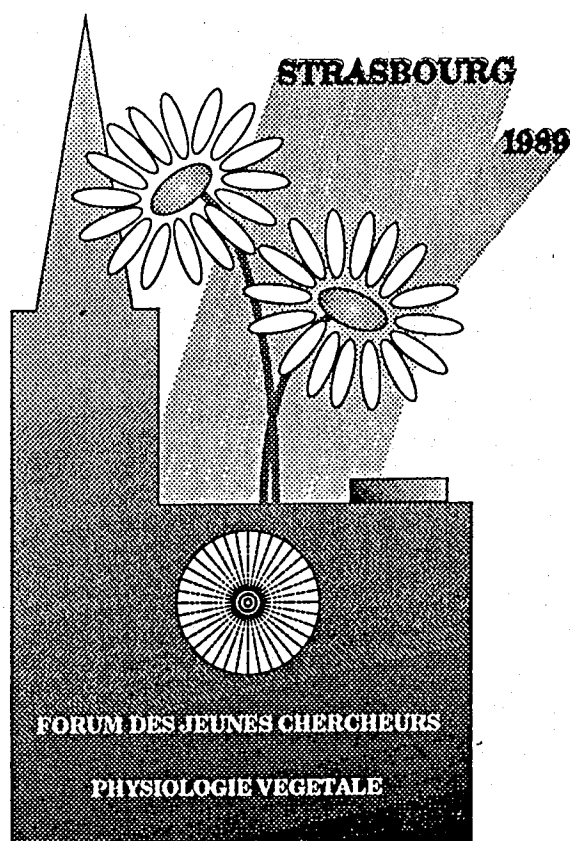


IIème FORUM
DES JEUNES CHERCHEURS
DE
PHYSIOLOGIE VEGETALE



INSTITUT DE BOTANIQUE

INSTITUT DE BIOLOGIE
MOLECULAIRE DES PLANTES

CNRS - UNIVERSITE LOUIS PASTEUR

STRASBOURG
7 - 8 Septembre 1989

REGULATION ENZYMATIQUE DE LA BIOSYNTHESE DE L'ALGINE A PARTIR DU MANNITOL ET DU SORBITOL, CHEZ LES ALGUES BRUNES

QUILLET Marcel et DE LESTANG-BREMOND Geneviève
Laboratoire de Physiologie Végétale, Université Catholique de l'Ouest, ANGERS.

L'algine est une substance gélifiante extraite en grande quantité des parois des Algues brunes. Chimiquement, elle est composée d'acide polymannuronique MM et d'acide polyguluronique GG, unis par des séquences mixtes (MG). Les proportions respectives conditionnement les propriétés.

Jusqu'à présent il était admis que la synthèse de l'acide mannuronique à partir du mannitol était PREMIERE et que l'acide guluronique provenait de la transformation enzymatique de l'acide mannuronique par une C5 épimérase découverte naguère (1974) par HAUG et LARSEN, dans le milieu de culture d'*Azotobacter vinelandii*, bactérie construisant une algine typique, acétylée.

Nous avons récemment découvert une autre voie de synthèse, produisant DIRECTEMENT l'acide guluronique à partir du D-sorbitol et du D-sorbitol-6-P, isolés chez toutes les espèces d'Algues brunes.

Or le D-sorbitol-6-P n'est autre que le L-gulitol-1-P. D'où l'intuition qu'il était le précurseur de l'acide guluronique. Préparé à l'état radioactif ¹⁴C, et inoculé à des portions jeunes d'algues en croissance rapide (*Sargassum muticum* et *Fucus vesiculosus*), nous avons obtenu effectivement des segments GG fortement marqués, tandis que les MM restaient non marqués.

Les étapes des transformations enzymatiques du sorbitol-phosphate sont, selon toute vraisemblance, parallèles aux étapes de la transformation du mannitol-P en acide mannuronique. Mais ces 2 voies de synthèse sont indépendantes.

Une 1ère régulation s'exerce au niveau de la phosphorylation des polyalcools, apportant l'énergie nécessaire à leurs transformations en acides uroniques.

L'analyse des segments mixtes poly (MG) révèle une seconde régulation : dans les conditions de notre expérience, elle a débuté plus tardivement. Au bout de 24 h on commençait à voir un marquage de l'acide M dans les segments MG. Au bout de 72 h, leur radioactivité était devenue aussi importante que celle de l'acide G. Ce marquage ne pouvait provenir que de la transformation de G marqué en M marqué, par la C5-épimérase, agissant dans le sens G→M, inverse de celui qui était seul connu. L'activité est modulable par le calcium.

CARACTERISATION PARTIELLE DES PROPRIETES CINETIQUES ET HYSTERETIQUES DE LA PYRUVATE DECARBOXYLASE DE RIZ.

RIVOAL Jean, RICARD Bérénice, PRADET Alain.

Station de Physiologie Végétale, INRA, BP 131, 33140 Pont de la Maye.

Notre laboratoire a montré que la mise en place des voies fermentaires lors d'une transition normoxie/anoxie diffère chez le riz de la situation rencontrée chez les autres végétaux. Afin de tenter d'expliquer cette situation, la PDC, catalysant la première étape de la fermentation alcoolique, a été purifiée à partir d'un broyat de graines sèches enrichi en embryons. Les propriétés de l'enzyme purifiée ont été étudiées.

La PDC de riz a un comportement coopératif pour son substrat, le pyruvate, dans la gamme de concentration 0.1 à 0.4 mM existant *in vivo*. Le pH optimum de l'enzyme se situe à 6.1. Des études de la renaturation de l'apoenzyme avec ses cofacteurs (Mg²⁺ et TPP), montrent que la PDC possède du Mg²⁺ fortement lié et qu'il est peu probable que le Mg²⁺ régule le passage apoenzyme/holoenzyme de la PDC *in vivo*. La PDC est inhibée compétitivement par les anions tels que le Cl⁻ et le phosphate. Les propriétés hystérétiques de la PDC de riz diffèrent de celles déjà décrites pour l'enzyme de blé et de maïs : pour une concentration en substrat donnée ou à un pH donné, le temps de latence est toujours plus faible chez l'enzyme de riz.

Ces résultats sont en faveur de l'hypothèse selon laquelle les propriétés de la PDC permettent une mise en place immédiate de la fermentation alcoolique chez le riz.

METABOLISME DU CHLOROTOLURON DANS DES MICROSOMES DE BLE.

MOUGIN Christian, CABANNE Ferdinand et SCALLA René

Laboratoire des herbicides, I.N.R.A., BV 1540, 21034 DIJON Cedex

Le métabolisme du chlorotoluron, un herbicide du type phénylurée, a été obtenu *in vitro* en utilisant des microsomes isolés d'une culture cellulaire de blé (*Triticum aestivum*). Les réactions mises en jeu *in vitro* étaient identiques à celles notées dans les plantes. Elles donnaient naissance à deux métabolites soit par N-déméthylation soit par hydroxylation du méthyle lié au cycle aromatique. Les deux réactions étaient obtenues en présence d'oxygène moléculaire et de NADPH.

L'hydroxylase était inhibée par le CO, et l'inhibition était partiellement levée par la lumière. De plus, elle était localisée sur gradient de sucrose dans une fraction membranaire qui contenait aussi la CA4H, la IC-LAH et la NADPH-cyt c réductase. Il en résulte que l'activité hydroxylase semble être assurée par un système enzymatique du type cytochrome P-450.

Par sa localisation cellulaire et sa dépendance vis-à-vis du NADPH en aérobiose, l'activité N-déméthylase présentait des propriétés similaires à celles de l'activité hydroxylase. Toutefois, elle montrait des caractéristiques différentes : insensibilité au CO et possibilité d'une activité en anaérobiose en présence d'hydroperoxyde de cumène. De nouveaux résultats sont donc nécessaires pour établir si cette activité est également sous la dépendance d'un cytochrome P-450.

KENOBIOTIC METABOLISM IN HIGHER PLANTS: ARYL HYDROXYLATION OF DICLOFOP BY A CYTOCHROME P-450 ENZYME FROM WHEAT MICROSOMES.

ZIMMERLIN Alfred and DURST Francis

Laboratoire d'Enzymologie Cellulaire et Moléculaire, Université Louis Pasteur, Institut de Botanique, CNRS UA 1182, 28, rue Goethe, F-67083 Strasbourg Cedex

There is ample evidence that many instances of herbicide resistance are based on metabolism. In very few cases, however, have the enzymes involved been identified and characterized. The herbicide diclofop-methyl is used for post-emergent control of wild oat and other grasses in cereal crops such as wheat. Diclofop-methyl is rapidly hydrolysed to diclofop in both resistant and susceptible plants. As demonstrated *in vivo* aryl hydroxylation by NIH-shift of the free acid producing essentially (2,5-dichloro-4-hydroxyphenyl)diclofop is the determinism of selectivity.

A microsomal fraction from etiolated wheat shoots catalysed the aryl hydroxylation of diclofop. The reaction required O₂ and NADPH as cofactors. It was inhibited by inhibitors of NADPH-cytochrome c (P-450) reductase, by anti-reductase antibodies and by carbon monoxide. CO inhibition was reverted by light. Apparent Km values of 9.3 ± 0.8 μM for diclofop and 16.3 ± 2.3 μM for NADPH were determined. The activity, which was very low in etiolated wheat shoots, was strongly enhanced upon aging of seedlings on a phenobarbital solution. This enzyme may constitute a factor of resistance of wheat toward diclofop.