

SHORT REPORTS

COMPARAISON DES TENEURS EN SACCHAROSE ET EN NUCLÉOTIDES RICHES EN ÉNERGIE DES GRAINES EN GERMINATION D'UNE BETTERAVE SUCRIÈRE ET D'UNE BETTERAVE FOURRAGÈRE

MICHEL GENDRAUD et JACQUELINE LAFLEURIEL

Laboratoire de Phytomorphogénèse, C.N.R.S., 4, rue Ledru, 63000 Clermont Ferrand, France
I.U.T., Complexe Universitaire des Cézeaux, B.P. 29, 63170 Aubière, France

(Received 11 January 1977)

Key Word Index—*Beta vulgaris*; Chenopodiaceae; sugar beet; forage beet; differential metabolism; micro-dosages; sucrose; nucleotides.

Abstract—Comparison of a sugar beet with a forage beet variety shows that, during germination, the seedlings have the same nucleoside triphosphate content, but those of sugar beet contain more sucrose and less UDPG than those of forage beet.

INTRODUCTION

C'est leur richesse osidique supérieure qui, à la récolte, distingue essentiellement les tubercules de Betterave sucrière des tubercules de Betterave fourragère. Représentant 12–16% du poids de matière fraîche des premiers, le saccharose n'intervient que pour 8–10% du poids des seconds [1]. La signification physiologique de cette particularité reste mal comprise, d'autant que le diholoside est la source principale de carbone et d'énergie des parties non photosynthétiques des deux cultivars. Nous avons entrepris l'étude comparative des teneurs en saccharose et en nucléotides tout au long des différentes phases du développement (de la graine à la plante tubérisée) de deux variétés, l'une sucrière, l'autre fourragère, de Betteraves cultivées. Nous rapportons ici les résultats préliminaires obtenus à partir de graines extraites des glomérules et d'embryons séparés des enveloppes séminales au cours des premières 32 heures de germination. Compte-tenu des très petites quantités de matériel disponible, des très petites teneurs en saccharose et en nucléotides et surtout des très faibles différences enregistrées pendant cette toute première étape, nous avons été amenés à mettre au point un certain nombre de microdosages permettant de détecter des teneurs en ces métabolites de l'ordre de la picomole, ou de la dizaine de picomoles.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les graines sèches des deux variétés ont des caractéristiques très voisines (Fig. 1). Elles contiennent des quantités équivalentes de saccharose et le 'pool' des nucléosides tri-phosphates, pauvre en ATP, est essentiellement composé de nucléotides non adényliques; l'UDPG n'est pas décelable. Au cours des heures qui suivent le début de l'imbibition, l'évolution du 'pool' des nucléotides est identique dans les deux variétés. Alors que la teneur en ATP augmente assez régulièrement, une partie des composés non adényliques disparaît brusquement et ce n'est qu'après la huitième heure de germina-

tion, alors que l'embryon s'épanouit, que ces nucléotides s'accumulent à nouveau.

Les évolutions des 'pools' de saccharose et de son précurseur l'UDPG, bien que parallèles, sont quantitativement différentes dans les deux types de graines. Dès la quatrième heure, la teneur en saccharose de la variété sucrière est plus élevée que celle de la variété fourragère.

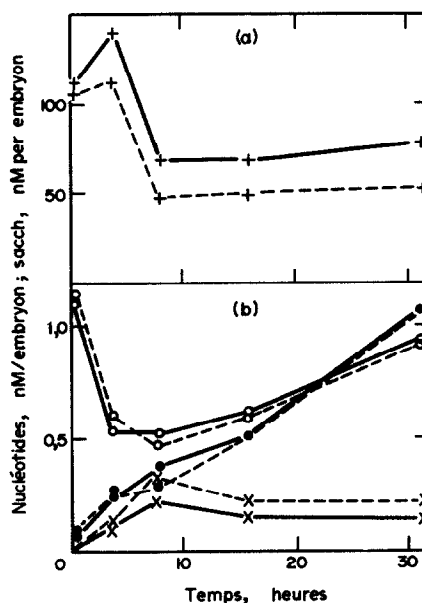


Fig. 1a. Évolution de la teneur en saccharose (sacch.) des graines au cours de la germination.

Fig. 1b. Évolution des teneurs en ATP (●), nucléosides tri-phosphates non adényliques (○) et UDPG (×) des graines au cours de la germination.

Le temps 0 indique le début de l'imbibition.

— Betterave sucrière.

- - - - - Betterave fourragère.

Cette différence se maintient au-delà de la huitième heure pour des quantités moindres de diholoside. Parallèlement, la quantité d'UDPG se stabilise dans les graines fourragères à un niveau supérieur à celui des graines sucrières.

Ces différents dosages ne permettent de mesurer que le résultat d'un équilibre dynamique entre biosynthèse et dégradation des composés étudiés. Remarquons toutefois que, dans la graine sèche, les nucléosides tri-phosphates non adényliques constituent la principale source de composés riches en énergie, utilisée en partie immédiatement après l'imbibition quelle que soit la variété de la semence. Au cours de la germination, les deux types de graines entretiennent des 'pools' de nucléosides tri-phosphates identiques et nous avons pu vérifier que, à partir de la huitième heure, la totalité des composés étudiés se trouve dans l'embryon. Par contre les métabolismes du saccharose et de l'UDPG semblent commandés par des mécanismes génétiques capables de s'exprimer très précocement, et il est intéressant de noter que les embryons de Betterave sucrière ont la possibilité d'entretenir un 'pool' de saccharose plus important que celui des embryons de Betterave fourragère tout en disposant d'un 'pool' d'UDPG plus petit. Il sera nécessaire, dans l'avenir d'expérimenter sur un nombre plus important de variétés pour vérifier si les résultats exposés ici peuvent être utilisés pour rendre compte de la qualité sucrière d'un cultivar.

PARTIE EXPERIMENTALE

Matériel végétal. Les graines (Betterave sucrière: Cérès, lot 904.48: Betterave fourragère: Monoval) sont extraites de leurs glomérules et mises à germer en boîtes de Pétri sur papier filtre imbibé d'eau distillée à 23° et à l'obscurité.

Extraction. Les nucléotides et le saccharose sont extraits par la méthode de ref. [2]. Cette méthode permet de recueillir des quantités du diholoside identiques à celles que fournit une extraction alcoolique à chaud.

Dosage des nucléotides. Le dosage enzymatique de l'ATP en présence du système luciférine-luciférase est réalisé d'après Pradet [3]. La quantité de nucléosides tri-phosphates non adényliques est déterminée par la mesure de l'augmentation de la teneur en ATP de l'extrait en présence de nucléoside di-

phosphate kinase et d'un excès d'ADP [4]. L'UDPG est dosé suivant le même principe d'après l'augmentation de la teneur en nucléosides tri-phosphates non adényliques de l'extrait à la suite d'une incubation en présence d'UDPG-pyrophosphorylase et d'un excès de pyrophosphate [4].

Dosage du saccharose. Il est basé sur la mesure de la consommation d'ATP nécessaire, en présence d'hexokinase, à la phosphorylation des hexoses provenant de l'hydrolyse totale du saccharose par l'invertase. La réaction catalysée par l'invertase est effectuée dans un vol. final de 50 µl. A 5 µl de tampon acétate de Na 0,1 M, pH 5,0, sont ajoutés 5 µl d'une solution d'invertase dans ce même tampon (3 µg/µl) et 40 µl d'extrait biologique dilué de manière à contenir une quantité de saccharose inférieure à 250 p mol. L'ensemble est maintenu pendant 30 min à 37°. Le dosage des hexoses libérés au cours de la réaction est réalisé sur 10 µl de ce milieu. Les témoins suivants sont toujours réalisés: milieu réactionnel sans invertase; milieu réactionnel additionné de 250 p mol de saccharose. La réaction catalysée par l'hexokinase est faite dans un vol. final de 200 µl. A 10 µl du milieu précédent sont ajoutés 100 µl de tampon Tris-H₂SO₄ 0,04 M, pH 7,5, Mg SO₄ 0,0035 M, K₂SO₄ 0,025 M, EDTA 0,00055 M, 10 µl d'une soln d'ATP (50 p mol/µl), 10 µl d'une soln d'hexokinase de levure (0,1 µg/µl) et 70 µl H₂O. L'ensemble est placé pendant 20 min à 25°. L'ATP restant est alors dosé selon la technique habituelle. Il a été vérifié que la réaction de phosphorylation est complètement terminée au bout de 20 min, alors que l'activité ATPasique [5] de l'hexokinase reste négligeable. De plus, la quantité d'ATP consommée correspond stoechiométriquement à la quantité d'hexoses provenant de l'hydrolyse du saccharose. L'ensemble de chaque expérimentation est répété indépendamment au moins quatre fois et les écarts observés par rapports à une valeur moyenne ne dépassent pas 4%, pour les dosages de différents métabolites.

Remerciements.—Nous remercions les établissements Cérès (Méréville) qui nous ont fourni les semences.

REFERENCES

1. Jumelle, H. (1910) in *Les Plantes à Tubercules Alimentaires*, p. 287. Douin.
2. Keppler, D., Rudigier J. et Decker, K. (1970) *Analyt. Biochem.* **38**, 105.
3. Pradet, A. (1967) *Physiol. Vég.* **5**, 209.
4. Gendraud, M. (1977) *Physiol. Vég.* **15**, à paraître.
5. Kaji, A. et Colowick, S. P. (1965) *Biol. Chem.* **240**, 4454.

Phytochemistry, 1977, Vol. 16, pp 1290-1292. Pergamon Press Printed in England

TRANSESTERIFICATION OF FARNESOL MEDIATED BY A LIPASE FROM *ANDROGRAPHIS* TISSUE CULTURES

KIRK D. MCMICHAEL, KARL H. OVERTON and DOUGLAS J. PICKEN

Plant Tissue Culture Unit, Department of Chemistry, University of Glasgow, Glasgow G12 8QQ, Scotland

(Revised received 11 February 1977)

Key Word Index.—*Andrographis paniculata*; Acanthaceae; tissue culture; lipase; transesterification; farnesyl oleate; farnesyl palmitate.

Abstract.—A cell-free system from *Andrographis paniculata* tissue cultures catalysed the transesterification of administered *cis,trans*-farnesol-[1-³H₂] with (glyceryl) oleate and palmitate present in the coconut water that forms part of the culture medium.

Recent experiments in which *cis,trans*-farnesol-[1-³H₂] was incubated with a cell-free extract from hypocotyl

tissue cultures of *Andrographis paniculata* [1-3] have uncovered the efficient incorporation of radioactivity