

Analyse factorielle de l'ultrastructure du chloroplaste d'épinard à l'état végétatif et floral. I, Jours courts de 8 heures (conditions végétatives)

Autor(en): **Bonzon, Marc / Buis, Roger / Greppin, Hubert**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Berichte der Schweizerischen Botanischen Gesellschaft = Bulletin de la Société Botanique Suisse**

Band (Jahr): **85 (1975)**

Heft 4

PDF erstellt am: **17.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-60182>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern. Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Analyse factorielle de l'ultrastructure du chloroplaste d'épinard à l'état végétatif et floral.

I. Jours courts de 8 heures (conditions végétatives)

Marc Bonzon, Roger Buis et Hubert Greppin

Laboratoire de Physiologie Végétale,
Université de Genève

Manuscrit reçu le 22 décembre 1975

La lumière, tant par sa qualité (longueur d'onde) que par son intensité ou sa durée d'application, joue un rôle très important dans la vie du chloroplaste adulte, aussi bien sur le plan physiologique que morphologique. Du fait de sa semi-autonomie („sa mémoire n'est pas celle du reste de la cellule“, Sironval 1967), cet organe peut s'adapter rapidement à des changements des conditions lumineuses en modifiant à la fois son mode de fonctionnement et son architecture.

Sous l'influence d'„agressions lumineuses“ (Taylor et Rowley 1971; Taylor et Craig 1971), ou celle de l'intensité de l'éclairage (Reger et Kraus 1970; Goodchild et al. 1972; Björkman et al. 1972; Brangeon 1973), l'ultrastructure de l'appareil granulaire manifeste une grande sensibilité en réagissant soit par des variations de son épaisseur (nombre de thylakoïdes accolés par granum), soit par des changements de la distance entre les thylakoïdes ou de l'épaisseur des thylakoïdes eux-mêmes.

L'action de la durée de l'éclairage (photopériodisme) a été bien mise en évidence, essentiellement de deux façons: d'une part, en comparant les effets de plusieurs durées d'éclairage (un seul prélèvement par photopériode); d'autre part, en suivant l'évolution de l'ultrastructure chloroplastique au cours d'un cycle photopériodique (plusieurs prélèvements successifs au cours d'un même jour). Ainsi, Bronchart et al. (1964) sur *Perilla*, Bronchart (1967) sur l'épinard, Reyss et Bourdu (1971), Hirschauer et al. (1971), Sarda et al. (1974) sur *Lolium multiflorum* ont montré l'existence de différences dans l'organisation ultrastructurale des chloroplastes selon que la photopériode est longue ou courte.

Sarda et al. (1974) ont notamment mis en évidence une augmentation brusque de tous les systèmes lamellaires du *Lolium* au voisinage de l'héméropériode florale critique.

L'évolution de l'ultrastructure chloroplastique au cours d'un cycle photopériodique a été suivie par Bartels (1971) sur *Peperomia metallica* et par Vanden Driessche et Hars (1972 a et b) sur *Acetabularia*. Dans les deux cas, les résultats sont concordants: à mesure que l'amidon ou les granules polysaccharidiques s'accumulent pendant la phase lumineuse, le système granaire (ou pseudo-granaire) se disperse et les grana deviennent moins épais; la phase obscure correspond à une restructuration des grana. Le stroma du chloroplaste, tout au moins chez *Acetabularia*, présente aussi des variations de granulosité. Il apparaît donc que l'ultrastructure chloroplastique est sujette à une modulation circadienne de son organisation.

Il est à la fois curieux et paradoxal qu'aucune étude de ce genre n'ait eu pour objet le passage d'un cycle photopériodique à un autre, notamment s'il est inducteur de la floraison (effet de transfert, Cheuvart, 1954). Un tel système expérimental est pourtant d'un grand intérêt puisqu'il permet de suivre à la fois l'adaptation du chloroplaste aux nouvelles conditions qui lui sont imposées et comment s'instaure l'état induit chez les plantes photopériodiques. C'est pourquoi, afin de combler partiellement cette lacune, nous avons entrepris une étude quantitative de l'ultrastructure du chloroplaste d'épinard au cours d'un cycle photopériodique court (8 heures de lumière, 16 heures d'obscurité) et lors des 48 premières heures d'induction de la floraison par un transfert en photopériode continue.

Nous avons recouru à l'analyse factorielle en composantes principales, une technique d'analyse statistique multivariée qui est en voie de trouver une place de choix en biologie quantitative (Ricard 1957; Ricard et Cocordano 1964; Buis 1967, 1974). Cette méthode permet, à partir d'un ensemble multivariable, en l'occurrence un ensemble de paramètres chloroplastiques, de faire ressortir un certain nombre de caractéristiques intrinsèques fondamentales permettant de dégager un certain nombre de facteurs expliquant les liaisons entre variables (Buis et Phipps 1972).

Après avoir caractérisé le chloroplaste à un moment donné du cycle photopériodique sous forme d'un système de relations, nous en suivrons les modifications au cours du temps. Dans une seconde étude, nous aborderons les effets d'une perturbation expérimentale: le changement de photopériode.

Matériel et méthodes

a) *Matériel*: *Spinacia oleracea*, variété Nobel, est cultivé dans le Phytotron du Laboratoire sur un mélange composé de 2/3 de terreau de feuilles et 1/3 de terre fraîche. L'intensité de l'éclairage est de 4000 lux à la surface des pots (tubes fluorescents Sylvania „daylight“. 40 W); la température est maintenue constante: 22°C, et le degré d'hygrométrie est égal à 70% de la saturation.

La photopériode est de 8 heures, allant de 08 heures à 16 heures.

b) *Echantillonnage*: Après 4 semaines de jours courts, l'épinard a formé 4 à 6 feuilles disposées en rosette. Nous avons négligé les feuilles les plus âgées et les plus jeunes, pour n'utiliser que des feuilles „moyennes“, c'est-à-dire encore en croissance active, mais déjà capables de percevoir le stimulus lumineux inducteur (Bonzon 1975).

A chaque temps de prélèvement, soit 12 h et 16 h (milieu et fin de la phase lumineuse) et 24 h et 08 h (milieu et fin de la phase obscure), deux plantes sont prélevées au hasard sur la surface de culture. Une bande de 5 mm de largeur est découpée dans la zone médiane de chacune des feuilles moyennes, perpendiculairement à la nervure centrale.

c) *Microscopie électronique*. Les bandes foliaires sont infiltrées sous vide à la glutaraldéhyde 6% dans du tampon phosphate à pH 7.8, puis post-fixées à l'OsO₄ 1%. Après déshydratation, l'enrobage est fait dans le l'Epon 812 (Fluka). La polymérisation dure 24 heures à 60° C.

Les coupes sont faites à l'aide d'un ultramicrotome Porter-Blum (Sorvall), perpendiculairement au grand axe des bandes foliaires. Leur coloration est double: acétate d'uranyle et citrate de plomb selon Reynolds (1963). L'observation est faite sur un microscope Hitachi à un grossissement original de 10'000 fois.

d) *Variabilité*. Les chloroplastes ont été observés à plusieurs niveaux de coupe entre la nervure centrale et le bord de la feuille, afin de donner une image représentative de l'ensemble du limbe. Cependant, à cette variabilité totale, s'en ajoute une autre, inhérente à toute étude ultrastructurale quantitative, due au niveau de coupe dans les chloroplastes: il est en effet impossible d'être constamment dans un plan sagittal médian. Afin de réduire cette cause d'erreur, dont l'effet peut être important puisqu'il s'agit de mesurer des dimensions, et afin d'avoir une vue caractéristique avec une distribution statistique satisfaisante pour un temps donné, nous avons considéré des échantillons de taille importante (80 chloroplastes).

L'expérience étant unique, nous avons vérifié la reproductibilité de nos résultats en effectuant, à une semaine d'intervalle, un second sondage à 08 heures (fin de la nuit). L'examen des structures factorielles n'a révélé que quelques différences mineures entre les deux échantillons.

e) *Les paramètres ultrastructuraux*. Nous avons choisi 7 paramètres pouvant être aisément mesurés ou dénombrés. La *longueur* (1) et la *largeur* (2) sont mesurées directement sur les négatifs des micrographies et exprimées en microns.

Tous les autres paramètres ont été dénombrés sur des agrandissements photographiques. Le *nombre des grana* (3) par chloroplaste a été déterminé en considérant que tout accollement de deux thylakoïdes constitue un granum (Prioul et Bourdu 1968). Le *nombre de thylakoïdes par granum* (4) est une valeur moyenne approximative du fait que, sur certains clichés, il est impossible de les compter tous, le plan de coupe n'étant pas perpendiculaire aux grana. Nous avons nommé *faisceau intergranulaire* (5) une suite de thylakoïdes primaires (intergranulaires) et secondaires (granaires) qui traverse toute la longueur du chloroplaste sans trop se ramifier.

Enfin, le *nombre des grains amyloïdes* (6) et le *nombre des plastoglobuli* (7), ou granules osmiophiles, est déterminé sans difficulté.

f) *Méthode mathématique* (cf. Buis 1974, par exemple). L'analyse factorielle se propose d'exprimer toute variable z_j en fonction d'un certain nombre d'éléments indépendants appelés *facteurs* ou *composantes*. Le modèle mathématique simplifié (*) est:

$$z_j = \sum_m a_{jm} F_m$$

Les grandeurs a_{jm} (saturation) représentent la quantité du facteur m intervenant dans le déterminisme de la variable j , donc dans l'explication de sa variabilité. En pratique, cette méthode revient à analyser l'ensemble des coefficients de corrélation de toute paire de variables (j, k), sachant que:

$$r_{jk} = \sum_m a_{jm} a_{km}$$

(*) Nous n'explicitons pas ici l'indice de l'individu, notre travail se proposant l'étude des liaisons entre variables plutôt que celles des relations entre individus.

Nous avons utilisé la méthode dite d'„analyse en composantes principales“. Dans notre démarche, les paramètres ultrastructuraux sont considérés comme faisant partie d'un tout, c'est-à-dire „s'intégrant dans un ensemble unitaire capable d'autorégulation“ (Buis 1967). On voit donc que le problème revient essentiellement à la mise en évidence des facteurs intrinsèques exerçant une influence déterminante sur le contrôle des relations entre les différents paramètres chloroplastiques. Une série d'analyses, faites chacune à un instant donné du cycle photopériodique, permettra de saisir l'évolution de ces relations au cours du temps.

Les résultats de l'analyse factorielle peuvent être „visualisés“ par des *structures factorielles*, représentation des variables par rapport à un référentiel défini par toute paire de facteurs pris deux à deux. De cette façon, il est possible de mettre aisément en évidence les liens entre les variables, leur disposition relative les unes par rapport aux autres, leurs affinités ou leurs antagonismes, etc. L'interprétation se fait à partir du postulat qu'„aux particularités de structure mathématique doivent nécessairement correspondre des particularités de nature biologique, également fondamentales“ (Buis 1967).

Résultats

A. Caractéristiques générales

Sur le tableau I, donné à titre d'exemple, figurent la matrice des corrélations entre variables, la matrice des saturations en composantes principales et les communautés (carré des saturations) à 08 heures (fin de la nuit). Les coefficients de corrélation sont relativement faibles. Il en est de même aux autres temps d'observation, ce qui constitue, évidemment, une situation peu favorable. Nous constatons néanmoins que les trois premières composantes principales permettent d'expliquer 60% de la variance totale et que les saturations sur la quatrième composante sont relativement faibles. Aux autres temps d'observation, le pourcentage de variance expliquée par les trois premières composantes est supérieur, puisqu'il est compris entre 69 et 77%. Les communautés, qui expriment le degré d'explication des variables par les composantes, permettent de constater que, d'une façon générale, les trois premières composantes rendent moins bien compte des variables du stroma chloroplastique (amidon et plastoglobuli) que les autres paramètres.

Tableau I:

Analyse factorielle en composantes principales d'un ensemble de 7 variables ultrastructurales du chloroplaste d'épinard soumis à des jours courts de 8 heures. Matrices des corrélations et des saturations et communauté de chaque variable à 8 heures du matin (fin de la nuit).

	Matrice des corrélations							Composantes principales							Communautés			
	1	2	3	4	5	6	7	I	II	III	IV	V	VI	VII	I-III	I-IV	I-V	I-VI
1	1.000	-0.077	0.131	0.057	0.065	-0.100	0.192	0.040	-0.714	0.421	-0.111	0.489	-0.157	0.189	0.689	0.701	0.940	0.965
2		1.000	0.358	0.012	0.302	0.271	0.038	0.681	0.153	-0.028	-0.511	-0.265	-0.069	0.419	0.488	0.749	0.819	0.824
3			1.000	-0.241	0.163	0.060	0.102	0.567	-0.391	-0.416	-0.416	0.072	-0.016	-0.417	0.647	0.820	0.826	0.826
4				1.000	-0.073	-0.088	-0.085	-0.290	0.219	0.716	-0.508	-0.171	-0.002	-0.026	0.645	0.903	0.932	0.932
5					1.000	0.452	0.119	0.729	0.123	0.334	0.202	0.190	0.514	-0.035	0.658	0.699	0.740	1.000
6						1.000	0.019	0.648	0.411	0.221	0.322	0.132	-0.468	-0.145	0.633	0.737	0.754	0.973
7							1.000	0.244	-0.601	0.244	0.349	-0.629	-0.037	-0.048	0.480	0.602	0.998	0.999
	% de variance totale expliquée					par composante		26.9	18.3	15.4	13.9	11.3	7.4	6.8				
						somme			45.2	60.6	74.5	85.8	93.2	100.0				

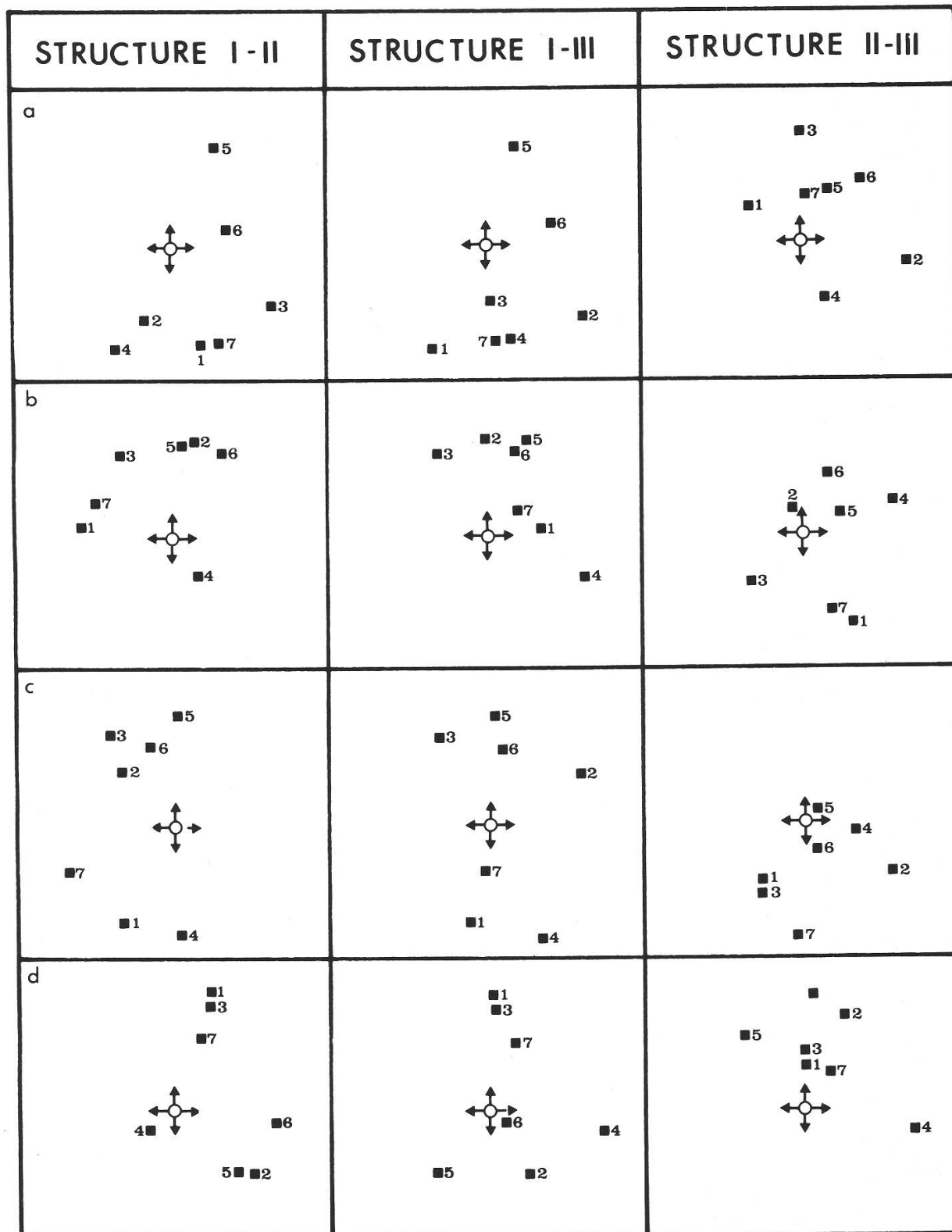


Fig. 1:

Structures factorielles des 7 paramètres ultrastructuraux du chloroplaste d'épinard soumis à des jours courts de 8 heures. Seules les trois premières composantes principales sont prises en considération.

1: longueur, 2: largeur, 3: nombre de grana, 4: nombre de thylakoïdes par granum,
 5: nombre de faisceaux intergranaires, 6: nombre de grains d'amidon, 7: nombre de plastoglobuli.
 a: 24 heures (milieu de la phase obscure); c: 12 heures (milieu de la phase lumineuse);
 b: 08 heures (fin de la nuit); d: 16 heures (fin de la phase lumineuse).

Les structures factorielles (fig. 1) permettent de dégager, d'une part, certaines associations de variables et, d'autre part, quelques antagonismes entre ces groupements et des variables isolées.

Les *associations de variables* sont constituées, de façon générale, par des groupements contenant au moins une variable représentative des dimensions du chloroplaste (1 ou 2), une variable que l'on peut qualifier de „granaire“ (3, 4 ou 5) et une variable du stroma (réserve ou „remplissage“; 6 ou 7). Les variables d'un même groupement sont évidemment liées par une certaine communauté factorielle, c'est à dire une relation d'affinité (Buis et Phipps 1972).

Les *antagonismes*, qui changent de nature au cours du temps, peuvent être distingués les uns des autres soit par la nature des variables présentes à chaque pôle, soit par l'intensité de l'opposition (distance entre les pôles antagoniques). Certaines constantes apparaissent toutefois d'une façon assez générale:

- un antagonisme entre les deux dimensions;
- un antagonisme entre un groupe de variables contenant l'une des dimensions et un autre formé par des variables granaires;
- un antagonisme entre variables granaires ou stromatiques.

Il importe maintenant d'examiner en détail comment se présentent exactement ces caractéristiques générales au cours du cycle photopériodique, ce qui reviendra à expliciter l'évolution temporelle des relations intra-chloroplastiques. Afin de faciliter cette approche, nous allons utiliser la structure factorielle la plus simple comme point de référence, soit celle de 08 heures. Elle laisse, en effet, mieux ressortir l'organisation intrinsèque du chloroplaste. Cette particularité est vraisemblablement liée au fait que la nuit a permis une réorganisation du système lamellaire.

B. Structure factorielle du chloroplaste à 08 heures (fig. 1b)

Nous allons décrire les trois premières composantes et les actions élémentaires qu'elles recouvrent selon leur ordre d'extraction.

La première composante principale groupe la largeur, le nombre des faisceaux intergranaires et l'amidon (2-5-6) pour les opposer à l'épaisseur des grana (4). Elle représente donc une balance entre les éléments ultrastructuraux responsables de la largeur du chloroplaste et constitue un *facteur de „structure en largeur“*.

La deuxième composante est caractérisée par un léger antagonisme entre les dimensions du chloroplaste, le pôle le plus net étant défini par la longueur à laquelle s'associent les plastoglobuli. Si l'antagonisme avec la largeur est faible dans ce cas, il est très marqué à 16 heures, par exemple. Cette composante peut donc être considérée comme un *facteur de forme ou de conformation*.

La troisième composante oppose de façon très nette le nombre des grana et leur épaisseur. Elle représente un antagonisme entre la croissance et la différenciation des grana. Nous la considérerons comme un *facteur granaire*.

Signalons que la quatrième composante correspond à un antagonisme entre le stroma (plastoglobuli et amidon) et les structures granaires.

C. Evolution de la structure factorielle au cours du cycle photopériodique.

La description qui vient d'être donnée de la structure factorielle de 08 heures peut aisément être reconnue à 24 heures, à l'ordre d'extraction des facteurs près. En effet, le facteur de forme et le facteur granaire sont inversés, le facteur de structure en largeur correspondant à la première composante extraite, c'est-à-dire constituant l'élément essentiel de la vie du chloroplaste à 24 heures.

En revanche, durant la période lumineuse, ces trois actions élémentaires sont moins faciles à identifier du fait qu'une même composante exerce plusieurs d'entre elles. A 12 heures, notamment, l'antagonisme longueur-largeur est superposé aux actions granaires. Cette particularité se retrouve, de façon moins nette, à 16 heures.

La plus grande complexité des structures factorielles de jour peut s'expliquer en admettant que l'action de la lumière entraîne une plus grande interdépendance des variables, réduisant une certaine part spécifique de leur déterminisme.

Malgré cette difficulté, nous allons dégager un schéma des caractéristiques du jour court en nous fondant sur l'évolution des trois actions élémentaires identifiées précédemment.

D. Schéma évolutif du jour court.

1. La forme du chloroplaste.

L'antagonisme longueur-largeur, qui détermine la forme du chloroplaste, *varie au cours du temps* dans son intensité. En étant minimum à la fin de la nuit et maximum à la fin du jour, on pourrait penser que cette opposition traduit, en première approximation, une balance mécanique entre un gonflement diurne (action sur la largeur) sous l'effet de l'accumulation de l'amidon et un allongement nocturne, passif, résultant de la diminution des granules amylofères.

Cependant, l'examen de l'évolution des moyennes des dimensions (fig. 2) et du contenu en amidon (fig. 3) montre qu'il n'y a pas de synchronisme avec l'antagonisme factoriel longueur-largeur. Ce facteur de forme ne saurait donc être lié au seul rythme nyctéméral du gonflement du chloroplaste. La position du nombre des faisceaux intergranaires (5) laisse supposer que ceux-ci sont associés au gonflement diurne, mais ne permet pas une explication satisfaisante de ce phénomène. Les variables ultrastructurales que nous avons choisies ne sont donc pas adéquates pour justifier ou expliquer les variations de forme du chloroplaste. Il est vraisemblable que ces dernières sont sous la dépendance de phénomènes osmotiques et électrochimiques auxquels sont associés des changements de perméabilité membranaire.

2. La structure en largeur.

L'antagonisme entre l'épaisseur des grana et le nombre des faisceaux intergranaires qui caractérise cette morphologie est maximum à 24 heures et plus faible, avec cependant des variations, le reste du temps. L'analyse des moyennes (fig. 4) révèle que l'opposition entre ces deux paramètres est maximale à 08 heures, soit quatre heures plus tard.

Il est possible que l'analyse factorielle mette ainsi en évidence une perturbation ou une modification des relations entre ces paramètres *avant* que ne se révèlent leurs effets au niveau des moyennes.

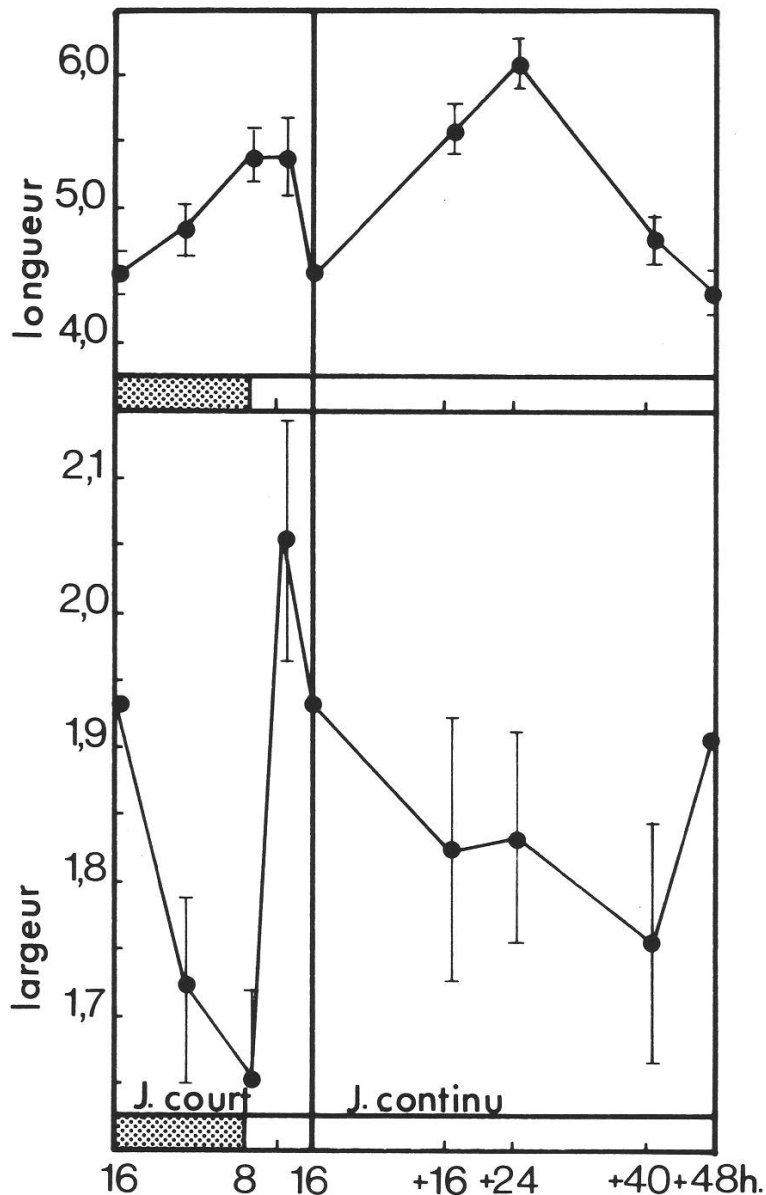


Fig. 2:

Evolution de la longueur et de la largeur moyennes du chloroplaste (exprimées en microns) au cours du jour court de 8 heures et lors des 48 premières heures du transfert inducteur de la floraison en photopériode continue.

3. Les grana.

L'opposition entre le nombre des grana et leur épaisseur est maximale la nuit et minimale le jour. Cette influence dépend donc directement des conditions d'éclairage et contraste fortement avec l'autre action granulaire décrite plus haut sous 2.

L'ensemble des structures granaires est donc soumis à deux actions bien différentes, tant par la nature des paramètres mis en cause (nombre des grana ou nombre des faisceaux intergranaires s'opposant à l'épaisseur des grana) que par leur dépendance vis-à-vis de la photopériode.

4. Remplissage du chloroplaste.

S'il n'y a pas de facteur commun représentatif du stroma, il faut souligner, comme le montrent les communautés, l'intervention de facteurs spécifiques pour l'amidon et les plastoglobuli. Ces deux variables jouent donc un rôle particulier dans la vie du

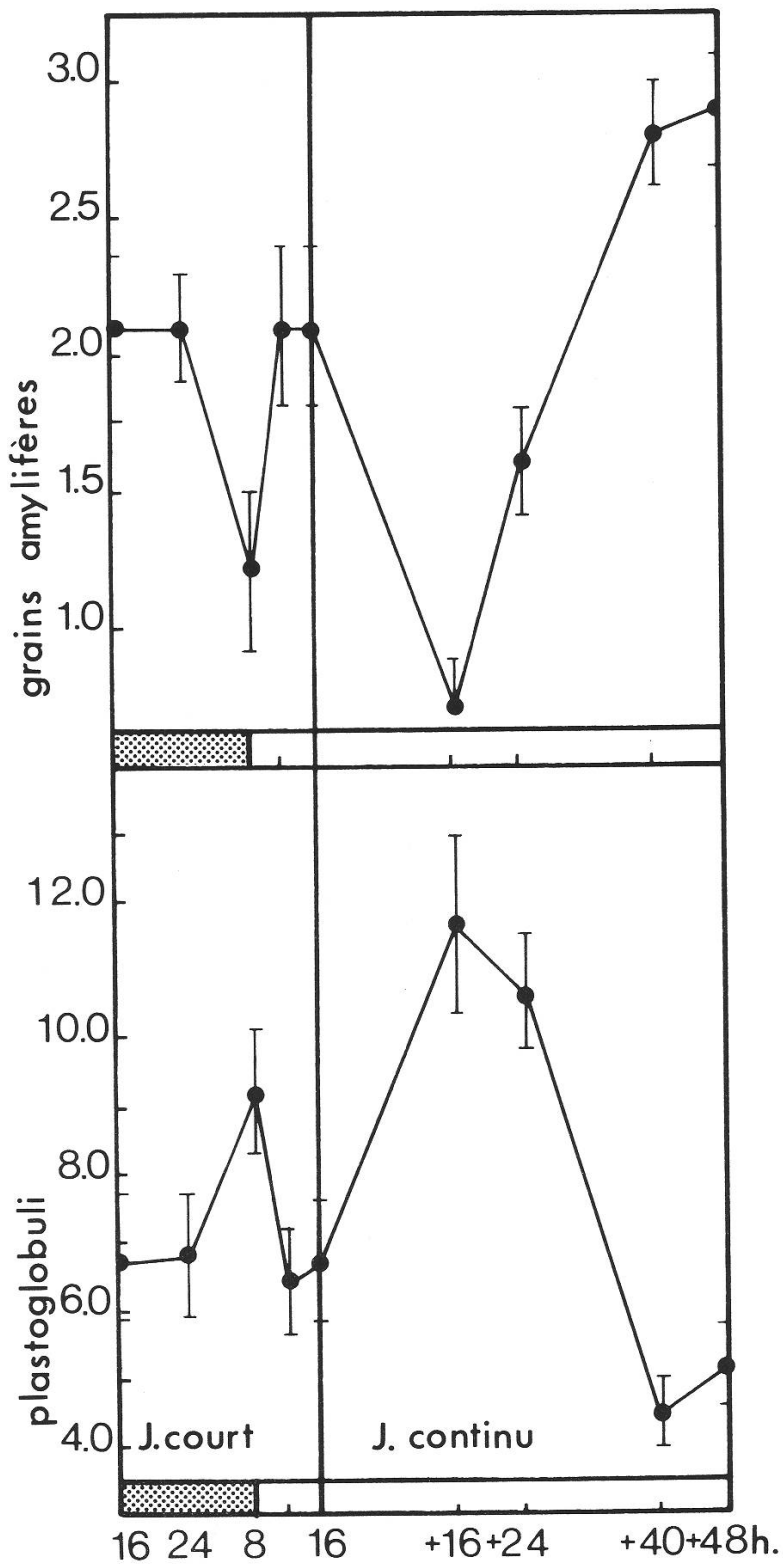


Fig. 3:

Evolution du nombre moyen de grains amylières et de plastoglobuli par chloroplaste au cours du jour court de 8 heures et lors des 48 premières heures du transfert inducteur de la floraison en photopériode continue.

chloroplaste soumis à des jours courts. L'amidon est associé à la largeur dès 08 heures et jusqu'à 16 heures. A 24 heures, il l'est au nombre des grana. Pour leur part, les plastoglobuli sont toujours fortement saturés sur l'une des composantes, en association avec la longueur et le nombre des grana; à 12 heures, la largeur s'adjoint à ce groupement. C'est à ce moment que s'observe un fort accroissement de l'amidon.

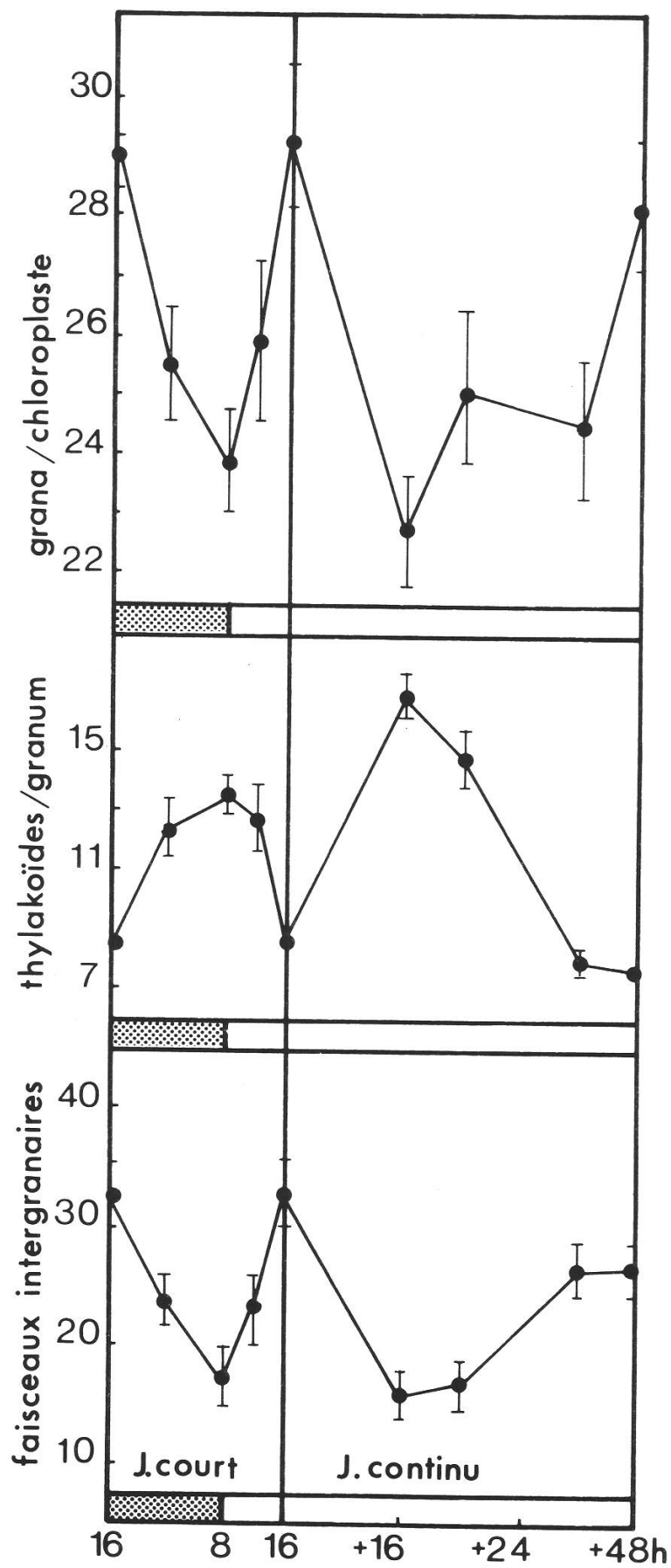


Fig. 4:
Evolution du nombre moyen de grana, de thylakoïdes par granum et de faisceaux intergranaires au cours du jour court de 8 heures et lors des 48 premières heures du transfert inducteur de la floraison en photopériode continue.

Conclusion

L'évolution de l'ultrastructure du chloroplaste d'épinard en jour court, telle qu'elle peut être perçue en ne considérant que les moyennes des paramètres envisagés (figs 2 à 4) est tout à fait comparable à celle de *Peperomia metallica* (Bartels 1971). Toute l'ultrastructure chloroplastique est donc sujette à une modulation rythmée liée aux variations de l'activité photosynthétique et de l'accumulation de ses produits. L'alternance des jours et des nuits joue nettement le rôle de synchroniseur („Zeitgeber“) et il est possible de tenir pour certain que ces variations se répètent d'un cycle à l'autre.

L'analyse factorielle en composantes principales a été appliquée de façon „transversale“, c'est-à-dire que nous avons examiné notre phénomène à chaque temps de prélèvement, puis comparé entre elles les structures factorielles des divers prélèvements. Cette démarche, bien que ne permettant pas une vue globale aisée, offre néanmoins la possibilité de suivre l'évolution des relations entre les paramètres chloroplastiques; les modifications des affinités et des antagonismes révèlent ainsi les changements d'état et les influences subies par le chloroplaste.

L'ordre d'extraction des facteurs que nous avons identifiés est un point essentiel, puisqu'il correspond à un pourcentage de variance expliquée de plus en plus faible, c'est-à-dire à une hiérarchie réelle de l'importance des facteurs. En occupant des rangs différents au cours du temps, les actions élémentaires auxquelles sont soumis les chloroplastes révèlent ainsi leur intensité relative par rapport à l'organisation générale de l'ultrastructure. En outre, les variations temporelles des antagonismes factoriels, en ne suivant pas nécessairement les fluctuations des paramètres eux-mêmes, permettent parfois d'anticiper les effets de ceux-ci. Ces deux éléments d'analyse ont permis de mettre en évidence l'importance des structures granaires par le rôle du facteur dit de „structure en largeur“ et du facteur „granaire“. En effet, les structures granaires sont soumises à deux influences qui se manifestent tant par la nature des paramètres mis en cause que par leur dépendance vis-à-vis de la photopériode. Ces deux influences contribuent aux oscillations de la *balance organisation versus désorganisation de l'ultrastructure chloroplastique*.

Le paramètre le plus curieux, peut-être parce que le moins bien défini par rapport aux autres, est la *longueur*. Cette variable voisine avec diverses autres au cours du temps, seuls les plastoglobuli lui étant fidèlement associés.

Notons enfin que notre choix de variables n'est pas des plus adéquats pour expliquer toutes les réactions mises en évidence, particulièrement en ce qui concerne la structure en largeur du chloroplaste. Ce fait est regrettable car ce facteur est important tout au long du jour court: il semble jouer un rôle d'intégration entre les problèmes de dimension et les problèmes d'organisation granaire. De lui pourrait dépendre le type d'activité de la photosynthèse en fonction des arrangements granaires et du volume disponible pour l'accumulation de ses produits.

Le schéma évolutif que nous venons de dégager doit, pour trouver sa pleine justification, être confronté à une perturbation expérimentale: le transfert, inducteur de la floraison, en photopériode continue. Les différences mises en évidence seront l'image mathématique des événements ultrastructuraux, donc biologiques, reflétant à la fois le changement de photopériode et l'induction de la floraison.

Résumé

En jours courts de 8 heures, durant lesquels l'épinard reste à l'état végétatif, les chloroplastes foliaires présentent une modulation rythmée de leur ultrastructure. L'analyse factorielle en composantes principales de 7 paramètres ultrastructuraux aisément quantifiables (longueur, largeur, nombre de grana, nombre de thylakoïdes par granum, nombre de faisceaux intergranaires, nombre de grains d'amidon et nombre de plastoglobuli) permet, par les affinités et les antagonismes qu'elle met en évidence entre les variables, d'expliquer, tout au moins en partie, les actions responsables des variations circadiennes observées. En suivant l'évolution des composantes principales identifiées, soit, respectivement, un facteur de conformation, un facteur de structure en largeur, un facteur granaire et un facteur de remplissage, il est possible d'élaborer un schéma factoriel du jour court dont les caractéristiques essentielles reposent sur l'importance attribuées aux structures granaires. Celles-ci sont soumises à deux influences, l'une fondée sur l'opposition entre le nombre et l'épaisseur des grana (maximum à l'obscurité), l'autre définie par l'opposition entre l'épaisseur des grana et le nombre des faisceaux intergranaires. Ces deux influences contribuent aux oscillations de la balance organisation versus désorganisation de l'ultrastructure chloroplastique. Le facteur de „structure en largeur“ semble jouer un rôle d'intégration entre les problèmes de dimension et les problèmes d'organisation granaire.

Zusammenfassung

Faktorenanalyse der Ultrastruktur von Spinatchloroplasten im vegetativen und blühenden Stadium.

I. Kurztag von 8 Stunden (vegetatives Stadium).

Im Kurztag von 8 Stunden bleibt Spinat im vegetativen Stadium; die Chloroplasten zeigen tägliche Veränderungen ihrer Ultrastruktur. Die Faktorenanalyse in Hauptkomponenten von sieben einfach bewertbaren ultrastrukturellen Parametern (Länge, Breite, Zahl der Grana, Zahl der Thylakoiden pro Granum, Zahl der Intergranalbündel, Zahl der Stärkekörner und der Plastoglobuli) erlaubt, die Ursachen dieser Veränderungen wenigstens teilweise zu erklären. Verfolgt man die Entwicklung der Hauptkomponenten (einen Faktor der Breitenstruktur, einen Grana-Faktor und einen Faktor des Chloroplasteninhalts), lässt sich ein Faktorenschema ausarbeiten, das vor allem auf der den Strukturen der Grana zugemessenen Bedeutung beruht. Diese Strukturen werden durch den Gegensatz zwischen Zahl und Dicke der Grana und durch den Gegensatz zwischen der Dicke der Grana und der Zahl der Intergranalbündel beeinflusst. Diese Einflüsse tragen zu den Schwankungen zwischen Organisation und Desorganisation der Ultrastruktur der Chloroplasten bei. Der Faktor der Breitenstruktur dürfte eine integrierende Rolle spielen zwischen den Problemen der Dimension der Chloroplasten und den Problemen der Organisation der Grana.

Summary

Factor Analysis of Spinach Chloroplast Ultrastructure in Vegetative and Floral State.

I. Short Days of 8 Hours (Vegetative Conditions).

During short days of 8 hours, which maintain spinach plants in a vegetative state, leaf chloroplasts show daily changes in their ultrastructure. Factor analysis in principal components of seven ultrastructural parameters (length, width, number of grana, number of thylakoids per granum, number of inter-granal bundles, number of starch grains and number of plastoglobuli) permits one to analyse the affinities and the antagonisms between these variables and to determine the influences upon which circadian fluctuations are dependent. By following the evolution of the three first principal components, which were identified as a factor of structure in width, a granal factor and a chloroplast content factor, it is possible to construct a factorial scheme of the short day, a scheme mainly based on the importance given to granal parameters. These parameters are dependent on two distinct influences, one being based on the opposition between the number of grana and the number of thylakoids per granum, the other being defined by the opposition between grana thickness and the number of inter-granal bundles. These two influences contribute to the oscillations of the balance of organization vs desorganization of the chloroplast ultrastructure. The factor of structure in width seems to play an integrative role between the problems of dimensions and the problems of granal organization.

Bibliographie

- Bartels F. 1971. Strukturelle Veränderungen der Chloroplasten-Thylakoide in Palissadenzellen von *Peperomia metallica* im Licht-Dunkelwechsel. *Protoplasma* 72, 27–41.
- Björkman O., N.K. Boardman, J.M. Anderson, S.W. Thorne, D.J. Goodchild and N.A. Pyliotis 1972. Effect of light intensity during growth of *Atriplex patula* on the capacity of photosynthetic reactions, chloroplast components and structure. *Carnegie Inst. Year Book* 71, 115–121.
- Bonzon M. 1975. Etude du chloroplaste d'épinard (*Spinacia oleracea*, var. Nobel) avant et après l'induction florale. Thèse no 1696. Université de Genève.
- Brangeon J. 1973. Effect of irradiance on granal configurations of *Zea mays* bundle sheath chloroplasts. *Photosynthetica* 7, 365–372.
- Bronchart R., H. Firket et L. Simar 1964. Ultrastructure du chloroplaste en fonction de la photopériode chez le *Perilla nankinensis* (Lour.) Decne. (Labiées). *C.R. Acad. Sc. Paris* 259, 4099–4101.
- Buis R. 1967. Recherches factorielles sur la régulation de la croissance de l'hypocotyle de Lupin (*Lupinus albus* L.). *Physiol. vég.* 5, 1–36.
- 1974. L'Analyse factorielle: ses principes, sa place dans la Biologie quantitative de la croissance et du développement. *Physiol. vég.* 12, 467–487.
- et J. Phipps 1972. Etude physiologique de quelques activités oxydasiques de la feuille de Tabac. II. Esquisse d'un schéma factoriel. *Physiol. vég.* 10, 51–73.
- Cheuvar C. 1954. Expériences sur le développement de *Cannabis sativa* L. (sexualité et pigments foliaires) à température constante et sous différents régimes de photopériodisme. *Bull. Acad. Roy. Belg. Cl. Sc.* 40, 1152–1168.

- Goodchild D.J., O. Björkman and N.A. Pyliotis 1972. Chloroplast ultrastructure, leaf anatomy, and content of chlorophyll and soluble protein in rainforest species. *Carnegie Inst. Year Book* 71, 102–107.
- Hirschauer M., A. Reyss, C. Sarda et R. Bourdu 1971. Effects of photoperiods on the development of chloroplast lamellae of *Lolium multiflorum*. *Proc. IInd Congr. Photosynth.* (Forti and al., eds), vol. 3. 2521–2525, Junk Publishers, The Hague.
- Prioul J.-L. et R. Bourdu 1968. Utilisation de l'analyse biométrique à l'étude de la dynamique des infrastructures chloroplastiques lors de la levée d'une carence en azote. *J. Microscopie* 7, 419–439.
- Reger B.J. and W. Kraus 1970. The photosynthetic response to a shift in the chlorophyll a to chlorophyll b ratio of *Chlorella*. *Plant Physiol.* 46, 568–575.
- Reynolds R. 1963. The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biol.* 17, 208–212.
- Ricard J. 1957. Recherches quantitatives sur la croissance du coléoptile de Graminées. Thèse, Paris.
- et M. Cocordano 1964. Biologie moléculaire de la croissance. II. Cinétique du grandissement cellulaire. *Physiol. vég.* 10, 51–73.
- Reyss A. et R. Bourdu 1971. Influence des héméroperiodes très courtes sur la croissance de *Lolium multiflorum*, sa composition pigmentaire et l'ultrastructure chloroplastique. *Planta* 97, 230–244.
- Sarda C., J.-L. Prioul et R. Bourdu 1974. L'infrastructure de *Lolium multiflorum* sous des photopériodes induisant la floraison: modifications de l'équilibre entre chloroplastes, mitochondries et peroxyosomes *C.R. Acad. Sc. Paris* 278, 723–726.
- Sironval C. 1967. In: *Le chloroplaste* (Sironval, ed.), Masson, Paris.
- Taylor A.O. and J.A. Rowley 1971. Plants under climatic stress. I. Low temperature, high light effects on photosynthesis. *Plant Physiol.* 47, 713–718.
- and S.A. Craig 1971. Plants under climatic stress. II. Low temperature, high light effects on chloroplast ultrastructure. *Plant Physiol.* 47, 719–725.
- Vanden Driessche T. et R. Hars 1972a. Variations circadiennes de l'ultrastructure des chloroplastes d'*Acetabularia*. I. Algues entières. *J. Microscopie* 15, 85–90.
- 1972b. Variations circadiennes de l'ultrastructure des chloroplastes d'*Acetabularia*. II. Algues anucléées. *J. Microscopie* 15, 91–98.

Marc Bonzon et Hubert Greppin
 Laboratoire de Physiologie végétale
 3, Place de l'Université
 CH-1211 Genève 4

Roger Buis
 Laboratoire de Biologie quantitative
 Ecole Nationale Supérieure Agronomique
 145, Avenue de Muret
 F-31 Toulouse