

**Absorption, migration et utilisation des phosphates
chez les plantules de *Cuscuta gronovii* WILLD. au cours de leur
vie préparasitaire**

A. FER

Laboratoire de Botanique et Biologie végétale, Université Scientifique et Médicale,
Grenoble*

**Absorption, Translocation and Metabolization of Phosphates by *Cuscuta gronovii* WILLD.
Seedlings During their Preparasitic Stage**

Abstract. During their short preparasitic stage, dodder seedlings are able to absorb phosphates, by means of their rudimentary root. The absorbed phosphorus is translocated into the stem of the young parasite and metabolized.

Parmi les nombreuses causes possibles du caractère obligatoire du parasitisme des *Cuscutes*, il convient d'envisager les conditions précaires de nutrition de la plantule, avant l'établissement du contact parasitaire.

Il est établi que, durant sa vie préparasitaire, le jeune parasite est en mesure de réaliser la photosynthèse (PATTEE *et al.* 1965, BACCARINI 1966, KERSTETTER et HULL 1970). Cependant, d'après une étude récente (FER 1976), il apparaît que, dans les conditions naturelles, l'intensité photosynthétique est si faible qu'elle ne permet pas la croissance du jeune parasite; la plantule n'est susceptible d'assurer sa nutrition carbonée que dans des conditions externes particulières (forte teneur en CO₂ notamment).

Par contre on ne sait toujours pas, à ce jour, si la plantule est capable d'assurer elle-même sa nutrition minérale (SCHEIDECKER 1966). Le caractère rudimentaire de la racine, son faible développement et sa durée de vie limitée ont conduit certains auteurs à émettre l'hypothèse que le seul rôle de cet organe était d'approvisionner la plantule en eau (BERTOSI 1956, TRONCHET 1961, CHRISTMANN 1960, PIZZOLONGO 1963).

Nous nous proposons donc, dans ce travail, d'apprécier les possibilités de la racine en ce qui concerne la nutrition minérale du jeune parasite.

Reçu le 12 février 1976

* Adresse: B. P. 53. 38041 Grenoble Cedex, France.

Matériel et méthodes

Germination

Les nombreuses graines de *Cuscuta gronovii* WILLD. nécessaires pour nos expériences sont obtenues par culture du parasite, en laboratoire, sur *Pelargonium zonale* (L.) AITON. Ces graines, dont le poids sec moyen est de 2,4 mg,

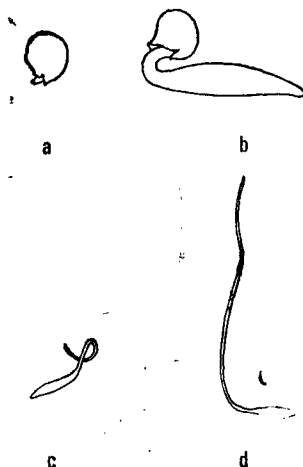


Fig. 1. Représentation de quelques stades du développement de la plantule. *a* et *b* sont grossis 10 fois par rapport à *c* et *d*.

présentent une forte inhibition tégumentaire. La corrosion du tégument est nécessaire si l'on désire obtenir un taux de germination satisfaisant (TRONCHET 1961). Le traitement que nous avons mis au point consiste à immerger les graines, préalablement imbibées d'eau, pendant 30 min dans H_2SO_4 concentré ($d = 1,83$). Après élimination de l'acide on effectue quelques rinçages rapides avec de l'eau glacée, puis un rinçage par percolation avec de l'eau désionisée, pendant 2 h. Les graines sont alors placées sur filtre sans cendres humidifié avec de l'eau désionisée, dans des boîtes de Pétri que l'on dépose à l'étuve à 24 °C. Le taux de germination des graines ainsi traitées est de l'ordre de 85 à 95%.

Développement des plantules

La vie préparasitaire de *Cuscuta gronovii* peut se résumer de la façon suivante: au début de la germination l'embryon filiforme, après digestion d'une partie de l'albumen, subit un début de croissance, entraînant la déchirure de la zone micropylaire. La pointe radiculaire fait saillie par l'ouverture (Fig. 1a), subit une elongation limitée, mais augmente considérablement de volume, prenant ainsi une forme renflée (Fig. 1b). Cette racine est dépourvue de coiffe, mais possède des poils absorbants (TRONCHET 1961). La tigelle est alors le siège d'une elongation importante et son apex ne tarde pas à se dégager des restes de l'albumen; pendant quelques temps l'extrémité de la

tigelle reste repliée sur elle-même, formant ainsi une sorte de crochet (Fig. 1c). Puis ce crochet se déroule, tandis que la tigelle est le siège d'une elongation rapide. La jeune plante (Fig. 1d) est alors constituée par une racine courte et renflée, appliquée contre le substrat, et surmontée d'une tigelle longue, ténue, et décrivant des mouvements de nutation à la recherche d'un hôte. La racine ne tarde pas à perdre son aspect renflé et turgescent, puis à se dessécher progressivement, tandis que la tigelle continue à s'allonger faiblement. En définitive, la jeune plante meurt si elle n'a pas pu se fixer en temps utile sur un hôte adéquat. A titre indicatif, lorsque le dépérissement de la racine intervient, la jeune plante mesure environ 18 cm de long; son poids frais moyen est de 15 mg, son poids sec de 0,67 mg.

Culture des plantules

Dès la saillie de la pointe radiculaire, les germinations sont placées sur papier filtre imprégné d'eau désionisée et cultivées dans des bacs en polyéthylène à température et éclairage constants (24 °C, 2000 lx). L'âge des plantules, auquel nous ferons souvent référence, correspond au temps écoulé depuis la mise en culture dans les bacs.

Solution marquée

Elle est constituée par une solution aqueuse de $\text{KH}_2\text{}^{31}\text{PO}_4$ mM, à pH 5,5 et marquée au ^{32}P . L'activité spécifique est de $148\text{ ms}^{-1}\text{ cm}^{-3}$ ($= 4\text{ }\mu\text{Ci ml}^{-1}$).

Mesures d'absorption et expression des résultats

Les racines (excisées ou non) sont immergées pendant des temps définis dans la solution marquée, puis rincées 3 fois à l'eau désionisée. Les échantillons (racines excisées ou segments définis de la plante) sont découpés, en segments d'environ 1 mm de long; les segments correspondant à un même échantillon sont regroupés dans un flacon de mesure, puis digérés dans 0,5 ml de Soluène 350 (Packard). Chaque tube reçoit alors 12,5 ml de mélange scintillant (PPO : 6 g; POPOP : 0,3 g; naphtalène : 100 g; alcool éthylique absolu : 100 ml; éthylène glycol : 20 ml; dioxanne : 1 litre). La radioactivité est mesurée à l'aide d'un spectromètre Tricarb Packard. Les quantités de phosphore absorbé sont exprimées en ng. Les intervalles de confiance portés sur les figures correspondent dans tous les cas, au seuil de probabilité 0,05.

Résultats et discussion

Absorption racinaire du phosphore, en fonction du temps et de la température

La partie basale renflée de la plante correspond, selon MIRANDE (1900), à la racine, à l'hypocotyle (virtuel) et à la base de la tige. En l'absence de critère morphologique visible, permettant de limiter exactement la partie radiculaire, nous appellerons « racine », dans la suite du texte, la totalité de la partie basale renflée et, éventuellement, la base de la partie filiforme (la longueur de la « racine » est arbitrairement fixée à 2 cm).

Les « racines » utilisées pour cette expérience sont prélevées sur des plantules âgées de 3,5 jours et immergées dans la solution marquée pendant des temps définis. L'absorption est mesurée pour deux températures de la

solution: 4 et 24 °C. Chaque valeur expérimentale est obtenue par mesure de la radioactivité de 5 ou 6 lots contenant chacun 4 « racines ».

Les courbes (Fig. 2) traduisent une absorption rapide pendant les deux premières heures; ensuite l'absorption se poursuit plus lentement dans

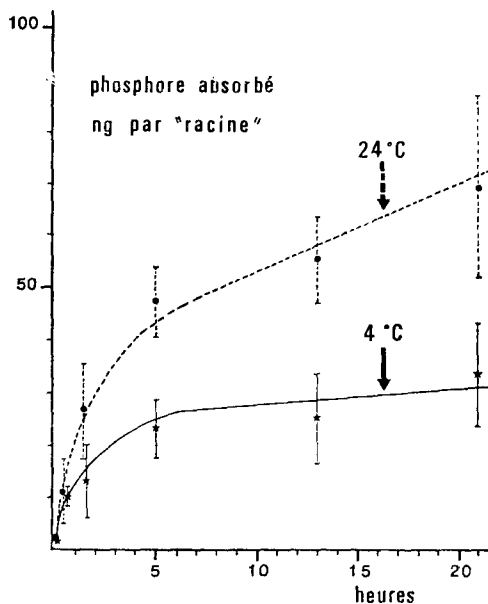


Fig. 2. Cinétique d'absorption du phosphore par les "racines" excisées.

l'expérience à 24 °C, alors qu'elle cesse dans l'expérience à 4 °C. Cet effet de la température, malgré l'amplitude des intervalles de confiance, semble indiquer que l'absorption du phosphore par les « racines » excisées de *Cuscuta gronovii* comporte une phase passive et une phase active. La quantité de P absorbé de façon apparemment active reste cependant limitée; en effet, la quantité totale de P absorbé en 21 h est à peine deux fois plus grande à 24 °C qu'à 4 °C. De plus, le poids frais moyen des « racines » étant de 5 mg, la quantité de P absorbé en 21 h, à 24 °C, est de l'ordre de 14 ng par mg de « racine » fraîche; or 1 mg de solution marquée contient 31 ng de P. Il n'y a donc pas, en première approximation, accumulation apparente du produit absorbé. Les résultats (Fig. 2) ont été exprimés en ng par « racine », car c'est le mode d'expression qui se traduit par la dispersion la moins grande des valeurs expérimentales.

Le fait que l'absorption se produise sans accumulation apparente et que les résultats soient beaucoup plus dispersés lorsqu'on ramène la quantité de P absorbé au poids de « racine », que lorsqu'on la ramène à la « racine » elle-même, nous a conduit à étudier la distribution dans cet organe du P absorbé.

Distribution, dans la « racine », du phosphore absorbé

Des « racines », prélevées sur des plantules de 3,5 jours sont immergées pendant 20 h dans la solution marquée, à 24 °C; après rinçage, elles sont débitées en segments de un à quelques mm de long. La figure 3 montre que

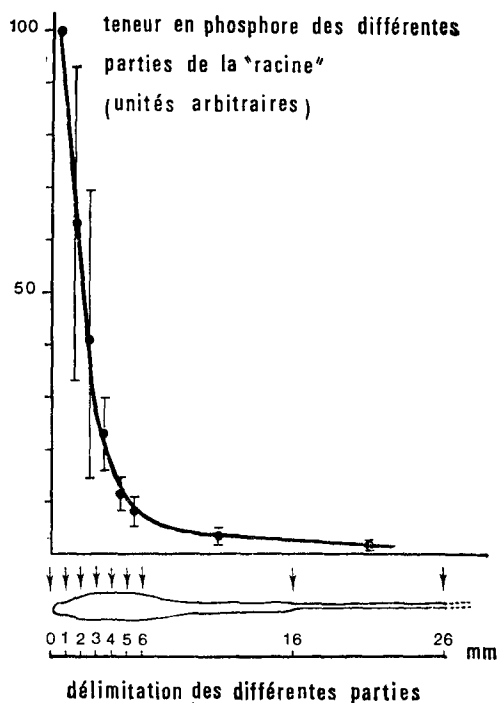


Fig. 3. Distribution du phosphore dans la partie basale renflée. La teneur en P de la partie apicale de la « racine » est considérée arbitrairement comme égale à 100.

90 % du P absorbé sont localisés dans les 4 premiers mm de la « racine ». Il y a un gradient décroissant de concentration de la pointe radiculaire vers la base de la tige. Il est donc clair que la zone active au point de vue de l'absorption est constituée seulement par la base de la partie renflée.

C'est donc l'impossibilité de définir exactement la limite supérieure de la racine véritable qui conduit à une dispersion accrue des résultats lorsqu'on exprime la quantité de P absorbé par rapport au poids de la totalité de la partie renflée. De même, il est évident que, si on pouvait délimiter exactement la zone de la partie renflée correspondant à la racine véritable, et qu'on rapporte la quantité de P qu'elle contient à son poids frais, on mettrait en évidence une accumulation du produit absorbé à ce niveau.

Influence de l'âge de la « racine » sur l'absorption

Les « racines » des plantules d'un âge donné sont excisées et immergées pendant 18 h dans la solution marquée, à 24 °C. L'âge des plantules, dans cette expérience, correspond au temps écoulé entre le moment où la radicule

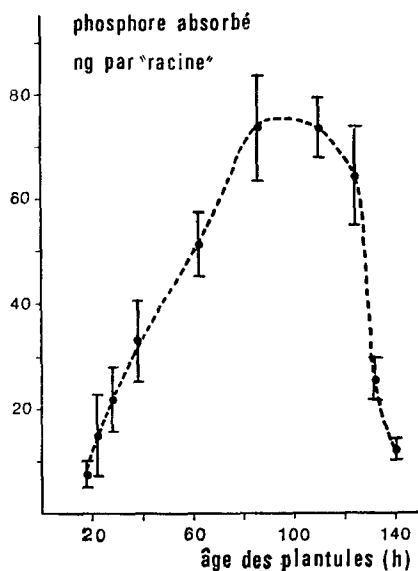


Fig. 4.

Fig. 4. Influence de l'âge de la "racine" sur l'absorption du phosphore.

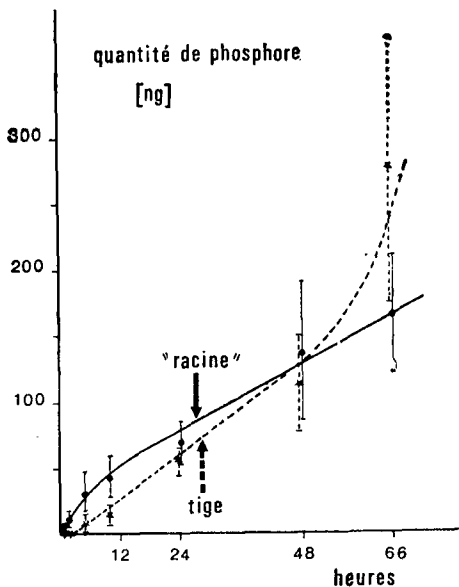


Fig. 5.

Fig. 5. Migration, dans la plante, du phosphore absorbé par voie racinaire.

commence à faire saillie et celui où l'on retire les « racines » de la solution marquée. Chaque valeur expérimentale est obtenue par mesure de la radioactivité de 4 à 12 lots contenant chacun 3 « racines ». La figure 4 montre que la quantité de P absorbé varie de façon très importante selon l'âge des « racines ».

Au cours des 30 premières heures, la quantité de P absorbé reste faible. Cette période correspond à la durée de croissance de la « racine » et au début de la croissance de la tige, croissances qui semblent s'effectuer essentiellement aux dépens de l'albumen de la graine.

La quantité de P absorbé augmente ensuite rapidement lorsque l'âge des « racines » varie entre 40 et 70 h environ, puis se stabilise aux alentours d'une valeur optimale pour des racines dont l'âge est compris entre 70 et 120 h. Cette période correspond à la phase d'élongation rapide de la tige des plantules sur lesquelles ont été prélevées les « racines ».

Au-delà de 120 à 130 h, période qui correspond au début du dépérissement de la « racine », la quantité de P absorbé décroît très rapidement. Ainsi, le temps pendant lequel la « racine » reste fonctionnelle du point de vue de l'absorption est à peu près égal à la moitié seulement de sa durée de vie, soit 2 à 3 jours dans nos conditions expérimentales.

Migration, vers la tige, du phosphore absorbé par voie racinaire

Les plantules utilisées pour cet essai sont âgées de 2,5 jours en début d'expérience. Leur racine est immergée dans la solution marquée pendant des temps allant de 1 à 66 h. L'essai est réalisé à 24 °C. A l'issue de l'absorption,

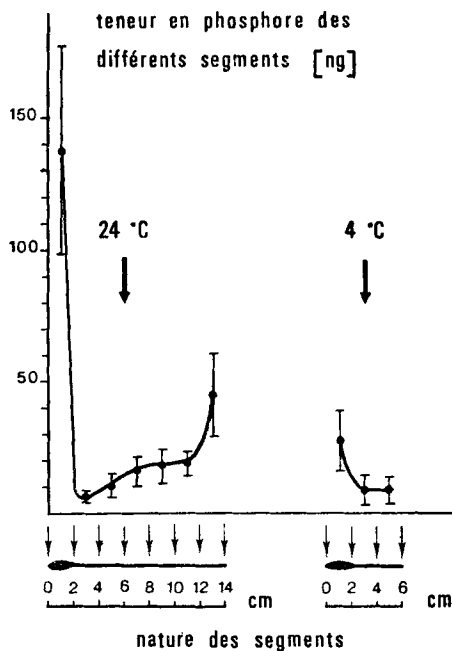


Fig. 6

Fig. 6. Effet de la température sur la distribution du phosphore dans la plantule.

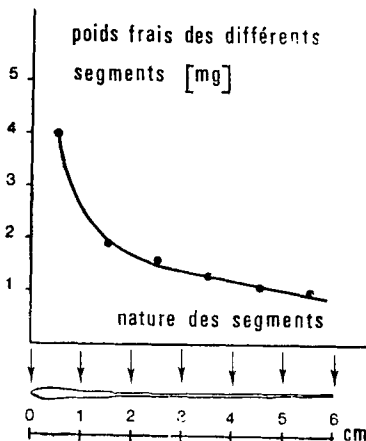


Fig. 7.

Fig. 7. Répartition du poids frais le long d'une plantule mesurant 6 cm.

on sépare la tige de la « racine » (dont la longueur est arbitrairement fixée à 2 cm) et on les soumet séparément au comptage. Les organes homologues de 3 plantules sont regroupés dans un même flacon de comptage; chaque mesure représente la moyenne de 4 répétitions.

La figure 5 montre qu'après 1 h d'immersion dans la solution marquée, le P absorbé n'a pas migré hors de la « racine ». A l'issue de 2 h d'absorption, 5 à 10 % du P absorbé se retrouvent dans la tige. La quantité de P ayant migré hors de la racine augmente ensuite régulièrement pour atteindre 50 % du P absorbé à l'issue de 40 h d'absorption et 62 % après 66 h.

La migration vers la tige du P absorbé par la « racine » est donc possible. Néanmoins, cette migration s'avère particulièrement lente, puisqu'il faut attendre 1 à 2 h pour qu'une partie décelable du P absorbé par la « racine » ait atteint la tige. Ce résultat est surprenant lorsqu'on connaît la grande mobilité du P dans les plantes (BIDDULPH *et al.* 1958).

Effet de la température sur la distribution, dans la plantule, du P absorbé

Les plantules utilisées sont âgées de 2,5 jours en début d'expérience, et longues de 6 cm; leur « racine » est immergée 48 h dans la solution marquée. Un essai a été réalisé à 24 °C, l'autre à 4 °C.

A l'issue de la période d'absorption, les plantules du lot maintenu à 24 °C, qui ont subi une elongation importante, mesurent environ 14 cm de long, alors que celles du lot maintenu à 4 °C, pour lesquelles il n'y a pas eu croissance, ont conservé leur longueur initiale. Six plantules de longueur identi-

que sont choisies dans chaque lot et découpées en segments de 2 cm de long.

La distribution du P dans la plante est fonction de la température (Fig. 6). Dans l'essai réalisé à 4 °C, on observe un gradient décroissant de la quantité de P, depuis l'apex de la racine, jusqu'à l'extrémité de la tige. Ce gradient

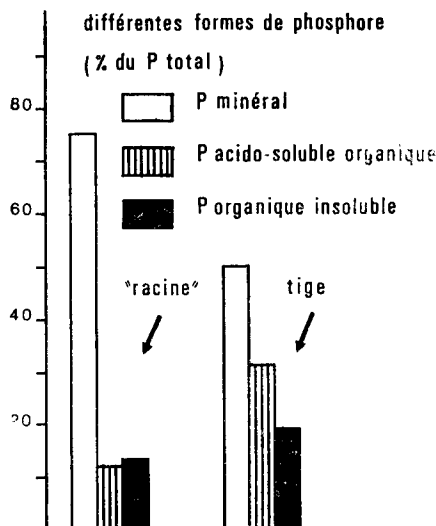


Fig. 8. Distribution des différentes formes de phosphore dans la plantule.

traduit vraisemblablement une simple diffusion du P; en effet, sa courbe représentative est du même type que celle traduisant la répartition du poids frais dans la plantule (Fig. 7). Chez les plantules maintenues à 24 °C, on note un gradient décroissant de la concentration en P depuis la pointe de la racine jusqu'à la base de la tige; la quantité de P augmente ensuite progressivement jusqu'à l'extrémité de la tige.

Cet effet de la température semble indiquer que la migration, chez ces plantes, est un phénomène actif. Cependant, compte tenu de la lenteur de la migration, on ne peut pas écarter non plus l'hypothèse d'une simple diffusion du P vers la tige où il serait utilisé dans le métabolisme; cela entraînerait un déplacement continu de l'équilibre de diffusion, ce qui se traduirait, en fin de compte, par une accumulation du P total dans la zone de la tige où le métabolisme est le plus intense. Seule une mesure plus précise de la vitesse de migration pourra permettre de trancher entre ces deux hypothèses.

La distribution du P dans la plantule est, par ailleurs, conforme à celle rencontrée chez les plantes supérieures autotrophes avec, notamment, une teneur élevée dans les organes jeunes.

Métabolisation du P absorbé par voie racinaire

Les plantules utilisées sont âgées de 2 jours au début de l'expérience. Leur « racine » est immergée dans la solution marquée pendant 66 h. L'essai est

réalisé à 24 °C. Les plantules au nombre de 33, sont ensuite rincées. On sépare la tige de la « racine » (dont la longueur est arbitrairement fixée à 2 cm). On obtient ainsi un lot de « racines » fraîches pesant 154 mg et un lot de tiges dont le poids frais est de 327 mg. Chaque lot est broyé puis soumis à 3 extractions successives par l'acide trichloracétique à 10 %. Chaque extraction est effectuée avec 5 ml d'acide, à 0 °C, sous agitation continue et dure 30 min. Après centrifugation, le surnageant est recueilli, tandis que le culot, remis en suspension, est repris par 5 ml d'acide. Les trois surnageants ainsi obtenus sont rassemblés: ils contiennent le P acido-soluble. Le culot résiduel, contenant le P organique insoluble, est dissous dans 5 ml de Soluène 350, en vue des comptages. La fraction acido-soluble est ensuite traitée en vue de séparer le P minéral du P organique: par addition de molybdate d'ammonium à l'extrait trichloracétique, le P minéral contenu dans ce dernier se transforme en phosphomolybdate d'ammonium que l'on extrait par l'alcool isobutylique. Les comptages sont effectués sur des parties aliquotes (0,5 ml) des différentes solutions. Il est alors possible de distinguer, dans le P total: le P minéral (PO_4^-), le P acido-soluble organique (oses-phosphates, nucléotides...) et le P organique insoluble (phospholipides, acides nucléiques, phosphoprotéines).

La figure 8 montre qu'à l'issue de 66 h d'absorption, une partie du P absorbé a été métabolisée. Dans la « racine » le P se retrouve essentiellement sous forme minérale (75 % du P total), alors que le P organique acido-soluble et le P organique insoluble ne représentent chacun qu'un peu plus de 10 % du P total. La métabolisation s'avère plus importante dans la tige où le P organique acido-soluble et le P organique insoluble représentent respectivement 30 et 20 % du P total. La plantule de *Cuscuta* est donc en mesure d'utiliser, dans son métabolisme, le P minéral absorbé par la « racine ». POMA *et al.* (1964) parviennent à une conclusion analogue: ils ont établi que *Cuscuta epilimum*, au cours de sa vie parasitaire, prélève chez son hôte exclusivement du P minéral, lequel est ensuite métabolisé par le parasite.

Conclusion

Malgré les difficultés rencontrées dans la délimitation exacte de la racine, il est démontré que cette dernière est en mesure, du moins pendant la courte période où elle reste fonctionnelle, d'absorber les phosphates. Il y a migration, vers la tige, d'une partie du P absorbé par la racine, mais la nature des mécanismes mis en jeu dans cette migration reste à préciser. Le P absorbé est en partie métabolisé par la plantule. L'absorption, la migration et l'utilisation métabolique des phosphates sont donc possibles chez la plantule de *Cuscuta gronovii*; cependant toutes ces étapes sont caractérisées par leur faible intensité.

En effet, d'un point de vue quantitatif, il est établi que, lorsque les plantules sont cultivées à 24 °C, leur racine est fonctionnelle pendant environ 60 h. Pendant ce laps de temps, la quantité totale de P absorbé par la plantule est de 450 ± 150 ng. Le poids sec moyen d'une plantule étant de 0,67 mg, cela donne une concentration finale en P total relativement faible, puisque de l'ordre de 660 μg par gramme de matière sèche. Il nous faudra donc, dans une prochaine expérience, mesurer la quantité de P prélevé par la plantule aux dépens de l'albumen de la graine, au cours de la germination, afin de

préciser quelle est la contribution que l'absorption du P à partir du milieu externe, telle que nous venons de l'étudier, apporte à la nutrition phosphorée globale de la plantule.

Références

- BACCARINI, A.: Autotrophic incorporation of $^{14}\text{CO}_2$ in *Cuscuta australis* in relation to its parasitism. — *Experientia* **22** : 46–47, 1966.
- BERTOSI, P.: [Recherches physiologiques sur *Cuscuta epithymum*. I. La culture *in vitro*]. In Ital. — *Att. Ist. bot. Univ. Pavia* **14** : 1–21, 1956.
- BIDDULPH, O., BIDDULPH, S., CORY, R., KOONTZ, H.: Circulation patterns for phosphorus, sulfur and calcium in the bean plant. — *Plant Physiol.* **33** : 293–300, 1958.
- CHRISTMANN, C.: Le Parasitisme chez les Plantes. — A. Collin, Paris 1960.
- FER, A.: Photosynthèse et respiration des plantules de *Cuscuta lupuliformis* KROCK. au cours de leur vie préparasitaire. — *Physiol. vég.* **14** : 357–365, 1976.
- KERSTETTER, R. E., HULL, R. J.: Autotrophic incorporation of $^{14}\text{CO}_2$ in *Cuscuta pentagona* in relation to its parasitism. — *Advanc. Front. Plant Sci.* **25** : 83–91, 1970.
- MIRANDE, M.: Recherches physiologiques et anatomiques sur les Cuscutacées. — *Bull. Sci. Fr. Belg.* **34** : 1–280, 1900.
- PATTEE, H. E., ALLRED, K. R., WIEBE, H. H.: Photosynthesis in dodder. — *Weeds* **13** : 193 à 195, 1965.
- PIZZOLONGO, P.: On pigments in *Cuscuta pentagona*. — *Delpinoa* **5** : 9–16, 1963.
- POMA, G., SALA, F., CIFERRI, O., MINERBI, O.: [Absorption du ^{32}P par *Cuscuta epithymum* parasite de *Trifolium repens*.] In Ital. — *G. orn. bot. ital.* **71** : 403–405, 1964.
- SCHNEIDER, D.: La nutrition des phanérogames parasites. — *Ann. Biol. Fr.* **5**, n° 9–10 : 417 à 446, 1966.
- TRONCHET, J.: Contribution à l'étude de la croissance et des mouvements de la plantule de *Cuscuta gironii* WILLD. — *Ann. Sci. Univ. Besançon* **2** (16) : 1–206, 1961.

BOOK REVIEW

STANLEY, R. G., LINSKENS, H. F.: *Pollen*. — Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York 1974. 307 pp., 59.80 DM.

Pollen transmits the male genetic material in sexual reproduction of all higher plants. It is also a suitable research tool for studying many patterns of plant metabolism and, in addition, a sound knowledge of pollen may help plant breeders in their effort to improve the world's food supply. This volume focuses upon pollen biology and chemistry; it attempts to integrate these facts with management practices involved in pollen applications.

The book includes 3 main sections. The first part — Biology — deals with the development of the pollen from the meiosis up to the origin of spermatid cells. The question of the formation and function of the pollen wall is considered in relation to the maturation of the pollen grain.

The techniques of collecting and preserving pollen are dealt with the second section — Management. Observations on the pollen viability of about 80 species stored at low humidity and a low temperature are reviewed in detail. The authors discuss the application of *in vitro*, *in vivo* tests and non-germination assays for the assessment of the pollen capacity to germinate and grow normally. The use of pollen as human food supplement of nutritional and health benefit is the subject of the chapter — Nutritive role of pollen.

The last section — Biochemistry — with 9 chapters occupies two thirds of this book. The individual chapters describe chemical analysis and function of minerals, carbohydrates including starch content, callose and cellulose, then organic acids and lipids, amino acids, enzymes and growth regulators and pollen pigments. A separate chapter is devoted to pollen allergens, human reaction and preparation of extracts.

The book is written in a good style, is instructive and clear. The text is illustrated with 64 figures and 66 tables.

VĚRA BALATKOVÁ (Praha)