

SUR L'HÉTÉROGÉNÉITÉ PLASTIDIALE CHEZ L'ACÉTABULAIRE ÉTUDE DE LA FLUORESCENCE ÉMISE À LA TEMPÉRATURE DE L'AZOTE LIQUIDE*

C. SIRONVAL, S. BONOTTO et R. KIRCHMANN

*Laboratoire de Photobiologie, Département de Botanique,
Université de Liège et Département de Radiobiologie,
C.E.N. — S.C.K., B-2400 Mol (Belgique)*

(Reçu le 18 Octobre, 1972)

SUMMARY

On the plastidial heterogeneity in Acetabularia. Study of the fluorescence emission at the temperature of liquid nitrogen

The authors have studied, by means of low temperature fluorescence techniques, the features of the chloroplasts of the different regions of the stalk in *Acetabularia mediterranea*. It was found that the tip region, the middle region and the basal region of the stalk behave differently as regards their fluorescence emission at low temperature, a fact which suggests morphological and perhaps functional differences between the chloroplasts of these three regions of the cell.

INTRODUCTION

Lorsque des cellules vertes intactes sont gelées sous azote liquide, leur émission de fluorescence montre en général une bande prépondérante à des longueurs d'onde supérieures à 700 nm, usuellement autour de 720 à 740 nm (réf. 1). Cette bande est accompagnée d'une autre, d'importance variable, mais souvent mineure, à 695–697 nm. En outre, une troisième bande, également mineure, est visible à 685 nm. Au cours de l'ontogenèse des organes verts, l'intensité relative de ces bandes varie: les bandes 685 et 695–697 se forment d'abord; la bande située entre 720 et 740 nm est de plus en plus marquée au fur et à mesure du verdissement accompagnant la formation et la croissance du système lamellaire des plastes^{1,2}.

Tout traitement capable d'affecter ou de détruire l'organisation des lamelles modifie également la forme du spectre d'émission dans l'azote liquide. En général, la désorganisation de la structure lamellaire provoque la disparition

* Les tirés à part peuvent être demandés à l'adresse: Laboratoire de Photobiologie, Département de Botanique, Université du Sart-Tilman, B-4000 Liège (Belgique).

de l'émission à 720—740 nm et la croissance de l'émission à 685 nm. Indépendamment de l'interprétation qu'on peut leur donner, ces changements permettent d'estimer l'effet d'un agent désorganisant, et la plus ou moins grande résistance de la structure lamellaire à son action. Ainsi, si on soumet une feuille de haricot qui commence à verdier en régime d'éclairs répétés² à un seul traitement consistant à refroidir la feuille brusquement dans l'azote liquide, à la réchauffer ensuite à la température de $\pm 37^\circ$, puis finalement à la refroidir à nouveau dans l'azote liquide (c'est ce que nous appelons ci-après un "traitement chaud—froid"), l'émission à 720—740 disparaît dans une très large proportion. Ce résultat témoigne de la fragilité de la structure des thylakoïdes primaires en formation². Au contraire, il faut un grand nombre de traitements chaud—froid successifs pour obtenir un changement de la forme du spectre d'émission dans l'azote liquide chez une feuille dont le verdissement en régime d'éclairs est plus avancé, et surtout chez une feuille verte ordinaire: la structure du système thylakoïdal est alors très différente.

Comme l'aspect général des chloroplastes n'est visiblement pas le même dans les différentes zones apicale, centrale et basale, qu'on peut définir le long d'une cellule d'Acétabulaire en croissance³, nous avons pensé qu'il serait possible d'éprouver l'état de leur structure lamellaire au sens le plus large en ayant recours au test des traitements chaud—froid répétés.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

(a) Culture des algues

Les algues *Acetabularia mediterranea* Lamouroux, sont cultivés selon la méthode décrite par Lateur⁴, à $20 \pm 1^\circ$ et à 1800—2000 lux (Tubes Phytor, LF-40W, ACEC), la lumière étant donnée pendant 12 h, entre 9 du matin et 9 du soir.

(b) Schéma expérimental

Des cellules d'Acétabulaires au stade 4 (réf. 5) sont étalées côte à côte en nombre variable sur un portoir spécial⁶ de façon que la région apicale, centrale ou basale des cellules soit comprise dans la fenêtre du portoir. Le portoir est ensuite immédiatement congelé dans l'azote liquide. On excite à -196° la région choisie de l'algue à l'aide de la raie à 436 nm d'une lampe à vapeur de mercure. La fluorescence émise est envoyée dans un fluorimètre Zeiss adapté selon Sironval *et al.*^{2,6}. On registre un premier spectre de fluorescence représentant la région choisie au départ. Le portoir est ensuite réchauffé à $+37^\circ$ (en environ 60 à 120 sec) puis replongé aussitôt dans l'azote liquide (= un traitement chaud—froid). On enregistre un second spectre. On procède ainsi, de traitement chaud—froid à traitement chaud—froid jusqu'au 25^e traitement, à la suite duquel le dernier spectre de fluorescence est enregistré. Les portoirs contenant les morceaux d'algues provenant des trois régions sont traités identiquement.

RÉSULTATS

Au départ, les spectres des trois régions apicale, centrale et basale montrent toutes la juxtaposition, en une seule bande très large, d'une émission à 696 nm et d'une émission à 711–712 nm. L'une de ces émissions est souvent un peu plus prononcée que l'autre, mais elles ne permettent pas de distinguer les trois régions de l'algue sans risque d'erreur, bien que la situation représentée sur la Fig. 1 soit souvent rencontrée. L'effet des traitements chaud–froid dépend par contre des régions. De traitements chaud–froid en traitements chaud–froid, on voit se détacher plus ou moins nettement, à partir de la large bande de départ, une émission autour de 685–690 nm dans toutes les régions sans exception. L'intensité relative de cette émission décroît régulièrement de la région apicale à la région basale de l'algue. Par ailleurs, tandis que, dans la région apicale, l'émission initiale autour de 711–712 nm tend à disparaître (parfois très nettement) et à se déplacer vers 700–705 nm, elle s'intensifie au contraire et se déplace à peine dans les régions centrale et basale.

Ces phénomènes sont illustrés par les Figs. 1–4. Dans la Fig. 1, on a normalisé à une valeur arbitraire constante la valeur de l'intégrale des intensités

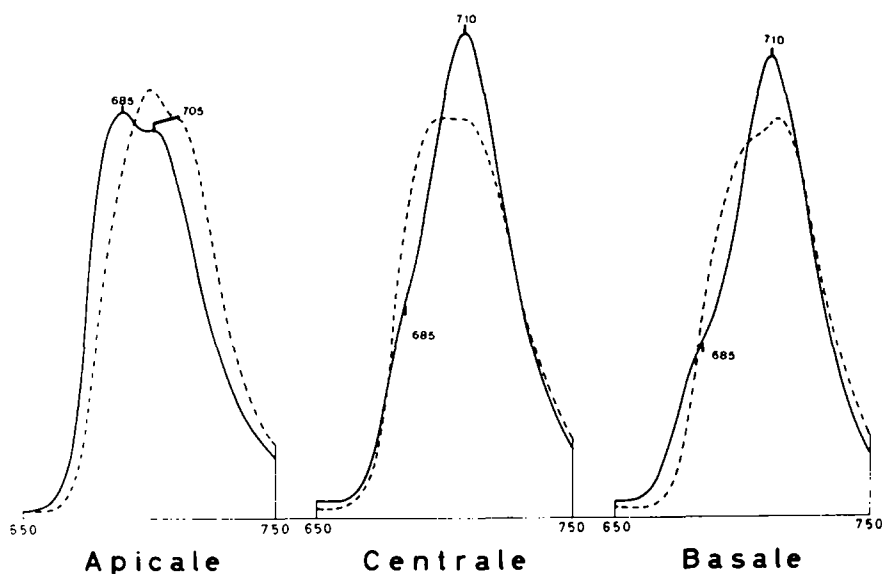


Fig. 1. Effet de 15 traitements chaud–froid répétés sur la forme des spectres d'émission à la température de l'azote liquide des régions apicale, centrale et basale de la cellule d'Acétabulaire. — —, spectres au départ; —, spectres après 15 traitements chaud–froid successifs. 20 algues ont été déposées sur les portoirs. En abscisse, la longueur d'onde en nm; en ordonnée, l'intensité de la fluorescence.

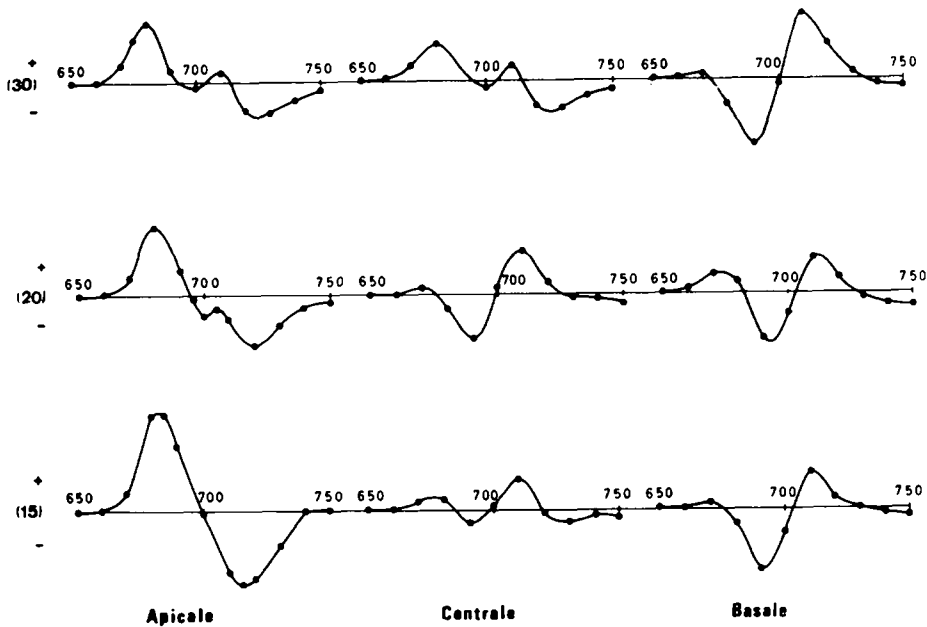


Fig. 2. Spectres de différence entre les émissions normalisées

$$\int_{\lambda=650}^{\lambda=750} I_{\lambda} d\lambda = Cte$$

avant et après 15 traitements chaud-froid successifs donnés aux 3 régions apicale, centrale et basale de l'algue. Nombre de cellules étalées par portoir pour l'enregistrement des spectres de fluorescence d'une région donnée: en haut, 30 cellules; au milieu, 20 cellules; en bas, 15 cellules. Émissions enregistrées à -196° . En abscisse, la longueur d'onde; en ordonnée, la différence: (Fluorescence après 15 traitements chaud-froid - fluorescence avant ces traitements).

de l'émission

$$I = \int_{\lambda=650}^{\lambda=750} I_{\lambda} d\lambda$$

entre 650 et 750 nm, ce qui a permis de tracer les spectres de différence de la Fig. 2. Cette figure reproduit les données de trois expériences semblables faites en disposant 15, 20 ou 30 algues sur les portoirs. La différence enregistrée est

$$I_{(15 \text{ traitements})}^{\lambda} - I_{(\text{départ})}^{\lambda}$$

On voit que les changements spectraux sont parfaitement reproductibles, et qu'ils sont indépendants du nombre de morceaux d'algues présents par portoir ce qui exclut l'intervention d'une réabsorption de l'émission. L'opposition basale-apicale est évidente. Dans la région apicale: forte croissance de l'émiss-

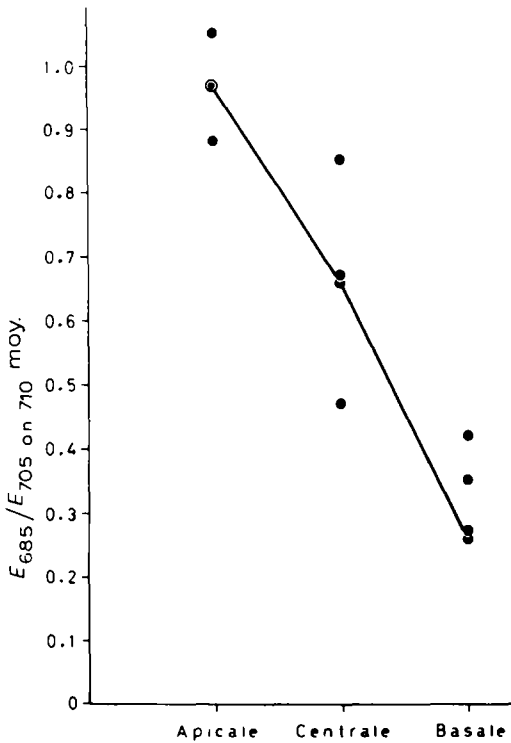


Fig. 3. Valeurs du rapport de l'intensité de l'émission à 685 nm à l'intensité de l'émission à 705 nm (région apicale) ou 710 nm (région centrale ou basale), mesurées après 15 traitements chaud—froid [E_{685}/E_{705} ou 710 , en ordonnée] dans les régions apicale, centrale et basale, en abscisse. Les points représentent 4 mesures distinctes. 20 algues par portoir. Emission enregistrées à -196° .

sion à 685 nm, décroissance autour de 715 nm; dans la région basale: légère croissance à 685 nm, décroissance à 696 nm et croissance à 710 nm.

La Fig. 3 montre que les rapports entre les intensités des émissions à 685 nm et à 705 ou 710 nm après 15 traitements chaud—froid caractérisent les trois zones sans ambiguïté. Enfin, la Fig. 4 suit le déplacement de traitement chaud—froid à traitement chaud—froid de la composante de l'émission initiale qui se situe autour de 711—712 nm. Elle fait voir que le phénomène est pratiquement achevé après 5 à 10 traitements, mais que sa description cinétique complète serait complexe.

DISCUSSION

On voit mal comment on pourrait interpréter les faits autrement qu'en admettant une hétérogénéité plastidiale chez l'Acétabulaire. Il est en tout cas clair que les rapports entre les pigments intralamellaires, et/ou les rapports entre ces pigments et les lipoprotéines lamellaires, sont modifiés par le même traite-

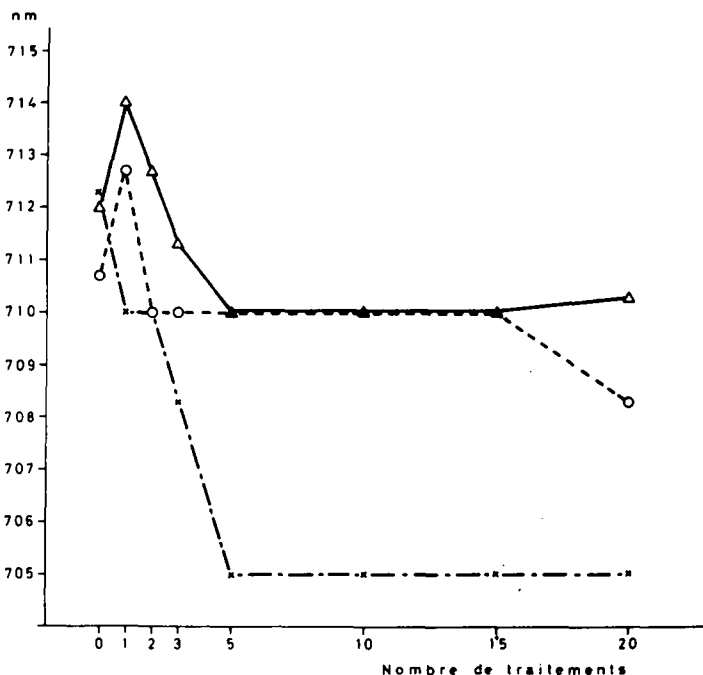


Fig. 4. Déplacement de la composante du spectre d'émission se trouvant au départ (0 traitement chaud-froid) à 711–712 nm, de traitement chaud-froid à traitement chaud-froid. En ordonnée, la position de l'émission; en abscisse, le nombre de traitements chaud-froid successifs. Emission enregistrées à -196° . x—x, apicale; o—o, centrale; Δ — Δ , basale.

ment d'une manière qui dépend de la zone de la cellule où les plastes sont localisés. L'hétérogénéité concerne la lamelle plastidiale elle-même ou le milieu qui l'entoure.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient MM. R. Cremer et E. Fagniard qui les ont aidés pour les expériences.

Ce travail a été effectué en partie grâce aux subsides du "Fonds de la Recherche Scientifique Fondamentale Collective".

BIBLIOGRAPHIE

- 1 J.C. Goedheer, dans: C. Sironval (Ed.), *Le Chloroplaste*, Masson, Paris, 1967, p. 77.
- 2 C. Sironval, R. Kirchmann, R. Bronchart et J.M. Michel, *Photosynthetica*, 2 (1968) 57.
- 3 S. Puiseux-Dao et A.C. Dazy, dans: J. Brachet et S. Bonotto (Eds.), *Biology of Acetabularia*, Academic Press, New York, 1970, p. 111.
- 4 L. Lateur, *Rev. Alg.*, N.S., 1 (1963) 26.
- 5 S. Bonotto et R. Kirchmann, *Bull. Soc. Roy. Bot. Belg.*, 103 (1970) 255.
- 6 C. Sironval, M. Brouers, J.M. Michel et Y. Kuyper, *Photosynthetica*, 2 (1968) 268.