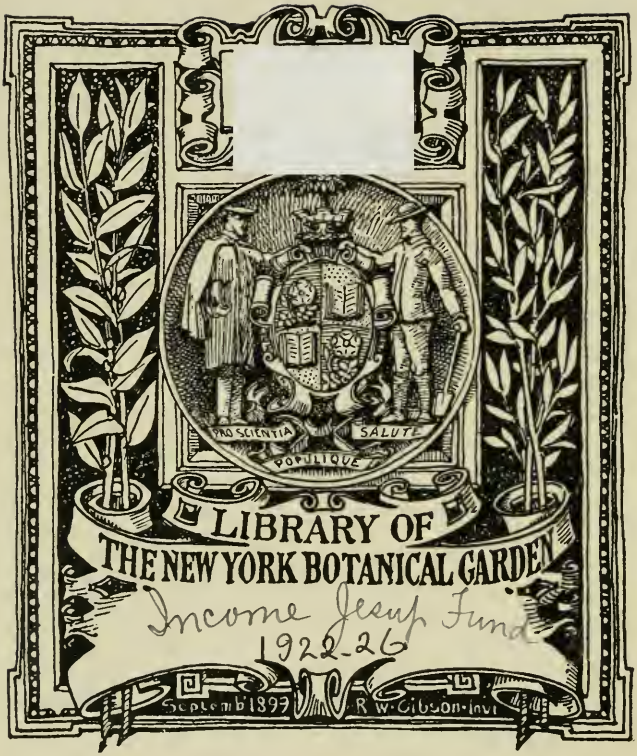
PRO SCIENTIA
SALUTE
POPULIQUE
LIBRARY OF
THE NEW YORK BOTANICAL GARDEN
Income Jesup Fund
1922-26
Septemb 1897
R W. Gibson. Invt

LE BOTANISTE

—

Série XIV

—

1921

LE BOTANISTE

DIRECTEUR : M. P.-A. DANGEARD

MEMBRE DE L'INSTITUT

CHARGÉ DE COURS DE BOTANIQUE A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

SÉRIE XIV

FASCICULES I-II

Juin 1921

SOMMAIRE

P.-A. DANGEARD : Recherches sur l'assimilation chlorophyllienne, 1re partie.

PRIX DE L'ABONNEMENT A LA SÉRIE DE SIX FASCICULES

30 francs

DIRECTION : **12, rue Cuvier, PARIS**

LONDRES

DULAU & C°

Soho Square, 37

XB
.0688
Ser.14

TABLE DES MATIÈRES

DE LA SÉRIE XIV DU BOTANISTE

P.-A. Dangeard. — *Recherches sur l'assimilation chlorophyllienne.*

	Pages
Introduction	1-5

CHAPITRE PREMIER

La culture des Algues	5-24
Milieux nutritifs	9-12
La séparation des espèces	12-15
I. Description de quelques espèces	15
1° Le genre Chlorella	15-22
2° Le genre Scenedesmus	22-24
3° Le genre Stichococcus	24-25
II. Influence du milieu de culture : action des agents extérieurs	25-35
III. Observations générales sur quelques milieux de culture à la lumière et à l'obscurité	35
A. Première expérience : culture sur carotte, à la lumière et à l'obscurité	37-40
B. Deuxième expérience : valeur de trois milieux nutritifs différents ; agar nutrif glucosé, liquide Detmer-Grintzesco glucosé, liquide Detmer-Chodat	40-49
C. Troisième expérience confirmant et complètant les précédentes	49-57
IV. La culture des Algues sur milieux solides dans ses relations avec la lumière	57
A. Cultures sur agar et gélatine à l'eau distillée	62-65
B. Cultures sur agar à 2 % + liquide minéral G	65-66
C. Cultures sur agar à 2 % + glucose à 1 %	66-68
V. L'influence du *Penicillium* sur les cultures de *Chlorella vulgaris* en milieu nutritif glucosé	68
A. Première expérience	69-70
B. Deuxième expérience	71-73
VI. L'influence d'une obscurité prolongée sur la vitalité du *Scenedesmus acutus*	73-87
Cette expérience particulièrement intéressante commen-	

cée le 9 janvier 1913, est continuée jusqu'à ce jour dans les mêmes conditions.
VII. L'influence des hautes températures sur les cultures de *Chlorella vulgaris*..... 87-98

CHAPITRE II

Première partie

La sensibilité des algues inférieures à la lumière..... 99-105
Propriétés à l'égard de la radiation d'une algue inférieure cultivée dans un milieu nutritif dépourvu de carbone organique.. 105-109
I. La végétation du *Chlorella vulgaris* dans ses rapports avec la lumière..... 109
A. Première expérience : cuve à parois parallèles..... 112-114
B. Expériences avec tubes cylindriques..... 114-119
C. Suite des expériences..... 119-125
D. Explication des lignes parallèles se produisant dans les flacons cylindriques..... 125-131

Deuxième partie

II. La sensibilité des *Chlorella* et des *Scenedesmus* à la lumière indiquée par le dégagement des bulles d'oxygène..... 132-139
Les variations de l'assimilation chlorophylienne..... 139
Observations de juin 1914..... 139-148
Série I. — Observations de novembre 1914..... 148-158
Série II. — Observations de novembre 1914..... 158-162
Série III. — Observations de novembre 1914..... 162-170
Série IV. — Observations de novembre, décembre 1914 et janvier 1915..... 170-175
Série V. — Expérience avec l'arc électrique..... 175-176
Autres observations de septembre 1914..... 176-179
Expériences avec les cultures de *Spirogyra magna* faites en septembre 1914..... 179-185
Variations de l'assimilation chlorophyllienne en mars 1926..... 186-192
Remarques sur l'influence du glucose dans des cultures de *Scenedesmus* à l'air libre..... 192-196
Remarques sur les variations de la photosynthèse aux différentes époques de l'année..... 196-204
Remarques sur l'activité de quelques sources de lumière artificielle dans l'assimilation..... 204-207
Remarques sur les relations de la photosynthèse avec l'intensité lumineuse..... 208-215
Remarques sur la production de courants complexes dans l'eau d'un grand flacon cylindrique exposé au soleil..... 215-224

LIBRARY
NEW YORK
BOTANICAL
GARDEN

RECHERCHES

SUR

L'ASSIMILATION CHLOROPHYLLIENNE

PAR

P.-A. DANGEARD

INTRODUCTION

Les recherches qui vont suivre ont eu, comme point de départ, une observation qui, en elle-même, ne semblait présenter qu'un intérêt de pure curiosité.

Cette observation a été décrite brièvement dans une note préliminaire, publiée le 25 juin 1909, sous le titre suivant : « Note sur les propriétés photographiques du *Chlorella vulgaris* » (1). Nous allons reproduire cette note *in extenso* ; il est toujours intéressant d'assister à la genèse d'une idée nouvelle, avant d'en trouver la confirmation dans les expériences nombreuses qu'elle a provoquées et qui montrent sa fécondité.

« Nous présentons dans cette Note les résultats d'une expérience intéressante réalisée dans notre laboratoire par une Algue minuscule. Cette Algue a dessiné, en se développant sur les parois d'un grand flacon de verre, de forme cylindrique et renfermant du liquide de Knop, des lignes d'une finesse, d'une régularité et d'une perfection telles qu'on les supposerait tracées par un dessinateur expérimenté (pl.

(1) P.-A. Dangeard : *Bulletin Société Bot. de France*, 1909.

VI, fig. 1). Ceci est l'observation en elle-même : nous allons essayer maintenant de l'interpréter et de l'analyser pendant que les traces matérielles n'en sont pas encore effacées.

« L'Algue qui a produit ce curieux dessin appartient au genre *Chlorella* (1) ; elle est voisine sinon identique à la Zoochlorelle qui colore en vert certains animaux inférieurs. Ses dimensions sont de 3 à 4 μ ; elle se reproduit par des cellules immobiles formées au nombre de 4, 8 ou 16 dans chaque cellule mère (2). Cette Algue, en se développant dans un tube d'agar-agar rendu nutritif, produit des arborescences de couleur verte et d'aspect très irrégulier. Que faut-il pour imprimer à ces figures produites par la multiplication de l'Algue le caractère de régularité, tel que nous l'observons dans la première expérience ?

« On sait que les zoospores d'Algues vertes présentent une grande sensibilité vis-à-vis de la lumière. Si dans un flacon enduit de noir de fumée, sauf à l'endroit d'une lettre de l'alphabet par exemple, on introduit une eau renfermant des *Chlamydomonas*, les zoospores viennent se fixer à l'endroit éclairé, de telle sorte que la lettre se trouve dessinée en vert. Si, d'autre part, on soumet à l'action des rayons lumineux des zoospores d'*Ulothrix*, on constate que les unes se dirigent du côté de la lumière, alors que les autres s'en éloignent : elles se distinguent ainsi en zoospores photophiles et en zoospores photophobes.

« Les zoospores d'Algues sont donc sensibles aux radiations lumineuses et à leur intensité.

« Il est assez naturel de supposer que le *Chlorella vulgaris*, habitué à vivre dans la profondeur des tissus animaux ou au fond de l'eau, recherche pour se développer en plus grande

(1) Beyrinck : *Culturv. mit. Zoochlorellen*... (Bot. Zeit., 1890, p. 725) Radais : *Sur la culture pure d'une Algue verte, formation de chlorophylle à l'obscurité* (Comptes rendus Acad. Sc., mars 1900).

(2) Dangeard (P.-A.) : *Les Zoochlorelles du* Paramœcium Bursaria (Le Botaniste, 7e série, 1900. p. 183).

abondance les points où l'intensité lumineuse est plus faible ou lui convient ; s'il en était ainsi, on pourrait s'expliquer qu'il colore ces points en vert, en les photographiant pour ainsi dire.

« Nous avons photographié (fig. 2) les lignes sombres qui se projettent sur une glace opaque derrière le flacon de culture et qui sont dues aux barreaux des fenêtres du laboratoire.

« Il existe entre le dessin reproduit par l'Algue et cette photographie une certaine concordance ; si notre hypothèse de tout à l'heure était exacte, le *Chlorella* se serait développé suivant les lignes sombres indiquées par la photographie. La différence entre les deux clichés, celui de l'Algue et celui de l'appareil photographique, s'expliquerait par le fait qu'ils n'ont pas été pris au même endroit, le flacon de culture ayant dû être déplacé pour rendre possible cette photographie.

« La question semble d'ailleurs assez complexe, car les rayons lumineux peuvent se trouver décomposés en traversant l'eau du flacon, et il est probable que l'Algue est sensible non seulement à l'intensité lumineuse, mais aussi à la nature même des rayons.

« Quoi qu'il en soit, nous possédons avec le *Chlorella vulgaris* une Algue extrêmement sensible aux conditions du milieu : aussi avons-nous pensé à l'utiliser pour la solution d'un problème important de physiologie végétale.

« Lorsqu'on analyse au spectroscope la lumière qui a traversé une solution de chlorophylle, on constate qu'un certain nombre de rayons ont été absorbés par la chlorophylle : on admet que c'est seulement à l'endroit de ces bandes d'absorption que se produisent la fixation du carbone et le dégagement d'oxygène qui caractérisent la fonction chlorophyllienne.

« *A priori*, on peut supposer que si nous projetons au moyen d'un prisme les divers rayons du spectre sur la cuve de culture renfermant le *Chlorella vulgaris*, celui-ci ne se

développera que derrière les rayons qui correspondent aux bandes d'absorption, c'est-à-dire aux seuls endroits où il peut effectuer sa nutrition holophytique et prendre le carbone qui lui est nécessaire (1).

« Tel est le principe d'une nouvelle méthode qui pourrait donner des résultats bien supérieurs à la méthode des Bactéries d'Engelmann, si le *Chlorella*, grâce à sa sensibilité spéciale, marquait ainsi, par un développement plus abondant, chaque bande d'absorption de la chlorophylle.

Nous tiendrons la Société au courant des résultats des diverses expériences en cours d'observation dans notre Laboratoire. »

Cette note préliminaire indique brièvement le fait en lui-même ; elle donne une tentative d'explication du dessin en question sous forme d'hypothèse à vérifier par la suite : enfin, elle fait entrevoir la possibilité d'utiliser les propriétés de cette Algue pour étudier le rôle des radiations dans la synthèse chlorophyllienne.

Cette idée de faire dessiner les bandes d'absorption de la chlorophylle par une Algue était bien séduisante et toute nouvelle ; elle promettait d'être fertile en conséquences importantes au point de vue de la nutrition des plantes vertes ; mais pour arriver à la faire passer dans le domaine de l'expérience, bien des difficultés restaient à surmonter.

Il a fallu d'abord s'attacher à bien connaître la structure, le développement, les propriétés des Chlorelles et des autres Algues inférieures susceptibles d'être utilisées dans ces expériences.

D'un autre côté, il était nécessaire d'établir ou de faire construire des dispositifs nouveaux, en vue de fixer le degré de sensibilité de ces Algues, en face de la radiation totale, dans des conditions d'intensité variable.

(1) Le liquide de Knop est une solution nutritive entièrement minérale.

Il restait enfin à dégager l'action des diverses radiations du spectre dans l'assimilation chlorophyllienne, en employant, soit une série d'écrans, soit de préférence des spectrographes, construits spécialement en vue de ces recherches.

Cette dernière partie devait, selon nos prévisions, fournir pour la première fois des documents probants, irréfutables sur l'action de la radiation dans la photosynthèse et permettre d'écarter définitivement quantité d'idées et de théories qui cherchaient à s'imposer depuis longtemps comme résultats classiques.

CHAPITRE PREMIER

LA CULTURE DES ALGUES.

Les anciens algologues se contentaient en général d'étudier les Algues, dans leurs stations naturelles ; tout au plus cherchaient-ils à conserver ces Algues au laboratoire, pendant le temps nécessaire à l'observation des diverses phases du développement. Plusieurs espèces se trouvaient ordinairement mélangées dans ces cultures ; mais sauf pour certaines espèces litigieuses, la chose ne présentait aucun inconvénient sérieux : l'usage de plus en plus répandu des chambres humides qui permettent de suivre pendant plusieurs jours, et parfois pendant plusieurs mois, l'évolution d'une Algue et de ses organes reproducteurs atténuait sensiblement le danger d'une confusion toujours possible entre organes d'espèces différentes.

Beaucoup d'Algues inférieures ont été étudiées à tous les stades de leur vie par cette méthode : il suffit de citer à cet égard les mémoires de Cienkowski, de Pringsheim, de Goroschankin, de Dill et les nôtres.

Mais certaines espèces, suivant la station et le milieu, ou encore sous l'influence de causes mal déterminées, se présentent avec des dimensions et des formes variables : quelques auteurs voyaient dans ces différences l'indication d'une transformation des espèces les unes dans les autres ; d'autres niaient l'existence de ces formes différentes d'une même espèce.

En réalité, les Algues ne diffèrent pas à cet égard des autres êtres vivants : on y rencontrera peut-être, comme chez les plantes phanérogames, des cas de « mutation » au sens de de Vries, mais les exemples de « pléomorphisme » envisagés ne semblent répondre jusqu'ici qu'à des aspects ou à des stades différents d'une même plante.

La démonstration, dans les conditions ordinaires d'observation, était difficile et parfois impossible : aussi a-t-on accueilli avec faveur la méthode des cultures pures appliquée à l'étude des Algues pour la première fois par Beyerinck (1890).

Cette méthode des cultures pures était employée depuis longtemps déjà en Bactériologie : on l'utilisait également avec succès pour déterminer le cycle du développement des Champignons et pour distinguer les espèces voisines de Levures.

La culture d'une Bactérie ou d'un champignon sur milieux nutritifs réussit ordinairement très bien, car ces êtres sont saprophytes et empruntent, comme dans la nature, tous leurs éléments au substratum.

Il en est différemment des Algues qui, dans les conditions ordinaires de végétation, empruntent leur carbone au gaz carbonique : or, si l'assimilation chlorophyllienne leur permet de récupérer le carbone qu'elles perdent par la respiration, le gain en carbone nécessaire au développement de la plante doit être emprunté à l'atmosphère de la culture, s'il s'agit d'un milieu nutritif solide. ou au gaz carbonique dissous dans l'eau, s'il s'agit d'un milieu nutritif liquide

Maintenir dans le liquide de culture une proportion de CO^2 favorable à l'assimilation chlorophyllienne, tenir d'autre part ce liquide suffisamment aéré pour que la respiration puisse s'effectuer normalement est un problème qui présente certaines difficultés, lorsqu'il s'agit d'une culture pure ; c'est ce qui explique pourquoi la méthode compte de nombreux insuccès et n'a été appliquée jusqu'ici qu'à

un nombre assez restreint d'espèces, comprises presque toutes parmi les Algues inférieures.

La réussite pour ces dernières est due en grande partie à la propriété qu'elles ont de pouvoir emprunter directement tout ou partie de leur carbone à des sucres et en particulier au glucose qu'on introduit dans le milieu nutritif : ces Algues se comportent donc, si cela est nécessaire, comme de véritables saprophytes, tout en continuant à posséder de la chlorophylle.

On conçoit d'ailleurs que ce changement dans le mode de vie de ces Algues ait une répercussion plus ou moins grande sur la forme et la dimension des cellules, et puisse également produire des modifications dans le développement : la portée des conclusions que l'on peut tirer de ces cultures se trouve ainsi singulièrement diminuée, si l'on se contente de vouloir établir le cycle normal et la manière d'être ordinaire d'une espèce.

Dans ce cas, pour se rapprocher autant que possible des conditions de végétation de la plupart des Algues dans la nature, il est nécessaire d'éliminer le carbone organique des cultures.

En résumé, dans les cultures d'Algues, on peut d'une part, en employant des milieux riches en hydrates de carbone, exalter la nutrition saprophytique de ces êtres et rendre inutile l'assimilation chlorophyllienne ; d'autre part, en supprimant ces mêmes hydrates de carbone, on amène la plante *à n'utiliser que la fonction chlorophyllienne exclusivement.*

Cette notion est fondamentale dans les recherches et observations qui vont suivre sur les phénomènes de photosynthèse étudiés dans ce Mémoire.

Examinons d'abord comment on obtient une culture pure d'Algue.

Les procédés ne diffèrent pas de ceux qui sont employés pour isoler une Bactérie ou une Levure ; on se sert de la méthode des dilutions ou des cultures fractionnées.

Milieux nutritifs. — Les milieux nutritifs peuvent être liquides ou solides. Parmi les milieux liquides, nous citerons ceux qui sont le plus fréquemment employés :

Liquide de Knop.

Eau distillée.	1.000 grammes
Nitrate de calcium.	1 —
Nitrate de potassium. . . .	0 gr. 25
Phosphate acide de potassium.	0 gr. 25
Sulfate de magnésie. . . .	0 gr. 25
Phosphate de fer.	traces.

Liquide Charpentier.

Eau.	1.000 grammes
Sulfate de magnésie. . . .	1 —
Phosphate bipotassique. . .	2 —
Nitrate de potassium. . . .	2 —
Nitrate de calcium.	0 gr. 05
Sulfate ferreux.	traces.

A ce milieu, l'auteur ajoute 10 grammes de glucose ; la réaction est neutre à la phtaléine et à l'orangé, légèrement alcaline à l'alizarine sulfoconjuguée : le chauffage à 120° précipite une partie des sels dissous, notamment du fer et du calcium : il en reste cependant assez pour la plante, car le sucre empêche la précipitation totale.

Liquide de Molisch.

Eau.	1.000 grammes
Nitrate de potassium. . . .	0 gr. 2
Phosphate de calcium . .	0 gr. 2
Sulfate de magnésie. . . .	0 gr. 2
Sulfate de calcium. . . .	0 gr. 2
Sulfate de fer.	traces.

Ce milieu est rendu neutre par du carbonate de calcium.

Liquide Bouilhac.

Eau distillée.	1.000 grammes
Sulfate de potassium. . . .	0 gr. 2
Sulfate de magnésie. . . .	0 gr. 2
Phosphate de potassium. .	0 gr. 2
Carbonate de calcium. . .	0 gr. 2
Perchlorure de fer. . . .	traces.

On remarque, dans ce liquide, l'absence d'azote ; il était employé, par l'auteur, à la culture d'un *Nostoc*, accompagné de Bactéries fixatrices d'azote : en ajoutant du glucose à ce milieu nutritif, le Nostoc se développait à l'obscurité.

Le professeur Detmer utilise la formule suivante :

Liquide Detmer.

Eau distillée.	1.000 grammes
Nitrate de calcium.	1 —
Chlorure de potassium. . .	0 gr. 25
Sulfate de magnésie. . . .	0 gr. 25
Phosphate de potassium. . .	0 gr. 25

Le professeur Chodat utilise cette solution diluée (1/3 D + 2/3 Eau) et additionnée de chlorure ferrique Fe_2Cl_6 à raison de 1/10 par mille. Sans cette addition la croissance est excessivement lente.

Grintzesco a légèrement modifié les proportions de la formule précédente :

Eau distillée.	1.000 grammes
Nitrate de calcium.	0 gr. 5
Chlorure de potassium. . .	0 gr. 5
Sulfate de magnésie. . . .	0 gr. 5
Phosphate de potassium. . .	0 gr. 5
Sesquichlorure de fer. . . .	traces.

L'auteur a employé ce liquide, en le mélangeant, en proportions variables, avec de l'eau distillée : l'addition de glucose active le développement.

Detmer recommande encore comme milieu nutritif minéral celui de V. D. Crone.

Liquide V. D. Crone.

Eau distillée.	1.000 grammes
Nitrate de potassium. . . .	1 —
Sulfate de calcium.	0 gr. 5
Sulfate de magnésie. . . .	0 gr. 5
Phosphate tricalcique. . . .	0 gr. 25
Phosphate ferreux.	0 gr. 25

On pourrait encore citer beaucoup d'autres milieux nutritifs minéraux (1) ; la concentration saline a une très grande influence sur l'activité du développement dans les cultures ; cette action a été mise en évidence, au moyen d'expériences précises et nombreuses, par Kufferath, dans des cultures de *Chlorella luteo-viridis*. Nous avons plus spécialement utilisé, au cours de ce travail, le liquide de Knop et celui de Detmer ; en ce qui concerne ce dernier, *nous avons souvent employé les proportions indiquées par Grintzesco.*

Les milieux solides les plus divers ont été employés avec succès dans la culture des Algues inférieures : tranches de carotte, de navet, de potiron, de pommes de terre, etc. : mais on préfère en général, pour les expériences, des milieux rendus solides par addition d'agar-agar ou de gélatine : l'agar ou gélose est la substance la plus employée parce qu'elle supporte des températures bien supérieures à celles où la gélatine se liquéfie.

On ajoutera, pour avoir de bons milieux solides, une vingtaine de grammes de gélose aux proportions indiquées des divers liquides nutritifs : celui de Grintzesco est particulièrement à recommander, comme ayant fait ses preuves.

(1) Kufferath : *Contribution à la physiologie d'une Protococcacée nouvelle* Chlorella luteo-viridis *Chodat* (Recueil de l'Institut Botanique Leo Errera, t. IX, extrait).

S'il s'agit d'obtenir des cultures à l'obscurité, on ajoutera 1 ou 2 0/0 de glucose à l'agar ou à la gélatine.

Une fois en possession de milieux nutritifs liquides et solides, on procède à la *recherche* et à la *séparation des espèces*.

Recherche des espèces. — La *recherche des espèces* dépend du point de vue où on se place, et du groupe que l'on veut étudier ; la terre humide, l'écorce des troncs d'arbre, l'eau des fossés et des étangs, les bassins d'arrosage dans les jardins publics, fourniront de nombreuses espèces ; parmi celles-ci, il en est beaucoup qui sont mobiles ou se reproduisent par zoospores : il faudra veiller à ne pas les utiliser dans les expériences de croissance en face d'un spectre ; en effet, comme ces zoospores sont phototactiques et viennent se fixer dans la région bleue et violette du spectre, on pourrait être amené à croire que cette région a une action marquée sur le développement de l'Algue et la photosynthèse : toutefois, des expériences comparatives pourront être faites, à condition de prendre certaines précautions.

Il faut donc employer tout d'abord, pour des recherches du genre de celles qui vont suivre, des espèces se reproduisant par des spores immobiles, ou se multipliant par simple bipartition.

Séparation des espèces. — La *séparation des espèces* se fait, comme pour les Bactéries et les Levures, par la méthode des dilutions ou des cultures fractionnées (1).

On peut procéder comme il suit : Soit une goutte d'eau prélevée dans un liquide où se trouve le mélange d'Algues à séparer ; on compte sous le microscope, approximativement, le nombre de cellules qui se trouvent dans cette goutte d'eau, soit 10 environ ; on étend, s'il est nécessaire, le liquide de culture d'eau stérilisée, pour obtenir cette proportion de germes ou une proportion plus faible.

(1) Consulter Chodat : *Etude critique et expérimentale sur le Polymorphisme des Algues*, Genève, 1909, p. 40.

On prépare alors vingt flacons Erlenmeyer, contenant du Knop ou un autre milieu nutritif.

Une goutte d'eau semblable à la précédente comme dimension est introduite dans un flacon contenant 20 centimètres cubes d'eau stérilisée, et ces 20 centimètres cubes sont répartis, après agitation du liquide, dans les 20 flacons Erlenmeyer ; il y a donc eu une dizaine de germes répartis au hasard, de telle sorte qu'on a les plus grandes chances d'avoir un certain nombre de flacons *ensemencés avec une seule cellule*.

Il est souvent plus commode de procéder autrement, tout au moins pour isoler les espèces les plus banales.

On passe à l'autoclave une vingtaine de boîtes de Piétri, contenant un milieu nutritif à la gélose ou à la gélatine.

Après avoir retiré ces boîtes, on surveille le refroidissement, et au moment où la solidification commence, on ensemence avec une goutte d'eau contenant une proportion variable de germes ou d'espèces différentes, selon les circonstances ; cela fait, on agite la boîte, de façon à disséminer le plus possible ces germes ; ces germes, s'ils sont suffisamment éloignés les uns des autres, *constitueront autant de colonies différentes* qui se montreront plus ou moins vite, selon l'espèce.

On arrive ainsi à obtenir des colonies d'espèces différentes qui seront le point de départ de cultures pures.

Les ensemencements se font à l'aide d'un fil de platine stérilisé à la flamme, comme pour les cultures de Bactéries ; on se sert de pipettes en verre stérilisées pour le transport des gouttes d'eau d'un milieu nutritif dans un autre.

Chodat, qui s'est beaucoup occupé de la culture des Algues, indique un procédé rapide pour obtenir les espèces sensibles au changement de milieu et dont le développement nécessite un accès de l'air suffisant.

On prend de larges boîtes de Piétri ; à l'intérieur de cha-

cune d'elles, on dispose une plaque de porcelaine dégourdie, préalablement stérilisée ; toutes ces boîtes sont passées au four à air chaud à 150°. D'autre part, on stérilise à l'autoclave du liquide nutritif. Lorsque le tout est suffisamment refroidi, on introduit le liquide nutritif dans la boîte de Piétri, de façon à baigner la base de la plaque poreuse ; celle-ci s'imprègne d'humidité.

On ensemence alors la plaque, en y étalant une ou plusieurs gouttes des dilutions contenant le mélange d'Algues dont on veut effectuer le triage.

La liste serait déjà longue des espèces qu'on a pu isoler et cultiver ensuite à l'état de pureté ; nous nous bornerons à en citer quelques-unes que Chodat et Gerneck ont particulièrement étudiées.

Ce sont : *Pleurococcus Naegelii* et *Pl. vulgaris*, *Schizogonium radicans*, *Heterococcus viridis*, *Microthamnium Kutzingianum*, *Scenedesmus acutus*, *Raphidium Braunii*, *Scenedesmus quadricauda*, plusieurs espèces de *Stichococcus*, *Coccomyxa Solorinae*, *Coelastrum microporum*, diverses espèces de *Chlorella*, *Palmellococcus protothecoides* et *P. variegatus*, *Oocystis Naegelii*, *Pleurocapsa salevensis* (1), etc.

D'autres espèces ont été suivies en culture par Gerneck : nous citerons seulement : *Dictyococcus varians*, *Cystococcus humicola* et variétés ; *Chlorococcum infusionum*, *Ophiocytium cochleare* et *O. breve*, *Glococystis vesiculosa*, *G. ampla*, *G. major*, *Conferva genuina*, *C. minor*, *Stigeoclonium pusillum*, etc. (2).

Le choix des espèces. — Parmi ces espèces, celles qui paraissent convenir le mieux à l'étude des phénomènes d'assimilation chlorophyllienne sont les diverses espèces et variétés de *Chlorella*, les diverses espèces et variétés de

(1) Chodat : *Etude critique et expérimentale sur le Polymorphisme des Algues*. Genève, 1909.

(2) Gerneck : *Zur Kenntnis der niederen Chlorophyceen* (Bet. Centralblatt, 1907, t. XXI ; II, p. 221).

Scenedesmus dont le développement est très rapide et dont la sensibilité à la lumière est, comme nous le montrons plus loin, excessivement remarquable. On peut y joindre les nombreuses formes de *Stichococcus* qui présentent les mêmes avantages. Aucune de ces algues ne fournit de zoospores, au cours du développement : il n'y a donc pas à craindre d'erreur provenant du phototactisme.

Nous allons tout d'abord donner une brève description de ces Algues, en y joignant nos observations personnelles.

I. — DESCRIPTION DE QUELQUES ESPÈCES.

Les espèces dont la description va suivre sont celles qu'on peut employer de préférence pour l'étude de l'assimilation chlorophyllienne.

1° Genre *Chlorella*.

Le genre *Chlorella* a été constitué par Beyerinck en 1890 : son travail a été le point de départ d'un grand nombre de travaux, dont on trouvera l'indication dans les mémoires de Grintzesco, de Chodat et de Kufferath : le mémoire de Chodat est le *vade mecum* de tout algologue qui s'occupe de la culture des Algues (1).

Les *Chlorella* sont des Algues dont les cellules sont arrondies, sphériques, ou légèrement allongées : leur taille ne dépasse guère une dizaine de μ et, fréquemment, elle est beaucoup plus faible ; la multiplication se fait par une division du contenu cellulaire en deux, quatre, huit spores ou même davantage : la sortie des spores a lieu par rupture de la membrane de la cellule mère que l'on peut considérer comme un sporange ; ces spores ne sont jamais mobiles.

Chodat a fait une distinction entre les espèces qui possèdent un pyrénoïde dans leur chromatophore et celles qui

(1) Chodat : *Monographies d'Algues en culture pure*, p. 84. Berne, 1913.

en sont dépourvues : les premières seules sont conservées dans le genre *Chlorella* ; les autres sont rangées dans le genre *Palmellococcus* Chodat.

Les espèces de *Chlorella*, obtenues en culture pure par Chodat, sont assez nombreuses : *Ch. vulgaris*, *Ch. lichina*, *Ch. lacustris*, *Ch. rubescens*, *Ch. coelastroides*, *Ch. viscosa*, *Ch. luteo-viridis*, *Ch. Cladoniae*.

Le genre *Palmellococcus*, d'autre part, renferme les espèces suivantes : *P. symbioticus*, *P. saccharophilus*, *P. protothecoides*, *P. variegatus*.

Il est bon de remarquer que les *Chlorella* perdent souvent plus ou moins dans les cultures leur pyrénoïde, soit que celui-ci disparaisse complètement à l'observation pour se former *de novo* ensuite, soit qu'il devienne seulement indistinct.

Toutes ces espèces peuvent servir avantageusement aux expériences sur l'assimilation chlorophyllienne, *puisque leur multiplication est en général très rapide et qu'elles n'ont pas de zoospores faisant intervenir le phototactisme* : mais dans la pratique, c'est l'espèce *Chlorella vulgaris*, étudiée par Beyerinck, qui sera le plus souvent employée.

Grintzesco, dans la monographie qu'il a consacrée au *Chlorella vulgaris*, a donné de cette Algue, de sa structure et de son développement une description très complète (1) ; cette description établit une base solide pour noter les différences que chaque observateur peut observer dans ses propres cultures.

La plupart de nos expériences ayant eu lieu en utilisant le *Chlorella vulgaris*, nous pensons qu'il est utile de résumer ici le développement de cette Algue.

Le *Chlorella vulgaris* Bey.

Cette petite Algue, à l'état de liberté, se trouve dans les

(1) Grintzesco : *Recherches sur la morphologie et la physiologie du* Chlorella vulgaris (Revue générale de Botanique, XV, 1903, 1).

étangs, les fossés ; elle se montre aussi spontanément dans les flacons où l'on conserve de l'eau ordinaire ou même de l'eau distillée, à la lumière, ce qui montre bien que ses exigences sont très faibles vis-à-vis du milieu extérieur.

Les cellules sont arrondies ou légèrement ovales : leur diamètre varie entre 3 et 6 μ ; mais il nous a été donné, comme à ceux qui ont étudié cette espèce, d'observer des cellules géantes ayant jusqu'a 12 μ et davantage et aussi des cellules ayant un diamètre de 2 μ à peine : celles-ci sont tellement légères qu'elles restent fréquemment en suspension dans le liquide.

La membrane, selon Grintzesco, est de nature pectique, dans sa portion externe qui fixe fortement le bleu de méthylène et la vésuvine : le ciment qui unit les jeunes spores, à la sortie du sporange, est également de nature pectique : la paroi interne de la membrane est cellulosique et se colore en violet par le chlorure de Zn iodé.

Nous signalerons, à propos de la structure de cette membrane, une particularité qui semble avoir échappé aux observateurs précédents : cette membrane a l'aspect lisse et homogène ; mais si l'on fait agir le Gram, on constate parfois l'existence de stries très nettes au nombre d'une douzaine environ ; l'effet produit ressemble à celui que donnerait une série d'anneaux disposés obliquement et allant en diminuant de diamètre, à partir de l'équateur de la cellule.

Cette structure de la membrane cellulaire existait tout aussi bien dans le *Chlorella vulgaris* variété *genevensis* Chodat, qui nous avait été fournie, en culture pure, par le savant professeur de Genève, que dans les cultures obtenues par nous du *Chlorella vulgaris*.

La cellule renferme un chromatophore en plaque plus ou moins développée, plus ou moins épaissie dans sa partie médiane qui renferme le pyrénoïde : dans certaines cultures le chromatophore est réduit à un simple croissant dans lequel le pyrénoïde semble avoir disparu :

dans d'autres cultures, et en particulier dans les milieux liquides, le chromatophore est très développé et le pyrénoïde très apparent.

L'amidon est localisé en couche mince autour du pyrénoïde ou bien on le trouve en granules plus ou moins gros dans tout l'intérieur du chromatophore ; cet amidon peut être remplacé, dans certaines cultures, par des granules qui se colorent en rouge brun par l'iodure ioduré et qui ont par conséquent les caractères de glycogène. Nous signalons également ce fait qui paraît être resté inaperçu : on distingue, dans beaucoup de cellules, des granulations, très fines et très nombreuses qui sont disposées régulièrement *sous la membrane et à son contact* ; elles se colorent faiblement en brun rougeâtre par le Gram ; dans la cellule vue de face on pourrait croire que ces granulations font partie de la membrane.

Le protoplasma incolore renferme un noyau nucléolé très petit qui se prête mal à l'étude de la division : aussi ne pouvons-nous rien dire à cet égard.

La multiplication de l'Algue se fait dans des cellules mères ou sporanges provenant des cellules ordinaires : le nombre des spores formées dans chaque sporange est ordinairement de deux ou plus souvent de quatre ; selon Grintzesco, l'existence de deux spores par sporange est l'indice que la reproduction va s'arrêter et que les conditions sont défavorables au développement. Beyerinck a signalé comme fréquente la division par 16, alors que la plupart des auteurs la regardent comme tout à fait exceptionnelle, les sporanges ne renfermant ordinairement que quatre ou huit spores.

Ces divergences tiennent à la nature différente des milieux nutritifs employés ; nous avons très fréquemment rencontré dans des liquides à base de Knop et sans carbone organique une multiplication par sporanges à 16 spores ; ces spores étaient alors extrêmement petites : ces liquides, soumis à l'influence d'un bon éclairage, au mois de juin et

de juillet, devenaient verts en l'espace de quelques jours ; ces germes minuscules restaient en suspension dans le liquide ; nous avons noté également des sporanges qui paraissaient contenir 32 spores : mais la numération sur dès sporanges aussi petits n'étant pas sans difficulté, nous ne saurions rien affirmer.

La formation des spores, dans un sporange de *Chlorella vulgaris*, a lieu ordinairement par une suite de bipartitions : mais, d'après nos observations, les spores, lorsqu'elles sont au nombre de huit ou de seize, peuvent également se former par division simultanée : l'indication du fractionnement est donnée par des lignes de granulations qui délimitent des îlots polyédriques ; chacun de ces îlots polyédriques s'arrondit ensuite en une spore : cette formation simultanée des spores dans les sporanges m'a paru en rapport avec la grande vigueur des cultures.

La mise en liberté des spores a lieu par déchirure de la membrane du sporange et les spores qui sont poussées au dehors se séparent immédiatement et deviennent libres ; parfois, elles restent cependant unies entre elles par un ciment pectique intersporaire, pendant quelque temps, formant ainsi ce qu'on appelle un cénobe.

Il arrive parfois, assez rarement du reste, que des cellules isolées, ou même des sporanges, s'entourent d'une épaisse couche de gélatine et restent ainsi pendant une période plus ou moins longue ; nous avons même obtenu une culture en milieu liquide dans laquelle toutes ces cellules à gaine épaisse de gélatine étaient incrustées de carbonate de chaux ; l'action d'un acide faible, en faisant disparaître ce carbonate, laissait apercevoir les nombreuses stries concentriques de l'épaisse couche de gélatine.

C'est également dans un tube où le liquide de Knop mélangé à de l'eau ordinaire stérilisée avait subi une évaporation lente que nous avons obtenu l'enkystement de toutes les cellules.

Dans ce tube les cellules du fond, celles qui formaient le dépôt, étaient restées vertes : les autres, qui constituaient un revêtement sur les parois, étaient devenues jaunes: les cellules possédaient cette même couleur jaune très loin au-dessus du niveau dans l'atmosphère humide du tube.

Ces cellules enkystées avaient un diamètre de 8 μ environ ; leur membrane était épaisse ; elles étaient exactement sphériques ; le contenu se montrait granuleux, avec globules oléagineux réfringents : il présentait une belle couleur jaune d'or ; on rencontrait beaucoup de sporanges dont les deux spores étaient ainsi transformées en kystes ; quelques très rares sporanges à quatre cellules avaient subi la même transformation : un des kystes était double, c'est-à-dire que l'enkystement avait porté sur une cellule mère incomplètement divisée en deux.

Il s'agissait bien des kystes du *Chlorella vulgaris :* certaines cellules de même forme et de même structure, avaient conservé leur coloration verte et se trouvaient mélangées, dans le même revêtement, avec des cellules ordinaires.

Chodat a signalé la production de carotine dans une espèce isolée par lui, le *Chlorella rubescens ;* mais cette production de carotine n'est pas liée, comme ici, à un enkystement (1). L'existence d'un enkystement, avec formation de kystes caractéristiques, n'avait pas encore été signalée jusqu'ici, semble-t-il, dans le genre *Chlorella.*

Certaines de nos cultures ont été contaminées par un organisme inférieur, de nature animale, dont la présence dans les cultures pourrait donner lieu à des interprétations erronées : ce parasite, qui appartient sans doute aux Monadinées zoosporées, s'introduit à l'intérieur des cellules, où il reste tout d'abord inaperçu : sa présence n'est indiquée que par l'apparition d'une ou de deux granulations rouges : ces granules rouges rappellent tout à fait le point oculiforme de

(1, Chodat : *Monographie d'Algues* (Loc. cit., p. 100).

certaines zoospores d'Algues ou de flagellés : on aurait pu voir dans l'existence de ces granules un caractère de la cellule, et nous avons failli tomber dans cette erreur ; en examinant longuement et attentivement ces formations, nous avons reconnu la présence du parasite qui les produisait : ce parasite se nourrit aux dépens du protoplasma et du chromatophore ; comme dans les cas analogues, la granulation rouge est le résidu de la digestion, et lorsque la cellule est complètement vidée de son contenu, le parasite apparaît sous la forme d'une petite sphère brillante.

Le temps nous a manqué pour suivre le développement de ces sphères ; mais nous croyons être dans la vérité en rapprochant ce parasite de l'*Endomonadina* que nous avons décrit autrefois sous le nom d'*E. concentrica* (1).

Le nouveau genre *Endomonadina* était ainsi caractérisé : Monadine vivant à l'intérieur des cellules; protoplasma s'incorporant le contenu de la cellule ; résidus de la digestion expulsés avant la formation du sporange : sporange entouré de mucus à stries concentriques : il est sphérique ou elliptique, ayant une taille de 3 à 4 μ, et forme une dizaine de zoospores.

L'espèce *E. concentrica* vivait à l'intérieur de cellules vertes très petites que nous avions rapprochées avec doute du *Palmella hyalina* de Brébisson : il me paraît certain du moins qu'il ne s'agissait pas de chlorelles à cause de l'absence de sporanges ; d'autre part, nous n'avons pas remarqué autour du parasite des Chlorelles les couches concentriques vues autrefois sur *E. concentrica* : dans ces conditions, il est préférable, semble-t-il, de séparer les deux espèces : le parasite qui contamine les cultures de Chlorelles et y détermine une épidémie caractéristique recevra le nom d'*Endomonadina Chlorellae*.

(1) P.-A. Dangeard : *Mémoire sur quelques maladies des Algues et des animaux* (Le Botaniste, série II, 1890-1891, p. 238).

2° Genre *Scenedesmus*.

L'étude de ce genre et des nombreuses espèces qui le composent est extrêmement difficile : Chodat, au moyen de cultures pures, a réussi à caractériser nettement un certain nombre d'aspects dont on trouvera la description complète dans son dernier mémoire.

Nous croyons utile d'indiquer la méthode qu'il préconise pour obtenir et séparer les espèces qui vivent ensemble. Les *Scenedesmus* qu'il a isolés se trouvaient, pour la plupart, dans un petit étang à canards dont l'eau était riche en substances organiques et par conséquent en bactéries et champignons (1).

« On préparera des flacons Erlenmeyer coniques contenant 20 centimètres de liquide nutritif, solution de Detmer au 1/3. On ajoute du chlorure de fer à la dose de 0,01 à 0,1 0/0 et on inocule cette solution préalablement stérilisée par l'eau verte de l'étang, en ayant soin de n'introduire que quelques gouttes du milieu naturel. Tandis que dans les flacons sans fer, la multiplication est excessivement lente ou nulle, dans les flacons additionnés de chlorure ferrique il y a en peu de jours une production excessive de cellules vertes et, selon les espèces et la concentration, la masse verte peut devenir énorme en peu de temps.

« On trouvera quelquefois avantageux d'ajouter du chlorure de sodium : les concentrations avantageuses sont pour le chlorure de sodium 0,10 à 0,20 0/0 et pour le chlorure ferrique 0,005 à 0,02 0/0. On peut alors procéder à la multiplication et à la séparation des germes dans des milieux agarisés et pauvres en matières salines : nous choisissons habituellement la solution nutritive minérale donnée par Detmer dans son *Traité de physiologie* : il faut la diluer au 1/3. Au bout de quelques semaines, on voit apparaître à l'intérieur de

(1) Chodat : *Monographie d Algues en culture pure* (Loc. cit., p. 13).

la gélose les points verts qui correspondent aux colonies des algues. On prélève au moyen d'un fil de platine stérilisé et on transporte des germes sur l'agar glycosé 2 0/0. Il vaut mieux à ce moment procéder à un second triage. Lorsque les nouvelles colonies se sont agrandies, on peut les examiner au microscope : on ne retient que celles qui sont sans bactéries, puis on sépare de nouveau ces organismes par un nouveau triage sur agar Detmer 1/3. Si toutes les colonies sont identiques, soit comme mode de croissance, comme couleur ou comme morphologie cellulaire, on est réellement en présence d'un matériel homogène. »

Chodat a isolé par ce procédé plus de douze espèces de *Scenedesmus*, et c'est avec leur aide qu'il a fait une revision du genre ; il a bien voulu nous fournir une culture pure du *Scenedesmus acutus*, qui nous a servi à faire quelques-unes de nos expériences sur l'assimilation chlorophyllienne.

Chodat, dans son dernier mémoire, a établi, aux dépens du groupe des « acuti », deux espèces, l'une désignée sous le nom de *Scenedesmus dimorphus* et la seconde sous le nom de *Scenedesmus obliquus* : celle-ci fait l'objet d'une description étendue, dans laquelle ce savant a montré que l'algue en question présente des apparences variées : 1° stades de *Dactylococcus infusionum* Naegeli ; 2° stades *Rhaphidium minutum* ; 3° stades chlorelloïdes ou pleurococcoïdes.

Nos cultures nous ont montré toutes ces formes que nous signalerons en donnant la description de nos expériences de synthèse chlorophyllienne.

Cette espèce, par son développement extrêmement rapide, forme comme les *Chlorella* un matériel de choix, pour l'emploi de notre méthode, dans la recherche des radiations actives.

Nous avons quelques raisons de croire que les *Stichococcus* pourront être également utilisés avec succès, bien que nous n'ayons jamais jusqu'ici réalisé d'expériences avec des

cultures pures de ces Algues ; mais nous avons, dans plusieurs de nos observations sur la radiation en cultures ordinaires, trouvé ces algues se multipliant abondamment au milieu des Chlorelles.

Genre *Stichococcus*.

Ce genre a été créé par Naegeli pour une espèce, le *Stichococcus bacillaris*, de laquelle il détache deux variétés, *major* et *minor*.

On trouvera dans le magistral mémoire de Chodats l'exposé complet des divergences qui se manifestent entre algologues sur la façon de comprendre ce genre ; nous adoptons le point de vue qui consiste à placer dans le genre *Stichococcus* les espèces dépourvues de zoospores, ne se reproduisant que par scissiparité, et dont les cellules ne possèdent pas de pyrénoïde, à aucun moment de leur existence.

Stichococcus bacillaris Naegeli.

Cette Algue se rencontre souvent au milieu des Chlorelles : nous l'avons récoltée autrefois, en très grande abondance, sur des chapeaux de Polypore ; elle a été recueillie également sur la terre humide, l'écorce des arbres, etc.

Les cellules sont ordinairement cylindriques, à extrémités plus ou moins arrondies ; leur diamètre est de 2 à 3 μ sur une longueur de 4 à 7 μ : le chromatophore forme une plaque pariétale à contour plus ou moins arrondi : le noyau se trouve dans le protoplasma incolore ; sa structure comprend une membrane nucléaire, du nucléoplasme et un nucléole central.

La multiplication a lieu par un simple cloisonnement de la cellule en deux, chaque moitié s'isolant ensuite rapidement ; parfois cependant la dissociation ne se produit pas immé-

diatement et les cellules restent alors réunies momentanément en un filament dont les diverses parties se désarticulent facilement.

On ne connaît pas d'autres modes de développement chez ces Algues.

Chodat a décrit un certain nombre d'espèces de *Stichococcus* par le moyen des cultures pures : mais ces espèces ne se laissent pas distinguer sous le microscope avec sécurité : ce sont des détails de végétation, de « morphologie sociale », l'apparence différente des colonies sur les mêmes milieux nutritifs, qui permettent d'établir les distinctions.

Nadson (1) a cultivé le *Stichococcus bacillaris*, en faisant agir des radiations de diverses couleurs : la lumière rouge, celle que laisse traverser une solution de bichromate de potasse, ralentirait le développement et amènerait finalement une désorganisation du contenu cellulaire, et en particulier du chromatophore. La lumière bleue, celle qui a traversé une solution d'oxyde de cuivre ammoniacal, n'a pas cette action destructive : sous son influence, les cultures se développent d'abord beaucoup plus lentement qu'à la radiation totale, mais au bout de quatre à six mois, les différences disparaîtraient.

Nos expériences infirment complètement ces résultats, ainsi qu'on le verra dans la suite de ce travail.

II. — L'INFLUENCE DU MILIEU DE CULTURE ; ACTION DES AGENTS EXTÉRIEURS

Les nombreux expérimentateurs qui se sont occupés de ces questions se sont efforcés en général d'établir la valeur au point de vue de la nutrition de l'Algue, des diverses substances susceptibles de fournir à celle-ci son carbone : pour cela, ils ont ajouté à un milieu nutritif minéral des alcools, des acides, des hydrates de carbone, des gommes,

(1) Nadson : *Bull. du Jardin imp. bot. Saint-Pétersbourg*, X, 1910, 138.

des glucosides, des albuminoïdes, etc. : ils ont, en même temps, essayé de déterminer quelle était l'influence favorable ou défavorable de la lumière ou de l'obscurité sur de telles cultures : enfin, plusieurs ont envisagé les modifications de structure, de forme et de couleur que l'Algue subissait dans ces différents milieux.

Les conclusions, ainsi qu'on le verra, sont loin d'être concordantes.

Beyerinck avait montré que le *Chlorella vulgaris* utilisait les milieux riches en albuminoïdes et en hydrates de carbone (1).

Artari, de son côté, avait remarqué que des gonidies de Lichens (*Chlorococcum Xanthoricae*) continuaient à rester vertes, en se multipliant à l'obscurité (2).

Radais cultive le *Chlorella vulgaris* sur de l'extrait de malt (macération au 1/10 d'orge germé), solidifié par la gélose, sur des tranches de pommes de terre cuites à la vapeur, ou encore sur des blocs de plâtre, imprégnés d'extrait de malt. La multiplication des cellules se fait avec la même rapidité à la *lumière* et à *l'obscurité très complète* (3).

Le spectre du pigment vert est le même dans les deux cas, et pour une solution à 1/500 dans l'alcool, on a :

Bd. I	λ 691-645	; Axe moyen	λ 667
Bd. II	λ 628-604	; —	λ 618
Bd. III	λ 592-567	; —	λ 577

La bande d'absorption de la Xanthophylle est continue à partir de λ 511 ; elle débute par une pénombre de λ 7.

L'auteur se demande si le pigment est inactif à l'obscurité.

(1) Beyrinck : *Cultur. mit Zoochlorellen, Lichengonidien und anderen niederen Algen* (Bot. Zeit., n° 45, 1890).

(2) Artari : *Ueber die Entwick. der grunen Algen* (Bull. Soc. imp. des naturalistes de Moscou, n° 1, 1899).

(3) Radais : *Sur la culture pure d'une Algue verte* (Comptes rendus Acad. sc. Paris, 1900, t. CXXX, p. 793).

Bouilhac constate (1) qu'avec le *Nostoc ponctiforme* végétant en compagnie de Bactéries fixatrices d'azote, la lumière n'est pas nécessaire à la croissance ; *la plante végète à l'obscurité lorsqu'on ajoute du glucose.* L'auteur s'est demandé si divers sucres pourraient remplacer le glucose, et il note que le saccharose, le maltose et l'amidon peuvent être utilisés à la place de glucose ; à *l'obscurité*, le *Nostoc* n'entre en végétation que vers 30°, alors qu'à *la lumière* sa multiplication débute parfois à 20°.

Matruchot et Molliard ont fait des expériences sur le *Stichococcus bacillaris* (2) ; ils ont étudié quelle était l'influence de diverses substances sur l'intensité du développement : elle a lieu dans l'ordre suivant :

1° Les glucoses sont les plus favorables.

2° Viennent ensuite les dextrines, gommes, glycérine et mannite.

3° Les saccharoses, lactoses, maltoses, peptones, inulines et amidon agissent peu.

A l'obscurité, l'intensité du développement est presque aussi grande qu'à la lumière, avec un très léger étiolement.

La couleur est peu modifiée par les saccharoses ; les glucoses donnent une teinte jaune à l'Algue ; les peptones rendent le pigment de couleur olive.

Le leucite devient flou ou disparaît complètement sous l'action du glucose.

Grintzesco est, sans contredit, celui qui a étudié avec le plus de soin la physiologie des Algues en cultures pures (3) ; voici le tableau comparatif qu'il donne pour deux espèces *Scenedesmus acutus* et *Chlorella vulgaris* :

(1) Etard et Bouilhac : *Sur la présence de la chlorophylle dans un Nostoc cultivé à l'abri de la lumière* (Comptes rendus, t. CXXIV, 1898).

(2) Matruchot et Molliard : *Variation de structure d'une Algue verte sous l'influence du milieu nutritif* (Revue générale de bot., 1902. V. XIV, p. 193)

(3) Grintzesco : *Contribution à l'étude des Protococcacées*, Chlorella vulgaris (Revue générale de Botanique, vol. XV, 1903).

TABLEAU COMPARATIF

de la Physiologie de *Scenedesmus acutus* Meyen
et de *Chlorella vulgaris* Beyer.

Cultures sur :	*Scenedesmus*	*Chlorella*
1. Agar additionné de sels minéraux.	Développement au bout de 8 à 10 jours, de cellules libres de formes diverses. Membranes épaissies. Division active pendant 20 jours.	Développement au bout de 6 à 8 jours. Cellules libres, arrondies, réniformes ou polyédriques. Membranes minces. Division active au début des cultures.
2. Agar nutritif additionné de glucose.	Développement activé. Colonies 3 fois plus grosses. Anaérobisme marqué. Le glucose est nuisible, s'il agit trop longtemps.	Développement activé. Colonies 3 fois plus grosses. Même facilité de développement pour toutes les parties du substratum. Le glucose n'est jamais nuisible.
3. Gélatine nutritive.	Développement au bout de 10 à 15 jours. Colonies sphériques. *Scenedesmus* liquéfie la gélatine.	Développement au bout de 15 à 20 jours. Colonies sphériques 4 à 5 fois plus petites que sur l'agar. Colonies plus grosses à la surface du substratum. *Chlorella* ne liquéfie pas la gélatine.
4. Gélatine nutritive et glucose.	Développement au bout de 5 à 6 jours. Cellules grandes et isolées. Liquéfaction plus active de la gélatine. Le glucose est nuisible, s'il agit trop longtemps.	Développement rapide. Colonies 2 à 3 fois plus grosses que quand il n'y a pas de glucose. Cellules plus grandes. Pas de liquéfaction de la gélatine.
5. Gélatine nutritive et peptone.	1 0/0 de peptone est nuisible, il arrête complètement le développement. La plante en supporte 0,5 0/0, mais le peptone ne favorise pas sa culture.	La plante supporte 1 0/0 de peptone, mais cette substance ne la favorise jamais.

Cultures sur :	*Scenedesmus*	*Chlorella*
6. Gélatine nutritive dont l'azote est donné sous forme de peptone seulement.	Le peptone est une source d'azote, mais remplace incomplètement les nitrates.	Le peptone est utilisable comme source d'azote et peut remplacer les nitrates.
7. Gélatine seule.	Il y a retard de développement et celui-ci est même arrêté quand l'expérience dure trop longtemps.	Le développement est retardé et ne se poursuit que pendant peu de temps.
8 Plaques poreuses.	Développement ralenti. Polymorphisme très accentué avec tendance des cellules à s'agrandir et à prendre la forme sphérique. Membranes plus épaisses.	Développement ralenti. Pas de polymorphisme, mais grosses cellules. Membranes plus épaisses.
9. Action de la lumière électrique.	Développement au bout du quatrième jour. Polymorphisme accentué. Cellules géantes.	Développement au bout du quatrième jour, Pas de polymorphisme. Cellules rondes et libres.
10. Action de l'obscurité.	L'Algue se développe et contient de la chlorophylle à condition qu'elle ait du glucose comme source de carbone. Colonies 3 ou 4 fois plus petites qu'à la lumière.	L'Algue se développe, elle est verte, mais le substratum doit être très nutritif. Les colonies se développent plus vigoureusement qu'à la lumière.
11. Action de la chaleur.	Température maxima 30°. Température minima au-dessus 2°.	Température maxima 35°. Température minima au-dessous de 1,8°.
12. Action du vide.	Développement au bout de 23 à 25 jours. Cellules un peu plus grosses qu'à la pression atmosphérique ordinaire.	Développement au bout du vingtième jour.

Nous retiendrons plus spécialement du mémoire de Grintzesco les résultats suivants :

Le *Chlorella vulgaris* se développe assez rapidement dans *l'eau ordinaire stérilisée* : dans *l'eau distillée additionnée de sels nutritifs*, le développement est, dans une certaine limite, en rapport avec la quantité de sels contenus dans le substratum ; la *trop vive lumière* est défavorable et peut entraîner la mort : l'Algue se multiplie bien à la *lumière électrique* malgré la richesse de celle-ci en rayons ultra-violets : les colonies sont visibles à partir du 4e jour, alors qu'à la lumière solaire elles n'apparaissent qu'au bout de 8 jours ; dans des cultures additionnées de 2 0/0 de glucose et ensemencées par stries, *le développement à l'obscurité est plus vigoureux qu'à la lumière totale* ; la température de 20°, avec des cultures au glucose, est très favorable à la formation des colonies, qui apparaissentdès le 3e jour ; à 30°, le développement est faible ; à 35°, l'Algue cesse de se multiplier.

On n'a pas encore jusqu'ici dégagé de façon précise l'influence de l'obscurité et de la lumière sur le développement dans les cultures additionnées de glucose ou d'autres hydrates de carbone.

Radais, on l'a vu, n'a constaté aucune différence pour le *Chlorella vulgaris* entre les cultures faites à l'obscurité totale ou à la lumière ; Grintzesco signale *une plus grande vigueur des colonies développées à l'obscurité après un ensemencement par stries*. Or, Charpentier, en cultivant le *Cystococcus humicola*, arrive à des résultats totalement différents (1) : *la lumière est très utile à la plante, même dans les milieux nutritifs au glucose* : ainsi dans deux cultures, celle qui est restée à la lumière fournit en poids sec 330 mgr., alors que la seconde culture, conservée à l'obscurité, ne donne que 27 mgr.

D'après Adjarof (2), le *Stichococcus minor* cultivé sur

(1) Charpentier : *Recherches sur la physiologie d'une Algue verte* (Thèse, 1903).

(2) Adjarof : *Recherches expérimentales sur la physiologie de quelques Algues vertes* (Inst. bot. Université de Genève, 6e série, 1905, p. 104).

gélose-Detmer glucosée à 2 0/0 a sa croissance activée, sans décoloration des cellules par la lumière ; à l'obscurité, le développement est ralenti, tout en restant assez fort ; *« l'obscurité provoque une diminution dans l'intensité de la teinte chlorophyllienne, intensité suivie d'un affaiblissement dans le développement...* il semble que la légère décoloration de *Stichococcus minor* dans l'obscurité soit provoquée non par le saprophytisme de l'Algue, mais par le manque de lumière ».

Si nous nous reportons à un récent mémoire de Kufferath (1) très complet, on voit que les cultures à la lumière du *Chlorella* sont presque toujours plus abondantes que celles qui ont été maintenues à l'obscurité, et cela quel que soit le milieu nutritif employé, surtout si celui-ci est liquide.

Les rares exceptions signalées par l'auteur n'ont même pas une valeur absolue indiscutable : ces exceptions visent le milieu calcique employé additionné d'oxamide, de mannite ou de glycérine.

Avec l'oxamide, la culture du *Chlorella* est très faible à *la lumière ; à l'obscurité*, traces de développement ; différence insignifiante qui aurait sans doute pu se produire en sens inverse dans d'autres expériences.

Avec la mannite, *à la lumière* en milieu calcique, le développement du *Chlorella* est faible : les cultures, maintenues à *l'obscurité*, se sont montrées après trois mois plus abondantes qu'à la lumière : mais comme ces dernières cultures étaient contaminées par un *Sclerotinia*, on peut penser que la présence du Champignon a agi favorablement sur le développement de l'Algue.

Enfin, en ce qui concerne la glycérine, une culture sur

(1) Kufferath : *Contribution à la physiologie d'une Protococcacée nouvelle*, Chlorella luteo-viridis (Extrait du Recueil de l'Institut bot. Leo Errera t. IX, 1913).

gélose à 5 0/0 de glycérine est, après 14 jours, un peu plus abondante *à l'obscurité* qu'*à la lumière ;* mais là encore l'auteur note que sur gélose à 1 0/0 de glycérine, le développement a été assez abondant à la lumière.

En résumé, il résulte des tableaux publiés par Kufferath que la différence entre cultures sur gélose, additionnée de diverses substances, et placées les unes à la lumière, les autres à l'obscurité, est souvent peu sensible ; lorsque cette différence existe, *elle est souvent en faveur de l'action utile de la lumière :* une différence, dans le même sens, existe beaucoup plus prononcée pour les cultures en milieu liquide, qui sont *nettement favorisées par la lumière.*

Il semble bien résulter de l'ensemble de ces recherches, que la lumière, en tant qu'elle n'est pas trop vive, *exerce une action favorable sur les cultures renfermant du carbone organique, sous une forme quelconque* : les quelques rares exceptions signalées résultent peut-être d'expériences trop peu nombreuses ou mal interprétées ; la nutrition saprophytique qui s'exerce seule à l'obscurité est donc complétée, dans une mesure assez variable, à la lumière, par la nutrition holophytique : *si ces deux modes de nutrition ne sont pas exclusifs l'un de l'autre, il n'est pas facile cependant de savoir dans quelle mesure ils interviennent l'un et l'autre, lorsqu'ils fonctionnent simultanément.*

A l'obscurité, les cultures finissent fréquemment par prendre une teinte jaune, surtout lorsque le milieu nutritif renferme du glucose : elles peuvent même se décolorer plus ou moins complètement : l'un des exemples les plus remarquables à cet égard est celui du *Chlorella* (*Palmellococcus*) *variegata* Bey : Chodat, qui a étudié cette Algue avec beaucoup de soin, obtient rapidement sur milieu glucosé la décoloration des cellules : cette décoloration se maintient ainsi presque indéfiniment, de telle sorte que l'on pourrait croire à une forme stable. Si, cependant, après un grand nombre de générations et six cultures successives, on trans-

porte cette Algue sur gélose, sans sucre ni peptone, mais additionnée de solution nutritive Detmer 1/3, elle verdit aussi bien à la lumière qu'à l'obscurité (1).

Il ne se produit donc pas de mutation pouvant donner naissance à une forme incolore d'Algue, analogue à celles qui ont été découvertes et étudiées par Krüger sous le nom de *Prototheca*.

Les phénomènes de chlorose chez les Algues présentent un grand intérêt. La décoloration n'est pas due uniquement à l'absence de lumière : diverses substances chimiques la provoquent : à la lumière, un excès de nourriture assimilable a le même effet ; l'insuffisance du fer dans les cultures est également une cause de décoloration : la chlorose se produit sous des influences d'ordre tératologique, ou bien encore elle est en relation avec la nutrition saprophytique, mais elle entraîne d'ordinaire une diminution de la vitalité des cellules.

On trouvera sur ce sujet de nombreux détails dans le mémoire de Kufferath (2).

Lorsqu'on envisage le développement des Algues dans les cultures additionnées de divers corps organiques, le mémoire de Kufferath fournit des renseignements très complets ; nous ne retiendrons ici que ses conclusions : « Si le *Chlorella luteo-viridis* peut utiliser à l'occasion des corps assez nombreux, il n'en est pas moins bien établi que quelques-uns seulement sont vraiment favorables et utiles pour son alimentation et son développement. »

L'assimilation se fait bien, surtout pour les sucres en C^6 et C^{12} ; les hydrates de carbone plus complexes ont des valeurs très inégales : les substances albuminoïdes pourraient assez bien se ranger, comme valeur nutritive, après les hydrates de carbone : *en résumé, si l'on veut avoir des*

(1) Chodat : *Monographies d'Algues* (Loc. cit., p. 119).
(2) Kufferath : *Loc. cit.*, p. 41.

cultures luxuriantes à l'obscurité comme à la lumière, il faut ajouter de préférence au milieu nutritif du glucose, dont le rôle favorable est reconnu par les nombreux savants qui se sont occupés de la culture des Algues.

On n'est pas encore très bien fixé sur l'influence de la réaction acide ou alcaline du milieu nutritif. D'après Artari, le *Chlorella communis* préfère une faible réaction alcaline, alors que l'inverse existe pour le *Stichococcus bacillaris* : selon Richter, la plupart des algues se développent mieux dans un milieu légèrement alcalin. Kufferath considère comme un fait acquis que les acides libres, ou les alcalis libres, même à doses faibles, ont en général une action défavorable sur le développement : si la réaction dépend de la composition chimique des milieux nutritifs, on ne saurait généraliser ; il faut étudier chaque cas particulier ; en ce qui concerne le *Chlorella luteo-viridis*, l'auteur a obtenu d'excellents développements en milieu acide, et d'autre part le milieu alcalinisé par du carbonate de potassium donnait également des cultures vigoureuses (1).

La température intervient d'une façon active dans le développement : Kufferath a démontré que le *Chlorella luteo-viridis* peut résister de douze à vingt-quatre heures à la température de 38° C. : cette température est rarement atteinte dans les endroits où végète l'Algue ; celle-ci se développe vigoureusement, à la température de 18 à 23° ; à 42-43° C. l'Algue meurt.

« L'examen de la littérature, écrit Kufferath, ne permet pas encore de préciser l'action des divers facteurs sur la transformation des formes cellulaires des Algues... on entrevoit l'influence de certains composés chimiques, de certaines conditions physiques. Il est probable qu'une étude morphologique approfondie de nombreuses Algues permettra de préciser l'action de divers facteurs externes sur la forme

(1) Kufferath : *Loc. cit.*, p. 30.

des cellules. Jusqu'à maintenant, nos connaissances sur ce sujet sont fragmentaires et n'autorisent pas de généralisation (1.) »

Kufferath, qui a étudié de nombreuses cultures de *Chlorella luteo-viridis*, admet que le diamètre cellulaire est modifié surtout par l'action de la lumière : *à l'obscurité, le diamètre cellulaire est beaucoup plus petit qu'à la lumière*, il semble aûsssi indifférent pour l'Algue qu'elle soit en milieu liquide ou milieu solide.

Cette conclusion est sans doute exacte pour l'espèce étudiée par l'auteur : elle n'est pas générale. Nous avons eu l'occasion d'obtenir des cellules très grosses de *Scenedesmus acutus* dans des cultures maintenues un an à l'obscurité, et il ne semble pas que Chodat en ait obtenu de même diamètre à la lumière.

Nous allons maintenant rapporter quelques expériences personnelles de culture, desquelles nous avons essayé de dégager, selon les circonstances, la valeur de différents milieux nutritifs, l'influence de la lumière et de l'obscurité, celle de la température, etc., ainsi que les modifications dans la structure et le contenu cellulaire.

III. — OBSERVATIONS GÉNÉRALES SUR QUELQUES MILIEUX DE CULTURE A LA LUMIÈRE ET A L'OBSCURITÉ

La valeur d'un liquide nutritif minéral est fonction non seulement de sa composition chimique, mais aussi de sa concentration ; il suffit de faire varier, même légèrement, la proportion des substances constitutives du milieu pour en modifier sensiblement les propriétés : tel milieu conviendra à la culture d'une algue, alors qu'il sera peu favorable ou même impropre à celle d'une autre espèce : des

(1) Kufferath : *Loc. cit.*, p. 180.

proportions infinitésimales d'une substance comme le fer et le manganèse sont susceptibles également de changer du tout au tout les propriétés nutritives du milieu.

L'aération de l'eau, sa teneur en acide carbonique dissous, sont des facteurs importants, ainsi que la température.

La question est donc infiniment complexe et notre but n'est pas de l'aborder sous cette forme : nous avons voulu faire un simple examen comparatif entre les milieux nutritifs les plus employés.

Nos expériences sur la photosynthèse exigent un développement rapide, à une intensité lumineuse faible, si l'on veut mettre en évidence toutes les radiations actives.

D'autre part, si le spectre doit être projeté sur la paroi des cuves de culture, il est utile de savoir d'avance si, en culture pure, le liquide nutritif employé comporte un développement de l'algue sur des parois verticales : dans le cas contraire, il est nécessaire de se servir d'un autre dispositif : le semis aura lieu, par exemple, sur du papier buvard, qui retient l'algue, au moins en partie, pendant la durée de l'expérience.

En rappelant les principes sur lesquels repose notre méthode, on se rendra compte de l'importance de chacun de ces points :

1° Dans un milieu contenant tous les aliments minéraux essentiels, sauf le carbone, une plante est dans l'impossibilité absolue de se développer à l'obscurité.

2° Exposée à la radiation totale dans ce même milieu minéral, la plante prendra son carbone à CO^2 et elle se multipliera activement.

3° La culture, en l'absence de carbone organique, exposée aux diverses radiations d'un spectre, indiquera par les différences de son développement le degré d'activité de chaque radiation dans la photosynthèse, avec une précision mathé-

matique : s'il existe des radiations inactives à l'intensité donnée du spectre, elles seront marquées par l'absence de tout développement.

Bien que le premier principe semble à l'abri de toute discussion et de toute controverse, nous avons tenu, ne voulant rien laisser à la critique, à faire plusieurs expériences sur des cultures d'algues en milieu minéral, disposées les unes à l'obscurité, alors que les autres étaient maintenues à la lumière : parallèlement ou simultanément, nous examinerons le développement des mêmes algues, sur milieu renfermant du carbone organique, soit à la lumière, soit à l'obscurité.

A

L'expérience suivante va permettre de mettre en relief certaines modifications de la structure du *Chlorella vulgaris*, cultivé sur carotte, *à la lumière* et *à l'obscurité*.

L'expérience a commencé le 14 septembre 1912 : 10 tubes contenant un fragment de carotte, comme milieu nutritif, ont été ensemencés avec le *Chlorella vulgaris* de nos flacons de culture, isolé à l'état pur : cinq de ces tubes ont été conservés au laboratoire à une température qui a varié de 10 à 15° environ : ils ont été placés à la lumière d'une fenêtre ; les cinq autres ont été conservés dans une étuve dont la température était de 25° : ils ont été maintenus pendant toute la durée de l'expérience à l'obscurité.

Les différences de température auxquelles les deux lots ont été soumis ne permettent pas de dégager d'une manière précise l'influence de la lumière et de l'obscurité sur la vigueur du développement : nous nous sommes borné à rechercher les principales modifications éprouvées par l'Algue dans ces conditions de culture.

		Obscurité	*Lumière*
23 décembre 1912	1.	Début de colonie	Bon développement.
	2.	Stérile	Développement faible.
	3.	Développement assez avancé	0
	4.	Début de colonie	0
	5.	Id.	0
26 décembre	1.	Développement moyen	Bon développement.
	2.	0	Id.
	3.	Développement luxuriant	0
	4.	Belle colonie	0
	5.	Belle colonie + Bactéries	0
30 décembre	1.	Très beau développement	Colonie longue et large.
	2.	0	Développ. assez bon.
	3.	Très beau développement	Début.
	4.	Id.	0
	5.	Belle colonie + Bactéries	0
9 janvier 1913	1.	Très beau développement	Très bon.
	2.	0	Moyen.
	3.	Très beau développement	Assez bon.
	4.	Id.	Faible.
	5.	Envahi par les Bactéries	0

La multiplication du *Chlorella*, d'après les constatations faites, s'est toujours montrée nettement supérieure dans les tubes maintenus à l'obscurité ; la végétation était luxuriante, les colonies nombreuses et larges ; celles de la surface se réunissaient pour former un enduit vert épais.

Tout ce que l'on peut dire, c'est que l'action de la lumière, bien qu'elle soit favorable ordinairement, n'a pas compensé ici l'écart de température ; celui-ci, à partir du 6 janvier, avait diminué, la température du laboratoire ayant oscillé, à partir de cette date, entre 16 et 18°.

Un premier prélèvement, effectué le 3 janvier 1913, a permis de faire les constatations suivantes :

1° *Chlorella cultivé à la lumière.* — Les cellules sont toutes à peu près de même grosseur : elles sont sphériques,

la membrane est si mince qu'elle ne se voit nettement qu'à l'aide de réactifs, comme le vert d'iode et la safranine ; avec ces réactifs, la membrane n'apparaît plus comme homogène ; elle est striée très régulièrement dans son épaisseur : ces stries sont au nombre de dix à quatorze ; quelquefois, la membrane, sur un côté, est gélifiée, en une sorte de petite calotte colorée en bleu par le vert d'iode.

On soupçonne, à l'aide de l'iode ou de la solution de Gram, un pyrénoïde dans quelques cellules ; mais il est le plus souvent indistinct. La cellule se colore en jaune brun, mais sans granule d'amidon net : on dirait plutôt du glycogène : le chromatophore est d'un vert clair, en forme de croissant remplissant plus ou moins la cellule.

On observe des cellules mères à membrane mince dont le contenu se divise en quatre ; on rencontre aussi beaucoup d'amas de huit cellules réunies plus ou moins régulièrement ; ils proviennent de sporanges dont la membrane a disparu : il existe, semble-t-il, une certaine tendance des cellules à rester ainsi réunies en cénobes pendant quelque temps.

2° *Chlorella cultivé à l'obscurité.* — Les cellules sont plus grosses qu'à la lumière : leur diamètre est aussi plus variable ; la culture renferme beaucoup de très petites cellules ; la membrane est mince, mais visible.

La structure de la membrane est la même qu'à la lumière : les stries ne sont apparentes que sur les cellules de taille moyenne et non sur les très petites cellules.

La culture renferme beaucoup de sporanges à quatre cellules ; mais un plus grand nombre en ont huit : pour ces derniers, la séparation des spores est simultanée.

Les cellules ne contiennent pas d'amidon : le pyrénoïde est absent ou indistinct ; la solution de Gram ne donne pas au contenu cellulaire une coloration jaune brun aussi accentuée que pour les cellules cultivées à la lumière.

Ainsi donc, la culture sur carotte, qui est très favorable à la multiplication rapide du *Chlorella vulgaris*, entraîne une

diminution très sensible dans l'épaisseur de la membrane et elle amène la disparition plus ou moins complète du pyrénoïde : pendant cette période de multiplication, l'amidon est remplacé par du glycogène.

Un second examen, effectué le 28 janvier, alors que les colonies ne subissaient plus de changement notable, nous fournit les indications suivantes :

Chlorella cultivé à la lumière. — Absence de cellules en division ; granules d'amidon remplissant tout le chromatophore ; cellules toutes à peu près de même taille ; pyrénoïde indistinct.

Chlorella cultivé à l'obscurité. — Absence de cellules en division ; le chromatophore est également rempli de grains d'amidon ; ils sont plus gros que dans les cellules restées à la lumière ; beaucoup de cellules sont presque incolores ; il existe de grandes différences de grosseur entre les cellules ; pyrénoïde indistinct.

Dans cette même expérience, 10 tubes sur agar glucosé avaient été également ensemencés dont 5 maintenus à l'obscurité dans l'étuve et 5 conservés à la lumière du laboratoire.

Le développement a toujours été bien inférieur à celui qui s'est produit sur les tranches de carotte : la végétation s'est montrée plus abondante à l'obscurité dans l'étuve jusqu'au début de février à cause de la température ; mais à partir du 17 février, le développement à la lumière a subi une reprise et de belles colonies sont apparues qui se sont étendues par la suite.

B

La seconde expérience est du 24 décembre 1912 : elle a été faite avec le *Chlorella vulgaris* variété *genevensis* ; elle avait pour but d'étudier :

1° Le développement relatif de l'algue sur trois milieux

différents : agar nutritif glucosé, liquide Detmer-Grintzesco glucosé, liquide Detmer-Chodat :

2° L'influence de la lumière et de l'obscurité sur ces trois milieux nutritifs.

L'ensemencement a lieu dans trente tubes répartis en trois lots de dix chacun : chaque lot correspond à la nature du milieu nutritif employé : cinq tubes de chaque lot sont placés les uns à l'obscurité dans une étuve dont la température est de 24 à 25° ; les autres sont placés à la lumière d'une fenêtre du laboratoire située au nord-est : la température du laboratoire a oscillé entre 10 et 16°.

1er Lot. — *Tubes agar nutritif glucosé.* — Le semis ayant été fait le 24 décembre, trois jours après, le 27, quatre tubes montraient à l'obscurité de l'étuve un développement très apparent ; les vingt-six tubes restants ne présentaient aucune trace de l'algue.

Il avait donc suffi de trois jours en milieu nutritif glucosé pour obtenir des colonies très visibles à l'œil nu, alors que Grintzesco indique qu'il faut, sur ce même milieu, de cinq à six jours.

Ces quatre tubes, le 30 décembre, au sixième jour de culture, ont des colonies d'une largeur de 1 centimètre ; le cinquième tube montre à son tour un début de développement.

Quant aux cinq tubes placés à la lumière et à une température relativement basse, ils commencent à montrer le sixième jour de culture un léger début de végétation ; ils sont donc à ce moment très en retard sur les précédents.

Le 2 janvier 1913, les tubes à l'obscurité ne présentent qu'un faible changement ; les colonies se sont peu étendues en largeur ; elles sont cependant plus épaisses.

Ce même jour, les cinq tubes placés à la lumière ont de belles colonies et la différence s'atténue entre cultures à l'obscurité et cultures à la lumière, malgré une différence de température d'une douzaine de degrés.

Le 6 janvier, les cultures sur agar glucosé, à la lumière du laboratoire avec une température qui atteint dans la journée 16°, sont nettement plus vigoureuses que celles qui sont à l'étuve à 24° ou 25° sur même milieu.

On peut donc conclure, semble-t-il, que si la lumière a retardé un peu l'apparition des colonies, elle a eu cependant une action favorable sur la croissance et la multiplication des cellules, dans les conditions de l'expérience, avec un écart de température d'une douzaine de degrés.

Le 17 février, les colonies dans les cinq tubes à la lumière sont larges, épaisses : à l'obscurité, la végétation s'est arrêtée et les colonies sont beaucoup moins étendues.

Nous procédons, ce même jour, à un examen microscopique des cellules dans ces tubes à l'agar nutritif glucosé.

Les cellules dans les cultures à la lumière ont une membrane d'épaisseur moyenne, avec des stries très régulières : elles sont de grosseur moyenne et sphérique ; sous la membrane, et à son contact, on distingue avec l'aide de la solution de Gram, une quantité de petites granulations très régulières qui forment une sorte de pavage ; on pourrait croire parfois qu'elles font partie de la membrane elle-même : ces granulations se colorent en brun rougeâtre faible par le Gram : le pyrénoïde est indistinct.

On rencontre de nombreux sporanges avec quatre ou huit spores arrondies ; la multiplication est donc active.

Les cellules, dans les cultures à l'obscurité, sont, il semble, un peu plus grosses, comme moyenne : il y a aussi de très petites cellules : la structure de la membrane est la même qu'à la lumière ; sous la membrane existe aussi un pavage de fines granulations : beaucoup de cellules sont presque incolores, le chloroleucite étant réduit à un croissant ; d'autres cellules sont vertes et granuleuses ; *elles contiennent de l'amidon en abondance.*

Les sporanges manquent, ce qui correspond à l'arrêt de

la végétation. Les différences dans les deux sortes de cultures sont donc les suivantes :

La taille des cellules à l'obscurité est plus inégale, et la grosseur moyenne un peu plus grande qu'à la lumière : le nombre des cellules incolores est également plus élevé : enfin ces cellules à l'obscurité renferment beaucoup de grains d'amidon, alors que ceux-ci manquent ou sont moins abondants dans les cellules à la lumière. Ces différences tiennent en partie tout au moins au fait qu'à la lumière, l'algue est en multiplication active, à cette date du 17 février 1913, alors qu'à l'obscurité, cette multiplication a cessé.

On n'avait pas encore, semble-t-il, signalé, chez les Chlorelles, l'existence de ces stries que nous venons de décrire dans la membrane des cellules : on ne les retrouve pas dans la plupart des milieux de culture : la présence de granules très réguliers, très fins, disposés en une couche unique sous la membrane, et se colorant en brun rougeâtre par le Gram, constitue encore un caractère assez remarquable. Le fait qu'il est parfois difficile de savoir si ces granules sont indépendants de la membrane ou en font partie, suggère l'idée qu'il existe peut-être une relation directe entre ces granules et la formation même de la membrane : mais c'est là un point sur lequel nous ne pouvons fournir aucune précision.

2e lot. — *Tubes Detmer Grintzesco glucosé.* — Le développement est beaucoup moins rapide au début que sur agar : ce n'est que le 4 janvier qu'une trace de végétation se montre : nous l'observons pour un tube sur cinq à l'obscurité et pour trois sur cinq à la lumière.

Les tubes placés à la lumière donnent, le 17 février, sauf un qui reste stérile, un dépôt abondant d'algues au fond, et aussi sur la paroi : nombreuses cellules en suspension dans le liquide : nous constatons qu'à l'obscurité, au contraire, quatre tubes sont restés stériles, et celui qui présentait, le 4 janvier, un début de végétation n'a guère progressé depuis.

Nous avions été fort surpris par cette remarque : aussi avons-nous été heureux de trouver un cas sensiblement analogue dans le mémoire de Kufferath à propos du *Chlorella luteo-viridis* : « En milieu liquide, à la dose de 1 0/0 de glucose, à la lumière, la culture devient très forte ; elle a une couleur vert pâle. La même culture *maintenue à l'obscurité* reste *faible* et a une teinte jaune ; on observe des cellules à plastides à peu près complètement décolorées, indistinctes. La plupart des cellules présentent un contenu granuleux ou renferment des sphères réfringentes de substances huileuses » (1) ; par les figures que donne l'auteur pour une culture maintenue trois mois à l'obscurité, on se rend compte que les cellules sont en voie de dégénérescence.

Ainsi donc, voilà deux observations qui tendraient à prouver qu'à l'obscurité le *Chlorella vulgaris* d'une part, et d'autre part le *Chlorella luteo-viridis*, assimilent difficilement le glucose ajouté à un milieu liquide minéral.

On serait d'autant plus fondé à le croire, que, pour ce qui concerne le *Chlorella vulgaris*, les cinq tubes au glucose, restés stériles du 24 décembre 1912 au 5 mars 1913, à l'obscurité, ont fourni rapidement par la suite une abondante végétation, lorsqu'à partir de cette date du 5 mars, ils ont été placés à la lumière.

La conclusion sur l'influence inhibitrice de l'obscurité sur de telles cultures aurait cependant été inexacte ; et nous trouverons, au cours de ce mémoire, d'autres expériences dans lesquelles le même liquide minéral glucosé a fourni à l'obscurité de belles cultures du Chlorella vulgaris.

Ces différences ont une cause qui nous échappe : disons seulement que la nature du milieu nutritif sur lequel on emprunte le semis n'est pas indifférente au succès des cultures : si l'on transporte une algue d'un milieu solide sur un milieu

(1) Kufferath : *Loc. cit.*, p. 125-126

liquide ou inversement, d'un milieu glucosé sur une autre qui ne l'est pas ou inversement, les conditions différentes dans lesquelles s'exercent les échanges osmotiques nécessitent une adaptation plus ou moins longue et plus ou moins difficile : il serait donc utile, en général, d'indiquer l'origine du prélèvement destiné à effectuer les semis ; on arriverait ainsi, sans doute, à se rendre compte de certains insuccès qui paraissent inexplicables.

Quoi qu'il en soit, alors que dans cette expérience les cinq tubes maintenus à l'obscurité se comportaient comme il vient d'être dit, quatre tubes sur les cinq placés à la lumière donnaient rapidement une belle végétation : un mois environ après le semis, le 28 janvier 1913, un examen microscopique fournissait les caractères suivants :

Cellules rondes à membranes minces ; pavage de granulations fines sous la paroi ; beaucoup de très petites cellules sans pyrénoïde visible ; les cellules plus grosses ont un pyrénoïde ; la teinture d'iode colore le chloroleucite et les granulations en jaune brun ; l'amidon manque.

On observe de nombreux sporanges à quatre ou huit cellules ; dans ce dernier cas, la division est simultanée ; on remarque également que les très petites cellules donnent des sporanges à deux spores.

La présence de ces cellules minuscules explique pourquoi le liquide nutritif est légèrement coloré en vert : ces cellules se maintiennent en suspension dans l'eau, grâce à leur légèreté.

Ces tubes à milieu liquide glucosé, conservés à la lumière, ont perdu peu à peu une partie de leur contenu par évaporation : deux présentaient le 24 décembre 1913, après un an de culture, une teinte rouille : le dépôt d'algues qui se trouvait au fond était abondant ; un examen attentif montre la présence d'un parasite endocellulaire : il est très fréquent dans les grosses cellules, sous forme d'une sphère réfringente de diamètre variable ; entre ce parasite et la

membrane se trouvent quelques petites granulations rougeâtres, résidus de la digestion ; les cellules minuscules sont aussi vidées par le parasite et ne renferment plus qu'un ou deux petits granules rouges ; ce parasite est l'*Endomonadina Chlorellae*, sp. nov.

Dans les tubes contaminés et dans ceux qui étaient restés indemnes, la quantité d'algues qui s'est développée est au moins cinq fois supérieure à celle des tubes Detmer-Chodat sans glucose ; le liquide en était devenu presque épais.

On ne trouve fréquemment qu'un parasite par cellule ; mais parfois la cellule hospitalière en renferme deux et très rarement trois.

L'examen du 24 décembre ne montrait pas de Chlorelles en division ou, du moins, nous n'en avons pas remarqué ; le 3 avril 1914, la culture continuait à présenter de nombreuses cellules envahies par l'*Endomonadina* ; mais d'autres assez nombreuses étaient en multiplication active.

Comme il n'existait aucune bactérie dans les cellules envahies par l'*Endomonadina*, on aurait pu croire que les cultures en question étaient des cultures pures.

Les tubes non contaminés nous avaient montré, le 15 février 1914, un phénomène assez intéressant ; de nombreux sporanges à quatre ou huit cellules se trouvaient parmi des cellules de dimensions très variables ; or les spores provenant de ces sporanges étaient assez fréquemment de diamètre variable ; la différence était encore plus sensible dans les cénobes provenant de la sporulation.

3e lot. — *Liquide Detmer-Chodat.* — Le semis ayant été fait le 24 décembre 1912, l'examen du 4 janvier 1913 montre un *très léger* dépôt de granulations vertes au fond des dix tubes ; il est plus net dans les cinq tubes placés à la lumière.

La présence d'un très léger dépôt dans les cinq tubes maintenus à l'obscurité semble indiquer que l'algue, dans un

milieu minéral dépourvu de carbone, se multiplie tout d'abord quelque peu, *soit qu'elle utilise le carbone que ses cellules ont en supplément, soit qu'elle trouve dans le milieu quelques traces de carbone.*

Mais disons dès maintenant que, dans ces tubes, l'algue cesse presque aussitôt de se multiplier ; un examen fait le 5 mars 1913 ne montrait aucune augmentation des traces du dépôt, ce qui confirmait absolument les prévisions.

Dans les tubes à la lumière, l'algue se développe assez bien, mais plus lentement que dans les tubes Grintzesco glucosé ; l'algue formait, le 17 février, un dépôt vert, en lentille, au fond des tubes ; on ne remarquait pas de revêtement vert sur les parois, ni de cellules en suspension dans le liquide.

Ces tubes, examinés après un an, contiennent toujours un liquide incolore ; les algues sont déposées au fond en une calotte assez épaisse ; si l'on remue un tube, le liquide devient d'un beau vert transparent.

Un examen microscopique fait le 24 décembre 1913, après un an de culture, ne montre aucune cellule en division ; ces cellules sont sphériques ; les plus grosses ne dépassent pas le diamètre moyen, mais il y a toutes les transitions jusqu'à des cellules n'ayant pas plus de deux ou trois μ ; beaucoup de cellules ont un contenu cellulaire granuleux entièrement vert, avec pyrénoïde, alors qu'un certain nombre sont incolores, vacuolaires, avec un très petit croissant vert latéral représentant le chloroleucite sans pyrénoïde ; c'est un stade qui conduit insensiblement à des cellules complètement incolores, qui sans doute sont mortes.

Un examen microscopique du 14 mai 1914 donne lieu aux remarques suivantes : beaucoup de cellules incolores sont mélangées aux cellules vertes ; celles-ci sont de taille moyenne avec un chloroleucite en croissant : on rencontre çà et là quelques cellules plus grosses qui renferment de une à quatre sphérules réfringentes qui semblent bien appar-

tenir à l'*Endomonadina* ; mais l'absence des résidus rougeâtres habituels donne à la détermination une certaine indécision.

L'amidon manque complètement, ou bien il n'en existe qu'une faible trace autour du pyrénoïde lorsque celui-ci existe.

En résumé, cette première expérience du 24 décembre 1912 nous a fourni quelques résultats intéressants en ce qui concerne le *Chlorella vulgaris*.

1° *Le développement en milieu nutritif agar glucosé, à la température de 24 à 25°, est extra-rapide ; les colonies sont visibles au bout du troisième jour dans des cultures maintenues à l'obscurité.*

2° *La lumière sur ce même milieu a favorisé nettement le développement des cultures : ce résultat est à retenir, si on se rappelle que Grintzesco, pour cette même algue et le même milieu nutritif, a constaté que dans les cultures à l'obscurité et ensemencées par stries, le développement est plus vigoureux au bout de 40 jours d'expérience que dans les flacons correspondants placés en lumière totale.*

3° *L'absence de développement du* Chlorella *dans des tubes à milieu liquide Detmer Grintzesco glucosé maintenus à l'obscurité, alors qu'à la lumière la végétation de l'algue était vigoureuse ;* cette absence de développement nous a surpris d'autant plus que dans d'autres expériences analogues, le *Chlorella* s'est multiplié abondamment.

4° *L'impossibilité, d'ailleurs prévue par la théorie, d'un développement de* Chlorella, *en milieu nutritif minéral, dépourvu de carbone.*

5° *La découverte d'un parasite endocellulaire des Chlorelles,* Endomonadina Chlorellæ.

6° *La constatation de quelques particularités non encore signalées dans la structure des Chlorelles.*

C

La troisième expérience est du 9 janvier 1913 : elle a été faite avec le *Chlorella vulgaris v. genevensis* et le *Scenedesmus acutus* provenant de deux cultures fournies obligeamment par M. le professeur Chodat ; cette expérience avait pour but de confirmer et de compléter les précédentes.

Elle a porté, en ce qui concerne le *Chlorella*, sur la valeur nutritive, soit à la lumière, soit à l'obscurité, des quatre milieux suivants : liquide Detmer-Chodat, liquide Detmer-Grintzesco, liquide de Knop, agar nutritif glucosé.

1° Lumière du Laboratoire.

Chlorella genevensis.

Liquide Grintzesco (G). .	6 tubes
— Detmer (D). .	4 tubes
— Knop (K) .	4 tubes
Agar glucosé.	4 tubes

2° Obscurité d'un placard.

Chlorella genevensis.

Liquide Grintzesco. .	6 tubes
— Detmer. . .	5 tubes
— Knop. . . .	4 tubes
Agar glucosé. . . .	4 tubes

La température était celle du laboratoire : elle a subi des fluctuations en rapport avec les diverses époques de l'année ; en janvier, la température était de 16° à 17° pendant le jour : la nuit, la température pouvait descendre à 10° ou 12°.

Gélose nutritive glucosée.— L'expérience ayant commencé le 9 janvier 1913, *les colonies sont visibles le troisième jour*

dans l'agar glucosé, soit à la lumière, soit à l'obscurité : à l'obscurité, le développement est cependant moins avancé.

Le 17 janvier 1914, dans les cultures à la lumière sur agar glucosé, la colonie provenant de la piqûre a une largeur de 3 à 5 millimètres ; ces colonies sont beaucoup moins avancées à l'obscurité sur le même milieu.

Dans les milieux liquides, on observe, pour tous les tubes, ce même jour, un léger dépôt qui va s'accentuant jusqu'au 25 janvier ; à ce moment, le développement est bon pour le Detmer-Chodat et le Detmer-Grintzesco ; il est plus lent dans le Knop.

Le 25 janvier, les belles colonies du *Chlorella* sur l'agar glucosé à la lumière augmentent peu en surface et elles ne subiront pas grand changement jusqu'au 5 mars ; les cultures, sur même milieu, à l'obscurité, ont beaucoup gagné, et le 17 février, on note que les colonies dans trois des tubes sont aussi belles qu'à la lumière ; le 5 mars, *il est impossible de faire une différence entre cultures placées à la lumière et cultures maintenues à l'obscurité.*

En résumé, *l'action de la lumière, dans cette expérience, en milieu nutritif glucosé, a tout d'abord favorisé nettement le développement des colonies, sans amener finalement, au bout de deux mois, une différence sensible dans les cultures.*

Liquides minéraux à la lumière. — Le 17 février, la valeur des divers liquides nutritifs se dégage : la multiplication de l'algue est plus rapide dans le liquide G : elle est sensiblement égale dans les deux autres.

Le 5 mars, mêmes constatations ; le liquide G se montre nettement supérieur aux deux autres ; les six tubes ensemencés contiennent un dépôt très abondant de Chlorelles.

L'écart n'a fait que s'accentuer par la suite ; nous nous bornerons à donner quelques indications prises le 20 décembre 1913, après un an de culture.

Dans les six tubes avec liquide G, *l'algue, outre le développement abondant du fond, s'est multipliée sur les parois*

verticales où elle s'est fixée ; elle a marqué en vert par sa végétation les parties éclairées, alors que les ombres portées par les traverses horizontales du support se trouvaient dessinées en blanc par l'absence d'enduit vert.

Avec les deux autres liquides minéraux, l'algue n'a formé aucun revêtement sur la paroi : *elle s'accumulait en dépôt au fond des tubes ; le dépôt était sensiblement le même dans les huit tubes.*

Au point de vue des phénomènes de photosynthèse, le liquide G possède donc des avantages sur les deux autres : il permettrait de projeter verticalement le spectre sur les cuves de culture, puisque, dans ce milieu, en culture pure, l'algue est adhérente et forme un revêtement vert, en face les radiations actives dans la photosynthèse ; ce liquide d'autre part favorise une multiplication active de l'algue, même lorsque la radiation est d'une intensité aussi faible que celle qui se produit en janvier, dans un appartement, à une exposition nord-est ; ce dernier point est d'une grande importance, car la sensibilité de notre méthode est liée à la sensibilité de l'algue vis-à-vis des radiations actives dans l'assimilation chlorophyllienne.

La faculté que possède le *Chlorella* de se fixer sur les parois verticales, lorsqu'elle est cultivée dans ce liquide G, tient sans doute au léger dépôt qui se produit : l'adhérence de l'algue a été cependant plus faible que dans les mêmes liquides minéraux en cultures non stérilisées.

Un prélèvement effectué le 3 avril 1914 montre des cellules sphériques à membrane épaisse sans ornements ou plissements ; le pyrénoïde n'est visible que rarement ; aucune apparence d'amidon ou même de granulations ; le contenu cellulaire se colore en jaune brun ; certaines cellules incolores, à contenu contracté, sont mortes très probablement ; sur bon nombre de cellules, *la membrane épaisse bleuit nettement par le Gram ;* cellules-mères à deux ou quatre spores.

Un second prélèvement à la date du 13 mai 1914 renferme beaucoup de cellules-mères, avec deux, quatre spores ou plus, rarement huit ; la membrane des sporanges est très épaisse, avec stries concentriques ; *elle bleuit ou prend une teinte violacée par le Gram :* il se forme des sortes de colonies palmelloïdes avec cellules inégales ; le pyrénoïde existe et il est ordinairement entouré d'une couche mince d'amidon : au milieu des colonies palmelloïdes, on trouve un grand nombre de petites cellules avec ou sans pyrénoïde.

Le 20 juillet 1914, nous prenons un de ces tubes à liquide Grintzesco, datant d'un an et demi ; la quantité de Chlorelles qu'il contient est considérable : ces cellules sont bien vivantes ; en versant le contenu du tube dans de l'eau ordinaire, on obtient les jours suivants un abondant dégagement d'oxygène lorsque le flacon est placé à la lumière.

Afin de vérifier si ces cultures étaient restées pures pendant cette période de dix-huit mois, nous avons procédé à des ensemencements sur milieu nutritif à l'agar, en empruntant le semis aux tubes Grintzesco, Detmer et Knop ; les tubes ensemencés ont présenté au bout d'un mois de belles colonies indemnes de tout organisme étranger : ce sont les colonies provenant des tubes G qui se sont développées les premières, puis celles de K, et enfin les colonies provenant d'un prélèvement dans les tubes à liquide de Detmer.

Liquides minéraux à l'obscurité. — Les tubes de culture étaient au nombre de 15 : 6 G, 5 D, 4 K ; *conservés un an à l'obscurité d'un placard, ils n'ont fourni aucune trace appréciable de développement, alors que des tubes identiques, placés à la lumière, donnaient comme on l'a vu une abondante végétation de Chlorelles ; ce résultat était prévu par la théorie ; il était toutefois utile d'en donner une preuve aussi complète que possible.*

A partir du 20 décembre 1913, les quinze tubes ainsi con-

servés un an à l'obscurité et qui ne montraient aucune trace de *Chlorella* ont été placés à la lumière d'une fenêtre du laboratoire.

Il s'agissait de voir si les germes de l'algue, déposés dans ces tubes le 9 janvier 1913, *s'étaient conservés vivants à l'obscurité pendant cette longue période.*

Le 23 février 1914, on peut constater une multiplication active de l'algue : elle forme un dépôt vert en lentille au fond de tous les tubes, sauf pour quelques-uns qui sont restés stériles ou ont été contaminés par le *Penicillium.*

Cette contamination par le *Penicillium* s'est faite dans des conditions assez singulières que nous allons rapporter exactement.

Le 20 décembre 1913, sur les quinze tubes, maintenus à l'obscurité, deux G sur six et deux D sur cinq étaient envahis par le champignon ; tous les autres étaient restés stériles.

La présence d'une couche épaisse superficielle de mycélium fructifié dans ces quatre tubes constituait un fait extrêmement remarquable dont il nous est encore impossible de fournir une explication satisfaisante.

On pouvait supposer que les substances employées à la fabrication des milieux minéraux G et D étaient impures et renfermaient une proportion notable de carbone organique qui avait été utilisée par le *Penicillium* : mais on s'expliquait mal dans ce cas l'absence de tout développement du *Chlorella* à l'obscurité : la quantité assez élevée de mycélium avec ses fructifications qui se formait dans chaque tube contaminé nécessitait, d'autre part, une proportion assez élevée de carbone : ce carbone était donc sous une forme inutilisable pour le saprophytisme du *Chlorella.*

La contamination s'est étendue au milieu minéral Knop : en effet, sur les quinze tubes enlevés du placard le 20 décembre 1913 pour être placés à la lumière, quatre, comme nous venons de le dire, renfermaient le *Penicillium* ; en mai,

nous constatons qu'un nouveau tube G est contaminé et aussi un tube K : le développement de l'algue, déjà très apparent, se trouve arrêté.

Il restait donc neuf tubes non contaminés : le *Chlorella* s'est multiplié abondamment, à la lumière, dans tous, sauf pour deux qui sont restés stériles.

Ainsi donc, pour s'en tenir aux apparences, le *Penicillium* se montrait susceptible de développement dans un milieu nutritif minéral, dépourvu de carbone organique ; l'absence de carbone organique dans ce milieu semblait résulter non seulement de la préparation de ce milieu, mais aussi du fait que le *Chlorella* n'avait pu y végéter à l'obscurité : on se trouvait ainsi conduit à admettre que le champignon était capable de prendre son carbone à l'air ou au carbonate de chaux : tout comme les nitrobactéries, il décomposerait CO^2 dans l'obscurité la plus complète : la source d'énergie nécessaire à la réaction endothermique pourrait être cherchée comme lorsqu'il s'agit des micro-organismes nitrifiants dans une oxydation du carbonate d'ammonium en acide nitreux et acide nitrique.

Mais, dans une question de cette importance, on ne saurait s'entourer de trop de garanties ; pour avoir la solution de cette question, nous avons préparé spécialement avec des produits purs du liquide minéral Grintzesco : celui-ci a été réparti en un certain nombre de flacons Erlenmeyer.

Nous les avons ensemencés le 23 mai avec le *Penicillium* emprunté aux tubes contaminés : les deux tubes stériles de l'expérience précédente étaient également ensemencés.

Dans les flacons Erlenmeyer, au nombre de six, il s'est formé en quatre ou cinq jours un petit flocon unique de mycélium qui a immédiatement cessé de s'accroître : après trois mois, il est encore dans le même état ; le milieu nutritif contenant tous les éléments nécessaires au développement, sauf le carbone organique, l'arrêt dans la végétation du *Penicillium* est dû à l'absence de ce carbone.

Dans les deux tubes, le *Penicillium* s'est développé et a fourni du mycélium en proportion notable.

Il faut donc admettre que les quinze tubes, maintenus un an à l'obscurité, ont reçu d'une source ignorée une quantité de carbone appréciable : le carbone sous cette forme n'était pas assimilable pour les Chlorelles à l'obscurité : c'est la présence de ce carbone qui a permis une contamination par le *Penicillium*.

Nous nous bornerons donc aux constatations suivantes :

1° *Le* CHLORELLA GENEVENSIS *a conservé ses germes vivants, pendant un an, à l'obscurité, sans se multiplier ; à la lumière, la multiplication a été rapide.*

2° *La présence du* PENICILLIUM, *dans certains tubes, a empêché le développement de l'algue : si la culture était déjà en pleine végétation, celle-ci a été arrêtée brusquement par l'apparition du champignon.*

Il est absolument certain que les tubes n'avaient pas reçu accidentellement ou par erreur du glucose : dans les tubes à liquide minéral glucosé à 1 0/0, le *Penicillium* se développe vigoureusement à toutes les hauteurs dans le liquide nutritif : ici, il poussait presque exclusivement en surface, où il formait un feutrage épais, avec des fructifications ; c'est cette constatation qui rend encore plus difficile la recherche de l'origine du carbone fixé par le *Penicillium*.

Cette expérience du 9 janvier 1913 portait également sur le *Scenedesmus acutus*, cultivé à la lumière et à l'obscurité.

1° Lumière du laboratoire.

Liquide Detmer.	2 tubes
— Knop.	2 —

2° Obscurité d'un placard.

Liquide Detmer.	2 tubes
— Knop.	2 —

A la lumière, le 17 janvier, les cultures montrent déjà une bonne apparence de développement dans le liquide de Knop : il est moins avancé dans le liquide de Detmer : cette avance en faveur du Knop se maintiendra jusqu'au mois de mars ; plus tard, elle disparaîtra, et le 20 décembre, le dépôt du fond est sensiblement le même dans les quatre tubes. En mai 1914, un examen comparatif des cultures montre que dans le Detmer, le *Scenedesmus* a conservé sa forme normale ; les cellules sont en pleine division ; les colonies de quatre éléments sont nombreuses au milieu des éléments *Dactylococcus* ; le chloroleucite est très vert ; le pyrénoïde est visible, de grosseur variable ; il est entouré d'une couche mince d'amidon ; on rencontre çà et là quelques grosses cellules plus ou moins arrondies ou irrégulières.

Dans le liquide Knop, la teinte du dépôt est légèrement jaunâtre : à l'examen microscopique, beaucoup de cellules se montrent plus ou moins décolorées ; un certain nombre à extrémités arrondies ont subi une dégénérescence graisseuse ; l'acide osmique donne une teinte noire à de gros amas réfringents ; l'amidon manque presque partout, sauf dans les formes *Dactylococcus*, où le pyrénoïde est apparent.

En résumé, pour une culture de très longue durée, comme celle ci, l'avantage en faveur du liquide Detmer est manifeste pour le *Scenedesmus acutus*.

A l'obscurité, les quatre tubes ensemencés le 9 janvier 1913 avec le Scenedesmus *n'ont donné aucun développement à la date du 20 décembre 1913 ; placés à la lumière, ils n'ont pas tardé à présenter un dépôt vert, accusant une multiplication active de l'algue, sauf dans un tube à liquide Detmer resté stérile : ces observations confirment donc simplement celles qui ont été faites avec le* Chlorella vulgaris.

Après les expériences qui précèdent, l'exactitude du principe de notre méthode pour l'étude de l'assimilation chlorophyllienne, ne saurait être contestée.

Une algue verte, comme le Chlorella vulgaris *ou le* Scenedesmus acutus, *ne peut se multiplier à l'obscurité dans un milieu minéral, dépourvu de carbone organique, quelle que soit la durée de l'expérience.*

A la lumière, la multiplication est rapide : tout le carbone de la plante provient de la synthèse chlorophyllienne : en lumière totale, le degré végétation mesure donc exactement le degré d'activité de cette radiation ; en cultures devant un spectre, la présence ou l'absence de végétation permet de distinguer les rayons actifs de ceux qui ne le sont pas ; l'état de la végétation permet d'autre part d'établir les différences d'activité de ces différents rayons.

Les Chlorella *et les* Scenedesmus *n'ont besoin que d'une intensité lumineuse très faible, pour effectuer leur synthèse chlorophyllienne dans un liquide minéral : il suffit, comme nous l'avons vu, de quinze jours ou d'un mois pour obtenir des cultures, en plein hiver, dans un appartement, à quelque distance d'une fenêtre exposée au nord-est ; cette sensibilité, qui sera démontrée par un grand nombre d'autres expériences, donne à la méthode toute sa valeur.*

IV. — LA CULTURE DES ALGUES SUR MILIEUX SOLIDES DANS SES RELATIONS AVEC LA LUMIÈRE

L'exactitude des expériences sur la photosynthèse au moyen de notre méthode exige que le milieu nutritif qui sert à la culture des algues, ne puisse céder aucune trace de carbone organique : ce carbone doit être fourni tout entier à l'algue par l'assimilation chlorophyllienne.

Cette condition est réalisée dans les milieux liquides minéraux dont nous nous servons : les résultats obtenus dans ces conditions sont par conséquent très démonstratifs.

On peut, dans ces cultures, négliger le plus souvent de stériliser les cuves et les liquides dont on se sert : en effet, ces liquides minéraux dépourvus de carbone sont incapables

d'assurer le développement des champignons saprophytes ordinaires et des bactéries banales, jusqu'au moment où l'algue introduit elle-même ce carbone dans ses cellules par photosynthèse ; les observations conservent donc toute leur rigueur.

Si toutefois on tient à conserver longtemps ses cultures indemnes de tout organisme étranger, il est nécessaire de stériliser ces milieux nutritifs. Or l'emploi des milieux liquides stérilisés ne se prête que difficilement à l'étude de l'action du spectre ; il faut se servir de dispositifs spéciaux pour assurer une bonne aération des liquides stérilisés et une teneur favorable en CO^2 dissous.

Ces difficultés n'existeraient pas si on disposait d'un milieu nutritif solide, ne fournissant pas de carbone à l'algue : celle-ci, se développant en surface, trouverait toujours suffisamment de CO^2 au contact de l'air.

Il était donc tout indiqué de rechercher comment l'agar et la gélatine, purifiés par macération dans de l'eau acidulée et lavés ensuite à l'eau distillée, se comporteraient pour des cultures d'algues faites à l'obscurité : si ces substances ne fournissent pas directement à l'algue du carbone, tout développement est impossible en l'absence de radiations ; *on pourrait alors utiliser les cultures d'agar et de gélatine imprégnés de liquides minéraux pour l'étude de l'assimilation chlorophyllienne.*

Bien qu'aucun auteur n'ait envisagé jusqu'ici l'intérêt de ce point de vue, nous possédons déjà quelques renseignements à cet égard.

Ainsi Grintzesco a cultivé le *Chlorella vulgaris* sur gélose à l'eau distillée ; mais ses cultures n'ont été faites qu'à la lumière (1).

Ce savant avait préparé trois séries de six flacons Erlenmeyer : la première série comprenait de l'agar dissous avec

(1) Grintzesco : *Loc. cit.*, p. 17-18.

le liquide minéral Grintzesco ; la deuxième série était constituée par de l'agar avec azotate de calcium et eau distillée, dans la troisième série, l'agar était dissous simplement avec de l'eau distillée.

Les colonies sont apparues au bout de 6 à 8 jours pour la première série, de 18 à 20 jours pour la deuxième série, de 20 à 25 jours pour la troisième série : pour toutes le développement s'arrête au bout de quelque temps ; partout la surface du milieu nutritif est plus favorable au développement.

L'absence de cultures parallèles, faites à l'obscurité, ne permet pas de se prononcer sur *l'origine du carbone incorporé par l'algue :* il semble bien cependant qu'il soit dû pour la plus forte part à l'assimilation chlorophyllienne.

Grintzesco a vu, toujours en lumière totale, que la gélatine, additionnée de liquide minéral G, est moins favorable que l'agar employé dans les mêmes conditions ; les colonies qui sont plus grosses en surface qu'en profondeur ne sont visibles que 15 ou 20 jours après l'ensemencement, alors qu'avec l'agar, elles apparaissaient du sixième au huitième jour.

Là encore, nous ignorons dans quelles proportions la gélatine peut abandonner son carbone au *Chlorella*.

Les expériences de Grintzesco n'ayant eu lieu qu'en présence de la lumière, ne permettent pas de savoir si l'agar et la gélatine constituent une source de carbone appréciable pour le *Chlorella vulgaris*.

Les observations de Kufferath sur le *Chlorella luteo-viridis* sembleraient indiquer que cette algue utilise, dans une certaine mesure, le carbone de l'agar, en l'absence de radiation ; en effet, voici ce qu'il a constaté :

« Sur gélose à 2 0/0, additionnée des sels minéraux, la culture de *Chlorella luteo-viridis* se développe bien, elle est verte. Les cellules ont une plastide verte, bien délimitée, pariétale, pourvue d'un pyrénoïde. Il y a de nombreuses

cellules sporangiales renfermant de deux à huit petites cellules. La membrane est assez épaisse à double contour. *A l'obscurité, le développement est moindre qu'à la lumière, la culture est aussi moins verte* (1). »

La gélose utilisée par l'auteur avait été, au préalable, traitée par l'acide nitrique, puis lavée à grande eau pendant 2 ou 3 jours jusqu'à disparition de toute réaction acide.

Avec le *Stichococcus bacillaris*, l'agar serait aussi un peu assimilé d'après Chodat, qui s'exprime ainsi : « A l'obscurité, il y a encore un développement, mais encore ici, il n'y a aucune accélération en fonction de l'augmentation de l'azote. Comme le développement se fait en dehors de toute photosynthèse, *il faut admettre que l'agar est un peu assimilé.* Cependant l'obscurité retarde beaucoup le développement et la couleur des colonies est moins verte (2). »

En ce qui concerne le *Stichococcus minor* « sur agar Detmer dans l'obscurité, le développement est mauvais, il y a diminution de la couleur verte. Ainsi le *Stichococcus minor* ne peut assimiler la gélose (3) ».

Ces diverses observations tendraient à établir que les algues vertes sont susceptibles, à un degré variable, d'utiliser le carbone de l'agar ; cette utilisation serait d'ailleurs à l'obscurité toujours assez faible (*Chlorella luteo-viridis*, *Stichococcus bacillaris*) ou même nulle (*Stichococcus minor*).

Examinons maintenant ce qui a lieu avec la gélatine.

D'après Grintzesco, sur gélatine avec liquide minéral, les colonies du *Chlorella* apparaissent en lumière totale au bout de 15 à 20 jours ; sur gélatine seule, les colonies ne sont visibles à l'œil nu qu'au bout de 20 à 25 jours ; dans les deux cas, les colonies cessent bientôt de s'accroître.

Kufferath constate que le *Chlorella luteo-viridis* se développe bien à la lumière sur gélatine, additionnée de liquide

(1) Kufferath : *Loc. cit.*, p. 168.
(2) Chodat : *Monographie, loc. cit.*, p. 150.
(3) Chodat : *Loc. cit.*, p. 158.

nutritif. Chodat nous fournit des renseignements plus complets : ses observations sur le développement du *Stichococcus minor* à la lumière et à l'obscurité sont des plus intéressantes ; cette algue, avec la gélatine, se comporte en véritable saprophyte.

« L'obscurité favorise la liquéfaction de la gélatine sans sucre qui est beaucoup plus forte dans ce milieu que dans la lumière. En outre, la teinte des colonies est plus pâle dans la gélatine liquéfiée à l'obscurité que sur milieux gélosés. Ici donc, le saprophytisme de l'algue qui peptonise la gélatine s'ajoute à l'action de l'obscurité pour affaiblir la chlorophylle. Même alors que la liquéfaction de la gélatine se fait avec vigueur dans l'obscurité, la dimension des colonies est toujours plus faible que dans les mêmes conditions à la lumière. Cette diminution de développement atteint ordinairement une valeur exprimée par le chiffre 4. La liquéfaction de la gélatine qui ne se fait pas dans des milieux fortement glucosés à la lumière a lieu avec intensité dans l'obscurité ; on en tire comme conclusion que la lumière diminue la sécrétion des ferments protéolytiques. Et cependant, même sur milieux glucosés, le développement de ces colonies est quatre fois plus faible dans l'obscurité (1). »

Le *Stichococcus minor* utilise donc le carbone de la gélatine : cette espèce serait par conséquent peu favorable à l'étude de la photosynthèse ; mais sa culture, en face d'un spectre, serait cependant particulièrement intéressante, car elle permettrait de se rendre compte de l'influence des diverses radiations sur les sécrétions protéolytiques.

Cette question de l'utilisation par les algues du carbone de l'agar ou de la gélatine demandait des observations nouvelles et plus complètes ; nous en indiquerons ici quelques-unes :

(1) Chodat : *Monographie, loc. cit.*, p. 159.

A) Cultures sur agar et gélatine à l'eau distillée ;
B) Cultures sur agar à 2 0/0 + liquide minéral G ;
C) Cultures sur agar à 2 0/0 + glucose 1 0/0.

A

La première observation date du 2 janvier 1913 : six tubes ont été ensemencés avec le *Chlorella genevensis* ; nous les disposons en trois lots de deux tubes, l'un à l'agar, le second à la gélatine.

Le premier lot est placé à l'obscurité, dans une étuve à la température de 24 à 25°.

Le deuxième lot est conservé dans le laboratoire, en le préservant de toute lumière.

Le troisième lot est disposé dans le laboratoire, à une faible distance de la fenêtre nord-est.

Le 7 janvier, nous apercevons une très légère apparence de développement dans les six tubes, avec une faible avance pour le lot exposé à la lumière.

Le 13 et le 28 janvier, *l'état des tubes placés à l'obscurité est resté stationnaire ;* le développement devient plus apparent à la lumière.

Un examen microscopique effectué sur ce troisième lot, à cette date du 28 janvier, montre que les cellules sont très vertes, de taille peu différente ; le chromatophore remplit presque complètement la cellule ; l'amidon manque et on ne voit même pas de granules sous la membrane ; les divisions sont extrêmement rares ; quelques cellules géantes se voient au milieu des autres avec un chromatophore en croissant.

Le 18 février, nous constatons *qu'à l'obscurité, soit à l'étuve, soit au laboratoire, le développement de l'algue sur l'agar ou la gélatine est insignifiant.*

Ce résultat nous semble intéressant : il montre que le *Chlorella genevensis n'a pas utilisé à l'obscurité* le carbone

de l'agar ou de la gélatine dissous dans de l'eau distillée, d'une façon sensible.

Le développement de l'algue, à la lumière dans le troisième lot, a présenté des différences très nettes, suivant que le milieu était constitué par de l'agar ou de la gélatine.

La végétation, qui était d'abord plus apparente dans l'agar, a été devancée ensuite par celle qui s'est produite dans la gélatine ; le 28 janvier, la différence était déjà très appréciable et elle n'a fait que s'accentuer par la suite ; la gélatine, dans les deux tubes, et surtout dans l'un, montrait de belles petites colonies superficielles très vertes et très nombreuses ; les deux tubes à l'agar n'ont jamais montré qu'un développement relativement faible du *Chlorella*.

Cette différence dans la vigueur des cultures sur gélatine et agar à la lumière nous semble tenir à deux causes : il semble que l'agar cède moins facilement à l'algue, les éléments nutritifs qui en dehors du carbone sont nécessaire à la nutrition ; d'autre part, les tubes renfermant la gélatine avaient de la vapeur d'eau en plus grande abondance que les autres et cette humidité ne pouvait que favoriser grandement la multiplication du *Chlorella*.

En résumé, avec de l'agar ou de la gélatine dissous dans de l'eau distillée, le développement du Chlorella vulgaris *est sensiblement nul à l'obscurité ; à la lumière, l'algue se multiplie et la végétation est surtout active avec le milieu gélatine : avec l'agar, la croissance reste assez faible.*

Il y a donc lieu de supposer que ce dernier milieu (gélatine et eau distillée) pourrait être employé avec succès, pour apprécier l'influence des diverses radiations devant un spectre.

D'ailleurs, si, contre toute attente, le milieu nutritif fournissait directement du carbone à l'algue, on s'en apercevrait immédiatement par la présence d'une végétation appréciable, en dehors des limites du spectre, à l'obscurité.

Dans l'expérience précédente, le développement de

l'algue sur agar à l'eau distillée a été presque nul à l'obscurité ; à la lumière, il s'est produit, mais en restant trop faible, pour présenter un réel intérêt, dans la formation d'un spectrogramme.

Une seconde expérience du 14 janvier 1913 n'a fait que confirmer ces résultats.

Le *Chlorella genevensis* a servi à ensemencer trois tubes d'agar à l'eau distillée ; deux ont été placés à l'obscurité et le troisième a reçu la lumière d'une fenêtre.

Le 28 janvier, on constate qu'aucun développement ne s'est produit dans les deux tubes à l'obscurité ; il en est de même le 17 février.

Le troisième tube soumis à la lumière de la fenêtre montrait le 17 février un faible développement qui s'arrête bientôt.

Ainsi l'agar à l'eau distillée ne donne rien à l'obscurité ; à la lumière, il constitue un milieu peu favorable au développement du *Chlorella*.

La troisième expérience a été faite avec le *Scenedesmus acutus :* le semis a eu lieu le 2 janvier 1913 dans deux tubes agar à l'eau distillée et deux tubes gélatine également à l'eau distillée.

Les quatre tubes ont été placés dans une enveloppe épaisse ne laissant passer aucune radiation ; au début, nous avons noté une trace à peine visible de multiplication ; celle-ci s'est arrêtée et le 30 juin, c'est-à-dire après six mois de culture, l'algue ne montrait aucun développement appréciable.

Cette observation, malheureusement, n'a pas comporté l'examen de cultures sur même milieu, à la lumière : la comparaison des résultats aurait eu son intérêt.

On sait, en effet, depuis Beijerinck, que le *Scenedesmus acutus* liquéfie la gélatine, lorsque le milieu est pauvre en substances nutritives ; l'absence presque totale de multiplication à l'obscurité, n'a pas permis une liquéfaction qui se

serait peut-être produite à la lumière ; Chodat a d'ailleurs remarqué que certaines races ou formes de cette espèce liquéfiaient mal ou lentement (1).

B

Les cultures sur agar additionné d'un liquide minéral Grintzescò ont été commencées le 20 mai 1914 : neuf tubes ont été ensemencés avec le *Chlorella genevensis*.

Un premier lot de deux tubes est placé à l'obscurité complète.

Le deuxième lot est formé par trois tubes qui sont entourés chacun par des anneaux de papier opaque, délimitant des zones éclairées et des zones obscures.

Le troisième lot comprend quatre tubes qui reçoivent la lumière dans toute leur longueur.

L'examen du 3 juin montre que dans le premier lot, à l'obscurité, la végétation est pour ainsi dire nulle : on aperçoit simplement une trace jaunâtre, suivant la strie d'ensemencement.

Le troisième lot présente, dans les quatre tubes soumis à la radiation, une grande quantité de petites colonies, rapprochées les unes des autres, parfois confluentes : elles sont d'une belle couleur verte.

Le deuxième lot, comme on doit s'y attendre, d'après ce qui précède, présente une alternance de plages vertes et de plages incolores, selon qu'elles ont reçu la lumière ou qu'elles sont restées à l'obscurité.

Un examen du 16 juin ne fait que confirmer et accentuer ces résultats : bonne végétation de l'algue à la lumière ; absence presque complète de développement à l'obscurité.

Conclusion. — *On pourrait peut-être, avec le* Chlorella

(1) Chodat : *Loc. cit.*

genevensis, *obtenir un bon spectogramme de croissance, en se servant comme milieu nutritif d'agar dissous dans un liquide nutritif minéral ; la très faible utilisation du carbone de l'agar ne paraît pas devoir fausser les résultats d'une façon appréciable.*

A cette même date du 20 mai, nous avions ensemencé le *Scenedesmus acutus,* dans cinq tubes, munis d'écrans partiels, en employant le même milieu nutritif.

La végétation est restée faible, même dans les portions éclairées, sauf dans un tube qui montre à la lumière un beau développement ; nous ne saurions donc tirer aucune conclusion, en ce qui concerne cette algue.

Nous attribuons cette lenteur dans le développement au fait que le semis a été emprunté à des cultures maintenues depuis plus d'un an à l'obscurité.

Il sera utile de répéter cette dernière expérience, en utilisant, au lieu d'agar, de la gélatine avec liquide nutritif minéral.

C

Nous nous sommes proposé ici de voir comment les algues se comportent sur agar 2 %, plus glucose 1 % ; dans ce cas, en l'absence d'azotates, l'algue doit, il semble, emprunter tout son azote à l'agar ; on supposerait qu'ayant du glucose à sa disposition, la Chlorelle ou le *Scenedesmus* puisse se développer aussi bien à l'obscurité qu'à la lumière.

L'expérience suivante a montré, en premier lieu, que la végétation est vigoureuse à la lumière sur ce milieu nutritif.

Le 12 mai 1914, neuf tubes sont ensemencés avec le *Chlorella genevensis.*

L'origine du semis est intéressante à connaître : il a été prélevé sur des tubes qui avaient été ensemencés eux-mêmes le 9 janvier 1913, dans les liquides Grintzesco, Detmer, Knop : nous allions donc, en même temps, avoir une idée de

la pureté de ces cultures après un an et demi, et des renseignements sur la vitalité des cellules ; chaque liquide G, D et K a servi à ensemencer trois tubes ; l'ensemble des neuf tubes a été placé près d'une fenêtre.

Les tubes avec semis d'origine G ont montré, dès le 19 mai, un bon début de végétation ; rien encore dans les autres.

Le 23 mai, la végétation apparaît à son tour dans les tubes K ; les tubes D sont nettement en retard.

Enfin le 16 juin, tous les tubes sans exception montrent de belles colonies vertes, soit en surface, soit en profondeur, sans aucune trace de contamination.

L'algue trouve donc dans ce milieu, très facilement, la quantité d'azote qui lui est nécessaire, ainsi que les autres éléments de sa nutrition.

La même observation faite sur le *Scenedesmus acutus*, avec semis d'origine Detmer, datant également d'un an et demi, n'a donné aucune trace de végétation : nous nous bornerons à cette constatation sans en tirer aucune conclusion pour l'instant.

Les algues ayant, dans ce milieu, du glucose à leur disposition, on pouvait supposer que la différence entre cultures à l'obscurité et cultures à la lumière serait minime.

L'expérience n'a pas confirmé ces prévisions, ainsi qu'il résulte d'un semis effectué le 3 avril 1914, avec le *Chlorella genevensis* et le *Chlorella vulgaris*.

Quatre tubes de l'une et l'autre forme sont placés à l'obscurité : le 21 avril, on observe des traces de développement dans les huit cultures ; deux tubes de *Chlorella genevensis* sont alors placés à la lumière ;

Le 5 juin, on remarque une belle végétation et des colonies nombreuses dans les deux cultures soumises à la radiation : dans les six autres qui sont restées à l'obscurité, la Chlorelle ne s'étend pas au delà de la ligne d'inoculation ; la teinte est un peu jaunâtre.

Malgré la présence du glucose, il existe donc une très grande différence entre cultures à la lumière et cultures à l'obscurité.

Par contre, un semis de ces mêmes Chlorelles effectué à la même date sur tranches de carottes fournissait de belles colonies de couleur très verte.

Un autre semis de *Chlorella genevensis*, toujours de la même date, sur milieu liquide Grintzesco, donnait sur quatre tubes conservés *à la lumière* un dépôt vert, tandis que deux autres, conservés à l'obscurité, restaient stériles.

Dans l'utilisation du carbone organique, la même espèce d'algue ne semble donc pas toujours se comporter de façon identique : ainsi, dans certaines observations, les Chlorelles se développaient bien à l'obscurité dans le liquide Grintzesco glucosé, alors que pour d'autres les cultures restaient stériles.

On peut cependant affirmer, à la suite de ces trois expériences, que la lumière a une action nettement favorable sur les cultures :

1° *Lorsqu'il s'agit d'agar ou de gélatine à l'eau distillée ;*

2° *D'un milieu à l'agar 2 % préparé avec un liquide minéral ;*

3° *D'un milieu à l'agar 2 %, plus glucose 1 %.*

Les résultats obtenus permettent d'espérer que l'on obtiendra de bons spectrogrammes de croissance en cultures pures sur gélatine à l'eau distillée ou sur agar 2 % plus un liquide minéral.

V. — L'INFLUENCE DU *PENICILLIUM* SUR LES CULTURES DE *CHLORELLA VULGARIS* EN MILIEU NUTRITIF LIQUIDE GLUCOSÉ.

Il était intéressant de rechercher comment se comporteraient en milieu nutritif carboné des cultures mixtes de *Chlorella vulgaris* et de *Penicillium crustaceum*, soit à

l'obscurité, soit à *la lumière* ; on pouvait se demander si la présence du champignon favoriserait la multiplication de l'algue ou si au contraire elle l'entraverait ou même l'arrêterait complètement.

A

La première expérience a porte sur un lot de dix tubes à liquide Detmer-Grintzesco glucosé placés à la lumière ; cinq tubes furent ensemencés avec le *Chlorella vulgaris* variété *genevensis* seul : les cinq tubes reçurent, en même temps que l'algue, quelques spores du *Penicillium* ; les deux lots furent placés à côté l'un de l'autre, sur une table, à un mètre environ d'une fenêtre du laboratoire, par conséquent dans les mêmes conditions de température et d'éclairement.

Le semis a été fait le 15 mars 1913 ; les premiers résultats ont été constatés le 30 mars 1913 au retour des vacances.

1° Dans les cinq tubes de la culture mixte, le *Penicillium* recouvre la surface du liquide d'un feutrage épais : il existe des flocons blancs mycéliens à toutes les hauteurs du liquide dans les tubes ; aucune apparence de développement du *Chlorella*.

2° Dans les cinq tubes à culture pure de *Chlorella*, le développement de l'algue est très abondant ; nous donnerons ici quelques détails sur l'apparence que présentait la végétation de l'algue dans ces cinq tubes, parce qu'ils ont une certaine importance lorsqu'il s'agit de limiter l'action de la pesanteur et celle de l'éclairement, sur la formation des enduits verts et des dépôts.

Tube n° 1. — Enduit vert abondant sur la face opposée à la lumière ; rien sur celle-ci directement éclairée ; l'enduit débute irrégulièrement à une faible distance de la surface, quatre ou cinq millimètres ; entre ce point et la surface de l'eau, aucun développement appréciable ; l'enduit formé par

l'algue est vert jaunâtre, extrêmement mince, sensiblement homogène ; toutefois vers le haut, on se rend compte qu'il est formé à cet endroit par une confluence de lignes ; de chaque côté, latéralement, on observe des lignes bien distinctes, fines ou larges, débutant en pointe fine ou assez larges dès le début : ces lignes arrivent plus bas à confluer avec l'enduit vert ; on remarque que ce revêtement mince formé par l'algue est très peu adhérent ; le simple maniement du tube, une rotation légère, suffisent pour le détacher à partir du bas sous forme d'une fine poussière de corpuscules qui montent très lentement, ou se tiennent en suspension dans le liquide.

Le fond du tube montre un dépôt vert en croissant correspondant à la position de l'enduit et qui est placé par conséquent du côté opposé à la lumière.

N° 2. — Pas de lignes nettes ; simple enduit fin, homogène, commençant à trois millimètres environ de la surface ; il se trouve, ainsi que le dépôt abondant du fond, sur la face opposée à la lumière.

N° 3. — Mêmes caractères que le n° 2, mais avec quelques lignes sur les côtés.

N° 4. — Le revêtement commence à trois ou quatre mm. de la surface par de nombreuses lignes confluentes à pointes fines ; les lignes verticales, plus ou moins nettes, sont nombreuses, toujours du côté opposé à la lumière.

N° 5. — Le dépôt en croissant du fond est particulièrement abondant; il existe aussi un dépôt, mais beaucoup moins épais sur le pourtour et le fond du tube.

Ces enduits et ces lignes sont extrêmement fugaces ; le 5 avril, l'algue est en fine suspension dans toute la hauteur du liquide, formant une sorte de poussière et un léger trouble.

Le 26 avril, l'algue est encore en suspension dans le liquide : la multiplication a été très active et les dépôts du

fond sont en couche épaisse : il ne reste plus ni lignes ni dépôts verts sur les parois verticales.

B

Dans l'expérience suivante, la contamination par le *Penicillium* a été accidentelle : les résultats n'en sont pas moins intéressants, car il s'agit cette fois d'une *culture placée à l'obscurité*.

Le semis a été fait le 15 mars 1913, avec *Chlorella vulgaris* variété *genevensis*, sur six tubes milieu nutritif liquide Detmer-Grintzesco glucosé ; ces tubes ont été mis à l'obscurité complète dans un placard du laboratoire ; ils étaient inclinés sous un angle de 30° environ.

Le 30 mars, nous constatons que trois des tubes ont été contaminés par le *Penicillium* ; les trois autres renferment des cultures pures de Chlorelle.

1° *Tubes à culture mixte.*— Le *Penicillium* s'est développé vigoureusement dans deux des tubes ; l'autre, le n° 1, en renferme moins. Le développement de l'algue est presque nul dans le n° 2 ; quelques colonies vertes sont visibles sur la face postérieure du tube n° 3; de nombreuses colonies existent sur cette même paroi dans le n° 1 ; *cette végétation plus abondante de l'algue correspond assez sensiblement à un développement moindre du champignon.*

2° *Tubes en culture pure.*— Le développement du *Chlorella* est extrêmement vigoureux ; chaque tube montre une ligne longitudinale régulière de dépôt vert d'une largeur de un millimètre et demi : cette ligne est formée d'un enduit vert léger, homogène, avec çà et là quelques amas de grosses colonies distinctes : la ligne se termine au fond du tube par un dépôt abondant qui s'étale un peu en croissant ; de nombreuses lignes vertes se réunissent de chaque côté à la ligne médiane, faisant avec celle-ci un angle de 30 à 35° ; beaucoup

de ces lignes ont manifestement pour point de départ une colonie verte de *Chlorella*.

Cette expérience fournit une remarque intéressante ; elle montre que le *Chlorella vulgaris* se développe très bien et vigoureusement dans un milieu nutritif liquide glucosé à l'obscurité, contrairement à ce que l'on aurait pu croire, d'après les cultures à résultat négatif du 24 décembre sur ce même milieu et d'après les observations de Kufferath. Il est absolument impossible pour l'instant d'expliquer des résultats aussi contradictoires : ainsi, dans l'expérience du 24 décembre 1912, cinq cultures de Chlorella genevensis dans le milieu nutritif Grintzesco glucosé restent stériles pendant deux mois à l'obscurité ; elles sont cependant bien ensemencées, puisque ces mêmes tubes placés à la lumière fournissent rapidement une abondante végétation.

D'autre part, dans cette expérience du 15 mars 1913, trois tubes du même liquide, en culture pure de la même algue, donnent en quinze jours des dépôts verts abondants.

Cette différenee peut tenir à l'origine du semis, ainsi que nous l'avons fait remarquer ; mais par ce fait même, on se rend compte de la complexité des causes qui peuvent influer sur les résultats des cultures, de telle sorte que les généralisations deviennent extrêmement difficiles et délicates.

Nous constatons d'autre part dans cette expérience une action très nette de la pesanteur ; l'algue, pour donner la ligne médiane, et le dépôt du fond dans le tube incliné de 30°, se comporte comme une poussière inerte qui serait d'abord en suspension dans le liquide ; puis chaque colonie latérale dans le tube produit des cellules qui elles-mêmes sont entraînées par la pesanteur sur une paroi en pente douce, en dessinant des lignes secondaires qui rejoignent la ligne principale.

Les résultats des deux expériences A et B démontrent que la présence du Penicilium *entrave ou empêche complètement la multiplication de l'algue, lorsque celle-ci est cultivée dans des tubes.*

On pourrait croire que le champignon, par sa respiration, par la formation d'un feutrage à la surface du liquide, prive l'eau de la culture de son oxygène ; il se produirait pour l'algue un phénomène d'asphyxie.

Cette explication semblerait d'autant plus naturelle que dans les flacons Erlenmeyer, où la surface du liquide est étendue, l'algue se développe parfois très bien, en compagnie du *Penicillium*.

Mais on se heurte à des observations précises de Grintzesco: ce savant a montré que le *Chlorella vulgaris* et le *Scenedesmus acutus* vivent très bien en *anaérobies* ; la présence de l'oxygène n'est pas nécessaire à leur développement : celui-ci, dans le vide d'une grande cloche pneumatique, est simplement retardé (1).

Nous n'abandonnons qu'à regret cette explication par asphyxie ; il faudra peut-être y revenir. En attendant, pour expliquer l'arrêt de croissance des Chlorelles, nous ne voyons que l'hypothèse d'une sécrétion nocive par le champignon, ou encore la fixation rapide par ce champignon des traces de fer contenues dans la culture, traces qui, comme on le sait, sont absolument nécessaires à la croissance de l'algue.

VI. — L'INFLUENCE D'UNE OBSCURITÉ PROLONGÉE SUR LA VITALITÉ. *DU SCENDESMUS ACUTUS*

Les plantes vertes supérieures ne forment leur chlorophylle qu'à la lumière : conservées à l'obscurité, elles s'étiolent.

La production de la chlorophylle n'est cependant pas nécessairement liée à la radiation, car chez les Gymnospermes, les Fougères et les Mousses, on a constaté maintes

(1) Grintzesco : *Loc. cit.*, p. 76-77.

fois que la chlorophylle se formait et se maintenait en l'absence de toute lumière.

Les auteurs qui se sont occupés de la culture des Algues ont bien vu également que celles-ci conservaient leur chlorophylle à l'obscurité ; toutefois ces auteurs ont fréquemment constaté qu'à l'obscurité la teinte devenait jaune et que les cultures prenaient un aspect plus ou moins chlorotique ou même devenaient panachées ; cette disparition de la chlorophylle peut aussi bien se produire à la lumière, sous l'influence de certaines substances.

Chodat a fait une étude spéciale de la question à propos du *Chlorella* (*Palmellococus*) *variegata* : cette Algue se décolore rapidement sur milieu nutritif glucosé et elle se maintient dès lors presque indéfiniment sous cet état, ce qui pourrait faire croire à une forme stable blanche, à un cas de mutation. Chodat, avec la collaboration de M^lle^ Mendrewska, a reconnu que la peptone pouvait provoquer à nouveau le verdissement aussi bien à l'obscurité qu'à la lumière ; la *peptone s'est montrée le facteur essentiel du verdissement*, qui devient plus intense et plus rapide avec la concentration aux doses employées 0,1 à 0,8 0/0 ; si au lieu d'associer peptone et glucose, on offre à l'Algue comme source de carbone et d'azote la peptone seule, jamais il ne se produit de décoloration ; toutes les cultures sont vertes aussi bien à la lumière qu'à l'obscurité. *Le verdissement dans les cultures dépend d'une proportion convenable entre l'azote assimilable et le carbone assimilable* : la lumière intensifie le verdissement.

Dans l'expérience suivante, nous nous sommes borné d'abord à rechercher si le *Scenedesmus acutus* conserverait longtemps sa chlorophylle à l'obscurité sur milieu nutritif glucosé et sur carotte.

Le *Scenedesmus acutus* a été ensemencé le 9 janvier 1913,

(1) Chodat : *Monongraphie d'Algues* : *Loc. cit.*, p. 118.

sur plusieurs tubes avec agar nutritif glucosé : l'algue provenait d'une culture sur même milieu, développée à la lumière.

Ces tubes, abandonnés jusqu'au 15 mars à l'obscurité dans un placard, ont fourni de belles colonies qui avaient conservé leur couleur verte avec une teinte un peu jaunâtre.

Un de ces tubes sert pour un nouvel ensemencement sur cinq tubes carotte et trois tubes agar glucosé : tous sont conservés à l'obscurité dans le même placard.

Le 30 mars, on observe que le *Scenedesmus* s'est bien développé dans les trois tubes au glucose ; sur trois des tubes carotte, la culture est à peine perceptible ; elle est très visible dans les deux autres ; malheureusement l'un de ces derniers est contaminé par un *Penicillium*.

Le 26 avril, le développement est abondant dans les trois tubes au glucose : la couleur est verte ; un seul des tubes carotte a un bon développement.

Le 30 juin, l'Algue forme sur ce tube carotte des colonies réunies, épaisses, proéminentes : elle est aussi en grande abondance dans les trois tubes glucosés.

Le 18 juillet 1913, nous procédons à un nouvel ensemencement en prenant le *Scenedesmus* sur le tube carotte ; le semis est fait dans quatre tubes glucosés et quatre tubes carotte ; le tout est maitenu à l'obscurité du placard.

Le 20 décembre 1913, deux des tubes glucosés présentaient des colonies peu étendues et en surface ; on voyait une simple trace de développement dans le troisième tube ; le quatrième était stérile.

Le 3 avril 1914, nous examinons à nouveau ces mêmes tubes glucosés ; les colonies dans les trois tubes ont sensiblement le même aspect ; elles sont proéminentes à la surface de l'agar, mamelonnées, plissées ; leur dimension est de 2 centimètres environ ; leur couleur est d'un jaune sale très pâle.

L'examen microscopique nous montre de très nombreuses cellules incolores ; quelques-unes sont d'un vert pâle ; d'autres, assez rares, ont conservé une belle couleur verte : on est frappé de l'épaisseur de la membrane cellulaire dans certains individus : cette membrane présente alors des stries concentriques. Chodat a figuré pour une autre espèce, le *Scenedesmus quadricauda*, de telles cellules plus ou moins géantes, à parois épaissies et striées ; mais il n'en a pas signalé pour le *Scenedesmus acutus*.

Notre culture, âgée de plus d'un an, montrait des cellules de taille et de forme extrêmement variables : à côté de cellules exactement sphériques, on en trouvait d'autres ayant une forme ovale ou en fuseau : ces dernières montraient parfois une sorte de mucron ; certaines cellules, en assez petit nombre, renfermaient deux ou quatre spores ou même des autospores.

Les cellules contiennent pour la plupart de nombreux granules assez gros ; ils prennent par l'iode une coloration brun rougeâtre un peu violacé : on les prendrait pour du glycogène ; mais l'action de l'acide osmique, après l'iode, en les décolorant un peu, laisse voir une coloration bleue qui ne laisse aucun doute sur leur nature : *ce sont bien des grains d'amidon.*

L'acide osmique n'amène aucune coloration du contenu cellulaire : il n'existe donc pas de réserves d'huile dans cette espèce.

En résumé, nous avons conservé le *Scenedesmus acutus à l'obscurité* pendant plus d'un an : si beaucoup de cellules étaient devenues incolores, quelques-unes avaient conservé leur couleur verte. Nous avons procédé à de nouveaux ensemencements, afin de voir pendant combien de temps le *Scenedesmus acutus* peut être ainsi conservé à l'obscurité, sans perdre sa vitalité et en montrant, au moins dans quelques cellules, sa chlorophylle.

A cette date du 3 avril, nous procédons à un ensemence-

ment sur fragments de carotte et sur tube agar à 2 0/0 et glucose 1 0/0 ; le 11 mai, sur les tubes maintenus à l'obscurité, les colonies sont peu étendues et peu vigoureuses sur les deux milieux ; la teinte est verdâtre.

La culture sur carotte ne montre guère que des cellules arrondies ou ovales : beaucoup sont très grosses, de couleur verte, à contenu granuleux : très peu sont en division ; il faut l'aide des réactifs pour distinguer un gros pyrénoïde plus ou moins pariétal ; la membrane est épaisse ; beaucoup de petites cellules, de forme ovale, sont incolores : elles sont remplies par de gros grains d'amidon ; les grosses cellules vertes en renferment aussi, mais en très petits granules.

Sur milieu à l'agar, on observe de nombreuses cellules fusiformes, isolées : elles proviennent de cellules mères arrondies ou allongées qui les produisent par quatre et plus rarement par huit : il existe un très grand nombre de cellules incolores, de forme ovale, qui contiennent de nombreux grains d'amidon ; elles semblent mortes.

Nous effectuons des repiquages successifs, afin de voir si nous pourrons conserver, pendant plusieurs années, cette algue à l'obscurité complète, sans qu'elle perde sa chlorophylle.

Un de ces repiquages est effectué le 5 juin 1914 aux dépens de la culture du 3 avril.

Le premier semis est emprunté à un tube carotte ; il sert à inoculer six tubes à liquide minéral Grintzesco glucosé à 1 0/0 : un lot de trois tubes est placé à la lumière : le second est conservé à l'obscurité : aucune trace de développement plus tard, sauf dans un des trois tubes du dernier lot.

Le deuxième semis est emprunté à un tube à l'agar glucosé : nous ensemençons :

1° 4 tubes liquide G glucosé placés à la lumière ;
2° 4 tubes — placés à l'obscurité ;
3° 2 tubes agar nutritif glucosé à l'obscurité ;
— à la lumière.

Le 16 juin, on n'observe encore aucune trace de développement dans les cultures ; le 20 juillet, tous les tubes sont encore stériles, sauf les trois tubes à l'agar nutritif glucosé préparé avec du liquide Knop.

Deux tubes ont été conservés à l'obscurité ; le troisième a été placé à la lumière.

Le résultat est extrêmement intéressant : sur le tube à la lumière, on constate, le *10 juillet*, de très belles colonies vertes tout le long de la piqûre : l'algue s'est développée aussi bien en profondeur qu'en surface.

Dans les deux tubes maintenus à l'obscurité, on distingue à grand'peine la trace de la piqûre : l'algue s'est très légèrement développée, en restant incolore : la végétation a complètement cessé.

Une expérience comme celle-ci nous semble extrêmement intéressante ; dans les conditions les plus favorables au point de vue du milieu nutritif, le *Scenedesmus acutus* s'est montré incapable de produire indéfiniment de la chlorophylle à l'obscurité ; les repiquages deviennent de plus en plus difficiles, et *au bout d'un an et demi on n'obtient plus que quelques rares cellules incolores qui se refusent à toute multiplication ultérieure à l'obscurité.*

L'arrêt de végétation n'est pas dû à une sorte de sénescence, résultant de cultures successives multipliées ou encore d'une vitalité épuisée par des milieux nutritifs non suffisamment appropriés ; en effet, ces cultures âgées d'un an et demi, *redeviennent normales à la lumière, reprennent une belle couleur verte, et la végétation est active.*

En résumé, la production de la chlorophylle, chez le *Scenedesmus acutus*, ne semble pas pouvoir se faire indéfiniment dans un milieu nutritif glucosé : non seulement l'algue se décolore, ainsi que la chose a lieu pour le *Chlorella variegata ; mais elle devient incapable de se multiplier, alors qu'on lui fournit tous les éléments nécessaires à sa vie saprophytique ; la durée de celle-ci, à en juger par l'état de*

nos cultures, ne doit pas dépasser beaucoup 18 mois : il est remarquable que la lumière, sur ces cultures en vie saprophytique, suffise à rendre au *Scenedesmus* toute sa vitalité.

Peut-être une addition de peptone, qui, d'après Chodat, produit le verdissement chez le *Chlorella variegata*, pourrait-elle remplacer, pour le *Scenedesmus*, l'action de la lumière et permettre la vie saprophytique indéfinie ; des observations ultérieures nous l'apprendront ; pour l'instant, d'après cette expérience, il semble que la production de la chlorophylle à l'obscurité cesse après un temps plus ou moins long.

En tout cas, les résultats de cette expérience montrent bien que les difficultés de réussite dans les inoculations de *Scenedesmus acutus*, conservé à l'obscurité, augmentent avec l'âge des cultures ; pratiquement, les semis sur différents milieux, d'ordinaire favorables, restent stériles, après un certain temps.

*
* *

Ces lignes étaient écrites avant la guerre et même imprimées : nous avons tenu à n'y rien changer pour montrer comment dans une expérience conduite avec soin ou peut arriver cependant à des conclusions incomplètes ou même inexactes pour avoir négligé certains facteurs.

Il nous a suffi, en effet, par la suite, d'ajouter un peu de peptone au milieu nutritif pour obtenir, à l'obscurité, des cultures vigoureuses et d'une belle couleur verte : nous avons exposé les principaux résultats de ces recherches à la séance du 31 janvier 1921 de l'Académie des sciences dans les termes suivants (1) :

(1) P. A. Dangeard : Observations sur une Algue cultivée à l'obscurité depuis huit ans (C. R. Acad. sc. T. 172, p. 254).

« On sait qu'une plante verte conservée à l'obscurité s'étiole, perd sa chlorophylle et ne renferme plus au bout d'un certain temps que des pigments carotinoïdes : c'est le cas de la Barbe de capucin.

D'autre part, il est facile de constater qu'une graine qui germe en l'absence de lumière fournit une plantule qui reste incolore ; tant que la radiation n'intervient pas.

La production de la chlorophylle semble donc liée d'une façon étroite et même nécessaire à l'action de la lumière.

Il existe pourtant d'assez nombreuses exceptions à cette règle : ainsi certains végétaux, comme les Fougères et plusieurs Algues (*Chlorella*, *Scenedesmus*, *Stichococcus*) conservent leur couleur verte à l'obscurité.

Ce verdissement chez les Algues privées de lumière a été signalé déjà par un certain nombre d'auteurs (Artari, Radais, Matruchot et Molliard Chodat, Kufferath) : il y avait place cependant pour une expérience de longue durée du genre de celle dont je vais maintenant indiquer les principaux résultats.

La culture initiale du *Scenedesmus acutus* m'a été fournie aimablement par notre confrère, le professeur Chodat de Genève : les cultures que je présente aujourd'hui à l'Académie proviennent, par repiquages successifs opérés tous les deux ou trois mois, d'une culture placée à l'obscurité complète le 9 janvier 1913 : comme les repiquages sont effectués en quelques secondes et à tâtons, on peut dire que les milliers de générations qui se sont succédé dans les différents milieux nutritifs employés n'ont jamais reçu de lumière depuis huit ans : or ces cultures sont aussi vertes que celles qui ont été conservées à la lumière, et d'autre part l'examen du spectre d'absorption de la chlorophylle ne montre aucune différence dans les deux séries.

Après une expérience aussi longue, on peut donc affirmer que la chlorophylle, chez le *Scenedesmus acutus* se forme en l'absence d'une action proche ou lointaine de la lumière :

on pourra cultiver cette Algue indéfiniment à l'obscurité sans qu'elle cesse d'être verte, à condition bien entendu de lui fournir un milieu nutritif favorable.

Tous les milieux de culture ne conviennent pas à une expérience de ce genre ; celui auquel je me suis arrêté en utilisant les renseignements fournis par Grintzesco et Chodat est constitué de la manière suivante : Eau distillée, 1.000 gr. ; nitrate de calcium, 0 gr. 5 : chlorure de potassium, 0 gr. 5 ; sulfate de magnésium, 0 gr. 5 ; phosphate de potassium, 0 gr. 5 ; sesquichlorure de fer, traces ; glucose, 1 % ; peptone, 0 gr. 8 ; le tout rendu solide par 2 % de gélose. Il est bon de temps en temps d'utiliser un milieu liquide : on supprime alors simplement la gélose.

En augmentant la dose de glucose, on obtient des colonies étiolées, plus ou moins incolores : il arrive également qu'avec la dose normale, le centre des colonies âgées soit incolore ; mais un nouveau repiquage remet les choses en état.

Le *Scenedesmus* se reproduit vraisemblablement au moins une fois par 24 heures. Dans mes cultures, la nutrition holophytique, c'est-à-dire l'assimilation du carbone de CO^2 sous l'influence de la radiation a donc été suspendue au cours de ces huit années d'obscurité, pour des milliers de générations.

Il était dès lors intéressant de voir dans quelles conditions la fonction se rétablirait à nouveau en présence de la lumière ; or, j'ai pu constater que le dégagement d'oxygène, en milieu liquide, se produit déjà parfois à la lumière électrique au bout de 5 heures d'exposition, d'où cette conséquence un peu inttendue :

La disparition complète de la fonction chlorophyllienne pendant des années n'a pas plus d'effet sur l'Algue que les quelques heures d'obscurité à laquelle elle est soumise chaque nuit dans la nature. Cette constatation n'est guère en accord avec tout ce que nous savons par ailleurs des effets du non-usage d'une fonction chez les êtres vivants.

Les modifications dans la morphologie de l'Algue et sa structure sont très profondes et nombreuses : beaucoup sont dues à l'influence d'un milieu nutritif solide ; d'autres résultent de l'absence de lumière. Il est difficile, sinon imposible, de faire la part exacte de chaque facteur dans les changements observés ; mais ces caractères nouveaux ne possèdent aucune fixité : ils disparaissent rapidement sitôt que l'Algue est replacée dans son habitat ordinaire ou simplement en milieu nutritif liquide ; leur étude, surtout celle qui concerne les variations de structure, est cependant fort instructive.

La structure normale du *Scenedesmus acutus* comporte des colonies de deux, quatre ou huit cellules associées latéralement (I, *fig.* 1) : ces cellules sont allongées en pointe à leurs deux extrémités, d'où le nom de l'espèce. Sous la membrane, on trouve un cytoplasme qui renferme, comme dans toute cellule végétale (1), un *plastidome* avec *plastes* C, un *vacuome* avec *métachromatine* et *corpuscules métachromatiques* et un *sphérome* avec *microsomes* : le noyau qui est situé d'ordinaire au milieu du cytoplasme comprend une membrane nucléaire, un nucléole central et un nucléoplasme homogène ou finement granuleux (I, *fig.* 2).

Le *plastidome* est représenté par un *chloroplaste* unique C disposé latéralement et occupant une partie plus ou moins grande de la cellule : il renferme en son centre un pyrénoïde entouré d'une couche d'amidon : à l'intérieur du plaste et selon les conditions de l'assimilation chrolophyllienne, on trouve ou non des granules amylacés.

Le *sphérome* comprend un petit nombre de *microsomes* réfringents *Mi* qui sont susceptibles de se transformer en globules d'huile.

(1) P.-A. Dangeard, *Sur la distinction du chondriome des auteurs en vacuome, plastidome et sphérome* (*Comptes rendus*, t. 169, 1919, p. 1005) ; *La structure de la cellule végétale et son métabolisme* (*Comptes rendus*, t. 170, 1920, p. 709).

Le *vacuome* mérite un examen spécial, car il ressemble tout à fait à celui que j'ai observé chez beaucoup d'Algues unicellulaires (*Chlamydomonas*, *Gonium*, etc.). Le bleu de crésyl fait apparaître dans le cytoplasme un nombre variable de sphérules métachromatiques de grosseur différente. Ces sphérules M correspondent à des vacuoles élémentaires dont le contenu est dense et formé de métachromatine en solution colloïdale : ce sont donc des *métachromes*.

On sait que ces métachromes, dans les cellules végétales, s'allongent ordinairement en bâtonnets ou en filaments qui s'anastomosent ensuite en réseau avant de s'unir pour donner les vacuoles ordinaires : ici, chez le *Scenedesmus*, l'évolution du vacuome s'arrête au stade des métachromes de forme sphérique. Je n'ai vu qu'une fois les métachromes s'allonger en filaments plus ou moins contournés : il s'agissait d'une culture sur agar glucosé, venant de l'obscurité et placée à la lumière, après addition du liquide nutritif indiqué ci-dessus. Le nombre des métachromes et leur grosseur sont très variables : à l'intérieur, il ne se forme, sous l'influence du colorant vital, qu'un seul *corpuscule métachromatique* qui se confond avec la vacuole ou ne s'en trouve séparé que par un mince intervalle ; assez rarement et seulement avec des vacuoles plus grosses, en nombre réduit, il y a précipitation de plusieurs corpuscules métachromatiques.

La multiplication, chez le *Scenedesmus acutus*, a lieu de la manière suivante : dans chaque cellule, le noyau se divise suivant l'axe, et une cloison médiane, perpendiculaire à cet axe, intervient qui sépare le corps en deux moitiés ; chaque moitié s'allonge de façon à devenir progressivement parallèle à la seconde moitié. Si la paroi de la cellule mère se gélifie à ce stade, on a une colonie de deux individus qui restent accolés.

Le plus souvent, chacune des moitiés subit également une division transversale, d'où l'aspect si fréquent des cel-

lules mères en division (I, *fig.* 6) : chacune des quatre cellules ainsi formées s'allonge suivant l'axe ; lorsque la membrane de la cellule mère se gélifie, les quatre cellules filles

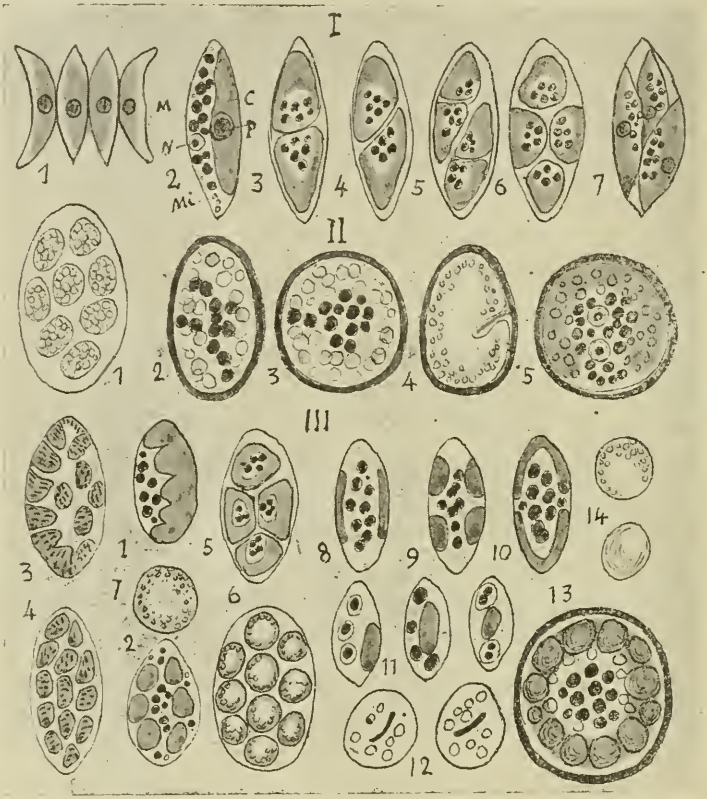

Fig. I. T. *Scenedesmus acutus.*

s'étalent sur un même plan, en restant parallèles, d'où la forme si curieuse des colonies (I, *fig.* 3-7).

Pendant cette multiplication, la division du noyau est accompagnée par celle du chloroplaste et la cellule mère, comme les cellules filles, possède de nombreux métachromes dans son cytoplasme.

Dans les cultures conservées à l'obscurité, les modifications qui portent sur la morphologie des cellules et leur structure se retrouvent pour la plupart dans les cultures ordinaires maintenues à la lumière : seule, la disparition du pyrénoïde semble être en rapport direct avec l'absence de lumière.

Si cette disparition du pyrénoïde était devenue définitive, on aurait obtenu par ce séjour prolongé de l'Algue à l'obscurité une espèce ou tout au moins une variété nouvelle : or, il n'en est rien : *dans les cultures replacées à la lumière et en milieu liquide, le pyrénoïde fait son apparition dès le quatrième jour chez quelques cellules : au bout d'une dizaine de jours, tous les individus en sont pourvus.*

La conclusion importante qui se dégage de cette observation, au point de vue de la systématique, est celle-ci : *La présence ou l'absence de pyrénoïde dans une Algue constitue un caractère systématique de premier ordre, à condition que celle-ci soit étudiée dans son habitat ordinaire.*

Les variations d'ordre morphologique qui se produisent chez le *Scenedesmus acutus* avec les différents milieux nutritifs employés, ont été trop bien décrits par Chodat pour qu'il soit nécessaire d'y revenir ici puisque l'obscurité ne semble pas intervenir comme un facteur important : je me contenterai donc d'étudier les principales modifications qui portent sur la structure cellulaire.

Les *cultures sur carotte à l'obscurité* qui, au début, fournissaient rapidement de belles colonies, sont devenues par la suite presque impossibles à réaliser : après les réensemencements, les colonies restaient microscopiques.

En général, les cellules de forme ovale ou même complètement sphériques sont hypertrophiées, volumineuses : la membrane s'est épaissie fortement, montrant parfois des stries concentriques ; elle se colore par le vert d'iode et par le bleu de crésyl, prenant avec ce dernier réactif une couleur rouge vineux : le chloroplaste plus ou moins décoloré

contient de nombreux grains amylacés (1) ; les métachromes sont également nombreux dans le cytoplasme ; certains individus renferment un grand nombre de chloroplastes distincts chargés de granules d'amidon ; on trouve çà et là des sporanges donnant naissance à quatre, huit ou seize spores (II, *fig.* 1-3).

Parfois, dès le quinzième jour, les cellules se trouvent arrêtées dans leur multiplication : elles sont devenues sphériques et ont subi une sorte d'enkystement ; le chloroplaste unique est très développé, presque incolore ; comme dans tous les cas de décoloration, la teinte verte est visible seulement autour de certains grains amylacés, que l'on pourrait prendre facilement pour des chloroplastes distincts ; les métachromes, nombreux et assez gros, remplissent le cytoplasme (II, *fig.* 5). Beaucoup de ces individus renferment plusieurs noyaux et montrent à leur intérieur des prolongements internes de la membrane, métachromatiques comme elle et très irréguliers (II, *fig.* 5).

Les *cultures ordinaires sur gélose à l'obscurité* sont restées jusqu'ici vigoureuses : elles fournissent assez rapidement de belles colonies.

Dans les colonies jeunes, tous les individus ont une belle couleur verte (III, *fig.* 8-10), le chloroplaste est souvent fragmenté en 4, 8, 16, 32 corpuscules discoïdes à contour irrégulier (III, *fig.* 2-4) ; chacun d'eux est parfois rempli de nombreux petits grains amylacés serrés les uns contre les autres. Ces individus à nombreux chloroplastes se transforment par des divisions plus ou moins simultanées de leur contenu en sporanges à 4, 8, 16 ou même 32 spores (III, *fig.* 5-6) ; de nombreux métachromes sont visibles dans chaque cellule.

Sur des cultures âgées, le centre est occupé par des cel-

(1) Il est nécessaire de noter que partout, dans ces cultures, l'amidon ne présente pas, avec les réactifs iodés, une couleur bleue, mais une teinte rougeâtre qui est celle l'amylodextrine.

lules plus ou moins incolores, avec seulement quelques granules amylacés et parfois un cristal de carotine; on ne distingue plus sur le vivant aucune différence entre le chloroplaste et le cytoplasme (III, *fig.* 12) ; l'emploi du colorant vital permet de reconnaître ce dernier, en y rendant visibles les métachromes, alors que les granules d'amidon sont localisés dans dans le plaste. Dans la zone de bordure qui est restée verte, les cellules, pour la plupart, montrent les caractères qu'elles ont dans les colonies jeunes.

Des cultures anciennes m'ont permis de rencontrer, au milieu d'individus de toutes dimensions, des cellules sphériques à membrane épaisse, atteignant une taille considérable, et renfermant des grains d'amidon relativement énormes (III, *fig.* 13) ; ces grains d'amidon ont le volume des petits individus (III, *fig.* 14) ; quelques-unes possèdent encore un peu de chlorophylle, certaines sont incolores, elles renferment toutes de la métachromatine en abondance, et parfois plusieurs noyaux ; cette production exagérée d'amidon est due, évidemment, à une rupture d'équilibre dans les phénomènes de nutrition. »

VII. — L'INFLUENCE DES HAUTES TEMPÉRATURES SUR LES CULTURES DE *CHLORELLA VULGARIS*.

Les algues ne supportent pas d'ordinaire des températures élevées : pour les Diatomées, selon Miquel, la température de 45° C. est mortelle ; quelques-unes résistent à 42° ; pour les *Vaucheria*, le maximum thermique est 33°, d'après Klebs ; Krüger a montré que le *Chlorella prothecoides* est tué à 45-46° par la chaleur humide agissant durant 10 à 15 minutes, à 64-65° par la chaleur sèche durant le même temps. Lowenstein a étudié à ce point de vue une algue thermale, le *Mastigocladus laminosus* : celle-ci résiste pendant trois jours à 51° C. et à 49° C. (1).

(1) Consulter : Kufferath, *loc. cit.*, p. 23 et 40.

Nous possédons quelques renseignements assez précis sur les espèces du genre *Chlorella*.

Ainsi Kufferath a constaté que le *Chlorella luteo-viridis* est tué à la température de 42 à 43° C. : cette algue résiste de 12 à 24 heures à la température de 38° C.

Grintzesco a étudié au même point de vue le *Chlorella vulgaris* (1) : sur douze tubes renfermant de l'agar glucosé à 1 0/0, placés dans une étuve réglée à 35°, un seul a fourni une culture ; les autres sont restés stériles : la limite supérieure permettant le développement de *Chlorella vulgaris* doit être, d'après ce savant, aux environs de 35° ; même à 30°, le développement est faible. Cette observation de Grintzesco montre nettement que la température de 35° arrête la croissance de l'algue ; celle-ci cependant à cette température, n'est pas tuée nécessairement : les tubes, restés stériles dans l'expérience précédente, auraient peut-être donné lieu à la formation de colonies, s'ils avaient été placés ensuite à une température favorable.

L'expérience suivante va nous renseigner sur ce point intéressant : elle a d'autant plus de valeur qu'elle s'applique à des algues vivant dans leur milieu naturel.

Nous ensemençons le 30 juin 1914, avec une culture mixte de *Chlorella vulgaris* et de *Scenedesmus acutus*, huit cuves à faces parallèles : chaque cuve reçoit une quantité de ces algues suffisante pour former un dépôt vert de 1 mm. environ sur le fond : ces algues sont en pleine végétation : les cuves, placées à la lumière, donnent en trois minutes de nombreuses bulles d'oxygène.

Ces cuves sont placées derrière des écrans monochromatiques Wratten ; ceux-ci sont au nombre de sept : α, β, δ, γ, ε, η et θ qui reproduisent respectivement, de façon approchée, les couleurs du spectre : rouge, orangé, jaune, vert, bleu, indigo et violet.

(1) Grintzesco : *Loc. cit.*, p. 75.

L'appareil qui supporte ces écrans et ces cuves possède un huitième compartiment sans écran : la cuve qui lui correspond reçoit donc la radiation totale.

Nous profitons de la chaude journée du mercredi 1er juillet, pour étudier sur ces cuves l'effet d'une température élevée, avec des cultures soumises ainsi aux différentes radiations du spectre et à la radiation totale ; incidemment, nous notons le dégagement des bulles d'oxygène :

L'appareil est placé, face au soleil, à 2 h. 25, fenêtre ouverte ; de temps en temps, il est tourné légèrement, de façon à assurer cette même orientation : les rayons solaires pendant la durée de l'expérience restent donc perpendiculaires aux cuves de culture ; celles-ci se trouvent à 0 m. 50 d'une fenêtre laissée ouverte.

Au début de l'observation, la température de l'eau des cuves est celle de la salle, c'est-à-dire 30° C. ; la température au soleil est de 47° C.

A 2 h. 35, après dix minutes, on observe une dizaine de bulles d'oxygène en radiation totale.

A 2 h. 45, de nouvelles bulles se sont produites en radiation totale, et 3 ou 4 derrière l'écran orangé.

A 2 h. 50, en radiation totale, on trouve quelques grosses bulles d'oxygène qui tendent à soulever le dépôt vert du fond : pas de changement dans l'orangé : trois ou quatre bulles dans le rouge ; les autres cuves ne montrent aucun dégagement d'oxygène.

A ce moment, le thermomètre marque 50°C. au soleil et 32° dans l'appartement, derrière l'appareil : *la température de l'eau de la cuve soumise à la radiation totale est de 42°5* ; derrière l'écran η, elle est de 42°.

Ainsi, pendant que la température des cuves s'élevait de 30° à 42° 5 en 15 minutes, la photosynthèse s'exerçait seulement à la radiation totale et aussi, mais plus faible, dans l'orangé et le rouge.

A 3 h. 15 nous observons que l'assimilation continue à se

faire en radiation totale ; elle est beaucoup plus faible dans l'orangé et le rouge.

A partir de 3 h. 30, le dégagement d'oxygène a complètement cessé, même en radiation totale : la température au soleil se maintient au voisinage de 50° : elle monte à 33° à l'ombre à quelque distance derrière l'appareil.

Nous prenons la température de quelques cuves à 3 h. 30 : *43°2 en radiation totale*, *42°8 en* α, *42°8 en* β, *42°5 en* η.

A 3 h. 45, cette température de l'eau des cuves est la suivante : α : *45°* ; β : *44°5* ; δ : *45°5* ; ε : *45°3*.

Cette haute température se maintient jusqu'à 4 heures : nous avons des raisons de croire qu'elle a pu atteindre et dépasser 46° ; mais pour nous en tenir aux données vérifiées, *nous constaterons que les algues ont supporté pendant une vingtaine de minutes une température de 44° à 45°5 : le dégagement d'oxygène n'a cessé que lorsque la température a dépassé 42° C.*

On aurait pu croire que l'eau des cuves aurait présenté une température assez différente suivant la nature des écrans ; en réalité, ces différences n'ont pas dépassé un degré, et pour les apprécier nettement il aurait fallu faire l'observation au même moment pour toutes les cuves ; on peut considérer ces différences comme négligeables dans le cas actuel.

L'expérience a été arrêtée à 4 heures. Nous supposions, d'après les données fournies par différents auteurs sur la résistance des algues à la chaleur et en particulier d'après les observations de Kufferath et de Grintzesco sur les Chlorelles, que nos cultures ayant supporté une température de 44° à 45°5 auraient perdu complètement leur vitalité.

Toutefois, afin de vérifier si cette vitalité avait été affectée différemment par les divers éclairements, nous avons ensemencé le soir même du 30 juin, pour chacune des huit cuves, quatre tubes de cultures, soit en tout trente-deux.

La 1re série de 8 tubes renfermait du liquide calcique d'Errera dilué 50 fois.

La 2e série renfermait le même liquide dilué + $CO^3 K^2$ à 2,5 0/0.

La 3e et la 4e série contenaient du liquide nutritif Grintzesco.

Tous ces tubes ont été exposés à la lumière, près d'une fenêtre à l'exposition nord-est.

Le 7 juillet, l'algue montrait un bon développement dans tous les tubes des séries 1, 3 et 4 ; la 2e série était complètement stérile.

Le 15 juillet, les cultures sont vigoureuses dans tous les tubes, sauf dans ceux de la série 2 qui n'offre aucune trace de développement : il en est de même le 22 juillet.

Il résulte de là : 1° que les *Scenedesmus acutus* et *Chlorella vulgaris* ont supporté, à différents éclairements aussi bien qu'à la radiation totale, une température de 44° à 45°5 sans être tués.

2° Le liquide calcique d'Errera s'est montré presque aussi favorable à la végétation du *Chlorella vulgaris* que le liquide minéral Grintzesco ; rappelons que ce liquide calcique contient :

Nitrate de potassium	20 gr.
Phosphate tricalcique	20 gr.
Sulfate de magnésie	5 gr.
Sulfate de chaux	10 gr.
Chlorure ferrique	traces.
Eau	200 cc.

Solution mère à diluer 50 fois.

3° *L'addition de carbonate de potassium à 2,5 0/0 au milieu calcique n'a pas permis à l'algue de se développer* : pour le *Chlorella luteo-viridis*, cette proportion de 2,5 à 3 0/0 est au contraire bien supportée, selon Kufferath (1) : la croissance est simplement retardée au début, mais se trouve finalement favorisée si l'on attend quelque temps.

(1) Kufferath : *Loc. cit.*, p. 14.

L'examen microscopique des tubes de culture au 22 juillet a donné lieu à quelques observations intéressantes.

1° Les cultures ne renfermaient aucune autre algue en dehors du *Chlorella vulgaris* et du *Scenedesmus acutus : cette dernière était peu abondante dans la plupart des tubes, sauf dans deux ou trois ; peut-être supporte-t-elle moins bien les températures élevées.* Grintzesco (*loc. cit.*, p. 80) lui attribue une température maximale de 30°, alors qu'il fixe celle du *Chlorella* à 35°.

2° La culture mixte qui avait servi à l'ensemencement des cuves renfermait une espèce d'amibe assez particulière ; celle-ci se nourrit aux dépens des Chlorelles qu'elle ingère : elle prend alors une couleur orangée due probablement à la fixation de carotine sur les granulations du protoplasma. On retrouve cette amibe dans les tubes ensemencés avec les cuves de culture ayant supporté la température de 45° ; mais elle s'y trouve presque uniquement à l'état de kystes : ceux-ci sont sphériques, ont une membrane lisse, un contenu à granules brillants et souvent une sphère orangée dont la teinte est plus ou moins accentuée.

3° La culture mixte renfermait encore des traces d'un champignon dont les filaments s'entremêlent avec les colonies de Chlorelles dans le dépôt vert des flacons.

Ce champignon se retrouvait au fond de quelques tubes des quatre séries ensemencées : sa végétation s'était ordinairement arrêtée avec la formation de sortes de chlamydospores réunies en chapelet, en nombre variable.

On retrouvait donc finalement dans les tubes de culture les quatre organismes — parmi lesquels deux algues, un rhizopode, un mycète — qui se trouvaient dans les cuves soumises à cette expérience.

La vitalité des cultures soumises à ces températures de 44° à 45°5 a été reconnue par un autre moyen que l'ensemencement.

Les 8 cuves de l'expérience ont été placées le lundi 6 juillet

à la radiation totale par temps assez lumineux avec nuages blancs : toutes les cuves sans exception ont assimilé normalement : elles fournissaient de une à deux bulles par minute dans chaque culture.

L'influence de la nature des écrans sur la résistance à la chaleur entre 44 et 45° ne s'est pas dégagée comme nous l'espérions : l'expérience n'a fourni à ce sujet qu'une simple indication qui est la suivante :

Les huit cuves avaient été soumises le 4 juillet à la radiation totale par temps couvert de 3 h. 15 à 5 h. 10 : le dégagement des bulles d'oxygène a été très faible : nous en avons obtenu au total par secouage quarante dans la cuve de radiation totale, une dizaine dans les cuves qui avaient reçu la radiation orangée et rouge et cinq ou six dans le vert, mais rien dans les autres : les cuves qui avaient reçu les rayons les plus réfrangibles se trouvaient donc dans un état moins favorable à l'assimilation ; mais l'observation du 6 juillet rapportée ci-dessus a montré que cet état s'était rapidement modifié en faisant disparaître ces différences.

En résumé, *cette expérience montre que la photosynthèse continue de se faire en radiation totale jusqu'à la température de 42° ; au-dessus, le dégagement d'oxygène cesse ; le* Chlorellavulgaris *et le* Scenedesmus acutus *peuvent supporter pendant plus d'un quart d'heure les températures de 44 et de 45° sans perdre leur vitalité.*

Comparaison avec d'autres algues. — Il était assez intéressant de faire une expérience analogue avec une algue verte filamenteuse : nous avons choisi le *Spirogyra crassa* Ktz, que nous pouvions récolter facilement dans sa station naturelle et qui a servi par ailleurs à d'autres observations.

Le mercredi 16 septembre 1914, nous plaçons de nombreux filaments de cette algue, dans les cuves de notre appareil derrière les écrans monochromatiques Wratten α, β, γ, δ, ε, θ : une septième cuve R. T. est soumise à la radiation totale.

L'appareil est placé, à 9 h. 30, perpendiculairement aux rayons du soleil : celui-ci se trouve caché de temps en temps par des nuages.

A 9 h. 50, la température atteint 28°, dans la cuve soumise à la radiation totale ; elle est inférieure d'un ou deux degrés dans les autres.

Le nombre de bulles est d'une centaine en R. T., de 60 en β, de 40 en α, de 20 en δ : elles sont au nombre de cinq ou six en γ, ε et θ ; un secouage énergique les fait disparaître.

A 10 h. 35, le soleil est chaud, la température des cuves est de 30 et 31° ; il existe des bulles partout, beaucoup plus nombreuses cependant en α, β et R. T : nouveau secouage.

A 10 h. 45, l'appareil étant toujours maintenu perpendiculaire aux royons du soleil, l'observation donne les résultats suivants :

Ecrans :	α	β	γ	δ	ε	θ	R. T.
Température :	31°	31°5	31°5	31	32	32°5	34°.
Bulles :	20	25	2	6	4	4	20.

A midi, on note :

Ecrans :	α	β	γ	δ	ε	θ	R. T.
Température :	41°	41°5	41°.	41°	40°	40°	41°.
Bulles :	20	20	5	15	5	4	20.

A midi 22, au soleil, le thermomètre marque 42° et les résultats sont les suivants :

Ecrans :	α	β	γ	δ	ε	θ	R. T.
Température :	41°	40°5	40	40	40	40	40.
Bulles :	2	2	0	0	0	0	0.

Les chiffres qui précèdent permettent déjà de dégager la conclusion suivante :

A la température de 40 a 41°, l'assimilation du Spirogyra crassa tend à devenir nulle : c'est dans la radiation rouge et orangée qu'elle a persisté le plus longtemps.

La suite de l'observation ne montre plus aucun dégagement d'oxygène : la température des cuves était encore de 40° à 1 h. 30 ; elle est descendue vers 5 heures à 33°.

La plus haute température des cuves s'est produite entre midi et midi et demi et elle n'a pas dépassé 41° ou peut-être 42°.

L'examen microscopique des filaments, effectué à 5 heures, ne montre pas de différences bien nettes entre les filaments contenus dans les différentes cuves ; ces filaments ont conservé leur souplesse et leur structure : partout, sauf dans quelques cellules isolées, le chloroleucite a conservé son aspect normal : les pyrénoïdes sont entourés de granules d'amidon : le noyau se voit au centre avec les filaments rayonnants qui en partent ; peut-être existe-t-il des granules d'amidon un peu plus gros en α, β et R. T. ; mais la différence est bien peu sensible ; les granules d'amidon ne se trouvent qu'autour des pyrénoïdes.

En résumé l'algue semble avoir censervé sa vitalité : elle est seulement d'une teinte légèrement jaunâtre en α, β et R. T alors que sa couleur est restée verte en γ, δ et surtout en ε et θ.

Afin de savoir si l'algue a supporté sans trop de dommage la température de 40 et 41° nous plaçons toutes les cuves à la radiation totale sans écran le lendemain jeudi 17 septembre : le temps est resté sombre toute la journée : et aucune bulle ne s'est produite.

La vitalité du *Spirogyra crassa* a eu beaucoup à souffrir certainement de la température de 40 et 41° : en effet, une autre culture de cette même algue qui n'avait supporté hier que 34°, assimile normalement aujourd'hui à ce même éclairement faible.

Le ciel s'étant éclairci vers 4 h. 1|2, les cuves sont placées à l'exposition ouest à 5 h. ; le soleil brille.

Il se produit trois bulles en θ dont les filaments avaient d'ailleurs une couleur plus verte : une se dégage en γ. Dans les cuves, à teinte jaunâtre, α, β et R. T., on n'observe rien.

On pourrait déjà, d'après ces constatations, admettre que

la température de 41° ne peut être supportée par l'algue en radiation totale, et aussi dans les rayons qui sont les plus actifs dans la synthèse chlorophyllienne ; que cette température de 41° est une limite qui permet par exception aux filaments de conserver une certaine vitalité dans les rayons les plus réfrangibles ou d'intensité moindre et sans doute aussi à l'obscurité : ce reste de vie coïncide avec la persistance de la couleur verte ordinaire de la chlorophylle.

Afin de pouvoir accorder une plus grande confiance à ces conclusions, nous soumettons à nouveau ces mêmes cuves, sans écrans, à la radiation totale le vendredi 18 septembre : le temps est clair avec nuages blancs et soleil intermittent ; les conditions de synthèse chlorophyllienne sont excellentes, car une culture à côté dégage de l'oxygène abondamment ; de 8 à 9 h. 30, sur les sept cuves en expérience, θ a donné cinq bulles d'oxygène à la température de 21° ; à 9 h. 45, dans cette même cuve nous comptons sept nouvelles bulles, alors que les autres cuves n'en présentent aucune ; à 10 h. 6, nouvelles bulles en θ, mais en δ et ε deux bulles font leur apparition.

A 10 h. 10, en θ les bulles se dégagent au nombre de deux par minute, ce qui représente une excellente assimilation, étant donné le petit nombre de filaments contenus dans la cuve.

A 10 h. 15, la température de la cuve θ est de 24° : cette cuve contient 54 bulles la plupart assez grosses ; un secouage les *fait dégager* ; toutes les autres cuves, sauf α, β et R. T. ont des bulles ; on compte 5 bulles en ε ; 3 en δ ; 2 en γ

A 10 h. 30 : température 24° ; une soixantaine de bulles en θ qu'un choc fait dégager ; γ : 8 bulles ; δ : 3 bulles ; ε : 5 bulles.

Le soir, vers 3 heures, on constate que les filaments, à la suite d'une radiation trop intense, sont décolorés dans toutes les cuves.

Cette observation prouve *que la température limite, pour* Spirogyra crassa, *est au voisinage de 40 à 41° : d'autres expériences qui avaient pour but un objectif différent nous ont montré que si l'algue peut résister pendant une heure ou deux à cette température, elle est déjà atteinte fortement dans sa vitalité vers 36 à 37°, en radiation totale principalement.*

D'autre part, nous avons constaté maintes fois un dégagement d'oxygène très appréciable aux températures de 38 et 39° ; il cesse plus ou moins complètement vers 40°.

Nous avons fait des observations du même genre avec une Cyanophycée, *l'Oscillatoria limosa v. laete-aeruginosa* Kutz.

Sans entrer dans le détail de l'expérience, nous indiquerons les principaux résultats obtenus.

Le dégagement d'oxygène a cessé entre 37 et 40° : l'algue ne supporte pas une température supérieure à 42 ou 43° produite par la radiation.

A cette température, la phycocyanine abandonne rapidement le contenu cellulaire et se localise à la périphérie du filament et aussi parfois dans les cloisons transversales : les filaments sont alors entourés d'une gaine bleue qui n'est pas visible sur le vivant. Si l'action de cette température de 42 à 43° se prolonge, la phycocyanine forme une couche bleue au fond des cuves de culture.

En résumé, cette Cynophycée qui avait été recueillie dans une mare alimentée directement par de l'eau de source s'est comportée dans sa résistance vis-à-vis de la température produite par la radiation, à peu près exactement comme le *Spirogyra crassa* : il est utile de noter que cette dernière espèce provenait aussi d'une station analogue.

Nous aurions voulu pouvoir dégager l'action plus ou moins nuisible des différentes radiations à une même température : il semble bien que pour le *Spirogyra crassa*, l'algue est tuée plus rapidement avec les rayons orangés qui la décolorent

plus rapidement que les autres ; mais il faut se garder de généraliser, car la question est extrêmement complexe ; nous y reviendrons lorsque nous étudierons spécialement la nature des écrans et leur influence sur la photosynthèse.

Poitiers. — Société française d'Imprimerie.

LE BOTANISTE

Directeur : M. P.-A. DANGEARD

MEMBRE DE L'INSTITUT

PROFESSEUR DE BOTANIQUE A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

.....

SÉRIE XIV

FASCICULES III-VI

Octobre 1926

.....

SOMMAIRE

P.-A. DANGEARD : Recherches sur l'assimilation chlorophyllienne.

PRIX DE L'ABONNEMENT A LA SÉRIE DE SIX FASCICULES
30 francs

Direction : 1, rue Victor-Cousin

Chèque postal : Paris 687.88

GRAY
NEW YORK
BOTANICAL
GARDEN

CHAPITRE DEUXIÈME

PREMIÈRE PARTIE

LA SENSIBILITÉ DES ALGUES INFÉRIEURES A LA LUMIÈRE

Les algues inférieures et en particulier le *Chlorella vulgaris* et le *Scenedesmus aculus* se développent indéfiniment à l'obscurité, pourvu que le milieu nutritif renferme du carbone organique, de préférence sous la forme de glucose.

Nos expériences sur le *Scenedesmus aculus* sont particulièrement démonstratives à cet égard ; cette espèce qui a été ensemencée ,le 9 janvier 1913, et maintenue à l'obscurité complète, continue à se développer vigoureusement, à chacun des repiquages successifs qui sont effectués tous les deux ou trois mois depuis treize ans.

Il est donc suffisamment démontré qu'une algue verte peut vivre exclusivement en saprophyte, tout en continuant de fabriquer de la chlorophylle et cela sans limite de durée ; quel est dans ce cas, en l'absence de lumière, le rôle de la chorophylle ; ce rôle même existe-t-il ? On ne saurait pour l'instant rien dire à cet égard.

Si la nutrition purement saprophytique des algues vertes inférieures peut se continuer indéfiniment, on peut en dire

NOV 2 5 1926

autant de leur nutrition holophytique ; ainsi, dans des expériences faites en vue d'un autre but, nous avons constaté que le *Chlorella genevensis* vit très bien, pendant plusieurs années dans des tubes ne renfermant qu'un milieu nutritif minéral; à travers de nombreuses générations, l'algue n'avait reçu d'autre carbone que celui qui provenait de l'assimilation chlorophyllienne ; la nutrition holophytique n'avait jamais, à un degré quelconque, été complétée par une nutrition carbonée d'origine saprophytique.

Ces algues vertes inférieures sont donc capables d'utiliser indifféremment et exclusivement, soit la nutrition holophytique, soit la nutrition saprophytique, alors que dans les conditions ordinaires, elles emploient les deux, dans une proportion variable.

Il est assez naturel de se demander comment se comportent à cet égard les plantes vertes d'organisation plus élevée.

On a cru pendant longtemps, à la suite de Liebig et de Boussingault, que les plantes supérieures n'empruntaient au sol que les substances minérales et que tout le carbone assimilé provenait de l'assimilation chlorophyllienne ; la nutrition carbonée aurait été strictement holophytique ; les plantes supérieures, s'il en avait été ainsi, auraient différé profondément des algues vertes inférieures qui peuvent vivre, à l'obscurité complète, lorsque le milieu nutritif renferme des hydrates de carbone.

Mais cette différence n'existe pas ainsi qu'il résulte des travaux de différents observateurs ; c'est ainsi que Mazé, en 1899 (1), cultivant des vesces de Narbonne à l'*obscurité* dans des solutions de glucose de 1 à 6 % a vu le poids sec augmenter sensiblement ; plus tard, en 1903 (2), Laurent a

(1) Mazé : *L'assimilation des hydrates de carbone et l'élaboration de l'azote organique dans les végétaux supérieurs* (Comptes rendus, Acad. Sc., t. CXXVIII, p. 185, 1899).

(2) Laurent : *Recherches sur la nutrition carbonée des plantes vertes à l'aide de matières organiques*, 1903.

fait des expériences très précises sur les hydrates de carbone, en se servant de solutions nutritives Detmer stérilisées auxquelles il ajoutait : soit du glucose, soit du sucre de canne ou de la glycérine ; il a vu que le glucose, par exemple, est absorbé facilement par les racines de maïs, soit à la lumière, soit à l'obscurité ; l'assimilation chlorophyllienne peut être ainsi remplacée pendant un certain temps.

La plante verte supérieure possède donc aussi une nutrition saprophytique ; à la vérité, cette nutrition carbonée est incapable seule de permettre à cette plante un développement complet, alors que, chez les algues, elle assure l'avenir de nombreuses générations ; mais il ne faut voir là sans doute que le résultat d'une structure plus compliquée.

Toutefois, à en juger par des recherches récentes, cette nutrition exigerait chez la plante supérieure, contrairement à l'opinion de Mazé et de Laurent, l'action de la lumière.

On sait que Lutz, en 1899 (1), avait montré que la plante absorbe l'azote des amides de composition simple, comme la méthylamine par exemple ; en 1906, Lefèvre, nourrit ses plantes avec des amides en mélange : tyrosine, glycocolle, alamine, oxamide, leucine ; il supprime dans ses cultures l'acide carbonique de l'air, tout en maintenant la lumière ; en l'absence de corps amidés, les plantes dépérissaient ; dans les milieux amidés, au contraire, le développement allait jusqu'au début de la formation des fleurs ; il y avait augmentation notable du poids sec ; il s'était donc produit un travail de nutrition, de synthèse (2).

D'après l'auteur, cette synthèse, contrairement à la nutrition saprophytique ordinaire, exigerait l'action de la lumière.

(1) Lutz : *Recherches sur la nutrition des végétaux à l'aide de substances azotées de nature organique*, 1899.

(2) Lefèvre : *Sur le développement des plantes à chlorophylle, à l'abri de l'air, dans un sol amidé, à dose non toxique* (Revue de Botanique, t. XVIII, p. 145, 1906).

L'opinion de Lefèvre est partagée par Molliard qui admet que l'assimilation des sucres ne se produit pas à l'obscurité ; la lumière serait nécessaire à l'utilisation des substances organiques (1).

S'il en était ainsi réellement, la nutrition saprophytique des algues inférieures serait différente de celle des plantes supérieures, car, à l'obscurité la plus complète, la première donne lieu rapidement à une augmentation du poids des cultures.

Mais nous avons quelques raisons de croire que cette différence n'existe pas ; rappelons d'abord les expériences de Mazé et de Laurent qui ont obtenu à l'obscurité, une assimilation du glucose ; constatons également que Lubimenko a noté avec des embryons de *Pinus pinea*, cultivés sur saccharose et galactose *à l'obscurité* une augmentation en poids sec (2).

Il existe donc, semble-t-il, pour les plantes supérieures, une nutrition carbonée, indépendante de toute radiation ; elle ne diffère pas à cet égard de celle des algues vertes inférieures.

Dans l'un des cas, celui des algues, ce mode de nutrition remplace indéfiniment la nutrition ordinaire ; dans l'autre, l'action de la lumière devient nécessaire à un moment donné pour assurer le développement de l'espèce, sans qu'on sache exactement encore, si elle agit uniquement en rétablissant la fonction chlorophyllienne ou en permettant des synthèses rénovatrices, indépendantes de cette fonction.

Lubimenko (3), en effet, s'est efforcé de démontrer l'existence dans la cellule végétale, d'une série de réactions photo-

(1) Molliard : *Action morphogénique de quelques substances organiques sur les végétaux supérieurs* (Revue de Botanique, t. XIX, p. 290-291).

(2) Lubimenko : *Influence de l'absorption des sucres sur les phénomènes de la germination des plantules* (Comptes rendus Acad. Sc., 1906, t. CXLIII, p. 130).

(3) Lubimenko : *Action directe de la lumière sur la transformation des sucres absorbés par les plantules de* Pinus pinea (Comptes rendus Acad. Sc , 1906, t. CXLIII, p. 516).

chimiques indépendantes de l'assimilation chlorophyllienne, mais les conditions dans lesquelles la lumière agirait sont assez particulières et mériteraient par conséquent une confirmation ; c'est ainsi que l'assimilation du glucose par des embryons de *Pinus pinea* séparés de leur endosperme, serait favorisée à partir de l'obscurité complète, par un éclairement dont l'action serait maximum à une intensité encore très faible ; l'augmentation de la lumière affaiblirait ensuite de plus en plus l'assimilation des sucres, jusqu'au moment où la radiation devient assez forte pour décomposer CO^2.

Si l'on songe que la fonction chlorophyllienne débute à une lumière diffuse faible et que l'action nuisible ou utile de la radiation sur les synthèses photochimiques s'effectuerait au-dessous de cette limite d'éclairement, il est peut-être prudent de n'admettre que sous réserves les résultats annoncés par Lubimenko.

En ce qui concerne les algues, aucune expérience de ce genre n'a été faite croyons-nous, pour étudier l'influence que pourrait avoir la lumière sur l'assimilation des sucres et des autres substances organiques, en écartant l'action de la fonction chlorophyllienne ; par contre, on trouve, dans la première partie de ce travail, un grand nombre de renseignements sur l'action de la lumière, en présence de milieux nutritifs différents.

De tout ce qui précède, il semble bien résulter :

1° Que les plantes supérieures sont incapables de poursuivre leur développement d'une génération à la suivante par nutrition purement saprophytique, en quoi elles diffèrent des algues vertes inférieures.

Mais une conclusion de ce genre ouvre la voie à des recherches qui, dans l'avenir, pourraient en modifier singulièrement la portée ; à quel niveau, dans l'évolution des Chlorophytes, a disparu cette propriété si remarquable de la possibilité d'une nutrition saprophytique exclusive ? C'est ce que nous ignorons complètement.

2° Que dans le developpement normal des plantes supérieures, la nutrition holophytique prédominante est associée dans une proportion variable avec la nutrition saprophytique ; toutes les plantes vertes se comportent sans doute de la même façon à cet égard.

Reste à savoir si les plantes supérieures peuvent indéfiniment, à travers de nombreuses générations successives, assurer, comme les algues inférieures — ce qui est probable — l'équilibre de leurs fonctions, *en se servant exclusivement du carbone fourni par l'assimilation chlorophyllienne.*

Il suffirait pour en avoir la certitude de cultiver ces plantes dans du sable pur imprégné de liquide de Knop, pendant une très longue période ; avec des algues, comme les *Chlorella* et les *Scenedesmus*, les générations se succèdent rapidement et l'observation en est simplifiée ; lorsqu'il s'agit d'une plante supérieure, comme le maïs, qui ne donne qu'une seule génération en une année, une expérience de ce genre exigerait pour avoir quelque valeur une très longue durée.

En résumé, il est établi que certaines algues inférieures peuvent se développer normalement et indéfiniment, en utilisant exclusivement soit la nutrition saprophytique, soit la nutrition holophytique ; autrement dit, dans leur développement complet et normal, ces plantes empruntent indifféremment tout leur carbone soit à la synthèse chlorophyllienne, soit à des composés organiques.

Cette conclusion ne peut actuellement être étendue aux plantes supérieures, chez lesquelles la nutrition saprophytique seule s'est montrée jusqu'ici incapable d'assurer dans les conditions des expériences le développement complet jusqu'à la graine ; à plus forte raison, au cours de générations successives ; d'autre part, il ne semble pas qu'on ait cherché jusqu'ici à poursuivre des cultures de plantes supérieures, pendant de nombreuses générations, en ne leur fournissant que du carbone provenant de l'assimilation chlorophyllienne.

Là encore, l'étude des algues inférieures peut servir de

point de départ et de base solide pour une connaissance plus complète des conditions de la nutrition d'une plante supérieure.

Propriétés à l'égard de la radiation d'une algue inférieure, cultivée dans un milieu nutritif dépourvu de carbone organique.

Toute plante verte, cultivée dans un milieu minéral privé de carbone organique, est incapable, à l'obscurité, d'augmenter sa substance d'une manière appréciable ; en l'absence de carbone provenant de l'assimilation chlorophyllienne, elle ne pourrait prendre cet élément indispensable qu'à des carbonates et en particulier au carbonate de calcium ; mais elle ne possède pas cette propriété.

On ne connaît, en effet, que les nitromonades qui peuvent emprunter ainsi directement leur carbone aux carbonates qui sont introduits dans leurs cultures.

Si les algues inférieures s'étaient montrées aptes à cette assimilation, notre méthode pour l'étude des phénomènes de photosynthèse se serait trouvée en défaut, car leur végétation aurait pu se continuer à l'obscurité grâce aux carbonates qui existent ou se forment dans les liquides minéraux employés ; mais tous les semis de *Chlorella* ou de *Scenedesmus* effectués dans ces liquides conservés à l'obscurité pendant plusieurs années, n'ont jamais donné lieu à une multiplication quelconque. Au contraire, à la lumière, dans les mêmes liquides, la végétation était vigoureuse et donnait des récoltes abondantes au bout de quelques semaines.

Les expériences de comparaison sont faciles à réaliser dans des conditions de précision absolue. Il suffit de prendre un certain nombre de flacons Erlenmeyer remplis de liquide de Knop ou de tout autre milieu minéral renfermant tous les éléments nécessaires à la vie de la plante, sauf le carbone ; ces flacons sont ensemencés avec le *Chlorella vulgaris* ; une

moitié de ces flacons est placée à l'obscurité complète ; les autres sont disposés de façon à recevoir la lumière. Au bout d'une quinzaine de jours, un mois au plus tard, on constate que ces derniers flacons exposés à la lumière renferment un dépôt abondant de Chlorelles, elles se sont multipliées avec une rapidité surprenante ; les flacons conservés à l'obscurité, paraissent complètement stériles ; les germes provenant de l'ensemencement ne se sont pas développés.

On peut faire varier à volonté les conditions de température, d'intensité lumineuse de même que la proportion de CO^2, etc., de façon à dégager l'influence des facteurs physiques ou chimiques associés de diverses manières.

L'action de la radiation, dans l'incorporation du carbone de CO^2, est ainsi mise en évidence dans des conditions de simplicité et de netteté qu'on ne peut obtenir des plantes supérieures.

On sait, en effet, que ces plantes placées à l'obscurité, s'étiolent et dépérissent, mais leur végétation continue assez longtemps en l'absence de toute radiation ; si elles vivent dans leur milieu habituel, cela tient au fait qu'il leur est possible d'utiliser, si peu que ce soit, le carbone organique qui s'y trouve contenu ; si on les cultive dans un milieu minéral, elles peuvent également continuer à s'accroître, donner feuilles et rameaux, aux dépens de leurs réserves hydrocarbonées.

Il est donc impossible d'établir pour les plantes supérieures vertes une relation nécessaire entre l'*absence de végétation* et l'*absence de radiation*, relation *qui existe si nette et si précise avec les algues inférieures unicellulaires.*

L'emploi de ces algues n'est pas seulement utile pour étudier toutes les questions qui se rapportent aux effets de la radiation totale, provenant des sources les plus différentes, dans la photosynthèse, cet emploi est surtout précieux pour déterminer l'action des rayons de longueur d'onde différente qui constituent cette radiation totale.

En effet, l'absence de végétation, dans un milieu nutritif minéral, en face d'une radiation quelconque, implique nécessairement d'après ce qui précède, que cette radiation est *inactive*, soit à cause de sa *nature*, soit à cause de son *intensité*.

Il résulte de là que si nous cultivons une Chlorelle, un *Scenedesmus* dans du liquide de Knop, en face d'un spectre, toutes les radiations actives dans la synthèse chlorophyllienne, seront indiquées à leur place, par une végétation de l'algue, laquelle par son abondance marquera le degré d'activité de chacune d'elles ; aucun développement de l'algue ne se produira à l'endroit des radiations inactives du spectre, s'il en existe ; en face de ces radiations inactives ou de trop faible intensité, la Chlorelle ou le *Scenedesmus* se comporteront comme à l'obscurité complète.

Si la synthèse chlorophyllienne est due exclusivement aux radiations absorbées par la chlorophylle, la végétation de l'algue reproduira exactement les bandes d'absorption de cette chlorophylle.

Bien mieux, la chlorophylle étant constituée par plusieurs pigments, d'une part les chlorophyllines et d'autre part, la xanthophylle et la carotine, nous saurons par l'expérience précédente quels sont parmi ces pigments ceux qui agissent dans la synthèse chlorophyllienne ; seules, les bandes d'absorption des pigments actifs seront reproduits par la végétation de la plante.

De toutes les méthodes qui ont servi jusqu'ici à rechercher l'action des diverses radiations dans la photosynthèse, il est incontestable qu'aucune ne présente le même caractère d'exactitude.

Mais pour que cette méthode donne tous ses résultats, il est nécessaire que l'algue employée dans l'expérience soit dépourvue de zoospores, qu'elle ait des dimensions très petites, qu'elle soit très sensible à l'intensité lumineuse et se multiplie rapidement.

La présence de zoospores ou de gamètes serait de nature à modifier l'aspect du spectrogramme de végétation ; en effet, ces éléments sont phototactiques ; ils vont se fixer d'ordinaire dans la région bleue et violette du spectre, où leur présence pourrait faire croire à une action des radiations les plus réfrangibles dans la photosynthèse.

La petitesse des germes qui servent au semis est aussi d'une grande importance ; ceux-ci n'apportent par eux-mêmes dans la culture qu'une quantité infinitésimale de carbone organique ; en admettant que ce carbone suffise à assurer la division en deux ou quatre nouvelles cellules, cette multiplication ne sera aucunement perceptible ; c'est ce qui fait que des flacons remplis de liquide de Knop et ensemencés avec quelques Chlorelles, peuvent rester à l'obscurité complète pendant des mois et des années, sans présenter aucune apparence de végétation, alors que les mêmes flacons portés à la lumière, deviennent verts très rapidement ; la multiplication de l'algue est alors perceptible au bout de quelques heures.

Toutes ces conditions nécessaires à la précision des expériences sur l'assimilation chlorophyllienne : *rapidité de la végétation*, *petitesse des germes*, *absence de zoospores*, sont remplies avec les cultures des diverses espèces de Chlorelles, comme le *Chlorella vulgaris*, le *Chlorella genevensis*, etc., et le *Scenedesmus acutus*.

Le choix du milieu nutritif dépourvu de carbone organique n'est pas indifférent ; le liquide de Knop donne, en général, complète satisfaction ; les algues précédentes cultivées dans ce milieu montrent une sensibilité vraiment extraordinaire à la radiation, même lorsqu'elle est de très faible intensité ; il en est de même avec les liquides de Detmer et de Grintzesco.

Avant d'appliquer notre méthode à l'étude des problèmes relatifs à la synthèse chlorophyllienne, il est nécessaire de bien établir les caractères de cette sensibilité de l'algue à la

radiation, puisque l'exactitude des résultats et leur précision reposent entièrement sur cette propriété.

La sensibilité d'une algue à la radiation peut être appréciée, soit par *la végétation qu'elle fournit*, en un temps donné, soit par la *quantité d'oxygène qu'elle dégage* aux différents éclairements ; c'est ce que nous allons maintenant examiner.

I. — LA VÉGÉTATION DU *CHORELLA VULGARIS* DANS SES RAPPORTS AVEC LA LUMIÈRE.

Les expériences dont la description va suivre pourraient être multipliées et variées à l'infini ; personnellement, nous en avons exécuté beaucoup d'autres en ne rappelant ici que les plus simples et les plus démonstratives.

La sensibilité du *Chlorella vulgaris* à la radiation peut être étudiée à l'aide de différents dispositifs que chacun est à même d'établir ; mais il est commode d'avoir à sa disposition un appareil pratique construit en vue des recherches que l'on se propose.

Sur mes indications, la maison Calmels a établi un modèle qui nous a donné complète satisfaction, soit dans l'étude des phénomènes de croissance, en lumière ordinaire ou en lumière monochromatique, soit dans l'étude du phototactisme en lumière ordinaire ou à l'égard d'un ensemble de filtres monochromatiques reproduisant approximativement le spectre ; les compartiments éclairés de cet appareil jouent par rapport aux organismes mobiles le rôle de pièges, d'où le nom de *spectrolabe* que nous lui avons donné.

Le *spectrolabe* se compose essentiellement d'un chassis A, présentant neuf fenêtres rectangulaires (fig. 1, T).

Dans une première disposition, une cuve de culture de 1 centimètre d'épaisseur environ à faces parallèles est pla-

cée derrière ce chassis et un volet-plein C disposé à l'arrière empêche la lumière diffuse d'arriver à la culture ; celle-ci ne reçoit donc que la lumière fournie par les fenêtres à l'avant ; les travées qui séparent les fenêtres délimitent les compartiments obscurs ; tout le châssis est peint en noir, de manière à éviter des phénomènes de réflexion plus ou moins gênants.

Dans une seconde disposition, le chassis A supporte quatre longs tubes cylindriques destinés à renfermer les cultures d'algues ou d'organismes inférieurs que l'on se propose d'étudier ; ces tubes occupent une position horizontale ; ils sont maintenus en place, lors des déplacements de l'appareil par une bande élastique fixée sur le côté ; comme ces tubes passent à frottement léger dans les cadres, il en résulte qu'a-

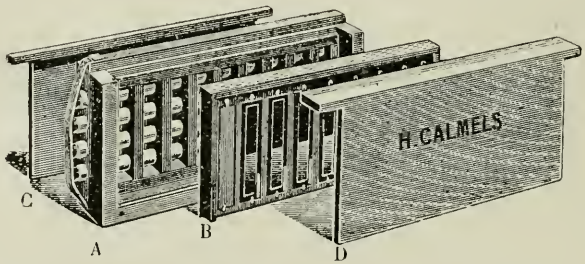

Fig. 1. — T. Spectrolable complet

vec des radiations parallèles, ils sont nettement délimités en compartiments obscurs et en compartiments éclairés ; comme dans la première disposition, un volet plein C est placé à l'arrière, pendant la durée des expériences.

Dans l'un et l'autre de ces appareils, on dispose d'un châssis B, que l'on peut à volonté munir soit d'écrans d'intensité différente, soit de filtres monochromatiques, comme ceux de la maison Wratten ; ce châssis B est fixé pendant la durée des expériences sur le cadre A, en avant des tubes

ou de la cuve, de sorte que ceux-ci ne reçoivent pas d'autres radiations que celles qui ont traversé les écrans.

Un second volet D, permet de faire l'obscurité complète dans l'appareil, si on le désire.

Toutes ces pièces se placent et s'enlèvent facilement, grâce à un système d'accrochage à baïonnette.

On peut se dispenser du châssis B, porteur des écrans, en insérant directement ces écrans, sur le châssis A, au-devant de chaque fenêtre, grâce à un dispositif des plus simples que l'on voit dans la fig. 2, T.

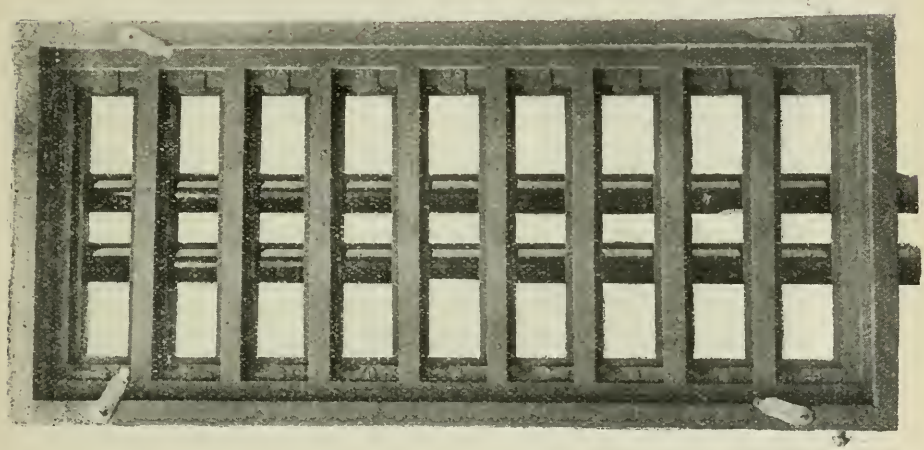

Fig. 2. — T. Chassis pouvant porter directement les écrans

Le *spectrolabe*, tel que nous venons de le décrire, ou modifié quelque peu, nous a rendu de grands services dans nos recherches sur l'assimilation chlorophyllienne ainsi qu'on le verra dans la suite de ce mémoire ; nous avons effectué également avec son aide de nombreuses observations de grand intérêt sur le phototactisme dont la plupart sont encore malheureusement inédites.

A

Prenons une cuve rectangulaire en verre de faible épaisseur ; sur la face qui recevra directement la lumière, disposons un écran interceptant complètement le passage de la radiation sauf en des points dont la forme peut être établie à volonté.

Dans nos observations, nous avons utilisé de préférence le spectrolabe muni de sa cuve de culture ; celle-ci recevait donc la radiation provenant des neuf fenêtres rectangulaires (fig. 3, T). La cuve de culture était remplie de liquide

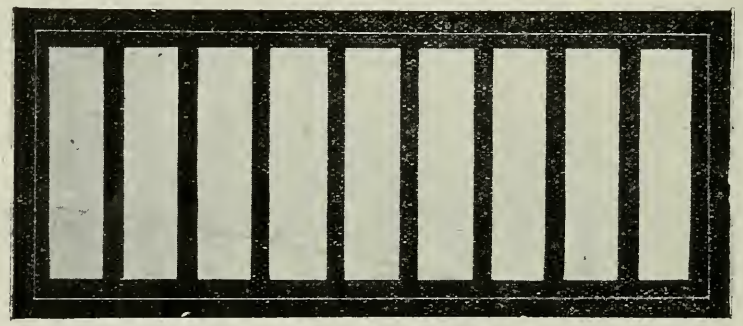

Fig. 3. — T. Ecran percé de 9 fenêtres

de Knop et ensemencée avec quelques Chlorelles ; au bout de quinze jours ou d'un mois, selon les circonstances, l'algue dessine en vert par sa végétation tous les compartiments éclairés avec leur limite exacte ; les intervalles entre ces compartiments, restés à l'ombre, ne montrent aucune trace du *Chlorella*.

Si la cuve a été graduée en millimètres par des traits noirs, comme quelques-unes de celles qui nous ont servi, ces traits, pourtant très fins portent ombre sur la face interne de la paroi de verre ; cela suffit pour que l'algue ne puisse se multiplier à cet endroit ; aussi ces lignes sont-elles reproduites

en blanc, avec leurs dimensions exactes, sur le fonds vert de revêtement formé par l'algue sur la paroi antérieure de la cuve.

Cette constatation montre nettement la sensibilité du *Chlorella* à la radiation ; l'algue ne se multiplie qu'à la lumière, là seulement où elle peut, par photosynthèse, prendre son carbone à CO^2 ; mais la précision avec laquelle les fins traits d'ombre de la graduation sont marqués par une absence de végétation, n'est possible que grâce au faible diamètre des cellules vertes et à leur indépendance.

La réussite d'une expérience comme celle-ci exige que les parois de la cuve de culture se trouve ensemencée régulièrement d'un semis imperceptible de germes adhérents sur lesquelles la lumière amènera une multiplication aux endroits où elle pénétrera ; cet ensemencement est très rapide avec le *Chlorella vulgaris* ; à partir des premiers germes déposés dans la cuve, les sporanges sont en multiplication intense ; les cellules qui en proviennent, n'ont souvent que 2 ou 3 μ ; ces éléments minuscules se trouvent rapidement disséminés à toutes les hauteurs ; ceux qui restent adhérents aux parois de la cuve, constituent le semis sur lequel agira la lumière.

L'expérience seule pouvait mettre en évidence ces propriétés remarquables du *Chlorella vulgaris* et indiquer dans quelle mesure on pouvait les utiliser ; la reproduction exacte des lignes fines de la graduation par absence de végétation montre qu'en se servant d'un écran approprié, on peut obtenir en blanc sur fond vert avec la plus grande exactitude un dessin quelconque portrait ou paysage ; inversement, le même paysage ou le même portrait serait obtenu en vert sur fond blanc, avec un écran ajouré en conséquence.

B

Cette première expérience peut être répétée en se servant, non plus de cuves à parois parallèles, mais de tubes cylindriques ou de flacons ; nous obtiendrons de la sorte quelques renseignements nouveaux.

Prenons comme tout à l'heure une boîte rectangulaire, dans laquelle sur la face avant sont ménagées un certain nombre de fenêtres laissant arriver la lumière ; aux deux extrémités de cette boîte, on perce des trous d'un diamètre suffisant pour laisser passer de longs tubes à essais ; ceux-ci auront donc, alternativement, des parties sombres et des parties éclairées. Si l'on remplit ces tubes de liquide de

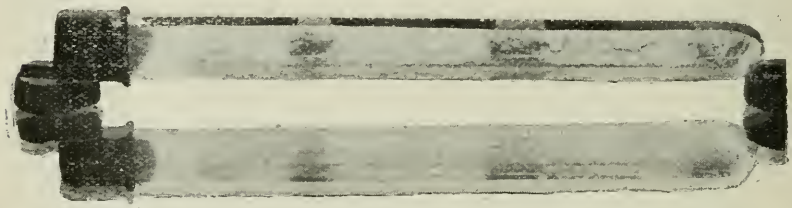

Fig. 4. — T.

Knop et si on les ensemence avec le *Chlorella vulgaris*, on constatera, au bout de deux ou trois semaines, que l'algue s'est développée uniquement en face des parties éclairées ; elle dessine exactement, grâce à sa propriété de se fixer sur les parois, les limites exactes de chaque fenêtre ; les intervalles restent incolores ; on est surpris par la netteté des lignes de séparation.

Cette expérience réalisée avec le spectrolabe est d'autant plus démonstrative au point de vue de l'action de la lumière dans ses rapports avec la fixation du carbone, qu'il s'agit d'un semis unique effectué dans le même tube et dans le même liquide. On peut, d'une façon plus simple, entourer les

tubes d'un épais papier noir dans lequel on ménage un certain nombre de fenêtres (fig. 4, T).

En examinant attentivement la manière dont se développe dans le spectrolabe le revêtement vert formé par l'algue, on constate qu'il se produit tout d'abord à *la face postérieure du tube* et qu'il n'apparaît que *beaucoup plus tard sur la face antérieure* (fig. 5, T) ; avec la cuve à faces parallèles, la *végétation verte de l'algue se formait sur la face avant directement éclairée.*

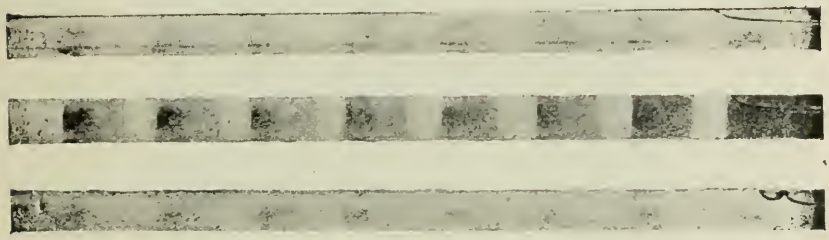

Fig. 5. — T. Trois tubes ensemencés avec *Chlorella* à quelques jours d'intervalle et montrant l'apparence de la végétation, dans les compartiments éclairés.

A quoi tient cette différence ? Tout simplement au fait que le tube cylindrique rempli d'eau joue le rôle de lentille convergente, comme nous le verrons plus loin ; sa face postérieure reçoit une lumière d'intensité supérieure à celle de la face directement éclairée, et l'algue qui est extrêmement sensible à ces différences d'éclairement, se montre d'abord en arrière.

Ainsi le *Chlorella vulgaris*, par son mode de végétation, donne la solution d'un problème de physique que l'on pourrait énoncer de la manière suivante : *Indiquer quelles sont, dans un tube cylindrique rempli d'eau, recevant la lumière d'un seul côté, les principales différences d'éclairement.*

L'algue, grâce à son extrême sensibilité à la radiation, répond à cette question en se développant d'abord sur la paroi arrière, puis sur la paroi avant et, enfin beaucoup plus

tardivement, si le tube est placé horizontalement, sur la face supérieure et sur la face inférieure.

Nous irons même beaucoup plus loin ; avec des sources de radiation d'origine différente, placées d'une manière quelconque, et agissant sur un flacon cylindrique rempli de liquide de Knop ensemencé avec quelques cellules de Chlorelles, l'algue, au bout de quinze jours, d'un mois au plus, aura indiqué avec une exactitude absolue par sa végétation les différences d'intensité lumineuse qui existent ou qui ont agi sur la paroi interne du flacon ; quel est le physicien qui ne reculerait pas devant la complexité d'un tel problème à résoudre ?

Pour en revenir à l'expérience très simple de tout à l'heure, il est préférable de placer l'appareil de façon que les tubes soient disposés horizontalement ; dans ce cas, la pesanteur n'intervient que pour donner, assez tard d'ailleurs, un mince dépôt d'algue en face de chaque fenêtre éclairée, en plus du revêtement vert qui se produit sur les parois.

Mais on peut également disposer l'appareil, de manière que les *tubes soient verticaux* (fig. 6, T) ; dans ce cas, l'algue continue toujours à dessiner, par un enduit vert, les limites de chaque compartiment, alors que les intervalles restent incolores ; mais les Chlorelles, qui se sont multipliées en suspension dans les parties éclairées du liquide, finissent par former un dépôt unique au fond du tube.

En disposant les tubes verticalement, on aurait pu s'attendre à ce que la limite inférieure de chaque compartiment éclairé fût moins nette, ou même disparût complètement sous l'influence de la pesanteur.

En effet, les Chlorelles qui sont en multiplication active sur la paroi éclairée, y restent fixées pour le plus grand nombre, mais celles qui sont abandonnées dans l'eau continuent à se diviser ; les unes restent parfois longtemps en suspension dans le liquide, d'autres montent à la surface, emportées par une bulle d'oxygène et tombent plus tard,

obéissant aux lois de la pesanteur ; elles viennent ainsi s'accumuler sur le fond en y formant un dépôt plus ou moins abondant ; quelques rares cellules restent accrochées en route suivant les lignes verticales de chute.

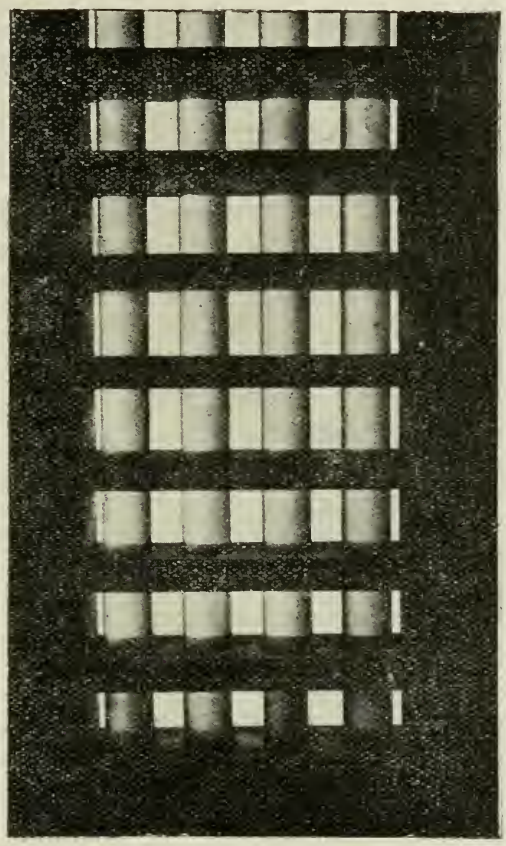

Fig. 6. — T. Quatre tubes disposés verticalement

On pourrait donc s'étonner de constater que les limites de chaque compartiment éclairé, restent très nettes lorsque dans le spectrolabe, les tubes sont disposés verticalement.

Il faut en rechercher l'explication dans le fait que la rapidité de la multiplication aux endroits éclairés fournit en

peu de temps une végétation abondante, alors que, dans les parties obscures, les quelques rares cellules provenant du semis ou celles qui, en tombant restent adhérentes à la paroi ne subissent aucun développement.

Cette observation, avec des tubes verticaux était nécessaire, *pour apporter la preuve que la pesanteur n'apporte aucun trouble sensible dans l'interprétation des expériences* ; c'est là un fait acquis que nous avons eu l'occasion maintes fois de vérifier par la suite, alors qu'il s'agissait de détails extrêmement délicats.

On dit bien souvent que la vie, à la surface de la terre, est sous la dépendance de la radiation solaire ; nous ne croyons pas qu'il existe d'expériences aussi simples que les précédentes et montrant mieux la puissance et le rôle de l'énergie radiante ; dans les compartiments du spectrolabe recevant la lumière, la vie animale peut s'épanouir grâce à la végétation de la plante, en l'occurence une algue inférieure ; dans les compartiments obscurs, c'est la solitude absolue et le désert, en face des seuls sels minéraux qui constituent le liquide de Knop.

Remarquons que la Chlorelle, à l'intérieur des tubes, s'est comportée comme un excellent photomètre enregistreur et cela dans des conditions où un instrument ordinaire n'aurait guère été utilisable ; par la marche de sa végétation sur les parois des tubes, elle nous a indiqué les différences d'éclairement qui existent sur ces mêmes parois, alors que d'ordinaire, l'attention n'est guère attirée sur ce point.

La valeur du *Chlorella* comme photomètre peut être mise en évidence et utilisée de nombreuses façons.

Ainsi, prenons le spectrolabe précédent avec ses tubes de culture ou simplement avec une seule cuve disposée en arrière de l'ensemble des fenêtres ménagées dans l'appareil ; plaçons devant chacune des fenêtres des écrans variés ; en quelques jours, les différences de végétation de l'algue der-

rière ces écrans indiqueront nettement les différences d'intensité lumineuse correspondant à chacun de ces écrans.

On peut encore, si l'on dispose de plusieurs appareils, les placer dans une chambre à des distances variables d'une fenêtre ou d'une source lumineuse et observer le développement de l'algue entre deux limites d'éloignement.

Il n'est d'ailleurs nullement besoin d'un appareil spécial pour les observations de ce genre.

Si par exemple, dans un laboratoire, on dispose des flacons ensemencés avec une Chlorelle ou des *Scenedesmus*, à partir du voisinage d'une fenêtre jusqu'au fond de la pièce, on suivra jour par jour les progrès de la végétation à partir de la fenêtre, jusqu'à l'endroit où l'éclairement devient trop faible pour assurer la photosynthèse.

Cette expérience est susceptible d'une grande précision : elle peut être employée, en utilisant deux sources lumineuses de même intensité et de même nature, à la recherche de l'influence sur la végétation de l'algue, d'une radiation intermittente ou continue ; on peut également déterminer pour différentes sources lumineuses, l'intensité minimum nécessaire à la végétation.

C

Les observations suivantes, qui ont été faites pendant les vacances d'août et de septembre 1909, vont nous permettre de mieux comprendre et de mieux préciser le mode de végétation du *Chlorella vulgaris* dans des tubes cylindriques exposés à une lumière unilatérale.

Nous avons pris un certain nombre de tubes à essai remplis de liquide de Knop ; ces tubes ensemencés avec l'algue ont été disposés verticalement dans une mansarde qui nous sert de laboratoire ; cette mansarde possède une fenêtre unique au midi ; les tubes ont été placés les uns à 1 mètre de la fe-

nêtre, les autres à 3 mètres et les derniers tout au fond de la pièce, à 4 mètres environ.

La lumière étant très favorable à cette époque de l'année, l'algue s'est développée rapidement ; au bout d'une quinzaine de jours, elle formait, sur la paroi postérieure des

Fig. 7. — T. Développement du *Chlorella vulgaris* sur la paroi postérieure des tubes : la végétation de l'algue dessine un long rectangle vert

tubes, une large bande verte longitudinale de forme rectangulaire nettement délimitée par deux lignes parallèles à l'axe du tube (fig. 7, T) ; le reste de la paroi du tube n'offrait que des traces à peine visibles de la présence de l'algue et se montrait incolore, surtout sur les deux côtés.

L'algue montrait ainsi, une fois de plus, sa grande sensibilité aux différences d'éclairement.

En effet, contrairement à ce que l'on aurait pu supposer tout d'abord, ce n'est pas la face avant du tube, recevant directement la lumière, qui est la plus éclairée ; l'intensité lumineuse est plus grande à l'arrière du tube et précisément dans les limites exactes du rectangle vert dessiné par la végétation de la Chlorelle.

Cela tient au fait que l'eau contenue dans le tube cylindrique joue le rôle de lentille ; les rayons, reçus par la face avant, en passant dans l'eau se rapprochent de la normale ; ils convergent donc sur la paroi arrière qui se trouve recevoir sur une surface moins grande une lumière plus intense ; c'est pour la même cause que les faces latérales sont très peu éclairées.

Il est facile de se rendre compte du phénomène : sur l'un de ces tubes à essais, fixons sur la moitié longitudinale postérieure une feuille de papier blanc ; le tube étant rempli d'eau, il suffit de le placer à quelque distance d'une fenêtre, pour voir nettement le rectangle lumineux, suivant lequel l'algue se développera ; la largeur du rectangle lumineux est égale au tiers environ du diamètre du tube.

On peut se rendre compte expérimentalement et de la même manière que la largeur du rectangle lumineux augmente avec le diamètre du tube.

Si les rayons étaient rigoureusement parallèles en arrivant sur le tube, la largeur de la portion éclairée ne subirait aucun changement, à une distance quelconque de la fenêtre ; mais il n'en est pas ainsi ; au voisinage immédiat de la fenêtre, le tube ne présente aucune différence d'éclairement appréciable ; à mesure que l'on s'éloigne, le rectangle lumineux apparaît, d'abord large et diffus, puis plus étroit et plus net à mesure que l'on s'éloigne, jusqu'au moment où il atteint sa largeur normale et définitive.

Toutes ces différences sont marquées, par les végétations

de l'algue, selon la position des tubes de culture par rapport à la fenêtre ; c'est ainsi que le *rectangle vert formé par la végétation de l'algue avec des limites extrêmement nettes, correspond* exactement *au rectangle lumineux de l'écran placé sur la face postérieure du tube à essai.*

Cette première observation va nous conduire à d'autres constatations intéressantes.

Il arrive, avec certains tubes à essai, que le rectangle lumineux produit sur l'écran de papier blanc, est parcouru par plusieurs lignes longitudinales, alternativement claires et obscures ; alors que la largeur du rectangle lumineux est de 10 millimètres seulement, par exemple, le nombre de ces lignes est parfois de 8 ou 10.

On reconnaît que la présence de ces lignes est due à l'existence dans la paroi des tubes de stries et de raies longitudinales qui arrêtent ou devient les rayons lumineux ; avec une paroi complètement lisse, ces lignes verticales n'existent pas.

Nous avons donc, avec des tubes à essai rempli d'eau, dans un cas un rectangle lumineux d'aspect homogène, alors que dans le second cas, il est parcouru par un plus ou moins grand nombre de lignes alternativement claires et obscures.

Si ces tubes sont ensemencés avec l'algue, on aura, soit comme tout à l'heure, une végétation homogène qui dessinera la forme et les dimensions du rectangle lumineux, soit un nombre variable de lignes vertes, parfois très fines et très rapprochées qui sont comprises dans les limites du rectangle ; *ces lignes vertes correspondent aux parties éclairées, alors que les lignes incolores sont marquées par l'absence de végétation.*

Si l'on ne dispose que de tubes à paroi lisse, il est facile cependant d'obtenir ces mêmes lignes verticales sombres ou éclairées ; on dispose, sur la face antérieure, des bandelettes très étroites de papier noir, séparées les unes des au-

tres par de légers intervalles ; le rectangle lumineux postérieur formé sur l'écran accuse alors très fortement ces lignes ; dans ces conditions, l'algue se développe exclusivement suivant les parties linéaires éclairées en les dessinant avec une grande précision.

Lorsqu'on cherche à reproduire de la même façon des lignes perpendiculaires à l'axe du tube, il se produit un phénomène optique qu'il nous paraît utile de signaler afin d'éviter des erreurs toujours possibles dans l'appréciation des différences d'éclairement. Tant que le tube reste perpendiculaire, les traits d'ombre restent eux-mêmes perpendiculaires au rectangle lumineux, à l'axe par conséquent ; mais si on incline le tube, les lignes ne restent plus perpendiculaires à l'axe ; si celui-ci est *penché sur la droite*, les lignes *s'abaissent du côté gauche*, en faisant un angle variable avec l'axe, et *inversement*.

Au lieu de simples tubes à essai, on peut prendre des éprouvettes graduées, qui sont très favorables à l'observation des phénomènes d'éclairement auxquels se rattachent directement les modalités de la croissance de l'algue et sa végétation.

Comme tout à l'heure, une moitié de l'éprouvette est recouverte dans le sens de sa longueur d'une bande de papier blanc opposée à la face qui porte la graduation ; c'est sur cette bande que s'inscrivent les images provenant de la graduation ou résultant de bandelettes noires surajoutées sur la face avant de l'éprouvette (fig. 8, T).

Nous avons noté que si on fait arriver la lumière par une ouverture pratiquée dans un écran, ouverture qu'on agrandit ou rétrécit à volonté, une fente verticale assure le maximum de visibilité pour les lignes longitudinales, alors que ce maximum de visibilité est obtenu avec une fente horizontale, pour les traits horizontaux de la graduation.

On s'aperçoit alors que si l'on part d'une position où les lignes sont perpendiculaires à l'axe de l'éprouvette, point

n'est besoin d'incliner l'axe pour amener une obliquité des lignes. Si l'on tourne de gauche à droite, les traits de la graduation remontent vers la gauche et inversement.

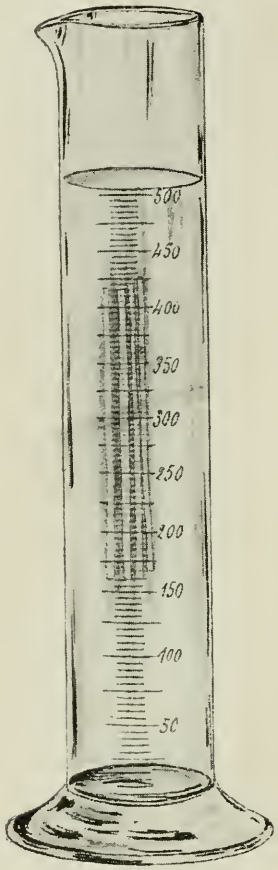

Fig. 8. — T.

Nous n'avons parlé jusqu'ici que d'observations faites en lumière diffuse, transmise dans une salle par une ou plusieurs fenêtres, parce que, dans ces conditions, la position des lignes ou des images ne change pas pour une même position des flacons de culture.

Tous ces phénomènes se voient cependant beaucoup mieux en exposant ces tubes de culture ou ces éprouvettes à la lumière directe du soleil ; on obtient alors des images d'une très grande netteté. Si l'on cherche à faire reproduire ces images par l'algue, il est alors nécessaire pour assurer la permanence de ces images et leur fixité, de placer les tubes de culture sur un plateau qui effectue un tour entier en vingt-quatre heures.

On réussirait mieux encore et plus simplement, à l'aide d'une lumière artificielle de grande intensité, comme celle de la lampe Nertz, fonctionnant sans interruption, alors que les tubes de culture seraient placés à une certaine distance de la source de radiation.

Si ces tubes de culture portent une graduation en traits horizontaux, il est bon d'être prévenu que les ombres por-

tées par eux ne restent perpendiculaires au bord du rectangle lumineux que dans le cas où ces tubes disposés bien verticalement sont placés au même niveau que la source.

Si on élève ces tubes, les traits d'ombre deviennent concaves par rapport à la base ; si on l'abaisse, ils deviennent convexes. De même, avec une inclinaison des tubes, en avant, en arrière, ou sur les côtés, les traits d'ombre font un angle variable, avec les bords du rectangle lumineux.

Tous ces détails semblent assez insignifiants ; ils ont cependant, en réalité, un grand intérêt, puisqu'il est démontré que l'algue, dans sa végétation, reproduit les moindres différences d'éclairement.

D

Lorsqu'on cultive une Chlorelle dans des flacons cylindriques remplis de liquide de Knop, on observe fréquemment au bout d'une quinzaine de jours ou d'un mois au plus tard, avec une lumière de moyenne intensité, des lignes verticales de couleur verte qui se produisent sur la face postérieure du flacon ; ces lignes, comme nous l'avons vu, au début de ce Mémoire peuvent être extrêmement fines et rapprochées les unes des autres, sur une grande longueur sans se confondre ; parfois, elles sont plus espacées, de longueur variable ; leur extrémité supérieure est souvent amincie (fig. 9, T).

Beaucoup d'observateurs, sans doute, ont vu avant nous ces curieuses apparences sans même les signaler ; elles nous ont mis sur la voie d'une méthode entièrement nouvelle pour l'étude de la photosynthèse ; c'est en observant ces lignes vertes que l'idée nous est venue que l'algue placée devant un spectre dessinerait tout aussi bien par sa végétation la position des radiations actives dans la photosynthèse.

Il était assez difficile d'apporter rapidement la preuve que ces lignes vertes parfois très fines et très nombreuses étaient fonction des différences d'éclairement existant à la paroi

postérieure des flacons ; aussi, n'a-t-on pas manqué de nous opposer au début un certain nombre d'objections et de critiques.

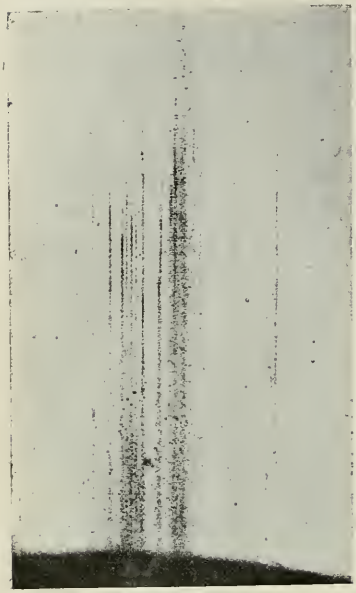

Fig. 9. — T.

Dans l'explication du phénomène, plusieurs hypothèses pouvaient être envisagées : *la paroi interne du flacon aurait pu présenter des stries longitudinales en relief ou en creux qui auraient favorisé le dépôt de l'algue* ; 2° *la pesanteur pouvait aussi intervenir, car sur une paroi verticale, les colonies qui se développent, forment continuellement de nouvelles cellules et celles-ci sont abandonnées dans le liquide, en plus ou moins grand nombre ; elles finissent, comme on l'a vu dans les expériences précédentes, par former un dépôt, au fond des cuves ou des tubes de culture ; enfin, une troisième hypothèse s'ajoutait aux deux précédentes, reposant sur l'existence de différences d'éclairement sur la paroi postérieure du flacon.*

Si le liquide nutritif avait contenu du glucose ou du carbone organique sous une forme assimilable, l'une des deux premières hypothèses aurait suffi à la rigueur ; l'algue, en effet, se multiplie alors en saprophyte dans ce milieu, sans aucune intervention de la lumière ; ses nombreuses cellules, disséminées dans tout le liquide, peuvent être arrêtées au passage par des aspérités ou des sillons, ou même dans leur chute lente, rester adhérentes en certains points de la paroi verticale.

Dans ce cas, la pesanteur joue le rôle principal dans la formation des lignes et des dépôts ; tout se passe un peu

comme si le liquide contenait en suspension de très fines particules solides, comme de la poudre de tripoli, par exemple.

En réalité, le phénomène est plus compliqué, car les algues qu'elles soient encore en suspension dans le liquide ou qu'elles soient déjà plus ou moins adhérentes à la paroi, continuent de se multiplier ; les dépôts qui en résultent prennent de ce fait des apparences plus compliquées.

Prenons par exemple, l'expérience rapportée, page 71 : nous voyons qu'avec des tubes inclinés de 30° environ sur la verticale, il se produit assez rapidement une ligne longitudinale régulière d'un dépôt vert, d'une largeur de 1 millimètre et demi ; celle-ci se termine en bas, au fond du tube par un dépôt abondant, qui s'étale un peu en croissant ; mais ce qui est plus intéressant c'est que de nombreuses lignes vertes se réunissent de chaque côté, à la ligne médiane, en faisant avec celles-ci un angle de 30 à 35° ; beaucoup d'entre elles ont nettement pour point de départ une grosse colonie verte de Chlorelles.

L'inclinaison du tube favorise naturellement la formation de ces lignes ; il en est de même des aspérités qui peuvent se rencontrer sur la paroi interne des flacons aspérités qui arrêtent au passage les minuscules cellules d'algue en suspension dans le liquide.

Mais dans le liquide de Knop, comme dans tout autre milieu nutritif minéral, aucune cellule de Chlorelle ou de *Scenedesmus* ne peut se multiplier, sans l'intervention de la lumière ; de nombreuses expériences, dont beaucoup de très longue durée, ont mis ce fait hors de doute ; il suffit de se reporter en particulier aux observations relatées dans le premier chapitre de ce Mémoire, pages 49-57.

Il est donc absolument certain que toutes les algues qui dessinent des lignes verticales à l'intérieur des grands flacons cylindriques renfermant un milieu nutritif minéral, proviennent de l'action de la radiation ; mais on peut évidemment se demander si cette végétation s'est faite sur place, grâce

à des différences d'éclairement correspondant à ces lignes, ou si l'algue s'est multipliée d'abord dans les parties éclairées du liquide pour être distribuée ensuite en fines stries sur les parois du flacon sous l'action de la pesanteur.

De nombreuses expériences ont fourni la preuve que la fixation de cellules d'algues dans des zones obscures d'une paroi verticale, sous l'influence de la pesanteur est *pratiquement nulle* ; rappelons-en quelques-unes.

Citons tout d'abord l'observation faite avec le spectrolabe contenant des tubes de culture maintenus verticalement et qui ne reçoivent la lumière qu'à des intervalles réguliers, séparés par des zones obscures ; ces intervalles sont limités par la végétation de la Chlorelle aussi exactement que si le tube avait été maintenu horizontalement.

Dans une autre observation, rapportée pages 50 et 51 dans le chapitre I[er] de ce Mémoire, nous voyons que dans six tubes avec liquide Grintzesco l'algue, outre le développement abondant du fond, s'est multipliée sur les parois verticales où elle s'est fixée ; elle a marqué en vert par sa végétation les parties éclairées, alors que *les ombres portées par les traverses horizontales du support, se trouvaient dessinées en blanc par l'absence d'enduit vert* ; or, ces traverses horizontales portant ombre, étaient *de simples fils de fer constituant l'armature du support* ; *les minces traits blancs horizontaux, dus à l'ombre portée, auraient bien vite disparu si la pesanteur avait agi d'une façon effective.*

Rappelons également l'expérience si probante effectuée à l'aide d'une dentelle (consulter *Le Botaniste*, série XII, p. 136, fig. 8).

Celle-ci avait été réalisée dans un grand flacon rempli aux trois quarts de liquide de Knop et ensemencé avec quelques gouttes du liquide vert provenant d'une culture vigoureuse de *Chlorella vulgaris* ; une dentelle était fixée sur la face exposée à la lumière.

Au bout de quelque temps, la partie supérieure du frag-

ment de dentelle a été relevée et reportée pour comparaison au-dessus du dessin reproduit par la végétation de l'algue aux endroits éclairés ; tous les détails s'y trouvent, les parties opaques de la dentelle correspondent naturellement aux espaces incolores du dessin reproduit par l'algue; les espaces clairs de la dentelle qui ont laissé passer la radiation ont permis à l'algue de se multiplier en ces endroits éclairés. Autrement dit, à l'obscurité, en l'absence de radiation, il ne s'est produit aucun développement de l'algue ; dans les lacunes des mailles, traversées par la lumière, la synthèse chlorophyllienne s'effectuait et la multiplication était rapide.

Si la pesanteur était intervenue, elle aurait manifestement empêché la reproduction du dessin de cette dentelle et de tous les détails qu'elle présentait.

En employant un écran approprié, il est ainsi possible de faire reproduire les plus fins détails de cet écran et un dessin quelconque, à condition toutefois que les parois de la cuve de culture ou du flacon *soient verticales* ; en ce cas, l'effet de la pesanteur est complètement négligeable.

Il en serait autrement toutefois, si ces parois étaient plus ou moins inclinées ; nous savons, en effet, que dans ce cas, les corpuscules du *Chlorella*, en suspension dans le liquide, finissent par tomber, en donnant des dépôts, dont la forme variable viendrait modifier plus ou moins profondément les résultats de la végétation sur place (chapitre I, p. 71).

Nous avons vu que, dans les tubes à essai, il suffisait de simples stries existant dans le verre, pour produire à la face postérieure, des lignes sombres alternant avec des espaces linéaires fortement éclairés ; le même phénomène existe dans certains grands flacons cylindriques et c'est là certainement la cause principale de cette apparition si capricieuse de ces lignes vertes parallèles, plus ou moins rapprochées les unes des autres ; d'autres causes interviennent pour donner lieu à des différences d'éclairement, tout aussitôt

marquées par la végétation de l'algue, en particulier les montants des fenêtres.

L'ordre d'apparition de la végétation de l'algue sur les parois dans ces grands flacons est le suivant : le revêtement vert qui succède à ces lignes verticales, se montre d'abord à la partie postérieure : il envahit ensuite la partie antérieure et c'est beaucoup plus tard qu'il recouvre les parois latérales ; c'est d'ailleurs la marche déjà constatée à l'intérieur des tubes à essai et qui indique de la façon la plus nette les différences d'éclairement existant sur les parois.

Ce qui est assez curieux c'est que, dans la première note, point de départ de toutes ces recherches, j'avais bien découvert ces différences d'éclairement, mais j'avais supposé à tort que le *Chlorella* se développait suivant les lignes sombres, parce qu'il devait rechercher les points où l'intensité lumineuse est plus faible ou lui convient.

Ce qui est bien plus curieux encore, c'est que, malgré cette erreur, nous avions prévu que si on projette, au moyen d'un prisme, les divers rayons du spectre sur la cuve de culture, renfermant le *Chlorella vulgaris*, « celui-ci ne se développera que derrière les rayons qui correspondent aux bandes d'absorption, c'est-à-dire aux seuls endroits où il peut effectuer sa nutrition holophytique et prendre le carbone qui lui est nécessaire ».

On devine notre satisfaction, lorsqu'ayant fait construire sur nos plans un excellent spectrographe, nous réussissions à obtenir sur la cuve de culture un dessin en vert des principales bandes d'absorption de la chlorophylline, à l'exclusion des bandes d'absorption de la xanthophylle et de la carotine.

Malgré cela, de nombreux physiologistes, qui n'ont pas connu cette méthode ou qui ne l'ont pas comprise, continuent à interpréter de la façon la plus inexacte, le rôle des différentes radiations du spectre dans la synthèse chlorophyllienne.

Mieux eût valu sans doute que le principe de la méthode

eût été découvert, dans un cas plus simple que celui des flacons cylindriques ; en constatant, par exemple, que la Chlorelle revêt d'une couche verte la paroi éclairée d'une cuve de culture remplie de liquide nutritif minéral, alors qu'elle ne produit aucune trace de végétation dans l'autre partie maintenue obscure.

Il aurait alors suffi d'ajouter qu'il en est de même dans l'expérience du spectre, avec les radiations actives dans la synthèse et celle qui sont inactives ; on n'aurait eu d'autres arguments à nous opposer que d'incriminer le degré de sensibilité de l'algue aux différences d'éclairement, la pureté du spectre ou la trop faible intensité de ses radiations.

Dans ce chapitre II, nous avons insisté longuement sur la sensibilité vraiment extraordinaire du *Chlorella vulgaris* aux moindres différences dans l'intensité de la radiation ; cette sensibilité, qui existe au même degré chez le *Scenedesmus acutus*, permet à ces algues de jouer avec toute la précision désirable le rôle d'*appareils enregistreurs*, dans l'étude des phénomènes de synthèse chlorophyllienne.

DEUXIÈME PARTIE

II. — LA SENSIBILITÉ DES *CHLORELLA* ET DES *SCENEDESMUS* A LA LUMIÈRE INDIQUÉE PAR LE DÉGAGEMENT DES BULLES D'OXYGÈNE

Les plantes aquatiques, exposées à la lumière, dégagent des bulles d'oxygène qui proviennent de l'assimilation chlorophyllienne ; ces plantes prennent l'acide carbonique dissous dans l'eau, utilisent le carbone dans la constitution de leur tissu et abandonnent l'oxygène.

On s'est donc servi depuis fort longtemps de ces plantes pour essayer de mesurer les variations de l'assimilation chlorophyllienne, variations qui sont en rapport avec l'intensité lumineuse, la nature des radiations, la température, l'état de la plante, etc.

L'*Elodea Canadensis* se prête très bien à cette méthode par numération des bulles ; aussi emploie-t-on très fréquemment cette plante pour observer le dégagement d'oxygène ; on prend une tige feuillée que l'on fixe sur une tige de verre, le sommet tourné vers le bas ; le tout est renversé dans un cylindre de verre rempli d'eau.

Si l'on expose celui-ci à la lumière, les bulles d'oxygène se dégagent en plus ou moins grand nombre, par la section de la tige et on peut les compter facilement.

En perfectionnant cette méthode, nous avons obtenu des résultats extrêmement intéressants : en particulier, nous avons montré que dans l'assimilation chlorophyllienne, l'action de la lumière était instantanée ; les expériences faites à ce sujet ont fourni un certain nombre d'autres résultats qui seront exposés dans un mémoire spécial et qui attestent,

chez la plante, l'existence d'une sensibilité vraiment extraordinaire.

D'autres plantes aquatiques, comme les *Ceratophyllum*, les *Hippuris*, les *Myriophyllum* peuvent être également utilisées pour la numération des bulles ; mais leur sensibilité à la radiation est loin d'atteindre celle que l'on trouve chez les *Elodea*.

L'inconvénient d'employer des plantes d'une organisation aussi élevée consiste dans le manque de concordance qui existe nécessairement, après un long intervalle d'obscurité, comme la nuit, par exemple, entre le début du phénomène de photosynthèse à l'intérieur des tissus verts de la plante et la première apparition des bulles ; avant que les vaisseaux se soient remplis d'oxygène à la tension voulue pour que le dégagement se produise, il s'écoule souvent plus d'une demi-heure.

D'autre part, il faut considérer que dans une plante supérieure, il existe nombre de cellules incolores sur lesquelles la lumière n'agit pas, mais qui respirent comme les cellules vertes ; or la respiration utilise l'oxygène et dégage du CO^2, alors que la synthèse chlorophyllienne s'empare au contraire du CO^2, et dégage de l'oxygène ; s'il existe par conséquent une proportion notable de tissus incolores, ceux-ci prennent une partie de l'oxygène qui est mis en liberté par l'assimilation chlorophyllienne et le dégagement est diminué d'autant.

Cette diminution, par la respiration, de l'oxygène dégagé est moins apparente, lorsque toutes les cellules sont vertes, comme c'est le cas pour beaucoup d'algues, telles que les *Spirogyra*, les *Ulothrix*, etc.

Dans l'étude de l'assimilation chlorophyllienne par la méthode du dégagement des bulles, il importe de tenir grand compte du fait que la plante, exposée à la radiation, a fourni de l'oxygène, bien avant que les premières bulles apparaissent, lorsqu'il s'agit de l'*Elodea Canadensis*, de l'*Hippuris*, du *Myriophyllum*, etc. ; par contre, elle continue encore

d'assimiler un certain temps, lorsque le dégagement des bulles a cessé. En effet, après une période d'obscurité, l'oxygène provenant de la photosynthèse est tout d'abord utilisé en entier par la respiration ; d'autre part, à une faible intensité lumineuse, une plante peut continuer d'assimiler sans qu'aucun dégagement de bulles d'oxygène vienne l'indiquer ; l'oxygène produit est alors repris en entier par la respiration.

Ces perturbations dans l'observation du phénomène chlorophyllien produites par la respiration, sont beaucoup moins accentuées avec des algues comme les *Spirogyra* et les *Ulothrix*, qui sont d'organisation simple et dont toutes les cellules sont vertes ; l'exosmose de l'oxygène est rapide, car ce gaz n'a qu'une paroi cellulaire à traverser pour arriver dans l'eau ; néanmoins, malgré les avantages qu'elles présentent en certains cas déterminés que nous examinerons plus tard, elles sont généralement d'utilisation difficile ; les bulles d'oxygène qui se forment sont de grosseur très variable ; elles restent plus ou moins longtemps adhérentes à la membrane et si on emploie à la fois plusieurs filaments, ces bulles sont en partie retenues dans l'enchevêtrement des filaments.

Les cultures de Chlorelles et des autres algues inférieures unicellulaires ne donnent pas lieu aux mêmes critiques ; en particulier, les Chlorelles qui sont constituées par des cellules sphériques indépendantes, dont la membrane est souvent très mince, semblent devoir, *a priori*, fournir un matériel de choix : leur très grande sensibilité à la lumière, manifestée, comme il a été démontré précédemment, par une végétation se produisant à de faibles éclairements, constitue une autre condition très favorable.

Ce sont ces raisons qui nous ont déterminé à suivre en détail, le dégagement d'oxygène, en radiation totale sur des cultures de Chlorelles ; on verra, par les expériences qui vont suivre, que la méthode de numération des bulles, sans pré-

tendre à une exactitude absolue, est susceptible de fournir des renseignements intéressants.

Ces renseignements nous seront des plus utiles, lorsque dans la suite de ce mémoire, nous étudierons le dégagement d'oxygène, par cette même méthode, à travers des écrans colorés, ou en face des différentes radiations du spectre.

Les cultures de *Chlorella vulgaris*, de *Scenedesmus acutus* et de diverses algues inférieures se prêtent en effet très bien à la numération des bulles d'oxygène qui se dégagent dans l'assimilation chlorophyllienne par suite de la décomposition de CO^2.

Toutes les cultures ne présentent pas le même degré de sensibilité ; il existe, à cet égard, des différences considérables et cela se conçoit puisque la photosynthèse dépend d'un grand nombre de facteurs différents : état des cellules, nature du milieu nutritif, proportion des éléments qui y sont contenus, température, teneur en CO^2 dissous, etc ; le mieux est de choisir, pour des expériences du genre de celles qui vont suivre, les cultures, qui, à une lumière diffuse, dégagent la plus grande quantité de bulles d'oxygène, en un temps donné.

Il n'est pas nécessaire que ces cultures soient pures au sens strict du mot : parmi celles qui nous ont fourni les meilleurs résultats, il s'en est trouvé qui renfermaient, à côté du *Chlorella vulgaris*, un champignon indéterminé dont les filaments mycéliens cloisonnés et ramifiés circulaient autour des colonies de l'algue, sans leur causer de dommage appréciable ; la présence du champignon contribuait sans aucun doute à maintenir dans l'eau de la culture, la quantité de CO^2 nécessaire à assurer presque indéfiniment une assimilation chlorophyllienne très active, se chiffrant par un grand nombre de bulles à la minute.

La nature du dépôt vert formé par l'algue au fond du flacon n'est pas indifférente ; il faut éviter pour les observations de longue durée, les cultures dans lesquelles les bulles

d'oxygène entraînent avec elles à la surface isolément ou par paquets les colonies de l'algue ; ces colonies redescendent bientôt et il se produit dans le liquide un mouvement de va-et-vient qui ne permet aucune numération sérieuse.

En général, nos observations ont porté sur des cultures faites en flacons de forme cylindrique ; l'éclairement sur le fond, comme nous l'avons vu déjà, n'est pas exactement le même partout, à cause de l'eau qui joue le rôle de lentille ; on constate facilement la présence d'un plus grand nombre de bulles dans les parties les plus éclairées, c'est-à-dire dans la ligne médiane et en arrière ; mais comme la numération porte sur le nombre total des bulles dégagées, ces légères différences n'offrent aucun inconvénient ; au contraire, avec la concentration des rayons lumineux dans ces flacons cylindriques, la production des bulles d'oxygène peut se continuer encore faiblement alors que l'éclairement extérieur serait impuissant à assurer la photosynthèse.

Il suffit, pour éviter toute erreur sur l'appréciation de l'intensité lumineuse qui donne lieu à la production de bulles, d'observer celles-ci, dans la partie avant et médiane du flacon où l'éclairement est sensiblement le même qu'à l'extérieur.

D'ailleurs, rien n'empêche de choisir, pour ces cultures, des cuves rectangulaires dans lesquelles l'intensité lumineuse sera la même partout ; si nous ne l'avons pas fait toujours, c'est parce que ces cuves, trop largement ouvertes, se prêtent à l'envahissement par des organismes étrangers et que l'évaporation s'y produit trop rapidement.

Il est bon de veiller à ce que les flacons ou les cuves de culture possèdent un fond plat, et non un fond plus ou moins relevé vers le centre, afin que le dépôt de l'algue soit bien homogène et présente partout la même épaisseur.

Dans quelques expériences, nous avons employé les flacons Erlenmeyer qui se prêtent bien à la numération des bulles.

Le plus grand reproche que l'on ait adressé à la méthode

de numération des bulles est l'inégalité de volume qu'elles présentent. Il ne faudrait pas toutefois exagérer cet inconvénient. En effet, comme la numération porte sur un nombre de bulles toujours assez élevé dans une période de temps assez courte, une minute par exemple, il s'établit une moyenne qui peut inspirer confiance sur l'exactitude du résultat ; cette confiance sera d'autant plus justifiée qu'il s'agira d'une culture choisie parmi un grand nombre d'autres. Parmi les cultures, on en rencontre qui, soit par suite de leur état de végétation, soit pour toute autre cause, donnent lieu à des bulles sensiblement égales et dispersées régulièrement à la surface ; elles permettent, comme on le verra, de suivre exactement les moindres différences d'intensité dans la radiation.

Le grand avantage de ces cultures de Chlorelles est que le dégagement des bulles suit de très près l'action de cette radiation et qu'il cesse aussitôt que l'action de la lumière ne se fait plus sentir ; il suffit d'une minute ou deux environ pour qu'une culture sensible maintenue jusque-là à l'obscurité et portée à la radiation, manifeste un dégagement d'oxygène ; celui-ci variera en suivant toutes les modifications d'intensité lumineuse et de température qui, au cours d'une même journée, à des orientations diverses, affectent la fonction chlorophyllienne. Si les observations sur le nombre des bulles dégagées sont suffisamment nombreuses et rapprochées, on pourra donc construire une courbe qui indiquera exactement les variations de la fonction.

Si on établit cette courbe à l'aide du nombre des bulles dégagées, minute par minute, pendant un temps plus ou moins long, cette courbe correspondra très approximativement à celle des variations de l'intensité lumineuse, avec un retard de deux ou trois minutes seulement.

Il y a avantage à compter le nombre des bulles qui se dégagent dans une minute ; on peut alors observer des écarts qui se trouvent habituellement compris entre deux ou trois

bulles et plusieurs centaines ; ce dernier nombre — trois cents par exemple — correspondra à une radiation directe du soleil avec température optimum et le nombre le plus faible à une lumière diffuse du soir vers 5 heures ou même 5 h. 1/2. Il arrive parfois que l'abondance des bulles est telle qu'il faut compter par seconde, mais alors les numérations ne sont plus que très approximatives.

Parfois, l'observation doit porter non plus sur des bulles qui se dégagent directement dans l'espace d'une minute, mais seulement sur celles qui se forment pendant cinq minutes, dix minutes ou davantage, à une radiation de faible action ; on procède alors par secouage en imprimant au flacon de culture un choc brusque qui provoque le départ des bulles existantes.

Comme la question de température intervient d'une manière efficace, il serait utile que celle-ci fût connue à tout moment, avec ses variations dans la culture.

Dans nos premières expériences, nous nous sommes borné à noter la température extérieure; ce n'est que plus tard, dans d'autres observations, que nous avons indiqué en même temps la température intérieure de la culture et la température extérieure correspondante.

La numération des bulles d'oxygène peut se faire, avec les cultures de Chlorelles, à toutes les époques de l'année, et on peut ainsi obtenir de nombreux renseignements sur la biologie de ces algues.

Pendant les mois parfois très chauds de juillet, d'août et de septembre, l'observation demande une attention continuelle. En effet, si les cultures ne sont pas très surveillées, la température de l'eau arrive facilement en plein soleil à dépasser 45° qui représente, comme nous l'avons établi, une limite maximum ; au delà de cette limite, la plupart des cellules sont tuées ; à partir de 40°, les cultures présentent déjà des signes non équivoques de souffrance, bien que le dégagement d'oxygène puisse se continuer jusqu'à 42°

environ ; avec le *Spirogyra crassa*, la production des bulles est encore assez sensible à 38°, mais elle cesse plus ou moins complètement vers 40°.

En hiver, aux faibles éclairements, la photosynthèse continue de s'exercer : nous avons vu en effet, dans le chapitre Ier, pages 47, 51, 53, que des semis effectués dans un milieu nutritif minéral, en décembre et en janvier, donnent un dépôt vert assez abondant, au bout d'un mois et même d'une quinzaine de jours ; il s'est donc produit, dans ces conditions, avec des tubes placés au voisinage d'une fenêtre exposée au Nord-Est, une fixation très appréciable de carbone.

Toutefois, en hiver, par temps couvert, on ne compte plus les bulles formées dans une minute, mais celles qui apparaissent dans l'intervalle d'une demi-heure ou même d'une heure.

Les variations de l'assimilation chlorophyllienne

On peut chercher, par la méthode de numération des bulles d'oxygène qui se dégagent sous l'influence de la lumière, à établir comment *varie l'assimilation chlorophyllienne dans une même journée* et *aux différentes époques de l'année*.

Une première observation faite le 27 septembre 1909 nous avait montré que les cultures de Chlorelles se prêteraient admirablement à ces sortes de recherches.

Le grand flacon qui a servi aux premières numérations, était recouvert sur le fond d'une couche épaisse de l'algue se multipliant activement dans du liquide de Knop ; celui ci, avait été additionné la veille d'une petite quantité d'eau de Seltz.

Ce flacon était placé à 1 m. 50 de la fenêtre unique d'une mansarde servant de laboratoire.

Jusqu'à 9 h. 30, les bulles sont relativement peu nombreuses ; à partir de 10 heures, ce nombre augmente et on

en compte environ vingt par seconde ; à 10 h. 25, le soleil arrive à frôler le bord du flacon et le dégagement est de trente par seconde ; à 10 h. 35, le flacon est entièrement éclairé, d'où quarante bulles, chiffre qui à 10 h. 45 s'est élevé à soixante par seconde.

De midi à midi et demi, les rayons du soleil sont devenus perpendiculaires au flacon et le nombre des bulles dégagées passe de soixante à cent soixante et trois cents à la seconde ; si un nuage vient à passer sur le soleil, brusquement on re tombe à trente.

A partir de midi et demi, le flacon ne reçoit plus directement le soleil, ce qui a un résultat immédiat sur l'assimilation ; à 1 heure, on observe encore vingt bulles à la seconde ; à 1 h. 30, il ne s'en produit plus qu'une dizaine et à 2 heures, le dégagement a cessé presque complètement.

Cette observation montrait nettement à quel point l'assimilation chlorophyllienne varie selon qu'il s'agit de *lumière diffuse*, ou de *lumière directe* ; elle faisait aussi ressortir l'absence d'assimilation à la lumière diffuse de l'après-midi qui était cependant aussi intense que celle du matin ; l'attention se trouvait ainsi appelée sur l'importance de l'état des cultures dans l'appréciation des résultats.

Ce n'est qu'en juin 1914, que j'ai repris ces expériences d'une façon systématique, en utilisant des flacons de culture de moindre diamètre, afin de faciliter les numérations.

La culture employée renfermait quelques rares exemplaires de *Scenedesmus acutus* mélangés aux *Chlorella vulgaris* ; elle renfermait en outre une amibe qui se nourrissait aux dépens des Chlorelles et aussi quelques filaments d'un champignon cloisonné, impossible à déterminer.

Cette culture était très vigoureuse : la présence du champignon et de l'amibe, loin d'apporter un trouble dans la photosynthèse, la favorisait au contraire, en maintenant toujours dans l'eau par la respiration, une proportion de CO^2 suffisante.

La numération des bulles, en radiation totale, s'est faite du 16 juin au 20 juin 1914 ; la culture, selon les cas, était placée extérieurement sur le rebord de fenêtres dont l'exposition est approximativement Nord-Est, Sud-Est, et Sud-Ouest.

Observation du 16 juin 1914.

Nous constatons le 16 juin 1914, par un temps très couvert, un abondant dégagement de bulles dans une culture de *Chlorella vulgaris* ; l'algue forme au fond du flacon un dépôt vert assez épais ; ce flacon a un diamètre de 8 centimètres, il est placé à l'exposition N.-E., la température est de 19 à 20°.

A 4 h. 35 du soir, le nombre des bulles d'oxygène qui se dégagent est de soixante-dix à quatre-vingts par minute.

A 5 h. 10, on en compte encore vingt par minute.

La constatation d'une assimilation si active, à la fin d'une journée, et par temps sombre, montrait qu'on avait affaire à une culture vigoureuse, très favorable à l'étude des variations de la photosynthèse ; aussi le soir, nous plaçons le flacon à l'obscurité, en vue de continuer le lendemain le dénombrement des bulles.

Observation du 17 juin 1914.

Cette observation doit son caractère complexe du fait que le flacon de culture a été déplacé à différentes reprises et aussi de ce que le temps était couvert au début de la journée.

La température était assez peu élevée dans la matinée ; elle s'est maintenue aux environs de 14° jusqu'à 9 h. 30 ; elle était de 15° à 10 heures, à 1 h. 15 de 21° et celle-ci s'est maintenue sans grand changement jusqu'à 4 heures.

Voici quelques numérations effectuées au cours de la journée :

8 h. 20 : absence de bulles et temps couvert.

9 h. 30 : formation de bulles adhérentes au fond du flacon, temps couvert.

10 heures : 30 bulles par minute, temps couvert.

Le flacon jusqu'ici était placé sur le *rebord extérieur de la fenêtre, à l'exposition N.-E.*

10 h. 20 : le flacon est transporté dans mon laboratoire à 6 *mètres de la fenêtre* ; le dégagement cesse aussitôt.

10 h. 25 : le flacon est *reporté à* 3 *mètres* sans amener de changement.

10 h. 35 : *à* 1 *mètre*, il produit 10 bulles par minute et le nombre va augmenter par la suite.

10 h. 40 : 20 bulles par minute.

1 h. 15 : moyenne 30 à 40 par temps couvert, mais cependant assez clair. Le flacon est replacé sur le *bord extérieur de la fenêtre N.-E.* ; temps plus clair.

1 h. 30 : 100 bulles par minute.

2 h. 30 : 80 à 100 bulles par minute.

3 h. 15 : Id.

Le flacon est mis de l'autre côté, *à une fenêtre exposée au soleil* ; la température est de 21 à 22°.

4 h. 05 : 100 bulles.

4 h. 10 : 3 à 400 bulles par minute.

Le flacon est remis de nouveau *à l'exposition N.-E., sur le rebord de la fenêtre*, temps clair.

4 h. 25 : 40 bulles.

4 h. 40 : 30 bulles.

5 h. 30 : 15 bulles.

Le dégagement cesse complètement à 5 h. 40 par température extérieure de 18° environ.

Les cellules du *Chlorella*, examinées à 3 heures, montrent une membrane assez épaisse, un chromatophore en cloche nettement délimité, un pyrénoïde entouré d'amidon ; ce pyrénoïde est encore visible et très gros dans des cellules où le chromatophore est déjà lobé en trois ; de nombreux

granules incolores sont situés sous la membrane et à son contact.

Observation du 18 *juin* 1914.

Le temps est resté très sombre et le flacon, placé de 10 heures à 10 h. 35 à la fenêtre N.-E., ne donne aucune bulle ; l'examen des cellules m'a montré que l'amidon du pyrénoïde n'avait pas complètement disparu pendant la nuit dans les cellules ordinaires ; parmi celles-ci, on rencontre de nombreux sporanges à 2, 4 ou 8 cellules.

Le flacon est abandonné sur le rebord de la fenêtre N.-E., en vue de reprendre l'observation le lendemain matin.

Observation du 19 *juin* 1914.

L'expérience du 19 juin a été assez complète ; le flacon avait reçu jusqu'à 8 h. 15 la lumière du soleil ; le dégagement de bulles avait été assez élevé à en juger par le nombre de celles qui avaient persisté en surface ; au début de l'observation à 8 h. 15, ces bulles partaient du fond en un véritable feu d'artifice ; les chiffres qui suivent montrent les variations qui se sont produites au cours de la journée, aux diverses expositions : T. température ; H. heure ; B. bulles ; E. exposition.

T.	H.	B. (1)	E.	OBSERVATIONS
26°	8 15	3-400	N.-E.	Soleil.
	8 0	3-400		d.
		0		Le flacon a été placé à l'obscurité (8 h. 30 à 9 h.).
28°	9 02	2		Soleil.
	9 03	6		d.
	9 05	60		d.
	9 07	120		d.
	9 10	600		d.
26°5	9 15	150		Nuages.
25°	9 20	80		Nuage noir.
24°5	9 30	60		d.
24°	9 35	30		d.
28°	9 50	2-300		Soleil.
32°	9 55	150		d.
29°	10	150-200		Soleil commence à porter ombre.
28°	10 02	100		
27°	10 05	80		
26°	10 07	30		
28°	10 20	100	S.-E.	Soleil.
28°	10 25	150		d.
30°	10 30	180	S.-E.	Nuage blanc.
32°	10 35	200		Soleil.
35°	10 40	200		d.
31°5	10 50	100		Nuages.
34°	10 55	150		Soleil.
35°	11 15	150		Nuages.
30°	11 25	100		d.
30°	11 35	40		d.
35°	11 50	80		Soleil.
27°	12 25	20		Nuages.
28°	12 30	15		d.
32°	12 45	200	S.-E.	Soleil.
27°	1	50		Ciel couvert.
27°	1 10	80		d.
26°	1 15	40		d.
	1 20	15		d.
30°	1 25	250		Soleil.
30°	1 35	300		d.
30°	1 40	300		d.
25°	2 10	0		Ciel couvert depuis 10 minutes.
24°	2 15	0		Nuages.
	3 30	20		Soleil.
29°	3 40	100		d.
24°	4	0		Ciel très couvert.
26°	4 10	60		Soleil.
24°	6	0		Ciel couvert.

1. La numération des bulles est exprimée dans les tableaux par minute.

L'examen de ce tableau qui, pour une même journée, fournit une cinquantaine d'observations réparties depuis 8 h. 15 du matin jusqu'à 6 heures du soir, nous permet de formuler un certain nombre de remarques.

1° La photosynthèse est un phénomène dans lequel la réaction est immédiate ; la décomposition de CO^2 et la mise en liberté de l'oxygène a lieu dès l'arrivée de la radiation.

Ainsi un flacon maintenu une demi-heure à l'obscurité et dans lequel tout dégagement d'oxygène a cessé, donne au bout de deux minutes, 2 bulles par minute ; à la troisième minute, on compte 6 bulles par minute ; à la cinquième, 60 ; à la septième, 120 et à la dixième minute, 600.

Nous trouverons par la suite de nombreuses confirmations de cette rapidité de la réaction ; si le dégagement de l'oxygène exige pour être apparent deux ou trois minutes, ce léger retard est à n'en pas douter dû à l'exosmose ; le gaz formé à l'intérieur de la cellule, doit, en effet, traverser la membrane cellulaire avant de se dégager.

Cette rapidité des échanges gazeux, à travers la membrane cellulaire, est très remarquable.

2° Le moindre nuage qui intercepte la radiation a sa répercussion immédiate sur l'intensité du phénomène ; ainsi de 9 h. 10 à 9 h. 15, le nombre des bulles descend à 150 ; à 9 h. 20, il n'est plus que de 80 ; il peut même cesser tout à fait, comme on le voit entre 3 h. 40 et 4 heures.

3° De l'examen du tableau et en comparant le nombre des bulles dégagées au soleil, il semblerait que la température optimum, pour la photosynthèse, est de 26 à 28° ; mais il ne faut pas oublier que la température notée est celle de l'extérieur, et non celle du liquide de culture ; à la vérité, l'écart est le plus souvent assez faible ; cela suffit pour que nous retardions cependant toute conclusion, d'autant plus que la radiation solaire directe est elle-même très variable comme intensité.

4° On voit que l'assimilation s'est continuée pendant une

journée entière, sans subir d'autres fléchissements que ceux qui provenaient d'une diminution passagère de l'intensité lumineuse.

Le volume d'oxygène dégagé a donc été relativement considérable ; comme il correspond a un égal volume de CO^2 décomposé, il y a lieu de se demander l'origine de ce dernier gaz.

Il existe, semble-t-il, une inconnue au sujet de l'origine de cet acide carbonique ; sans doute, l'eau de la culture, en renfermait une certaine proportion au début de l'expérience ; une autre a été fournie par la respiration des algues elles-mêmes ; enfin, la présence du champignon et de l'amibe, constituait une autre source de production de CO^2.

Malgré cela, on est un peu surpris par la quantité de carbone qui a dû être fixée par la culture en une douzaine d'heures d'éclairement.

5° On constate que l'algue est, dans ces limites de température, un réactif merveilleux de l'énergie radiante utilisée dans la photosynthèse ; elle indique minutieusement, à sa façon, minute par minute, les moindres différences d'intensité lumineuse, dues à la position du soleil, à la présence de nuages ou à l'existence d'une brume ou d'un brouillard ; cet algue est sensible à des écrans légers parfois si transparents que notre œil ne les soupçonne même pas.

Observation du 20 *juin* 1914.

L'expérience du 20 juin comporte la mise en place à 8 h. 1/2, sur le rebord de la fenêtre N.-E., de la culture qui a été maintenue toute la nuit à l'obscurité ; le temps est couvert avec soleil brumeux par intermittences.

T.	H.	B.	E.	OBSERVATIONS
26°	9 15	6	N.-E.	Nuages.
27°	9 18	15		Soleil brumeux.
28°	9 20	16		Id.
31°	9 26	22		Id.
31°	9 40	17		
32°	9 50	30		Soleil brumeux.
35°5	10	25		
30°	10 10	60		Le soleil disparaît portant ombre.
28°	10 15	80		Temps clair, brumeux cependant.
26°5	10 20	70		
26°	10 30	100		
	10 40	90		
25°	10 50	100		
25°	11	60		
24°	11 10	7-80		
24°	2 40	15		
23°	3	0		
23°	3 10	0		

On voit, d'après ce tableau et ces chiffres que le dégagement d'oxygène s'est établi lentement, malgré la haute température constatée et la présence du soleil ; ces résultats contrastent avec ceux de la veille, 19 juin.

Cette différence peut tenir, pour une part, au fait que la culture avait beaucoup assimilé la veille ; mais elle est due également, et pour une large part, à ce que les rayons du soleil traversaient une légère brume qui retenait sans doute une partie des rayons actifs ou diminuait sensiblement leur action.

Il était intéressant d'étudier comparativement la façon dont l'oxygène se dégage, lorsqu'on soumet les cultures à des éclairements variés, provenant de différentes sources lumineuses.

La nature de la culture ayant une grande importance, on a choisi trois flacons Erlenmeyer, de dimensions moyennes et qui renfermaient chacun une culture de Chlorelle dont l'origine était connue, ainsi que le milieu nutritif employé.

Il y a eu ainsi trois séries principales d'expériences que

nous allons maintenant décrire, en fournissant les renseignements indispensables sur la nature de la source lumineuse, son éloignement des cultures et les températures observées à l'intérieur des cultures.

Quelques observations ont, en outre, été faites avec deux autres cultures, notées respectivement série IV et série V.

Série I.

La culture provient d'un semis ancien de *Chlorella* en liquide Grintzesco ; l'expérience a commencé le 10 novembre 1914.

Observation du 10 novembre 1914.

Le ciel est très couvert et le temps sombre : la température du laboratoire est de 15° ; l'assimilation a été insignifiante ; une vingtaine de bulles seulement ont été observées au total, de 1 h. 30 à 3 heures.

Lumière électrique. — Lampe Osram, 50 B. ; distance du flacon à la source lumineuse : 0 m. 20 ; les bulles se dégagent régulièrement au nombre de 5 ou 6 par minute.

Lampe Nertz. — Distance : 0 m. 20 ; dégagement : 7 à 8 bulles par minute.

Le nombre des bulles obtenues par secouage à la fin de cette observation, qui avait duré de 5 heures à 5 h. 30, dépassait 150.

Conclusion particulière. — Pour cette culture et à la distance de 0 m. 20, la lumière de la lampe Nertz et de la lampe Osram 50 B, ont présenté sensiblement le même pouvoir assimilateur ; il est de beaucoup supérieur à celui de la lumière du jour par le temps sombre du 19 novembre 1914, au voisinage immédiat d'une fenêtre N.-E. ; la température pendant la durée de l'éclairage électrique était montée de 15 à 19°.

Observation du 11 *novembre* 1914.

Le ciel est très couvert, mais le temps est moins sombre : l'assimilation devient sensible vers 11 heures ; la température de la culture est de 17° ; de petites bulles apparaissent, mais restent rares ; en somme *assimilation insignifiante.*

La lumière électrique, *agissant dans les mêmes conditions qu'hier* de 5 heures à 5 h. 30, ne donne rien.

Observation du 12 *novembre* 1914.

Le temps est plus clair : ciel bleu, légers nuages blancs. La température du flacon est de 16°.

Malgré la luminosité plus grande, la culture ne donne que quelques bulles de *secouage* : 8 à 3 heures ; 1 à 3 h. 05 ; 3 à 3 h. 10 et aucune par la suite.

Observation du 13 *novembre* 1914.

Après avoir constaté que ce flacon de culture ne dégageait aucune bulle de 8 heures à 9 heures, alors que le flacon n° II assimilait normalement, nous en concluons que le milieu nutritif est défavorable et pour le modifier, nous diluons fortement un tube à essai de liquide calcique Errera + CO^3K^2 à 2,5 % avec de l'eau distillée et nous le versons dans la culture.

Il se produit alors un trouble d'apparence gélatineuse qui, d'après la composition des liquides mis en présence, pourrait être du carbonate de calcium et de magnésium et peut-être aussi un peu de phosphate de magnésium. En admettant que le sesquichlorure de fer ait donné un acide libre, il pourrait se produire également un peu de bicarbonate de potassium, lequel céderait facilement son CO^2 ; la réaction du mélange est *légèrement alcaline.*

Quoi qu'il en soit, par le fait de ce mélange, la Chlorelle recouvre brusquement son pouvoir assimilateur.

L'addition du liquide Errera avait eu lieu à 9 h. 30 ; à 9 h. 45 de nombreuses bulles d'O se dégagent jusqu'à 11 h. ; le flacon est mis à l'obscurité jusqu'à 2 heures ; absence totale de dégagement.

A 2 heures, par temps couvert et pluie fine, l'assimilation reste nulle.

A 3 h. 50, le flacon est placé à 0 m. 10 d'une lampe électrique 50 B. ; quinze minutes après, on obtient des centaines de bulles par secouage et il s'en forme de nouvelles jusqu'à la fin de l'expérience à 4 h. 15.

En résumé, les propriétés assimilatrices du Chlorella se sont trouvées améliorées dans une très forte proportion par l'addition à un milieu Grintzesco acide de liquide calcique Errera + CO^3K^2 ; le nouveau milieu était légèrement alcalin.

Observation du 14 *novembre* 1914.

Les observations prises pendant cette journée permettent de constater l'existence d'une photosynthèse active ; elle ressort nettement des chiffres du tableau suivant :

T.I. (1)	H.	B.	E.	OBSERVATIONS
17°5	9	20	N.-E.	Temps clair. Le soleil est caché par des nuages; un secouage énergique fait partir des milliers de bulles.
	9 35	120		Elles se reforment à raison de 120 par minute.
	9 36	200		
	9 45	100		
	9 50	90		
18°	10 02	70		Le ciel est bleu partout.
	10 35	80		
	11	40		
	2 50	25		L'éclairage est bon ; la diminution du nombre des bulles est due à la position du soleil par rapport à la culture ; mais peut-être aussi à une usure momentanée du milieu.
	3	10		

1. T. I. indique la température intérieure de la culture.

En effet, la lampe Nertz fonctionnant de 4 heures à 5 h. 20, à une distance de 0 m. 30 la culture, ne fournit aucune trace de dégagement d'O.

Observation du 15 *novembre* 1914.

Le flacon est resté pendant toute la journée qui a été pluvieuse dans le laboratoire au voisinage immédiat de la fenêtre.

T. I.	H.	B.	E.	OBSERVATIONS
15°	8 20		N.-E.	Le dégagement n'est pas encore régulier.
	8 50	100		Ciel bleu et nuages blancs.
	9	100		
	9 20	105		A 9 h. 20 le flacon est placé à une distance de 2 m de la fenêtre :
17°	9 35			20 à 30 bulles de secouage.
	10			Temps sombre. Photosynthèse nulle.
	10 30			Id. Le flacon est replacé à 10 h. 30 au voisinage immédiat de la fenêtre (0m05).
	11	20		Le secouage en fait dégager 300 à 400.
	2	30		
	2 11	12		Temps sombre.
18°	2 13	2		Pluie.

Observation du 16 *novembre* 1914.

L'après-midi est pluvieuse et l'assimilation nulle ; à 5 h., le flacon placé à 0 m. 30 de la lampe Nertz ne donne rien ; à 0 m. 20 et à 0 m. 10, il s'en produit quelques-unes, assez rares, obtenues par secouage ; le flacon III, placé dans les mêmes conditions d'éclairement, dégage un grand nombre de bulles.

Conclusion. — Il existe de très grandes différences, au point de vue de la photosynthèse entre cultures d'apparence

identique, sans qu'on puisse toujours en déterminer les causes.

Le flacon I reste pendant la nuit à 0 m. 20 de la lampe Nertz ; le lendemain matin, on constate l'existence de 7 ou 8 bulles de secouage.

Observation du 17 *novembre* 1914.

Le flacon est placé au voisinage de la fenêtre à 8 h. 40 ; temps clair, nuages blancs.

T. I.	H.	B.	N.-E.	OBSERVATIONS
18°	9 10			30 bulles de secouage. La photosynthèse s'établit.
	9 15	6		
	9 25	50		Temps clair, nuageux.
	9 40	40		
	10 25	20		Id.
	2 30	0		Ciel bleu.

Observation du 18 *novembre* 1914.

La température s'est abaissée cette nuit au-dessous de 0 ; nous en profitons pour étudier l'action du froid.

T. I.	H.	B.	E.	OBSERVATIONS
12°	8 30		N.-E.	Quelques bulles de secouage : ciel bleu ; soleil.
	8 40			Id.
13°	8 50	14		
	8 55	18		Le dégagement est régulier.
13°	9	20		Id.
				Le flacon qui était à l'intérieur, au voisinage de la fenêtre est placé à 9 h. à l'extérieur, sur le rebord, après un secouage qui a fait partir une centaine de bulles.

T. I	H.	B.	E.	OBSERVATIONS
10°	9 10	5 D		D. Bulles de dégagement.
9°	9 15	6 D		
7°	9 25	3 D		Un secouage énergique fait disparaître toutes les bulles, au nombre de plusieurs centaines.
3°5	10	100 S		S. Bulles de secouages.
3°	10 20	1000 S		Le nombre de bulles obtenues par secouage, atteint un millier de 10 h. à 10 h. 20, soit 50 par minute ; le temps est clair ; ciel sans nuage.
3°	10 35	300 S		On voit que le nombre des bulles formées de 10 h. 35 jusqu'à 10 h. 55 est de 15 à 20 par minute.
	10 45	150 S		
3°	10 55	150 S		
4°	1 35	120 S		
	2	12 S		De 2 h. à 3 h., les chiffres ci-contre ne donnent plus qu'une moyenne de 1 bulle par minute environ ; le temps est cependant clair avec nuages blancs.
4°	2 15	20 S		
	2 45	50 S		
4°2	3	20 S		
	3 15	21 S		
4°	4	19 S		Secouage énergique et complet.
4°	4 15	0		

Le flacon est placé à 4 h. 16, à 0 m. 30 d'une lampe Nertz ; à 4 h. 30, la température est de 10°, absence de bulles ; à 4 h. 40, la température est de 11°, 5 bulles de secouage ; à 5 heures, température 13°, 70 bulles de secouage ; à 5 h. 15. température 14°5, 20 bulles de secouage.

Conclusions. — Il est incontestable que la Chlorelle, à cette température de 3° et de 4° a donné lieu à des phénomènes actifs de photosynthèse ; celle-ci est même sans doute plus intense que ne l'indique le tableau, car dans les bulles de secouage, il en existe bon nombre qui sont très grosses relativement ; toutefois, il est bon de remarquer qu'avec la diminution de température, les bulles montrent une tendance de plus en plus marquée à rester incluses dans la cul-

ture ; il serait intéressant de voir si leur teneur en oxygène a diminué.

La photosynthèse a cessé vers 4 heures et peut-être un peu avant ; elle a repris lentement en face d'une lampe Nertz, à la distance de 0 m. 30.

Observation du 19 *novembre* 1914.

Le flacon est resté la nuit à 0 m. 60 de la lampe Nertz, sans qu'on observe aucune bulle ce matin à la température de 12° ; à 8 h. 30, la culture est placée au dehors, sur le rebord de la fenêtre.

De 8 h. 30 à 9 h. 45, il se forme 120 bulles de secouage et la température est descendue à 5°.

De 9 h. 45 à 9 h. 55, il se forme 200 bulles de moyenne grosseur, température 4°7.

De 9 h. 55 à 10 heures, 100 bulles plus petites, à la température de 4°. Le temps est assez clair, quoique couvert.

La photosynthèse se produit donc normalement comme hier au voisinage de cette température de 4°.

Observation du 20 *novembre* 1914.

Le flacon a été conservé cette nuit à l'obscurité ; à 8 h. 30, il est placé au dehors où la température est de 0°.

T. I.	H.	B.	E.	OBSERVATIONS
12°	8 30	0	N.-E.	Temps clair, ciel bleu, soleil, pas de nuage ; très légère brume.
4°	8 50	0		
2°	9 15	0		
1°8	9 20	1 S		La première bulle de secouage assez grosse.
1°	9 35	140 S		
1°	9 42	130 S		
	9 47	80 S		Moyenne de 15 à 20 bulles par minute.
0°8	9 55	100 S		
0 6	10 40	600 S		
2°	1 40	50 S		50 très grosses bulles qui soulèvent en partant des colonies d'algues.
	2 20	5 S		
2°2	3 10	50 S		Assez grosses bulles. Nuages blancs.

Conclusion. — La photosynthèse est assez lente à s'établir ; mais à partir de 9 h. 20, elle est sensiblement aussi active qu'hier à 4°, bien que la température de la culture soit au voisinage de 0 ; les bulles ne se dégagent que par secouage.

Le flacon est resté sur le rebord de la fenêtre, extérieurement, les 21, 22, 23, 24 novembre, supportant des températures de plusieurs degrés au-dessous de 0 ; le dégel a commencé le 24 dans la journée ; ce matin 25 novembre, il reste encore un gros glaçon dans la culture.

Observation du 25 novembre 1914.

La température extérieure est de 4° ; celle de la culture est de 2°5 au début à 8 h. 30 ; le temps est couvert ; cône de glace à la partie supérieure du flacon.

T. I.	H.	B.	E.	OBSERVATIONS
2°5	8 30	0	N.-E.	Temps couvert.
	9 15	0		
	9 30	1 S		Apparition de la première bulle de secouage.
	9 45	40 S		Le ciel est gris sombre, avec taches plus blanches ; il est complètement couvert.
3°	9 55	60 S		
	10	50 S		
	10 15	40 S		
4°	10 45	200 S		
	11	60 S		
	11 10	120 S		Nuages blancs.
7°	1 50	17 D		Bulles de dégagement, la plupart très grosses ; ciel bleu avec nuages blancs.
	2 05	10 D		La photosynthèse est très active.
	4	10 S		La photosynthèse devient nulle.

Conclusion. — L'algue, après avoir été pendant *plusieurs jours incluse dans la glace*, assimile activement, dans la matinée qui suit le dégel, avec éclairement moyen et une tem-

pérature de 3° ; à 7°, dans l'après-midi, par bon éclairement, l'assimilation devient active.

Observation du 26 novembre 1914.

La photosynthèse reste très faible ; le temps est couvert et très sombre.

T. I.	H.	B.	E.	OBSERVATIONS
	9	0	N.-E.	
5°	9 15	6 S		
	9 30	4 S		
	9 35	3 S		
6°	10	30 S		
7°	11	120 S		

Observation du 27 novembre 1914.

La photosynthèse est active et se manifeste à partir de 9 h. 20 par des bulles de dégagement, grosses et moyennes ; le ciel est bleu, avec des nuages blancs parfois.

T. I.	H.	B.	E.	OBSERVATIONS
5°	8 30	0	N.-E.	Ciel bleu : temps clair, mais brumeux.
	8 45	3 S		
5°2	8 55	20 S		
	9 05	40 S		
7°8	9 20	10 D		Temps clair ; ciel bleu.
	9 40	10 D		
	9 50	12 D		
	10	16 D		Ciel bleu, soleil.
	10 45	8 D		
8°	11	17 D		
	2	10 D		Nuages blancs par endroits sur ciel bleu.
10°	2 15	8 D		

Observation du 28 novembre 1914.

T. I.	H.	B.	E.	OBSERVATIONS
6°	8 30	0	N.-E.	Temps très couvert.
	9 10	2 S		
6°5	9 20	5 S		
	9 40	30 S		
	10	40 S		Temps très couvert.
7°	10 15	40 S		
	10 40	20 D		Temps reste couvert, avec beaucoup de lumière diffuse.
	10 45	19,22 D		
8°	11	24 D		
9°	2	15 D		
	4	0		Toutes les bulles formées cet après-midi sont déjà résorbées : 0 par secouage.

L'activité de la photosynthèse se manifeste vers 9 h. 40, par les bulles de dégagement au nombre d'une vingtaine par minute ; le ciel est couvert complètement de nuages épais, bas, de couleur gris cendré ; *la lumière diffusée ainsi est plus favorable à l'assimilation que le ciel bleu d'hier avec soleil,* aux mêmes heures et par température égale.

Conclusion. — La qualité de la radiation par temps couvert est très variable, vis-à-vis de l'assimilation, selon la façon dont elle est diffusée ; l'œil est incapable d'apprécier ces différences.

Observation du 30 novembre 1914.

T. I.	H.	B.	E.	OBSERVATIONS
	8 30	0	N.-E.	Temps couvert ; blanc dans les nuages.
	9	0		
10°5	9 05	2 S		
	9 10	10 S		
	9 20	30 S		Nuages blancs et ciel bleu par intervalles.
	9 30	50 S		
	10 15	14 D		
	10 20	22 D		
	10 35	14 D		
	10 50	13 D		
11°5	2 15	4 D		Temps assez couvert.
	2 30	4 D		

L'assimilation est restée semblable à celle d'hier, malgré l'élévation de température et l'éclairement meilleur *en apparence.*

Observation du 1er *décembre* 1914.

T. I.	H.	B.	E.	OBSERVATIONS
11°	9	0		Temps sombre.
	9 05	1		
	9 35	0		Temps pluvieux.
	9 40	2 S		
	9 45	10 S		
	9 50	12 S		
	10 05	10 D		Temps couvert : légères éclaircies blanches.

Le lendemain 2 décembre, par température de 12 à 13°, je n'obtiens que quelques très rares bulles de secouage, *malgré un ciel bleu avec nombreux nuages blancs.*

Série II.

Cette culture provient d'un ancien semis sur tube de gélatine dans lequel on avait ajouté plus tard une certaine quantité d'eau ; la culture a été versée hier dans du liquide nutritif Errera, plus CO^3K^2 à 2,5 % et ensuite fortement diluée ; la réaction est nettement alcaline.

Observation du 13 *novembre* 1914.

La culture est contenue dans un grand flacon Erlenmeyer ; elle est restée toute la nuit au voisinage de la fenêtre, à l'intérieur.

T. I.	H.	B.	E.	OBSERVATIONS
16°	8 15	1 S	N.-E.	La première bulle de secouage.
16°5	8 45	25 S		
17°	8 55	10 D		Toutes bulles observées par la suite sont des bulles de dégagement.
	9	11		
	9 10	16		
	9 30	24		Temps couvert avec forte lumière diffuse.
17°5	9 45	30		
	10	20		Le flacon est placé à 1 m. de la fenêtre.
	10 15	0		Le flacon est placé à 0m60.
	10 22	2		
	10 30	1, 2		Le flacon est placé à 0m30 de la fenêtre.
	10 40	10,13,18		
	10 45	60		Le flacon est remis à 0m60 de la fenêtre.
	10 50	10		
	10 55	1, 2, 0		L'assimilation a presque complètement cessé.
19°	11 04	40		Le flacon a été remis à 10 h. 57 à 0m30 de la fenêtre.
	11 10	1		Le flacon a été remis à 11 h. 05 à 0m60 de la fenêtre.
	11 14	10		Le flacon a été remis à 11 h. 10 à 0m05 de la fenêtre.
	11 15	20		
	11 16	60		L'éclairage n'a pas sensiblement changé depuis 10 h. 40.
	11 17	100		
	11 18	150-200		
19°5	2	0	N.-E.	Temps pluvieux ; assimilation nulle
	2 15	5		La pluie a cessé.
	2 30	10		
	3	0		Temps très couvert.
	3 50	10, 6, 7		Le flacon est placé à 3 h.45 en face d'une lampe électrique 50 B avec réflecteur en porcelaine blanche. à la distance de 0m20 ; le dégagement commence presque aussitôt et se maintient par la suite avec une moyenne de 5 à 6 bulles.
	4	6, 7, 5		
	4 15	5, 6		

En résumé, la photosynthèse a été active toute la matinée, malgré le temps couvert ; cette expérience montre *l'influence exercée sur l'assimilation par la position de la cul-*

ture dans un appartement ; dans les conditions indiquées ci-dessus, l'assimilation était nulle à 1 mètre de la fenêtre ; à 0 m. 60, le dégagement était de 1 ou 2 bulles par minute ; à 0 m. 30, de 40 à 60, et de 200 au voisinage immédiat de la fenêtre, à 0 m. 05 environ.

La lumière d'une lampe électrique de 50 B, fournit à la distance de 0 m. 20, une assimilation très régulière ; celle-ci était sensiblement égale à celle de la lumière diffuse, ce même jour, par temps couvert, exposition N.-E., de 2 h. 15 à 2 h. 30.

Observation du 14 *novembre* 1914.

Le temps à 8 h. 50 est clair : nuages légers sur bleu du ciel.

T. I.	H.	B.	E.	OBSERVATIONS
17°5	8 55	14	N.-E.	La culture est à 0m05 de la fenêtre.
	9 20	60		Temps clair assez lumineux.
	9 25	80		
	9 40	8		Nuages.
	9 42	30		
	10	32		Ciel bleu.
	10 30	400		Nuage blanc.
	10 39			Le flacon est placé à 0m60 de la fenêtre.
	10 43	45		Très bonne lumière.
	10 45	50		
	10 46			Le flacon est placé à 1m20 ; le temps s'assombrit.
	10 52	4		
	10 53	2		
	10 55	4		
	11	2		
	11 10	0		Remis le flacon à 0m05 de la fenêtre.
	1 40	150		Temps clair : nuages blancs.
	1 42	130		
	1 43			Le flacon est placé à 2 m.
	2 30	0		Ciel bleu.
	2 35	4		Nuages blancs.
	2 40	5		
	2 51	3		
	3 02	0		Temps plus sombre ; l'assimilation cesse à cette distance de 2 m.

T. I.	H.	B.	E.	OBSERVATIONS
	3 20	0		Lumière d'une lampe Méta 50 B, à la distance de 0^m40.
	3 45	0		La lampe est placée de façon à ce que la radiation éclaire le fond du flacon.
	3 50	1 D		
	4			2 bulles en 3 ou 4 minutes.
	4 06	3 D		Culture depuis 4 h., à la distance de 0^m30.
	4 17	2		Culture à la distance de 0^m90 à 4^m17.
	4 18	1		Dans les minutes qui suivent 2, 4 8 bulles.
	4 23	12		
	4 25	10		
	4 34	8		Culture placée à 4 h. 35 à la distance de 0^m10.
	4 38	20		
	4 43	40		
	4 53	40		
	4 55	37		Culture placée à 4 h. 56 à la distance de 0^m20.
	4 59	22		
	5	15		
	5 09	7		Il semble que l'intensité de la radiation a diminué, sans doute à cause de l'éclairage en ville.
	5 10	3		
	5 12	0		

En résumé, la Chlorelle a pu assimiler aujourd'hui jusqu'à une distance de 2 mètres, à 2 h. 35 ; la photosynthèse était active à 0 m. 60, vers 10 h. 45, alors qu'hier elle était presque nulle à cette distance ; des nuages blancs par temps clair favorisent l'assimilation.

La lampe Meta de 50 bougies, à la distance de 0 m. 10, a donné le même nombre de bulles que la lumière ordinaire, à la distance de 0 m. 60 de la fenêtre ; au moment où l'éclairage s'établit partout en ville, la diminution de l'intensité lumineuse est indiquée par une décroissance dans le nombre des bulles ; elle cesse même pour la distance de 0 m. 20.

Observation du 16 novembre 1914.

La culture est restée hier dimanche à l'ombre : mise en place à 8 h. 20.

T. I.	H.	B.	E.	OBSERVATIONS
15°	8 22	0	N.-E.	Temps clair, ciel bleu et nuages.
	8 40	4 D		
	9	5		
	9 05	30		Soleil envoie rayons par réflexion sur un mur.
	9 15	60		
	9 50	11		Le temps est sombre.
17°	10 10	60		Temps plus clair.
	10 17	50		
	10 35	4		
	11 05	0		Temps sombre.
	2	300		Ciel bleu et nuages blancs.
	2 06	2		Gros nuage noir
18°	2 12	0		Pluie.

En résumé, cette culture montre une très grande sensibilité vis-à-vis de la radiation ; le moindre nuage a sa répercussion immédiate sur le dégagement de l'O ; on voit qu'en des instants très rapprochés de la journée, l'assimilation varie dans la proportion de 1 à 300 et parfois davantage.

Cette culture est abandonnée près de la fenêtre jusqu'au samedi 28 novembre ; elle dégage peu de bulles dans la journée ; la couleur est très verte et on observe un dépôt abondant de colonies sur les parois du flacon.

Série III.

Cette culture provient d'un semis effectué le 23 mai en milieu liquide Grintzesco ; elle se trouvait dans un flacon Erlenmeyer dont elle tapissait le fond ; l'algue ne développait dans ce liquide acide que de rares bulles ; après addition le 13 novembre de liquide Errera plus CO^3K^2 à 2,5 %, il y a formation d'un précipité gélatineux ; la réac-

tion devient légèrement alcaline et la culture fournit immédiatement à la radiation des centaines de bulles.

Cette culture a servi principalement à des expériences sur l'assimilation par la lumière électrique.

Observation du 16 *novembre* 1914.

T. I.	H.	B.	OBSERVATIONS
17°	10 20	200 D	Temps couvert , le flacon II donne 50 B par minute.
	10 30	130	Temps couvert.
	10 36	50	Temps couvert ; le flacon II ne donne que 4 B par M.
	11	15	Temps sombre.
	2 01	300	Bon éclairement : ciel bleu et nuages blancs.
	2 10	30	Gros nuage.
18°	2 14	6	Pluie ; l'assimilation cesse jusqu'au soir.

Cette culture se montre d'une sensibilité extraordinaire, vis-à-vis de la radiation ; on s'en rend compte en comparant avec les résultats des cultures I et II pendant cette même journée.

Nous utilisons cette sensibilité pour faire une expérience avec une lampe Nertz neuve.

T. I.	H.	B.	OBSERVATIONS
18°	5	10	Distance de la lampe Nertz : 0^m30.
	5 20	12	Distance : 0^m20 à partir de 5 h. 21.
	5 26	50	Excellente synthèse ; bulles petites et moyennes, partant brusquement.
19°	5 30	60	
	5 34	80	Distance 0^m10 à partir de 5 h. 36.
	5 37	76	
	5 38	84	
21°	5 40	150	Les bulles sont peut-être 3 à 8 fois plus grosses qu'à 0^m30.
	4 55	300	
	5 50	300	Un secouage en fait partir plus d'un millier !

En résumé, à la distance de 0 m. 10 d'une lampe Nertz neuve, la photosynthèse est extraordinairement active avec cette culture ; son intensité varie pour une distance de 0 m. 10 à 0 m. 30 dans une proportion qui doit dépasser, étant donnée la différence de grosseur des bulles, la proportion de 1 à 100.

Observation du 17 *novembre* 1914.

Le flacon a passé la nuit à une distance de 0 m. 30 de la lampe Nertz ; aucune bulle ce matin, alors qu'hier soir, à cette même distance, on en comptait 10 à 12 ; à 8 h. 25, la culture est rapprochée à 0 m. 20.

T. I.	H.	B.	OBSERVATIONS
18°	8 25	0	Distance 0m20 ; lampe Nertz.
	8 30	10	
	8 36	16	
	8 37	20	
	8 45	33	
	8 47	42	
	8 53	23	
20°	8 55	26	Lampe Osram à 9 h.; distance 0m,20 après secouage.
	9 05	0	
	9 08	6	
	9 10	60	
	9 15	70	
	9 20	75	
	9 24	74	Lampe Osram à 9 h. 25; distance 0m30 · après secouage.
	9 45	4	
19°6	9 50	3	La photosynthèse tend à devenir nulle.
	10	1	Remis à distance de 0m20 après secouage.
	10 12	9	
	10 15	10	
	10 20	9	
	10 24	9	Remis à 0m10 à 10 h. 25 après secouage.

T. I.	H.	B.	OBSERVATIONS
20°5	10 28	0	
	10 32	70	Petites bulles.
	10 35	200	Excellente synthèse.
	10 40	200	Moyenne grosseur. Remis à 0m15 de distance après secouage.
	10 44	0	
	10 50	20	
20°5	10 57	24	
	11 05	36	
	11 07	33	La culture est placée à 0m30 jusqu'à 2 h.; 0 bulle.
	2 50	0	De 2 h. à 2 h. 35, la lampe Osram est
20°	2 35	0	remplacée par la lampe Tantale et
	2 50		celle-ci à son tour fait place à une lampe Meta. *A cette distance de* 0m30, photosynthèse nulle pour les trois lampes.
	2 50	0	Lampe Meta 50 B, *distance* 0m15 à 2 h. 50.
	3	0	
20°	3 06	17	
	3 15	26	
	3 25	20	Lampe Osram 50 B, sans secouage préalable ; distance 0m15.
	3 29	16	
	3 33	21	
	3 40	16	
	3 45	20	Lampe Tantale 50 B, sans secouage : distance 0m15.
	3 48	7	
	3 55	3	
	3 48	14	
	4 10	6	
21°	4 15	8	Lampe Meta, sans secouage ; distance 0m15.
	4 17	3	L'intensité lumineuse est en décroissance, sans doute à cause de l'allumage en ville.
	4 22	4	De 4 h. 30 à 4 h. 55, le nombre des bulles par minute s'est maintenu régulièrement au voisinage de 10.
	4 27	13	
	4 55	8	Lampe Osram ; distance 0m15.
	5 03	7	De 5 h. 05 à 5 h. 15, les dégagements successifs ont été 7, 10, 8, 17, 10, 11 5, 7, 6.
	5 15	6	

Nota. — La distance a été mesurée, à partir de l'extrémité antérieure des filaments brillants, jusqu'au flacon.

Conclusions. — Qu'il s'agisse de la lampe Nertz, ou de lampes électriques de 50 B., la photosynthèse tend à devenir nulle à 0 m. 30 ; elle est active à 0 m. 20 dans la matinée, alors qu'elle se ralentit le soir pour une distance moindre 0 m. 15 ; l'assimilation semble aussi énergique à une distance de 0 m. 10, qu'en bonne lumière solaire ; il n'existe pas de différence bien sensible dans l'action des trois modèles de lampes électriques utilisés.

Observation du 18 *novembre* 1914.

Le flacon est placé à 8 h. 30 à 0 m. 15 d'une lampe Osram.

T. I.	H.	B.	OBSERVATIONS
14°	8 40	0	Lampe Osram ; distance 0m15.
	8 45	15	
	9	6 D	Très petites bulles.
	9 05		Le flacon est placé au voisinage de la fenêtre à 0m05.
15°	9 30	8	Lumière du jour.
	10	11	
	10 15	13	
	2	10	Très petites bulles ; ciel bleu ; nuages blancs.
	2 15	16	
15°2	3	5	Lampe Osram ; distance 0m15.
	3 50	24	
18°	4	20	Id. ; distance 0m28.
	4 35	6	
	4 40	8	
	5 15	6	

Conclusion. — Le dégagement avec la lampe Osram a eu lieu régulièrement à 0 m. 28 et s'est montré presque égal à celui qui a été produit par la lumière du jour vers 2 heures.

Observation du 20 *novembre* 1914.

T. I.	H.	B.	OBSERVATIONS
12°	8 30		Lumière du jour ; bulles de secouage.
	8 55	2 D	
	9	2	Temps clair, ciel bleu ; la température extérieure est au voisinage de 0.
	9 15	5	
	9 35	4	
12°	11	1	
13°	2	0	Lampe Osram ; distance 0m20.
15°5	3 15	7	
17°	4	4	
17°5	4 30	10	

Conclusion. — Nous croyons constater que la sensibilité de la culture a beaucoup diminué ; l'assimilation aurait dû être meilleure ce matin à la lumière du jour ; deux causes principales ont pu intervenir : d'une part, l'influence d'une radiation électrique prolongée ; d'autre part les changements qui se produisent dans le milieu nutritif.

Le 21 novembre, ciel bleu, soleil, absence de nuages ; à 8 h. 30, température de 1° à l'extérieur.

Dans ces conditions, la culture conservée à l'intérieur, au voisinage de la fenêtre, n'a montré dans la journée que quelques rares bulles de secouage, ce qui vient à l'appui des conclusions d'hier.

Observation du 23 *novembre* 1914.

La température est de — 3° à l'extérieur ; le flacon est placé à l'intérieur à 0 m. 05 de la fenêtre.

T. I.	H.	B.	OBSERVATIONS
10°5	8 45	0	Temps clair, un peu brumeux.
11°	9 35		Quelques bulles de dégagement.
	9 40		Le flacon est placé à l'extérieur.
	10 10	0	
1°	11	0	La température est descendue à 1° ; absence de bulles malgré le bon éclairement. Le flacon est replacé à l'intérieur.
	2		Quelques bulles de secouage.
11°	3	6 D	Ciel bleu ; au dehors la température est de 1°2.
	3 30	3	Le dégagement est sur le point de cesser ; forte brume à l'horizon ; ciel bleu ; absence de nuages.

Nous essayons alors l'action du gaz d'éclairage avec un bec Auer, à partir de 4 h. 50.

T. I.	H.	B.	OBSERVATIONS
12°	4 50	0	Distance 0m20.
	5	0	
	5 10	20	Petites bulles de même grosseur s'enlevant avec colonnes d'algues.
14°	5 15	19	
	5 16		Distance 0m30.
	5 20	18	
	5 25	24	
	5 26		Distance 0m40.
	5 29	10	
14°	5 31	14	
	5 34	9	
	5 41	6	
	5 44	7	Trois minutes suecessives donnent 6, 7, 6
	5 45		Distance 0m20.
	5 50	1	Trois minutes successives : 1, 2, 3,
	5 57	9	
	6	10	
14°5	6 03	14	
	6 05	12	

En résumé, la photosynthèse a été faible à la lumière ordinaire pendant cette journée, par ciel bleu, soit à 11°, soit à 1° ; au contraire, elle s'est montrée active à la tempé-

rature de 14°, avec un bec Auer, comme source d'éclairage ; à 0 m. 40, l'assimilation était notable et la distance de la source a une importance plus faible que pour les lampes électriques.

La plus grande énergie du bec Auer est due sans aucun doute à sa plus grande richesse en rayons rouges et orangés, alors que l'électricité fournit davantage de rayons violets, peu actifs dans la photosynthèse.

Observation du 24 novembre 1914.

La température extérieure est au-dessous de 0 ; flacon à 0 m. 05 de la fenêtre.

T. I.	H.	B.	OBSERVATIONS
9°	9	0	Temps brumeux.
10°5	9 40	6 S	
11°	10	2 D	Apparition des bulles de dégagement.
	3	1 D	
			Arc électrique à la distance de 0m60.
16°5	3 20	10 D	Assez bonne assimilation.

Observation du 25 novembre 1914.

T. I.	H.	B.	OBSERVATIONS
10°	8 30	0	
	9 15	20 S	Temps couvert.
11°2	9 25	30 S	
	9 35	3 D	
	9 40	4 D	
	9 50	7 D	Id.
	10 10	3	
	10 50	1	
13°	11	2	Les nuages sont plus blancs.
	11 5	3	
15°	2	7	
	2 10	3	

Pendant cette journée, le nombre des bulles de dégagement par minute n'a pas augmenté à partir de 9 h. 50, alors que le temps a paru s'éclaircir ; au dehors, vers 9 heures, la température était de 4°.

Observation du 27 novembre 1914.

T. I.	H.	B.	OBSERVATIONS
13°	8 30	0	Temps brumeux, mais clair. Soleil caché par les maisons.
	8 50	2 S	
	9	20 S	
	9 30	15 D	
	10 35	20 D	
	11	12	

L'assimilation a été plus active que le 25 novembre.

Série IV

La culture a été empruntée au flacon II dont nous avons pris la moitié en y ajoutant du liquide calcique Errera plus, carbonate de potassium, le tout très dilué.

Observation du 19 novembre 1914

Action de la lampe Osram. — A la distance de 0 m. 18, le dégagement a lieu régulièrement ; le nombre des bulles, varie de 25 à 28 par minute de 3 h. 40 à 4 heures.

A la distance de 0 m. 38, de 4 h. 20 à 5 h. 15, tout dégagement cesse, après disparition par secouage des bulles de fond.

Observation du 20 novembre 1914.

La culture est au voisinage de la fenêtre, à l'intérieur du laboratoire, au début de l'expérience.

T. I.	H.	B.	OBSERVATIONS
12°	8 30	0	
11°	9	0	
	9 15		Apparition des premières bulles.
11°	9 20	18 D	La culture à 9 h. 21 est placée à l'extérieur.
9°	9 25	8	
8°	9 30	4	
	9 35	3	
6°	9 40	0	Quelques bulles de fond.
1°	10	0	
0°5	11	0	Ciel bleu clair.
2°	2 40	5 D	Petits paquets d'algues s'enlèvent avec les bulles.
	4	0	

En résumé, le tableau permet de suivre la diminution du nombre des bulles de dégagement et leur disparition avec l'abaissement rapide de la température ; toutefois, on constate une assimilation à 2 h. 40, à 2°.

Pendant les jours suivants, le liquide de la culture passe plus ou moins complètement à l'état de glace ; dans l'après-midi du mardi 24 novembre, le dégel se produit ; le jeudi 26 novembre, 2 ou 3 petites bulles de secouage apparaissent à 9 h. 35 ; le lendemain, avec une température de 5°5, la culture ne montre encore aucune trace de photosynthèse à 9 heures.

Le 27 novembre au soir, nous ajoutons à cette culture dans laquelle l'assimilation est devenue défectueuse, un mélange de liquide Errera et de liquide Grintzesco ; demain, la photosynthèse y débutera à 8 h. 45 malgré un temps très couvert.

Observation du 28 novembre 1914.

Observations avec l'arc électrique et la lumière ordinaire.

T. I.	H	B	OBSERVATIONS
6°	8 45	10 S	Bulles de secouage.
6°	9	30 S	J'essaie alors l'arc électrique à la distance de 1m50, une bulle de fond ; je place à la distance de 1m20.
10	9 15		
12°	9 50	6 S	
	10	10 S	En 3 minutes, 3 bulles de dégagement.
	10 10	40 S	Je place à la distance de 1m50.
16°	10 20	0	La culture est placée à la fenêtre à 10 h.22.
16°	10 30	200 D	Très petites bulles de dégagement.
15°	10 32	200	Je replace devant l'arc électrique ; distance 1m50.
	10 45	80 S	
16°	10 54	4 S	La photosynthèse est insignifiante.
	10 55		Arc électrique ; distance 1 m.
	11 07	50 D	Petites bulles de dégagement ; Synthèse active.
	11 15	30 D	
	11 16	32	

En résumé, la lumière de l'arc électrique, sur une culture très sensible n'a donné à 1 m. 50 qu'un résultat insignifiant ; à 1 m. 20, l'assimilation est bien inférieure vers 12 et 13°, à celle qu'on observe au dehors sur des cultures à 6 et 7° par *temps très sombre* ; à la distance de 1 mètre de l'arc, la photosynthèse commençait à devenir active ; elle était cependant encore de quatre à cinq fois plus faible qu'à la lumière de la fenêtre vers 10 heures.

Nota. — Les algues formant un dépôt sur le fond de la culture, le flacon était incliné de 30° environ, de façon à recevoir la radiation.

Observation du 30 *décembre* 1914.

La culture est placée à l'extérieur.

T. I.	H.	B.	OBSERVATIONS
0°	8 30	2 S	
0°	8 45	6 S	
	9 15	20 S	
1°	9 45	12 D	Les bulles de dégagement par minute ont succédé aux bulles de secouage.
3°	4 05	10 D	La photosynthèse a été nette aujourd'hui malgré la basse température et le temps couvert.

L'*Elodea* a cessé son dégagement d'O à 3 h. 45 exactement.

Observation du 31 *décembre* 1914.

T. I.	H.	B.	OBSERVATIONS
4°	8 40	2 S	Temps sombre, brumeux.
	8 50	3 S	
	8 55	20 S	
	9 10	20 S	Id.
	11	D	Quelques bulles de dégagement.

L'assimilation est restée faible, à cause du temps sombre.

Observation du 2 *janvier* 1915.

T. I.	H.	B.	OBSERVATIONS
5°	8 30	20 S	
	8 45	55 D	
6°	10	80 D	Nuages blancs et ciel bleu.
7°5	2 45	50 D	
7°	3 45		Le dégagement continue.
	4		Quelques rares bulles de dégagement.
7°	4 20		Dernières bulles de secouage ; assimilation cesse.

L'assimilation, pendant cette journée, s'est faite à la température de 6 à 7° dans d'excellentes conditions.

Observation du 4 janvier 1915.

T. I.	H.	B.	OBSERVATIONS
2°2	8 20	0	Ciel bleu ; nuages blancs.
	8 30	6 S	Bulles petites.
2°2	8 40	6 S	Bulles plus grosses.
	9 35		
6°5	2 30	2 D	Temps couvert.

La culture est devenue moins sensible ; d'autres cultures, placées dans les mêmes conditions, ont assimilé bien davantage.

Observation du 5 janvier 1915.

T. I.	H.	B.	OBSERVATIONS
7°	8 30	0	Temps couvert.
	9	5 S	
7°5	10	15 S	
	10 30	5 D	
9°	2 30	13 D	
	3 30		Le temps est sombre et le dégagement a cessé.

L'assimilation est meilleure qu'hier.

Observation du 6 janvier 1915.

T. I.	H.	B.	OBSERVATIONS
7°5	8 30	0	Temps assez clair.
	8 35	2 S	
	8 50	15 S	
	9	3	
11°5	3 30	10 S	
	3 50		L'assimilation a cessé.

Les observations ont été continuées sur cette culture jusqu'au 16 janvier ; elles ne présentent aucun intérêt particulier ; notons seulement que par temps clair, le 11, la culture présentait déjà à 8 h. 25, avec température de 7°, une trentaine de bulles de secouage ; qu'il en a été de même le 12, à la même heure par température de 4°.

En résumé, cette culture IV a fourni de bonnes observations sur l'action de l'arc électrique, sur la photosynthèse à des distances variables ; elle a montré également l'existence d'une bonne assimilation aux basses températures et même au voisinage de 0 ; elle a donné aussi des indications sur l'heure approximative où l'assimilation débute en hiver et cesse ; les premières bulles de secouage apparaissent vers 8 h. 30, tantôt un peu plus tôt, tantôt un peu plus tard, selon l'état du ciel ; la cessation est sujette, semble-t-il, à varier davantage ; sauf exception, l'assimilation ne s'observe plus après 4 heures et elle cesse parfois bien avant.

Série V.

Cette culture donnant une bonne assimilation à la lumière du jour, est employée pour une expérience avec l'arc électrique.

Observation du 25 *novembre* 1914.

Le flacon Erlenmeyer qui contient la culture est soumis à un secouage énergique et placé pendant une demi-heure à l'obscurité avant l'expérience.

A 1 mètre de l'arc, la culture donne de 4 heures à 4 h. 20, 15 bulles de secouage ; reportée à 4 h. 21, par température de 12° à 1 m. 50, on trouve à 4 h. 30, 6 bulles de secouage ; à 4 h. 45, 4 bulles ; à 5 heures, 2 bulles.

Le lendemain, la culture est d'abord placée à 2 mètres;

de 9 h. 10 à 9 h. 35, aucune bulle ; le résultat n'est pas meilleur à la distance de 1 m. 50.

Cette même culture, portée au voisinage de la fenêtre, vers 11 heures, par temps très couvert, fournit nombreusss bulles de secouage, indiquant une bonne synthèse.

En résumé, à la distance de 1 m. 50, la lumière de l'arc n'a montré qu'une assimilation insignifiante ou nulle ; à 1 mètre, la synthèse se produit.

Outre ces nombreuses numérations effectuées à partir de novembre 1914, sur les séries I à V, nous en avons obtenu quelques autres en septembre de la même année en employant successivement une culture de *Chlorella* et une culture de *Spirogyra*.

1° Culture de Chlorella vulgaris.

Observation du 9 septembre 1914.

Le dégagement d'oxygène dans cette culture de *Chlorella* était hier presque insignifiant avec une température de 33° et même davantage. Aujourd'hui, le flacon est placé sur le rebord extérieur de la fenêtre située au midi ; à 10 heures, la température de l'eau du flacon était de 28°, à 11 heures, de 29° ; elle a donc peu varié tandis que la température du second thermomètre placé à côté du flacon, subissait les changements indiqués par le tableau ci-dessous.

T.	H.	B.	OBSERVATIONS
28°	10 30	30 S	Soleil caché par des nuages.
27°2	10 35	26 S	Id.
	10 36		Soleil.
28°5	10 37	26 D	Soleil disparu.
31°	10 39		Soleil.
34°	10 40	33	Soleil disparu.
32°	10 41	50	S'est montré pendant quelques secondes.
30°	10 44		Soleil.
31°	10 45		Soleil disparu.
31°	10 46	45	Id.
29°	10 47		Id.
24°	10 50	25	Soleil caché par nuage noir épais.

L'assimilation a été assez régulière ce matin avec une température de 28 à 29° et un soleil obscurci à intervalles courts par des nuages.

De 1 à 2 heures, la pluie est tombée et la température extérieure est descendue à 20° ; la culture a été rentrée dans la chambre à 1 heure.

A 2 heures, le flacon est replacé sur le rebord extérieur de la fenêtre sud ; l'eau de la culture a une température de 22° ; le temps est couvert.

T.	H.	B.	OBSERVATIONS
22°	2 10	70	Soleil couvert par les nuages. Forte luminosité, cependant.
	2 11	70	Id. Légère pluie.
	2 15	80	
	2 21	50	
21°	2 30	11	Temps couvert, assez lumineux, gouttes de pluie.
21°	2 40	14	Temps couvert, avec rares éclaircies.

A 4 h. 20, la pluie tombait depuis trente minutes ; la température extérieure est descendue à 18° et l'assimilation a cessé ; à 5 h. 30, un secouage énergique n'a fait dégager que 6 bulles au total.

En résumé, il semble résulter de cette observation qu'exceptionnellement, il peut exister, malgré un temps couvert et la pluie, une luminosité générale assez forte pour produire, en septembre, une bonne assimilation.

Observation du 10 *septembre* 1914.

Le temps est couvert, même exposition sud, température de l'eau 18° ; de 7 heures à 7 h. 30, il ne se produit que 3 bulles de secouage ; l'assimilation vient donc de commencer ; à 9 heures, le dégagement atteint 1 bulle par minute par temps couvert. Dans le tableau ci-dessous, on a

noté à la fois la température extérieure E et la température de l'eau I.

T. E.	T. I.	H.	B.	OBSERVATIONS
21°	21°	9 05	4 D	Soleil pendant deux minutes.
24°	22°	9 50	3 S	Temps couvert.
27°		10 10		Soleil intermittent depuis 10 heures.
28°	22°5	10 15	11 D	
30°		10 16		
34°		10 18	15	
32°	24°	10 20	10	
		10 30	12	Soleil par intervalles.
34°	25°	10 35	11	
27°	25°	10 40	13	Temps devient couvert.
25°		12 45	4	Assimilation très ralentie.
	25°	1	20	Temps couvert, mais bon éclairement.
24°	25°	1 15	24	Id.

L'assimilation a été beaucoup moins bonne dans la matinée que celle d'hier aux mêmes heures.

Observation du 12 *septembre* 1914.

La température extérieure est de 14° à 6 h. 20 ; celle de l'eau de la culture, restée au dehors sur le rebord de la fenêtre, est de 11°2 ; à 7 h. 30, on constate 3 bulles de secouage par température extérieure de 14° ; à 10 h. 30, par température extérieure de 27° et température I de 25°, on obtient 10 bulles de secouage.

T. E.	T. I.	H.	B.	OBSERVATIONS
28°	25°	10 35	23	Soleil.
37°		10 40	22	Id.
37°	26°6	11	32	Id.

L'après-midi le temps était couvert et l'assimilatior presque nulle.

Observation du 14 septembre 1914.

L'assimilation a été très faible, presque nulle, par temps couvert.

A 11 heures, 2 ou 3 bulles de secouage, T. E. et T. I. de 18°.

A 11 h. 15, 5 bulles de secouage, T. I., 22°.

A 2 h. 22, quelques bulles montent par intervalles.

A 3 heures par temp. E et temp. I. de 21°, 4 bulles de secouage.

Le 16 septembre, avec un soleil chaud, l'assimilation a été bonne, pendant toute la journée dans cette culture ; nous avons profité des conditions favorables de l'éclairement pour suivre les variations de la photosynthèse avec une algue filamenteuse, le *Spirogyra magna.*

2° Culture de Spirogyra magna.

Le *Spirogyra magna* est très sensible à la radiation ; il assimile a une lumière de très faible intensité, puisqu'il dégage parfois encore des bulles d'oxygène à 6 h. 30 du soir, au milieu du mois de septembre.

Cette sensibilite spéciale est peut être liée étroitement à l'habitat et à la station ; certaines algues vertes se contentent d'une lumière diffuse très atténuée. Ainsi, nous connaissons une mare dans laquelle les *Ulothrix* se développent très vigoureusement ; or cette mare est située en contrebas et protégée par un épais rideau de feuillage; à toute heure de la journée, l'algue se trouve à l'ombre.

Nous ne citons cet exemple que pour émettre l'idée qu'une algue commencera à dégager de l'oxygène à des éclairements d'autant plus faibles qu'elle a été recueillie à des endroits plus ombragés ; il doit se produire, pour la même espèce d'algues, une adaption à la station.

Le *Spirogyra magna* qui a servi aux observations suivantes a été recueilli dans une mare complètement ombragée

et recevant directement l'eau d'une source ; la température n'y est par conséquent jamais très élevée.

La récolte a eu lieu le matin du 16 septembre 1914 : l'algue est placée en filaments abondants, dans un flacon de deux litres à l'*exposition Sud* ; pour favoriser la numération des bulles au niveau du goulot, le flacon est complètement rempli d'eau.

Observation du 16 *septembre* 1914.

La température extérieure, a 6 h. 30 du matin, est de 12° ; les algues récoltées sont introduites à 9 h. 35 dans le grand flacon de deux litres, et nous notons à partir de 9 h. 40 la température extérieure E et la température intérieure I du flacon, l'heure et le nombre approximatif de bulles dégagées par minute.

T. E.	T. I.	H.	B.	OBSERVATIONS
24°	15°	9 40		Le temps se maintient clair avec nuages blancs et le soleil se montre par intermittences ; le dégagement d'oxygène a été particulièrement abondant de 10 h. 30 à 12 h. 25 ; il a paru de 12 h. 50 à 1 h. 15, à la température de 34° se ralentir pour devenir plus abondante ensuite de 1 h. 30 à 2 h. 20.
24°	16°	9 50	40	
		10		
32°	21°	10 30		
		10 35	100	
30°		10 40		
32°	25°	10 55	150	
40°		11 40		
		12 25		
42°	32°	12 30	600	Assimilation active.
	34°	12 50		
	34°	1 15		
32°	33°5	1 30	600	
	33°	1 40	200	Nuage.
	32°	1 50		Id.
	32°	2 10		Soleil.
	32°4	2 15		
35°	32°6	2 20	600	Soleil, assimilation active.
	25°	5 50		Lumière diffuse. Assimilation notable.
	23°	6		

Contrairement à ce qui existe pour les Chlorelles, le maximum de bulles observées ou le minimum ne peut être relié de façon précise à l'apparition du soleil et à sa disparition derrière un nuage. Chez les Chlorelles, la courbe formée à l'aide des bulles ne sera en retard que de deux ou trois minutes sur celle indiquant les différences d'éclairement successifs ; dans le *Spirogyra magna*, l'exosmose du gaz est loin d'être aussi rapide, semble-t-il, et les bulles restent engagées plus ou moins longtemps entre les filaments avant de se détacher.

Observation du jeudi 17 *septembre* 1914.

Le flacon d'hier contenant le *Spirogyra* a passé la nuit dans ma chambre ; sa température à 6 h. 30 est de 15° ; il ne présente aucune bulle. La température extérieure est de 13°. Le flacon est placé sur le rebord de la fenêtre, exposition S pour voir à quelle heure commencera l'assimilation.

T. E.	T. I.	H.	B.	OBSERVATIONS
		6 30		
13°5	15°	7 30	7	Ciel complètement couvert.
13°5	14°5	8 40	25	Il pleut depuis une heure.
		9	31	Pluie.
13°5	14°	9 30	35	Id.
16°	14°5	10	48	Ciel plus clair.
15°	15°2	10 30	70	
15°	15°	11	72	
16°	16°	12	88	Pluie.
16°	16°	1	200	Pluie ; temps couvert.
16°	16°	1 40	120	Id.
16°	16°	2	120	Id.
16°8	16°8	2 30	100	Id.
17°	17°	3	200	Pluie légère ; ciel plus lumineux.
17°	17°	5	130	Temps clair ; lumière diffuse à cause de l'exposition S ; soleil va continuer de briller à l'ouest jusqu'à 5 h. 30.
		5 30	200	
		6	100	
14°	15°	6 10	50	Ciel bleu. Secouage énergique pour faire disparaître les bulles adhérentes.
		6 20	47	
		6 25	40	Soleil vient de disparaître.
		6 30	30	Ciel bleu.
	15°	6 35	20	Secouage énergique des bulles adhérentes.
		6 40	15	
		6 42	0	

L'observation montre que par temps couvert et pluie, l'assimilation du *Spirogyra magna* a lieu normalement ; elle augmente lentement et progressivement de 7 h. 30 du matin jusqu'à 1 heure.

Le ciel s'étant éclairci vers 3 heures, nous assistons jusqu'à 5 h. 30 à une assimilation active ; c'est le moment où le soleil disparaît à l'horizon.

A partir de 6 heures, le dégagement d'oxygène diminue très régulièrement jusqu'à 6 h. 40 pour cesser presque aussitôt ; un secouage énergique effectué avant chaque observation à partir de 6 heures, assure l'exactitude des numérations.

Malgré ces précautions, il est probable que la photosynthèse n'a pas continué à se produire au delà de 6 h. 40, bien que le nombre des bulles dégagées à ce moment fût encore de 15 par minute ; on ne voyait même plus à compter les bulles ; l'exosmose de l'oxygène qui, avec les Chlorelles et aussi avec l'*Elodea Canadensis*, suit presque instantanément la cessation de la fonction, doit ici, pour le *Spirogyra magna*, persister au moins quelques minutes.

Observation du 18 *septembre* 1914.

Le flacon est placé comme précédemment sur le rebord interne de la fenêtre située en plein midi.

T. E.	T. I.	H.	B.	OBSERVATIONS
	10°	6 30	1	Assimilation insignifiante.
10°	10°	6 40	20	Ciel clair.
10°	10°	6 50	15	
		7	17	Secouage.
11°5	10°5	7 10	21	Secouage fait partir 200 ou 300 bulles.
	11°	7 30	20	Ciel clair, nuages blancs.
		7 45	25	
13°	11°5	8	31	Ciel plus clair.
15°	12°8	8 30	50	Soleil effleure le flacon.
	13°	8 40	68	Soleil intermittent.
18°	15°	9	66	
		9 15	90	Nuages blancs. Soleil intermittent.
	18°	9 30	110	Id.
	18°	9 45	120	Id.
28°	21°	10	200	
	22°	10 30	350	
	22°	10 45	500	
		11	400	Nuage.
	19°	5 45	70	

La présence de nuages blancs et le soleil intermittent ont favorisé l'assimilation qui, à partir de 6 h. 30 du matin, a subi une courbe ascendante assez régulière jusqu'à 11 h.

Observation du 19 *septembre* 1914.

La journée a été très chaude et le soleil n'a été que très rarement voilé par des nuages.

T. E.	T. I.	H.	B.	OBSERVATIONS
		8	0	
	11°5	9		
	22°	9 30		Soleil.
34°	24°	10	80	
		10 10	80	
36°5	36°	12 30	200	Soleil.
	36°5	12 45	200	Deux minutes après secouage du flacon.
		1	150	
	36°	1 26	200	Soleil.
		1 45	140	
	34°8	2 20	120	
	34°5	3 15	60	Soleil.
	30°	4 15	30	

L'algue a supporté une température de 36°5 entre midi et 1 heure sans cesser d'assimiler jusqu'au soir ; la culture avait cependant souffert, car le lendemain dimanche, elle n'a fourni aucune bulle malgré des conditions favorables de température et d'éclairement.

La culture ne s'est complètement décolorée que le jeudi suivant dans l'après-midi, après avoir fourni le lundi, le mardi et le mercredi, un certain nombre de bulles d'oxygène, ainsi qu'il résulte des indications suivantes.

Observation du lundi 21 *septembre* 1914.

Aucune assimilation dans la matinée ; à 2 heures, 40 bulles obtenues par secouage ; à 2 h. 10, 10 bulles de secouage ; à 2 h. 40, 40 bulles de secouage par température du flacon

de 26° ; à 4 heures, 50 bulles de secouage. Il ne s'est produit aucun dégagement régulier; assimilation par conséquent très faible.

Observation du mardi 22 septembre 1914.

Jusqu'à 10 h. 45, avec température de 26°, il ne s'est produit que 5 bulles de secouage ; à 11 heures, 20 bulles ; à midi, par température de 30°, on observe de 150 à 200 grosses bulles de secouage ; à 1 h. 30, 60 à 80 ; à 2 h. 15, par température intérieure de 30°, 100 bulles et à 6 heures, 25 grosses bulles. L'assimilation a été meilleure dans son ensemble que celle d'hier.

Le lendemain 23, une centaine de bulles ont été observées dans cette culture.

Le jeudi 24 septembre, à midi, une centaine de bulles sont formées ; la température de la culture atteint 38°, température qui a certainement été dépassée, de sorte que le lendemain vendredi tous les filaments étaient décolorés et morts.

Il ressort de cette expérience sur le *Spirogyra magna*, prolongée pendant plusieurs jours, que cette algue fournit à la lumière un abondant dégagement de bulles qui est en relation avec la température et le degré d'éclairement ; mais, tandis que les cultures de Chlorelles indiquent, par les variations étendues du dégagement des bulles et cela presque minute par minute, l'état du ciel et l'activité de la radiation en photosynthèse, il est loin d'en être de même avec les *Spirogyra* dont les réactions, quoique très vives, sont masquées ou retardées par différentes causes, telles que l'adhérence des bulles, et sans doute aussi une exosmose plus lente de l'oxygène à travers les membranes ; on sait que, d'ailleurs, la membrane des Conjuguées est recouverte d'un manchon plus ou moins épais de substance muqueuse.

On préférera donc, dans l'étude de la photosynthèse et

des phénomènes qui s'y rattachent, les *Chlorella* et aussi les *Scenedesmus* aux algues filamenteuses, telles que les *Spirogyra* ; les premières constituent un excellent appareil enregistreur des différences d'activité de la radiation ; l'avantage des *Spirogyra* est d'assimiler à une très faible intensité lumineuse, comme celle du milieu de septembre à 6 h. 30 du matin.

La culture de *Spirogyra magna*, dont il vient d'être question se trouvait dans un flacon de deux litres ; on pourrait supposer que la température de l'eau contenue dans un flacon de ce genre est sensiblement égale partout. Or, au moment où le flacon reçoit les rayons du soleil, nous avons constaté, le mardi 22 septembre vers 11 heures, une température de 27° à la partie postérieure du flacon alors qu'au milieu, elle n'était que de 26°.

Cet écart d'un degré n'a rien qui puisse nous surprendre, puisque l'eau joue le rôle de lentille et amène une concentration en forme de rectangle lumineux des rayons sur la face postérieure du flacon, ainsi qu'il a été expliqué lorsqu'il s'est agi des phénomènes de croissance.

Mais ici, la différence de température qui se manifeste de la sorte nous a fourni l'explication d'un *phénomène de décoloration des Spirogyres du flacon, observé à partir du samedi* 19 *septembre.*

La température intérieure notée avait été de 36°5, au centre du flacon ; or, nous remarquons que les filaments superficiels situés au voisinage de la paroi postérieure sont décolorés et morts, dans la limite du rectangle lumineux ; il en était de même pour une tranche médiane verticale située en avant dans laquelle les filaments avaient reçu perpendiculairement le soleil de midi ; partout ailleurs et particulièrement sur les côtés, les filaments avaient conservé leur chlorophylle.

En science naturelle, on cherche souvent très loin une explication toute simple qu'on a sous la main.

Pour compléter cette étude sur les variations de l'assimilation chlorophyllienne aux différentes époques de l'année, nous avons effectué quelques numérations en mars 1926; les cultures ont été empruntées aux *cultures de Scenedesmus* que nous maintenons à l'obscurité complète depuis 1913. Cette algue, replacée à la lumière dans du liquide de Knop, dégage rapidement de l'oxygène; ce milieu recevait de temps à autre, grâce à un tube recourbé, du CO^2 provenant de la fermentation d'une Levure.

Nous avons choisi, parmi ces cultures, celle qui semblait tout à la fois la plus vigoureuse et la plus sensible aux différences d'éclairement ; elle était contenue dans un flacon Erlenmeyer, placé, sauf indication contraire, près d'une fenêtre située à l'Ouest : *l'heure indiquée est celle du soleil.*

Observation du 16 *mars* 1926.

L'observation débute à 5 h. 30 avec 20 bulles par minute ; le soleil vient de disparaître derrière les murs ; il éclaire au couchant des nuages rougeâtres, disposés sur fond bleu ; la température de la culture se maintiendra aux environs de 18°.

H.	B.	H.	B.
5 32	20	5 54	10
5 37	21	5 55	4
5 39	12	5 57	3
5 40	4	5 58	1
5 42	14	5 59	1
5 44	2	6 00	1
5 46	10	6 02	1
5 48	7	6 04	2
5 50	10	6 05	0
5 53	0		

De 6 h. 05 à 6 h. 10, aucune bulle ne se dégage ; quelques colonies qui étaient montées en surface commencent à redescendre, ce qui montre bien la fin de l'assimilation perceptible.

En plaçant le flacon à 0 m. 30 d'une lampe électrique, l'assimilation reprend ; les ballonnets remontent ; les bulles formées sont assez grosses ; on reste deux ou trois minutes sans en voir et il en part 4 ou 5 à la fois. L'assimilation, malgré une lumière qui semble assez intense, reste faible, car certains ballonnets restent en suspension au milieu du liquide.

Les chiffres de numération notés ci-dessus indiquent des variations d'intensité lumineuse que l'œil était dans l'impossibilité d'apprécier.

Observation du 17 *mars* 1926.

Le flacon est placé à 0 m. 12 de la fenêtre Ouest ; le ciel est sans nuage avec une légère brume ; la température s'élève régulièrement dans la culture de 17° à 17°5, à partir de 9 h. 50 jusqu'à 10 h. 03.

H.	B.	H.	B.
9 50	5	9 56	6
9 51	6	10 01	2
9 52	3	10 01	7
9 54	7	10 02	2
9 55	6	10 03	6

La culture, à ce moment, est portée à l'exposition Est, à 0 m. 12 de la fenêtre ; le ciel est sans nuage, un peu brumeux ; les rayons du soleil éclairent obliquement le flacon ; le thermomètre monte de 10 h. 09 jusqu'à 10 h. 30 de 20 à 26°.

H.	B.	H.	B.
10 09	10	10 20	140
10 10	40	10 22	130
10 12	100	10 25	100
10 14	120	10 26	90
10 15	160	10 28	100
10 17	150	10 30	90

A 10 h. 33, le flacon est reporté à la fenêtre Ouest et le dégagement cesse pour reprendre bientôt à la lumière dif-

fuse d'un ciel sans nuage ; la température I était de 22°5 à 10 h. 36 ; à 11 heures, elle était descendue à 18°.

H.	B.	H.	B.
10 36	0	10 48	13
10 38	2	10 50	8
10 39	12	10 51	10
10 40	9	10 53	12
10 41	15	10 55	18
10 43	13	10 58	9
10 45	15	11 00	6
10 46	12	11 01	15

Le régime, à cette lumière diffuse est très régulière; il conserve ce caractère tout en étant plus élevé de 2 h. 47 à 3 h., avec un ciel bleu, sans nuages et température I de 17°5.

H.	B.	H.	B.
2 47	50	2 54	40
2 48	48	2 55	44
2 50	32	2 57	43
2 51	40	2 58	41
2 53	43	3 00	55

A ce moment, un accident survenu au flacon empêche de continuer.

Observation du 18 *mars* 1926.

Nous choisissons une culture semblable à celle d'hier ; le ciel est clair avec beaux nuages blancs ; distance du flacon de la fenêtre Ouest 0 m. 12 ; la température de la culture oscillera aux environs de 18°.

H.	B.	H.	B.
3 30	400	4 14	160
3 35	400	4 15	130
4 40	200	4 20	140
4 00	300	4 21	160
4 03	400	4 22	140
4 04	300	4 23	160
4 05	350	4 24	200
4 10	300	4 25	200
4 11	150	5 12	60
4 12	200	5 13	60
4 13	170	5 22	45

L'assimilation est rarement aussi forte et aussi régulière ; la diminution du régime entre 3 h. 40 et 4 heures est due au passage d'un nuage sur le disque du soleil ; il en est de même à partir de 4 h. 10 jusqu'à 4 h. 22 ; enfin, à partir de 5 h. 12, le soleil commence à disparaître lentement derrière les murs ; à 5 h. 22, on ne le voit plus, mais l'horizon est rougeâtre et favorable à une bonne assimilation ; celle-ci, aux mêmes heures, a été beaucoup plus intense que dans la journée d'hier et elle a dû se prolonger encore assez longtemps.

Observation du 19 *mars* 1926.

Même culture et même exposition Ouest que la veille ; ciel sans nuage jusqu'à 11 h. 20 ; brume.

H.	B.	H.	B.
9	0	9 30	2
9 10	1	10 05	2
9 16	1	10 06	2
9 16	1	11 19	55
9 25	2	11 20	60

La température qui était de 15° au début est passée à 22°. A 3 heures, nuages blancs et température de 23° ; le régime jusqu'à 3 h. 05 est de 400 environ par minute.

H.	B.	H.	B.
3 50	400	4 40	500
3 58	600	4 41	400
4 35	200	4 44	400
4 37	200	4 48	400
4 38	200	5 23	100
4 39	200	5 25	80

C'est vers 3 h. 58, avec un soleil très chaud et température de 24° que s'est produit, à l'exposition Ouest, le maximum d'assimilation ; à 4 h. 35, la température est de 20° et un nuage couvre le soleil ; à 5 h. 23, le thermomètre est descendu à 18° et le disque du soleil a disparu, d'où la di-

minution brusque constatée dans le dégagement des bulles

L'activité de l'assimilation constatée aujourd'hui doit être liée à la présence de nuages blancs dont l'influence sur la photosynthèse est certainement considérable.

Observation du 20 mars 1926.

Même culture que la veille ; exposition Ouest ; distance de la fenêtre, 0 m. 12 ; nuages, un peu de brume ; la température jusqu'a 10 h. 42 monte de 16° à 16°5.

H.	B.	H	B
9 05	80	9 40	90
9 15	80	9 45	140
9 20	70	9 47	110
9 25	66	9 50	70
9 35	60	10 42	200

L'assimilation, à cette lumière diffuse est bonne ; le ciel est cependant nuageux et le soleil, vers 9 h. 20, se trouve obscurci par des nuages ; vers 9 h. 40, le soleil, de l'autre côté, à l'Est, est dégagé et brille ; l'assimilation augmente ; à 9 h. 50, ciel bleu sans nuages.

Le flacon est porté quelques minutes à l'exposition Est, avec soleil et nuages blancs ; de 11 h. 12 à 11 h. 14, le nombre des bulles atteint 5 à 600 à la minute.

A l'exposition Ouest, avec beaux nuages blancs, elle est encore à 11 h. 20 de 160 à 200 bulles à la minute.

Les chiffres de l'après-midi se maintiennent très élevés, ce qui me paraît dû aux nuages blancs qui couvrent le ciel ; la température intérieure est de 18°, celle du dehors est de 11 à 12°.

H	B.	H.	B.
2	300	4 40	200
2 10	400	4 42	200
3 10	400	4 45	120
3 25	500	4 55	140
3 40	500	5 00	130
3 48	400	5 25	50
4 10	500		

La présence de nuages blancs a eu, comme hier, une action favorable sur l'assimilation.

Le surlendemain, 22 mars, la température avec radiateur fermé est de 11° à 9 h. 10 ; le ciel est clair ; à 9 h. 15, 60 bulles ; à 10 h. 30, température, 12°, 120 bulles.

Observation du 23 mars 1926.

La température au dehors est descendue à 2 et 3° ; celle du laboratoire est passée progressivement au cours de l'expérience de 12 à 17° ; le ciel est bleu clair.

H.	B.	H.	B.
8 35	30 T. 12°	9 45	65
8 45	50 14°	9 50	50
9 10	60	0 10	100
9 25	50	10 45	100
9 30	65 15°	10 48	120 T. 17°

Le régime, malgré la température plus froide du dehors, est sensiblement le même que celui du 20 mars.

L'expérience se termine ici ; elle a pu se poursuivre depuis le début dans les meilleures conditions, grâce au bon état de la culture.

Les renseignements qu'on peut tirer de ces numérations ne font que confirmer ceux qui nous ont été fournis par les cultures de Chlorelles ; la sensibilité du *Scenedesmus* est peut-être cependant légèrement inférieure et ne marque pas aussi nettement, semble-t-il, les plus faibles variations de l'intensité lumineuse ; mais ce n'est là qu'une impression qui gagnerait à être confirmée.

D'après ces quelques observations, trop peu nombreuses, il semble que l'assimilation, en mars, commence tard le matin à la lumière diffuse de l'Ouest surtout s'il existe de la brume ; ainsi, on voit que le 19 mars, le dégagement d'oxygène est encore nul à 9 heures ; par contre, le 20 mars, avec ciel nuageux, l'assimilation était déjà forte à 9 h. 05 et avait dû commencer depuis quelque temps déjà.

La photosynthèse, le soir se prolonge parfois assez tard ; le 16 mars, la culture dégage encore une ou deux bulles par minute entre 6 heures et 6 h. 04 ; c'est également vers 6 heures, que l'assimilation avait cessé dans une culture de Chlorelles, le 19 juin 1914 ; avec le *Spirogyra magna*, au milieu de septembre, on observait encore un dégagement d'oxygène vers 6 h. 40.

Il faut, d'autre part, se rappeler que la cessation du dégagement d'oxygène ne correspond pas exactement à la fin de l'assimilation ; pendant quelques minutes encore, l'oxygène se produit, mais il est repris par la respiration immédiatement.

Remarques sur l'influence du glucose dans des cultures de Scenedesmus *à l'air libre.*

On pouvait se demander comment se comporteraient des cultures identiques, *les unes dans du Knop, les autres dans du Knop additionné de glucose.*

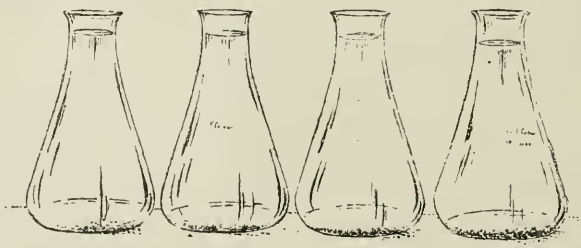

Fig. 10. — T.

L'expérience ne comportait que des cultures à l'air libre, comme dans la nature, alors que moisissures et Bactéries peuvent intervenir ; on pourra la recommencer avec fruit avec des cultures maintenues pures.

La culture qui a servi, du 16 mars au 23, à dénombrer le nombre des bulles, a été répartie, après agitation entre quatre flacons Erlenmeyer de même contenance (fig. 10. — T).

La seule différence entre ces flacons a consisté en ce que deux d'entre eux, les nos 2 et 4 ont reçu 30 centimètres cubes d'une solution de glucose à 30 % ; ces flacons avaient une contenance de 200 centimètres cubes.

Les quatre flacons ont été placés au même éclairage, exposition Ouest ; ils ont présenté entre eux des différences qu'on s'explique difficilement ; on ne peut en tirer aucune conséquence sur l'influence du glucose dans le dégagement d'oxygène ; nous donnerons cependant les chiffres obtenus, avec température de 20°.

Observation du 23 *mars* 1926.

H.	N° 1	N° 2 G	N° 3	N° 4 G
3 40	25	0	0	7
3 45	25	2	4	2
4 30	40	2	2	5
5 30	25	1	2	2
5 50	20	0	0	3
5 55	15	0	0	1
6 00	7	0	0	2
6 10	4	0	0	2

A 6 h. 15, les nuages rouges qui couvraient l'horizon ayant disparu, le dégagement cesse.

Nous continuons l'expérience, le lendemain, dans l'espoir d'obtenir de meilleurs résultats.

Observation du 24 *mars* 1926.

Le ciel est gris et couvert, peu favorable à l'assimilation. L'assimilation s'est établie d'abord dans le n° 4 à droite ; elle a débuté à 9 h. 10 où nous observons la première bulle ; à 9 h. 15 pour le n° 2 ; à 9 h. 30, il ne s'est encore produit aucun dégagement dans les deux autres ; à 9 h. 34, il apparaît 2 bulles dans le n° 3 ; 0 dans le n° 1.

Si l'on s'en tenait à cette seule constatation, on pourrait croire que la présence du glucose, favorise et hâte le début

du phénomène, mais il faudrait d'autres expériences pour vérifier le fait.

Les chiffres obtenus, au cours de cette journée, avec une température qui à partir de 16° à 9 h. 40, s'est élevée progressivement jusqu'à 22° à 4 heures.

H.	N° 1	N° 2 G	N° 3	N° 4 G
9 40	1	1	1	4
	3	0	2	3
10	1	2	3	1
10 05	3	3	1	4
10 25	2	1	4	5
10 30	3	1	3	6
10 35	5	1	1	12
1 50	2	2	6	12
2	5	6	5	6
4	5	4	5	35
5 35	7	1	1	7

L'augmentation dans le n° 4, glucosé à 4 heures, tient à ce que les rayons directs du soleil arrivent sur le flacon.

Le soleil vers 5 h. 35 a disparu a l'horizon. Il est impossible de savoir exactement, d'après ces chiffres, si la présence du glucose augmente ou diminue le dégagement d'oxygène.

Ces cultures sont abandonnées à elles-mêmes, dans la même position, jusqu'au 17 avril 1926.

Observation du 17 *avril* 1926

Les flacons 1 et 3 sans glucose ont un dépôt abondant formé par le *Scenedesmus* ; ce dépôt est d'un beau vert, il ne se produit aucun dégagement d'oxygène, même au soleil ce qui est dû évidemment à l'épuisement du milieu en CO^2 ; l'eau est restée pure.

Un examen microscopique montre que le *Scenedesmus* possède sa taille et sa structure normales, dans les cultures sans glucose ; on y rencontre à la fois des sporanges, des colonies et des cellules isolées ; le chloroplaste, très vert,

possède un pyrénoïde, mais l'amidon est absent (fig. 11, A. — T).

Les flacons 2 et 4 glucosés *ont un aspect très différent ; le dépôt est moins abondant ; il a une couleur jaune rougeâtre mélangé de plages plus vertes ; l'eau de la culture est trouble, ce qui est dû au développement de nombreuses Bactéries. Comme ces Bactéries dont il existe des amas au fond fournissent du* CO^2, *la photosynthèse continue pour l'algue.*

On note vers 2 h. 50, par temps clair, dans les deux flacons glucosés une moyenne de 50 à 60 bulles par minute et cette moyenne se maintient sensiblement les jours suivants pour les mêmes conditions d'éclairement dans l'après-midi ; le matin, les premières bulles n'apparaissent que vers 9 h. et elles sont rares.

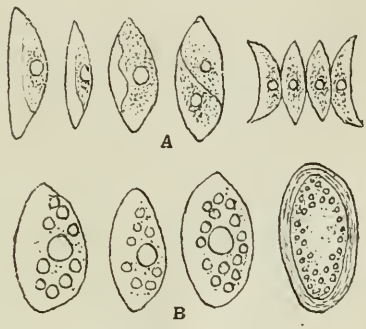

Fig. 11. — T.

Un examen microscopique montre (fig. 11, B-T) que les cellules sont deux ou trois fois plus grosses que dans les flacons 1 et 3 ; le pyrénoïde est visible, mais le chloroplaste est partiellement décoloré et renferme de l'amidon en abondance ; les cellules sont isolées, les colonies manquent et la multiplication est nulle ; on rencontre quelques *kystes ovales avec membrane épaisse et contenu jaune vert très dense.*

En résumé, *les cultures de ces flacons 2 et 4 glucosés, bien qu'elles continuent de manifester une photosynthèse active sont en voie de dégénérescence, par suite d'une surproduction d'amidon.*

Les cultures 1 et 3 sans glucose, dans lesquelles l'assimilation est ralentie, par insuffisance de CO^2, *sont cependant en pleine multiplication.*

On peut dire sans doute d'une manière générale que si le glucose peut fournir indéfiniment à l'obscurité le car-

bone nécessaire au développement, s'il peut également suppléer, aux faibles éclairements, à une photosynthèse insuffisante, il devient préjudiciable à une lumière plus forte ; l'accumulation trop grande du carbone dans les cellules arrête la multiplication et produit une dégénérescence qui entraîne finalement la mort.

Les différents états ainsi réalisés, les uns favorables, les autres défavorables au développement, expliquent sans doute, dans une certaine mesure, les résultats contradictoires fournis par les expériences de divers auteurs et les nôtres sur l'action utile ou nuisible de la lumière sur les cultures d'algues en milieux glucosés.

En résumé, l'action du glucose ne ressort pas aussi nettement de cette expérience que nous l'aurions souhaité.

Un résultat est acquis cependant qui a son intérêt : *la présence du glucose qui fournit à l'algue une première source de carbone, n'empêche nullement la photosynthèse de se produire normalement.*

On peut donc s'attendre qu'à une lumière intense, il se produira une accumulation dommageable de carbone, principalement sous forme d'amidon, dans les cultures glucosées non stériles.

Remarques sur les variations de la photosynthèse aux différentes époques de l'année.

Nous sommes arrivé au point où il devient nécessaire de dégager quelques conclusions relativement aux variations de l'assimilation chlorophyllienne aux diverses époques de l'année ; celles qui se produisent dans le courant d'une même journée ont été suffisamment indiquées par les nombreux tableaux publiés au cours de ce travail.

Dans cette étude assez nouvelle, on ne saurait actuellement que poser des jalons et les chiffres de numération de bulles fournis au cours de ce travail paraîtront sans doute à

quelques-uns fastidieux et inutiles ; l'impression est la même pour beaucoup de statistiques dont on ne saisit pas tout d'abord l'importance.

Nous n'hésitons pas à croire que des recherches de ce genre, beaucoup plus nombreuses et plus complètes, devraient être poursuivies méthodiquement en tous les pays par de nombreux laboratoires.

Il serait tout à fait intéressant de connaître de façon précise les variations diurnes et saisonnières de l'assimilation chlorophyllienne, au cours d'années successives, en France en Angleterre, en Italie, en Espagne, en Sibérie, aux Indes, etc. ; au voisinage du pôle, à l'équateur ; au sommet d'une montagne et en plaine.

On enregistre, en des endroits rapprochés, la quantité de pluie qui tombe ; il serait tout aussi naturel de chercher à connaître la quantité d'énergie solaire pouvant être utilisée par les plantes dans les conditions les plus diverses.

Evidemment, comme lorsqu'il s'agit de phénomènes d'ordre physiologique, on se heurte à de grandes difficultés ; la plus grande serait supprimée, si l'on pouvait disposer de cultures types, possédant les mêmes qualités de vigueur et de sensibilité, avec un milieu nutritif minéral de composition nettement défini.

A cet égard, quand on considère les avantages que présentent dès maintenant les cultures d'une algue inférieure, comme le *Chlorella vulgaris*, sur l'emploi de plantes aquatiques, telle que l'*Elodea Canadensis*, on ne peut manquer d'avoir espoir en la méthode que nous préconisons ; avec les plantes aquatiques supérieures, il est impossible de faire des expériences comparables et de longue durée ; avec des cultures d'algues inférieures, l'assimilation peut être suivie, minute par minute, pendant plusieurs jours, dans des conditions de précision satisfaisantes et qui pourront être encore améliorées.

Comme les cultures pures de Chlorelles sont faciles à

obtenir, on choisira pour les expériences celles qui, pour une intensité lumineuse connue, prise pour unité, dégagent le même nombre de bulles par minute.

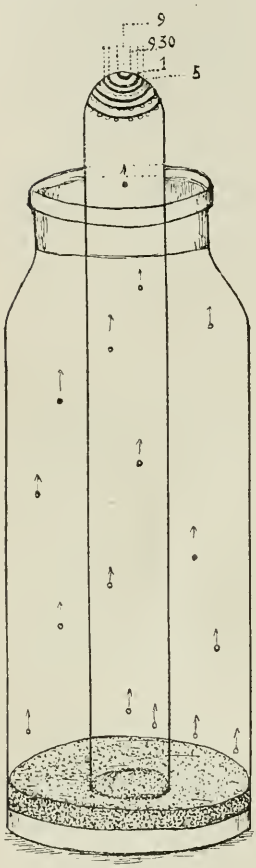

Fig. 12. — T.

Mais, il existe un autre obstacle qui s'opposera, pendant quelque temps encore à une étude de ce genre, telle que nous la comprenons, c'est l'attention continue et prolongée, qu'elle exige de la part de l'observateur ; il sera nécessaire par la suite, d'inventer des appareils perfectionnés et automatiques enregistrant, comme pour la pression atmosphérique, les variations de la photosynthèse, à un endroit donné.

Nous estimons que c'est du côté de la méthode eudiométrique qu'on obtiendra le plus facilement ces perfectionnements ; l'expérience suivante semble bien l'indiquer (figure 12, T).

La culture de Chlorelles formait un dépôt abondant au fond d'un grand flacon à large goulot rempli d'eau ; au milieu du flacon était disposé un tube à essai, destiné à recueillir l'oxygène dégagé par une surface de la culture égale à celle du tube à essai.

L'expérience débute le 11 septembre 1924 à 9 heures, par une température très élevée, 27° exposition Sud ; le thermomètre placé au soleil marque successivement, 28° à 9 h. 28 ; 36° à 9 h. 35 ; puis un peu plus tard, 40 et 41°.

Le flacon, par intervalles, est enlevé à l'action directe du soleil, si bien que sa température qui, à 10 h. 30 était

de 26° ne s'élève à 11 heures qu'à 28°, sans présenter de changement notable jusqu'à 1 heure.

Le dessin ci-contre (fig. 12) montre l'augmentation de la bulle d'oxygène au cours de cette journée ; elle est représentée de 9 heures à 5 heures par un pointillé vertical ; on y voit que l'assimilation du 12, limitée aussi par une ligne pointillée, a été moins élevée que celle du 13 septembre ; ce jour-là, le soleil était très chaud et la température de l'eau a marqué au maximum 40°.

Il devenait presque impossible, à cause du diamètre du tube allant en s'élargissant de noter exactement jour par jour l'augmentation de la quantité d'oxygène ; les deux dernières limites indiquées sont, l'une celle du 20 qui représente l'intervalle d'une semaine et l'autre, la dernière, qui ne correspond qu'à trois jours et se termine le 23 ; l'assimilation a été particulièrement active pendant ces trois derniers jours.

On imagine facilement un appareil spécial en forme de petit entonnoir à la base, effilé en un long tube gradué à sa partie supérieure ; des observations faites avec cet appareil plusieurs fois par jour, par une simple lecture, fourniraient, avec des cultures de Chlorelles, des indications intéressantes sur les variations de la photosynthèse dans un espace nettement délimité.

Ce perfectionnement, auquel s'en ajouteraient d'autres, relativement à la température de la culture, à sa teneur constante en CO^2, à sa richesse nutritive, rendrait vraiment ces observations pratiques ; elles deviendraient ainsi comparables d'une région à une autre.

Les tableaux qui suivent et dont les résultats sont empruntés aux observations précédentes, permettent déjà de se faire une idée du moment où commence ordinairement la photosynthèse sous le climat des environs de Paris.

Série I. — *Novembre* 1914.

Date	H.	T.	Bulles	D. Bulles de dégagement. S. Bulles de secouage.
14	9	17°5 I	20 D	Excellente assimilation.
15	8 20	15° I		Dégagement encore irrégulier.
17	9 10	18° I	30 S	Assimilation commence.
18	8 30	12° I		Quelques bulles de secouage.
20	9 20	1°8	1 S	
25	9 30	2°5	1 S	
26	9 15	5° I	6 S	
27	8 45	5° I	3 S	
28	9 10	6° I	2 S	
30	9 05	10°5 I	2 S	
1 déc.	9 05	11° I	I	

On constate que dans la seconde moitié de novembre, avec ce flacon, l'assimilation débutait, en général vers 9 heures du matin, quelquefois un peu plus tôt, mais assez fréquemment plus tard.

Série II. — *Novembre* 1914.

D.	H.	T.	Bulles	
13	8 15	16° I	1 S	
14	8 55	17°5 I	14 D	Excellente assimilation.
16	8 40	15°	4 D	

La comparaison de ce tableau avec le précédent montre qu'à partir du milieu de novembre, il se produit un retard sensible dans le phénomène de photosynthèse.

Série III. — *Novembre* 1914.

D.	H.	T.	BULLES
24	9 40	10°5 I	6 S
25	9 15	10° I	20 S
27	8 50	13° I	2 S

La photosynthèse avec ce flacon de culture ne se manifeste en général qu'après 9 heures du matin.

Série IV.

D.	H.	T.	BULLES
20 nov.	9 15	11° I	1 S
28 nov.	8 45	6° I	10 S
30 déc	8 30	0° I	2 S
31 déc	8 40	4° I	2 S
2 janv.	8 30	5° I	20 S
4 janv.	8 20	2°2 I	6 S
5 janv.	9	7°2 I	5 S
6 janv.	8 35	7°5 I	2 S
11 janv.	8 25	7° I	30 S
12 janv.	8 25	4° I	30 S

On voit que, d'après ce tableau, l'assimilation débute fréquemment, en décembre et janvier vers 8 h. 30, malgré une température pouvant descendre à 0°.

En résumé, nous dirons que dans les conditions de nos expériences, l'assimilation commençait à se manifester, pendant les mois d'hiver entre 8 h. 30 et 9 h. 10, avec une avance d'une demi-heure environ des premiers jours de janvier sur les derniers du mois de novembre.

Essayons de dégager de même une moyenne pour le mo-

ment où a cessé l'assimilation dans les observations précédentes.

Série I. — *Novembre* 1914.

D.	H.	T.	BULLES
18	4 15	4°	0
25	4	7°	10 S
28	4	9°	0

La culture de la série IV, le 20 novembre, ne dégage plus aucune bulle à 4 heures. Cette même culture le 2 janvier, fournit ses dernières bulles à 4 h. 20, le 5 janvier à 3 h. 30, le 6 janvier, à 3 h. 50.

Bien que les observations soient trop peu nombreuses, il semble bien que pendant l'hiver, la photosynthèse puisse s'effectuer jusqu'à 4 h. 20 ou 4 h. 30 ; mais ordinairement, elle cesse beaucoup plus tôt.

On peut donc dire que dans les mois de novembre, décembre et janvier, les Chlorelles *assimilent entre* 9 *heures du matin et* 4 *heures du soir*, un peu plus tôt ou un peu plus tard, selon l'état de la culture et l'état du ciel.

Cette *assimilation est d'ailleurs faible* et sauf exception comme celle du 14 novembre (série I), elle ne donne lieu ordinairement qu'à des bulles de secouage.

Pour avoir une idée exacte des différences d'assimilation qui existent dans la nature *entre des plantes ou des organes occupant des positions différemment éclairées*, nous rappelons l'expérience du 13 novembre 1914 : dans un appartement, à 0 m. 05 d'une fenêtre, une culture dégageait 200 bulles à la minute ; à 0 m. 30, 40 à 60 ; à 0 m. 60, 1 à 2 bulles seulement ; à 1 mètre tout dégagement cessait.

Il ne semble pas que jusqu'ici, les observateurs qui se sont occupés spécialement de la photosynthèse aient tenu

compte suffisamment de cette sensibilité de la plante à la radiation.

Nous aurions voulu donner pour les divers mois de l'année les mêmes renseignements sur le moment où commence l'activité chlorophyllienne et celui où elle finit ; nous ne disposons actuellement que d'observations fragmentaires.

Le 16 juin on en compte encore 20 par minute à 5 h. 10.

Le 17 juin, le dégagement ne cesse qu'à 5 h. 40, par température extérieure de 18°.

Le 19 juin, dès 8 h. 15, l'assimilation était très active ; à 6 heures elle avait cessé.

En résumé, au *mois de juin, la photosynthèse peut commencer vers* 8 *heures et sans doute bien avant ; elle doit cesser ordinairement vers* 6 *heures du soir.*

En mars 1926, mêmes constatations notoirement insuffisantes avec cultures de *Scenedesmus.*

Le 16 mars 1926, arrêt de la photosynthèse vers 6 heures.

Le 18 mars, photosynthèse active à 5 h. 22.

Le 19 mars, photosynthèse active à 5 h. 25, avec 80 bulles par minute.

Le 20 mars, à 9 h. 05, 80 bulles par minute et à 5 h. 25, une cinquantaine.

Le 23 mars, à 8 h. 35, bonne assimilation avec 30 bulles à la minute.

Le 23 mars, une culture, à 6 h. 10 dégageait encore 4 bulles à la minute.

Vraisemblablement, *avec une exposition Ouest, l'assimilation doit se poursuivre encore après* 6 *h.* 10 *du soir* ; on a vu qu'en septembre, avec le *Spirogyra magna*, il y avait encore *dégagement d'oxygène vers* 6 *h.* 40 *ce qui semble une limite.*

On peut supposer par contre que l'assimilation en mars se produit assez tardivement le matin.

Les expériences avec *Spirogyra magna* fournissent des résultats plus complets.

Ainsi le 17 septembre 1914, l'assimilation commence vers 7 h. 30 et ne cesse qu'à 6 h. 42.

Le 18 septembre, elle débutait à 6 h. 30 et se montrait encore très active à 5 h. 45.

Une photosynthèse très active, *a pu être mise ainsi en évidence en septembre pendant douze heures sur vingt-quatre* ; dans les mois d'hiver, elle est faible et ne s'exerce guère que pendant sept heures au plus.

Il ne s'agit, bien entendu que de la photosynthèse utile, celle qui permet à la plante de réaliser un gain en carbone.

Remarques sur l'activité de quelques sources de lumière artificielle dans l'assimilation.

Nous allons maintenant essayer, toujours en nous servant des observations précédentes, de dégager la valeur des différentes sources lumineuses artificielles, dans la photosynthèse, par comparaison, autant qu'il sera possible, avec la radiation solaire.

Le régime de chacune a été étudié à des distances variables de la source ; ces distances sont en général assez faibles.

Lampe Nertz.

Nous avons fait un grand usage de cette lampe qui se prêtait admirablement aux expériences de laboratoire ; on ne la fabrique plus malheureusement.

L'observation du 16 novembre est particulièrement instructive ; elle a été réalisée avec une lampe neuve, par une température s'élevant progressivement de 18° à 21° et prise dans la culture.

Le régime à 0 m. 30 est de 10 à 12 bulles par minute.

A 0 m. 20, il donne, après cinq minutes, 50 à 60 bulles par minute.

A 0 m. 10, il atteint 150 à 300 bulles.

Le résultat au point de vue de l'assimilation à ces faibles distances est comparable à celui des rayons directs du soleil.

Lampe Auer.

Une lampe à gaz, muni d'un bec Auer, agit aussi sur l'assimilation très favorablement.

Le régime à 0 m. 40 a pu atteindre 6 à 7 bulles par minute ; à 0 . 20, il s'est élevé, par température de 14°, de 12 à 20, ce qui représente déjà une assez bonne assimilation.

Lampes électriques.

Nous avions à notre disposition, en 1914, pour nos expériences trois sortes de lampes électriques de 50 bougies chacune : lampe Osram, lampe Méta et lampe Tantale.

Régime d'une lampe Méta :

A 0 m. 40, 1 b. (observation du 14 novembre).
A 0 m. 30, 2-3 b.
A 0 m. 20, 15-22 b.
A 0 m. 10, 40 b.

La lumière de cette lampe agit à 0 m. 10 de la source comme la lumière du jour à 0 m. 60 d'une fenêtre.

L'observation du 17 novembre 1924 (série III) montre d'une façon saisissante entre 2 h. 50 et 3 h. 48, à un moment où l'intensité du secteur subissait peu de changement, un régime sensiblement le même pour les trois lampes Méta, Osram et Tantale ; ce régime était de 14 à 20 b. par minute, à la distance de 0 m. 15.

Il faut se méfier, pour des comparaisons de ce genre, des variations qui se produisent dans le secteur ; ainsi, la même lampe Osram, le matin, vers 9 h. 20, avait fourni jusqu'à 70 b. à la distance de 0 m. 20 et le soir, à partir de 4 heures, le régime d'une lampe Méta et d'une lampe Osram était descendu à 5, 6 ou 7 bulles à la distance de 0 m. 15 ; la chute

du régime concordait avec le moment de l'allumage en ville.

On pouvait constater le matin de ce même jour que l'action de la lampe Nertz était, à la distance de 0 m. 20, sensiblement égale à celle de ces trois lampes de 50 bougies prises isolément.

De plus, à 0 m. 30 de la source, l'assimilation cessait pour cette culture.

Ce qui donne un assez grand intérêt à cette observation du 17 novembre, c'est que la température de la culture n'avait subi que des changements insignifiants allant de 18° à 21°.

Arc électrique.

On pouvait espérer, *a priori*, que l'arc électrique, à cause de sa grande intensité lumineuse et calorifique, donnerait lieu à une très forte assimilation, comparée aux sources précédentes.

Des observations du 28 novembre 1914 (série IV) et du 25 novembre (série V), il résulte qu'à la distance de 2 mètres de l'arc, aucune bulle ne se produit ; l'assimilation peut commencer à se manifester à la distance de 1 m. 50; à 1 mètre, elle devient active avec un dégagement qui peut atteindre 30 à 35 b. par minute, avec une culture favorable.

Il ne faut guère songer à placer ces cultures à une distance moindre de la source ; elles seraient rapidement stérilisées sous l'action combinée des rayons violets et de la température dégagée par l'arc ; il y aura lieu cependant, comme pour les autres sources, d'essayer, en protégeant les flacons de la chaleur, par un écran d'eau avec ou sans alun.

Si l'on compare les propriétés de l'arc électrique à celles des sources lumineuses précédentes, on voit qu'au delà de 1 m. 50, la lumière de l'arc n'agit plus sensiblement ; l'action entre 1 m. 20 et 1 m. 50 est à peu près celle des lampes Nertz et des lampes électriques agissant entre 0 m. 30 et

0 m. 40 ; à la distance de 1 mètre de l'arc, l'assimilation se fait avec dégagement d'une cinquantaine de bulles, comme entre 0 m. 10 et 0 m. 20 pour les autres sources.

En résumé, pour toutes les lumières artificielles étudiées, l'action sur la photosynthèse ne se manifeste extérieurement *qu'à des distances très faibles de la source* ; cette distance ne dépasse sans doute *guère 2 mètres avec l'arc électrique* et celle-ci est encore *cinq fois environ supérieure à la distance limite des lampes électriques de 50 bougies et des lampes Nertz.*

Sur la faible distance où ces différentes lumières exercent leur activité, un rapprochement de quelques centimètres de la source a une très grande influence sur la quantité d'oxygène dégagé.

Les algues inférieures, particulièrement les *Chlorella*, les *Scenedesmus*, les *Spirogyra* constituent d'excellents photomètres ; ils sont supérieurs par certains côtés à ceux où l'œil intervient directement ; celui-ci distinguerait difficilement la différence qui existe dans l'intensité lumineuse de l'arc entre 2 mètres, 1 m. 50, 1 m. 25 et 1 mètre de distance ; nous venons de voir que l'assimilation de l'algue indique cette différence de manière très nette.

Avec les lampes électriques, cette sensibilité à l'assimilation se manifeste clairement pour des écarts de 0 m. 10 ; avec des cultures sélectionnées, on arriverait à reconnaître, grâce à la photosynthèse, des intensités lumineuses intermédiaires correspondant à des écarts encore beaucoup plus faibles.

Il serait vraiment curieux que l'industrie puisse arriver à se servir de ces propriétés pour vérifier l'intensité lumineuse des lampes qu'elle livre au commerce ; la chose n'a rien d'invraisemblable.

Remarques sur les relations de la pholosynthèse avec l'intensité lumineuse.

La lumière qui pénètre dans un appartement se comporte, on le sait, comme les sources précédentes ; elle agit de moins en moins sur l'assimilation, jusqu'à devenir nulle, à mesure que l'on s'éloigne de la fenêtre.

Une culture de la série II, par température à peu près constante, exposée dans une chambre à 0 m. 05 de la fenêtre, exposition Nord-Est fournissait 150 à 200 b. par minute le 13 novembre 1914 ; à la distance de 0 m. 30, le dégagement était encore d'une cinquantaine ; à 0 m. 60, il descendait à 2 ou 3 ; enfin à 1 mètre, l'assimilation cessait d'être perceptible.

On se rend très bien compte que la profondeur à laquelle la lumière peut agir sur la photosynthèse varie avec l'état du ciel, l'heure de la journée et dans une mesure très faible avec la température.

C'est ainsi que le 14 novembre, la culture dont il vient d'être question assimilait, faiblement il est vrai (3-4 b.), à la distance de 2 mètres de la fenêtre, alors que la veille, il ne se produisait aucun dégagement à 1 mètre ; à 0 m. 60, on observait une cinquantaine de bulles ; à 0 m. 05 de la fenêtre le dégagement était porté à 150.

On sait que l'intensité lumineuse varie en raison inverse du carré des distances à la source lumineuse ; il ressort suffisamment des expériences précédentes sur l'influence de l'éloignement que la quantité d'oxygène dégagé varie aussi d'une manière générale, en raison inverse du carré des distances à la source ; *l'assimilation serait donc proportionnelle à l'intensité lumineuse.*

Cette loi a été recherchée pour les plantes supérieures par une autre méthode, consistant à doser l'acide carbonique absorbé par une feuille pendant la photosynthèse.

La méthode de numération des bulles permet en quelques instants de vérifier approximativement cette loi d'une façon saisissante, alors que la seconde exige de nombreux dosages et n'est pas à l'abri d'erreurs résultant de l'état de la feuille, et aussi de la difficulté d'obtenir toute une gamme d'intensités lumineuses constantes, fonctionnant un certain temps.

On admet, pour les plantes supérieures, que l'assimilation n'est proportionnelle à l'intensité lumineuse que dans certaines limites étroites que Chodat résume ainsi d'après Blackmann (1).

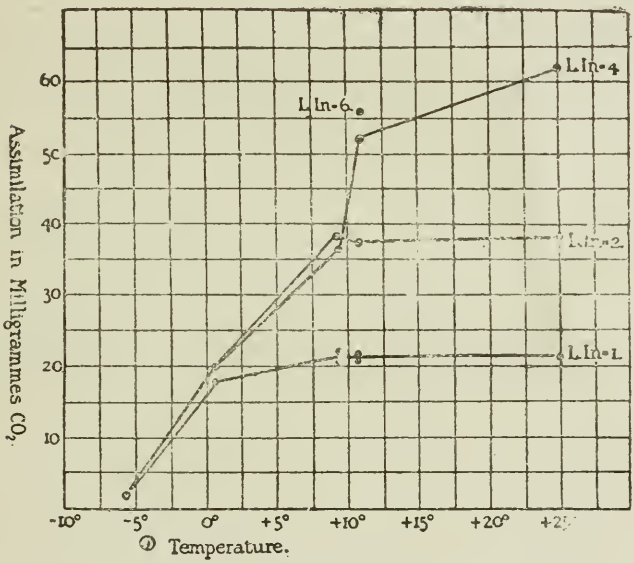

Fig. 13. — T, L'intensité d'assimilation est donnée en milligrammes de CO^2 absorbé.

Si on expose la feuille à des lumières d'intensité croissante, on remarque que, pour une faible intensité, le maximum d'assimilation est atteint à une température plus basse.

1. Chodat. *Principes de Botanique*, 3e édition, p. 62, 1921.

L'élévation de la température ne produit plus alors d'augmentation d'oxygène dégagé et la courbe passe par un plateau (fig. 13 T.). Il suffit de doubler ou tripler l'intensité lumineuse pour voir la valeur de l'assimilation s'élever à condition d'élever aussi la température jusqu'à une limite déterminée par l'intensité lumineuse. Ainsi, lorsqu'on utilise des intensités lumineuses faibles, l'assimilation croît proportionnellement à condition que l'on élève la température. Cependant, lorsqu'on approche de l'intensité maximum, la proportionnalité ne se maintient plus ; une double intensité ne produit pas nécessairement une assimilation double.

Il en résulte que, pour atteindre le maximum d'action sur l'anhydride carbonique, il faut non seulement élever progressivement la température,mais aussi l'intensité lumineuse. A chaque intensité lumineuse correspond un optimum de température au-delà duquel aucune augmentation d'action ne se fait sentir... Lorsque l'intensité lumineuse est faible, le maximum d'assimilation est déjà atteint à 3°.

Il résulterait de là qu'avec ce maximum d'assimilation, si cette faible intensité lumineuse reste constante, on pourrait élever la température de 3° à 25° par exemple, sans modifier la quantité de carbone absorbé par la feuille ; dans ce cas, *une élévation de température d'une vingtaine de degrés serait sans grande action sur l'assimilation.*

D'autre part, si on augmentait de plus en plus l'intensité lumineuse, tout en maintenant la température de 3° ou une température voisine, l'assimilation resterait presque sans changement ; *une intensité lumineuse doublée, triplée, quadruplée, serait à cette température de* 3°, *sans action notable sur l'assimilation.*

Les observations qui précèdent, réalisées en faisant varier l'intensité lumineuse, par un éloignement plus ou moins grand de la même source lumineuse, ne me paraissent guère favorables à une interdépendance aussi absolue entre l'assimilation et la température ; elles seraient plutôt de nature

à diminuer considérablement le rôle de celle-ci ; on peut penser que, dans les limites où la vie de la cellule ne souffre dans son fonctionnement normal ni d'une trop basse température, ni d'une chaleur excessive, l'assimilation est proportionnelle à l'intensité lumineuse tant que ses propres réserves peuvent assurer l'équilibre nécessaire ; cet équilibre se trouve rompu soit que, par suite d'une assimilation trop prolongée, la cellule se gorge d'amidon ou se décolore en partie; le maximum d'action dans la photosynthèse peut ainsi se produire à des températures très différentes ; mais le phénomène en lui-même ne constitue qu'une simple coïncidence; il n'est pas le résultat direct de la température du milieu.

Si cette vue est exacte, avec une culture vigoureuse et un milieu bien pourvu en CO^2, le dégagement d'oxygène sera toujours sensiblement proportionnel à l'intensité lumineuse *dans les limites indiquées* ; cette conclusion me semble ressortir suffisamment de nos observations sur les variations qui se produisent soit dans le courant d'une journée à la lumière ordinaire, soit à la suite d'un éloignement plus ou moins grand de la source.

La température du milieu n'intervient sans doute que faiblement par elle même dans le phénomène de la photosynthèse ; si la courbe de l'assimilation augmente graduellement avec l'élévation de la température pour une lumière très vive jusqu'au point critique, c'est-à-dire jusqu'au voisinage de 40° ainsi que l'a montré Blackmann (fig. 14 — T), c'est sans doute parce que la nutrition générale se trouve favorisée par cette élévation de température ; celle-ci agit favorablement sur le métabolisme cellulaire, mais la photosynthèse elle même est directement sous la dépendance de l'énergie des rayons absorbés par la chlorophylline ; un métabolisme cellulaire de plus grande activité, qui maintiendrait l'équilibre, assurerait une utilisation plus complète, à n'importe quelle température non nocive, de l'énergie absorbée.

Si, à une lumière vive, une partie de cette énergie absorbée par les rayons rouges orangés, n'intervient pas à un moment donné dans la photosynthèse, c'est parce que l'*état*

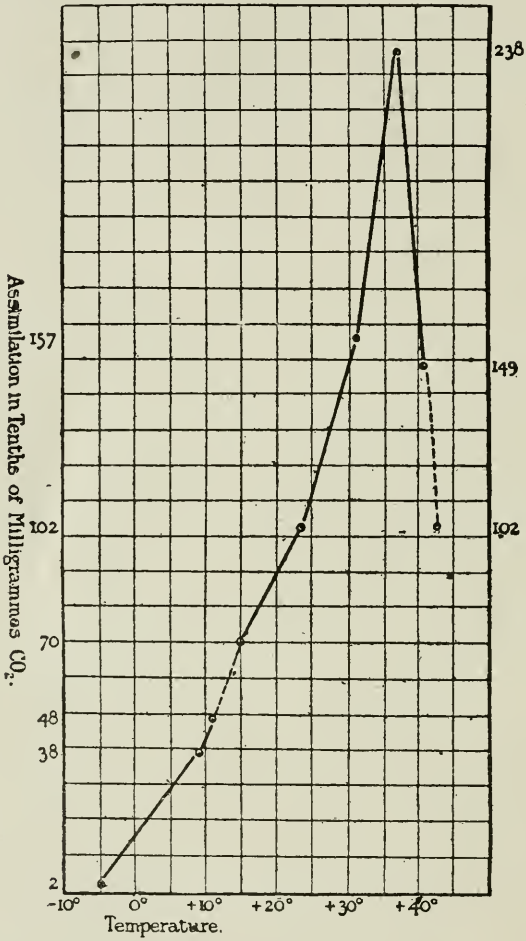

Fig. 14. — T. D'après Blackmann

actuel des cellules à ce moment ne le permet pas ; pour employer une comparaison, nous dirons que le moulin tourne à vide, parce que l'arrivée du blé est insuffisante pour l'alimenter ; pour avoir une idée exacte du rendement maximum de l'appareil, il faut donc que celui-ci tourne à plein.

C'est avec cette correction nécessaire qu'il *faut entendre que l'assimilation est proportionnelle à l'intensité lumineuse ou mieux à la quantité d'énergie utilisée par la chlorophylle* ; la vérification de cette loi sera d'autant plus facile, qu'elle se fera à des intensités assez faibles, comportant une utilisation totale ou presque de l'énergie absorbée.

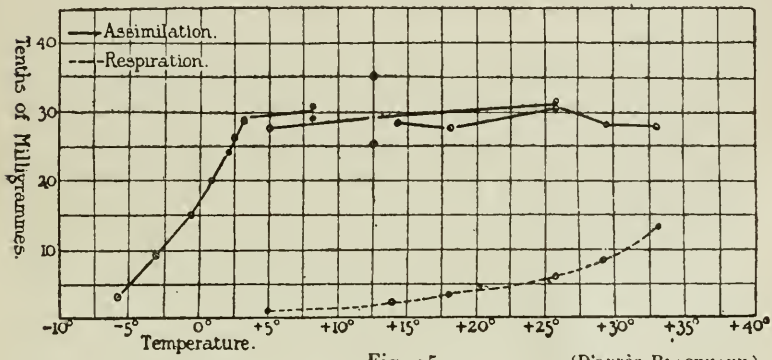

Fig 15 (D'après BLACKMANN)

La quantité d'oxygène résultant de la photosynthèse comprend celle qui se dégage et qui peut être recueillie dans un eudiomètre et une autre partie, celle qui est reprise immédiatement par la respiration ; donc, dans les conditions ordinaires, la photosynthèse est un peu plus active que ne l'indique le dégagement d'oxygène observé ; c'est aussi pour la même cause que le dégagement des premières bulles retarde de quelques minutes sur le début de l'assimilation ; pour la même raison, celle-ci continue quelques instants après le départ des dernières bulles.

Toutefois, aux basses températures, cette légère cause d'erreur disparaît, car la respiration devient insignifiante ; c'est ce que montre bien la figure 15 T due à Blackmann ; la quantité d'oxygène qui se dégage alors par bulles ou qu'on obtient par secouage, représente donc, à ces basses températures, la totalité de celle produite par l'assimilation.

Nous avons remarqué qu'à ces basses températures, le comportement des bulles paraît différent ; celles-ci semblent avoir une force ascensionnelle moindre qu'aux températures plus élevées ; au lieu de *bulles de dégagement*, on a le plus souvent *des bulles de secouage*, plus ou moins adhérentes à la surface de la culture ; cette différence ne semble pas tenir exclusivement à la plus ou moins grande activité de la photosynthèse ; une analyse du gaz recueilli ne serait pas sans intérêt.

On peut se demander quelle est exactement la quantité d'oxygène empruntée par la respiration à la photosynthèse ; pour résoudre ce problème, nous avions imaginé une méthode qui, du point de vue théorique, nous paraissait à l'abri de toute critique.

Etant donné que l'action de la lumière dans la photosynthèse est instantanée, ainsi que nous en avons fourni la preuve, il s'agit d'obtenir, à une intensité lumineuse invariable, un régime de *n* bulles à la minute, pour une culture.

Si on place cette culture à l'obscurité, la photosynthèse ne s'exerce plus et le dégagement devrait cesser aussitôt ; la respiration consomme alors l'oxygène resté dans la cellule.

En reportant la culture dans les conditions de son régime à *n* bulles, il faudra quelques minutes pour que l'oxygène produit puisse se dégager à nouveau ; il sera nécessaire, en effet que le vide produit par la respiration à l'obscurité soit comblé.

Si l'exosmose du gaz était instantanée, le retard mis par le nouveau régime à s'établir, correspondrait à l'oxygène consommé par la respiration pendant la courte période d'obscurité.

Supposons ce retard de deux minutes : on aurait donc 2 *n* bulles représentant la part de la respiration pendant le séjour à l'obscurité de durée déterminée et naturellement assez courte.

En réalité, les cultures de Chlorelles ne se prêtent pas à

l'application de cette théorie ; la principale raison est sans doute l'exosmose trop lente du gaz à travers les membranes.

Aussi, notre effort s'est-il porté sur l'*Elodea Canadensis* où l'exosmose est plus rapide ; les résultats bien qu'assez encourageants, sont encore trop incomplets pour être publiés.

Remarques sur la production de courants complexes dans l'eau d'un grand flacon cylindrique exposé au soleil.

En effectuant la numération des bulles d'oxygène qui se dégageaient à l'intérieur d'un flacon de deux litres renfermant au fond, une épaisse culture de Chlorelles, en pleine activité d'assimilation, nous avons observé un phénomène qui nous a paru présenter un certain intérêt.

Dans une masse d'eau inégalement chauffée, il se produit naturellement des courants en sens variable, comme dans l'air ; c'est le cas de l'eau contenue à l'intérieur d'un flacon cylindrique éclairé par les rayons du soleil ; ceux-ci en se concentrant, suivant un rectangle lumineux, à la partie postérieure du flacon, y déterminent un échauffement de l'eau plus grand qu'à l'avant ; cet échauffement est minimum sur les côtés ; c'est ainsi que dans un flacon de ce genre, le 22, septembre à 11 heures, la température au milieu était de 26°, tandis qu'à la partie postérieure, elle atteignait 27°.

Ces différences d'échauffement déterminent des courants lesquels restent complètement inaperçus dans les conditions ordinaires de l'observation ; il en est tout autrement, si on utilise les petites colonies de Chlorelles qui flottent comme de petits ludions dans la masse liquide et suivent les moindres impulsions des courants ; on s'aperçoit alors de la grande complexité de ces derniers.

Ordinairement, et c'est le cas dans nos observations pré-

cédentes, les bulles d'oxygène qui se dégagent n'emportent aucune cellule d'algue avec elles et elles gagnent d'autant plus rapidement la surface qu'elles sont plus grosses.

Mais il arrive parfois, comme ici, qu'une bulle d'oxygène entraîne avec elle une petite colonie d'algue ; cette colonie s'élève lentement dans le liquide ; la quantité d'oxygène augmente par suite de la photosynthèse déterminant le départ de la bulle ; la colonie tend à descendre alors jusqu'au moment où l'oxygène qui continue de se former lui communique une nouvelle force ascensionnelle.

Si la masse liquide était complètement immobile, ces colonies se déplaceraient toujours suivant la verticale ; si, au contraire, des courants y existent, tous ces petits ludions seront entraînés dans un sens ou dans l'autre en donnant des indications sur la direction de ces courants et leur complexité.

Le flacon était placé face au soleil ; les déplacements d'une colonie sont indiqués par projection sur un plan vertical ; il eût fallu également, pour les mieux caractériser, une projection sur un plan horizontal ; mis il n'y fallait pas songer dans les conditions difficiles de l'expérience.

Observation du 10 *septembre* 1914.

La colonie verte en suspension dont il s'agit de suivre les déplacements, est choisie à 10 h. 40, bien au dessous de la surface de l'eau sur le côté opposé au soleil et à une faible distance de la paroi. Cette colonie descend d'abord obliquement du côté de la partie la plus éclairée et elle remonte ensuite verticalement pour faire un nouveau coude à 10 h. 43 et redescendre ensuite au fond où elle arrive à 10 h. 44 ; cette descente correspond à un arrêt dans la photosynthèse.

Les déplacements de cette colonie ont été relativement

simples : ils se sont effectués en dehors du rectangle lumineux.

Observation du 16 *septembre* 1914.

Le trajet d'une première colonie est suivi à partir de 9 h. 47 ; elle s'élève d'abord verticalement, puis décrit deux coudes ; elle s'arrête à 9 h. 48, tourne sur elle-même, à un moment où le soleil manque, redescend verticalement pour s'infléchir ensuite en une large courbe se terminant au fond du flacon à 9 h. 50 (fig. 16 A, T).

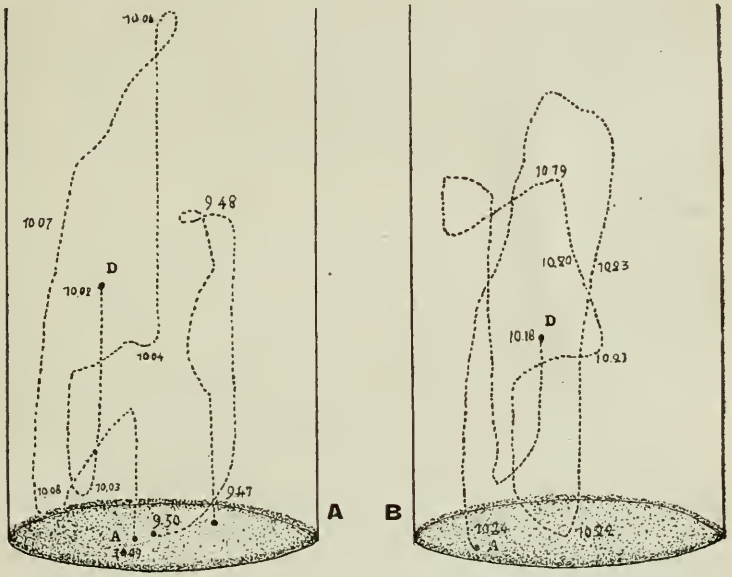

Fig. 16. — A. Tracé en pointillé du trajet suivi par deux colonies différentes de Chlorelles dans un flacon de deux litres. — B. Trajet d'une colonie dans la partie médiade du flncon.

Le trajet d'une seconde colonie est suivi à partir de 10 h. 02, cette colonie descend verticalement, s'infléchit légèrement vers la gauche ; à 10 h. 03, elle remonte un peu et se porte presque horizontalement à droite vers le milieu du flacon 10 h. 04 ; là, elle reprend sa force ascensionnelle qui la

conduit, suivant la verticale, tout près de la surface à 10 h. 06; après avoir décrit une sorte de boucle, elle redescend obliquement vers la gauche ; elle approche du fond à 10 h. 08, remonte un peu vers la droite, perd sa bulle d'oxygène, et finit par tomber à 10 h. 09 (fig. 16 A, T).

La troisième colonie observée à partir de 10 h. 18 (fig. 16, B T), va parcourir un trajet encore plus complexe ; elle descend, remonte verticalement, décrit une large boucle pour se retrouver à 10 h. 19 à l'intérieur du rectangle lumineux ; elle redescend ; à 10 h. 21, elle se porte de nouveau presque horizontalement, décrit une large courbe qui la met près du fond dans le rectangle lumineux ; elle repart à 10 h. 22, remonte à nouveau un peu obliquement jusqu'à quelques centimètres de la surface et redescend obliquement vers la gauche où elle se dépose sur le fond à 10 h. 24.

Le flacon a reçu les rayons du soleil pendant toute l'expérience.

La quatrième colonie (fig. 17 A, T), a été suivie dans ses déplacements à partir de 12 h. 12 ; elle se trouvait à ce moment à une faible distance de la surface ; elle descend en se portant vers la gauche et décrit une courbe qui la ramène à 12 h. 14 au fond, dans le plan vertical du départ ; elle repart de là pour décrire une nouvelle courbe, celle-ci presque complète, qui la ramène au fond à 12 h. 16 ; elle remonte à nouveau et, s'infléchit ensuite sur la droite, redescend et remonte ensuite jusqu'à la surface de l'eau où elle s'arrête à 12 h. 19.

Les déplacements effectués par cette colonie, à l'heure de midi, semblent indiquer l'existence dans le flacon et en son milieu de courants circulaires d'ailleurs assez irréguliers.

En résumé, dans un flacon cylindrique rempli d'eau et exposé au soleil, il se produit, sous l'influence d'un échauffement inégal de nombreux courants ; mais si ces déplacements dans la masse liquide sont prévus par la théorie, rien dans l'apparence de l'eau n'indique leur existence.

Les cultures de Chlorelles, réalisent un moyen d'observer ces courants ; flottant comme de petits ludions à l'intérieur du liquide, les colonies vertes subissent les moindres impulsions ; si la masse liquide était immobile, ils monteraient suivant la verticale, emportés par leur provision d'oxygène ;

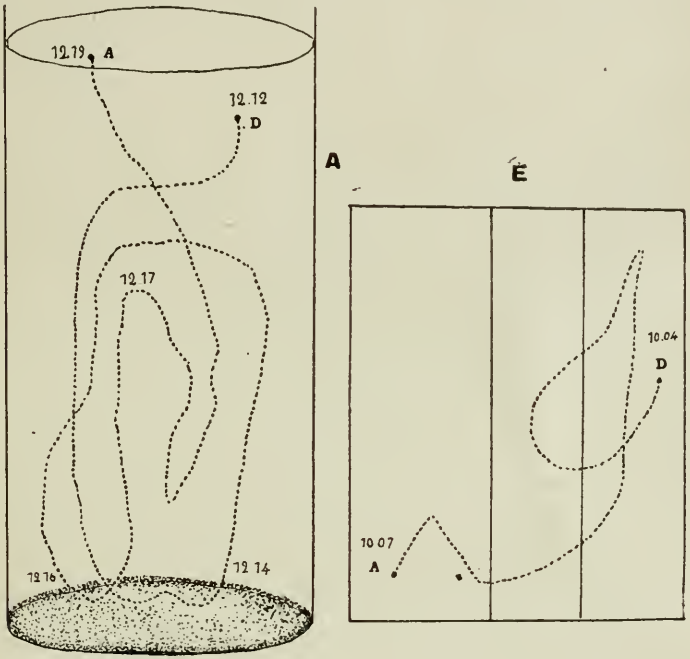

Fig. 17. — T. A. Trajet de la 4e colonie.
E. Trajet de la 5e colonie.

En E, même figure 17, on voit le trajet d'une cinquième colonie, laquelle partie à 10,04, descend obliquement, remonte en décrivant une courbe, redescend en suivant une courbe opposée à la première, traverse et retombe à 10 h. 07.

ils redescendraient également suivant la verticale, après départ des bulles. Au lieu de cela, on voit tous ces petits ballonnets suivre en quelques minutes les trajets les plus capricieux ; dans l'ensemble, on reconnaît cependant une tendance des colonies à décrire une ou plusieurs courbes. La conclusion est que, *dans les conditions des observations réali-*

sées ci-dessus, on a affaire le plus souvent à des courants circulaires.

Ces quelques observations, si incomplètes qu'elles soient, suggèrent cependant quelques réflexions au sujet du plancton des lacs et du plancton marin.

Si la profondeur est faible et si le fond reçoit pendant le jour des radiations actives dans la photosynthèse, les colonies d'algues appartenant à différents groupes exécutent un va-et-vient entre le fond et la surface ; beaucoup, après épuisement ou disparition de l'oxygène provenant de la photosynthèse, tombent au fond pendant la nuit ; lorsqu'elles reçoivent à nouveau, le matin, les radiations actives, l'oxygène se forme dans ces colonies et de nouveau, tous ces ballonnets reviennent au voisinage de la surface de l'eau ; là, s'ils se comportent comme les colonies de Chlorelles de tout à l'heure, leurs déplacements doivent être assez variés et en rapport avec les différences d'éclairement qui se produisent ; ces causes s'ajoutant aux effets des grands courants, à l'action des vagues et de la marée donnent lieu à une résultante que l'on doit essayer de dégager dans les études du plancton végétal, faites de jour et de nuit, à différentes profondeurs.

Lorsque la profondeur dépasse les limites d'action de la lumière sur l'assimilation, il semble que tous les organismes chlorophylliens qui existent dans cette zone et y sont entraînés doivent pendant la nuit, s'ils ne conservent pas leur provision de gaz, regagner le fond sans espoir de revenir à la surface. On peut même concevoir que s'ils ne sont pas la proie immédiate des poissons et autres animaux marins, ils puissent, à l'obscurité plus ou moins complète, dans cette station, conserver leur vitalité pendant des mois. C'est ainsi que nous avons vu, pages 52-53 de ce Mémoire, que des germes de *Chlorella genevensis*, conservés à l'obscurité pendant un an, *dans un liquide minéral*, étaient restés vivants et avaient pu servir à effectuer de nouvelles cultures ; mais

la multiplication n'ayant pas lieu, en l'absence de carbone organique, la persistance de la vie du plancton aux grandes profondeurs, n'aurait pas grand intérêt, parce que sa masse serait forcément réduite.

Il en serait tout autrement, si la plupart des organismes formant le plancton chlorophyllien possédaient, comme les *Chlorella* et les *Scenedesmus*, la propriété de se multiplier activement et indéfiniment *à l'obscurité complète* en utilisant du carbone organique.

Malheureusement, on semble manquer à cet égard de documents précis et rien jusqu'ici n'autorise à croire que Diatomées et Péridiniens puissent se comporter comme ces petites algues vertes microscopiques ; on ignore d'ailleurs si le carbone organique provenant de la décomposition des Poissons et autres animaux marins pourrait être utilisé au lieu et place des sucres et en particulier du glucose.

Tout cela est assez peu probable et alors se pose l'énigme de la vie aux grandes profondeurs où tout n'est sans doute que vie animale, synonyme de destruction.

L'existence des espèces animales, dans toute l'étendue des mers ainsi que leur masse, dépend entièrement, comme sur terre de l'assimilation chlorophyllienne.

Mais, tandis que dans ce dernier cas, nous suivons facilement le cycle et pouvons en constater le parfait équilibre, il en est tout différemment en ce qui concerne les Océans ; sans doute, algues marines des côtes et plancton forment-ils une réserve très appréciable ; mais leur quantité et leur utilisation ne semblent pas correspondre aussi étroitement que sur terre à l'ensemble des animaux marins. Il est cependant nécessaire que cet équilibre soit réalisé, car sur mer comme sur terre, c'est le soleil qui, par l'intermédiaire de la chlorophylle et de l'acide carbonique, fournit tout le carbone nécessaire à la vie animale ; la manière exacte dont se règlent les échanges en différents points de la surface des mers et dans leurs profondeurs est donc seule en jeu et com-

porte de nombreux problèmes dont plusieurs n'ont pas encore reçu de solution satisfaisante.

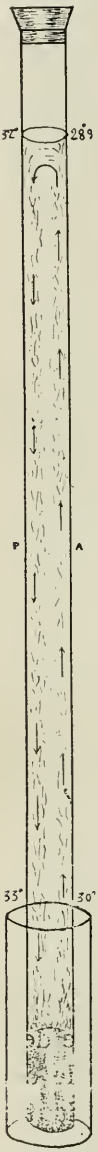

Fig. 18. — T.

Il n'est nullement question de les aborder ici à propos des quelques observations précédentes ; celles-ci mettent simplement en évidence dans des conditions faciles à réaliser de courants complexes dans une masse liquide qui paraît au repos ; de faibles différences de température en différents points suffisent à les produire.

L'expérience suivante est encore plus démonstrative dans sa simplicité.

Un tube cylindrique ayant une longueur de 0 m. 35 sur 0 m. 015 de diamètre, avait reçu une culture abondante d'Oscillaire ; la couche de terre sur laquelle reposait cette culture au fond du tube, avait une hauteur de 0 m. 02.

L'Oscillaire avait supporté les jours précédents de hautes températures allant jusqu'à 35 et 38° ; sous cette influence, les filaments avaient pris une teinte verdâtre par disparition de leur phycocyanine et en même temps, ils avaient perdu leur vitalité et s'étaient dissociés en nombreux petits fragments excessivement légers ; ces fragments formaient une couche à la surface de la terre au fond du tube.

Ce tube était disposé verticalement : tout autour, à la base, se trouvait un manchon d'eau contenu dans un vase cylindrique étroit d'une hauteur de 0 m. 07 environ (fig. 18, T).

La hauteur de l'eau dans le tube à essai était de 0 m. 30 ; celui-ci était placé, à une fenêtre, à faible distance de la vitre ; aucun courant ne semblait exister dans la masse, à s'en rapporter aux simples apparences.

A 2 h. 15, alors que les rayons du soleil arri-

vaient sur le tube, nous agitons légèrement son contenu et toutes les petites fibrilles constituées par les filaments de l'Oscillaire se répandent dans l'eau et nous assistons à un phénomène curieux. Il se manifeste un courant ascendant sur la face antérieure recevant directement la radiation ; ce courant emporte les petits filaments à la vitesse de 0 m. 30 par minute ; ces fibrilles, arrivées en haut du tube, redescendent à la face postérieure ; ces deux courants en sens inverse l'un de l'autre sont extrêmement nets.

Nous notons la différence de température entre l'eau du cylindre de base, qui marque 33° et l'eau du tube à sa partie supérieure qui indique 32°.

Il a donc suffi d'une différence de 1° entre deux régions séparées de 0 m. 30 pour déterminer l'existence d'un courant dont la vitesse atteint presque 1 mètre en trois minutes, malgré l'action de la pesanteur

A 2 h. 40, les rayons du soleil disparaissent progressivement et les deux courants qui jusque-là avaient conservé leur vitesse du début, commencent à se ralentir tout en restant très distincts.

A 3 h. 30, l'appareil est replacé au soleil et les deux courants reprennent leur vitesse initiale ; la température à ce moment est de 30° en bas dans l'eau du cylindre et de 28°9 en haut du tube.

Une rotation de 180° du tube amène une confusion de toutes les particules entraînées ; elle ne dure que quelques secondes et les deux courants se reforment aussitôt dans l'ordre précédent ; courant ascendant du côté qui reçoit directement la radiation et courant descendant sur la face postérieure.

Il est remarquable de constater qu'une différence de un dixième de degré suffit pour maintenir au ralenti, sur un espace de 0 m. 30, les deux courants, ascendant et descendant.

On peut affirmer, dans cette expérience qu'il s'agit bien d'un mouvement de l'eau, sans que le dégagement d'oxygène par l'algue puisse intervenir comme dans les observations précédentes ; l'Oscillaire a perdu sa vitalité ; elle est en complète dégénérescence ; si elle se prête admirablement à l'étude des mouvements de l'eau, c'est simplement à cause de *la ténuité des filaments, de leur légèreté et de leur visibilité.*

Le comportement de ces deux courants n'est pas sans rappeler celui qui se produit dans certaines cellules végétales, comme celles de l'*Elodea Canadensis* par exemple ; si la cause du mouvement est différente, il n'en est pas moins vrai que dans les deux cas, la présence d'éléments figurés dans l'eau ou dans le cytoplasme est nécessaire à la perception de ce mouvement ; pour les cellules végétales, ce sont les chloroplastes et les cytosomes qui, par leurs déplacements, indiquent la direction des courants.

Sans insister davantage, il nous sera permis de dire que le déterminisme d'un mouvement tel que celui qui existe dans les cellules végétales pourrait bien ressortir d'une cause aussi simple que celle qui provoque la formation des deux courants inverses dans cette expérience.

Le Supplément qui va faire suite à cette Série XIV du Botaniste, donnera prochainement, avec planches nombreuses, l'ensemble des observations réalisées à l'aide d'écrans variés et aussi les spectrogrammes de croissance obtenus avec notre nouvelle méthode : on aura ainsi un ensemble très complet sur l'action des différentes radiations du spectre dans la photosynthèse.

7267 — Imp. Jouve et Cie, 15, rue Racine, Paris. — 11-1926.

La Série XIV du Botaniste se trouve terminée avec la publication de ce fascicule III-VI : l'abonnement devient donc exigible pour ceux de nos abonnés qui n'ont pas effectué le paiement d'avance.

Il nous a été impossible, à cause des frais élevés d'édition, d'incorporer dans cette Série XIV, le détail de nos observations sur l'emploi des différents écrans et du spectre dans l'étude de la photosynthèse.

Ces recherches sont à l'impression et vont paraître très prochainement en un Supplément *du prix de 30 fr.* qui fera suite au mémoire précédent.

On y trouvera notamment de nombreux spectrogrammes de végétation indiquant nettement quelles sont dans le spectre les radiations actives dans l'assimilation chlorophyllienne et quel est leur degré d'importance.

New York Botanical Garden Library
3 5185 00259 3620