

## COMMUNICATION BRÈVE

## Des isoperoxydases spécifiques de racines

TH. GASPAR\*, M. DUBUCQ\*, ET P. VAN HOOFF\*\*

Laboratoire de Biologie végétale, Liège et Laboratoire de Cytogénétique,  
Leuven, Belgique

Reçu le 30 Octobre 1973

## Specific Isoperoxidases in Roots

**Abstract.** Using starch gel electrophoresis, a group of anodic isoperoxidases which is revealed by *o*-dianisidine (not by guaiacol) in the soluble fraction of roots proteins from lentil, pea, sugar-beet and maize is never found in corresponding extracts from stems. These root specific peroxidases do not show IAA-oxidase activity as revealed by *p*-dimethylaminocinnamaldehyde on the gels. They could not serve as a rhizogenesis index since they do not appear from the early beginning of root growth.

Nous nous sommes récemment intéressés à l'étude des isoperoxydases de différents matériaux (Lentille, DARIMONT 1971, KHAN *et al.* 1972, BOUCHET *et al.* 1972, GASPAR *et al.* 1973; Betterave, DUBUCQ *et al.* 1973; Topinambour, GASPAR *et al.* 1973; Pois, Maïs) en relation avec le contrôle hormonal de la croissance. Des isoperoxydases solubles mais aussi des peroxydases liées ioniquement ou de manière covalente aux parois (DARIMONT *et al.* 1973) et aux mitochondries (DARIMONT et BAXTER 1973) ont été extraites et séparées par électrophorèse en gel d'amidon.

En comparant les zymogrammes de différents types d'organes, nous avons remarqué que les racines se distinguaient des tiges, dans tous les cas, par un groupe d'isoenzymes supplémentaires à l'extrémité de la place anodique. Ce groupe contient une (Lentille, Maïs), trois (Betterave) ou quatre (Pois) bandes isoperoxydasiques. Ces isoperoxydases très anodiques sont révélées à l'*o*-dianisidine mais n'apparaissent pas au guaiacol.

Une même électrophorèse réunissant des extraits de racines et de tiges de ces différents matériaux (*Beta vulgaris*, *Lens culinaris*, *Pisum sativum*, *Zea mays*) a été effectuée (Fig. 1) afin de voir s'il existait une correspondance entre

*L'adresse:* \*22, quai Van Beneden, B-4000 Liège, Belgique. \*\*24, Vaartstraat, B-3000 Leuven, Belgique. — Travail subside par le Centre IRSIA de la Reproduction végétale et le Fonds de la Recherche Fondamentale Collective (Contrat n° 998).

ces peroxydases anodiques, spécifiques des racines. Il y a effectivement correspondance entre la peroxydase la plus anodique chez la Betterave, la Lentille et le Pois. La peroxydase la plus anodique de Maïs correspond à la moins anodique du groupe des quatre chez le Pois.

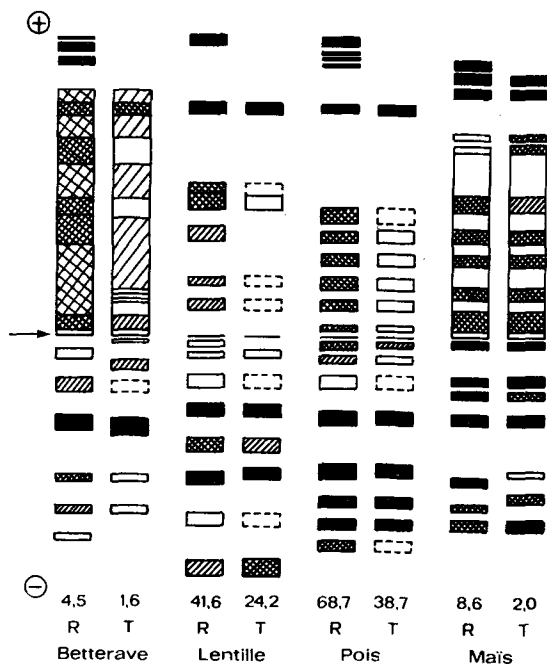


Fig. 1. Isoperoxydases et activité peroxydasique (en  $\mu\text{g}$  par mg de protéines) comparées dans la racine (R) et la tige (T-coléoptile pour le Maïs) de plantules (7 jours) de Betterave sucrière, de Lentille, de Pois et de Maïs, cultivés sur sable à l'obscurité. — Extraits: 4 g de poids frais pour 2 ml de tampon phosphates. Electrophorèse en gel d'amidon (pH: 8.4), révélation à l'o-dianisidine. Autres conditions: voir GASPARD *et al.* 1973.

Le rôle particulier de ces peroxydases anodiques n'est évidemment pas connu. Il est bien connu par contre que les racines manifestent toujours une activité peroxydasique, mesurée au gaïacol, relativement supérieure à celle des autres organes (EVANS et ALLDRIDGE 1965) et les valeurs mesurées ici dans nos matériaux (Fig. 1) le montrent bien. On aurait pu penser que ces peroxydases anodiques, spécifiques des racines, justifient l'activité peroxydasique supérieure de ces organes mais ce n'est pas le cas puisque ces isoenzymes ne réagissent pas au gaïacol et sont seulement révélées à l'o-dianisidine.

Le même type d'électrophorèse a été traité par l'acide  $\beta$ -indolyl-acétique (AIA) puis par le réactif à base de *p*-diméthylaminocinnamaldéhyde (DMACA) selon MEUDT et GAINES (1967) et SAGI (1972) afin de voir si ces isoperoxydases racinaires peuvent jouer le rôle d'AIA-oxydase. Ce ne semble pas être le cas: des produits de dégradation de l'AIA ne sont pas révélés par le DMACA au niveau de ces isoenzymes.

L'existence d'une ou plusieurs isoenzymes spécifiques des racines pourrait servir de critère de rhizogenèse lors du bouturage des tiges si ces enzymes apparaissent dès le début du développement des primordiums radiculaires. On sait déjà, en effet, que l'induction rhizogénétique entraîne rapidement une augmentation de l'activité peroxydasique dans les tissus concernés (MOLNAR et LACROIX 1972) et l'apparition de nouvelles isoperoxydases (CHANDRA *et al.* 1971). A première vue, les isoperoxydases anodiques que nous venons de décrire, quoique spécifiques des racines, ne pourraient cependant pas servir de critère rhizogénétique. Si l'on se base, en effet, sur l'analyse ontogénétique des isoperoxydases au cours du développement des plantules de Lentille (Fig. 2), on remarque que l'isoenzyme A<sub>7</sub> n'est pas présente dans la radicule embryonnaire, elle n'apparaît qu'après 48 heures de culture. Les recherches se poursuivent en vue de situer dans le temps l'apparition de cette peroxydase lors de la rhizogenèse sur racines et sur tiges.

Notons pour terminer qu'il n'est pas exclu, comme l'ont signalé DVOŘÁK et ČERNOHORSKÁ (1967), qu'on puisse encore déceler d'autre isoperoxydases caractéristiques des racines. Des essais sont en cours utilisant à cet effet d'autres substrats peroxydasiques comme le pyrogallol et la benzidine.

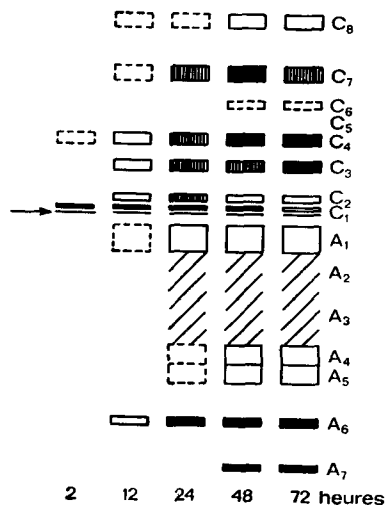


Fig. 2. Isoperoxydases d'axes embryonnaires de Lentilles cultivés sur papier filtre pendant 2, 12, 24, 48 et 72 heures à l'obscurité — Conditions expérimentales: voir GASPARD *et al.* 1973.

## Bibliographie

- BOUCHET, M., SCHWACHOFER, K., GASPARD, TH.: Action de l'orthonil sur la croissance et le spectre des isoperoxydases de la Lentille. — Compt. rend. Acad. Sci. (Paris) D **275** : 47—50, 1972.
- CHANDRA, G. R., GREGORY, L. E., WORLEY, J. F.: Studies on the initiation of adventitious roots on mung bean hypocotyl. — Plant Cell Physiol. **12** : 317—324, 1971.
- DARIMONT, E.: Isoenzymes peroxydasiques de la racine de *Vicia lens*. — Arch. intern. Physiol. Biochim. **79** : 625—626, 1971.
- DARIMONT, E., BAXTER, R.: Ribosomal and mitochondrial peroxidase isoenzymes of the lentil root. — Planta **110** : 205—212, 1973.
- DARIMONT, E., SCHWACHOFER, K., GASPARD, TH.: Isoperoxydases et hydroxyproline dans la paroi cellulaire de Lentille. — Biochim. biophys. Acta **321** : 461—466, 1973.
- DUBUCQ, M., BOUCHET, M., GASPARD, TH.: Activité peroxydasique et isoperoxydases dans la Betterave sucrière. — J. Inst. intern. Rech. Better. **6** : 109—116, 1973.
- DVOŘÁK, M., ČERNOHORSKÁ, J.: Peroxidases of different parts of the pumpkin plant (*Cucurbita pepo* L.). — Biol. Plant. **9** : 308—316, 1967.
- EVANS, J., ALDRIDGE, N.: The distribution of peroxidases in extreme dwarf and normal tomato (*Lycopersicon esculentum* MILL.). — Phytochemistry **4** : 499—503, 1965.
- GASPARD, TH.: Effet comparé de l'AMO-1618 et de l'AIA sur les peroxydases ribosomiques et cytoplasmiques de la racine de Lentille. — Physiol. vég. **8** : 641—648, 1970.
- GASPARD, TH., KHAN, A. A., FRIES, D.: Hormonal control of isoperoxidases in lentil embryonic axis. — Plant Physiol. **51** : 146—149, 1973.

- GASPAR, TH., TEPPAZ-MISSON, C., COURDUBOUX, J. C.: Isoperoxidase spectrum in Jerusalem artichoke in relation to tuberization and dormancy. — *Biol. Plant.* **15** : 339—345, 1973.
- KHAN, A. A., GASPAR, TH., ROE, C. H., BOUCHET, M., DUBUCQ, M.: Synthesis of isoperoxidases in lentil embryonic axis. — *Phytochemistry* **11** : 2963—2969, 1972.
- MEUDT, W. J., GAINES, T. P.: Studies on the oxidation of indole-3-acetic acid by peroxidase enzymes. I. Colorimetric determination of indole-3-acetic acid oxidation products. — *Plant Physiol.* **42** : 1395—1399, 1967.
- MOLNAR, J. M., LACROIX, L. J.: Studies on the rooting of cuttings of *Hydrangea macrophylla*: enzyme changes. — *Canad. J. Bot.* **50** : 315—322, 1972.
- SAGI, F.: A method for detection of IAA oxidase activity on polyacrylamide gels. — *Intern. Confer. Nat. Plant Growth Subst. Liblice* 1972. In Press.

## BOOK REVIEW

STEWART, P. R., LETHAM, D. S. (ed.): **The Ribonucleic Acids.** — Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 1973. 268 pp. DM 45,40.

Thanks to the staff members of the Australian National University in Canberra this comprehensive outline of the biochemistry and biological roles of RNA, which grow out of postgraduate course of lectures of twelve contributors, appeared as a well edited book. Obviously a book bearing this title and having only 268 pages cannot cover all aspects of the subject. On the other hand it is written as a continuous text which gives satisfactory information not only to postgraduate students. The introductory chapter "RNA in Retrospect" presents a condensed history of research of molecular bases of gene expression starting from Levene's work on "pentose nucleic acid" components. The following ten chapters are dealing with individual classes of RNA: nuclear RNA (H. NAORA), messenger RNA (A. J. HOWELS), transfer RNA (D. S. LETHAM) and ribosomal RNA (L. DALGARNO and J. SHINE) and with basic processes of gene expression: transcription (G. M. POLYA) and translation of messenger (G. D. CLARK-WALKER). The latter chapter is supplemented with an appendix presenting inhibitors of translation (P. R. STEWART). Special attention is paid to mitochondrial RNA (P. R. STEWART), chloroplast RNA (P. R. WHITFIELD) and viral RNA (A. J. GIBBS and J. J. SKEHEL). The book contains a special chapter presenting a short description of principles and procedures of isolation, purification and fractionation of RNA (R. POULSON).

Unlike most previous books dealing with similar subjects this one carefully distinguishes facts found for low organisms, animals and plants. Plant biologists especially will appreciate this book because of a considerable space which is devoted to special problems of RNA functions in plant cells (relation of growth regulating cytokinins to tRNA, organelle-specific RNAs, etc.). This advantage is underlined by the fact that most of the authors are familiar with plant material. The book would become even more systematic by incorporation of methodical parts of individual chapters (purification of RNA polymerases, preparation of nuclear RNA, extraction of leaf and chloroplast RNAs, etc.) into the last chapter. This chapter, despite the very condensed form of style, cannot give a comprehensive information about methods of RNA research because of a very limited space. One would also appreciate more details about possible mechanisms of control of translation. Our present knowledge in this field is limited but, on the other hand, concepts of regulation of protein synthesis on translational level are promising and deserve more attention than a reference to literature. These are, however, minor criticisms of a book which appeared in right time and which can be recommended to both, post graduate students and biologists work of which has relation to RNA function in living organisms.

M. KAMÍNEK (Praha)