

BBA 46058

MODIFICATION DU SPECTRE D'ABSORPTION DANS LE ROUGE LOINTAIN D'UNE DIATOMEE CULTIVEE EN LUMIERE ROUGE

H. JUPIN ET G. GIRAUD

Laboratoire de Cytophysiologie Végétale de l'Ecole Normale Supérieure, 24, rue Lhomond, Paris 5
(France)*

(Reçu le 7 juillet, 1970)

SUMMARY

Modification of the absorption spectrum in the far red of a diatom cultured in red light

The absorption spectra *in vivo* of the diatom *Detonula* sp. grown in different conditions of illumination are compared.

From cells grown in weak red light (650 nm) an absorption maximum near 707 nm can be observed at room temperature.

At 20°, the difference between the two suspensions spectra indicate the existence in red light cells of two peaks of similar height at approx. 695 and 707 nm.

The spectra measured at -196° confirm the existence of those peaks.

This absorption band is still clearly visible on suspensions of fragments of chloroplasts obtained from cells fragmented by passage through the French pressure cell (French press).

These results support the view, that, for that diatom, the equilibrium between the different components of the pigment system can be modified by illumination conditions.

INTRODUCTION

La diatomée *Detonula*¹ présente, selon les conditions d'éclairement en culture, des variations pigmentaires. GIRAUD² a observé dans des cultures âgées une inflexion à 707 nm dans le spectre d'absorption décelable à 20°, qui disparaissait en culture active.

L'existence d'un accident dans cette zone du spectre peut être rapproché de celui décrit chez *Euglena*³ et chez *Ochromonas danica*⁴. Ces observations peuvent être obtenues par une méthode plus précise en enregistrant directement la dérivée du spectre d'absorption à -180°. FREI⁵ a ainsi pu mettre en évidence des accidents de faible amplitude chez *Scenedesmus*, *Pleurochloris* et *Amphora*. Dernièrement, FRENCH⁶ décrit une modification à 707 nm dans des cultures âgées de *Phaeodactylum tricornutum*. ÖQUIST⁷ montre que l'absorption lumineuse dans le rouge lointain augmente dans des cultures âgées de plusieurs mois de *Chlorella*.

La présence de pic d'absorption vers 700 nm aisément décelable à la température

* Équipe de Recherche Associée au C.N.R.S. No. 179.

ordinaire, dans des cultures âgées de *Detonula*, nous a incités à préciser les conditions d'apparition de ces pics et à analyser leurs rapports avec les autres composants du système pigmentaire.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les algues prélevées sur des cultures en phase exponentielle, éclairées en lumière blanche sont placées dans les conditions suivantes: soit lumière blanche de forte intensité ($1.5 \cdot 10^4 \text{ erg} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{sec}^{-1}$, maximum d'émission à 420, 525 et 575 nm avec les tubes fluorescents (Claude U 20 RS)) en lumière continue ou avec une périodicité 16:8 h; soit lumière rouge d'intensité lumineuse faible ($1.6 \cdot 10^3 \text{ erg} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{sec}^{-1}$, maximum d'émission unique à 650 nm avec des tubes fluorescents (Philips TL 20W/15W)) en lumière continue, ou à l'obscurité.

Les spectres d'absorption *in vivo* sont obtenus avec des algues en suspension dans 20 % de Dextran, ou dans du glycérol pur, l'analyse étant effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre Cary 14 R selon SHIBATA⁸. Les spectres à basse température ont été obtenus grâce au montage de BRIANTAIS⁹.

L'extraction des chloroplastes est faite à la presse de French réfrigérée, dans un tampon tris maléate de pH 6.6 additionné de saccharose. La fraction chloroplastique est séparée par centrifugation.

RÉSULTATS

(1) *Apparition d'un pic d'absorption à 707 nm dans des cultures en lumière rouge observable à 20°*

Aucun pic d'absorption n'est décelable à la température ordinaire au delà de 686 nm chez les algues cultivées soit en lumière blanche, soit à l'obscurité. La croissance est continue en lumière blanche tandis que la densité de population se maintient constante à l'obscurité pendant les 15 jours de l'expérience. Par contre, en lumière rouge, la zone d'absorption dans le rouge lointain est très nettement modifiée dès le troisième jour, un pic d'absorption bien distinct se dessinant à 707 nm (Fig. 1A) et dans ce cas, la croissance reste très lente. Pour suivre l'apparition de ce pic d'absorption, on a étudié l'évolution du rapport $A_{707 \text{ nm}}/A_{750 \text{ nm}}$. Pour les algues témoins en lumière blanche, ce rapport reste constant. Par contre, en lumière rouge, il croît pendant 15 jours, puis atteint un plateau (Fig. 2). Des algues présentant le maximum d'absorption à 707 nm perdent ce pic, lorsqu'elles sont replacées en lumière blanche au bout d'environ 6 jours.

Afin de mettre en évidence les particularités spectrales de la suspension des algues cultivées en lumière rouge, on a mesuré directement au spectrophotomètre la différence entre celle-ci et une suspension témoin cultivée en lumière blanche. Ne désirant pas ajuster la concentration à une longueur d'onde déterminée, on dilue progressivement l'une des suspensions de façon à obtenir une série de spectres (Fig. 1B). On obtient alors deux pics; l'un à 707 nm et l'autre à 685 nm, ce dernier diminuant lorsque la concentration des algues cultivées en lumière rouge diminue, en même temps que se creuse un pic à 668 nm. Ce spectre obtenu à 20° est identifiable à celui décrit par FRENCH⁶ chez *Phaeodactylum* à -180°.

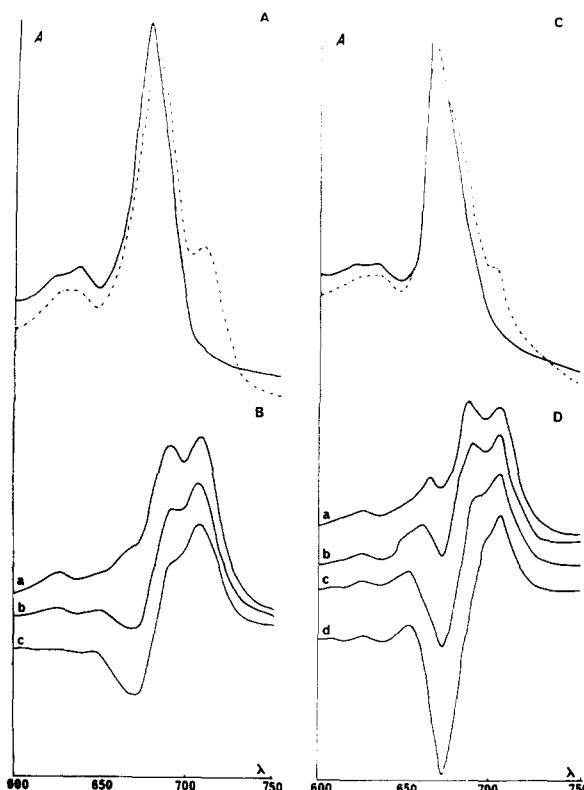


Fig. 1. Spectres d'absorption obtenus à 20°. —, algues cultivées en lumière blanche; ——, algues cultivées en lumière rouge. A. Spectre de suspensions d'algues dans du glycérol pur ou du Dextran à 20%. B. Spectres de différence obtenus directement au spectrophotomètre par dilution croissante de la suspension d'algues cultivées en lumière rouge (a, b, c, concentration décroissante). C. Spectre de suspension de fragments de chloroplastes. D. Spectres de différence obtenus comme en B (a, b, c, d, concentration décroissante).

(2) *Etude des spectres à basse température*

Les différences entre les spectres d'absorption des deux types d'algues sont encore accentuées à -196° . Le pic à 707 nm est plus important et le pic principal semble composé d'au moins trois bandes d'absorption. Le spectre des algues témoins ne montre que de légères inflexions à 707 nm et 685 nm.

Si l'on considère la partie du spectre située en dessous de 650 nm, on constate des différences importantes entre les deux types d'algues (Fig. 3). Un spectre de différence obtenu selon la méthode de FRENCH⁶ met également en évidence l'importance des pics à 685 nm (Fig. 3).

(3) *Etude des spectres d'absorption sur des fragments de chloroplastes*

Pour éviter les effets dûs à l'ombre mutuelle des particules et la distorsion qui en résulte, il est préférable de vérifier ces résultats sur des chloroplastes isolés, entiers ou fragmentés (Fig. 1C).

Par centrifugation sur gradient de densité, on peut séparer une bande marron vert qui contient des débris de chloroplastes. On constate que le pic principal est situé

à la même longueur d'onde (environ 675 nm) dans les deux cas, mais il a été possible de constater dans les différents spectres, y compris ceux de cellules entières, une variabilité du pic de plusieurs nanomètres sans que ces déplacements semblent avoir une signification.

Les spectres de différences obtenus de la même façon que pour les cellules entières montrent les mêmes pics d'absorption à 704 nm et 687 nm, le minimum se situant vers 668 nm. Ceci confirme les résultats obtenus sur les suspensions d'algues.

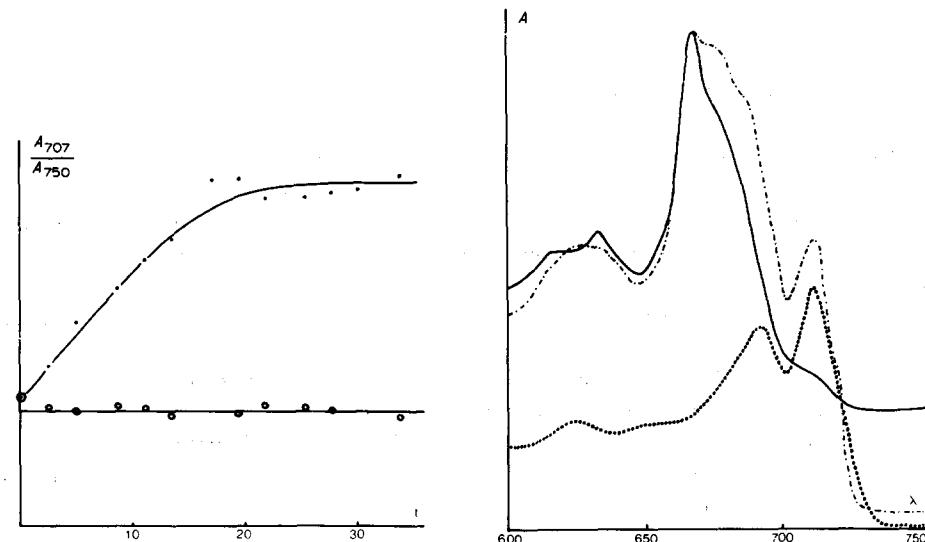


Fig. 2. Apparition du pic à 707 nm en fonction du temps. ○—○, algues cultivées en lumière blanche; ●—●, algues cultivées en lumière rouge.

Fig. 3. Spectre d'absorption obtenu à -196° de *Detonula* cultivée en lumière blanche (—), en lumière rouge (—·—). ······, spectre de différence obtenu à partir des courbes recalculées de façon à ce que les aires comprises entre les deux courbes et l'axe des abscisses de 600 à 750 nm soient égales.

DISCUSSION

Les études sur la présence d'un pic d'absorption aux environs de 700 nm sont nombreuses³⁻⁶, mais ne se rapportent toujours qu'à un accident de faible amplitude décelable de manière indirecte dans la plupart des cas. En ce qui concerne la diatomée *Detonula* sp., il s'agit d'un pic d'absorption très visible même à la température ordinaire. Il apparaît dans des cultures éclairées en lumière sensiblement monochromatique alors que les différents auteurs signalent son existence dans des cultures âgées ou soumises à un éclairage de faible intensité en lumière blanche.

Nous avons constaté que le phénomène était rapidement réversible. Le temps d'apparition ou de disparition du pic est de l'ordre de grandeur du temps de génération, il ne s'agit donc pas d'une sélection d'un type de cellules mais plutôt d'un phénomène de synthèse à l'intérieur du chloroplaste.

L'analyse des algues à basse température et l'étude de l'absorption sur des fragments de chloroplastes confirment l'existence de composés pigmentaires absorbants

vers 685 et 707 nm. On note également des modifications de l'absorption vers 640 nm qui peuvent être attribuées à des variations de teneurs en chlorophylle *c*.

Il semble donc que la complexité du système pigmentaire soit tributaire des conditions de culture. Selon les cas, l'équilibre entre les différents composants n'est pas le même. Il serait intéressant de déterminer l'efficacité photosynthétique de ces composants et de rechercher les rapports qui peuvent exister avec leurs conditions d'apparition.

RÉSUMÉ

Les spectres d'absorption *in vivo* d'une diatomée *Detonula* sp. cultivée dans des conditions d'éclairement différentes sont comparées.

En lumière rouge (650 nm) de faible intensité, un pic d'absorption apparaît rapidement à 707 nm, observable à la température ordinaire.

À 20°, le spectre de différence entre les deux suspensions montre qu'il existe chez les algues cultivées en lumière rouge deux pics d'importance identique et situés à 695 et 707 nm.

Des spectres à basse température (-196°) confirment l'existence de ces deux pics.

Cette bande d'absorption est encore décelable sur des suspensions de fragments de plastes obtenus à partir de cellules broyées au moyen d'une presse de French.

Ces modifications importantes aux environs de 700 nm et d'autres plus mineures à 640 nm amènent à penser que chez cette diatomée, l'équilibre entre les différents composants du système pigmentaire peut être modifié sous l'action de certains types d'éclairement.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 H. JUPIN, *Compt. Rend.*, 264 (1967) 2280.
- 2 G. GIRAUD, *Physiol. Végétale*, 1 (1963) 203.
- 3 J. S. BROWN ET C. S. FRENCH, *Biophys. J.*, 1 (1961) 539.
- 4 M. B. ALLEN, C. S. FRENCH ET J. S. BROWN, in M. B. ALLEN, *Comparative Biochemistry of Photoreactive Systems*, Academic Press, New-York, 1960, p. 33.
- 5 Y. FREI, *Biochim. Biophys. Acta*, 57 (1962) 82.
- 6 C. S. FRENCH, *Arch. Mikrobiol.*, 59 (1967) 93.
- 7 G. ÖQUIST, *Physiol. Plantarum*, 22 (1969) 516.
- 8 K. SHIBATA, *J. Biochem.*, 45 (1958) 599.
- 9 J. M. BRIANTAIS, *Photochem. Photobiol.*, 6 (1967) 155.

Biochim. Biophys. Acta, 226 (1971) 98-102