

**Etude par la R. M. N. de la Germination
de la Graine d'Avoine**

R. LENK, R. DEGLI AGOSTI et H. GREPPIN

Laboratoire de Physiologie Végétale, Pavillon des Isotopes de l'Université,
20 bd d'Yvoy, CH-1211 Genève 4, Suisse

Studies of oat seeds germination by N. M. R.

Abstract. The time-evolution of germination of oat seeds, suspended in the standard 5mm N. M. R. tube and supplied by water, was investigated continuously *in vivo* by the pulsed N. M. R. of water protons at the level of the seed. The results show that the spin-lattice relaxation time T_1 yield the physiological information: in the germinated (living) seeds, the T_1 's are higher than in the killed seeds.

L'importance de la Résonance Magnétique Nucléaire (R. M. N.) pour la recherche biologique est bien établie (Grange *et al.* 1980, Gadian 1982, Lenk 1986). L'intérêt de cette méthode est surtout son caractère non destructif.

Dans notre article précédent (Degli Agosti *et al.* 1989), nous avons décrit l'application de la R. M. N. en régime pulsé pour déterminer la distribution de la dynamique moléculaire des protons de l'eau dans une plantule d'avoine étiolée. Le sujet du présent travail est d'étudier la dépendance du temps de relaxation T_1 des protons de l'eau biologique en fonction de l'évolution temporelle de la germination de la graine d'avoine.

Le temps de relaxation T_1 reflète la dynamique des molécules d'eau dans la graine et donne une image globale de l'état biophysique et physiologique de la graine au cours de la germination.

L'évolution de T_1 *in vivo* dans la graine d'avoine (*Avena sativa* L. cv. Garry) pendant la germination est obtenu grâce au dispositif présenté à la Fig. 1. Les mesures de T_1 s'effectuent à l'obscurité totale ou en présence d'une lumière verte de faible intensité. Ce dispositif permet de suivre en *continu* et *in situ* l'évolution de la germination de l'avoine dans la graine de celle-ci.

Pendant les mesures, le tube reste ouvert pour pouvoir maintenir les échanges gazeux. Dans ce travail, nous avons utilisé des graines vivantes, déposées sur le papier filtre (voir Fig 1.), et d'autres, dont la capacité de germination a été réduite à néant (mortes) en les immergeant dans un tube fermé pendant 30 min dans un bain-marie à 100 °C, avant de les déposer dans le tube de R. M. N.

Dans le cas des graines vivantes, au cours des mesures, la plante a poussé normalement dans le tube situé dans l'appareil R. M. N. et les organes (racines et feuilles) n'ont pas été détachés.

L'appareil pour la R. M. N. en régime pulsé (25 MHz) est le même, comme dans notre article précédent (Degli Agosti *et al.* 1989). Les temps de relaxation

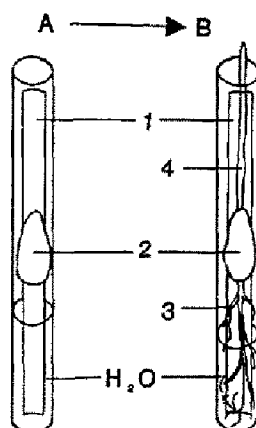


Fig. 1. Dispositif expérimental pour la mesure en continu du temps de relaxation longitudinale T_1 des protons de l'eau dans la graine d'avoine en germination. A: La graine (2) est placée sur un papier filtre (1) alimenté en eau bidistillée déionisée dans un tube R. M. N. standard de 5 mm. B: Après la germination on peut observer la présence de racines (3) et d'un épicotyle (4). La tête de mesure de l'appareillage R. M. N. est située au centre de la graine, le volume efficace correspond aux dimensions de celle-ci. Pendant la durée des mesures, le tube R. M. N. reste en place dans l'appareillage.

magnétique longitudinale T_1 ont été mesurés par la méthode de "l'inversion recovery", grâce à la séquence de deux impulsions des radiofréquences (les détails concernant la signification et les mesures du temps de relaxation T_1 sont donnés dans les monographies d'Abragam (1961), de Gadian (1982), et de Lenk (1986).

L'évolution du temps de relaxation longitudinale T_1 en fonction de l'évolution temporelle de la germination t est présentée sur la Fig. 2, pour une graine vivante (courbe A) et morte (courbe B). Initialement (< 1 er jour), les valeurs de T_1 élevées représentent l'eau superficielle autour de la graine. Avec l'imbibition, l'eau pénètre dans les tissus, où elle est fortement liée. Le début de la germination (entre 2-3 jours), caractérisé par le développement de l'embryon en plantule, montre une élévation progressive du T_1 , traduisant une augmentation de la dynamique moléculaire de l'eau. Ceci peut s'expliquer par la transformation des réserves et le transport des produits vers les zones en développement (racines, feuilles), ce qui signifie une diminution des contraintes dynamiques exercées sur l'eau dans la graine. Dans le cas la graine morte (Fig 2, courbe B), il n'y a pas une augmentation significative de T_1 , l'imbibition

a cependant lieu. Ce phénomène paraît, de ce point de vue, être purement physico-chimique (diffusion de l'eau) et indépendant de l'état physiologique de la graine.

Les expériences, réalisées avec la méthode E. N. D. O. R. (Electron Nuclear Double Resonance) ont prouvé que le contenu des radicaux libres dans la graine

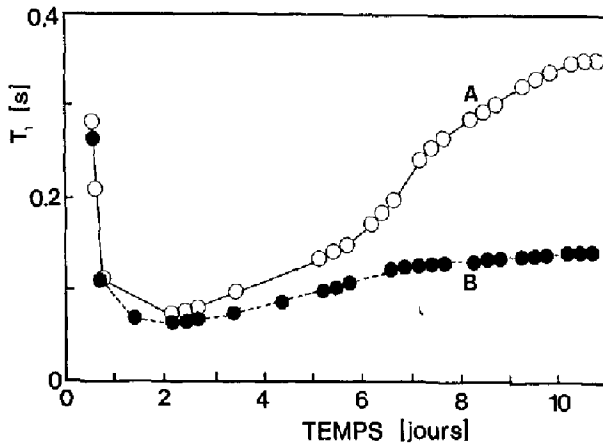


Fig. 2. Variation temporelle du temps de relaxation magnétique longitudinale T_1 des protons de l'eau biologique dans la graine d'avoine (*Avena sativa* L. cv. Garry) au cours de la germination. A: Graine vivante ○. B: Graine morte ●.

est négligeable. En conséquence, la variation des T_1 est un phénomène *purement dynamique*.

Les études d'une graine vivante par la R. M. N. en régime pulsé, confirment la signification physiologique du temps de relaxation T_1 . D'autre part, nous avons démontré dans nos travaux précédents (Lenk 1979, 1986, Lenk *et al.* 1987) que l'entropie dynamique S_d est approximativement proportionnelle au temps de relaxation longitudinale T_1 (traduite par la mobilité des molécules d'eau):

$$S_d \cong \text{const} \cdot T_1$$

Ces résultats permettent d'établir une interprétation thermodynamique de nos résultats: la graine peut être considérée comme un „réservoir thermique“ de la plantule. Elle assure la stabilisation d'un état entropique faible. La germination est caractérisée par l'augmentation des fonctions thermodynamiques (entropie et énergie interne) dans la graine. Cet accroissement est indispensable pour permettre aux molécules de diffuser plus librement et de trouver ainsi leur place dans la structure et le métabolisme général de l'embryon, puis la plantule.

Remerciements. Nous remercions le prof. H. Bill du Département de Chimie physique de l'Université de Genève pour la réalisation des expériences en E. N. D. O. R.

REFERENCES

- Abragam, A.: *Principes du Magnétisme Nucléaire*. – Presses Universitaires de France, Paris 1961.
- Degli Agosti, R., Lenk, R., Greppin, H.: Examen d'une plante par la R. M. N. – *Saussurea* (Genève) **20**: 89–95, 1989.
- Gadian, D. G.: *NMR in Living Systems*. – Clarendon Press, Oxford 1982.
- Grange, A., Dupanloup, A., Béné, G.: Evolution du temps de relaxation T_1 des protons de l'eau biologique au cours de la maturation des graines de Haricot. – *Compt. rend. Acad. Sci.* **291**: 307–309, 1980.
- Lenk, R.: Time-evolution of entropy of fluctuations in some biological systems as investigated by NMR. – *Chem. phys. Lett.* **62**: 399–401, 1979.
- Lenk, R.: *Fluctuations, Diffusion and Spin Relaxation*. – Elsevier, Amsterdam 1986.
- Lenk, R., Crespi, P., Greppin, H.: Evolution de l'entropie et de la néguentropie en biologie. – *Arch. Sci.* **40**: 351–362, 1987.

Konijn, T. M., Houslay, M. D., Van Haastert, P. J. M. (eds.): **Activation and Desensitization of Transducing Pathways**. NATO ASI Series, Series H: Cell Biology, Vol. 44. Springer Verlag, Berlin, 1990. 323 pp. ISBN 3-540-50382-X.

This book contains the proceedings of a NATO Advanced Research Workshop held in May 1989 in Noordwijkerhout (The Netherlands) within the activities of the NATO Special Programme on Cell to Cell Signals in Plants and Animals and represents already the 28th volume devoted to this research field.

The content of the book is divided into 8 parts: Chemotaxis and chemosensing, Cyclic nucleotide – coupled systems, G-protein activation, Visual transduction, Auxin – coupled systems, Ion conductance, and Cellular systems. Three contributions of the first part are devoted to bacterial chemotaxis and to the role of C-AMP and inositolphosphates in the life cycle of *Dictyostelium discoideum*. Several examples of hormone-regulated adenylase cyclase activity, including both activation and desensitization, in animal systems are described in the second part. Further, metabolism of inositolphosphates and the role of phosphoinositides in hormonal regulation are dealt with. Mechanisms of G-protein activation by hormone-receptor complex is reviewed, as well as the role of light-induced c GMP phosphodiesterase in visual transduction. Only three contributions are devoted to plants, to auxin-coupled systems. They describe modulation of sensitivity of protoplasts to auxin, auxin-binding proteins from maize coleoptiles and the role of GTP-binding protein in auxin-mediated phosphoinositide response in plant cell membranes. Last two contribution attempt to summarize our knowledge on the control of two complex processes – proliferation, differentiation and function of human thyroid cells and activation of the secretory pathway in neuronal cells during in vitro differentiation.

Although the book is mostly devoted to animal and bacterial systems, it brings a survey of the progress in studies of signal transducing pathways, which might be very useful also for plant physiologist. I recommend the book to all plant scientist interested in signal transduction systems.

Ivana Macháčková (Praha)