Zeitschrift: Bulletin de la Société Vaudoise des Sciences Naturelles

Herausgeber: Société Vaudoise des Sciences Naturelles

**Band:** 67 (1958-1961)

**Heft:** 305

**Artikel:** Séparation par électrophorèse des composé auxiniques : technique et

premiers résultats

Autor: Pilet, Paul-Emile / Athanasiades, Marguerite

**DOI:** https://doi.org/10.5169/seals-275119

## Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

#### **Conditions d'utilisation**

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

#### Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

**Download PDF: 28.11.2025** 

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

# Séparation par électrophorèse des composés auxiniques

Technique et premiers résultats\*

PAR

PAUL-EMILE PILET et MARGUERITE ATHANASIADES
Laboratoire de Physiologie végétale (Université de Lausanne)

# 1. Avant-propos.

Plusieurs auteurs ont séparé les composés indoliques synthétiques et naturels au moyen de l'électrophorèse sur papier; von Denfer et collaborateurs (1952), R. Müller (1953), Linser et Kiermayer (1957), Guern (1958) ...

Dans l'ensemble, ils ont cherché à mettre en évidence l'acide β-indolyl-acétique (ABIA) et d'autres composés auxiniques dans des extraits végétaux, et ont trouvé avantage à coupler la méthode d'électrophorèse sur papier aux méthodes d'extraction et de purification courantes, en particulier à la chromatographie sur papier (v. Pilet, p. 112-155, 1961).

Ayant entrepris des essais du même genre dans le but d'isoler, de révéler, puis de doser colorimétriquement l'ABIA contenu dans les plantules du *Lens culinaris*, nous avons rencontré certaines difficultés techniques en ce qui concerne la reproductibilité de la méthode.

#### 2. Etude critique.

### 2. 1. PRINCIPE.

Rappelons (v. Pilet, p. 130-133, 1961) que l'électrophorèse sur papier permet de séparer des ions migrant différemment dans un champ électrique. La régularité de ce transport (bonne reproductibilité de la méthode) est affectée par certains processus que nous étudierons brièvement.

Dans les essais qui vont suivre, nous utiliserons (fig. 1) la cuve Multephor H à 6 papiers que nous jugeons inutile de décrire ici 1.

- \* Ce travail, dont certains points seront repris dans la thèse que Mme M. Athanasiades prépare dans notre laboratoire, a été possible grâce à un subside du Fonds national suisse de la recherche scientifique.
  - 1 V. Grassmann W. et Hanning K., 1950. Naturwissensch. 37, 496.

# 2. 2. L'effet Joule.

En travaillant dans une armoire frigorifique à 4 °C ± 1 (température prise à l'intérieur de la cuve au niveau des papiers) on réduit considérablement l'effet Joule, ce qui nous a permis de travailler à 300 V ². On enregistre, sous cette tension et à cette température, une augmentation moyenne de 1,25 mA entre le début et la fin de l'expérience, le débit initial étant de 10 à 14 mA, suivant l'état de la solution-tampon (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> — Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; pH 7,3 selon Sörensen). On renouvelle en général celle-ci après 4 ou 5 essais.

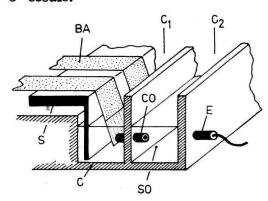


Fig. 1. — Schéma de la cuve d'électrophorèse utilisée dans nos essais.

C: cuve — SO: solution-tampon — E: électrode — C<sub>1</sub>: compartiment médian C<sub>2</sub>: compartiment externe, contenant l'électrode — CO: pont en laine de verre, préservant les compartiments médians des variations de pH — S: support — BA: bande de papier.

# 2. 3. Les variations du pH.

Si l'on prend la précaution d'intervertir les pôles des électrodes après chaque électrophorèse, les variations du pH dans les compartiments médians sont négligeables, malgré une légère acidification à l'anode et une faible alcalinisation à la cathode (tableau 1).

# 2. 4. FLUX HYDRODYNAMIQUES.

Les plus grosses erreurs (irrégularité dans le déplacement des taches d'un essai à l'autre, effectués pourtant dans les mêmes conditions) sont dues à des flux hydrodynamiques créés lors de l'imbibition, de la saturation, du transport et de la révélation des papiers.

Pour éviter ce genre d'inconvénients, nous prenons actuellement les précautions suivantes :

# 2. 4. 1. Imbibition et saturation des papiers.

La méthode habituelle, en électrophorèse sur papier, consiste à déposer la tache initiale, puis à asperger le papier de solution-tampon, avant de le fixer sur son support. On peut aussi l'imbiber par contact avec un papier-filtre imprégné de solution-tampon. Dans les deux cas, on enregistre une déviation de la tache, selon une direc-

<sup>2</sup> On gagne du temps en travaillant à 300 V (électrophorèse en 4 h.) au lieu de 7 h. à 150 V.

#### TABLEAU 1.

Variations du pH ( $\Delta$  pH) après chaque électrophorèse (six essais)  $\Delta$  pH = pH final — pH initial  $\Delta$  V = 300 V; durée de l'électrophorèse : 4 h pH initial : 7,3  $\pm$  0,05 Le pH est mesuré au Radiomètre Copenhague

Essais	Compar	timent +	Compartiment —		
Liesars	Extrême	Médian	Médian	Extrême	
I	<b>— 0,2</b> 1	<b>— 0,0</b> 1	0,09	+0.32	
II	<b>— 0,3</b> 3	0	+ 0,02	+0,31	
III	<b>— 0,16</b>	<b>— 0,0</b> 6	- 0,04	+0,21	
IV	- 0,42	+ 0,01	+ 0,01	+ 0,26	
V	0,13	0	<b>— 0,07</b>	+ 0,18	
VI	<b> 0,20</b>	+ 0,02	+ 0,07	<b>+ 0,15</b>	

tion variable, atteignant une valeur de 5 à 10 mm. De plus, avec ces deux méthodes, la tache a le temps de s'élargir par diffusion tout au long de la phase de saturation du papier (20 mn). Or il n'est pas commode d'éluer des taches trop larges, surtout lorsqu'on est en présence de plusieurs substances qui migrent dans la même direction. C'est pourquoi nous proposons la méthode suivante:

On utilise (fig. 2 A) des bandes (BA) de papier Whatman no 1 de 28,2/3,7 cm. À l'endroit où l'on veut faire le dépôt, au milieu généralement (M), on découpe un carré C de 1 cm de côté, que l'on jette.

On trempe le papier ainsi troué dans la solution-tampon. On l'applique bien tendu sur son support (S), dont (fig. 2B) on plonge chaque extrémité (E) dans un récipient (R) plein de solution-tampon (plutôt que de le placer dans la cuve pour le ressortir plus tard, au moment du dépôt de la tache). On place un couvercle, et on laisse le papier se saturer ainsi pendant 20 mn.

# 2. 4. 2. Préparation de la tache.

Au moyen d'une micropipette graduée, on dépose la solution à étudier au centre d'un carré (CA) de papier Whatman no 1 de 1,2 cm de côté (v. fig. 2 A), de manière à obtenir une tache (T) de 0,5 cm de diamètre. On imbibe rapidement CA (de manière à éviter une diffusion des substances hors du papier) par contact avec un pa-

pier-filtre imprégné de solution-tampon, et on le dépose aussitôt au centre du papier troué dont la saturation doit être terminée (3). On place ensuite les supports dans la cuve, on la recouvre rapidement de son couvercle, on ferme le frigo et 3 mn après on met l'électrophorèse en route.

Par cette méthode, rien ne sort du carré de départ avant le passage du courant et le sens de la déviation, qui ne dépasse pas 0,5 cm, peut être contrôlé en imbibant et en déposant toujours le carré de la même façon.

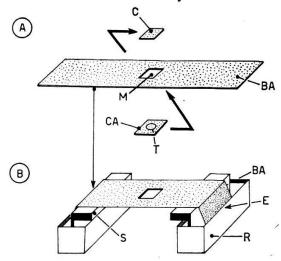


Fig. 2. — Technique de préparation des papiers (imbibition et saturation).

BA: bande de papier — M: milieu du papier — C: carré de papier (1 cm de côté) — CA: carré de papier (1,2 cm de côté), portant la tache initiale — T: tache initiale S: support — R: récipient contenant la solution-tampon — E: extrémité des papiers plongeant dans la solution.

## 2. 4. 3. Révélation.

Les mêmes difficultés se présentaient lors de la révélation par aspersion du papier : la tache peut dévier dans un sens incontrôlable, d'env. 5 à 10 mm.

Nous révélons donc par contact avec un papier-filtre imbibé d'un réactif au FeCl<sub>3</sub> — H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Salkowski modifié; Pilet 1957 b) en déposant, puis enlevant le papier rapidement et toujours dans le même sens (anode-cathode, p. ex.).

## 2. 5. CARACTÉRISTIQUES DES TACHES.

# 2. 5. 1. Forme.

Nous avons abandonné la tache initiale en forme de trait horizontal perpendiculaire à la direction de déplacement, telle qu'on la pratique couramment, parce qu'à la fin de l'expérience sa largeur est aussi grande que celle des taches circulaires, et qu'elle est beaucoup plus difficile à déposer régulièrement.

# 2. 5. 2. Concentration.

En chromatographie sur papier, on remarque que le Rf des taches diminue lorsque la concentration de celles-ci augmente; de

8 Cette discontinuité dans le papier, contrairement à ce qu'on aurait pu craindre, n'entraîne aucune erreur supplémentaire.

plus, les taches trop concentrées ont tendance à s'étirer le long de l'axe de déplacement.

En électrophorèse par contre, si la surface de la tache finale augmente avec la quantité déposée, le déplacement ne varie pas.

# 2. 6. Position des papiers dans la cuve.

On numérote les papiers de 1 à 6, le numéro 1 se trouvant près des électrodes, le numéro 6 à l'autre extrémité.

L'analyse d'un certain nombre d'essais semble montrer que les déplacements minimaux des taches sont répartis d'une façon quelconque, tandis que les déplacements maximaux seraient plutôt localisés

TABLEAU 2.

Variations du déplacement (d en mm) de l'ABIA (1 γ) pour 6 séries (I à VI) de 6 papiers (1 à 6).

Le papier n° 1 est le plus proche de l'électrode.

	1 1			1	1		
e:	écart	par	rapport	à la	moyenne	<b>M</b> .	

Essais		1	2	3	4	5	6	М
I	d	47	42	50	54	49	49	48,5
	e	1,5	6,5	1,5	5,5	0,5	0,5	it.
	d	52	49	47	49	50	52	49,8
П	е	2,2	0,8	2,8	0,8	0,2	2,2	an L
TTT	d	48	47	47	48	47	54,5	48,6
III	е	0,6	1,6	1,6	0,6	1,6	5,9	
IV	d	55	49	49	50,5	48	52	50,6
11	e	4,4	0,4	0,4	0,1	2,6	1,4	
	d	53	53	52	57	48	54	52,8
V	е	0,2	0,2	0,8	4,2	4,8	1,2	
VI	d	54	49	45,5	45	47,5	48,5	48,2
	e	5,8	0,8	2,7	3,2	0,7	0,3	

Moyenne générale: 49,8.

aux extrémités de la cuve. Pratiquement, on ne se préoccupe pas de la position des papiers, soit qu'on prenne en considération la moyenne des 6 papiers, soit qu'on fasse une élution dans une marge d'erreur calculée.

### 2. 7. Discussion.

En prenant les précautions mentionnées, on arrive à une reproductibilité assez bonne : en faisant par exemple une série d'électro-phorèses d'ABIA (1  $\gamma$  en solution alcoolique), on constate que la moyenne de chacun des essais coı̈ncide avec la moyenne générale avec une marge d'erreur maximale de  $\pm$  5 mm (tableau 2).

Lorsqu'on veut faire une élution des différents papiers correspondant à un essai, il faut tout d'abord révéler l'un des papiers, pour connaître la position de l'ABIA, définie par la distance D (fig. 3 A) puis découper les autres au bon endroit, avec la certitude de récolter tout l'ABIA.

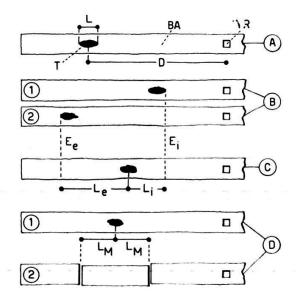


Fig. 3. — Détermination d'une marge d'erreur permettant d'éluer convenablement l'ABIA après électrophorèse. (fig. A, B, C et D, voir texte).

BA: bande de papier — TR: point de départ de la tache — T: tache finale. — L: largeur de la tache finale — D: distance parcourue par par la tache T — Le: écart «externe» Li: écart «interne» — Ee et Ei: bords des taches ayant effectué un trajet extrême — L<sub>M</sub>: écart maximum.

Dans une étude faite sur 40 essais, dont les taches furent toutes révélées, nous avons recherché, pour chaque papier d'un essai, les écarts « internes »  $(L_i)$  et « externes »  $(L_e)$  (fig. 3 C) entre le centre de la tache et les bords  $E_e$  et  $E_i$  (fig. 3 B) des taches ayant effectué un trajet extrême.

La valeur maximale L<sub>M</sub> de l'ensemble des L<sub>i</sub> et L<sub>e</sub> d'un essai (v. tableau 3) est, dans 90 % des cas, inférieure à 25 mm.

C'est pourquoi, avant d'éluer, nous procédons ainsi :

On révèle l'un des papiers (fig. 3 D. 1), on prend le milieu de la tache, on reporte ce point sur les papiers non révélés, à même distance du point de départ (fig. 3 D. 2) puis de part et d'autre, à la distance L<sub>M</sub> calculée plus haut, on reporte les marges de sécurité, entre lesquelles se trouve la totalité de l'ABIA à éluer.

#### 3. Sensibilité de la méthode.

Il nous a paru intéressant de connaître d'une part la quantitélimite de diverses substances indoliques révélables sur papier par notre réactif et d'autre part les possibilités-limites du dosage quantitatif d'ABIA, ceci en prévision d'une réduction à la quantité minimale du poids frais de matériel dont on veut extraire les composés auxiniques.

TABLEAU 3.

Recherche de la marge de sécurité d'une tache, à partir d'un essai particulier (v. fig. 3)

Les valeurs sont données en mm.

Numéros des papiers	D	L	Li	Le ,
1	52	17	10	16
2	<b>4</b> 6	12	16	10
3	<b>56</b>	13	6	20*
4	47	22	15	11
5	50	18	12	14
6	49	21	13	13

<sup>\*</sup> Valeur maximale (L<sub>M</sub>) qui sera choisie, dans cet exemple, comme marge de sécurité.

#### 3. 1. Dosage qualitatif.

Au moyen d'une pipette de précision graduée en  $\mu l$ , on dépose sur une série de petits rectangles de papier Whatman no 1, à l'intérieur d'un cercle de 1 cm de diamètre qu'on y trace préalablement, une tache d'environ 0,5 cm de diamètre, d'un volume donné d'une solution alcoolique (10  $\gamma/ml$ ) du composé indolique étudié. On sèche, on imbibe de réactif par contact et on compare avec un papier témoin ne contenant pas de substances à analyser. En déposant sur le papier des quantités de plus en plus faibles, on finit par découvrir la quantité limite encore sensible au réactif dans une surface donnée.

L'estimation est faite à la lumière du jour et à l'œil nu. Le réactif que nous employons a été mis au point pour des mesures colorimétriques et on a montré que c'était surtout l'ABIA qui présentait, avec ce réactif, une coloration caractéristique (PILET, 1957 b). Nous avons constaté, par contre, en évaluant la quantité-limite révélable à sec et sur une surface donnée, que les chiffres correspondants étaient très différents de ceux qu'on pouvait attendre (v. tableau 4).

## TABLEAU 4.

Emploi du réactif : FeCl<sub>3</sub> / H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Pilet, 1957 b)

 $3 \text{ ml } \text{FeCl}_3 1,5 \text{ M}$ 

60 ml  $H_2SO_4$  (1,84; PM : 98,08, 95-97 %)

100 ml H<sub>2</sub>O

Composés	Coloration	I*	II
ABIA	rose-brun	100	0,02
Ac. β-indolyl-propionique Ac. β-indolyl-butyrique Tryptamine Indole Scatole	rose —→brun jaune —→ brun rose —→violet. rose brique jaune brun	1,0 13,2 — 12,1 12,5	0,06 0,06 0,04 0,06 0,05

- 1. Extinction relative donnée par divers composés à noyau indole (0,125.10-8 M).
  - II. Quantité-limite révélable (en γ) pour des taches de 0,5 cm de diamètre.
  - \* Chiffres donnés par Pilet, 1957 b.

# 3. 2. Dosage Quantitatif.

# 3. 2. 1. Méthode.

Notre réactif attaque le papier-filtre qui, après révélation par cette méthode, ne peut être rendu translucide et soumis directement à une analyse photométrique dans un colorimètre du type Elphor. C'est pourquoi nous procédons à une élution dans l'alcool et à un dosage à l'aide du colorimètre Klett.

Nous procédons de la façon suivante :

- 1. Une fois le papier séché, à l'obscurité, nous découpons la zone contenant de l'ABIA (révélation d'un témoin).
- 2. La zone de papier ainsi obtenue est ensuite débitée en petits morceaux qu'on introduira dans une pipette spéciale (fig. 4, A et B).
  - Au moyen d'un caoutchouc, on introduit 1 ml d'alcool (fig. 4 C). On laisse reposer 5 heures (fig. 4 D) puis on fait tomber le liquide dans l'éprouvette (fig. 4 E). On pipette ensuite par trois fois 1 ml d'alcool pour laver les papiers, en laissant reposer 60 mn chaque fois.
- 3. On ajoute, au temps zéro, 6 ml de réactif aux 4 ml d'éluat ainsi obtenu, et on cherche à l'aide du colorimètre la valeur correspondante sur la courbe-étalon (Courbe témoin).

# 3. 2. 2. Précision de la méthode.

Le réactif que nous utilisons avait été proposé pour des dosages d'activité auxines-oxydasique (Pilet, 1957, 1958 a et b, 1959, 1960). On procédait en opérant avec 2 ml de solution active et 8 ml de réactif. Or, dans ces essais, on est obligé d'employer 4 ml d'alcool au minimum pour éluer l'ABIA contenu dans les papiers. Nous avons comparé (fig. 5) les courbes de titration pour une solution alcoolique d'ABIA en adoptant la méthode I (2 ml sol. + 8 ml réactif) et la méthode II (4 ml sol. + 6 ml réactif). On peut voir que la sensibilité est légèrement réduite.

Fig. 4. — Technique d'élution de l'ABIA après électrophorèse (fig. A, B, C, D et E, voir texte)

1: bille de verre — 2: caoutchouc

3: pipette contenant le papier — 4: support maintenant la pipette au-dessus de l'éprouvette graduée — 5: éprouvette graduée — 6: capillaire de la pipette.

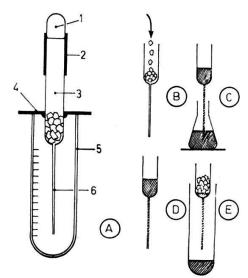
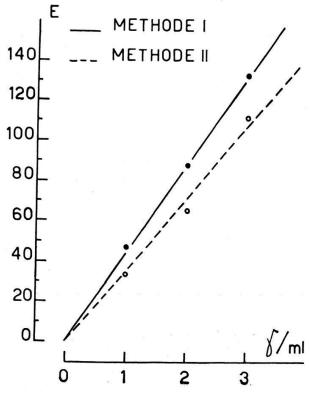


Fig. 5. — Sensibilité de la réaction colorimétrique de l'ABIA.
Réactif employé à base de FeCl<sub>3</sub>.
H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Concentration en γ/ml dans le tube de Klett.
Méthode I: 8 ml du réactif + 2 ml sol. aqueuse active.
Méthode II: 6 ml du réactif + 4 ml sol. alcoolique active.



On peut encore doser convenablement des quantités d'ABIA correspondant à des concentrations de l'ordre de 1  $\gamma$ /ml dans le tube de Klett, soient 10  $\gamma$  d'ABIA dans les 4 ml d'éluat.

## 4. Quelques résultats.

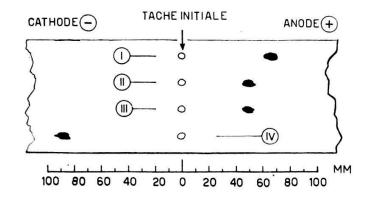
A titre d'illustration de la technique exposée ici, nous examinerons brièvement quelques-uns des résultats préliminaires obtenus.

# 4. 1. SÉPARATION DE COMPOSÉS AUXINIQUES.

Bien qu'à plusieurs reprises le déplacement par électrophorèse de composés indoliques ait fait l'objet de publications particulières (v. Guern, 1958), nous donnerons quelques résultats obtenus avec notre méthode (fig. 6).

Fig. 6. — Migration par électrophorèse de quelques composés indoliques.
(300 V, pendant 5 h, pH = 7,3).

I: ABIA — I: acide β-indolyl-propionique — III:
 acide β-indolyl-butyrique
 IV: tryptamine.



## 4. 2. MIGRATION DE L'ABIA.

Que cette substance soit seule en solution ou mélangée à d'autres composés indoliques (tryptamine, acides  $\beta$ -indolyl-propionique et  $\beta$ -indolyl-butyrique, etc....) son déplacement par électrophorèse demeure identique.

On peut remarquer que la position de la tache de l'ABIA (au bout d'un temps donné) par rapport à la tache initiale dépend de la différence de potentiel : la mobilité de l'ABIA est une fonction linéaire de cette différence de potentiel (fig. 7).

## 4. 3. PURETÉ DE L'ABIA.

Dès qu'on utilise des quantités d'ABIA supérieures à 2  $\gamma$  et sous un régime donné (300 V; pH 7,3; 4 h), on trouve, en plus de la tache de l'ABIA (à + 48 mm de la tache initiale), trois autres taches :

- 1) vers l'anode, une tache rose (A), déplacement moyen de + 22 mm;
- 2) au centre, une tache rose (B);

3) vers la cathode, une tache rose-violette (C), déplacement moyen de — 18,5 mm (cette tache apparaît plus irrégulièrement).

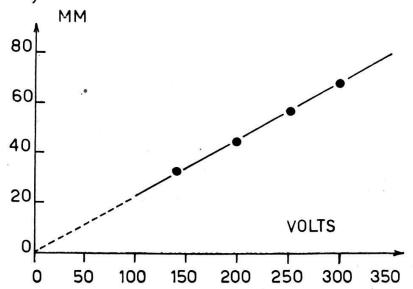


Fig. 7. — Déplacement (en mm) de l'ABIA en fonction de la différence de potentiel (en v lts) après 5 h, pour un pH de 7,3.

Ces observations nous conduisent à faire quelques remarques :

- 1) Il semble que ces taches correspondent à des produits de dégradation de l'ABIA. En effet, nous avons préparé une série de taches à 1 γ dont les unes furent soumises tout de suite à l'électrophorèse, et les autres seulement après 4 jours (conservation à l'obscurité en présence d'air). Dans ces dernières, il y eut apparition des taches A et B.
- 2) Ces produits ne se forment pas en solution alcoolique, même vieillie de plusieurs semaines.
- 3) Ces produits semblent se trouver en quantité plus importante, pour une quantité d'ABIA identique, lorsqu'on analyse un mélange d'ABIA, d'acides β-indolyl-propionique et β-indolyl-butyrique et de tryptamine. Ils pourraient donc aussi provenir de la dégradation de l'une ou de l'autre de ces substances indoliques.

Les constatations précédentes incitent à protéger d'autant plus soigneusement l'ABIA de l'air et de la lumière. On peut penser que la présence de ces composés fait varier le pouvoir d'extinction d'une quantité d'ABIA donnée, faussant ainsi légèrement l'établissement d'une courbe étalon. Dans quel sens et dans quelles proportions, nous l'ignorons, n'ayant pas poursuivi d'expériences systématiques pour le moment dans ce domaine.

Cette technique d'électrophorèse présente, par rapport à la méthode de chromatographie sur papier que nous avons utilisée à plu-

sieurs reprises (PILET, 1958), certains avantages (contrôle thermique plus aisé, reproductibilité meilleure, quelles que soient les concentrations utilisées, etc....).

#### 5. Conclusion.

Cette méthode, grâce à laquelle nous pensons pouvoir doser chimiquement et quantitativement l'ABIA endogène, permettra de comparer les valeurs ainsi obtenues à celles que fournissent les techniques de biochromatographie (emploi de tests biologiques: Pilet, 1958 a). Par ce moyen, nous pourrons aborder certaines questions relatives, par exemple, aux liaisons in vivo de l'ABIA (v. Pilet, p. 258-262, 1961) avec d'autres composés (récepteurs auxiniques).

## BIBLIOGRAPHIE.

- Denfer von D., Behrens M. et Fischer A., 1952. Papierelektrophoretische Trennung von Indolderivaten aus Pflanzenextrakten. Naturwiss. 39, 258.
- Guern J., 1958. Etude comparée des méthodes de séparation et d'extraction des substances de croissance (Auxines et Gui). Fac. Sc. Paris, Trav. diplôme.
- LINSER H. et Kiermayer O., 1957. Methoden zur Bestimmung pflanzlicher Wuchstoffe. Springer Verlag, Wien.
- Muller R., 1953. Zur quantitativen Bestimmung von Indolessigsäure mittels Papierchromatographie und Papierelektrophorese. Beitr. z. Biol. Pflanz. 30, 1.
- Pilet P. E., 1957 a. Variations de l'activité des auxines-oxydases dans les racines du Lens. Experientia 13, 35.
  - 1957 b. Dosage photocolométrique de l'acide β-indolyl-acétique: application à l'étude des auxines-oxydases. Rev. gén. Bot. 64, 106.
  - , 1958 a. Analyse biochromatographique des auxines radiculaires. Techniques et résultats. Rev. gén. Bot. 65, 605.
  - , 1958 b. Etude chromatographique des facteurs de croissance radiculaires. C. R. Acad. Sc. 246, 2399.
  - , 1958 c. Chromatographie bidimensionnelle de quelques composés indoliques. C. R. Acad. Sc. 247, 605.
  - 1959. Activité auxines-oxydasique et expression cellulaire. C. R. Acad. Sc. 248, 1573.
  - , 1960. In vitro destruction of auxin labeled with C<sup>14</sup>. Physiol. Plant. 13, 766.
  - , 1961 Les phytohormones de croissance. Méthodes, chimie, biochimie, physiologie, applications pratiques. Masson Ed.,
     Paris
- SYNGE R. L. M. et ROTHAMSTED F. R. S., 1955. General methods for separation: Electrical-transport methods. Moderne Methoden der Pflanzenanalyse. Springer Verlag, Berlin.