

Interaction du 2,4-dichlorophénol et de l'eau oxygénée dans la destruction enzymatique de l'acide β -indolylacétique

En conditions aérobiques, l'acide β -indolylacétique (AIA) est détruit par la peroxydase seule, en l'absence de tout cofacteur¹⁻⁴. La réaction est nettement accélérée en présence de 2,4-dichlorophénol (DCP)^{2,3,5}. La participation de l'eau oxygénée dans l'oxydation de l'AIA par la peroxydase est controversée²⁻⁴. Cette note présente quelques résultats de l'action du DCP et de H_2O_2 , seuls ou combinés, sur l'activité AIA-oxydasique de nature peroxydasique⁶⁻⁸ d'extraits bruts de racines de lentilles et de haricots. Les extraits de lentilles détruisent naturellement l'AIA⁹, ils contiennent peu d'inhibiteurs AIA-oxydasiques; les extraits de haricots, cultivés à l'obscurité ou à la lumière renferment des inhibiteurs en grande quantité⁸, leur activité est faible en l'absence de cofacteurs.

La culture des racines de *Lens culinaris* Med. et de *Phaseolus vulgaris* (var. Hâtif nain du Limbourg), la préparation des extraits enzymatiques et le dosage de l'activité AIA-oxydasique ont été décrits ailleurs⁶.

Résultats (Figures 1 et 2). H_2O_2 inhibe l'activité AIA-oxydasique des extraits de *Lens*, elle accélère celle des extraits de *Phaseolus*. Le DCP favorise nettement la destruction auxinique par les extraits de *Lens* et de *Phaseolus*. A la concentration $1 \cdot 10^{-3} M$, il n'active plus l'activité du *Lens* et inhibe les extraits de *Phaseolus*. Les effets de H_2O_2 et du DCP combinés à diverses concentrations paraissent additifs chez le *Lens*, en remarquant toutefois l'inhibition AIA-oxydasique totale quand H_2O_2 $1 \cdot 10^{-4}$ ou $1 \cdot 10^{-3}$ volume se trouve en présence du DCP à la concentration $1 \cdot 10^{-3} M$. Chez *Phaseolus*, quand H_2O_2 se trouve à la concentration $1 \cdot 10^{-4}$ volume, l'effet activateur du DCP augmente avec sa concentration; c'est l'inverse quand H_2O_2 se trouve à la concentration $1 \cdot 10^{-3}$ volume, l'activité devenant nulle pour la concentration $1 \cdot 10^{-4} M$, comme chez le *Lens*. Il existe donc une interaction H_2O_2 -DCP dans la destruction enzymatique de l'AIA par les extraits de *Lens* et de *Phaseolus*.

Discussion. Action de H_2O_2 seule. H_2O_2 se comporte de manière générale comme inhibiteur des extraits de lentille¹⁰ et comme activateur des extraits de haricot (riches en inhibiteurs AIA-oxydasiques). Pour expliquer ces effets divergents, on peut penser aux différentes possibilités de réaction de cette substance dans le mélange. On se souviendra qu'elle peut former avec la peroxydase divers complexes plus ou moins actifs vis-à-vis de l'AIA²⁻⁴. Elle peut servir, avec les peroxydases, à l'inactivation

des inhibiteurs AIA-oxydasiques de nature phénolique¹¹, favorisant ainsi la destruction auxinique, mais elle peut également servir les enzymes à l'hydroxylation de monophénols présents, donnant naissance à des inhibiteurs de la réaction AIA-oxydasique¹².

¹ I. YAMASAKI et H. SOUZO, Arch. Biochem. Biophys. 86, 294 (1960).

² I. YAMASAKI et L. H. PIETTE, Biochim. biophys. Acta 77, 47 (1963).

³ L. R. FOX, W. K. PURVES et H. I. NAKADA, Biochemistry 4, 2754 (1965).

⁴ J. RICARD et J. NARI, Biochim. biophys. Acta 113, 57 (1966).

⁵ J. A. SACHER, Pl. Physiol. 37, 74 (1962).

⁶ TH. GASPARD, Bull. Soc. r. Bot. Belg. 99, 37 (1965).

⁷ T. AVELLA, M. DINANT et TH. GASPARD, Bull. Soc. r. Sci. Liège 35, 307 (1966).

⁸ M. DINANT et TH. GASPARD, Bull. Soc. r. Bot. Belg. 100, in press (1966).

⁹ P. E. PILET et TH. GASPARD, Physiologia Pl. 17, 324 (1964).

¹⁰ P. E. PILET, Physiologia Pl. 14, 787 (1961).

¹¹ TH. GASPARD, M. BASTIN et C. LEYH, Bull. Soc. r. Sci. Liège 33, 844 (1964).

¹² M. FURUYA et A. W. GALSTON, Physiologia Pl. 14, 750 (1961).

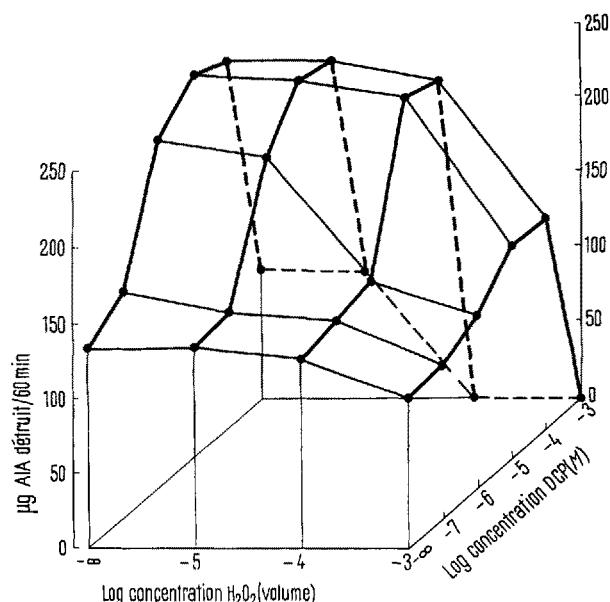


Fig. 1. Activité AIA-oxydasique d'un extrait de lentilles, seul ou en présence de H_2O_2 ou de DCP à différentes concentrations.

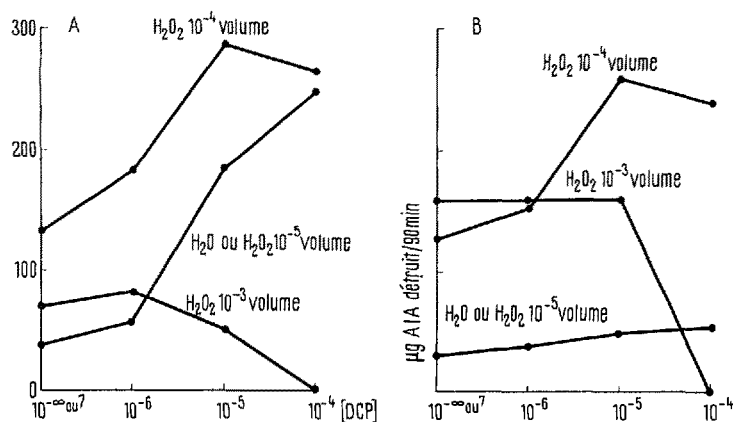


Fig. 2. Activité AIA-oxydasique d'un extrait de racines de haricots (A = cultivés à la lumière; B = cultivés à l'obscurité), seul ou en présence de H_2O_2 ou de DCP à différentes concentrations.

Action du DCP seul. En dehors de son intervention dans le mécanisme de la réaction AIA-oxydasique, tel qu'il est proposé par YAMASAKI et PIETTE² par exemple, il est clair que le DCP lève l'inhibition due à des substances naturelles, dont la synthèse est favorisée par la lumière^{5,8}. L'effet inhibiteur du DCP en grande concentration peut être attribué à son hydroxylation, par les peroxydases, en forme polyphénolée inhibitrice de la destruction auxinique¹².

Action combinée de H₂O₂ et du DCP. Les interactions entre DCP et H₂O₂ décrits plus haut rappellent celles qui sont dues à l'ion Mn⁺⁺ en présence de DCP^{13,14}: à faibles concentrations de phénol (1 · 10⁻⁷ M) l'ion manganèse inhibe le catabolisme auxinique; lorsque le phénol est en concentration plus grande (1 · 10⁻⁴–1 · 10⁻³ M), le manganèse accélère la dégradation de l'AIA. Sans doute existe-t-il des lieux communs entre ces deux types d'interaction et plusieurs causes doivent être recherchées au niveau des mécanismes de la réaction, influencés par ces substances, et qui mettent en jeu la production de radicaux libres, d'eau oxygénée¹⁵, de formes plus ou moins oxydées ou réduites de la peroxydase.

Summary. DCP increases IAA destruction by both *Lens* and *Phaseolus* root breis. H₂O₂ inhibits catabolism by *Lens* extracts but activates it when *Phaseolus* is used, mainly when roots are cultivated in the dark and contain inhibitors of IAA destruction. DCP 1 · 10⁻³ M and H₂O₂ 1 · 10⁻⁴ or 1 · 10⁻³ volume for *Lens* and DCP 1 · 10⁻⁴ M and H₂O₂ 1 · 10⁻³ volume for *Phaseolus* nullify auxin catabolism.

M. DINANT, TH. GASPAR
et T. AVELLA

Laboratoire de Physiologie végétale de l'Université de Liège (Belgique), 15 août 1966.

¹³ W. S. HILLMAN et A. W. GALSTON, *Physiologia Pl.* 9, 230 (1956).

¹⁴ P. E. PILET, *Experientia* 13, 35 (1957).

¹⁵ M. BASTIN, TH. GASPAR et C. LEYH, *C. r. Acad. Sci. Paris* 260, 4050 (1965).

Photodynamic Inactivation of Some *Bacillus subtilis* Bacteriophages

Bacteriophages active against *B. subtilis* isolated by ROMIG and BRODETSKY¹ were recently characterized² on the basis of the following properties: plaque morphology, stability, host range, adsorption kinetics, one-step growth characteristics, calcium requirements, serum neutralization, thermal inactivation and inactivation by UV-light. It was BURNET³ who found some years ago that the relative sensitivity of some coli-phage strains to photodynamic inactivation was correlated with serological grouping and hence was of taxonomic significance. On the basis of the above finding, as well as other related studies⁴⁻⁶, I have recently described the photodynamic inactivation of serologically unrelated SP 8 and SP 3 phages of *B. subtilis*^{1,2} caused by methylene blue and visible light under aerobic conditions⁷. The inactivation kinetics of both phages were found to be first order after a short initial lag. As such studies on *B. subtilis* bacteriophages have not been carried out until now, experiments analogous to that done by me with methylene blue were intended to extend these observations also with some other photosensitizing organic dyes, using essentially the experimental procedure described by WELSH and ADAMS⁴. Westinghouse 200 W tungsten lamps at a distance of 50 cm have been used as a polychromatic light source⁷. *B. subtilis* host strains employed in these experiments were Marburg for SP 8 phage and 168 for SP 3 phage. The methods of assay and handling of host bacteria and bacteriophages described in closely pertinent papers^{1,2,8,9} were applied. The photodynamic inactivation curves of both SP 8 and SP 3 phages showed an initial shoulder followed by a linear portion. The relative sensitivities to the photodynamic inactivation were compared by the slopes of the inactivation curves, using their exponential part only. First-order rate constants for photodynamic inactivation in the presence of various photosensitizing organic dyes were calculated for both phages tested.

The results of experiments carried out are shown in the Table. Illumination of phage SP 3 in phosphate buffered saline (PBS) at pH 7.0 without a dye showed also a small inactivation (about 3% of the value calculated for methylene blue) which may be due to the presence of

Photodynamic activity of various organic dyes at pH 7.0 against SP 8 and SP 3 bacteriophages of *Bacillus subtilis*; dye concentration 1/100,000; phage titres 10⁶/ml

Dye	First order inactivation rate constants, k (min ⁻¹)	
	Bacteriophage	
	SP 8	SP 3
Methylene blue	0.57	1.15
Thionin	0.04	0.13
Thioflavine	0.04	0.04
Neutral red	0.00	0.00
Coriphosphine	0.00	0.04
Eosin	0.00	0.00
Trypaflavine	0.04	0.09
Riboflavin	0.00	0.04

¹ W. R. ROMIG and A. M. BRODETSKY, *J. Bact.* 82, 135 (1961).

² A. M. BRODETSKY and W. R. ROMIG, *J. Bact.* 90, 1655 (1965).

³ F. M. BURNET, *J. Path. Bact.* 37, 179 (1933).

⁴ J. N. WELSH and M. H. ADAMS, *J. Bact.* 68, 122 (1954).

⁵ N. YAMAMOTO, *J. Bact.* 75, 443 (1958).

⁶ E. KAUFMAN and C. W. HIATT, *Virology* 9, 478 (1959).

⁷ D. KALÁB, *Acta virol. Prague* 10, 279 (1966).

⁸ J. MARMUR, C. M. GREENSPAN, E. PALEČEK, F. M. KAHAN, J. LEVINE, and M. MANDEL, *Cold Spring Harb. Symp. quant. Biol.* 28, 191 (1963).

⁹ E. PALEČEK, *Folia biol., Praha* 11, 89 (1965).