

BBA 45876

INFLUENCE DE L'OXYGENE SUR LES TRANSFERTS D'ELECTRONS DE LA PHOTOSYNTHESE

I. INFLUENCE DE DIVERSES CONCENTRATIONS D'OXYGENE SUR QUELQUES REACTIONS DE HILL

Y. MATHIEU

Laboratoire de Physiologie Cellulaire Végétale, associé au C.N.R.S., Faculté des Sciences, 91 - Orsay (France)

(Reçu le 21 juillet 1969)

SUMMARY

Influence of oxygen on the electron transfers of photosynthesis. I. Influence of some oxygen concentrations on some Hill reactions

The influence of O_2 concentrations on the Hill reactions in the presence of p -benzoquinone, ferricyanide, $NADP^+$, $NADP^+$ plus ferredoxin has been studied with isolated spinach chloroplasts.

Because of the partial reoxidation of the hydroquinone, which is depending upon the O_2 concentration, it does not seem possible to localize a site of action for O_2 .

With ferricyanide the influence of O_2 is weak. However, the rate of ferricyanide reduction is increased in the presence of O_2 . The observed stimulation is greater for 21 % O_2 than for 70 % O_2 . Bicarbonate stimulates the ferricyanide reduction and decreases the stimulating effect of 21 % O_2 .

O_2 decreases the rate of $NADP^+$ reduction. Ferredoxin as well as bicarbonate stimulate the $NADP^+$ reduction and reduce the O_2 inhibition.

These results seem to indicate that O_2 may enter the electron transport chain at a site situated near Photosystem I and before the ferredoxin's site.

The inhibitory effect of O_2 on the Hill reactions with p -benzoquinone and $NADP^+$ is depending upon the plants' growth conditions. It is greater with plants grown under weak light.

INTRODUCTION

L'étude de l'influence de l' O_2 sur la photosynthèse remonte à 1920 lorsque WARBURG¹ découvrit que la vitesse de dégagement d' O_2 par les chlorelles est partiellement inhibée par l' O_2 moléculaire.

La découverte du rôle inhibiteur de l'oxygène sur la fixation photosynthétique du CO_2 par les plantes supérieures² devaient être suivie de nombreuses études ayant pour objet de préciser et d'expliquer ce rôle inhibiteur de l' O_2 . TURNER *et al.*³ et ELLYARD⁴, ce dernier travaillant avec des chloroplastes isolés, estiment qu'il s'agit

d'une inhibition des enzymes du cycle de Calvin. BRIANTAIS⁵, au cours de l'étude de la réaction de Hill avec le ferricyanure conclut à l'inhibition d'un complexe enzymatique du dégagement d' O_2 . Une troisième possibilité d'intervention d' O_2 touche les intermédiaires de la chaîne de transfert d'électrons, c'est-à-dire une réversion des processus photosynthétiques.

Quant aux sites d'action dans la chaîne de transfert d'électrons, ils n'ont pas encore été déterminés de façon précise.

BJÖRKMAN⁶, par des études comparatives réalisées avec des feuilles entre les cinétiques d'inhibition de la photosynthèse par l' O_2 et le 3-(3,4-dichlorophényl)-1,1-diméthylurée, conclut à une intervention de l' O_2 entre le Système II et la plastocyanine.

Par contre, avec des chloroplastes isolés, HEBER ET FRENCH⁷, DE KOUCHKOVSKY ET JOLIOT⁸ et MALKIN⁹, quoiqu'utilisant des techniques différentes, arrivent à la conclusion d'une intervention de l' O_2 au niveau du Photosystème I.

Afin d'essayer de déterminer le (ou les) point(s) éventuel(s) d'entrée de l' O_2 dans la chaîne de transfert d'électrons de la photosynthèse, on a étudié l'influence de diverses concentrations en O_2 sur les cinétiques de dégagement d' O_2 en présence de divers accepteurs d'électrons (ferricyanure, *p*-benzoquinone, NADP⁺, ferrédoxine) avec des chloroplastes aussi intacts que possible, afin de conserver le maximum de cofacteurs.

MÉTHODES

Matériel végétal et conditions de culture

Les chloroplastes ont été isolés à partir de feuilles d'Epinard (*Spinacia oleracea* L. var. *America*) cultivé en aquiculture sur milieu synthétique selon HOAGLAND-Arnon¹⁰ en chambres conditionnées (lumière: 12 h, 18°; obscurité: 12 h, 16°). L'éclairage est fort (15 000 lux) ou faible (4000 lux).

Isolement des chloroplastes

Les feuilles (20–30 g) sont placées à 4° pendant 20 min. Après séparation de la nervure centrale, elles sont broyées dans un mixeur contenant 200 ml d'une solution tamponnée maintenue au voisinage de 0°. La solution tamponnée comprend: Sorbitol 0,3 M, acide *N*-2-hydroxyéthylpipérazine-*N'*-2-éthanesulfonique 50 mM, MnCl₂ 1 mM, MgCl₂ 1 mM, NaCl 20 mM, pH 7,8.

Après filtration le filtrat est centrifugé à 3000 × g. Cette accélération atteinte aussi rapidement que possible est suivie d'un freinage manuel de la centrifugeuse. Les chloroplastes recueillis dans le culot appartiennent pour 50–80 % à la Classe I selon SPENCER ET UNT¹¹. Les chloroplastes sont alors remis en suspension dans la solution tamponnée utilisée pour le broyage et diluée 10 fois, ce qui a pour effet de les faire éclater. Cet éclatement est nécessaire dans les études de la réduction du NADP⁺ exogène afin de faciliter sa pénétration au contact des sites réactionnels¹².

Mesures des variations de concentration en O₂

Elles sont effectuées polarographiquement à l'aide d'une électrode de concentration du type CLARK *et al.*¹³. Le volume de liquide est de 5,5 ml et le trajet optique de 1,6 cm. Le liquide comprend 50–150 µl de suspension chloroplastique, le volume restant étant constitué par une solution ayant la même composition que celle utilisée pour l'isolement des plastes.

La suspension de chloroplastes est éclairée par une lampe Philips à épiscope-miroir de 1000 W fournissant un éclairement de $25 \cdot 10^4$ lux à l'entrée de la cuve.

La température est maintenue à 18° pendant les mesures. Les variations de concentration en O₂ sont enregistrées pendant 5-10 min.

L'origine des produits utilisés est la suivante: *p*-benzoquinone (Eastman Chemical Co.), ferricyanure (Prolabo, pour analyse) et NADP⁺ (Sigma Chemical Co.).

La ferrédoxine a été isolée à partir de feuilles d'Epinard par la méthode de SAN PIETRO¹⁴ et purifiée par la méthode de MORTENSON¹⁵.

Les faibles concentrations en O₂ sont obtenues par barbotage d'azote dans le milieu réactionnel avant les mesures, les fortes concentrations sont obtenues par barbotage d'O₂ pur.

Les résultats sont exprimés en $\mu\text{moles O}_2 \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{mg chlorophylle}^{-1}$.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

p-Benzoquinone comme accepteur terminal d'électrons

Les résultats obtenus montrent une action inhibitrice de l'O₂ sur les vitesses initiales de dégagement d'O₂ calculées d'après la tangente à l'origine des enregistrements (Tableau I).

Cette action inhibitrice de l'O₂ est plus importante avec les plastes provenant de plantes de lumière faible ou encore de plantes de lumière forte mises à l'obscurité

TABLEAU I

INFLUENCE DE LA CONCENTRATION EN O₂ SUR LES VITESSES D'ÉMISSION D'O₂ AVEC LA *p*-BENZOQUINONE COMME ACCEPTEUR TERMINAL D'ÉLECTRONS

p-Benzoquinone: 0.3 mM. $v_i(O_2)$, $v_i(N_2)$: vitesses initiales en présence d'O₂ (air ou O₂ pur) et en présence d'N₂ (la dénomination N₂ étant appliquée aux faibles tensions en O₂, < 2% dans l'azote).

Origine des chloroplastes		Chlorophylle ($\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$)	O ₂ (%)	Vitesses initiales de dégagement ($\mu\text{moles O}_2 \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{mg}$ chlorophylle ⁻¹)	$\frac{v_i(O_2) - v_i(N_2)}{v_i(N_2)} \text{ (%)}$
Feuilles de fort éclairement	77	1.4	72		—
	21	61			—15.2
	90	70	32.7		—54.5
	1.5	70			—
	21	52.8			—24.5
Feuilles de fort éclairement mises à l'obscurité pendant 48 h et éclairées pendant 1 h	42	40			—42
	104	1.9	28.5		—
	21	21.2			—25
	63	13.8			—51.5
Feuilles de faible éclairement	75	1.9	74		—
	21	53			—28.6
	75	22			—70
	1.6	51.9			—
	21	46.6			—10.2
	77	24.4			—52

TABLEAU II

INFLUENCE DE LA CONCENTRATION EN O_2 SUR LES VITESSES INITIALES D'ÉMISSION d' O_2 AVEC LA ρ -BENZOQUINONE COMME ACCEPTEUR TERMINAL D'ÉLECTRONS

Chlorophylle: $100 \pm 10 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$.

Origine des chloroplastes	(ρ -Benzoquinone) (mM)	O_2 (%) dans N_2	$v_i(O_2) - v_i(N_2)$ $v_i(N_2)$ (%) *
Feuilles de fort éclairement	0.12	1.2 ± 0.4	-21
	0.24	1.7 ± 0.4	-11
Feuilles de fort éclairement mises à l'obscurité pendant 48 h et éclairées pendant 1 h	0.12	1.2 ± 0.4	-43
	0.24	1.7 ± 0.4	-19
Feuilles de faible éclairement	0.12	1.2 ± 0.4	-42
	0.24	1.7 ± 0.4	-23

* Valeurs correspondant à la moyenne de 2-4 mesures.

48 h avant l'expérience et en présence de faible concentration en ρ -benzoquinone (Tableau II).

Bien que d'après TREBST *et al.*¹⁶, la ρ -benzoquinone soit réduite en un site proche du Système I, la réoxydation partielle de l'hydroquinone formée, elle-même

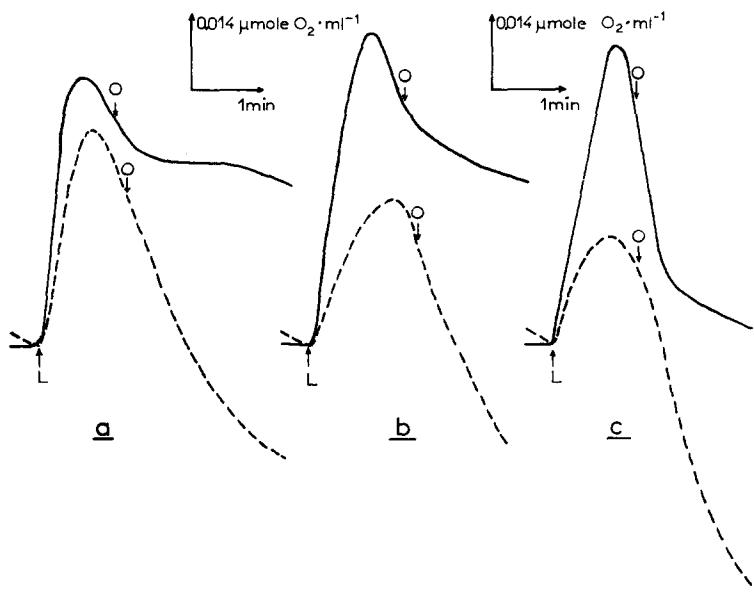


Fig. 1. Cinétiques des variations de concentration en O_2 lors de l'éclairement d'une suspension de chloroplastes en présence de ρ -benzoquinone (0.12 mM). a. $100 \mu\text{g}$ chlorophylle $\cdot \text{ml}^{-1}$: feuilles de forte lumière. b. $99 \mu\text{g}$ chlorophylle $\cdot \text{ml}^{-1}$: feuilles de forte lumière mises à l'obscurité 48 h. c. $92 \mu\text{g}$ chlorophylle $\cdot \text{ml}^{-1}$: feuilles de faible lumière. —, 1.2% O_2 ; ---, 21% O_2 . L, lumière; O, obscurité.

fonction de la concentration en O₂ (voir ci-dessous) ne permet pas de conclure à l'existence d'un site préférentiel sensible à l'O₂ sur la voie de réduction de la *p*-benzoquinone.

Mise à part l'autooxydation spontanée, la réoxydation de l'hydroquinone peut avoir lieu par des processus enzymatiques: à l'obscurité par des enzymes du type phénolase¹⁷ et à la lumière par l'intervention de photooxydase¹⁶.

Ces divers processus peuvent intervenir conjointement, mais avec des intensités relatives différentes selon l'origine des plastes.

L'inhibition par O₂, plus faible avec les plastes des plantes de forte lumière si ces dernières n'ont pas été mises à l'obscurité pendant 48 h, peut être liée à une quantité plus faible de photooxydase. En effet, ces préparations présentent, au cours d'une période d'obscurité après une phase lumineuse, les mêmes activités phénoloxydasiques (Figs. 1a et 1b).

L'absorption d'O₂, dans les périodes d'obscurité succédant à une illumination, est plus importante dans l'air (21 % O₂) que dans le N₂ (faibles concentrations en O₂). Dans l'air, cette absorption est plus importante pour les plastes des plantes de faible lumière. Ces mêmes chloroplastes présentent dans le N₂ une persistance de l'absorption (Fig. 1c).

Pour les plastes de plantes de faible lumière, l'inhibition par l'O₂ résulterait de l'action simultanée de photooxydase et d'oxydases plus actives que dans le cas de plastes de plantes fortement éclairées.

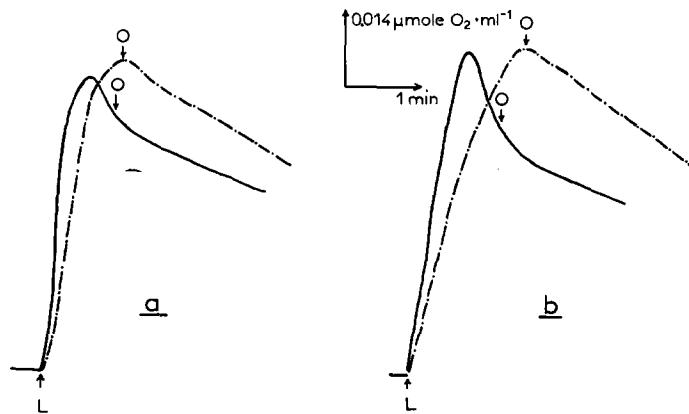


Fig. 2. Cinétiques des variations de concentration en O₂ lors de l'illumination d'une suspension de chloroplastes en présence de *p*-benzoquinone (0.12 mM) et de faibles concentration en O₂. a. Plastes de feuilles de fort éclairement. Concentration initiale O₂, 1.3%; chlorophylle, 72 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$. b. Plastes de feuilles de fort éclairement mises à l'obscurité 48 h. Concentration initiale O₂, 1.1%; chlorophylle, 99 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$. —, chloroplastes de préparations fraîches; - - -, chloroplastes de préparations vieillies à 0° pendant 1 h.

La Fig. 2 montre par ailleurs, que le vieillissement des préparations chloroplastiques s'accompagne d'une réoxydation plus importante à l'obscurité. Corrélativement, les émissions d'O₂ par ces préparations vieillies sont moins actives. Cette observation est à rapprocher de la présence d'une *o*-polyphénol oxydase latente dans les chloroplastes d'Epinard décrite par TREBST ET WAGNER¹⁸.

Ferricyanure comme accepteur terminal d'électrons

Les résultats obtenus, réunis dans le Tableau III, montrent que l' O_2 a une influence faible sur les vitesses initiales de dégagement d' O_2 .

Néanmoins les constatations suivantes peuvent être faites :

(1) Les vitesses initiales d'émission sont stimulées par l' O_2 . Cette stimulation est en général plus forte en présence d'air (21 % O_2) qu'en présence d' O_2 pur.

TABLEAU III

INFLUENCE DE LA CONCENTRATION EN O_2 SUR LES VITESSES INITIALES D'ÉMISSION D' O_2 , AVEC LE FERRICYANURE COMME ACCEPTEUR TERMINAL D'ÉLECTRONS

Ferricyanure : 0.7 mM. (1) $CO_2 + HCO_3^- \approx 0.32$ mM, correspond au calcul pour le milieu à pH 7.8.
 (2) $CO_2 + HCO_3^- < 0.32$ mM, correspond à une solution de même pH mais appauvrie par évacuation des gaz sous vide et rétablissement de concentration en O_2 à l'aide d'air ou d' O_2 , dépourvus de CO_2 , par barbotage dans une solution de potasse.

Origine des chloroplastes	Chlorophylle ($\mu g \cdot ml^{-1}$)	$CO_2 + HCO_3^-$ (mM)	O_2 (%)	Vitesses initiales de dégagement ($\mu moles O_2 \cdot h^{-1} \cdot mg chlorophylle^{-1}$)	$\frac{v_i(O_2) - v_i(N_2)}{v_i(N_2)} (\%)$
Feuilles de fort éclairement	70	≈ 0.32 (1)	1.4	37.1	—
			21	44	18.5
			70	35	— 5.6
	70	< 0.32 (2)	1.3	26.5	—
			21	32.8	23
			70	29.6	11.6
Feuilles de faible éclairement	86	≈ 0.32 (1)	1.2	31.7	—
			21	32.5	2.5
			70	28.5	— 10
	90	< 0.32 (2)	1.7	19.4	—
			21	27.9	43
			70	25.4	30

(2) Il n'existe pas de grande différence dans les vitesses de dégagement d' O_2 avec les plastes des différentes origines. L'activité des plastes de feuilles de forte lumière est légèrement plus élevée que celle des plastes de feuilles de faible éclairement.

(3) L'appauvrissement en bicarbonate provoque une diminution des vitesses d'émission d' O_2 en même temps qu'une augmentation de la stimulation par l' O_2 , quand on compare les vitesses dans N_2 et dans l'air.

L'effet stimulateur du bicarbonate sur la réaction de Hill avec le ferricyanure a déjà été constaté par de nombreux auteurs¹⁹⁻²¹.

La diminution de l'effet stimulateur de l' O_2 lors du passage de l'air (21 % O_2) à l' O_2 pur et lors de l'enrichissement en bicarbonate est à rapprocher des observations suivantes :

(1) D'après GOVINDJEE ET BAZZAZ²², la réduction du ferricyanure pourrait s'effectuer, suivant les conditions lumineuses, par deux voies différentes. En lumière faible un seul photosystème interviendrait, alors qu'avec de fortes intensités lumineuses, il y aurait intervention des deux photosystèmes, avec effet Emerson.

(2) WEST ET HILL²¹ ont observé, avec des plastes de même origine, qu'en lumière faible, la réduction du ferricyanure est insensible au CO_2 , alors qu'en lumière

intense, elle est augmentée par l'élévation de la concentration en CO₂. De plus, lorsque le ferricyanure tend à disparaître, l'O₂ tend à se substituer à lui comme accepteur de Hill et l'absorption d'O₂ résultante est stimulée par le CO₂.

En conséquence, le CO₂ stimulerait la réduction du ferricyanure lorsque les deux systèmes photochimiques interviennent. Dans ces conditions la réduction du ferricyanure comporte un site sensible à O₂.

De même la diminution de l'effet stimulateur de l'O₂ lors du passage de l'air à l'O₂ pur résulterait de l'intervention, dans les mesures faites en présence de forte lumière comme c'est le cas ici, d'une voie de réduction faisant intervenir les deux photosystèmes et comportant un site sensible à O₂. La diminution de l'effet stimulateur d'O₂ peut même aboutir, en présence de fortes concentrations de CO₂, à une inhibition partielle de l'émission d'oxygène.

De l'abaissement de la concentration en CO₂ résulterait un ralentissement partiel de cette voie de réduction du ferricyanure, avec comme conséquence une diminution de sensibilité à l'effet inhibiteur d'O₂.

NADP⁺ et NADP⁺ plus ferrédoxine comme accepteur d'électrons

Les résultats des Tableaux IV et V montrent le rôle inhibiteur de l'O₂ sur les vitesses initiales d'émission d'O₂ avec le NADP⁺ comme accepteur terminal d'électrons. Il semble donc qu'il existe un site d'entrée de l'O₂ au niveau du Système I. La présence de bicarbonate (Tableau V) provoque, comme pour le ferricyanure, une stimulation du dégagement d'O₂. Cette stimulation est concomitante d'une diminution de la

TABLEAU IV

INFLUENCE DE LA CONCENTRATION EN O₂ SUR LES VITESSES INITIALES D'ÉMISSION D'O₂ AVEC LE NADP⁺ COMME ACCEPTEUR TERMINAL D'ÉLECTRONS

NADP⁺:0.35 mM.

Origine des chloroplastes	<i>Chlorophylle</i> ($\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$)	O ₂ (%)	Vitesses initiales de dégagement ($\mu\text{M O}_2 \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{mg}$ chlorophylle ⁻¹)	$\frac{v_i(O_2) - v_i(N_2)}{v_i(O_2)} (\%)$
Feuilles de fort éclairement	108	0.8	4.6	-32
		21	3.1	
	113	0.8	3.5	-30
		21	2.4	
	145	1	4	-39
		21	2.4	
	151	1	4.5	-20.8
		21	3.6	
	136	1.1	8.2	-31.7
		21	5.6	
	141	1.3	5.4	-21.6
		21	4.2	
Feuilles de faible éclairement	180	1	4.3	-48
		21	2.2	
	117	1.6	2.7	-44
		21	1.5	

TABLEAU V

INFLUENCE DE LA CONCENTRATION EN $\text{CO}_2 + \text{HCO}_3^-$ SUR L'INHIBITION PAR L' O_2 DES VITESSES INITIALES D'ÉMISSION D' O_2 AVEC LE NADP $^+$ COMME ACCEPTEUR TERMINAL D'ÉLECTRONS
 NADP $^+$: 0.35 mM. Chloroplastes extraits à partir de feuilles de fort éclairement.

<i>Chlorophylle</i> ($\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$)	$\text{CO}_2 + \text{HCO}_3^-$ (mM)	O_2 (%)	Vitesses initiales de dégagement ($\mu\text{M} \text{O}_2 \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{mg}$ <i>chlorophylle</i> $^{-1}$)	$\frac{v_i(\text{O}_2) - v_i(\text{N}_2)}{v_i(\text{N}_2)}$ (%)
113	≈ 0.32	0.8	3.5	-30
		21	2.4	
	<0.32	1.3	2.0	-38
		21	1.3	
151	≈ 0.32	1	4.5	-20.8
		21	3.6	
	<0.32	2.1	4.2	-34
		21	2.8	
145	≈ 0.32	2.1	2.9	-12.5
		21	2.5	
	<0.32	2.1	3	-19.5
		21	2.4	
316	≈ 0.32	2.9	3	-3.3
		21	2.9	
	<0.32	2.7	3.5	-11.4
		21	3	

TABLEAU VI

INFLUENCE DE LA CONCENTRATION EN O_2 SUR LES VITESSES INITIALES D'ÉMISSION D' O_2 AVEC NADP $^+$ plus FERRÉDOXINE COMME ACCEPTEURS D'ÉLECTRONS

NADP: 0.35 mM.

<i>Origine des chloroplastes</i>	<i>Chlorophylle</i> ($\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$)	<i>Ferrédoxine</i> ($\mu\text{g N} \cdot \text{ml}^{-1}$)	O_2 (%)	Vitesses initiales de dégagement ($\mu\text{moles} \text{O}_2 \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{mg}$ <i>chlorophylle</i> $^{-1}$)	$\frac{v_i(\text{O}_2) - v_i(\text{N}_2)}{v_i(\text{N}_2)}$ (%)
Feuilles de fort éclairement	110	0	0.8	4.6	-32
		21	3.1		
	69	0.8	29.5		-24
		21	22.4		
Feuilles de faible éclairement	120	0	1.6	2.7	-44
		21	1.5		
	62	1.2	24.1		-14
		21	20.7		
145	27	1.4	6		-28
		21	4.3		
	330	1.2	17.7		-15
		21	1.5		

sensibilité à l' O_2 . Les plastes provenant de plantes de faible lumière semblent être plus sensibles à l' O_2 que ceux extraits de plantes de forte lumière (Tableau IV).

L'addition de ferrédoxine provoque, de même que l'addition de bicarbonate, une stimulation de l'émission d'O₂ et une diminution de l'effet inhibiteur de l'O₂ (Tableau VI). L'ensemble des résultats peut s'interpréter en supposant qu'il existe dans la chaîne de transfert d'électrons un transporteur sensible à O₂ et situé en amont de la ferrédoxine. L'addition de ferrédoxine exogène permet au système NADP⁺ *plus* ferrédoxine d'entrer en compétition plus favorablement avec l'O₂ pour capter les électrons de ce transporteur. Cette interprétation n'est valable que lorsque le NADP⁺ est abondant. En effet des expériences ont montré qu'en présence de ferrédoxine seule l'absorption d'O₂ est stimulée, ce qui semble montrer qu'en l'absence de NADP⁺, la ferrédoxine peut être réoxydée par l'O₂ soit directement soit indirectement par l'intermédiaire de la ferrédoxine-NADP⁺-réductase.

CONCLUSIONS

A propos de l'effet de l'O₂ sur la réduction de la *p*-benzoquinone, la réoxydation de l'hydroquinone ne permet pas de préciser un site d'intervention inhibitrice de l'O₂ dans les réactions conduisant à la réduction de la *p*-benzoquinone. L'inhibition par l'O₂ est plus importante avec les plastes provenant de plantes développées en lumière faible et lorsque la concentration en quinone dans le milieu réactionnel est faible.

La réduction du ferricyanure est peu affectée par l'O₂. L'O₂, à la concentration qu'il a dans l'atmosphère, stimule l'émission d'O₂ en présence de ferricyanure. Par contre, une inhibition partielle ou une diminution de la stimulation est observée lorsque la concentration en O₂ atteint 70%. La stimulation par l'O₂ (21%) est moins importante en présence de fortes concentrations en bicarbonate qui par ailleurs stimulent la réduction du ferricyanure. D'après les travaux de GOVINDJEE ET BAZZAZ²² et de WEST ET HILL²¹, le CO₂ stimulerait la réduction du ferricyanure lorsque celle-ci fait intervenir les deux photosystèmes. Dans ces conditions de réduction du ferricyanure, il existe un site sensible à O₂ comme le montre également la stimulation de l'absorption d'O₂ par le CO₂ lorsque le ferricyanure est totalement réduit et qu'intervient alors une réaction de Melher. Dans les expériences décrites ci-dessus, la stimulation du dégagement d'O₂ par le CO₂ semble bien montrer que la réduction du ferricyanure s'effectue par l'intermédiaire des deux photosystèmes. Les fortes concentrations en O₂ sont alors inhibitrices, puisque la voie de réduction du ferricyanure comporte un site sensible à O₂. L'abaissement de la concentration en bicarbonate, en ralentissant cette voie de réduction, provoque une diminution de l'effet inhibiteur d'O₂.

En ce qui concerne la réduction du NADP⁺, les résultats obtenus diffèrent de ceux d'ELLYARD⁴. Cet auteur n'a pas constaté d'effet inhibiteur de l'O₂ sur la réduction du NADP⁺, et conclut, en accord avec TAGAWA *et al.*²³, que ce phénomène résulte de la très grande affinité du NADP⁺ pour la ferrédoxine réduite. Cette conclusion est bien confirmée par les expériences précédentes comportant une addition de ferrédoxine exogène, puisque cette addition diminue l'effet dépressif d'O₂ dans la réduction du NADP⁺.

Mais cependant, l'effet dépressif de l'O₂ se manifeste au niveau d'un transporteur proche du Système I et situé vraisemblablement en amont de la ferredoxine et c'est

par l'intermédiaire de ce transporteur que l' O_2 affecte la réduction du $NADP^+$, ainsi que le schématise la Fig. 3.

L'effet de l' O_2 varie selon la vitesse avec laquelle le transporteur sensible à O_2 se trouve réoxydé par ses propres accepteurs physiologiques; c'est ainsi que l'addition de ferrédoxine exogène provoque une diminution de l'amplitude de l'inhibition par O_2 .

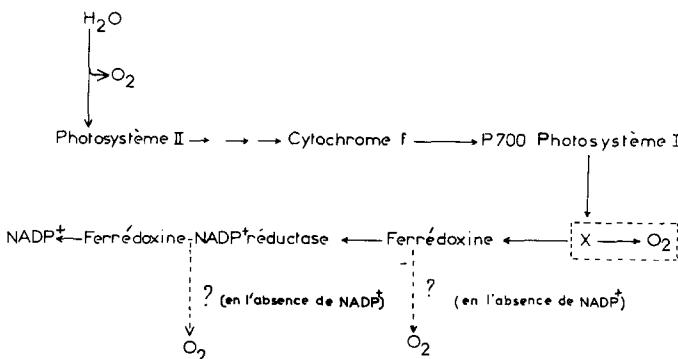


Fig. 3. Sites d'intervention de l' O_2 dans les transferts d'électrons de la photosynthèse (pour partie d'après AVRON ET CHANCE²⁴).

REMERCIEMENT

Je remercie Mr. le Professeur A. Moyse pour ses précieux conseils et critiques.

RÉSUMÉ

L'influence de la concentration en O_2 sur les réactions de Hill en présence de ρ -benzoquinone, ferricyanure, $NADP^+$, $NADP^+$ plus ferrédoxine a été étudiée avec des chloroplastes isolés de feuilles d'Epinard.

Avec la ρ -benzoquinone, la réoxydation partielle de l'hydroquinone formée, elle-même fonction de la concentration en O_2 ne permet pas de localiser un site d'intervention d' O_2 .

Avec le ferricyanure, l'influence de l' O_2 est faible. Néanmoins, on observe une stimulation de la réduction du ferricyanure par l' O_2 à la concentration qu'il a dans l'atmosphère. Cette stimulation est plus faible en présence d' O_2 pur. Le bicarbonate stimule la réduction du ferricyanure et diminue l'effet stimulateur d' O_2 .

L' O_2 inhibe la réduction du $NADP^+$. La ferrédoxine de même que le bicarbonate stimule la réduction du $NADP^+$ et diminue l'effet dépressif d' O_2 .

L'ensemble des résultats semble indiquer qu'il existe dans la chaîne de transfert d'électrons un site d'intervention de l' O_2 situé au niveau du Système photochimique I, en amont de la ferrédoxine.

L'effet inhibiteur de l' O_2 sur les réactions de Hill en présence de ρ -benzoquinone et de $NADP^+$ est fonction des conditions de croissance des plantes. Il est plus important avec des plastes extraits de feuilles faiblement éclairées pendant leur croissance.

REFERENCES

- 1 O. WARBURG, *Biochem. Z.*, 103 (1920) 188.
- 2 E. MC ALISTER ET D. MYERS, *Smithsonian Inst. Misc. Collections*, 99 (1940) 6.
- 3 J. S. TURNER, J. F. TURNER, K. D. SHORTMAN ET J. E. KING, *Australian J. Biol. Sci.*, 11 (1958) 336.
- 4 P. W. ELLYARD, *The Warburg Effect, Investigation Using Isolated Spinach Chloroplasts*, Ph. D. Thesis, Cornell University, U.S.A., 1968.
- 5 J. M. BRIANTAIS, *Compt. Rend. Acad. Sci.*, 254 (1962) 2215.
- 6 O. BJÖRKMAN, *Physiol. Plantarum*, 19 (1966) 618.
- 7 U. HEBER ET C. S. FRENCH, *Planta*, 79 (1968) 99.
- 8 Y. DE KOUCHKOVSKY ET P. JOLIOT, *Photochem. Photobiol.*, 6 (1967) 567.
- 9 S. MALKIN, *Biochim. Biophys. Acta*, 153 (1968) 188.
- 10 D. I. ARNON, *Am. J. Botany*, 25 (1938) 322.
- 11 D. SPENCER ET H. UNT, *Australian J. Biol. Sci.*, 18 (1965) 197.
- 12 Y. MATHIEU, *Photosynthetica*, 1 (1967) 57.
- 13 L. C. CLARK, R. WOLF, D. GRANGER ET Z. TAYLOR, *J. Appl. Physiol.*, 6 (1953) 57.
- 14 A. SAN PIETRO, IN S. P. COLOWICK ET N. O. KAPLAN, *Methods in Enzymology*, Vol. 6, Academic Press, New York, 1963, p. 439.
- 15 L. E. MORTENSON, *Biochim. Biophys. Acta*, 81 (1964) 71.
- 16 A. TREBST, H. ECK ET S. WAGNER, *Photosynthetic Mechanisms in Green Plants*, Natl. Acad. Sci. - Natl. Res. Council, 1145 (1963) 174.
- 17 O. WARBURG ET W. LÜTTGENS, *Biokhimiya*, 11 (1946) 303.
- 18 A. TREBST ET S. WAGNER, *Z. Naturforsch.*, 17B (1962) 396.
- 19 P. P. BATRA ET A. T. JAGENDORF, *Plant Physiol.*, 40 (1965) 1074.
- 20 S. IZAWA, *Plant Cell Physiol. Tokyo*, 3 (1962) 221.
- 21 J. WEST ET R. HILL, *Plant Physiol.*, 42 (1967) 819.
- 22 GOVINDJEE ET M. BAZZAZ, *Photochem. Photobiol.*, 6 (1967) 885.
- 23 K. TAGAWA, H. Y. TSUJIMOTO ET D. I. ARNON, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.*, 49 (1963) 567.
- 24 M. AVRON ET B. CHANCE, *Brookhaven Symp. Biol.*, 19 (1966) 149.

Biochim. Biophys. Acta, 189 (1969) 411-421