

Zeitschrift: Saussurea : journal de la Société botanique de Genève
Herausgeber: Société botanique de Genève
Band: 7 (1976)

Artikel: Étude immunochimique de l'induction photopériodique chez Spinacia oleracea
Autor: Balet-Buron, Annie / Greppin, Hubert
DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-1099270>

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: 17.04.2026

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

Etude immuno-chimique de l'induction photopériodique chez *Spinacia oleracea*

ANNIE BALET-BURON & HUBERT GREPPIN

Résumé

BALET-BURON, A. & H. GREPPIN (1976). Etude immuno-chimique de l'induction photopériodique chez *Spinacia oleracea*. *Saussurea* 7: 65-72.

Une étude immuno-chimique de l'induction florale chez l'épinard a été faite. Six composés antigéniques spécifiques ont été détectés chez les plantes induites par voie physique ou chimique. Toutefois, il s'agit d'un phénomène tardif (20 heures de lumière), l'induction photopériodique n'engageant pas dans la feuille de l'épinard la synthèse de protéines nouvelles.

Abstract

BALET-BURON, A. & H. GREPPIN (1976). Immuno-chemical study of the photoperiodic induction in *Spinacia oleracea*. *Saussurea* 7: 65-72. In French.

The present study bears upon the floral induction investigated by means of immuno-chemical techniques. Six antigenic components have been found in plants induced in physical and chemical ways. However, this is a late phenomenon (requiring 20 hours of light), the photoperiodic induction causing no synthesis of new proteins in the spinach leaves.

Introduction

L'induction photopériodique, en jours longs, aboutit chez l'épinard à la formation du "stimulus floral". Les événements biophysiques et biochimiques associés à ce processus sont encore inconnus; il en est de même de l'hypothétique hormone de floraison (VINCE-PRUE, 1975). Des résultats variables selon les espèces considérées et les expériences entreprises en permettent pas de conclure de manière satisfaisante sur l'existence d'une néosynthèse de protéines lors de l'induction photopériodique (VINCE-PRUE, 1975). Aussi avons-nous entrepris, par voie immuno-chimique, d'examiner ce qu'il en était chez l'épinard.

Matériel et méthodes

1. Conditions de culture et de récolte

Des épinards (*Spinacia oleracea*, var. Nobel) ont été cultivés pendant 4 semaines en jours courts de 8 heures (tube Sylvania, daylight 40 W) dans une cellule du phy-

50% pendant l'obscurité. Les plantes poussent sur de la terralite et sont arrosées deux fois par semaine avec la solution nutritive Sinésol. Après 4 semaines les épinards ont dépassé la phase juvénile, mais ne sont pas induits: leur méristème apical est à l'état végétatif (AUDERSET, 1974). Au contraire, après 4 semaines de jours continus, toutes les plantes sont induites et donc aptes à fleurir.

Un lot de 40 plantes est, après 4 semaines de jours courts, transféré en lumière continue et des prélèvements sont faits après 8, 12 et 16 heures de transfert. D'autre part, deux autres lots de 40 plantes ayant été transférés reçoivent simultanément sous forme de vaporisation sur les feuilles 20 ml de DCMU à 10^{-4} M (soit $0.05 \mu\text{M}$ par plante) ou 20 ml d'une solution de D-théro-chloramphénicol à 0.1% ($1.5 \mu\text{M}$ par plante) contenant quelques gouttes de triton X-100. Ces traitements ont commencé dès le début de la photopériode du dernier jour court précédant le transfert en jours continus.

D'autres lots de plantes, maintenues en jours courts, ont été traités soit avec 20 ml d'une solution d'acide gibbérellique à 0.1% ($1.4 \mu\text{M}$ par plante) soit avec une solution de chlorure d'acétylcholine 5 mM pendant 2 jours ($2.5 \mu\text{M}$ par plante) au début et à la fin de la période lumineuse. Quelques gouttes de triton X-100 ont été ajoutées à ces deux solutions pour faciliter la pénétration des produits dans la feuille.

2. Préparation des extraits antigéniques

Les feuilles sont broyées à froid dans un tampon tris-HCl 0.5 M (pH = 8.3) contenant 0.75 M de saccharose, 0.09 mM de MgCl_2 et 19 mM de chlorhydrate de cystéine, dans la proportion de 1 ml de solution pour un gramme de feuille (poids frais). Le filtrat (filtre de nylon) est centrifugé, à froid, pendant 15 min (15 000 g). Le surnageant contenant les protéines solubles est concentré sur Sephadex G 25 medium, dans un filtre pharmacia (DETERMANN, 1969). De cette façon on obtient des extraits antigéniques de 20 mg/ml de protéine. On stérilise sur filtre milipore de 0.45μ et on récolte stérilement les extraits que l'on conserve à -20°C ;

3. Préparation de l'immunosérum

Nous avons préparé les immunosérums sur des lapins, à partir d'extraits antigéniques de feuilles prélevés sur des plantes induites et cultivées en jours continus (4 semaines). L'immunisation a été faite sur une période de deux mois environ. On a, au préalable, prélevé 10 ml de sang à chaque animal pour obtenir des sérums témoins. Chaque lapin a reçu au total 80 mg de protéines végétales en 6 injections successives. Le premier jour, nous avons injecté par voie intramusculaire 2 ml d'extrait émulsionné dans 2 ml d'adjuvant complet de Freund. Au 28^e jour, la 2^e injection est sous-cutanée (2 ml d'extrait émulsionné dans 2 ml d'adjuvant incomplet de Freund). A partir du 35^e jour et tous les 7 jours pendant 4 semaines, les injections sont sous-cutanées (1 ml d'extrait sans adjuvant). Une semaine après la dernière injection, nous avons prélevé le maximum de sang par ponction cardiaque. Le sérum obtenu, débarrassé du caillot de sang, est centrifugé à 1000 g puis réparti dans des petits tubes stériles pour être stocké à -20°C .

4. Techniques immunochimiques

Nous avons coulé, sur des plaques de verre de 9.4 cm/8.3 cm, une couche d'agarose à 1% (préparée avec du tampon véronal pH 8.6 et de force ionique 0.04) sur une épaisseur de 1 mm. Le test de double diffusion est réalisé selon la méthode décrite par OUCHTERLONY (1962). Les puits ont 4 mm de diamètre et sont disposés en hexagones équidistants de 7 mm. On dépose 10 μ l de sérum de lapin dans le puit central (anticorps) et 10 μ l d'extrait végétal dans les autres puits (antigènes), puis on laisse diffuser à température ambiante dans une chambre humide pendant 24 heures.

L'immuno-électrophorèse est réalisée selon la technique décrite par GRABAR & WILLIAMS (1953) et modifiée par SCHEIDEGER (1955). La séparation électrophorétique des extraits antigéniques est faite à température ambiante avec l'appareil Multiphor 2117 LKB muni d'une plaque refroidissante; il y a de chaque côté une cuve contenant un litre de tampon véronal identique à celui employé pour préparer l'agarose. Le contact entre les plaques et le tampon se fait par des éponges imbibées avec le même tampon. La tension entre les deux extrémités de chaque plaque est de 80 V (8.5 V/cm) pendant 30 min. Après électrophorèse de 5 μ l d'extrait antigénique végétal, on place 100 μ l de sérum dans les rainures. On laisse apparaître les arcs de précipité en chambre humide et à température ambiante pendant 24 heures.

Nous avons aussi examiné le matériel au moyen du test d'immuno-électrophorèse croisée décrit par LAURELL (1965) et modifié par CLARKE & FREEMAN (1968). Afin de faciliter la comparaison, nous avons déposé sur une même plaque deux extraits antigéniques différents, l'un à côté de l'autre, à une distance de 8 mm. La première électrophorèse séparant les composés antigéniques est faite avec 10 μ l de chaque extrait sous une tension de 80 V (8.5 V/cm) pendant 40 min; la deuxième électrophorèse, perpendiculaire à la première, est développée dans un gel contenant 15 μ l/cm² de sérum (anticorps jours longs) sous une différence de potentiel de 20 V (2.1 V/cm) pendant 19 heures.

Après ces différents traitements, les plaques sont lavées dans deux bains successifs de solution physiologique (NaCl 0.15 M) pendant 48 heures pour éliminer de l'agarose toutes les protéines non précipitées. Après avoir rincé soigneusement chaque plaque à l'eau distillée, on les recouvre d'un papier filtre pour les sécher complètement à l'étuve à 37°C ou à l'air ambiant.

La mise en évidence des protéines totales est réalisée par coloration des plaques pendant 10 min dans une solution de bleu brillant de Coomassie à 0.5% dans un mélange d'acide acétique glacial à 10% et de méthanol à 45%. On rince 15 min avec un mélange d'acide acétique glacial à 10% et de méthanol à 45% dans deux bains successifs.

Les expériences ont été répétées 4 à 10 fois selon les cas.

Résultats

Nous nous proposons de rechercher dans la fraction des protéines solubles foliaires des différences antigéniques produites par les plantes induites et non induites afin de déterminer si des protéines nouvelles sont associées à l'induction photopériodique du "stimulus floral".

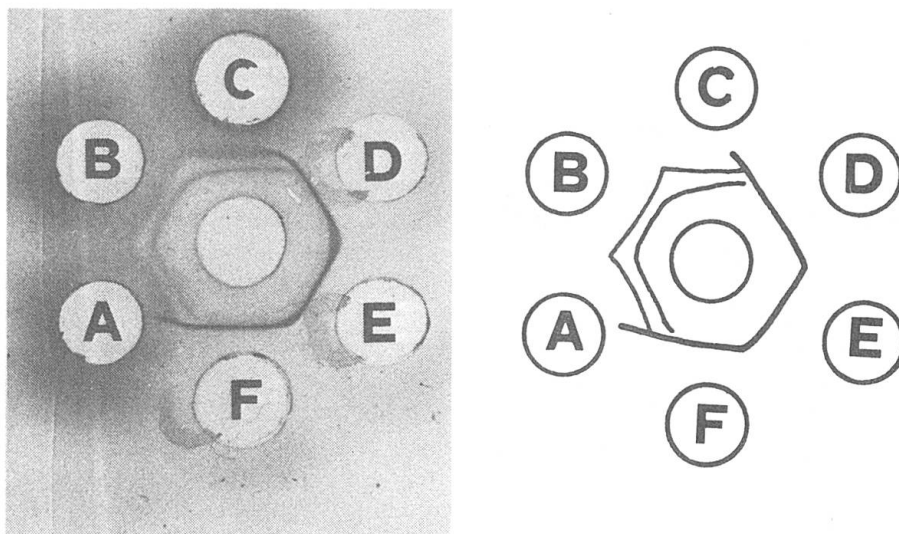


Fig. 1. — Révélation d'extraits antigéniques de feuille par un immunosérum anti-feuille induite (double diffusion). Les extraits antigéniques foliaires sont issus de:

A, plante induite (4 semaines de jour continu); B, plante cultivée en photopériode de 8 heures, ayant reçu au moins 12 heures de lumière supplémentaire (transfert); C, plante maintenue en photopériode de 8 heures et traitée par l'acétylcholine; D, plante cultivée en photopériode de 8 heures et prélevée après 8 heures de lumière supplémentaire (transfert); E, plante (jour court) ayant reçu 16 heures de lumière supplémentaire et traitée par le chloramphénicol; F, plante (jour court) ayant reçu 16 heures de lumière supplémentaire et traitée par le DCMU.

1. Test d'Ouchterlony (cf. fig. 1)

Dans le cas de la réaction homologue (angigènes de plantes induites contre anticorps correspondants) on obtient une zone de précipités trop nombreux pour être dénombrés. Lorsqu'on fait une réaction croisée avec le même sérum contre les antigènes de plantes de jours courts (donc non induites) il manque un précipité par rapport à la réaction homologue (fig. 1); nous observons, de plus, une continuité de type "identité partielle" entre les précipités des différents antigènes. Une réponse de type "jours courts" est aussi observée avec des extraits antigéniques de plantes traitées au DCMU simultanément au transfert en période lumineuse continue; il en est de même pour les plantes traitées au chloramphénicol pendant cette même période ou n'ayant reçu que 8 heures de lumière complémentaire (fig. 1). Après le transfert de jours courts de 8 heures en lumière continue, ce n'est donc qu'après plus de 16 heures d'exposition totale à la lumière qu'apparaît au niveau immunologique une réponse de type "jours longs" (donc de plantes induites).

2. Immuno-électrophorèse

La réaction homologue des plantes induites révèle à l'examen détaillé 9 arcs de précipitation; dans la figure 2A, le dénombrement des arcs est fait en partant de l'arc de précipitation anodique extrême. Les extraits antigéniques de plantes trai-

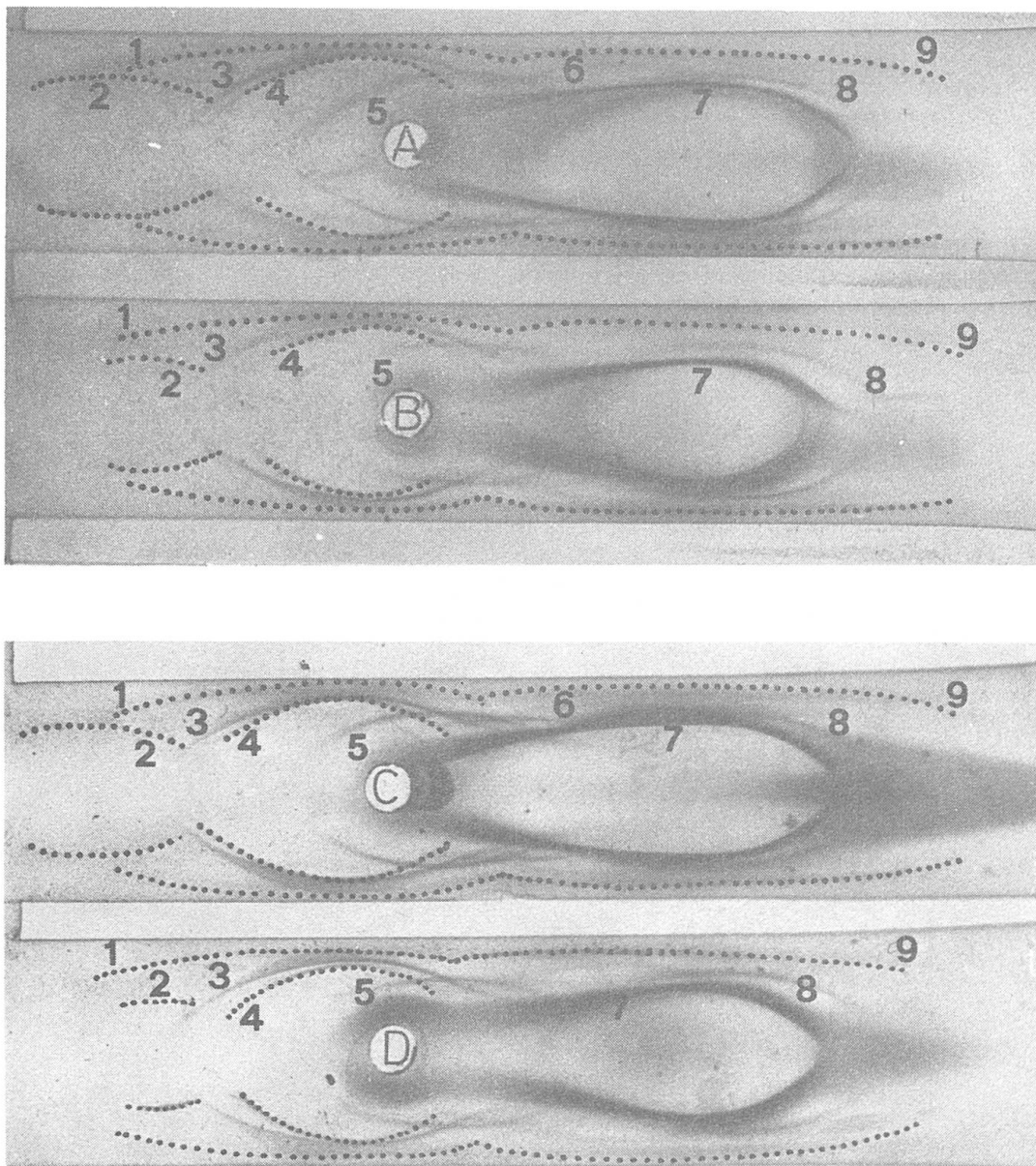


Fig. 2. — Schéma d'immuno-électrophorèses d'extraits antigéniques de feuille, révélés par un immunosérum anti-feuille induite. Les extraits antigéniques foliaires sont issus de: A, plante induite (4 semaines de jour continu ou plante de jour court ayant reçu plus de 12 heures de lumière supplémentaire lors du transfert); B, plante cultivée en jour court (photopériode de 8 heures) et prélevée jusqu'à 8 heures de lumière supplémentaire (transfert); C, plante maintenue en photopériode de 8 heures et traitée par l'acétylcholine ou la gibbérelline; D, plante (jour court) ayant reçu 16 heures de lumière supplémentaire et traitée au DCMU.

tées par 12 ou 16 heures de lumière supplémentaire (transfert de jours courts en lumière continue) ou de plantes restées en jours courts de 8 heures mais traitées par la gibbérelline ou l'acétylcholine, donnent des résultats identiques aux plantes induites en jours longs; ces extraits ont donc une migration électrophorétique et une antigénicité comparable aux extraits de plantes induites. La réaction croisée ne révèle que 8 arcs de précipitation; de plus, la forme du 7^e arc est plus courte (fig. 2B) indiquant que l'antigénicité de ce composé est la même, mais que sa migration électrophorétique a diminué, confirmant "l'identité partielle" révélée par le test d'Ouchterlony.

On obtient aussi le type de réaction de plantes non induites (jours courts) avec les extraits de plantes ayant reçu simultanément au transfert en lumière continue un traitement au DCMU ou au chloramphénicol. Il en est de même chez les plantes de jours courts transférées en jours longs (fig. 2B), du moins jusqu'à la 8^e heure de lumière supplémentaire (soit après 16 heures au total). Passé ce délai on obtient la réponse classique des plantes induites (9 arcs de précipitation).

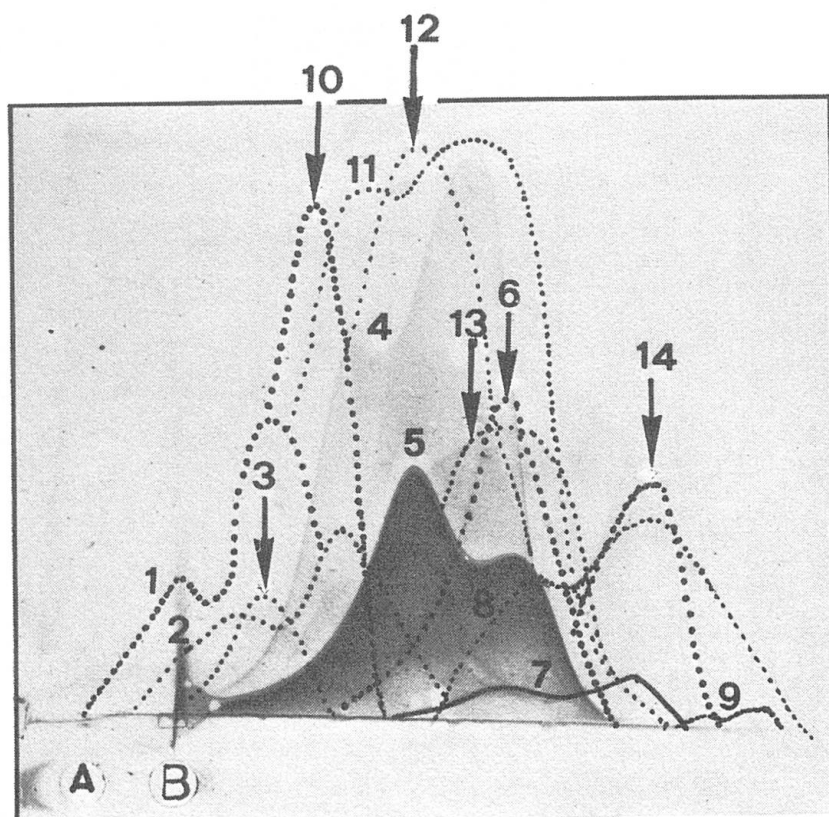


Fig. 3. — Immuno-électrophorèse croisée des extraits antigéniques de feuille révélée par un immunosérum anti-feuille induite. Les extraits antigéniques foliaires sont issus de: A, plantes à l'état végétatif (jour court) ou ayant reçu lors d'un transfert en jour continu jusqu'à 8 heures de lumière supplémentaire; B, plantes à l'état induit (4 semaines de jour continu ou plus de 12 heures de transfert de jour court en lumière continue). Les flèches indiquent les pics non jumelés, c'est-à-dire spécifiques à l'état induit.

3. Immuno-électrophorèse croisée

Cette méthode permet de comparer directement sur une même plaque, l'antigénicité des plantes induites et non induites par rapport à l'état induit avec un meilleur pouvoir de résolution que la seule immuno-électrophorèse. Nous observons du côté cathodique 6 pics non jumelés, indiquant que les plantes maintenues à l'état végétatif ne possèdent pas les composés antigéniques correspondants et spécifiques de l'état induit (fig. 3). De même que pour les autres tests cités précédemment, les extraits de feuille traités au DCMU ou au chloramphénicol durant le transfert en lumière continue (inducteur de la floraison) ou n'ayant reçu, après le jour court, qu'un traitement complémentaire de 8 heures de lumière se comportent comme les extraits antigéniques de plantes non induites. Au contraire, les plantes de jours courts traitées par le chlorhydrate d'acétylcholine ou l'acide gibbérellique ou ayant subi plus de 8 heures de lumière complémentaire au jour court, réagissent comme les plantes induites (4 semaines de jour continu).

Discussion

Les feuilles des plantes à l'état floral (4 semaines de jour continu) sont plus riches en antigènes que celles des plantes à l'état végétatif (4 semaines de jour court): ceci par rapport à l'immunosérum de plantes induites. Le résultat est identique que l'induction soit faite par voie physique (jours longs) ou par voie chimique (acétylcholine, gibbérelline). Le DCMU, inhibiteur classique de la floraison chez les plantes de jour long (BAVRINA & al., 1969) empêche de même la formation des protéines liées à l'état induit. D'autre part, lors du transfert de jour court en jour continu (induction photopériodique), ce n'est qu'après un traitement total de 20 heures de lumière (8 heures de jours court + 12 heures de transfert) qu'apparaît nettement la réponse immunologique spécifique des plantes induites.

L'état induit de la feuille est normalement détecté par l'examen du méristème, cible du "stimulus floral". Ainsi il est possible chez l'épinard de détecter les premiers signes de l'évocation florale après un traitement total de 24 heures de lumière (AUDERSET, 1974). D'autre part, la photopériode critique est d'environ 11 heures; ce n'est donc qu'après cette durée de traitement lumineux que commence la fabrication du "stimulus floral". Si l'on tient compte du temps nécessaire au déplacement de ce dernier à travers la tige, de la feuille jusqu'au méristème apical, on peut estimer qu'il faut moins de 8 à 10 heures de lumière supplémentaire pour que l'induction photopériodique soit faite (soit, au total, après 19 à 21 heures de lumière; GREPPIN, 1975). Les réponses antigéniques observées lors du transfert sont donc bien tardives (après un minimum de 20 heures de lumière) et ne peuvent que correspondre tout au plus à la fin du phénomène dans la feuille. La modification du photocontrôle de l'activité immédiate des peroxydases, caractéristique régulièrement associée, chez l'épinard, à l'état induit, peut déjà être observée après un traitement total de 16 heures de lumière: c'est-à-dire dans une période où l'on n'observe pas la parution de protéines nouvelles (PENEL & GREPPIN, 1973, 1974). Si l'application de chloramphénicol sur les feuilles, pendant le traitement lumineux inducteur, empêche l'apparition de réponses immunologiques caractéristiques des plantes induites, toutefois cette substance n'em-

pêche pas l'évocation florale de se faire; il n'en est pas de même lors de son application sur le méristème apical (VINCE-PRUE, 1975).

Au vu de ces résultats, il semble évident que l'induction photopériodique n'engage pas dans la feuille de l'épinard la synthèse de protéines nouvelles et que ce processus, une fois la photopériode critique passée, a besoin de moins de 8 heures de lumière pour se réaliser. Les événements observés au-delà d'un traitement total de 20 heures de lumière doivent correspondre à des actions en retour de l'état induit sur l'organisation générale du développement floral. Si ces derniers événements permettent de caractériser le nouvel état de la plante, ils ne nous permettent pas de tirer des conclusions quant à la nature de l'induction photopériodique source du "stimulus floral". La recherche doit se confiner dans la mise en évidence d'événements biophysiques et biochimiques durant les 8 heures de lumière succédant à la photopériode critique; les manifestations morphologiques et ultrastructurales qui y sont liées ne peuvent, du fait de leur inertie, se manifester que plus tardivement et être ainsi non seulement en retard par rapport aux événements initiaux mais d'autre part plongées dans une ambiance métabolique différente de celle qui les a initiées. Ne mettant pas en jeu, dans un premier temps, une information génique nouvelle (tout est déjà en place), le processus de l'induction photopériodique est un bel exemple de régulation enzymatique immédiate liée par un servomécanisme à certains paramètres du milieu (photopériode, etc.) et permettant le passage de l'état végétatif à l'état floral sans engager, du moins dans la première phase, des protéines néosynthétisées.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AUDERSET, G. (1974). *Etude du méristème caulinaire de Spinacia oleracea à l'état végétatif et floral*. Thèse, Université de Genève.
- BAVRINA, T. V., N. P. ASKENOVA & T. N. KONSTANTINOVA (1969). The participation of photosynthesis in photoperiodism. *Fiziologiya Rastenii* 16: 381-391.
- CLARKE, H. G. & T. FREEMAN (1968). Quantitative immunoelectrophoresis of human serumproteins. *Clin. Sci.* 35: 403.
- DETERMANN, H. (1969). *Chromatographie sur gel*. Masson, Paris.
- GRABAR, P. & C. A. WILLIAMS (1953). Méthode permettant l'étude conjuguée des propriétés électrophorétiques et immunochimiques d'un mélange de protéines. Application au sérum sanguin. *Biochim. Biophys. Acta* 10: 193-194.
- GREPPIN, H. (1975). La floraison: ébauche d'une nouvelle stratégie. *Saussurea* 6: 245-252.
- LAURELL, C. B. (1965). Antigen-antibody crossed electrophoresis. *Anal. Biochem.* 10: 358.
- PENEL, CL. & H. GREPPIN (1973). Action des lumières rouge et infra-rouge sur l'activité peroxydasique des feuilles d'épinards avant et après l'induction florale. *Ber. Schweiz. Bot. Ges.* 83: 252-261.
- & H. GREPPIN (1974). Variation de la photostimulation de l'activité des peroxydases basiques chez l'épinard. *Pl. Sci. Letters* 3: 75-80.
- OUCHTERLONY, Ö. (1962). Diffusion-in-gel methods for immunological analysis II. *Progress Allergy* 6: 30-154.
- SCHEIDEGGER, J. J. (1955). Une méthode de l'immunoélectrophorèse. *Int. Arch. Allergy* 7: 103-110.
- VINCE-PRUE, D. (1975). *Photoperiodism in plants*. McGraw-Hill Book Co., London.