



## Fluorescence induite par l'ultraviolet dans le genre *Sphagnum*

**Yves GARNIER**

F-69550 CUBLIZE  
garnier Yvesbota@gmail.com

**Résumé.** Les plantes présentent des fluorescences variées lorsqu'elles sont exposées aux rayonnements ultraviolets. Dans la lumière du jour, ces fluorescences très faibles sont invisibles car masquées par la lumière intense réfléchie. Soumises à une excitation dans l'ultraviolet, les végétaux produisent de larges bandes spectrales de fluorescences d'intensités inégales.

Les pigments responsables de ces effets peuvent être sommairement classés en deux groupes :

- ceux qui participent aux métabolismes et à la structure de la plante ;
- ceux qui assurent la photoprotection contre les rayonnements trop intenses ou ultraviolets du soleil.

Dans le premier groupe, on peut détecter entre autres la fluorescence rouge et infrarouge entre 650 à 800 nm produite par la chlorophylle et celle bleue et verte entre 400 à 600 nm surtout produite dans les cloisons cellulaires. Dans le deuxième groupe, on trouve les pigments colorés présents dans les feuilles, les pétales des fleurs et dans le péricarpe des fruits comme l'anthocyane. Sous la lumière du jour, ces derniers pigments sont souvent capables de changer rapidement de couleur suivant le pH du milieu, ce qui permet de les mettre simplement en évidence par des réactifs acides ou basiques. Les fluorescences qui dépendent de l'organisation et de la composition biochimique des tissus végétaux peuvent fournir des images colorées complexes indicatrices des propriétés structurales et métaboliques d'une plante. Les sphaignes, avec leurs deux types de cellules spécialisées (chlorocystes et hyalocystes) disposées en mailles régulières et en couches souvent mono-strate dans leurs feuilles, ont montré, dans les conditions décrites ci-après, des images de fluorescences étonnamment spécifiques à certaines espèces.

**Abstract.** Plants exhibit various fluorescences when exposed to ultraviolet light. In daylight, these very weak fluorescences are invisible because they are masked by the intense reflected light. When subjected to ultraviolet excitation, plants produce broad spectral bands of fluorescences of unequal intensities.

The pigments responsible for these effects can be roughly classified into two groups:

- those who participate on the metabolisms and the structure of the plant;
- those who assure photoprotection against too intense or ultraviolet radiation from the sun.

In the first group, we can detect among others the red and infrared fluorescence between 650 to 800 nm produced by chlorophyll and the blue and green fluorescence between 400 to 600 nm, especially in the cell partitions. In the second group, we find the colorful pigments present in the leaves, the petals of flowers and in the pericarp of fruits such as anthocyanin. Under daylight, these latter pigments are often capable of rapidly changing color depending on the pH of the medium, which makes it possible to simply highlight them by acidic or basic reagents.

Fluorescences that depend on the organization and biochemical composition of plant tissues can provide complex colored images indicative of the structural and metabolic properties of

a plant. *Sphagnum* mosses, with their two types of specialized cells (chlorocysts and hyalocysts) arranged in regular meshes and often in mono-stratum layers in their leaves, have shown, under the conditions described below, images of fluorescence surprisingly specific to certain species.

**Mots clés :** Sphaignes, fluorescence, ultraviolet, photographie, détermination.

### Introduction

Quand on s'interroge sur les relations entre les plantes et la lumière, la photosynthèse, qui permet aux végétaux de se développer en transformant en glucides le gaz carbonique et l'eau, vient immédiatement à l'esprit. Mais en dehors de ce processus photochimique, il existe des propriétés biophotoniques qui participent entre autres au phototropisme, à la thermorégulation, à la protection contre les rayonnements trop intenses ou nuisibles et même à la production de signaux optiques particuliers destinés à attirer les pollinisateurs (Arnold *et al.*, 2010).

Ces mécanismes peuvent être extrêmement sophistiqués. C'est par exemple le cas de l'edelweiss (*Leontopodium nivale* subsp. *alpinum*) qui se protège avec un duvet unique formé de torons de nombreuses fibres iridescentes submicrométriques réfléchissant spécifiquement les rayons ultraviolets (Vigneron *et al.*, 2005). C'est aussi le cas de *Antennaria dioica* qui lutte contre l'excès de radiation solaire sur un sol dénudé par une pilosité très particulière formée de microrubans vrillés qui réfléchissent très efficacement les rayons infrarouges (Garnier, 2019).

De même les sphaignes, qui « blanchissent » quand elles sont soumises au stress hydrique, réduisent échauffement et évaporation par un mécanisme de rétraction cellulaire qui augmente fortement leur albédo (Daniels et Eddy, 1985). Les bryophytes sont des plantes aux structures plus simples que celles des plantes vasculaires et elles disposent *a priori* de moins de moyens pour interagir avec la lumière, cependant elles mettent en œuvre des pigments photosensibles particuliers qui sont parfois d'identification très récente (Berland *et al.*, 2019). Une des méthodes permettant de mettre en évidence ces pigments consiste à les soumettre aux rayons ultraviolets pour en étudier la répartition par fluorescence.

### 1/ Fluorescences sous excitation UV

La fluorescence rouge et infrarouge (IR) de la chlorophylle est une propriété utilisée de longue date car elle est en relation avec la photosynthèse et elle permet d'en mesurer les performances sans effet destructif sur la plante. Cette fluorescence rouge est faible car l'essentiel de l'énergie dans ces longueurs d'ondes est utilisé dans la photosynthèse et cette réémission est aussi réabsorbée partiellement. Elle ne représenterait au maximum que quelques centièmes de l'énergie lumineuse absorbée (Krause et Weis, 1991).

La fluorescence bleu-verte provient essentiellement de l'acide férulique estérifié lié aux polysaccharides des parois cellulaires (Hartley et Harris, 1981) – **Figures 1 et 2.**

## 2/ Prise de vue en fluorescence

La photographie de fluorescence consiste, dans l'obscurité, à exposer la plante à examiner à une source intense d'ultraviolet « UV A » (longueurs d'ondes comprises entre 315 à 400 nm ; **Figure 3**). Les groupements de LEDs (Light Emitting Diodes) rayonnant dans l'UV A permettent de remplacer à faible coût les lampes à décharge au mercure avec filtres de Wood utilisées par le passé (**Figure 4**). Un flash électronique dans lequel le verre de protection d'origine a été remplacé par un filtre HOYA U360 peut également être utilisé.

Ces sources d'UV ne sont pas parfaites car elles contiennent une part résiduelle importante de lumière bleue qui peut brouiller l'image de fluorescence en masquant les nuances de bleu, de vert et en transformant le rouge en violet. On peut utiliser un filtre jaune « passe bas » devant l'objectif de l'appareil photographique pour réduire ce rayonnement bleu parasite ou mieux utiliser un filtre passe haut UV ZWB2 (**Figure 15**) devant la source UV pour pouvoir observer une fluorescence pure, même dans le bleu.

En raison du faible niveau de lumière, une pose photographique de plusieurs secondes peut s'imposer avec l'utilisation d'un trépied pour éviter les flous de mouvements.

On peut aussi utiliser une paire de lunettes à verres jaunes pour permettre une observation directe et couper l'UV qui présente un réel danger pour les yeux en exposition directe.

## 3/ Observation des sphaignes

Des tests réalisés sur des sphaignes de différentes espèces montrent d'étonnantes fluorescences par excitation aux UV, fluorescences qui semblent considérablement varier suivant la section d'appartenance et même suivant le taxon examiné. Très spectaculaire sur des exemplaires vivants, ce phénomène se produit encore sur des exemplaires secs d'herbier ayant plusieurs années d'ancienneté.

Les premiers tests ont été réalisés sur des exemplaires secs (**Figure 5**).

*Sphagnum inundatum* présente une fluorescence verte intense (**Figure 8**).

Ces fluorescences sélectives en fonction des espèces pourraient constituer une aide complémentaire à la détermination, mais cette possibilité reste à préciser.

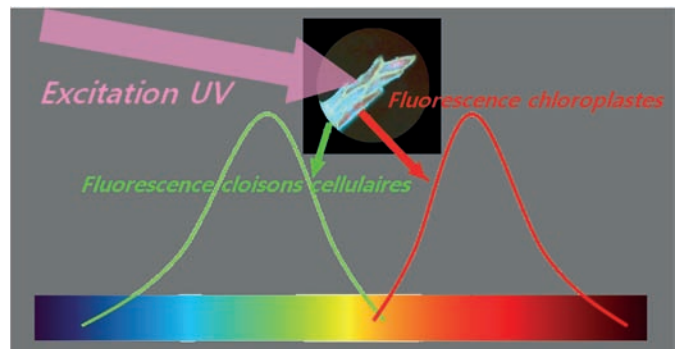
Vues au microscope et en coupe, les formes et positions précises des chlorocystes entre les cloisons des hyalocystes, par rapport à la surface externe ou interne des feuilles, constituent des caractères importants présents dans toutes les clés de détermination des sphaignes. Les cloisons cellulaires qui brillent dans le vert et les chloroplastes dans le rouge s'imbriquent donc suivant une architecture tissulaire propre à l'espèce et peuvent ainsi former des combinaisons de couleurs aux nuances spécifiques. La **figure 9** illustre cela à partir d'un dessin de maillage cellulaire de feuilles raméales (Dismier, 1927).

La remarquable fluorescence verte intense de *Sphagnum inundatum* dans toutes ses parties ne semble pas relever de ce phénomène et elle serait à comparer avec celle d'autres taxons proches dans la section *Subsecunda* comme *Sphagnum auriculatum*.

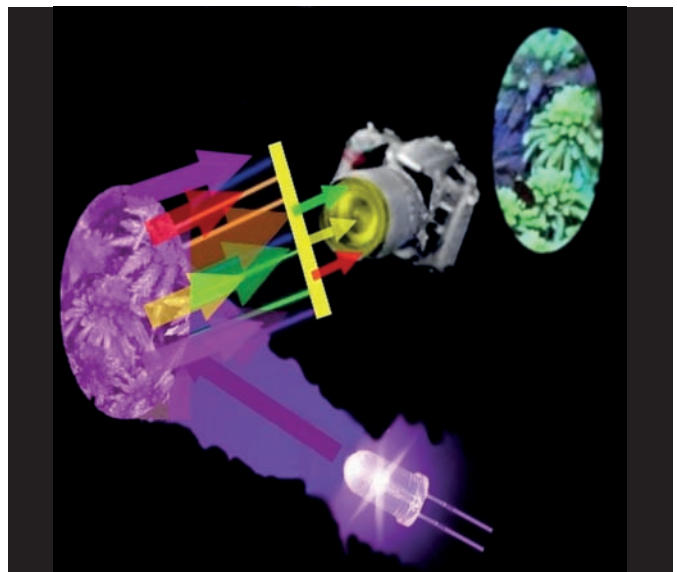
Ce peut être l'effet d'une forte concentration spécifique d'acide férulique dans ses cloisons cellulaires, mais il existe une autre hypothèse. Quand elle pousse au soleil, *Sphagnum inundatum* présente une coloration habituellement orange doré à « moutarde » et jaune-vert à « vert acidulé » quand elle pousse à l'ombre, ce qui pourrait être l'effet d'un pigment jaune particulier qui aurait aussi la propriété de fortement briller dans le vert sous excitation UV. Il appartient peut-être à la catégorie des pigments photoprotecteurs comme l'anthocyanine. L'anthocyanine pourrait être présente dans les sphaignes de la section *Acutifolia*, sphaignes prenant des nuances pourpres quand elles poussent exposées au soleil. Ces pigments sont facilement mis en évidence par une immersion dans une solution faiblement acide ou faiblement basique (Hill, 1976 ; Lane, 1978).



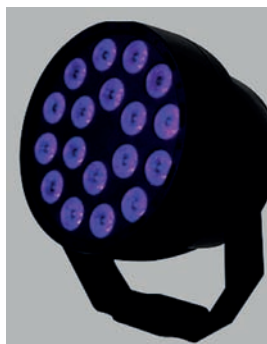
**Figure 1.** Exemples de fluorescences sur trois espèces de sphaignes ; © Y. GARNIER.



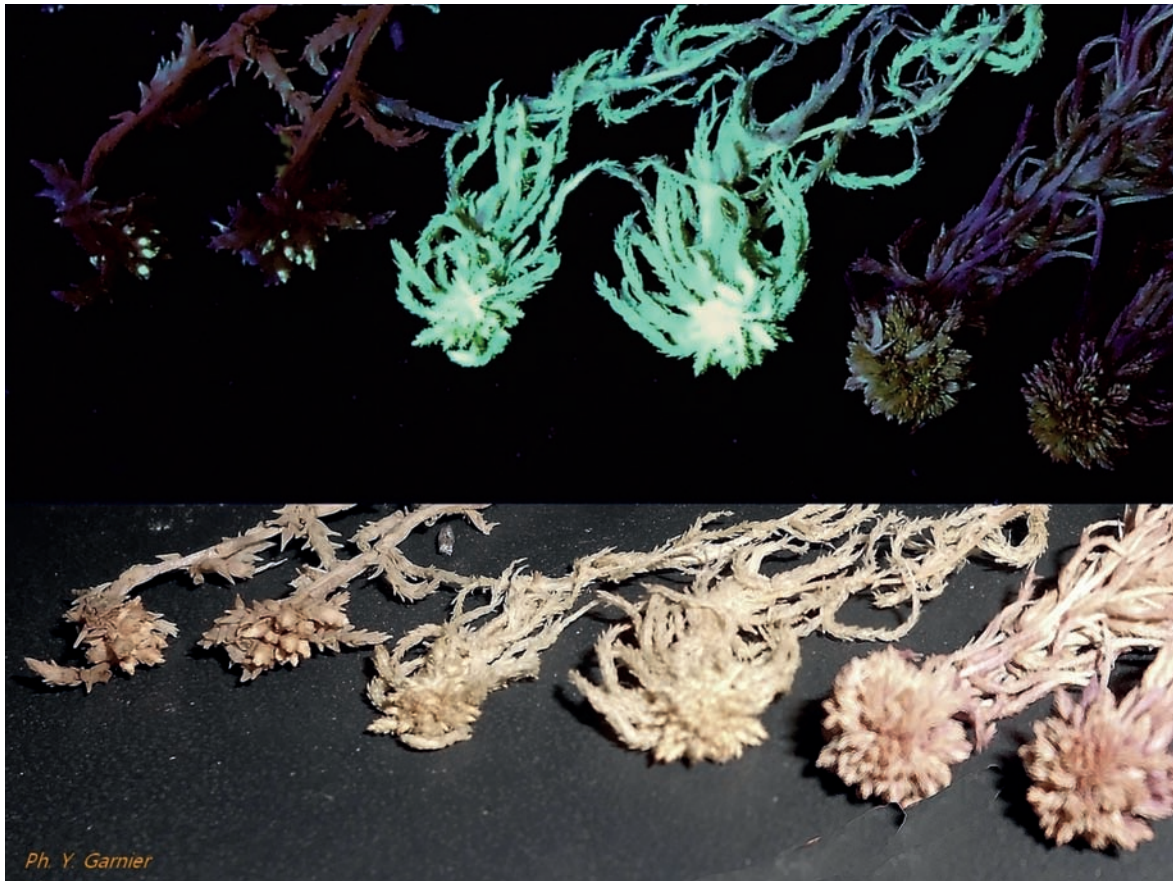
**Figure 2.** Double fluorescence par excitation UV sur l'extrémité d'une feuille de bryophyte. Composition « photofiltre » avec tracés personnels.



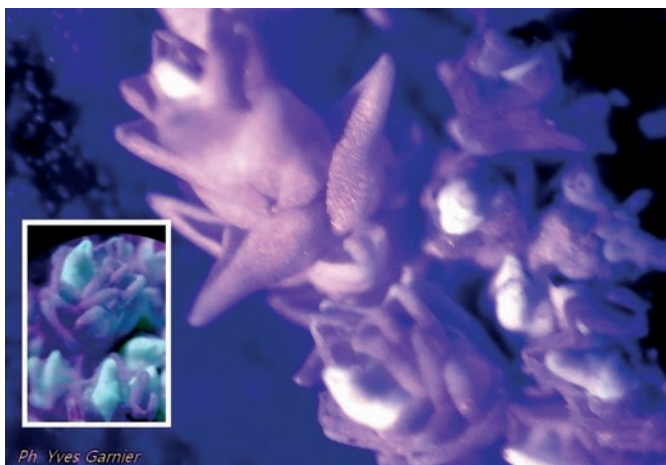
**Figure 3.** Principe de prise de vue en fluorescence ; composition « photofiltre » avec tracés personnels.



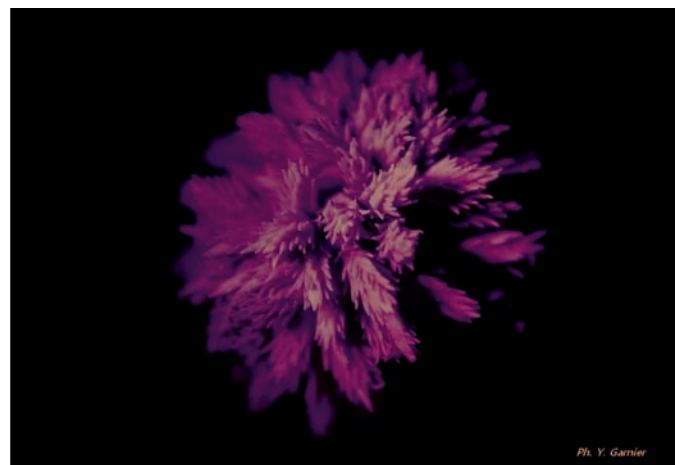
**Figure 4.** Exemple de source UV A à LEDs, notice du produit de marque « UZONE » type MS015-DE : 18 LEDs de 1 W.



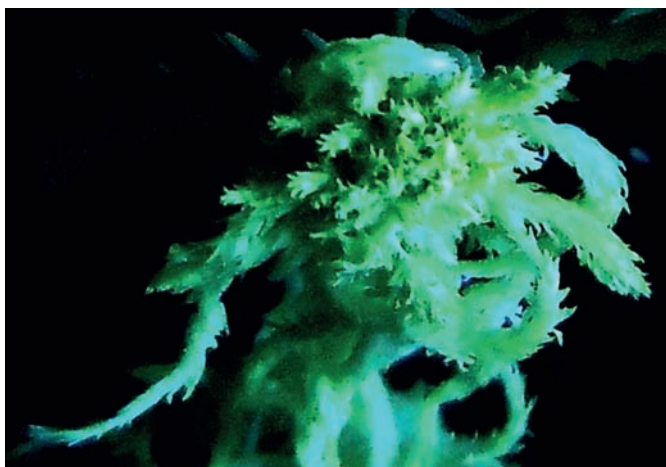
**Figure 5.** Comparaison entre des images produites par fluorescence UV induite (en haut) et par éclairage direct en lumière blanche (en bas) pour trois espèces de sphaignes séchées provenant d'un herbier : de gauche à droite *Sphagnum palustre*, *Sphagnum inundatum* et *Sphagnum capillifolium* ; © Y. GARNIER.



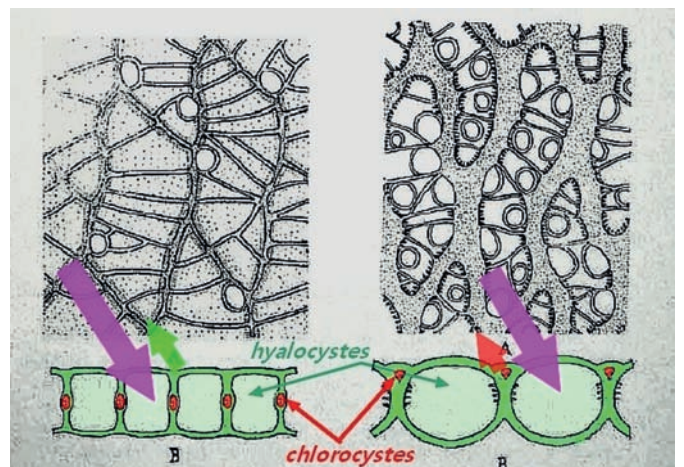
**Figure 6.** Fluorescence de *Sphagnum palustre* ; © Y. GARNIER.



**Figure 7.** Fluorescence de *Sphagnum capillifolium* ; © Y. GARNIER.



**Figure 8.** Fluorescence de *Sphagnum inundatum* ; © Y. GARNIER.



**Figure 9.** Feuilles raméales pour deux types de sphaignes, exemples de maillages cellulaires (d'après Dismier, 1927).

Une solution d'acide acétique dans l'eau distillée (pH 2,5) et une solution d'hydrogénocarbonate de sodium saturée (pH 10) montrent le passage de l'anthocyané du rouge au bleu (acide faible : 2/3 eau distillée + 1/3 vinaigre blanc 9° ; base faible : solution saturée de bicarbonate de soude dans l'eau distillée).

L'effet produit est très rapide et spectaculaire sur *Sphagnum capillifolium* et *Sphagnum quinquefarium* (Figure 10), alors que dans d'autres sections certaines sphaignes comme *Sphagnum palustre* ne montre aucune réaction de ce type, ce qui confirmerait l'absence de pigments photoprotecteurs dans cette espèce.

La fluorescence des pigments est également influencée par le pH entre un milieu très acide ou très basique (Figure 11).

Une campagne photographique est commencée afin d'évaluer les corrélations entre fluorescences, présence de pigments particuliers et espèces (Figures 12 et 13).

#### 4/ Exemple de comparaison entre espèces proches.

Des comparaisons entre des espèces très proches peuvent produire des différences de couleurs surprenantes. Dans le test suivant on a comparé les fluorescences entre des échantillons de *Sphagnum palustre* et de *Sphagnum papillosum*.

##### Conditions de prise de vue :

- sphaignes sèches posées à plat sur un support noir mat ;
- source UV constituée d'une LED de puissance NCSU276AT délivrant 750 mW dans l'UV 365 nm sous un angle de dispersion de 120° et placée à 50 cm au-dessus des sphaignes (Figure 14 : spectre d'émission) ;

- la LED est munie d'un filtre ZWB2 (UG1) pour supprimer totalement la lumière bleue (Figure 15 : courbe de bande passante) ;

- appareil photo Pentax K-x, réglage manuel à F8, 1/100 s, 6400 ASA, sans filtre, focale 35 mm.

*Sphagnum papillosum* produit une nette fluorescence bleu-vert alors que *S. palustre* produit une fluorescence verdâtre plus terne, probablement en raison de la position superficielle de ses chloroplastes (Figure 16).

Ce résultat pourrait confirmer la pertinence du procédé pour différencier sans microscopie ces deux espèces de sphaignes situées dans la même section et parfois visuellement très proches.

La distance des chloroplastes aux surfaces foliaires ainsi que la composition et l'épaisseur des cloisons cellulaires semblent déterminer en grande partie l'image de fluorescence.

Pour *Sphagnum palustre*, la fluorescence rougeâtre de ses chloroplastes se combine au bleu-vert émis par ses cloisons cellulaires bien plus minces (Figure 17).

Les parties feuillées situées sous les capitulum présentent aussi des propriétés de fluorescence différentes entre les deux espèces, mais il est possible que ce soit simplement l'effet du milieu.

*S. palustre* a ses tiges qui ne trempent pas constamment dans l'eau, alors que *S. papillosum* a ses tiges souvent immergées en eau très acide, ce qui produit sans doute la dissolution et la destruction plus rapides des substances fluorescentes dans ces parties.



Figure 10. Changement de couleur des pigments en fonction du pH ; © Y. GARNIER.

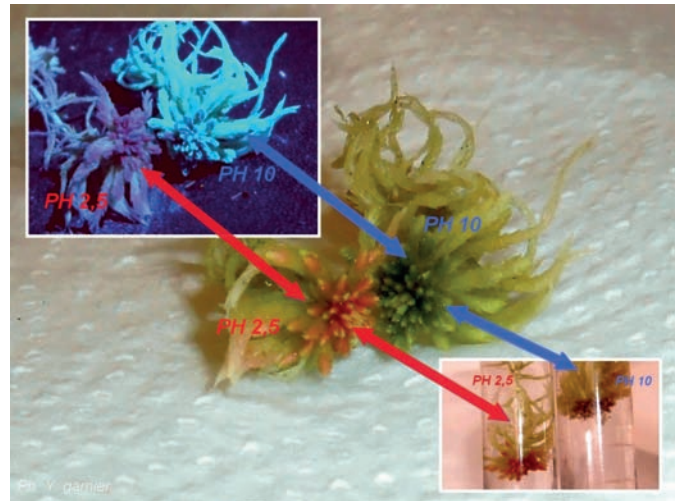


Figure 11. Fluorescence des pigments modifiée par le pH sur *Sphagnum quinquefarium* ; © Y. GARNIER.



Figure 12. Fluorescence complexe de *Sphagnum quinquefarium* ; © Y. GARNIER.

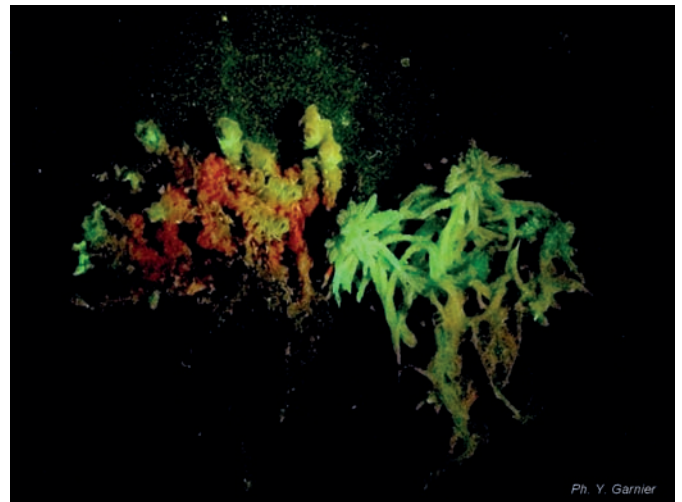
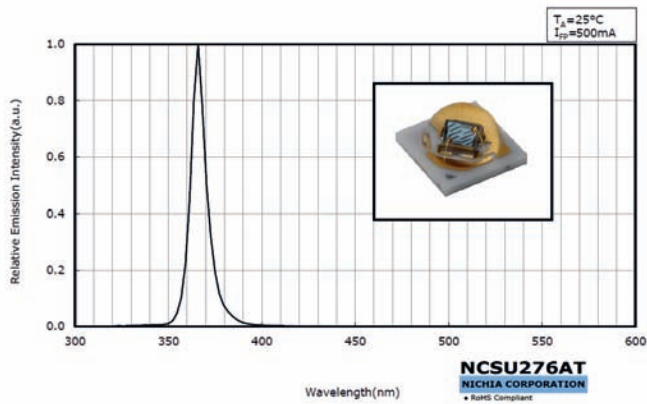
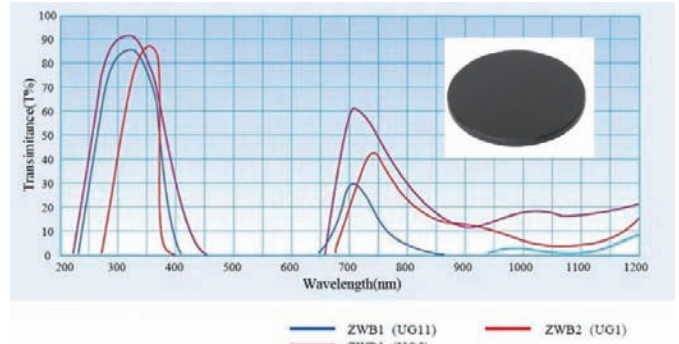


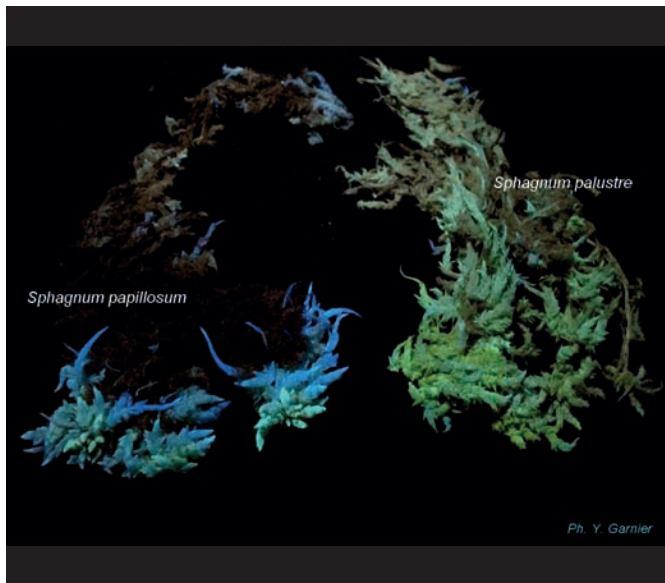
Figure 13. Comparaison de fluorescence entre *Scapania* sp. (hépatique) et *Sphagnum quinquefarium* ; © Y. GARNIER.



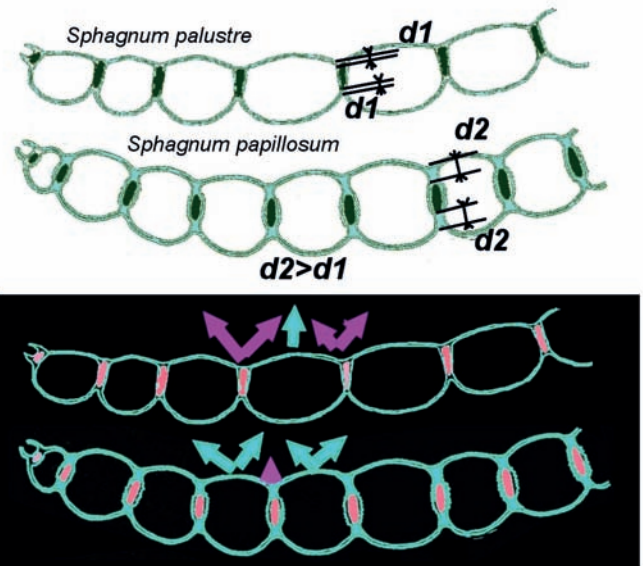
**Figure 14.** LED UV NCSU276AT de NICHIA Corporation (fiche technique (data sheet) du produit).



**Figure 15.** B.P. du filtre ZWB2 (UG1), Optoelectronic technology. Tansinuo Shijiazhuang Ltd. Fiche technique (data sheet) du produit ZWB2 - (coût moins de 2 €) ; composition : dépôts métalliques ultraminces sur couches de verre optique et acrylique.



**Figure 16.** Comparaison des fluorescences de *Sphagnum papillosum* et *Sphagnum palustre* ; © Y. GARNIER.



**Figure 17.** Différence de structure cellulaire pouvant expliquer la variation de fluorescence (composition « photofiltre » avec tracés personnels).



**Figure 18.** Comparaison de fluorescence entre *Sphagnum papillosum*, *S. magellanicum* et *S. palustre* ; © Y. GARNIER.



**Figure 19.** Effet du pH sur des rameaux pigmentés du capitulum de *Sphagnum magellanicum* ; © Y. GARNIER.

Dans la même section on peut tester *Sphagnum magellanicum* qui a la particularité d'avoir un capitulum souvent rougeâtre. Cette sphaigne présente une fluorescence pâle assez brillante, mais on la remarque seulement « hors capitulum ». Ces capitulum présentent une fluorescence propre assez caractéristique, rouge brique, créée par un pigment particulier.

Ce pigment rougeâtre photoprotecteur de *Sphagnum magellanicum* semble très différent de ceux des espèces de la section *Acutifolia* car il vire très lentement (plus de 30 secondes) vers le « brun fumé » en milieu basique et sa teinte rougeâtre initiale est peu intensifiée en milieu acide (voir ci-dessous).

L'apparition de ce pigment du groupe des *sphagnorubines* serait favorisée par des alternances de froid et de fortes lumières. Outre sa fonction de photoprotection, il pourrait participer à la captation de la chaleur radiative disponible dans l'environnement (Tutschek, 1982).

## Conclusion

Ces techniques de photographie en fluorescence induite par l'UV nécessitent un matériel très courant aujourd'hui, de faible coût et facile à mettre en œuvre. Elles sont utilisées dans des recherches nouvelles concernant des coraux, des algues et même des animaux extrémophiles comme certains Tardigrades qui deviennent fluorescents pour survivre aux rayons UV. En dehors de l'aspect indéniablement esthétique de ces effets lumineux, qui ne sont pas sans rappeler certains décors du film *Avatar* réalisé par James Cameron, ces techniques simples pourraient permettre aux naturalistes de mettre en évidence quelques propriétés du vivant encore mal connues. Si cette note très succincte pouvait inciter certains à aller plus loin dans l'étude de ces phénomènes, son but serait atteint.

## Remerciements

Je remercie vivement Isabelle Charissou, du Conservatoire d'espaces naturels du Limousin, pour son aide rédactionnelle et pour la fourniture de certains échantillons de sphaignes.

## Bibliographie

Arnold S.E.J., Faruq S., Savolainen V., McOwan P.W. & Chittka L., 2010 - *FRoD: The Floral Reflectance Database* — A Web Portal for Analyses of Flower Colour. PLOS Published: December 10, 2010. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0014287>. 9 p.

Berland H., Nick W.A., Stavland A., Jordheim M., K. McGhie T., Zhou Y., Zhang H., Deroles S.C., Schwinn K.E., Jordan B.R., Davies K.M. & Andersen Ø.M., 2019 - Auronidins are a previously unreported class of flavonoid pigments that challenges when anthocyanin biosynthesis evolved in plants. *PNAS* October 1, **116** (40) : 20232-20239.

Daniels R.E. & Eddy A., 1985 - *Handbook of European Sphagna*. 26 p.

Dismier G., 1927 - Flore des sphaignes de France. *Arch. Bot.* **1**, mém. 1 : 63 p.

Garnier Y., 2019 - *Les propriétés optiques du tomentum d'Antennaria dioica (L.) Gaertn.* Projects: Observations on the peculiarities of certain plants in Alps. The optical properties of some particular plants. ResearchGate professional network for scientists and researchers, 11 p.

Hartley R.D. & Harris P.J., 1981 - Phenolic constituents of the cell walls of Dicotyledons. *Bioch. Syst. Ecol.* **9** (2-3) : 189-203.

Hill M.O., 1976 - A key for the identification of British *Sphagna* using macroscopic characters. *Brit. Bryol. Soc. Bull.* **27** : 22-31.

Krause G.H. & Weis E., 1991 - Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. *Annual Rev. Pl. Biol.* **42** (1) : 313-349.

Lane D.M., 1978 - Chemical test for red-pigmented sections of *Sphagnum*: survey of 17 North American species. *The Bryologist* **81** : 602-605.

NICHIA CORPORATION - LED UV NCSU276AT - Data sheet - 08/01/2015.

Schreiber U., Neubauer C. & Schliwa U., 1993 - PAM fluorometer based on medium-frequency pulsed Xe-flash measuring light: a highly sensitive new tool in basic and applied photosynthesis research. *Photosynth Res* **36** : 65-72.

Tutschek R., 1982 - An evaluation of phenylpropanoid metabolism during cold-induced sphagnorubin synthesis in *Sphagnum magellanicum* Brid. *Planta* **155** (4) : 301-306. [www.jstor.org/stable/23375812](http://www.jstor.org/stable/23375812), accessed 12 Dec. 2020.

Vigneron J.-P., Rassart M., Vértesy Z., Kertész K, Sarrazin, M, Biro L, Ertz D & Lousse V., 2005. Optical structure and function of the white filamentary hair covering the edelweiss bracts. *Phys. Rev.* **71** (011906) : 1-8.