

## REGULATION DU METABOLISME DES SUBSTANCES PHENOLIQUES CHEZ LE SOJA (*GLYCINE MAX L.*) :

### 1 - EFFETS DE L'OBSCURITE

LASSOUANE N., BELKEBIR A et AID F.

Physiologie Végétale / Laboratoire de Biologie et Physiologie des Organismes (LBPO), Faculté des Sciences Biologiques, USTHB, BP 32, El Alia, 16111. Alger.

Tél : (213) 021-24-79-50 au 64 / Fax : (213) 021-24-79-51

## RESUME

Le métabolisme des substances phénoliques a été étudié à l'obscurité et à la lumière chez des plantules de soja (*Glycine max L.*) durant trois stades de développement (plantules âgées de 10, 17 et 24 jours). Indépendamment de tout stress, nous constatons que la teneur en acides phénols et en flavonoïdes, plus particulièrement les anthocyanes augmente en fonction du stade physiologique de la plante. Par ailleurs l'absence de la lumière a peu d'effet sur la teneur en flavonoïdes (anthocyanes et aglycones flavoniques); en revanche, la teneur en acides phénols est fortement affectée; cette diminution est due probablement à une réorientation du pool des acides cinnamiques vers la biosynthèse des flavonoïdes plutôt que vers celle des acides phénols. Sur les plantules âgées de 17], nous avons montrés que l'obscurité entraîne une diminution importante de l'activité de la phénylalanine ammonia-lyase (PAL) enzyme clé de la synthèse des substances phénoliques. De plus, les plantules de *Glycine max L.* développées à l'obscurité présentent un étiolement suivi de chloroses qui se traduit par la diminution de la teneur en pigments photosynthétiques.

**Mots clés :** *Phénylalanine ammonia-lyase (PAL), flavonoïdes, anthocyanes, aglycones flavoniques, acides phénols, lumière, obscurité, Glycine max L.*

## ملخص

قد درست في حالتها ( *Glycine max L* ) استقلاب المواد الفينولية عند نباتات الصويا  
الظلام والضوء وذلك خلال ثلاث مراحل من تطور النباتات. دون إخضاع النباتات  
(يوم 24 و 14، 10) لأي إجهاد،  
واستنتجنا أن محتوى الأحماض الفينولية والفلافونية خصوصا الأنتوسيانات يتراكم  
بدلالة الطور الفيزيولوجي للنبات، فضلا عن ذلك، غياب الضوء له تأثير ضعيف  
Anthocynes الأنتوسيونات ( Flavonoïdes على محتوى الفلافونات  
، وبالتالي محتوى (Aglycones flavoniques) والأقليكونات الفلافونية  
الأحماض الفينولية يتأثر تأثيرا كبيرا ، هذا الإنخفاض يمكن أن ينسب إلى استعمال  
في بناء الفلافونات عوضا (Acides cinnamiques) الأحماض السينامية  
عن إنتاج الأحماض الفينولية  
يوما ، أظهرنا أن الظلام يؤدي إلى إنخفاض كبير في 17 عند النباتات التي عمرها  
. إنزيم مهم لإنتاج المركبات الفينولية (PAL) لياز نشاط الفينيل ألانين أمونيا  
علاوة عن ذلك ، الظلام له تأثير سلبي على نباتات الصويا حيث لا قلنا نقص في  
حيوتها متبوع بإصفرار الدال على إنخفاض محتوى اليخضور

الكلمات المفتاحية: فينيل ألانين أمونيا لياز ( PAL ) ، الفلافونات ،  
الأنتوسيات ، الأقليكونات الفلافونية ، الأحماض الفينولية ، الظلام ، الصويا  
( *Glycine max L* .

## SUMMARY

The metabolism of the phenolic substances was studied at the darkness and at light in seedlings of soya (*Glycine max* L) during three stages of development (old seedlings of 10, 17 and 24 days). Independently of any stress, we note that the contents of acid phenols and flavonoids, more particularly the anthocyanes, increases according to the physiological stage of the plant. In addition the absence of light has little effect on the content of flavonoids (anthocyanes and flavonic aglycones) ; a contrario, the acid phenolic content is strongly affected ; this reduction is due probably to a reorientation of the pool of the cinnamic acids towards the biosynthesis of the flavonoides rather than towards that of the acids phenols. In 17 days old seedlings, we showed that the darkness involves a significant reduction in the activity of phenylalanine ammonia-lyase (PAL) key enzyme of the synthesis of the phenolic substances. Moreover, the seedlings of *Glycine max* L developed at darkness present an etiolation followed by chlorosis which results in the reduction in the content of photosynthetic pigments

**Key words :** *Phenylalanine ammonia-lyase (PAL), flavonoids, anthocyanes, aglycones flavonic, acid phenols, light, darkness, Glycine max L.*

## 1. INTRODUCTION

Les substances naturelles ou métabolites secondaires illustrent les formidables capacités de synthèse des plantes qui, collectivement synthétisent plusieurs dizaines de milliers de molécules différentes reflétant la diversité des espèces végétales.

Ces composés ont été regroupés dans la catégorie des métabolites secondaires d'une part parce qu'ils dérivent des métabolites primaires mais aussi parce qu'ils ne sont pas nécessaires au fonctionnement de base de la cellule. Ils ont été ainsi parfois assimilés à des produits de déchets ou d'excrétion.

Les travaux de ces trois dernières décennies contribuent à démontrer que ces molécules, au-delà d'un intérêt industriel certain, sont actuellement connues comme étant des métabolites ayant une grande importance dans les processus biochimique et physiologique des plantes ; par ailleurs, ils sont étroitement impliqués dans les interactions plante-environnement (Harborne, 1988 ; Rosenthal et Berenbaum, 1991).

Les plantes pilotent leur développement en réponse aux signaux environnementaux et cette « plasticité phénotypique » est une caractéristique fondamentale du règne végétal. Les contraintes de l'environnement ou stress auxquels sont soumises les plantes peuvent être groupées en quelques grands types : sécheresse (stress hydrique), carence en éléments nutritifs, abondance de substances chimiques, contraintes mécaniques, éclairage excessif ou insuffisant, températures trop basses ou trop élevées... etc. Les plantes manifestent une capacité remarquable à percevoir les paramètres physico-chimiques de l'environnement et peuvent déclencher des spectres parfois très complexes de réponses moléculaires, morphogénétiques et métaboliques ; parmi ces derniers, citons les modifications du métabolisme des substances phénoliques.

La régulation de la biosynthèse des composés phénoliques est très complexe et certainement différente d'une espèce à une autre. De nombreux facteurs biotiques (infections parasitaires, bactériennes, fongiques ou virales...) et abiotiques (température, salinité, stress hydrique, lumière UV...etc) interviennent dans la régulation des voies de biosynthèse des substances phénoliques (Benveniste et al., 2000)

Dans ce contexte, il nous a semblé intéressant d'étudier l'effet de l'obscurité sur la régulation du métabolisme des substances phénoliques (flavonoïdes et acides phénoliques), du soja [*Glycine max* L.] en étudiant :

- L'activité de la phénylalanine ammonia-lyase (PAL), enzyme clé du métabolisme des substances aromatiques. Elle est responsable de la transformation de la phénylalanine en acide cinnamique, précurseur de la biosynthèse des composés phénoliques.
- La quantité de flavonoïdes (anthocyanes et aglycones flavoniques)
- La quantité d'acides phénols

## 2. MATERIELS ET METHODES

Ce travail a été effectué sur des graines de soja, *Glycine max L.*, variété sponsor, fournies par Rustica-semences Mondonville-France.

### 2.1. Mise en culture

Les graines de soja sont désinfectées avec de l'eau de Javel pendant dix minutes. Elles sont ensuite rincées abondamment à l'eau, puis imbibées dans de l'eau distillée pendant trois heures. Les graines sont ensuite mises à germer dans des boîtes de pétri tapissées d'une double couche de papier absorbant, et arrosées tous les jours avec de l'eau distillée. Dès la percée de la radicule, les germinations sont transférées dans des pots contenant du terreau ; ces derniers sont séparées en deux lots :

- ❖ Le premier lot est placé à la lumière dans une chambre culture avec une photopériode de 16/8, J/N et une thermopériode de 24°C le jour, 18°C la nuit ; il est considéré comme lot témoin.
- ❖ Le deuxième lot est placé dans une chambre de culture, totalement à l'obscurité avec une thermopériode de 24°C le jour, 18°C la nuit.

### 2.2. Méthodes utilisées

#### 2.2.1. Extraction et dosage de la phénylalanine ammonia-lyase (PAL)

L'extraction de la PAL est réalisée selon la méthode de Hoagland et al. (1979) sur les premières feuilles trifoliées de soja.

L'activité de la PAL est déterminée par la quantité d'acide cinnamique formée (à partir d'une quantité donnée de son précurseur, la phénylalanine) par heure et par quantité de protéines.

Une courbe étalon est réalisée en parallèle à l'aide d'une solution mère d'acide cinnamique à  $0.1 \text{ mg mL}^{-1}$ .

### **2.2.2. Extraction et dosage des flavonoïdes**

Le protocole d'analyse repose sur l'hydrolyse acide des hétérosides du matériel végétal suivie d'une extraction des aglycones (Bath-Smith, 1954, Lebreton et al., 1967 amélioré par Laracine, 1984). Il permet à la fois le dosage des anthocyanes et des aglycones flavoniques.

### **2.2.3. Extraction et dosage des acides phénols**

Les acides phénols sont extraits et dosés selon la technique de Ribereau-Gayon (1968), qui consiste à réaliser une hydrolyse alcaline des composés phénoliques naturels du matériel végétal, libérant les acides phénols de leurs combinaisons esters (-CO-O-C-) suivie d'une hydrolyse acide destinée à rompre les liaisons acétals (-C-O-C-) intervenant dans les combinaisons de type hétérosidique des acides phénols. Ces derniers sont séparés de la phase aqueuse par de l'éther diéthylique.

La courbe étalon est établie à partir d'une solution mère d'acide gallique à  $0.15 \text{ mg mL}^{-1}$ , acide phénol de la série des acides benzoïques.

### **2.2.4. Extraction et dosage des pigments foliaires**

L'extraction des pigments foliaires est faite par l'acétone, les teneurs en chlorophylles et en caroténoïdes sont déterminées selon les équations de Lichtenthaler (1987).

### **2.2.5. Analyse statistique**

Tous les tests sont calculés à partir de l'application STATISTICA 5.1 pour Windows.

### 3. RESULTATS

#### 3.1. Effet de l'obscurité sur la morphologie des plantules de soja

Les plantules croissant à la lumière (témoins) sont vigoureuses et présentent des feuilles de couleur verte. Seule les premières feuilles sont unifoliées, les feuilles qui naissent après sont trifoliées (Fig. 1).

Comparativement aux plantules témoins, les plantules croissant à l'obscurité sont démesurément allongées et plus frêles ; en effet, nous constatons une augmentation de la taille des plantules en longueur par prolongement excessif des entre-nœuds par rapport au témoin et une diminution de l'épaisseur des tiges. De plus, leurs feuilles sont réduites, dépigmentées et de couleur jaunâtre.

#### 3.2. Effet de l'obscurité sur la teneur en pigments chlorophylliens des feuilles des plantules de soja

Suite à l'étiollement observé, nous avons étudié le taux des pigments chlorophylliens dans les feuilles des plantules de soja de 17 jours.

Les résultats de la figure 2 montrent que chez les plantules de soja témoins, les taux des chlorophylles *a*, chlorophylles *b* et des caroténoïdes atteignent respectivement  $1.970 \pm 0.066 \mu\text{g.g}^{-1}$ ,  $0.885 \pm 0.138 \mu\text{g.g}^{-1}$  et  $0.524 \pm 0.033 \mu\text{g.g}^{-1}$  de matière végétale fraîche (MVF). Chez les plantules mises à l'obscurité, le taux de chlorophylles *a* et *b* et caroténoïdes diminuent de manière hautement significatives (au seuil de 1%) par rapport à leur témoin respectif, cette teneur est de  $0.023 \pm 0.008 \mu\text{g.g}^{-1}$  pour la chlorophylle *a*,  $0.013 \pm 0.003 \mu\text{g.g}^{-1}$  pour la chlorophylle *b* et de  $0.064 \pm 0.011 \mu\text{g.g}^{-1}$  de matière végétale fraîche pour les caroténoïdes.

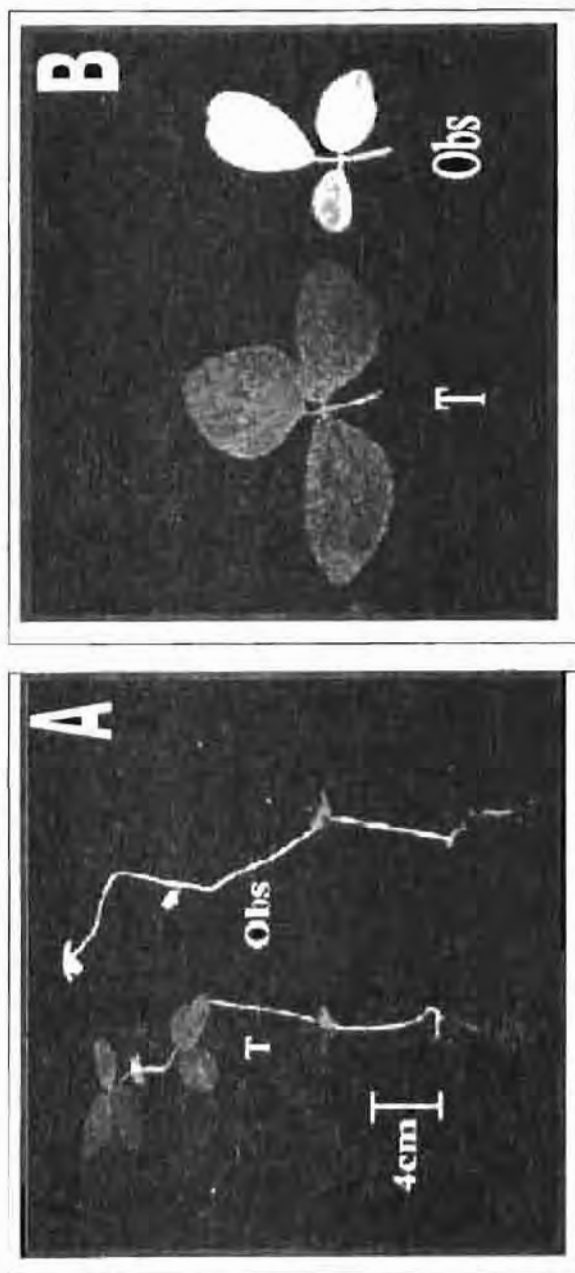
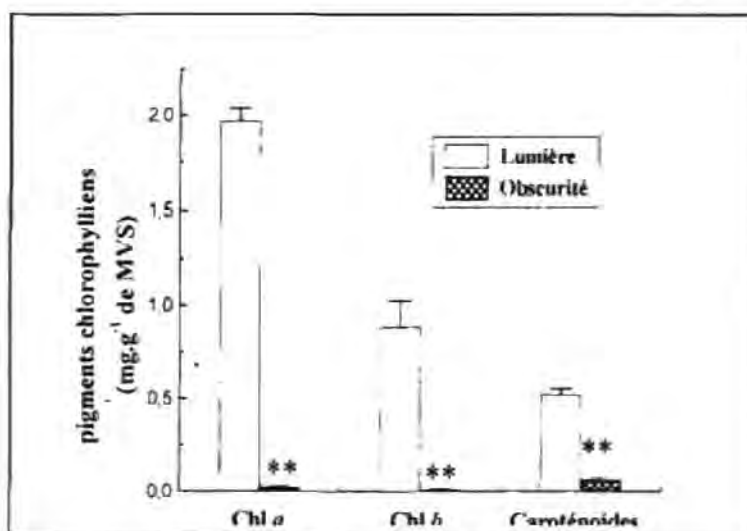


Figure 1 : Effet de l'obscurité sur la morphologie des plantules (A) et feuilles (B) de soja.





**Figure 2 :** Teneur en chlorophylles a et b et en caroténoïdes des feuilles des plantules de soja âgées de 17 jours à la lumière et à l'obscurité (Extraction à l'acétone et calculs selon les équations de Lichtenthaler, chaque valeur est la moyenne de trois manipulations différentes, \*\*P < 0.01 représente le niveau de significativité entre le témoin et le traité)

L'obscurité provoque une réduction de 98% de la teneur en chlorophylles a et b et de 86% pour la teneur en caroténoïdes dans les feuilles de plantules de soja.

Nos résultats montrent que l'obscurité provoque une diminution de la teneur en caroténoïdes et une absence quasi-totale de chlorophylles, entraînant le phénomène d'étiollement. En effet, les plantules développées à l'obscurité ne synthétisent pas les chlorophylles, mais accumulent plutôt son précurseur : la protochlorophyllide (Schoefs et al., 2000). La transformation de la protochlorophyllide en chlorophylle nécessite obligatoirement de la lumière. Des études ont montré également que les plantes qui se sont développées à l'obscurité, peuvent contenir de petites quantités de chlorophylles (Durchan et al., 1992). Cependant, cette chlorophylle n'est probablement pas synthétisée au cours de cette période, mais proviendrait plutôt d'un reliquat de la chlorophylle contenue dans l'embryon (Böddi et al., 1999).

### 3.3. Effet du stade de développement sur la teneur en substances phénoliques

Nous avons suivi l'évolution de la quantité des substances phénoliques (anthocyanes, aglycones flavoniques et acides phénols) durant trois stades de développement des feuilles des plantules de soja.

Du point de vue pondéral, les anthocyanes occupent la majeure partie des substances phénoliques étudiées (aglycones flavoniques et les acides phénoliques).

La quantité d'anthocyanes des feuilles témoins augmente en fonction de l'âge de la feuille, elle est de  $5.13 \pm 0.37 \text{ mg.g}^{-1}$  de matière végétale sèche (MVS) chez les feuilles jeunes (de 10 j), puis elle augmente de 26% pour atteindre une valeur de  $6.93 \pm 1 \text{ mg.g}^{-1}$  de matière végétale sèche chez les feuilles de 17 j avec une différence significative au seuil de 5%. Les anthocyanes s'accumulent fortement pour atteindre une valeur de  $10.00 \pm 2.02 \text{ mg.g}^{-1}$  de matière végétale sèche chez les feuilles de plantules de 24j, soit le double de la quantité trouvée dans les feuilles des plantules jeunes (Fig. 3) avec une différence hautement significative au seuil de 1%.

Chez les plantules témoins nous remarquons une augmentation de la teneur en acides phénols en fonction de l'âge des feuilles. Elle est de  $0.260 \pm 0.008 \text{ mg.g}^{-1}$  de matière végétale sèche chez les feuilles jeunes, par la suite elle augmente pour atteindre  $0.39 \pm 0.02 \text{ mg.g}^{-1}$  de matière végétale sèche et  $0.46 \pm 0.05 \text{ mg.g}^{-1}$  de matière végétale sèche respectivement chez les feuilles des plantules âgées de 17 et 24 j (Fig. 3).

Les feuilles des plantules plus âgées sont caractérisées par une forte accumulation d'anthocyanes et d'acides phénols en fonction du stade physiologique.

Concernant l'évolution des aglycones flavoniques nos résultats montrent que les feuilles jeunes des plantules témoins âgées de 10 jours accumulent une quantité importante d'aglycones flavoniques  $0.49 \pm 0.02 \text{ mg.g}^{-1}$  de matière végétale sèche, celle-ci ne varie pas de manière significative chez les feuilles âgées de 17 j atteignant une valeur de  $0.43 \pm 0.12 \text{ mg.g}^{-1}$  de matière végétale sèche, puis nous notons une réduction de 60% chez les feuilles les plus âgées (24 j) soit  $0.27 \pm 0.04 \text{ mg.g}^{-1}$  de matière végétale sèche avec une différence hautement significative au seuil de 1% pour ce dernier (Fig. 3). Chez les plantes témoins, la quantité d'aglycones flavoniques diminue avec le vieillissement.

Il est intéressant de noter également que la diminution de la quantité d'aglycones flavoniques est parallèle à l'augmentation des anthocyanes et des acides phénols.

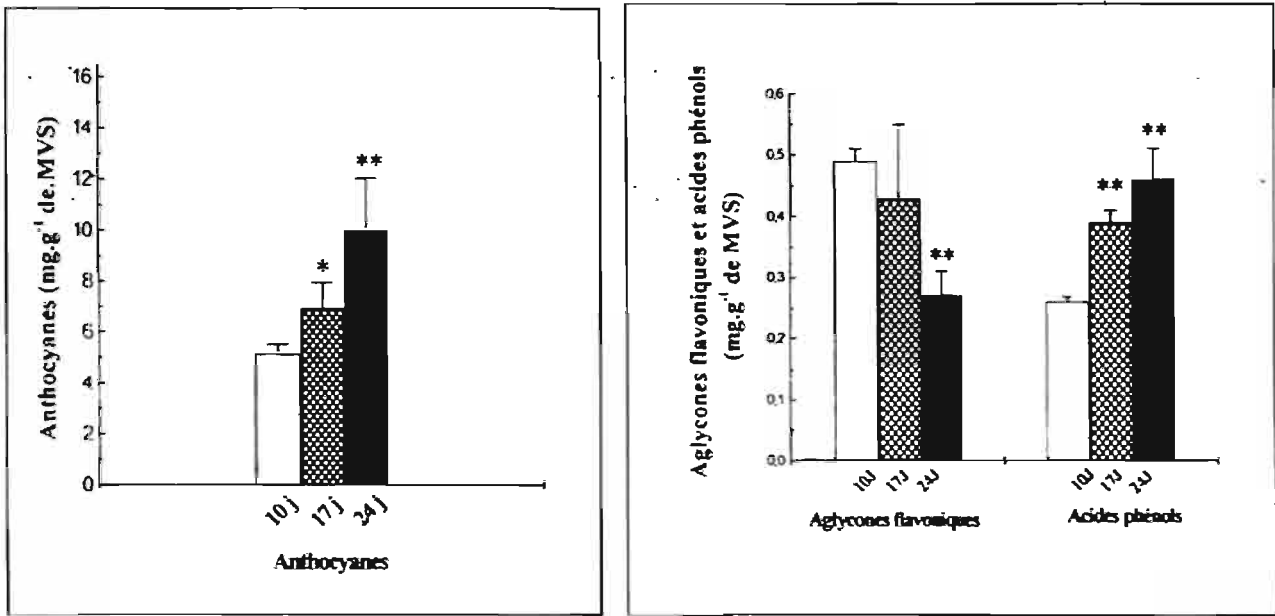


Figure 3 : Teneur en composés phénoliques (anthocyanes, aglycones flavoniques et acides phénols) en fonction du stade de développement des feuilles des plantules de soja (chaque valeur est la moyenne de trois manipulations différentes, \*\*P < 0.01 et \*P < 0.05 représente le niveau de significativité entre le témoin et le traité).

En effet, la concentration des composés phénoliques chez les espèces végétales varie en fonction du stade physiologique des plantes, et de la répartition des carbohydrates entre le métabolisme primaire et secondaire (Matsuki, 1996)

Elle varie aussi entre les types de plantes, les organes, les tissus, et également par l'action des facteurs environnementaux (Bohm, 1987, Waterman et Mole, 1989, Dixon et Paiva, 1995)

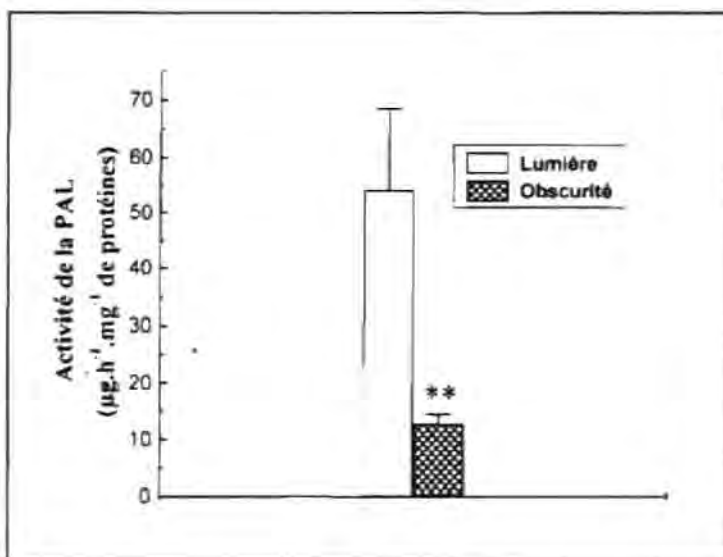
### **3.4. Effet de l'obscurité sur les composés phénoliques des feuilles des plantules de soja**

#### **3.4.1. Effet de l'obscurité sur l'activité de la PAL des feuilles des plantules de soja**

Cette étude a été réalisée sur des plantules de soja de 17 jours, dans des conditions normales de luminosité (16/8, J/N) et à l'obscurité.

L'activité de la PAL est importante à la lumière ; elle est de l'ordre de  $54.14 \pm 14.35 \mu\text{g h}^{-1} \text{mg}^{-1}$  de protéines. Cette activité est réduite à l'obscurité :  $(12.74 \pm 1.7 \mu\text{g h}^{-1} \text{mg}^{-1})$  de protéines, cette différence est hautement significative au seuil de 1% comparativement au témoin (Fig.4)

En effet, nous constatons une baisse de 76% par rapport au témoin. Ces résultats montrent que l'activité de l'enzyme est lumière dépendante.

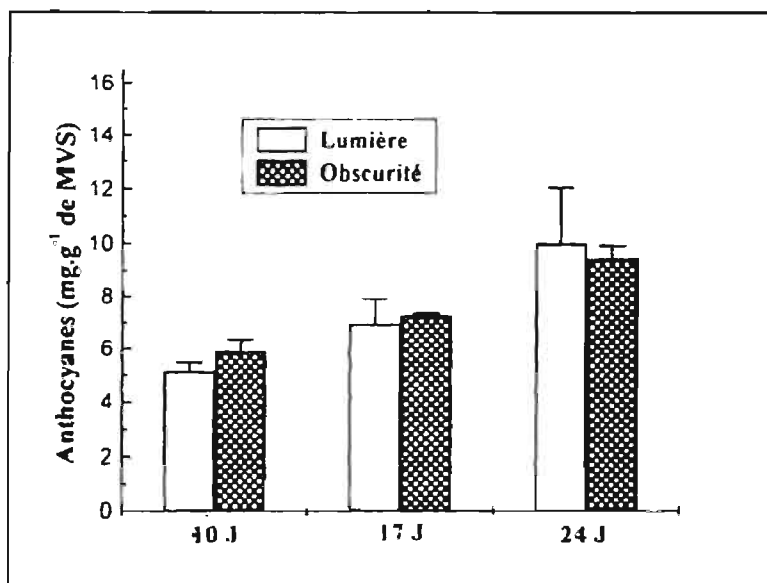


**Figure 4 :** Effet de l'obscurité sur l'activité de la PAL des feuilles des plantules de soja (chaque valeur est la moyenne de trois manipulations différentes, \*\*P < 0.01 représente le niveau de significativité entre le témoin et le traité)

#### 3.4.2. Effet de l'obscurité sur la teneur en anthocyanes des feuilles de plantules de soja

Chez les feuilles étiolées l'accumulation des anthocyanes durant les différents stades de développement se fait de la même manière que chez les feuilles témoins, en effet le taux d'anthocyanes chez les plantes témoins et étiolées varie peu.

La teneur en anthocyanes des feuilles des plantules de soja étiolées, est de  $5.90 \pm 0.45 \text{ mg.g}^{-1}$  de matière végétale sèche,  $7.28 \pm 0.05 \text{ mg.g}^{-1}$  de MVS et de  $9.43 \pm 0.45 \text{ mg.g}^{-1}$  de matière végétale sèche respectivement pour les feuilles des plantules de soja stressées de 10 j, 17 j et 24 j (Fig.5).

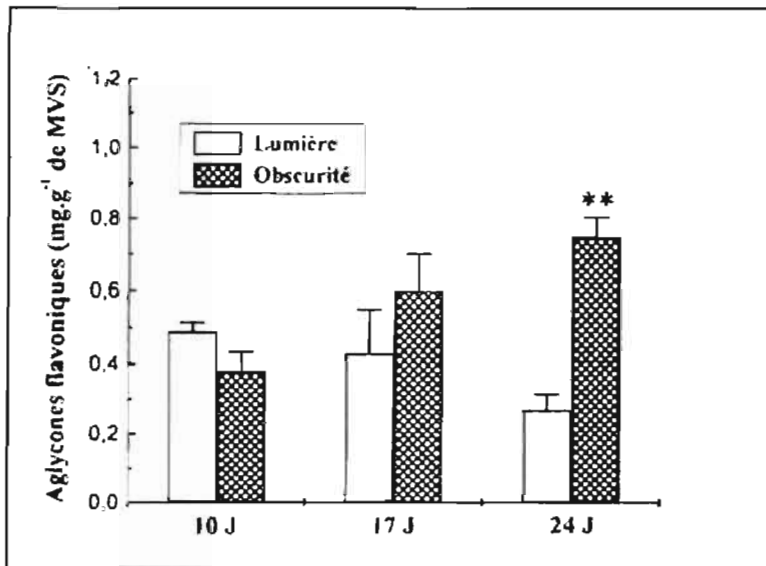


**Figure 5 :** Evolution de la teneur en anthocyanes dans les feuilles des plantules de soja durant la croissance à la lumière et à l'obscurité (chaque valeur est la moyenne de trois manipulations différentes, le niveau de significativité est nulle).

Les tests statistiques montrent qu'il n'y a pas de différences significatives (au seuil de 5%) entre les plantules témoins et les plantules stressées ; la synthèse des anthocyanes n'est pas affectée par l'absence de la lumière

Chez les plantules étiolées, le taux d'aglycones flavoniques évolue de manière différente à celui des plantules témoins. En effet nous notons une augmentation de la teneur en aglycones flavoniques en fonction du stade de développement, cette teneur est de  $0.38 \pm 0.05$  mg.g<sup>-1</sup> de matière végétale sèche et  $0.60 \pm 0.1$  mg.g<sup>-1</sup> de matière végétale sèche respectivement pour les plantules stressées âgées de 10 et 17 j, ensuite cette teneur augmente de manière hautement significative au stade 24 j pour atteindre  $0.75 \pm 0.05$  mg.g<sup>-1</sup> de matière végétale sèche, soit une augmentation de 64% comparativement au témoin.

### 3.4.3. Effet de l'obscurité sur la teneur en aglycones flavoniques des feuilles des plantules de soja

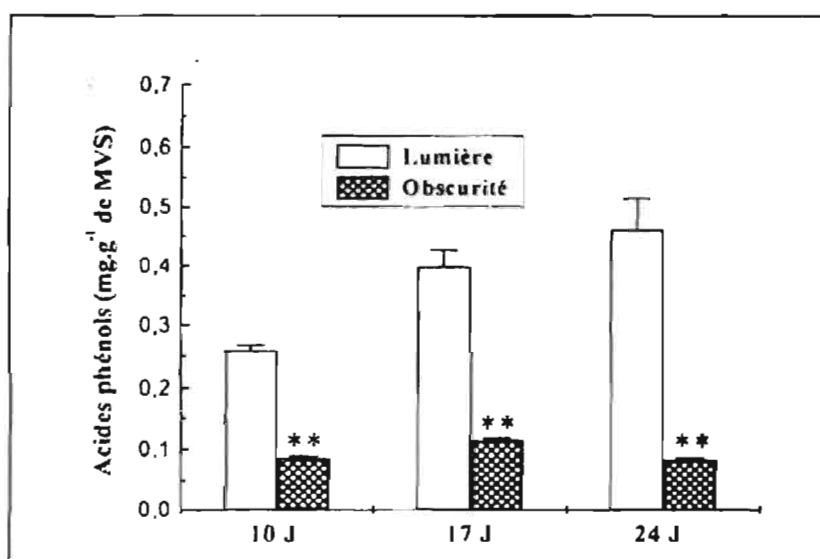


**Figure 6.** Evolution de la teneur en aglycones flavoniques dans les feuilles durant la croissance des plantules de soja témoins et mises à l'obscurité (chaque valeur est la moyenne de trois manipulations différentes, \*\*P < 0.01 représente le niveau de significativité entre les témoins et les traités).

### 3.4.4. Effet de l'obscurité sur la teneur en acides phénols des feuilles des plantules de soja

Le taux d'acides phénols chez les plantules mises à l'obscurité est très faible, quelque soit le stade de développement, il est de  $0.087 \pm 0.003 \text{ mg.g}^{-1}$ ,  $0.116 \pm 0.003 \text{ mg.g}^{-1}$  et de  $0.085 \pm 0.002 \text{ mg.g}^{-1}$  respectivement pour les feuilles des plantules de 10, 17 et 24 j. Les différences entre les témoins

et les stressées sont hautement significatives au seuil de 1% durant les trois stades de développement (Fig.7).



**Figure 7 :** Evolution de la teneur en acides phénols dans les feuilles durant la croissance des plantules de soja témoins et mises à l'obscurité (chaque valeur est la moyenne de trois manipulations différentes, \*\*P< 0.01 représente le niveau de significativité entre les témoins et les traités)



#### 4. DISCUSSION – CONCLUSIONS

Lors de la première partie de notre travail nous avons montré que les plantules privées de lumière présentent des décolorations dues à la disparition des chlorophylles et un allongement spectaculaire des entrenœuds, c'est le phénomène d'étiollement. Cette croissance en longueur est réalisée au dépend de la croissance en épaisseur.

A l'obscurité, les mécanismes accumulateurs et transformateurs d'énergie (photosynthèse et respiration) sont perturbés, ce qui a pour conséquence l'absence de l'énergie nécessaire à la synthèse des différents composants de la matière vivante et donc de la paroi, ainsi, la fragilité de la plante est aussi due à une paroi très fine (Tissut et Severin, 1984).

La perturbation de la croissance et la diminution de la biomasse des feuilles est due à une baisse d'accumulation du carbone due à la réduction de la capacité photosynthétique, l'abaissement du pool de carbone aurait pour conséquence une inhibition de la synthèse des protéines. Par ailleurs, la croissance des plantules peut-être aussi affectée par la modification du métabolisme durant l'exposition des plantules à l'obscurité, due à l'orientation du pool de carbone vers la voie des phénylpropanoïdes plutôt que vers celles des métabolites primaires (sucres, protéines, ... etc) (Laakso et al., 2000).

Le passage du métabolisme primaire au métabolisme secondaire se fait grâce à la phénylalanine ammonia-lyase (PAL), qui est considérée comme étant l'enzyme clé de la synthèse des composés phénoliques. En présence de la lumière, l'activité de la PAL des plantules de soja augmente, alors qu'elle diminue fortement à l'obscurité. La PAL est donc une enzyme lumière dépendante (Richter, 1993). La compréhension de la régulation de cette enzyme est compliquée davantage parce que l'enzyme est présente sous forme de plusieurs isoenzymes et dans différents emplacement subcellulaires, chacune d'entre elles est responsable d'un pool d'acides cinnamiques particulier, (Nishizawa et al., 1979).

Nous avons remarqué chez les plantules témoins que la diminution de la quantité d'aglycones flavoniques en fonction de l'âge des plantes est parallèle à l'augmentation des anthocyanes et des acides phénols. Nous pouvons souligner qu'indépendamment de tout stress, il existe une régulation liée au stade de développement des feuilles permettant de favoriser certains composés phénoliques par rapport à d'autres (Matsuki, 1996).

Les plantules privées de lumière présentent une diminution importante de la quantité d'acides phénols, alors que celle des flavonoïdes est peu affectée. L'obscurité inhiberait l'isoenzyme PAL responsable du pool d'acides cinnamiques intervenant dans la synthèse des acides phénols ce qui entraînerait une diminution de ces derniers et serait sans influence sur l'isoenzyme PAL, responsable du pool d'acides cinnamiques qui interviennent dans la synthèse des flavonoïdes (Fig. 8).

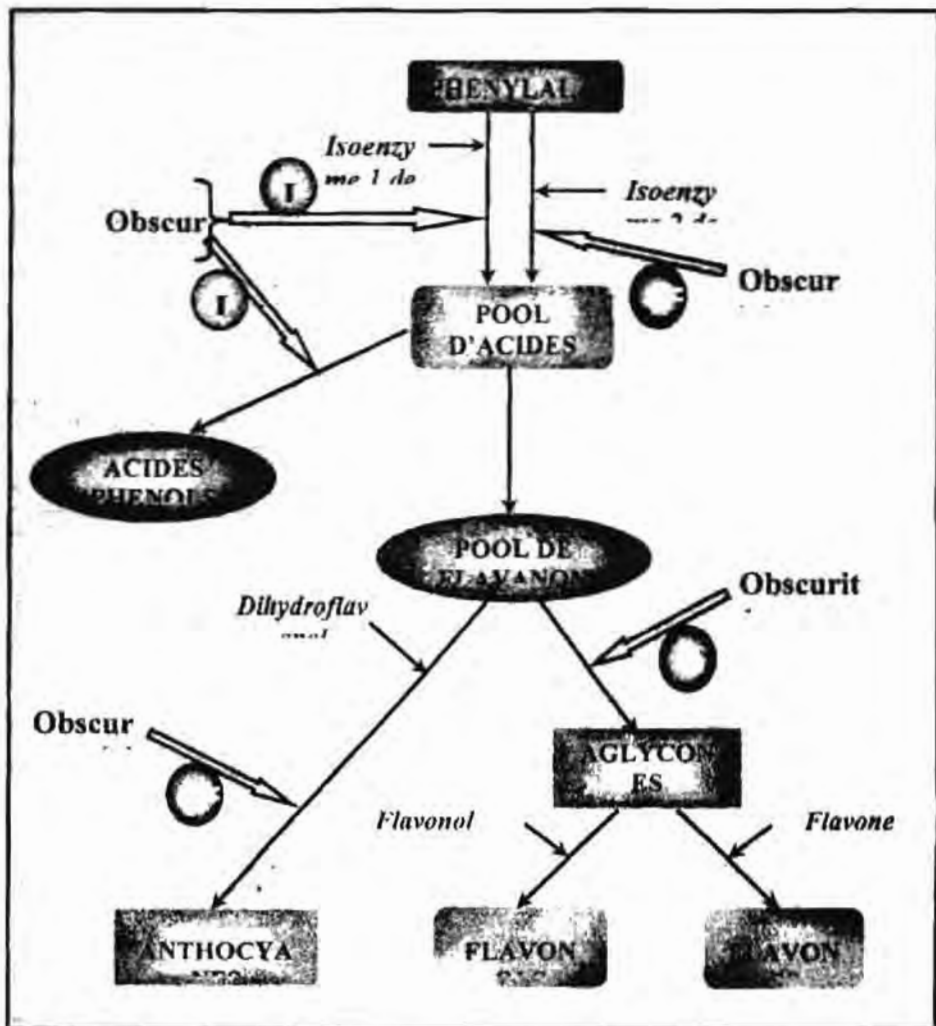


Figure 8 : Schéma représentant l'effet de l'obscurité sur le métabolisme phénolique (A : accumulation, I : inhibition)

L'obscurité n'altère pas la synthèse des anthocyanes des plantules de soja, car leur quantité évolue comme celles des plantules développées à la lumière, mais elle stimule celle des aglycones flavoniques, le taux de ces derniers augmente avec la croissance des plantules et atteint son maximum chez les plantules adultes, cela est probablement dû à la stimulation des enzymes responsables de la synthèse des aglycones flavoniques.

Nos résultats ont montré que les plantules de soja étiolées présentent une diminution importante de la quantité d'acides phénols par rapport aux plantules témoins, alors que celle des flavonoïdes est peu affectée. Cette variation de la quantité de ces composés serait due à leur compétition pour le même substrat, ou à une sous régulation par la présence de plusieurs isoenzymes de la PAL, qui oriente le taux de cinnamate vers la voie de la biosynthèse des flavonoïdes. (Tegelberg et Julkunen-Tiitto, 2001)

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BATH-SMITH E.C., 1954.-** Leucoanthocyanidins formed from leucoanthocyanins in plant tissues. *Biochem. J.*, **58** : 122 – 125.
- BENVENISTE P., BOUDET A.L., DOUCE R. et JOYARD J., 2000.-** La dynamique du métabolisme. In *Le monde végétal : du génome à la plante entière*, Chap3. Douce R. ed., Tec et Doc, Londre-Paris-New york., pp 212.
- BÖDDI B., LINDSTEN A et SUNDQVIST C., 1999.-** Chlorophylls in dark-grown epicotyls and stipula of pea *J Photochem Photobiol. B Biol* **48** : 11 – 16.
- BOHM B.A., 1987.-** Intraspecific flavonoid variation. *Bot. Rev.*, **53** : 197 – 279.
- DIXON R.A. et PAIVA N.L., 1995.-** Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *Plant Cell*, **7** : 1085 – 1097.
- DURCHAN M., PAKSHINA EV. et LEBEDEV N.N., 1992.-** Traces of chlorophyll *a* and the spectral forms of protochlorophyll(ide) *a* in etiolated Cucumber cotyledons. *Photosynthetica*, **28** : 567 – 572.
- HARBORNE J., 1988.-** Introduction to ecological biochemistry. 3<sup>rd</sup> ed. New York : Academic Press.
- HOAGLAND R.F., DUKE S.O. ET ELMORE C.D., 1979.-** Effects of glyphosate on metabolism of phenolic compounds III. Phenylalanine ammonia-lyase activity, free amino acids, soluble protein and hydroxyphenolic compounds in axes of dark-grown soybeans. *Plant Physiol.*, **46** : 357 – 366.
- LAAKSO K., SULLIVAN J.H. et HUTTUNEN S., 2000.-** The effect of UV-B radiation on epidermal anatomy in loblolly pine (*Pinus taeda* L.) and scots pine (*Pinus sylvestris* L.). *Plant Cell and Environment*, **23** : 461 – 472.
- Laracine C., 1984.-** Etude de la variabilité flavoniques infraspecificque chez deux Conifères le *Pin sylvestre* L et le *Juniperus communis* L. Thèse 3<sup>ème</sup> cycle. Université Claude Bernard Lyon I.
- LEBRETON PH., JAY M., VOIRIN B. et BOUCHEZ M.P., 1967.-** Analyse qualitative et quantitative des flavonoides. *Chim. Anal*, Vol 49., **7** : 375 – 383 *Cell*, **5** : 171 – 179.

- LICHTENTHALER H.K., 1987.-** Chlorophyll and carotenoid pigments of photosynthetic biomembranes : Methods in enzymology, **vol.148**.
- MASTUKI M., 1996.-** Regulation of plant phenolic synthesis from biochemistry to ecology and evolution. *Aust. J. Bot.*, **44** : 613 – 634.
- NISHIZAWA A.N., WOLOSIAK R.A. ET BUCHANAN B.B., 1979.-** Chloroplast phenylalanine ammonia-lyase from spinach leaves. Evidence for light-mediated regulation via the ferredoxin / thioredoxin system. *Planta*, **145** : 7 – 12.
- RIBEREAU-GAYON., 1968.-** Les composés phénoliques des végétaux. Dunod. Paris.
- RICHTER G., 1993.-** Métabolisme des végétaux. Physiologie et biochimie. Presses Polytechniques et Universitaires Romandes. Pp 544 .
- ROSENTHAL G.A. ET BERENBAUM M.R., 1991.-** Herbivores Their Interactions With Secondary Metabolites. Vol.1. *The Chemical Participants*. 2<sup>nd</sup> ed. San Diego : Academic Press.
- SCHOEFS B., HUCEK S. ET HUSAK M., 2000.-** Determination of the parameters of the unit cell constituting the prolamellar body. *Proceedings of the 12<sup>th</sup> European Congress on Electron Microscopy*. Sous press.
- TEGELBERG R. ET JULKUNEN-TIITTO R., 2001.-** Quantitative changes in secondary metabolites of dark-leaves willow (*Salix myrsinifolia*) exposed to enhanced ultraviolet-B radiation. *Physiologia Plantarum*, **133** : 541 – 547.
- TISSUT M. ET SEVERIN F.,1984.-** Plantes, herbicides et desherbage, Association de coordination agricole, Paris : 251.
- WATERMAN P.G. ET MOLE S., 1989.-** Extrinsic factors influencing production of secondary metabolites in plants. In : Bernays E.A [ed] *Insect-plant interaction*, vol.1 CRC-press, Boca Raton, FL, pp 107 – 134.