dont le glucose est utilisé reflète en prédominance l'état du besoin ou des flux d'énergie lié au fonctionnement du mouvement foliaire ou de l'horloge biologique. La fig. 6 montre clairement que des alternances de ces états énergétiques existent. Dans la moitié inférieure du pulvinus (organe moteur), nos résultats montrent que les dynamiques de consommation du glucose sont le plus élevées lorsque la feuille est en position horizontale (fig. 6), ce qui nous paraît logique. Or Mayer (1981) a montré que les besoins énergétiques pour le fonctionnement de l'horloge biologique sont pratiquement totalement déphasés avec ceux du mouvement: la phase indépendante de l'énergie pour l'horloge biologique se situe lorsque la feuille est en position élevée. Ces considérations nous permettent donc d'associer le catabolisme accru du glucose avec les besoins énergétiques du mouvement foliaire. Dans cette situation, c'est l'horloge biologique circadienne qui contrôle la teneur en glucose et très probablement le métabolisme des sucres en général.

Resumé

Dans la moitié inférieure du pulvinus secondaire, qui est l'organe moteur du mouvement foliaire circadien, l'interruption de la lumière provoque une diminution très rapide ou très lente de la teneur en glucose. Cet effet dépend du moment où l'obscurité est donnée pendant le cycle circadien. Le catabolisme du glucose dans cette partie du pulvinus est le plus élevé lorsque le besoin en énergie pour le mouvement foliaire rythmique l'est également. Nous suggérons que le métabolisme du glucose, et donc très probablement celui des sucres en général, est sous contrôle de l'horloge biologique circadienne.

Bibliographie

- Botton A. M., Millet B. et Mercier J. 1989. Structure du pulvinus secondaire de *Phaseolus vulgaris* L. au cours du mouvement foliaire circadien. Ann. Sci. Univ. Fr.-Comté, Basançon, Biologie-Ecologie 5: 1-7.
- Brandt S. 1976. Statistical and computational methods in data analysis. 2. ed. North-Holland Publishing Co., Amsterdam, 414 pp.
- Bünning E. 1977. Die Physiologische Uhr. Circadiane Rhythmik und Biochronometrie. 3. Aufl., Springer, Berlin Heidelberg New York, 176 S.
- Bünning E., Kurras S. und Vielhaben V. 1965. Phasenverschiebungen der endogenen Tagesrhythmik durch Reduktion der Atmung. Planta 64: 291-300.
- Degli Agosti R., Bonzon M. et Greppin H. 1983. Mouvement de la feuille du haricot: emploi de la démodulation complexe. Saussurea 14: 87-97.
- Degli Agosti R. et Greppin H. 1987. Mise en évidence de deux types de contrôle du glucose chez l'épinard (*Spinacia oleracea* L. cv. Nobel): analyse mathématique et modèle en jour court et lors de la variation de photopériode inductrice de la floraison. Saussurea 18: 45-54.
- Degli Agosti R., Blaise M. O. et Millet B. 1989a. Redistributions du potassium dans le pulvinus secondaire de *Phaseolus vulgaris* L. au cours du mouvement foliaire circadien. Bot. Helv. 99: 179-188.
- Degli Agosti R., Bonzon M. and Greppin H. 1989b. Photoperiodic floral induction and glucose content changes in spinach, mustard and *Chenopodium rubrum*. Bot. Helv. 99: 73-79.

- Fondy B. R., Geiger D. R. and Servaites J. C. 1989. Photosynthesis, carbohydrate metabolism, and export in *Beta vulgaris* L. and *Phaseolus vulgaris* L. during square and sinusoidal light regimes. *Plant Physiol.* 89: 396–402.
- Kunst A., Draeger B. and Ziegenhorn J. 1984. D-Glucose. Colorimetric methods with glucose oxidase and peroxidase. In: Bergmeyer H. U. (ed.). *Methods in enzymatic analysis*. 3. ed. vol. VI, pp. 178–185.
- Jones R. W. 1973. *Principles of biological regulation*. Academic Press. New York & London, 359 pp.
- Mayer W.-E. 1981. Energy-dependent phases of the circadian clock and the clock-controlled leaf movement in *Phaseolus coccineus* L. *Planta* 152: 292–301.
- Millet B., Coillot L. and Degli Agosti R. 1989. The rhythmic leaf movements after regeneration of partially excised pulvinus in *Phaseolus vulgaris* L. *Plant Cell Physiol.* 30: 643–648.
- Schrenpf M. and Mayer W.-E. 1980. Electron microprobe analysis of the circadian changes in K and Cl distribution in the laminar pulvinus of *Phaseolus coccineus* L. *Z. Pflanzenphysiol.* 100: 247–255.
- Starrach N. and Mayer W.-E. 1989. Changes in the apoplastic pH and K⁺ concentration in the *Phaseolus* pulvinus *in situ* in relation to rhythmic leaf movements. *J. Exp. Bot.* 217: 865–873.
- Wagner R. 1963. Der Einfluß niedriger Temperatur auf die Phasenlage der endogenen tagesperiodischen Blattbewegungen von *Phaseolus multiflorus*. *Z. Bot.* 51: 179–204.