ES
ULTÉ
ICES
ON

1807

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE LYON

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

JULES VILLARD

1re THÈSE. — ÉTUDE DE PHYSIOLOGIE COMPARÉE SUR LE PIGMENT CHLOROPHYLLIEN CHEZ LES VÉGÉTAUX ET LES ANIMAUX.

2e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le Juillet 1907, devant la Commission d'examen

MM. DEPÉRET . . . *Président.*
DUBOIS . . . } *Examinateurs.*
GÉRARD. . . }

LYON
A. REY, IMPRIMEUR-ÉDITEUR DE L'UNIVERSITÉ
4, RUE GENTIL, 4
—
1907

INTRODUCTION

Naturellement porté, dans notre temps de mutualité, à l'étude des exemples de sociétés mutuelles, inventées par les animaux « nos frères inférieurs », je me suis arrêté à ces associations fort curieuses entre un animal et un végétal, que l'on observe notamment dans les Infusoires à *Zoochlorelles* et dans les Hydres vertes, etc. Et ce genre d'associations m'a paru d'autant plus intéressant au premier abord, que, s'il faut en croire Brandt, la Zoochlorelle, micro-végétal à chlorophylle, pourrait assimiler le carbone de l'atmosphère, et fournir aux tissus de l'animal une nourriture toute préparée, dispensant ce dernier d'une grande partie du travail de recherche, de préhension et de digestion des aliments. Comme il existe des vaccins microbiens atténuant certaines maladies, il existerait aussi des sortes de microbes chlorophylliens capables d'atténuer la faim.

Mon principal sujet a donc été l'étude des Zoochlorelles ou un essai sur leur morphologie, histologie et physiologie ; mais cette étude m'a entraîné comparativement à celle des corps verts du foie des Mollusques, puis à celle des modifications digestives des aliments chlorophylliens, puis à celle de la chlorophylle tégumentaire de certains Insectes ; j'ai alors réuni ces études d'inégale étendue, dans un ordre méthodique, traçant, dans une première partie, un tableau des connaissances acquises sur la chlorophylle chez les végétaux et les animaux, puis suivant spécialement, dans une deuxième partie, cette chlorophylle à travers les branches de la classification zoologique depuis les

organismes inférieurs jusqu'à ses relations avec l'hématoporphyrine des Vertébrés ; je dis la *chlorophylle*, car j'ai employé le plus souvent ce terme, plus court, au lieu de celui de *pigment chlorophyllien*, en lui attribuant le même sens ; quant aux variétés de la chlorophylle, qu'on a isolées dans les divers végétaux et même dans un même végétal, j'aime mieux, en cas de confusion, les désigner sous le nom de *chlorophyllides*, plus conforme à ceux de saccharides, de glycérides, qui jouent aussi un certain rôle dans la chimie de la cellule. Chacun de mes chapitres comporte des conclusions, qui sont de plus résumées et coordonnées dans le dernier, terminé lui-même par un rapprochement, à propos de lachlorophylle, entre la nutrition des animaux et celle des végétaux.

Malgré mes soins, étant donné l'amplitude du sujet, il a pu se glisser quelques erreurs ou lacunes et, sur certains points, des idées un peu hypothétiques, mais quelque imparfait que soit ce travail, il n'en reste pas moins vrai qu'il m'a coûté un effort assez considérable, d'autant plus que par suite de diverses circonstances j'ai dû l'interrompre et le remettre plusieurs fois sur le métier.

En terminant, je tiens à remercier spécialement mon éminent maître M. le professeur Raphaël Dubois qui m'a si gracieusement ouvert son laboratoire, et qui a bien voulu me guider dans mes recherches et me soutenir à l'occasion.

Je remercie tout particulièrement aussi M. Couvreur, ainsi que M. Guilliermond, MM. les Préparateurs de Physiologie comparée, et tous ceux qui m'ont donné quelques renseignements ou quelques conseils.

Un **Index Bibliographique**, placé à la fin de mon travail, renferme, **par ordre alphabétique des noms d'auteurs**, la désignation des ouvrages consultés que je n'ai pas rappelés au bas des pages.

ETUDE

DE PHYSIOLOGIE COMPARÉE

SUR LE

PIGMENT CHLOROPHYLLIEN

CHEZ LES VÉGÉTAUX ET LES ANIMAUX

PREMIÈRE PARTIE

CHAPITRE PREMIER

TOPOGRAPHIE DE LA CHLOROPHYLLE

I. — ESQUISSE TOPOGRAPHIQUE SUR LA CHLOROPHYLLE DES VÉGÉTAUX

La chlorophylle est moins répandue qu'elle ne le paraît, dans les végétaux.

On sait qu'elle manque dans toutes les parties du thalle des Myxomycètes, des Bactériacées et des Champignons, les Champignons verdâtres, comme *Amanita citrina*, *Russula virescens*, etc., ayant un pigment différent. La chlorophylle de l'appareil sporifère de certains Polypores, est dûe à une Algue élémentaire *Stichococcus bacillaris;* c'est une sorte de lichénisation imparfaite; quant aux Lichens, leurs hyphes s'associent intimement aux gonidies chlorophylliennes, sans jamais se laisser pénétrer par leur chlorophylle.

La chlorophylle occupe une place secondaire, dans la plupart des Algues, sauf les Chlorophycées, constamment mélangée avec un autre pigment assimilateur, phycocyanine, phycophéine, phycoérythrine. Même dans les Chlorophycées, elle disparaît facilement,

non pas toujours sous l'influence d'un défaut d'éclairement, auquel résistent diverses Algues élémentaires[1], mais souvent, sous l'influence d'une alimentation saprophytique ou exclusivement organique; *Stichococcus bacillaris*, se colore en jaune sur milieu glucosé, à la lumière, et *Euglena gracilis* végète sous forme incolore, sur milieu organique; il y a plusieurs Chlorophycées qui passent ainsi par des phases incolores; il y en a d'autres qui restent constamment dépourvues de chlorophylle, comme *Astasia* des Euglériens, *Polytoma uvella* des Chlamydomonadiens; les anthérozoïdes d'*Œdogonium* n'en contiennent pas.

La chlorophylle manque souvent dans l'appareil rhizoïde des Mousses, et constamment dans l'appareil radiculaire des autres végétaux membrés (Cryptogames vasculaires, Phanérogames), sauf exception pour la radicule du gui et les extrémités radiculaires du *Pandanus* qui verdissent à la lumière. Or l'appareil radiculaire des plantes présente le plus souvent un développement équivalent à celui de l'appareil chlorophyllien, surtout si l'on tient compte des radicelles, des fibrilles, des poils absorbants et de la croissance ininterrompue des racines profondes. Ainsi d'après Muntz et Girard, la longueur moyenne des racines est de 1 m. 50 pour le blé et l'avoine, 1 m. 70 pour le trèfle, 2 m. 65 pour la luzerne, de 12 à 20 mètres, pour certaines vignes. J'ai retiré d'une conduite d'eau en mauvais état un faisceau de racines mesurant 7 mètres, appartenant à un acacia, ayant à peine 3 mètres de hauteur. On trouve communément dans la flore arctique, des saules, dont les racines ont plus de 4 mètres de longueur, tandis que l'arbre mesure 10 à 12 centimètres de hauteur. Quant à la surface radiculaire, elle est considérable; la surface moyenne des radicelles à l'hectare, dans une couche de terre de 1 m. 50 de profondeur, est de 118.090 mètres carrés, pour le blé, 107.814 mètres carrés, pour l'avoine, 53.960 mètres carrés, pour le trèfle. La surface des radicelles d'une betterave à la fin de sa végétation a été trouvée égale à 30 décimètres carrés, alors que la souche mesurait seulement 4 décimètres carrés de surface. Ces quelques chiffres montrent l'importance de la masse souterraine végétale, dépourvue de chlorophylle.

[1] *Chlorella*, *Hormococcus*, *Scenedesmus*, *Pleurococcus*, etc.

La chlorophylle manque dans les parties essentielles des fleurs, anthères, pollen, placentas, sacs embryonnaires, receptacles, corolles. Ces différentes parties peuvent former dans leur ensemble, une masse végétale importante; ainsi, pour le pollen, la fleur d'*Orchis mascula* produit, selon Darwin, 120.000 grains de pollen ; il y en a 240.000 grains environ, dans la fleur de pissenlit, de 3 à 4 millions, dans une fleur de pivoine ; les sapins d'Ecosse en produisent, de véritables nuages, « pluies de soufre ».

Un certain nombre de fleurs paraissent vertes, parce que le périanthe est réduit aux bractées ou au calice (Lemnacées, Joncacées, Monocotyl-Micranthées, Dicotyl- Monochlamydées, Hellébórées, etc.) ; les véritables corolles chlorophylliennes sont rares, *(Rosa viridiflora)*. Certaines fleurs vertes, renferment d'ailleurs des principes verts non chlorophylliens, tels que l'absinthe des sommités fleuries de l'armoise, le vert d'iris, tiré des fleurs vert d'eau de certains *Ixia*, la matière verte résultant de la dessication des fleurs de violettes, ou de l'action des alcalis, sur l'anthocyanine qu'elles contiennent. — Il y a de nombreux calices *(Clematis*, *Fuchsia*, Grenadier,) et bractées (Broméliacées, *Bougainvillea*, *Richardia*, *Anthurium)*, qui ont des pigments différents de la chlorophylle; elle manque dans les organes scarieux, et les aigrettes, ainsi que dans la plupart des graines ; par exception, les embryons d'*Evonymus*, d'*Acer*, de *Raphanus*, d'*Astragalus*, de *Celtis*, de *Tropœolum*, de *Pistacia*, de *Geranium*, de *Cephalaria*, du Gui et de quelques cellules des pépins de *Cucurbita* sont chlorophylliens ;

Même dans les tiges et les feuilles, la chlorophylle fait défaut en plusieurs cas ; elle est très raréfiée dans quelques Orchidées parasites, *Neottia nidus-avis*, dont les cellules renferment quelques grains bruns, *Limodorum abortivum*, dont la tige est colorée en violet ; elle manque dans les Balanophorées *(Balanophora*, *Cynomorium*, *Helosis*, etc.*)*, et dans les Rafflésiées *(Hydnora*, *Cytinus*, *Rafflesia*, etc.) contenant chacune environ 35 espèces de plantes, se rattachant aux Loranthales, de couleur brune, jaune ou rouge, de consistance charnue, parasites sur les racines et les branches des arbres tropicaux ; elle manque dans les *Cassytha* (Daphnales) volubiles sur les tiges à la façon des Cuscutes ; dans les Cuscutes (Polémoniales), dans les Monotropées, Ericales humicoles *(Monotropa*, *Hypopitis*, etc.*)*, et dans les Orobanchées (Scrofulariales). Toutefois il ne faut pas

attribuer trop promptement ce manque de chlorophylle à la nature saprophytique ou parasitaire de ces plantes, car on connaît de nombreux végétaux chlorophylliens [1] fixés sur d'autres végétaux.

La chlorophylle, dans un certain nombre de feuilles, cède la place principale à d'autres pigments [2]; dans le hêtre pourpre, le *Coleus*, le *Lobelia ignea*, l'arroche rouge, les cellules des deux épidermes foliaires sont envahies par la matière rouge; dans la betterave rouge, le *Prunus Pissardi*, la matière rouge existe dans les vacuoles de tous les tissus de la feuille; chez l'*Arum maculatum*, le coudrier pourpre, le sycomore pourpre, le canna à feuilles rouges, la matière rouge se trouve dans les cellules palissadiques; il en est de même chez le *Pelargonium* à feuilles maculées, l'épine vinette pourpre, les jeunes pousses rouges de chêne, de pivoine, de rosiers. La matière rouge se développe beaucoup à l'automne et on l'observe, à côté des chloroplastides jaunis ou désorganisés, dans toutes les cellules de la feuille de vigne-vierge, de vigne ordinaire (Petit Bouschet, Gamay, Teinturier) de mahonia, de cornouiller, de viorne, d'oseille, de poirier, de prunier, de sumac, d'amaranthe, de chèvrefeuille, etc.

La chlorophylle manque aussi fréquemment en plusieurs points de la feuille, constituant des panachures en forme de taches, de bandes, de bordures, et qui sont recherchées comme effet ornemental par l'horticulture. De Candolle considère la panachure comme une maladie de laquelle sont susceptibles toutes les espèces végétales. Schlechtendal [3] donne la liste de toutes les plantes panachées en

[1] *Nostoc* du corps des *Lemna* et du thalle des *Hépatiques; Anabæna* du rhizome de *Gunnera*, de la racine de *Cycas*, de la feuille d'*Azolla; Hyella* et *Mastigocolées*, perforantes des coquilles; *Stichococcus* des *Polypores*, *Scotinosphæra* des cellules mortes des plantes aquatiques; *Chlorochytrium* du corps des *Lemna; Phyllobium* (Siphonée), dont le filament s'insinue entre les vaisseaux des nervures de feuilles de Lysimaque nummulaire; *Phyllosiphon* (Siphonée) se développant entre les cellules de la feuille d'*Arisarum vulgaris; Cephaleuros* (Confervacée) des feuilles de Camélier; *Dermatophyton*, *Phycopeltis*, *Trichophylus*, *Gomontia*, etc.; citons encore parmi les Algues brunes, *Navicula*, *Chetoceros*, et parmi les Floridées, *Chantransia* et *Balbiania* des Batrachospermes.

Parmi les Phanérogames, les hémi-parasites suivants sont chlorophylliens : 500 espèces de Loranthacées *(Gui, Loranthus, Dendrophthora*, etc.), plusieurs Santalacées *(Myzodendron, Thesium);* les Rhinanthées (Scrophulariales) *(Melampyrum, Pedicullaris, Bartsia, Euphrasia);* le *Goodyera repens* (Orchidée).

[2] Griffon, *Assimilation chlorophyllienne* (biblioth. scientif.).

[3] *Linnæa*, 1830, p. 494.

jaune et en blanc ; leur nombre est beaucoup plus grand aujourd'hui.

Il faut tenir compte aussi de ce que la chlorophylle, dans la plupart des végétaux de nos climats, manque ou existe en quantité très faible durant près de la moitié de l'année, depuis la chute des feuilles jusqu'au débourrement des bourgeons; dans les espèces septentrionales ou alpines, la végétation verte est encore plus éphémère; dans les espèces à feuilles persistantes, il faut tenir compte du brunissement hivernal, qui est déjà une altération de la chlorophylle.

Tandis que la chlorophylle est répandue dans la plupart des cellules des Algues vertes, elle est beaucoup plus localisée dans les tissus des plantes supérieures et se rencontre spécialement dans la région périphérique des tissus exposés à la lumière, dans les assises sous-épidermiques du parenchyme des tiges et des feuilles. Or, ces assises constituent en général un tissu très lâche, interrompu par de nombreux méats et lacunes, ce qui diminue d'autant l'étendue de la région occupée par la chlorophylle. C'est seulement à la face supérieure d'un certain nombre de feuilles que le mésophylle présente quelques assises palissadiques serrées, plus riches en chloroplastides; et d'ailleurs, ce caractère est instable, car il dépend de la station du végétal et, dans une certaine mesure, de la nature des aliments. Le tissu palissadique, plus développé, plus abondant en chlorophylle dans les plantes de montagne, se restreint, s'appauvrit si les mêmes plantes végètent en plaine, dans une atmosphère plus humide, sous une lumière moins crûe ou par le fait d'une alternance de température moins tranchée entre le jour et la nuit, comme il résulte des expériences de M. Bonnier[1] sur *Berberis vulgaris*, *Circea Lutetiana*, *Teucrium Scorodonia*. Sous l'influence d'une lumière électrique continue, la chlorophylle s'est developpée au contraire dans des cellules de *Stachys tuberifera*, qui n'en contiennent pas à l'état normal, par exemple jusque dans l'endoderme, les rayons médullaires et la moelle.

Il suffit même d'exposer aux radiations simples une plante feuillée pour voir les palissades chlorophyliennes qui se développaient sous la lumière bleue, se réduire sous les rayons rouges et sous les verts principalement[2].

[1] Bonnier, *Revue générale de Botanique*, t. VI et VII.
[2] Theodoresco, *Ann. Sc. nat. bot.*, 8e s., t. X.

Quant à l'aliment, on sait que le calcaire et le sel marin déterminent le jaunissement dans les plantes non calcicoles et non halophiles, tandis qu'au contraire les plantes chlorosées reverdissent sous l'action du sulfate ferrique et que la verdure des céréales s'accentue par l'apport de nitrates.

Si la chlorophylle est répandue dans une partie du parenchyme, on ne l'observe que très rarement dans les autres tissus. Elle manque, le plus souvent, dans les épidermes, dans les assises subéreuses, dans les sclérenchymes, dans les tissus sécréteur et excréteur, dans l'endoderme, dans le péricycle, dans les faisceaux libériens et ligneux, dans la moelle. Cependant, il y a des exceptions : on la rencontre dans l'assise superficielle des tiges de Mousses, dans les cellules épidermiques de la face inférieure de plusieurs feuilles, notamment de celles des Fougères, dans les cellules stomatiques, dans l'épiderme des feuilles aquatiques (*Elodea*, *Ceratophyllum*, *Ranonculus aquatilis*, etc.), dans quelques poils tecteurs.

Elle existe dans les cellules subéreuses du sureau, dans les cellules sécrétrices de plusieurs Composées et de la feuille de *Gingko*, dans la zone interne du péricycle de *Berberis*, dans les rayons médullaires et les parenchymes libériens et ligneux de plusieurs plantes. Il n'en est pas moins vrai que la plus grande partie des tissus des grands végétaux est dépourvue de chlorophylle ; les troncs et l'ensemble des rameaux renferment seulement quelques assises de cellules chlorophylliennes dont l'épaisseur est négligeable par rapport à la masse considérable du bois et des autres tissus.

Enfin le contenu des cellules chlorophylliennes n'est pas complèment chlorophyllien ; le protoplasme n'est d'un vert homogène que dans quelques cas particuliers (cellules embryonnaires des Légumineuses, en voie de germination) ; le plus souvent un protoplasme nucléé incolore, plus ou moins vacuolisé, est nettement distinct de la matière verte qui se présente soit sous forme d'une seule masse (chromatophores des Algues), soit sous forme de grains de chlorophylle ou chloroplastides.[1]

[1] La quantité de chlorophylle est extrêmement faible, dans la cellule ; ainsi dans le *Ricinus communis*, il y a seulement 0 gr. 38 de chlorophylle par mètre carré de surface foliaire, d'après Chodat.

Ainsi les pigments chlorophylliens manquent dans tous les Thallophytes, sauf les Algues, — occupent une place secondaire dans toutes les Algues, sauf les Chlorophycées, — et font parfois défaut même dans ces Chlorophycées.

Ils manquent également dans tout l'appareil radiculaire souterrain des végétaux vasculaires, dans les parties essentielles de leur appareil de reproduction, dans la plus grande partie des tissus des troncs, et de leurs ramifications, qui composent la charpente végétale; ils manquent quelquefois même, dans le parenchyme foliaire de certaines espèces, soit complètement soit partiellement.

Contrairement aux apparences, on peut donc dire que la chlorophylle occupe une place *réduite* dans la masse végétale.

II. — ESQUISSE TOPOGRAPHIQUE SUR LA CHLOROPHYLLE DES ANIMAUX

La chlorophylle est plus répandue, qu'elle ne le paraît, dans les animaux. Elle existe dans le plus grand nombre, puisque le plus grand nombre est herbivore ou omnivore. Mais tandis que chez les végétaux elle est apparente et occupe les parties superficielles de la masse, elle est souvent masquée au contraire chez les animaux et occupe les parties centrales, principalement l'intérieur du tube digestif.

Or, on sait que ce tube digestif égale 10, 12 et jusqu'à 30 fois la longueur du corps dans les Mammifères herbivores (28 fois chez le lapin), au lieu de 3 à 5 fois, dans les carnivores; 5 à 9 fois dans les Oiseaux herbivores au lieu de 2 à 3 fois dans les carnivores; on constate des différences de même ordre chez les Amphibiens, les Reptiles et aussi chez les Insectes selon qu'ils sont ou non herbivores. De plus, chez les Mammifères herbivores, le cæcum intestinal est très développé, formant comme un deuxième estomac. D'ailleurs, on sait que l'estomac est divisé chez les Ruminants en plusieurs poches, dont la panse seule chez les Bovidés et Ovidés présente un volume allant jusqu'à 40 ou 45 décimètres cubes et rarement inférieure à 15 décimètres cubes.

Or, tout ce canal digestif est presque continuellement parcouru par la chlorophylle. La quantité de chlorophylle passant annuelle-

ment dans le tube digestif d'un cheval est équivalente à celle des herbes qui couvrent 1 hectare. Il en est de même de celle des Bovidés, qu'on exploite à raison d'une tête de bétail par hectare de pré. Sans doute, la chlorophylle d'ingestion ne séjourne pas longtemps dans le tube digestif, mais une nouvelle quantité de chlorophylle fraîche vient remplacer incessamment celle qui est expulsée avec les excréments, de sorte que le tube digestif ne cesse guère d'être chlorophyllien ; d'ailleurs, tandis que la digestion intestinale dure seulement 24 heures chez les carnassiers, elle se prolonge beaucoup plus chez les herbivores, et dure au moins 8 jours chez le lapin.

Quant aux Invertébrés herbivores, par exemple aux Insectes herbivores, si la surface du tube digestif de chacun est négligeable, il ne faut pas oublier que leur fécondité compense leur petitesse, que les feuilles de forêts entières de pins ont disparu sous l'attaque des chenilles processionnaires, qu'on compte 537 insectes différents parasites sur le chêne d'Europe, et 486 parasites sur le saule d'Amérique, et que pour 150.000 espèces de végétaux il y a près de 400.000 espèces d'Insectes. La surface digestive, et par suite chlorophylienne de l'ensemble des Insectes herbivores, n'est donc pas négligeable.

Mais la chlorophylle n'existe pas seulement dans le tube digestif des animaux; on l'a signalée encore dans divers tissus (foie); même on rencontre, quelquefois, dans les cellules animales, des corps chlorophylliens, susceptibles de se multiplier par division et qui ont été désignés en 1881 par Brandt sous le nom de *Zoochlorelles*.

Il existe des animaux chlorophylliens dans toutes les branches de la classification animale[1] :

Protozoaires. — La chlorophylle se rencontre très rarement à l'état *diffus*, dans le protoplasma des Protozoaires; Engelmann l'a signalée toutefois dans quelques exemplaires de *Vorticella campanula*, où la coloration verte lui apparaît homogène, et localisée dans l'ectoplasme; cette variété de vorticelles fut appelée *Vorticella convallaria*. La chlorophylle diffuse aurait été rencontrée aussi dans

[1] Pour la bibliographie, se rapporter à mon index bibliographique; voir aussi Bouvier, *Bull. Soc. Philomatique*, 8e ser., t. V, n° 2.

Cothurnia crystallina par Engelmann, dans *Vorticella chlorostigma* par Sallitt, dans *Stentor Mülleri* par Ryder.

Le plus souvent la chlorophylle existe dans le protoplasme des Protozoaires à l'état de Zoochlorelles, qui sont répandues soit dans l'ectoplasme soit dans l'endoplasme.

Parmi les *Rhizopodes amébiens*[1], ont à peu près constamment des zoochlorelles, les espèces suivantes : *Pelomyxa viridis*, *Cochliopodium vestitum*, *Hyalosphenia papilio*, *Difflugia pyriformis*, *Ditrema flavum*. On peut citer encore *Amæba proteus* et *Dactylosphærium vitreum* d'après Brandt ; et *Difflugia globosa*, *D. nodosa*, *D. acuminata* d'après Penard.

Parmi les *Rhizopodes héliozoaires*, *Heterophrys myriopoda* et *H. spinifera*, *Raphidiophrys viridis* et *R. elegans*, *Acanthocystis turfacea* sont principalement munis de Zoochlorelles. Brandt les signale encore dans *Actinosphoerium Eichhorni* et *Sphoerastrum Fockii*.

De plus, outre les Zoochlorelles, l'ectoplasme des Héliozoaires chlorophylliens contient des formations analogues, qui sont jaunâtres ; quelquefois même, dans l'*Acanthocystis pallida* par exemple, il ne reste plus de Zoochlorelles, et l'animal ne renferme que des corpuscules jaunâtres, auxquels Brandt a donné le nom de *Zooxanthelles*.

Parmi les *Infusoires ciliés*, sont plus spécialement porteurs de Zoochlorelles : *Paramœcium bursaria*, *Frontania leucas*, *Stentor polymorphus*, *Strichotricha secunda*, *Ophrydium versatile*, *Cothurnia crystallina*, *Euplotes patella*, *Vorticella nebulifera*, *Spirostomum ambiguum*, *Lacrymaria olor*. Cependant, *Lacrymaria olor* et *Strichotricha secunda* en renferment peu.— *Stentor polymorphus* est presque constammment coloré en vert par un grand nombre de Zoochlorelles ; au contraire, *Stentor Rœselii* qui est de mêmes dimensions, n'en renferme pas ; *Stentor igneus* contient des Zoochlorelles, et, de plus, un pigment rouge finement distribué dans l'ectoplasme ; *Stentor cœruleus* est exempt de Zoochlorelles, mais a le protoplasme intensivement coloré en vert bleu. Claparède et Lachman font observer que certaines espèces d'Infusoires ont été appelées par exemple *Leucophrys patula* quand elles sont incolores, et *Spirostomum virens* quand elles contiennent des Zoochlorelles ; il en est de même

[1] Blochmann, *Die mikr. Thierwelt des Süsswassers*, Hamburg, 1895.

pour *Frontania leucas* et *Frontania vernalis*. On rencontre quelquefois des espèces d'Infusoires, sans Zoochlorelles, mais colorés par des granules très ténus habituellement jaunâtres comme dans *Oxytricha fusca*, *O. urostyla* et divers *Prorodon*.

Comme Infusoires ciliés, munis de Zoochlorelles, Brandt, Penard et Bütschli citent encore : *Enchelys pupa*, *E. gigas*, *Coleps hirtus*, *Leucophrys emarginata*, *Urostyla viridis*, *Loxodes rostrum*, *Limotus fasciola*, etc. En effet, à part quelques espèces comme *Paramœcium bursaria*, *Stentor polymorphus*, *Ophrydium versatile*, etc., un grand nombre d'Infusoires ciliés tantôt renferment des Zoochlorelles et tantôt en sont dépourvus, de telle sorte que certaines espèces classées comme chlorophlyliennes par un observateur, se trouvent classées parmi les incolores, par un autre, et inversement.

Parmi les *Infusoires flagellés* ou *Mastigophorés*, il existe un grand nombre d'espèces chlorophylliennes ; cependant les auteurs ne sont pas d'accord sur leur place dans la classification ; pour les uns, ces êtres sont des végétaux du groupe des Algues et, pour les autres, ce sont des animaux du groupe des Protozoaires. Quoi qu'il en soit, les Flagellés chlorophylliens ne renferment pas de Zoochlorelles, mais sont munis de chromatophores identiques à ceux des Algues. Les Flagellés chlorophylliens appartiennent principalement aux genre *Euglena*, *Colacium*, *Eutreptia*, *Ascoglena*, *Trachelomonas*, *Phacus*, parmi les Euglenidiens, et aux genres *Chlorogonium*, *Chlamydomonas*, *Phacotus*, *Gonium*, *Pandorina*, *Stephanosphœra*, *Eudorina*, *Volvox*, parmi les Phytomonadiniens. — De plus, il existe des Flagellés à chromatophores jaunes, bruns, jaune verdâtre ou brun verdâtre, dans les genres *Chromulina*, *Nephroselmis*, *Cryptomonas*, *Chrysopyxis*, *Dinobryon*, *Synura*, *Uroglena*, etc., parmi les Chromomonadiniens. Les auteurs qui rattachent aux Algues les Flagellés chlorophylliens en exceptent généralement l'*Anisonema viridis*, qui est un Protozoaire flagellé, muni de Zoochlorelles.

Parmi les *Péridiniens*, on rencontre des chromatophores verdâtres ou brunâtres dans certains *Ceratium*, et dans certains *Peridinium*. Danysz a trouvé dans le *Gymnodinium Musei*, des granulations chlorophylliennes d'autant plus nombreuses que les individus sont plus volumineux.

Spongiaires. — L'Eponge d'eau douce, *Spongilla fluviatilis*, renferme des Zoochlorelles ; il est des exemplaires de ce Spongiaire, qui sont verts, d'autres partiellement verts, d'autres brunâtres. C'est l'observation des corps verts de *Spongilla fluviatilis* qui, pour la première fois en 1824, donna l'idée à Bory de Saint-Vincent[1] que ces corps verts pourraient bien être des Algues parasites.

Mac-Munn[2] a signalé la présence de la chlorophylle dans les extraits alcooliques des Spongiaires suivants : *Halichondria sanguina*, *panicea*, *caruncula*, *incrustans et seriata*, *Halina Bucklandi*, *Grantia coriacea*, *Leuconia Gossei*, *Pachymastina Johnstonia*. Krukenberg indique aussi l'existence de chlorophylle dans l'extrait alcoolique de *Halichondria albescens*, et *Hymeniacidon albescens*.

Cœlentérés. —Siebold[3], en 1849, observe dans *Hydra viridis* des corps verts qu'il attribue à la chlorophylle ; cette opinion est confirmée par Max Schultze[4], Brandt, etc. Ici, la présence de corps verts ou Zoochlorelles constitue presque un caractère spécifique, car on ne rencontre pas de Zoochlorelles dans *Hydra fusca*, ni dans *Hydra grisea*. Les Zoochlorelles de *Hydra viridis* sont localisées dans les cellules endodermiques. On a signalé des Zooxanthelles dans la cavité gastro-vasculaire des éphyses de *Cotylorhiza* et dans les pseudo-vaisseaux des *Véllelles*. La chlorophylle accumulée dans les tentacules des Actinies (*Anthea cereus*, etc.), se rapporte à la chlorophylle des voies digestives. Il en est de même de celle signalée par Krukenberg dans divers Coralliaires.

Echinodermes. — On a signalé chez les Astéries, une accumulation de chlorophylle dans les cæcums ramifiés des bras de l'animal, notamment chez *Uraster rubens*, *Goniaster equestris*, *Asterias aurantiaca*. On a observé des granulations brunes chlorophylliennes sur la face externe des parois de l'intestin et du canal madréporique d'*Echinus esculentus*.

Vers plats. — Les Zoochlorelles ont été observées dans le groupe

[1] Brandt, *Arch. für Physiol.*, 1882.
[2] Mac-Munn, *Proceed. roy. Soc. London*, XXXV, 1883.
[3] Siebold, *Zeitsch. wiss. Zool.*, I Bd 1849.
[4] Schultze, *Zeitsch. wiss. Zool.*, XXXII Bd 1879.

des *Turbellariés*, seulement. Dans le *Vortex viridis*, espèce verte très petite, qu'on trouve dans la vase des étangs; dans le *Convoluta Roscoffensis* ou *Schultzii* très abondant sur les côtes de la Manche, aux environs de Roscoff.

Graff[1] cite encore parmi les Turbellariés chlorophylliens *Mesostomum viridatum, Derostomum Galizianum, Hypostomum viride ;* Gesa Entz cite le *Derostomum Schmidtianum.*

Trochozoaires : *Rotifères.* Penard a signalé des Zoochlorelles dans *Ascomorpha helvetica.*

Bryozoaires. Mac-Munn a caractérisé la chlorophylle dans l'extrait alcoolique de *Flustra foliacea ;* elle existerait dans ce Bryozoaire à l'état de corpuscules bruns.

Géphyriens. Citons pour mémoire *Bonellia viridis* dont le pigment vert a été attribué à la chlorophylle par Ray-Lankester, et dont Sorby[2] et R. Dubois ont démontré la nature très différente.

Mollusques. Brandt a observé des corps verts très déformables et diffusibles dans le système tubulaire contractile du manteau d'*Elysia viridis.* Il en serait de même dans un autre Gastéropode marin du genre *Actœon (A. viridatum)* selon Ray-Lankester. Brock[3] a vu des corpuscules renfermant chacun un grand nombre de granules verts très fins, remplissant avec le sang les lacunes palléales des Lamellibranches du genre *Tridacna*, et s'accumulant dans les tissus qui entourent les organes hypocratériformes des bords du manteau ; ces corpuscules manquent au contraire dans les gros vaisseaux palléaux à parois propres.

Krukenberg, Mac-Munn ont caractérisé la chlorophylle dans les extraits alcooliques de l'hépatopancréas de nombreux Mollusques :

Lamellibranches : *Ostrea edulis, Mytilus edulis, Cardium edule, Anodonta cygnea ;*

Gastéropodes : *Buccinum undatum, Fusus antiquus, Purpura lapillus, Littorina littorea, Aplysia depilus, Tethys fimbria, Helix aspersa, H. pomatia, H. citrina, Arion ater, Liman flavus, etc. ;*

Céphalopodes : *Octopus vulgaris, Eledona moschata.*

[1] Graff, *Zool. Anzeiger*, VII Jahr, 1884.
[2] Sorby, *Quat. Journ. micr. Sc.*, XV, 1875.
[3] Brock, *Zeitsch. wiss. Zool.*, 46e Bd. 1888.

La présence de la chorophylle dans l'hépatopancréas de l'escargot a été confirmée par les recherches de Dastre et Floresco, qui en ont également trouvé dans la coquille. M. Dubois a signalé, à la surface de la *tige cristalline* de *Pholas dactylus* des Algues unicellulaires commensales.

Annélides. L'*Ælosoma variegatum* renferme dans ses cellules intestinales des corps verts déformables, regardés comme des Zoochlorelles par Zacharias et Brandt, et comme des gouttes d'huile par Vedjovski et Beddard.

L'extrait alcoolique des tissus de *Chœtopterus insignis*, séparés préalablement du tube digestif, contient de la chlorophylle. Newbigin a confirmé ce fait et l'a étendu à d'autres Annélides.

Arthropodes : *Crustacés.* Krukenberg, Mac-Munn ont reconnu les caractères de la chlorophylle dans les extraits alcooliques du foie des divers Crustacés :

Grapsus mormoratus, *Carcinus mœnas*, *Pilumnus villosus*, *Eriphia spinifrons*, *Homarus vulgaris*. Geddes montre que le pigment vert d'*Idotea viridis* que Ray-Lankester avait attribué à la chlorophylle, est différent.

Arachnidiens. Krukenberg signale la chlorophylle dans le foie de *Buthus occitanus*.

Insectes. La chlorophylle est caractérisée par Pocklington en 1873, dans la liqueur alcoolique de macération des élytres de *Cantharis vesicatoria* ; par Hénocque, dans celle des téguments de diverses Sauterelles et Acridiens. Becquerel et Brongniard regardent comme des granulations chlorophylliennes les petites masses vertes enfermées dans les cellules hypodermiques de *Phylium siccifolium*. Poulton en 1893, reconnaît que le pigment vert de certaines chenilles dérive de la chlorophylle des feuilles dont elles se nourrissent. Mlle de Linden observe récemment l'absorption et la fixation d'acide carbonique avec accroissement de poids par quelques chrysalides de *Papilio podalirius*. MM. Conte et Levrat regardent comme de la chorophylle la matière verte de la soie de *Antherea Yama-Maï*.

Chordés : *Tuniciers.* La chlorophylle existe dans les téguments des Protoascidiens.

Vertébrés. Schunk et Marchlewsky ont retiré de l'hématine du

sang des Vertébrés, à laquelle on a soustrait le fer, une subtance de formule $C^{16} H^{18} Az^2 O^3$, l'hématoporphyrine, isomère de la phylloporphyrine $C^{16} H^{18} Az^2 O$, dérivée de la chlorophylle par l'action des alcalis à chaud.

L'hématoporphyrine polymérisée donne la bilirubine $2 (C^{16} H^{18} Az^2 O^3)$. On sait que Stokes et Armand Gautier ont signalé une série d'analogies entre la chlorophylle et la biliverdine.

CHAPITRE II

BIOLOGIE DE LA CHLOROPHYLLE

ESQUISSE BIOLOGIQUE SUR LA CHLOROPHYLLE DES VÉGÉTAUX

La biologie de la chlorophylle végétale est une des questions les plus compliquées de la physiologie. Tschirch[1] indique plus de six cents publications sur ce sujet, parues de 1723 à 1884, et ce nombre est encore augmenté dans l'index bibliographique, continué par Marchlewsky[2] jusqu'en 1895. J'ai essayé de classer ces nombreux travaux en les rapportant à trois périodes, qui me paraissent résumer dans ses traits essentiels l'histoire de la chlorophylle végétale.

Dans la période ancienne, que j'étends jusque vers 1835, on découvre le dégagement d'oxygène et l'absorption de gaz carbonique par les parties vertes ou susceptibles de le devenir, et on admet que le gaz carbonique est *décomposé* en carbone, qui se dépose dans les tissus et en oxygène qui se dégage ; toutefois on reconnaît qu'à côté de cette source de carbone, les plantes puisent par leurs racines, dans le sol et spécialement dans l'humus, une quantité notable de matières organiques qui sont directement assimilées. La chlorophylle ou matière verte des feuilles est regardée non pas comme la cause de la décomposition du gaz carbonique, mais comme l'effet, le produit de cette fonction; on observe dans les cellules les *grains de chlorophylle* que l'on considère comme des *vésicules* creuses et, même d'après certains, comme des rudiments de cellules; on extrait des feuilles, par l'alcool, après dégraissage à l'éther, le principe colorant vert, qui est regardé comme un dérivé d'un principe fondamental, la *chromule*, générateur de toutes les colorations des plantes.

[1] *Untersuchungen über das Chlorophyl*, Parey, Berlin, 1884.
[2] *Die Chemie des Chlorophyls*, Voss. Leipsig, 1895.

Dans la deuxième période, que je termine vers 1893, on mesure le rapport $\frac{CO^2}{O}$; on attribue seulement une partie de l'oxygène dégagé à la décomposition de CO^2 absorbé et le surplus à la décomposition de l'eau des tissus. On distingue, à côté de l'action chlorophyllienne, une fonction respiratoire et, à côté de la transpiration, une « chlorovaporisation », et on fait la part de chacun de ces phénomènes dans les échanges gazeux. On voit dans les grains de chlorophylle de simples granulations du protoplasme cellulaire, colorées par le mélange de plusieurs éléments ; on constate que la chlorophylle présente un *spectre d'absorption*, qu'elle agit comme un écran et que les radiations absorbées par les bandes obscures sont les agents de l'assimilation du carbone ; on regarde la production des hydrates de carbone comme le résultat principal de cette assimilation et, sous l'influence des idées de Liebig sur la nutrition minérale des plantes, on nie l'assimilation du carbone organique et on admet que le gaz carbonique est la seule source du carbone des végétaux.

Dans la période contemporaine le cadre de la fonction chlorophyllienne s'élargit : on attribue le dégagement d'oxygène à une réduction partielle non seulement du gaz carbonique mais des nitrates, des phosphates, des sulfates et autres composés oxygénés absorbés par la plante ; on rattache l'élaboration des hydrates de carbone, à celle des albuminoïdes et des autres principes immédiats complexes, et on fait entrer en ligne de compte dans cette élaboration générale du protoplasme non seulement les radiations absorbées par la chlorophylle, mais aussi la respiration intracellulaire et l'activité des diastases. Au lieu d'une chlorophylle uniforme dans toutes les plantes, on distingue *plusieurs chlorophylles* dans la même plante, ayant chacune un rôle différent, les unes utilisées par le protoplasme à la formation des hydrates de carbone, d'autres à celle des corps gras, d'autres à celles de corps plus complexes, toutes ces actions d'élaboration étant plus ou moins entremêlées ou dépendantes les unes des autres. Enfin, on reconnaît que si la plante retire le carbone principalement du gaz carbonique absorbé, elle est apte aussi à assimiler, quoiqu'en moindre proportion, le carbone organique.

Je vais entrer dans quelques détails sur chacune de ces trois

périodes de l'histoire de la chlorophylle, en rappelant les travaux qui ont le plus contribué à ses progrès.

PREMIÈRE PÉRIODE OU PÉRIODE ANCIENNE

Les travaux qui s'y rapportent sont ceux de Bonnet[1], Priestley[2], Ingenhousz[3], Spallanzani[4], Senebier[5], Woodhouse, Sprengel, Vahlenberg, De Saussure[6], Link, Palmer, Pelletier[7] et Caventou, Turpin et Raspail, De Mirbel, Macaire, De Candolle[8], Treviranus, mais c'est d'abord et principalement Senebier, pasteur, naturaliste genevois, puis Théodore De Saussure également d'une famille de naturalistes genevois, — que l'on doit considérer comme les fondateurs de la question chlorophyllienne.

Le fait capital, découvert à cette époque, est que les parties végétales *vertes* ou *susceptibles de verdir*, absorbent l'acide carbonique et exhalent de l'oxygène, à la lumière solaire. Priestley avait montré le rôle épurateur des végétaux, Ingenhousz avait vu que ce phénomène a lieu seulement quand le végétal est exposé à la lumière; c'est Senebier qui observe :

1° Que ce phénomène ne tient pas à la surface des feuilles, — qu'il subsiste quand on enlève la cuticule et qu'il a exactement son siège dans le *parenchyme* des *parties vertes* ;

2° Que la matière qui remplit les cellules du parenchyme prend sa coloration verte, seulement après que l'organe a été exposé à l'action des rayons solaires et par suite après qu'il a absorbé le gaz carbonique et en a fixé le carbone; ainsi la matière verte est non pas une des causes, mais un des effets de l'assimilation ;

[1] Charles Bonnet (1720-1793), né à Genève, philosophe et naturaliste (*Recherches sur l'usage des feuilles*, 1754). A tâché d'établir dans sa *Palingénésie*, la nécessité d'une autre vie non seulement pour l'homme, mais aussi pour les animaux.

[2] Priestley (1733-1804), physicien, né en Angleterre, fait citoyen français (*Expériences sur les diverses sortes d'air*, 1775). Il fut le premier à découvrir l'oxygène, qu'il nomme air déphlogistiqué; l'oxygène doit son nom à Lavoisier, 1775.

[3] Ingenhousz (1730-1799), né en Hollande, médecin de la famille Impériale à Vienne (*Expériences sur les végétaux*, 1779).

[4] Spallanzani (1729-1799), naturaliste italien (*Opuscules de physique animale et végétale*, 1769). Il admet les germes préexistants.

[5] Senebier (1742-1809), Mémoires physico-chimiques (*Physiologie végétale*, 1783).

[6] De Saussure (1767-1845), *Recherches chimiques sur la végétation*, 1804. Fils d'Horace de Saussure, l'explorateur du Mont-Blanc.

[7] Pelletier (1788-1842), pharmacien-chimiste (voir *Journ. pharm.* 3, p. 486 et *Annal. de chim. vét.*, 1818). C'est l'inventeur du sulfate de quinine.

[8] Pyrame de Candolle (1778-1841), botaniste, né à Genève (*Prodromus regni vegetabilis. Organographie*, 1827. *Physiologie végétale*, 1832.

3° Que ce phénomène dépend essentiellement de l'état de *vitalité* de la cellule et que les parties végétales, encore vertes, mais mortes, ne dégagent plus d'oxygène ;

4° Que l'oxygène dégagé ne provient pas d'une condensation de l'air dans la feuille, puisque des feuilles épuisées d'air par la pompe pneumatique dégagent de l'oxygène, comme à l'ordinaire, sous l'eau, au soleil ;

5° Que cet oxygène ne provient pas non plus d'une décomposition de l'eau au contact de la feuille, puisque des feuilles, placées au soleil, soit dans l'eau bouillie, soit dans l'eau distillée pure ou additionnée d'azote, d'hydrogène ou même d'oxygène, ne dégagent pas d'oxygène. — Spallanzani avait vu que des plantes grasses dégagent un peu d'oxygène au soleil sous l'eau distillée, mais il reconnut avec Senebier qu'elles en dégagent beaucoup plus dans l'eau carbonique, soit dans la proportion de 150 à 11 ;

6° Que les feuilles dégagent constamment de l'oxygène, un moment après qu'on a ajouté à l'eau qui les entoure, un peu de gaz carbonique et que la quantité d'oxygène dégagé est plus grande dans l'eau contenant artificiellement une certaine quantité d'acide carbonique, que dans l'eau ordinaire; ainsi une tige de framboisier donne un volume d'air égal à 108 grains dans l'eau ordinaire, et un volume d'air égal à 1664 grains, dans l'eau carbonique ;

7° Que l'oxygène dégagé ne provient pas uniquement de la décomposition du gaz carbonique absorbé par les feuilles, mais qu'il provient pour la moitié au moins, de la décomposition de l'acide carbonique apporté par la sève des parties radiculaires du végétal. L'auteur plaça deux branches de pêchers sous des récipiens pleins d'eau, le bas des branches sortant des récipiens et plongeant dans des bouteilles ; l'une des bouteilles contenait de l'eau chargée d'acide carbonique, et l'autre était vide ; or, la quantité d'oxygène recueillie fut seulement de 2535 grains pour la branche plongeant dans la bouteille vide, tandis qu'elle fut de 4815 grains, pour l'autre branche [1].

Th. de Saussure confirma et compléta les travaux de de Senebier. On se rappelle son expérience fondamentale : il détermine par une analyse préalable la quantité moyenne de carbone contenue dans des plantules de pervenches, d'un poids et d'un volume connus. Puis il place sept plantules de pervenches sous un récipient d'air atmosphérique contenant 7 1/2 pour 100 de gaz carbonique et sept autres plantules de pervenches sous un récipient d'air atmosphérique dépourvu de gaz carbonique, les racines plongeant dans les deux lots, dans l'eau distillée. Au bout de six jours d'exposition au soleil, il retire du premier lot, les pervenches en bon état de santé et constate que l'atmosphère du récipient, qui contenait 7 1/2 pour 100 de gaz carbonique, non seulement n'en contient plus, mais

[1] Il est curieux de voir qu'à peu près à la même époque et sans connaître probablement les travaux de Senebier, un savant américain, Woodhouse, arrivait aux mêmes résultats.

renferme 24 1/2 pour 100 d'oxygène; en outre, les pervenches analysées fournissent 2,28 grains de carbone de plus que la teneur moyenne en carbone de plantules de pervenche de même poids et de même volume que celles-ci au moment de leur mise en expérience. Au contraire, les sept pervenches du second lot ne présentent aucun gain en carbone. — De Saussure répéta cette expérience avec la menthe aquatique, la salicaire, le pin sauvage, l'opuntia, et obtint les mêmes résultats.

Comme on le voit, les travaux de Senebier et de De Saussure jettent un jour presque complet sur la fonction chlorophyllienne.

Quant au pigment chlorophyllien lui-même, il est au contraire incomplètement étudié à cette époque. On considère d'abord les grains de chlorophylle comme de la fécule verte. Puis, en 1802, vient la théorie de Sprengel [1], qui regarde les grains d'amidon et ceux de chlorophylle comme des *vésicules* creuses au centre, formant les rudiments des cellules. Vahlenberg [2] voit leur origine dans la coagulation du suc cellulaire et distingue l'état granuleux et l'état glutineux de la matière verte. La plupart des physiologistes de cette époque, Turpin et Raspail, Meyen, Treviranus [3], admettent les vésicules chlorophylliennes.

La nature de la chlorophylle reste d'ailleurs mal définie, Link l'appelle matière colorante résineuse ; la coloration verte est attribuée par Mustel au mélange de la couleur jaune, propre aux membranes végétales, avec le phlogistique bleu que le soleil dépose dans la plante ; par Senebier au mélange de la couleur jaunâtre des tissus avec le carbone fixé, qui, en particules très divisées, n'est pas noir, mais bleu très foncé. Chevreul [4] reconnaît que le carbone très divisé dans l'eau et vu par transmission paraît bleu, et il montre qu'en broyant de l'encre de Chine avec de la gomme-gutte en diverses proportions, on peut imiter sensiblement les diverses teintes vertes des feuilles. De Candolle est frappé du fait que les organes foliacés passent graduellement à l'état de bractées ou de calices colorés, sans qu'on puisse présumer que la matière qui remplit leurs cellules ait complètement changé de nature ; il désigne donc sous le nom de *chromule* la matière qui cause toutes les couleurs des surfaces végétales, la chlorophylle étant, par suite, un simple état de la chromule, l'état chromulaire vert.

La matière verte des feuilles, d'abord appelée matière verte, viridine, chloronite, doit son nom de *chlorophylle*, aux chimistes Pelletier et Caventou qui l'étudièrent en 1818. Auparavant, les frères Rouelle en avaient les premiers obtenu une dissolution verte limpide. D'après Macaire et Thénard on la prépare ainsi : on traite par l'éther à l'ébullition la pulpe du parenchyme des feuilles, pour le dépouiller des corps gras et des cires ; on reprend par l'alcool rectifié le marc de cette pulpe,

[1] Sprengel, *Anleitung zur Kenntniss der Gewasche.*
[2] Vahlenberg, *De sedibus materiarum immediatis*, 1806.
[3] Treviranus, *Beitr. z. Pflanzenphysiologie*, 1835.
[4] Chevreul, *Chimie appliquée à la teinture.*

après l'avoir bien exprimé et lavé. En filtrant et en évaporant, on obtient une matière d'un vert foncé. Au moyen de l'eau bouillante on en sépare une matière extractive brune, et il reste la chlorophylle, qui n'est point cristallisable, qui est insoluble dans l'eau, soluble dans l'alcool, l'éther, les huiles grasses et essentielles, de même que dans les dissolutions alcalines de potasse et de soude, dans l'acide sulfurique concentré, l'acide acétique, etc.; Senebier regardait la chlorophylle comme très riche en carbone ; Pelletier et Caventou la considèrent comme une matière très hydrogénée. Dès 1835, Marquardt constate l'identité de toutes les solutions chlorophylliennes des diverses plantes.

DEUXIÈME PÉRIODE

Je fais partir cette deuxième période de l'année 1835, pour désigner une date approximative, car la question chlorophyllienne me paraît prendre, à cette époque, une orientation nouvelle.

Bandes spectrales. — C'est en effet en 1834 que Brewster[1] découvre qu'une solution de chlorophylle donne au spectroscope un spectre caractéristique, composé d'un nombre déterminé de bandes obscures, dont l'une, remarquable par sa largeur, sa netteté et sa constance, située entre B et C, et qu'on a désignée depuis sous le nom de bande de Brewster. La chlorophylle avait donc le pouvoir d'absorber certaines radiations solaires et il devait dès lors exister un rapport entre l'énergie ainsi emmagasinée et la décomposition de l'acide carbonique. Cette considération fut la base d'une série de recherches dont les dates jalonnent toute notre deuxième période : Daubeny (1836), Draper (1845), Cloëz et Gratiolet (1849), Sachs (1874), Cailletet (1867), Pfeffer (1871), Deherain (1873), Becquerel (1873), Chautard (1874), Timiriazef (1877 et 1885), Engelmann (1881-82-83-85-86). Il y eut quatre méthodes employées :

1° Celle du spectre, qui consiste à disposer côte à côte, en batterie, dans la région lumineuse du spectre solaire, un certain nombre d'étroites éprouvettes, pleines d'eau, renversées sur le mercure, séparées l'une de l'autre par des écrans noircis, et contenant chacune une feuille verte, dans l'eau, renfermant une quantité connue de gaz carbonique. Après six heures d'exposition, l'analyse du gaz carbonique disparu et de l'oxygène apparu dans les diverses éprouvettes montre l'action des diverses radiations lumineuses du spectre sur l'assimilation. Au lieu de recueillir l'oxygène, Sachs et Reinke principalement ont compté le nombre des bulles de ce gaz, s'échappant dans le même temps, de sections de feuilles exposées dans les diverses régions lumineuses du spectre.

[1] Brewster, On the colours of natural bodies (*Transactions of the Royal Society of Edimburgh*, t. XII).

2° Celle des écrans absorbants, où les éprouvettes sont disposées sous des dissolutions colorées monochromatiques, c'est-à-dire sélectionnant chacune autant que possible une seule espèce de radiations lumineuses.

3° Celle de l'impression photographique due à Becquerel, où une plaque, préparée avec du collodion au bromure d'argent, additionné de vert chlorophyllien, est placée sous un spectre continu ; après développement de la plaque, on constate l'impression des bandes caractéristiques de la chlorophylle ; donc, il s'est fait en ces points spécialement un travail photochimique, qui a décomposé le bromure d'argent.

4° Celle du microspectroscope ou des bactéries, due à Engelmann, qui consiste à faire tomber, dans le champ du microscope sur un filament d'Algue, et dans le sens de sa longueur, un spectre microscopique, obtenu à l'aide d'un appareil spécial ; dans la goutte d'eau contenant le filament, on a placé des microorganismes très avides d'oxygène, comme *Bacterium Termo* ; or, au bout d'un certain temps, ces bactéries s'amassent dans les points diversement éclairés du filament, où l'oxygène se dégage avec le plus d'intensité, de telle sorte que leur groupement dessine la courbe du travail assimilateur résultant de l'absorption des diverses radiations solaires par la chlorophylle.

Ces diverses expériences ont montré qu'il existe un rapport de cause à effet entre l'énergie absorbée par la chlorophylle et les échanges gazeux qui s'opèrent à la lumière dans les parties chlorophylliennes, c'est-à-dire entre les bandes spectrales et les réactions cellulaires de la chlorophylle. La quantité de gaz carbonique absorbé passe par un maximum dans le rouge entre B et C, au niveau même de la bande de Brewster ; c'est aussi en ce point que la quantité d'oxygène dégagé est la plus forte. L'influence des autres bandes sur le phénomène est, par contre, à peine sensible ; toutefois, la méthode des bactéries a permis de se rendre compte d'un dégagement important d'oxygène dans le bleu violet.

Distinction de la fonction respiratoire et de la fonction chlorophyllienne dans les échanges gazeux de la plante. — Peu à peu, on démêle l'action respiratoire, de l'action chlorophyllienne[1]. Lory étudie la respiration des Orobanches ; Garreau, la respiration dans la plante ; Boussingault établit que dans le phénomène assimilateur il ne se dégage que de l'oxygène, sans mélange d'azote [2], et que le rapport de l'oxygène apparu, à l'acide carbonique disparu égale sensiblement l'unité. Bonnier et Mangin[3], après être arrivés à séparer par l'anesthésie aux

[1] De Candolle écrivait en 1832 : « L'action de l'oxygène de l'air sur le charbon des parties végétales qui ne sont pas vertes, ne peut être considérée comme un véritable effet vital ; c'est une propriété chimique inhérente à ces corps. »

[2] De Saussure avait trouvé presque constamment une certaine quantité d'azote, mélangé à l'oxygène dégagé ; l'azote venait peut-être de l'air adhérent.

[3] Tory (*Ann. Sc. nat.*, 3e s., t. VIII) ; Garreau (*Ann. Sc. nat.*, 3e s., t. XV et XVI, 1851) ; Bonnier et Mangin (*Ann. Sc. nat.*, 6e s., t. XVI, XVII, XVIII, XIX et 7e s., t. II et III).

vapeur d'éther, l'action respiratoire de l'action chlorophyllienne dans la plante verte distinguent le quotient *respiratoire* $\frac{CO^2}{O} < 1$ et le quotient *assimilateur* $\frac{O}{CO^2} > 1$ et délimitent ainsi la part de chacune dans le phénomène des échange gazeux[1].

Rôle de la chlorophylle dans la vaporisation de l'eau par la plante. — Van Tieghem[2] en 1886, sépare nettement de la transpiration, la vaporisation de l'eau par la chlorophylle, fonction qu'il nomme *chlorovaporisation*. Il montre que cette fonction ajoute ses effets à ceux de la transpiration de telle sorte que le phénomène apparaît tout d'abord comme une transpiration exaltée, mais qu'en réalité 97,5 % de l'eau vaporisée au soleil par un plan de blé représente la part de la fonction propre à la chlorophylle et 2,5 % seulement, la part de la transpiration[3]. Van Tieghem calcule qu'un plan d'avoine cultivée, pendant les 90 jours environ de durée de sa végétation dégage 2 kil. 278 d'eau, ce qui fait 25.000 kilogrammes d'eau évaporée par 1 hectare d'avoine contenant un million de plants. « Un champ de maïs dégage par hectare contenant 30 plants au mètre carré, en 10 heures de jour, 36.300 kilogrammes d'eau. Un champ de chou potager où les plants sont espacés de 50 centimètres dégage par hectare, en 12 heures de jour, 20.000 kilogrammes d'eau. Un chêne isolé portant environ 700.000 feuilles a vaporisé de juin en octobre, en cinq mois, 111.225 kilogrammes d'eau. On peut se figurer par là, quelle énorme quantité d'eau la chlorovaporisation déverse chaque jour dans l'atmosphère des prairies des champs et des forêts. » — De plus Van Tieghem a vu par les méthodes du spectre et des écrans absorbants, que les rayons les plus actifs, sur la chlorovaporisation, sont justement ceux que la chlorophylle absorbe le plus. Il y a deux maximums comme pour l'assimilation carbonique ; mais tandis que dans ce dernier phénomène, le maximum du rouge est le plus fort des deux, c'est au contraire le maximum du bleu-violet qui prédomine, dans la chlorovaporisation. Cette fonction augmente avec l'intensité lumineuse et la température, du moins jusqu'à un certain degré, et de même avec la croissance de la plante pour diminuer quand les tissus se durcissent en vieillissant.

De même que, si la transpiration d'une plante est brusquement ralentie, il se produit une exsudation, de même la chlorovaporisation cessant chaque soir, au coucher du soleil, l'eau s'échappe des parties vertes

[1] Berthelot et André (*Ann. phys. et chim.*, 6e s., t. X, 1887) montrent l'existence, dans les feuilles, de carbonates et de bicarbonates, dont la formation modifie le rapport entre CO^2 emprunté à l'atmosphère et O expiré par la fonction chlorophyllienne, et sert à expliquer les oscillations de ce rapport.

[2] Van Tieghem, *Bull. Soc. bot. de France*, 1886, et *Traité de botanique*.

[3] Un plant de blé vaporise 1 centimètre cube d'eau à l'obscurité; un plant de blé étiolé vaporise 2 c. c. 5 au soleil, tandis qu'un plant de blé vert vaporise plus de 100 centimètres cubes au soleil dans le même temps.

de la plante en bien plus grande abondance que des parties incolores, qui transpirent simplement. Van Tieghem appelle *chlorosudation*, cette exsudation chlorophyllienne. C'est elle qui constitue notamment les gouttelettes qu'on remarque sur les herbes le matin, et qu'on attribue à tort à la rosée ; cette quantité d'eau rejetée est parfois assez forte ; ainsi on a pu recueillir, en quatre nuits, un litre d'eau, sorti du sommet d'une feuille d'Amomum (Zingibéracée exotique).

Détermination de l'influence des agents ambiants sur l'action chlorophyllienne. *Intensité lumineuse.* Dehérain et Maquenne montrent en exposant des plantes à des lumières artificielles différentes que les radiations *calorifiques* activent la respiration et ralentissent l'assimilation. Famintzin trouve que des feuilles placées au soleil dans des tubes couverts d'étuis de papiers, dégagent autant d'oxygène que dans des tubes non couverts. D'après Kreusler, pour chaque plante il y a un optimum d'intensité lumineuse correspondant au maximum d'assimilation [1].

Humidité. Kreusler[2] montre également que l'activité de l'action chlorophyllienne est réglée étroitement par la bonne circulation de l'eau dans la plante : « une perte d'eau qui est encore bien loin de causer le flétrissement déprime considérablement l'assimilation ; et inversement, un rameau qui a cessé d'assimiler par suite d'une perte d'eau, reprend toutes ses facultés, lorsqu'on le met à même de réparer ses pertes ».

Taux carbonique de l'atmosphère. De Saussure avait trouvé que la quantité d'acide carbonique atmosphérique la plus favorable à l'assimilation de la plupart des plantes est comprise entre 1 et 10 %; les expériences de Boussingault, Kreusler, Vogel, Rauwennoff, Godlewsky n'ont fait que confirmer ce résultat. Dans l'acide carbonique pur, l'assimilation se ralentit beaucoup et cesse au bout d'un temps plus ou moins long ; la présence de l'oxygène est nécessaire à la vie de la plante.

Nature des tissus de la plante. L'assimilation est moins active dans les plantes grasses; l'envers des feuilles dégage moins d'oxygène que l'endroit, l'envers étant une surface plus poreuse et par suite plus difficile à pénétrer par un gaz dense comme l'acide carbonique, d'après les lois de diffusion de Graham.

Influence des sels minéraux. Une plante élevée en solution minérale privée de sels de potasse, verdit, mais ne forme pas d'amidon; si l'on ajoute un sel de potasse, on voit l'amidon se former sur les chloroplastides (Nobbe, Erdmann). — En l'absence de calcium, Bokorny observe que les chloroplastides ne se développent pas normalement *(Bot. Centralbl. LXI)*; suivant Schimper *(Bot. Zeit. 1888)*, les feuilles vertes d'*Acer negundo* à la lumière, sont plus riches en oxalate de chaux, que les feuilles blanches : il y a donc un rapport entre la chlorophylle et la production

[1] Deherain et Maquenne, *Ann. Sc. nat.*, 6e s., t. IX; Famintzin, *Ann. Sc. nat.*, 6e s., t. IX; Kreusler, *Annal. agronomiq.*, t. XII.
[2] Kreusler, *Annal. agronomiq.*, t. XIV.

d'oxalate de chaux. — Le sulfate de fer favorise la chlorophylle, soit à cause du fer, soit à cause de l'acide sulfurique qu'il renferme. — Stoklasa admet que l'acide phosphorique assimilé forme des combinaisons organiques de nucléines et de lécithines et que la chlorophylle n'est que la lécithine dans laquelle l'acide chlorophylanique s'est substitué aux acides gras.

Recherche des produits immédiats de l'assimilation.— Sachs[1] en 1862 avance le premier qu'il existe une relation de cause à effet entre l'assimilation carbonique des feuilles et l'apparition des grains d'amidon dans les chloroplastides. Godlewsky et Pfeffer constatent qu'il ne se forme pas d'amidon dans les feuilles, lorsque l'atmosphère ambiante est privée d'acide carbonique. Timiriazef[2] expose une feuille verte pendant un certain temps sous un spectre solaire, et après l'avoir décolorée par l'alcool et traité par l'iodo-iodure, il voit ressortir en bleu sur la feuille, la série des bandes d'absorption lumineuse de la chlorophylle : c'est l'expérience de l'amylogramme. Selon Sachs, l'amidon est le premier composé apparent, résultant de l'assimilation chlorophyllienne, puisqu'il se forme dans la cellule verte seulement à la lumière, et disparaît à l'obscurité. Selon Schimper le premier composé élaboré est le glucose, car il apparaît dans des feuilles vertes flottant sur des solutions sucrées de saccharose, l'amidon n'est qu'un produit de condensation du glucose; selon Aimé Girard, le premier composé élaboré est le saccharose, il établit sa présence constante dans les feuilles et son augmentation proportionnelle à l'activité de la fonction chlorophyllienne.

Quant au mécanisme de l'assimilation lui-même deux hypothèses sont successivement proposées. Nous avons vu que les physiologistes de la première période pensaient que l'acide carbonique est purement et simplement décomposé en charbon qui se dépose en nature dans les cellules et en oxygène qui se dégage. — Mais l'expérience ayant prouvé que la plante verte est inapte à assimiler l'oxyde de carbone CO, premier terme de la décomposition du gaz carbonique CO^2, Boussingault, Berthelot, admirent que dans l'assimilation la moitié seulement du volume d'oxygène dégagé vient de la désoxygénation partielle du gaz carbonique et que l'autre moitié vient de la desoxigénation partielle de l'eau des tissus.

$$CO^2 + H^2O = \underset{\text{ald. formique}}{CH^2O} + O^2$$

L'aldéhyde formique se polymériserait alors pour former le glucose :

$$(HCOH)^6 = C^6H^{12}O^6$$

ou pour former le saccharose

$$12\,(HCOH) = C^{12}H^{22}O^{11} + H^2O$$

[1] Sachs, *Botan. Zeit.*, 1862.
[2] Timiriazef, *Compte rendu* CX.

Cette théorie formique dite théorie de Bayer a été étayée sur des faits d'ordre chimique: Grimaux a obtenu par polymérisation de l'aldéhyde formique, un saccharose fermentescible, Fischer est arrivé à la synthèse du sucre en partant des aldéhydes. De plus, Bokorny[1] a pu élever des Spirogyres sur des solutions de méthylal, corps qui se décompose rapidement en alcool méthylique et en aldéhyde formique.

La deuxième théorie connue sous le nom de théorie de Crato[2] suppose que l'acide carbonique absorbé n'est pas décomposé immédiatement ; il se forme un hydrate carbonique $C(OH)^4$ instable qui se transformerait sous l'action de l'énergie solaire en un phénol hexavalant, $C^6H^6(OH)^6$, très voisin de l'inosite, avec dégagement d'oxygène et élimination d'eau :

$$6\,C(OH)^4 = C^6H^6(OH)^6 + 12\,O + 6\,H^2O$$

Cet inosite se transformerait à son tour en glucose. Comme fait favorable à cette théorie il faut dire que l'inosite a été fréquemment rencontré dans les organes végétaux par Maquenne.

Fixation de la nature et du rôle du chloroplastide, comme siège du phénomène d'assimilation. — On considère les chloroplastides comme des granules pleins, sur lesquels se localise exclusivement le phénomène assimilateur. Mohl dès 1837 avait combattu la nature vésiculaire de la chlorophylle granuleuse, admettant que les grains de chlorophylle ont pour noyau un ou plusieurs grains d'amidon. Hofmeister dit que la matière verte est distribuée en particules inappréciables dans le liquide muqueux de la cellule, et qu'avec le développement, ces particules se réunissent en gouttes sphériques qui se multiplient par division. Arthur Gris[3] soutient que les grains de chlorophylle sont des globules solides albumino-graisseux. Après Nægeli[4], Trécul[5] essaie de revenir à la théorie vésiculaire, regardant les chloroplastides comme des vésicules qui prennent naissance tantôt à la périphérie interne de la membrane cellulaire, tantôt autour du noyau. Mais Sachs, Schimper, Van Tieghem admettent que les chloroplastides sont de petites masses de protoplasme, imprégnées de matières colorées.

Les expériences microspectroscopiques d'Engelmann[6] ont montré que le dégagement d'oxygène se fait exclusivement à la surface des chloroplastides, et non pas dans le protoplasme incolore de la cellule. Cependant ce protoplasme joue un rôle primordial dans cette fonction, car Pringsheim[7] observe qu'une cellule de *Chara* tombe en *inanition*,

[1] Bokorny, *Deutsche botan. Gesellsch.*, 1891.
[2] Crato, *Deutsche botan. Gesellsch.*, 1892.
[3] Gris, *Ann. sc. nat*, t. VIII, 1857.
[4] Nægeli, *Gettingen einzelliger Algen*, 1849.
[5] Trécul, *Ann. sc. nat.*, t. X, 4e s.
[6] Engelmann, *loc. cit.*
[7] Pringsheim, *Ann. agronomiq.*, t. XIV.

cesse d'assimiler, dans une atmosphère d'acide carbonique et d'hydrogène et que l'assimilation ne reprend que lorsque, en faisant arriver de l'oxygène, on rend le mouvement au protoplasme ; l'auteur en conclut que les chloroplastides sont inaptes à entretenir l'activité du protoplasme, en mettant en liberté l'oxygène de l'acide carbonique contenu dans la cellule ; que par suite, ils ne décomposent pas l'acide carbonique, mais le transforme en un corps qui n'est décomposé et ne dégage de l'oxygène qu'après être sorti de la cellule où il prend naissance.

Bœhm, Sachs, Famintzin[1], Borodin, Prilleux, Stahl[2], Bréal[3] ont observé que les chloroplastides se déplacent dans les cellules, suivant l'intensité lumineuse, se réfugient contre les parois ou dans les angles, quand la lumière incidente est trop vive.

Essai d'épuration et d'analyse de la matière verte, extraite des feuilles. — Berzélius, en traitant la solution alcoolique de matière verte par la benzine, obtient deux couches distinctes : la supérieure, verte, constituée par la *chlorophylle* proprement dite en solution dans la benzine, l'autre, jaune, que Krauss[4] nomme *xanthophylle*, et qui reste un peu verdâtre par suite de séparation incomplète avec le premier élément. Angström[5] et Horshma[6] avancent que la matière verte des Algues est différente de celle des autres plantes. Hérapath[7] prétend qu'il y a autant de chlorophylles que d'espèces végétales. Verdeil[8] et Pfaundler affirment que les cendres de la chlorophylle renferment du fer.

Frémy[9] essaie une séparation plus complète des principes chlorophylliens, en traitant la solution alcoolique de matière verte par l'acide chlorhydrique concentré et en reprenant par l'éther ; ce solvant se charge d'une matière jaune, la *phylloxanthine* de Frémy, et il reste une matière bleue, dénuée de la bande spectrale de Brewster, et jouant le rôle d'acide, l'acide *phyllocyanique*. D'autre part cet auteur obtient des combinaisons salines stables de chlorophylle, ainsi que le laquage ou fixation de la teinture chlorophyllienne sur alumine gélatineuse. — Filhol[10] tente de séparer les éléments de la chlorophylle par les acides organiques. En la traitant par l'acide oxalique, il précipite une matière *brune* dont la solution possède à un très haut degré le dichroïsme, et qui devient verte par l'action de l'oxygène de l'air, en présence de certains oxydes métalliques

[1] Famintzin, *Ann. Sc. nat.*, 5e s., t. VII.
[2] Stahl, *Ann. agronomiq.*, t. VII.
[3] Bréal, *Ann. agronomiq.*, t. XII.
[4] Krauss, *Zur Kenntniss der Chlorophyllarbstoffe*, *Stuttgard*, 1872.
[5] Angström, *Poggend. Ann.*, XCIII.
[6] Horshma, *Poggend. Ann.*, 1855.
[7] Hérapat, *Bericht. d. deutch. chem. Gesell.*, t. II.
[8] Morot, *Ann. Sc. nat.*, t. XIII, 3e s.
[9] Frémy, *Compte rendu*, 1865 à 1877.
[10] Filhol, *Compte rendu*, 1874 et 1879.

(oxyde de zinc). — Armand Gautier[1] décolore la chlorophylle d'épinard par le noir animal, d'où il retire, après épuisement par l'alcool à 65 degrés puis par l'éther de pétrole, une matière vert foncé, qu'il fait cristalliser à l'obscurité en sphéro-cristaux ; il en donne la composition, la considère comme exempte de fer et la nomme *chlorophylle cristallisée*. — Pendant ce temps Hoppe-Seyler[2] retire des feuilles de Monocotylédones un principe vert, pseudo-cristallisé en filaments mous et mal définis, qu'il nomme *chlorophyllane*, et qu'il rapproche des lécithines. — Sachsse en traitant par le sodium une solution alcoolique de matière verte des feuilles obtient un précipité vert ; repris par la benzine, ce produit se présente en masse vert foncé, savonneuse et soluble dans l'eau. — Pringsheim[3] voit se former sous le microscope en traitant des feuilles par divers réactifs, des cristaux rouge brunâtre, provenant selon lui d'un dérivé de la chlorophylle, qu'il nomme *hypochlorine*. Rogalsky[4] donne une nouvelle analyse de la chlorophylle. — Kühne[5], puis Hansen[6] tentent de purifier la matière verte des feuilles, en la saponifiant par les alcalis caustiques ; après lavage à l'éther de pétrole, qui enlève une matière jaune, il reste un produit stable, bien vert, pourvu de la bande de Brewster, et nommé *chlorophylle verte* de Hansen, qui n'est autre qu'un savon de chlorophylle ou chlorphyllate alcalin. — Timiriazef[7] traitant une solution alcoolique de matière verte des feuilles, par l'hydrogène naissant (acide acétique + zinc), obtient un produit de réduction jaune paille en solution étendue et brun-rougeâtre en solution concentrée qui a la propriété de s'oxyder rapidement à l'air, en verdissant et de régénérer la chlorophylle. Cette substance jaune est caractérisée au spectre par l'absence de la bande de Brewster et par la présence d'une large bande occupant la place de la bande II et des intervalles compris entre I et II et entre II et III; elle verdit à la lumière solaire, mais pas à l'obscurité. Timiriazef la nomme *protophylline* et démontre, par l'analyse spectrale, sa présence dans les plantules étiolées.

Arnaud[8], poursuivant ses études sur la *carotine*, montre la présence constante de cette substance dans les feuilles ; il la retire des feuilles préalablement séchées dans le vide, par macérations successives à froid, dans le pétrole léger, sous forme d'une matière colorante cristallisée rouge, d'aspect métallique, soluble en rouge dans le sulfure de carbone.

Cette carotine se conserve inaltérée dans les feuilles séchées dans le vide, mais s'altère, au contraire, si les feuilles sont séchées à l'étuve, en présence de l'air, même à basse température. De même que la matière verte, la carotine tend à disparaître dans les feuilles, à l'obscurité. C'est une

[1] Armand Gautier, *Compte rendu*, 1877.
[2] Hoppe Seyler, 1879.
[3] Pringsheim, *Ann. agron.*, t. XIV et *Monatsb., Berl. Akad.*, 1878 à 1879.
[4] Rogolsky, C = 73,2 Az = 4,14 H = 10,5 cendres = 1,67.
[5] Kühne, *Unters. Physiol. Inst. z. Heidelberg*, Bd. 7, 1878 et Bd. 4, 1882.
[6] Hansen, *Arb. bot. Inst. Wurzburg*, III Bd., 1884 à 1886.
[7] Timiriazef, *Compte rend. Acad.*, CII, 1886.
[8] Arnaud, *Compte rendu Acad.*, 1885, 1886, 1889.

substance très oxydable, qui absorbe 24 pour 100 de son poids d'oxygène, soit 200 fois son volume, et cependant Arnaud constate que sa proportion demeure à peu près constante dans les feuilles, si le milieu ne change pas. G. Ville[1] montre qu'il existe un rapport entre la vigueur des plantes, le poids de récolte qu'elles fournissent et la quantité de carotine qu'elles contiennent. D'autre part, il a montré que cette quantité de carotine augmente avec la richesse du sol; les teintes des feuilles sont d'autant plus foncées que la carotine est plus abondante. Arnaud établit que la carotine est un hydrocarbure ; elle lui paraît, ainsi qu'à Hansen[2], assez rapprochée, par sa composition, de la xanthophylle, qui a de nombreux points de ressemblance avec les lipochromes.

Essai sur la signification et l'origine de la matière verte. — Pringsheim avance que le rôle de la chlorophylle consiste exclusivement à absorber des radiations lumineuses déterminées, c'est un écran à l'abri duquel travaille le protoplasme végétal, et ce n'est qu'un écran.

Cependant, Stokes[3], en 1863, avait indiqué l'analogie de la chlorophylle avec les pigments biliaires. Armand Gautier[4] a développé ce sujet en montrant que l'acide phyllocyanique de Frémy et la bilirubine, ont les mêmes solvants, jouent, l'un et l'autre le rôle d'acide faible, donnent des sels solubles et instables avec les alcalis, et des sels insolubles avec les autres bases, s'unissent directement à l'hydrogène naissant, et forment des dérivés colorés en jaune, vert, rouge et brun, passant successivement d'une teinte à l'autre.

D'autre part, Armand Gautier[5] a comparé la chlorophylle à l'indigo réductible. De même que l'indigo bleu se forme dans l'oxydation au contact de l'air du suc d'un certain nombre de plantes[6] (Indigofera, Polygonum, Isatis, etc.), de même, il existerait, dans les cellules, une *Chlorophylle blanche*, surhydrogénée, qui se transformerait en chlorophylle verte au contact de l'acide carbonique absorbé et hydraté.

$$CO\begin{matrix}OH\\OH\end{matrix} + \text{chlorophylle blanche } H^2 = CH^2O^2 + H^2O + \text{chlorophylle verte}$$

$$\text{ou } CH^2O^2 + 2\,(\text{chlorophylle blanche } H^2) = CH^4O + H^2O + 2\,(\text{chlorophylle verte}).$$

On est, d'ailleurs, assez mal fixé sur le phénomène du verdissement. Senebier et de Humbold pensaient que, s'il existe dans l'air une certaine quantité d'hydrogène libre, les plantes peuvent verdir même à l'obscurité. Il est certain que plusieurs embryons sont verts sous leur enveloppe

[1] G. Ville, *Compte rendu Acad.*, 1889.
[2] Hansen, *Arb. bot. Institut Würzburg*, Heft III. 1886.
[3] Stokes, *Proced. of Roy. Soc.*, t. XIII.
[4] A. Gautier, *Compte rendu Acad.*, 1879.
[5] A. Gautier, *Rev. scientif.*, fév. 1877.
[6] Pringsheim, *Monatsbr. Berl. Akad.*, juil. 1879.

opaque, que même, à l'obscurité, les embryons de Pinus, de Thuya, deviennent d'un vert intense au moment de la germination, et que les pousses de *Nephrodrium spinulosum*, d'*Asplenium Filix-Mas*, d'*Allium cepa*, de *Crocus vernus*, de *Geranium*, sortent vertes[1]. De Humbold a trouvé, dans les galeries souterraines des mines de Freyberg, des *Poa annua* et *Cheiranthus Cheri*, d'une belle teinte verte, et, lors de l'expédition de Plankton, on retira d'une profondeur de 1.000 à 2000 mètres dans l'Atlantique, une Algue parfaitement verte, l'*Halosphœra viridis*[2]; plusieurs Algues élémentaires forment la chlorophylle à l'obscurité : *Nostoc punctiformis*, *Chlorella vulgaris*[3], etc.. Dans la généralité des plantes, une lumière diffuse, bien plus faible que celle nécessaire à l'assimilation, suffit pour le verdissement, mais ce dernier phénomène n'a lieu qu'au bout d'une certaine durée de l'action lumineuse et qu'à partir d'une certaine température, variable selon les espèces. Les rayons infra-rouges suffisent pour verdir les Conifères, les Fougères et le Gui ; mais c'est, en général, la lumière jaune qui active le plus le verdissement, et le phénomène va décroissant de chaque côté du spectre, vers le violet et vers le rouge. Griffon trouve que des plantes qui se développent dans la lumière bleue sont plus vertes que celles qui ne reçoivent que la lumière rouge, et d'une teinte plus foncée que celles qui se développent dans la lumière verte. La chlorophylle apparaît même dans l'ultra-violet.

Bœhm a montré que dans des mélanges gazeux artificiels, les plantes verdissent d'autant moins que la quantité d'acide carbonique est plus considérable ; 2 pour 100 de gaz carbonique influe déjà ; dans une atmosphère à 2 pour 100 d'acide carbonique, la chlorophylle du cresson subit un retard dans son apparition ; avec 20 pour 100, elle n'apparaît pas. Palladine[4] remarque que, pour que les plantes verdissent, il faut qu'elles reçoivent plus d'oxygène qu'il ne leur est nécessaire pour la respiration. Palladine et Kny indiquent, de plus, que les sucres ont une influence favorable sur le reverdissement.

TROISIÈME PÉRIODE OU PÉRIODE CONTEMPORAINE

Je fais partir cette période, de 1893 environ, c'est-à-dire des travaux de Brown et Morris et de Belzung. Voici les caractères nouveaux qui me paraissent la distinguer.

Corrélation des actions lumineuse et calorifique, dans l'assimilation. — On reconnaît que le maximum d'assimilation dépend à

[1] Flahaut, *Bull. Soc. bot.*, 1888.
[2] Griffon, *Assimilation et structure*, Carré et Naud.
[3] Radais, *Compte rendu*, 1900.
[4] Palladine, *Rev. gén. bot.*, t. IX.

la fois de l'intensité lumineuse et de la température. Blakmann montre que, si la lumière est vive, l'intensité de l'assimilation croît rapidement avec la température jusqu'à 38 degrés, après quoi il y a une chute brusque ; si la lumière est faible, le maximum d'assimilation est atteint à une température plus basse, et pour que l'assimilation continue à croître avec la température, il est nécessaire d'augmenter l'intensité lumineuse du double ou du triple, suivant les cas.

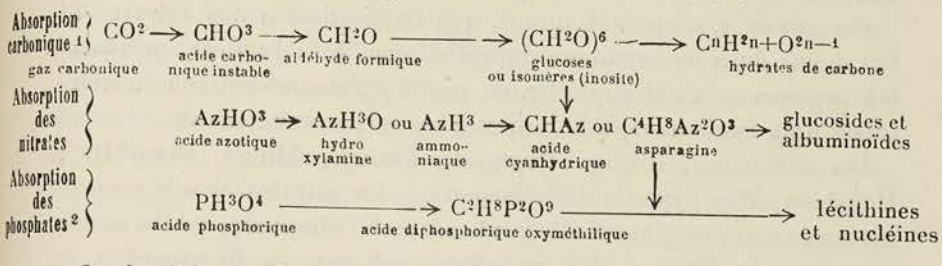
Corrélation entre les phénomènes de réduction cellulaire. — Jusqu'à présent, on a étudié l'élaboration des hydrates de carbone comme si elle s'effectuait dans la cellule verte, indépendamment de l'élaboration des autres principes immédiats, et comme si l'oxygène dégagé avait sa source uniquement dans l'assimilation carbonique.

Or, on tend de plus en plus aujourd'hui à rattacher l'amylogenèse à la genèse des albuminoïdes et des autres principes complexes ; la formation des hydrates de carbone résulte d'une élaboration protoplasmique générale, à laquelle prennent part non seulement le carbone et les éléments de l'eau, mais aussi toutes les matières nutritives azotées, minérales, absorbées par les racines. En effet, Belzung[1] a montré, en 1895, que dans les cotylédons de lupin blanc, par exemple, qui sont normalement dépourvus d'amidon, des grains d'amidon apparaissent pendant la germination, dans les vacuoles du protoplasma et que les chloroplastides se substituent progressivement à ces grains d'amidon primaire, qui se résorbent peu à peu. Ainsi, tous les éléments du suc vacuolaire contribuent à l'amylogenèse, l'amidon contribue à la formation du chloroplastide, et inversement, le chloroplastide contribue à la formation de l'amidon.

Quant au mécanisme de l'élaboration protoplasmique ou photosynthèse dans les organes chlorophylliens, on est loin d'en connaître tous les détails ; il se passe, en définitive, une série de phénomènes de *réduction :* non seulement l'acide carbonique [1], mais les nitrates, les phosphates, les sulfates, etc., absorbés, perdent une partie de leur oxygène, de telle sorte que l'oxygène dégagé par les parties vertes a une origine multiple ; dans certains cas, suivant les conditions cellu-

[1] Belzung, *Journal de Botanique*, 1895.

laires, ces phénomènes peuvent commencer isolément, mais ils ne restent pas longtemps indépendants les uns des autres :



Quel est donc, dans cette complication progressive des éléments absorbés, l'effet des radiations retenues par la chlorophylle?

Il se passe, comme on le sait, dans la cellule verte, deux phénomènes inverses : la nutrition et la dénutrition.

a) *Nutrition ou assimilation.* — Les radiations lumineuses absorbées par la chlorophylle déterminent une première réaction, qu'on suppose être celle-ci : $CO^2 + H^2O = CH^2O$ (aldéhyde formique) $+ O^2$ (dégagé).

M. Kimpfin (*Comptes Rendus Acad. Sc.*, 1907) vient de caractériser la présence d'aldéhyde formique dans la cellule chlorophyllienne.

Immédiatement la plus grande partie de CH^2O serait polymerisée : $(CH^2O)^6$ = glucose. D'autre part, une partie de CH^2O se portant sur les nitrates et sels ammoniacaux montés des racines avec la sève, les transformerait par réduction soit directement en acide cyanhydrique CHAz d'après Armand Gautier, ou préalablement en hydroxylamine, formiamide ($CHO\,AzH^2$) et acide cyanhydrique, d'après Meyer, Schultze, Bach, pour aboutir finalement à l'asparagine.

Concurremment, le glucose naissant, provenant de la polymerisation de CH^2O se porterait aussi sur les nitrates et sels ammoniacaux pour aboutir également à l'asparagine [3] :

$$2\,RA_z\,O^3 + C^6H^{12}O^6 = \underset{\text{asparagine}}{C^4H^8A_z{}^2O^3} + \underset{\text{oxalate}}{R^2C^2O^4} + 2\,H^2O + 3\,O \text{ qui se dégage.}$$

[1] Bottomley et Jackson ont montré récemment qu'un plant de capucine se développe bien à la lumière, lorsqu'on remplace l'acide carbonique de l'atmosphère ambiante par une proportion d'oxyde de carbone vingt fois plus grande. Les jacinthes, les germinations de *Lepidium sativum* seraient aussi susceptibles de se développer aux dépens de l'oxyde de carbone. (*Proceedings Soc. Roy. London*, n° 478.)

[2] Posternak, *Compte rendu Acad.*, 1903.

[3] *Précis de Botanique de Faucheron.*

Mais où la lumière absorbée intervient encore nettement, c'est dans la transformation de l'asparagine en albuminoïde.

On sait déjà, d'après Laurent, que l'assimilation des nitrates se fait mieux dans les organes chlorophylliens, à la lumière, que dans les organes non chlorophylliens, ces derniers assimilant au contraire plus facilement, à la lumière, les sels ammoniacaux.

On sait aussi, d'après Pagnoul, Franck, Müntz, Kinoshita[1], Hansteen, Mazé, que la transformation des nitrates et sels ammoniacaux en asparagine, si elle peut se faire à l'obscurité, est du moins stimulée par l'action des radiations solaires. — Et quant à la transformation de l'asparagine en albuminoïde, les travaux de Laurent, Marchal, Carpiaux, Goldewsky montrent que l'action de la lumière est encore plus utile sinon nécessaire pour qu'elle s'accomplisse, principalement l'action des radiations ultra-violettes ou actiniques absorbées par la chlorophylle ; le phénomène peut s'exprimer ainsi, une nouvelle quantité de glucose naissant réagissant sur l'asparagine :

$$\underset{\text{asparagine}}{9\,C^4H^8A_z{}^2O^3} + \underset{\text{glucose}}{9\,C^6H^{12}O^6} = \underset{\text{albuminoïde}}{C^{72}H^{112}A_1{}^{18}O^{22}} + \underset{\text{acide oxalique}}{9\,C^2H^2O^4} + 23\,H^2O + H^2$$

b) *Dénutrition.* — De même que les radiations absorbées interviennent dans la nutrition en servant à l'élaboration soit des corps ternaires (sucres), soit des corps quaternaires (albuminoïdes), de même elles interviennent encore dans la dénutrition, pour arrêter ce phénomène et régénérer soit les albuminoïdes, soit les sucres.

On sait que les albuminoïdes, en se décomposant, repassent, en sens inverse, par les mêmes phases qu'avait comportées leur formation.

Sans doute, une partie des albuminoïdes se décompose en donnant des corps spéciaux tels que les alcaloïdes, les diastases et toxines, mais leur principale dégradation est la suivante :

1° Les albuminoïdes, transformés en peptones, donnent par hydratation l'asparagine et autres corps amidés (leucine, tyrosine) ;

2° L'asparagine et les corps amidés donnent par une nouvelle hydratation, d'une part des acides (aspartique, tartrique, oxalique, cyanhydrique) et, de l'autre, du glucose et autres corps neutres (inosite, glycogène, cellulose) ;

[1] Kinoshita, *Bull. Colleg. agr. Tokio*, vol. 11, n° 4.

3° L'acide cyanhydrique et les ammoniaques composées qui peuvent en dériver donnent enfin des sels ammoniacaux simples, notamment le carbonate d'ammoniaque, d'où on arrive aux nitrates par suite des phénomènes de nitrification.

Or, les radiations lumineuses absorbées peuvent enrayer cette dégradation. On sait, en effet, d'après Pfeffer, Borodin, Schultze, Monteverde, Prianischnikow que, sous l'influence de la lumière, l'asparagine et les corps amidés provenant de la décomposition des albuminoïdes peuvent, au lieu de continuer à se dégrader, se recombiner à du glucose pour régénérer ainsi les albuminoïdes.

c) *Respiration.* — A côté des albuminoïdes, les corps ternaires ont aussi une dégradation dont les derniers termes sont H^2O et CO^2, résultat de la respiration. Or, entre les sucres et les produits ultimes il existe une série d'intermédiaires constituant les produits de la respiration intracellulaire. On n'est pas encore bien fixé sur leur nature et deux théories sont en cours : la théorie zymasique et la théorie biochimique, dont je dirai quelques mots parce qu'elles s'appuient l'une et l'autre sur l'intervention de la lumière et des radiations absorbées.

Dans la théorie zymasique, on admet que les cellules végétales exercent, vis-à-vis du sucre qu'elles renferment, une fermentation comparable à celle des levures; comme ces dernières, elles sécrèteraient une zymase susceptible de décomposer, de disloquer la molécule sucrée :

$$\text{sucre} = \text{alcool} + C\,O^2$$

Si l'oxygène de l'air n'arrive pas aux tissus, cet alcool s'accumule, comme on l'observe dans les tissus des plantes soustraites à l'action de l'air, et le végétal périclite. Mais si l'oxygène de l'air arrive aux cellules, la dégradation du sucre et de l'alcool s'arrête et l'élaboration recommence, l'alcool est oxydé :

$$\text{alcool} + O = \text{produits oxydés (aldéhyde, cellulose, etc.)}$$

Seulement, pour cette réaction, il faut, en plus de la présence de l'oxygène, l'action de la lumière absorbée par la cellule verte. Mazé[1] a observé en effet que, dans les plantes *exposées à la lumière*, il se forme de petites quantités d'aldéhyde lorsqu'elles poussent dans des

[1] Mazé, *Assimilation du carbone et de l'azote* (Biblioth. scientif.).

solutions minérales alcoolisées. Ainsi, l'alcool ne serait pas un produit de déchet de la dégradation des sucres, mais un terme de passage entre les sucres et les produits d'élaboration, tels que les aldéhydes[1] qui, en agissant sur les nitrates et sels ammoniacaux, contribuent, comme nous l'avons vu, à la formation des albuminoïdes. Cette théorie s'appuie sur les travaux de Mazé qui a montré d'ailleurs qu'un certain nombre d'organismes peuvent assimiler l'alcool *(Eurotiopsis, Oïdium, Mucor, Sterigmatocystis, Aspergillus, Penicillium, Dematium,* etc.).

M. Maquenne[2] est, au contraire, partisan de la théorie biochimique qui n'admet pas, dans les cellules des plantes, l'existence d'une zymase de dislocation de la molécule sucrée, action inexplicable jusqu'à présent par les seules forces physico-chimiques. Selon la théorie biochimique, le sucre contenu dans la cellule végétale serait transformé en acides par une oxydase et ces acides seraient transformés à leur tour en produits divers et en acide carbonique, résultat de la respiration.

(1) Sucre + O = acides + H^2O
(2) Acides = produits acidifiables + CO^2

Dans le cas où l'oxygène de l'air n'arrive pas à la cellule, il se formerait spécialement de l'acide lactique qui donnerait l'alcool comme produit de déchet. Mais si l'oxygène de l'air arrive à la cellule, il en résulterait une oxydation soit directe, soit par l'intermédiaire d'une oxydase, oxydation qui s'exercerait sur les composés galliques, tannins, hydroquinone, dont la présence est constante dans les tissus végétaux ;

Hydroquinone + O = quinone + H^2O

et ce sont les quinones qui, réagissant sur les sucres, les oxyderaient à leur tour, régénérant l'hydroquinone et donnant les acides

Quinone + sucres = hydroquinone + produits oxydés

L'existence de cette réaction a été établie, en dehors de la cellule, par Ciamician et Silber. Mais, fait essentiel au point de vue qui nous occupe, elle ne se passe que sous l'action de la lumière.

[1] Mazé, *Revue générale des Sciences*, 1907.
[2] Maquenne, *Revue générale des Sciences*, 1907.

Ainsi, dans la cellule végétale, et sous l'*influence des radiations lumineuses absorbées* par la chlorophylle, les sucres seraient transformés d'abord en acides, puis en produits acidifiables par le système air-oxydase-hydroquinone; ceci expliquerait d'ailleurs l'importance des tannins dans la plante .Cette théorie biochimique s'appuie notamment sur les expériences de de Vries, Krauss et de plusieurs autres qui ont montré que les acides se forment dans les feuilles soit quand on les maintient à l'obscurité, soit pendant la nuit si la température n'est pas trop élevée et si la plante a été insolée préalablement; tandis qu'au contraire les acides formés à l'obscurité disparaissent pendant le jour sous l'*action de la lumière;* de plus, on sait, d'après Palladin, Purjiwicz, Mangin, Deherain et Maquenne, que l'absorption de l'oxygène de l'air augmente quand la plante est gorgée de sucre et, qu'au contraire, l'émission d'acide carbonique augmente quand la plante est riche en acides organiques. L'absorption d'oxygène paraît donc avoir pour but la formation d'acides aux dépens du sucre et l'émission d'acide carbonique paraît donc être reliée à la décomposition de ces acides.

Récemment, Etard[1] a proposé une explication nouvelle du phénomène d'assimilation végétale. Il regarde les grains de chlorophylle comme des Algues vertes remplissant un rôle respiratoire et optochimique, c'est-à-dire sélectif vis-à-vis des radiations. Suivant les termes mêmes de l'auteur, la réunion de ces grains-algues dans une cellule constitue un organe fonctionnant comme une sorte de glande en grappe, ayant ses éléments protoplasmiques en relation avec le protoplasme cellulaire, au moins par le suc cellulaire qui sert de milieu commun; chaque grain-algue agit dans le protoplasme, à sa façon, comme une hématie qui prend et cède de l'oxygène, et qui fixe en outre du carbone par un mécanisme qui ne peut être cherché dans la conversion préalable d'acide carbonique en formaldéhyde; mais les éléments protoplasmiques et chlorophylliens, ayant des radicaux basiques et acides, fixeraient le carbone à la suite d'une carbonatation directe, comme font l'arginine, la guanidine et le phénol sodé. Ce seraient les radicaux basiques et les éléments minéraux Ph, K, Ci, Si, Fe, Mn, etc., toujours présents dans les cendres des matières chlo-

[1] *Biochimie des chlorophylles.*

rophylliennes qui interviendraient pour une part dans ce phénomène. De plus, on sait que les hydrocarbures ou polyalcools, pourvu qu'ils possèdent des lacunes, sont aptes en chimie à annexer divers groupes additionnels. Or, le carottène, abondant dans la plupart des feuilles, est un hydrocarbure fortement lacuné, qui s'habille d'hydrogène pour former des paraffines stables et des cires, constituant le vernis des feuilles, et qui s'annexe des fonctions OH pour former des amyloïdes; pourquoi ne pourrait-il pas compliquer sa molécule de manière à donner un corps en C^6, module des sucres? On sait, en effet, que ce carottène est un corps à bandes absorbantes et que ces bandes sont des foyers opto-chimiques, des portes par où l'oxygène se dégage et par où pénètre le gaz carbonique; le carottène se transformerait ainsi en sucre et ce sucre, par addition d'azote, formerait une chlorophylle, laquelle n'est en définitive, d'après Etard, qu'un glucoside. Ainsi, le carottène serait la matière génératrice de la chlorophylle et non pas un dérivé de cette dernière; la chlorophylle serait un dérivé azoté vert du carottène.

Etard rattache cette complication de la molécule de carottène à la théorie plus générale de la plastification biomorphique, phénomène par lequel

$$CO^2H^2O,\ AzO^3K,\ PO^4K^3,\ SO^4,\ Ca,\ Cl,\ S,\ Mn,\ Cu$$

viendraient se plaquer sur les divers éléments protoplasmiques, s'y déposer, comme ceux d'une fontaine incrustante ou mieux comme les ions divers qui viennent accroître un cristal. Cette plastification tiendrait à ce qu'il existe, dans les protoplasmides originels, de nombreuses lacunes ou points désaturés et par conséquent tendant à prendre les éléments ambiants, oxygène, eau, gaz carbonique.

Ce comblement des lacunes s'effectuerait, se réglerait d'après le type commandé par l'espèce, c'est-à-dire par suite d'une influence hérédo-chimique; chaque unité biologique imposerait ses règles chimiques et la lumière serait l'agent principal dont elle se servirait pour plastifier le carbone, l'hydrogène, l'oxygène et l'azote. Toujours d'après Etard, voici ce qui se passerait, si l'on considère une molécule lacunaire ou désaturée, dépendant d'un groupe protéique, carotique ou chlorophyllien :

1° Plastification par la molécule :

$$[-C=C-]$$

de l'hydrate carbonique :

$$[HO-CO-OH]$$

d'où :

$$\left[\begin{array}{c} -C-C-COOH \\ | \quad \downarrow \\ OH \end{array}\right] (1)$$

mais la lumière faisant dégager O^2, il reste

$$\left[\begin{array}{c} -C-C=C- \\ | \\ OH \end{array}\right]$$

qui devient en plastifiant H^2O

$$\left[\begin{array}{c} -C-C-C-C \\ HO \quad OH \quad \downarrow \quad \downarrow \end{array}\right]$$

2° Nouvelle plastification de l'hydrate carbonique, il en résulte :

$$\left[\begin{array}{c} -C-C-C-C-COOH \\ OH \quad OH \quad OH \quad \downarrow \end{array}\right] (2)$$

Or si nous rapprochons (2) de (1), nous voyons qu'il ne s'est pas formé d'aldéhyde formique, mais que la molécule s'est compliquée par glissement de la lacune, d'un degré.

Et ainsi, par suite de ce phénomène de glissement, la plastification successive de l'hydrate carbonique et de l'eau aura pour résultat la constitution de chaînes indéfiniment longues, représentant tous les amylacés et, par suite d'addition d'azote, tous les glucosides et albuminoïdes.

Diastases et reversibilité; oxydases. — Ce qui caractérise encore la période contemporaine de la question chlorophyllienne, c'est l'étude du rôle des diastases, découvertes dans les feuilles.

Bien que la découverte de la première diastase — celle de la saccharification de la fécule — remonte à Payen et Persoz (1823), ce n'est qu'en 1884 que Brasse observa la présence de l'amylase dans les feuilles et c'est surtout depuis les travaux de Brown et Morris (1893) que cette observation a pris une grande importance. Ces auteurs, en faisant agir de la poudre de feuilles séchées à 40 ou 50 degrés sur de l'amidon soluble, ont obtenu sa transformation en dextrine et en maltose, ils ont vu que l'amylase existe dans toutes les feuilles et même dans celles qui ne renferment pas d'amidon (oignon). Actuellement, on tend à rattacher la plupart des phénomènes de digestion cellulaire à des actions diastasiques ; on a isolé des tissus végétaux :

1° Des diastases agissant sur les albuminoïdes, les coagulant comme les *présures* de grassette, de pétales d'artichaut, de *Pinguicula vulgaris*, des graines dormantes de *Datura*, de *Pisum*, de *Ricinus*, etc., ou les transformant en peptones, etc., comme la *papaïne* du latex de *Carica papaya*, les *trypsines* de la figue, du jus d'ananas, du *Cucumis utilissimus*, etc.); MM. Dubois et Couvreur ont montré par contre qu'il n'y a pas sécrétion pepsique chez *Drosera* et *Nepenthes ;*

2° Des diastases agissant sur les glucosides, en mettant en liberté le glucose, comme l'*émulsine* de l'amande amère, la *myrosine* des Crucifères, l'érythrozine de la racine de garance, la *rhamnase* des graines de *Rhamnus infectorius ;*

3° Des diastases agissant sur les hydrates de carbone — coagulant les jus de certains fruits, comme la *pectase*, ou transformant l'amidon en dexrine et maltose, comme l'*amylase*, ou dissolvant la cellulose, comme l'enzyme *cyto-hydrolitique* de Brown et Morris, dans les embryons germant de l'orge ;

4° Des diastases agissant sur les sucres — transformant le saccharose en glucose, comme l'*invertine* ou sucrase, ou le maltose en glucose comme la *maltase*, etc. répandues dans la plupart des plantes ;

5° Des diastases agissant sur les huiles ou glycérides, en les saponifiant comme la *lipase* ou saponase des graines germantes de ricin, colza, pavot, chanvre, lin, etc.

Ces diverses diastases se comportent le plus souvent comme agents d'hydratation, telles la sucrase vis-à-vis du saccharose, l'émulsine vis-à-vis de l'amygdaline, la saponase vis-à-vis de l'oléine, etc. En réalité, leur action ne diffère pas beaucoup des réactions chimiques, mais ce qui la distingue, c'est la proportion très faible de diastase nécessaire, le fait que la diastase agit sans se détruire ou plutôt en se régénérant, le fait que le produit qui prend naissance arrive à paralyser l'action diastasique, le fait qu'une lumière trop vive, une température trop élevée, entravent aussi cette action et, enfin, la propriété singulière connue sous le nom de reversibilité.

Jusque-là nous avons montré la généralité des actions diastasiques, dans les cellules végétales, sans indiquer comment elles peuvent se rattacher à la question chlorophyllienne. Brown et Morris avaient observé que l'embryon d'orge germé, muni de son scutellum et séparé de son albumen, secrète de l'amylase si on le place sur un substratum amylacé, mais cesse d'en secréter si on le nourrit de solutions sucrées ; de même le protoplasme cellulaire secrète de l'amylase dans les cellules chargées d'amidon et n'en secrète pas dans les cellules où l'action chlorophyllienne est très active ; ceci montre que les sécrétions diastasiques sont des phénomènes d'adaptation protoplasmique aux conditions de nutrition, apparaissant

quand leur intervention est nécessaire. De plus, Hill a montré que, dans une liqueur renfermant 95 pour 100 de glucose pour 5 de maltose, 11 parties de glucose sont dédoublées sous l'action de la maltase, mais que si l'on met en présence de cette diastase 100 pour 100 de glucose pour 0 de maltose, la même maltase produit 16 pour 100 de maltose par deshydratation du glucose; de sorte qu'une même diastase hydrolysante dans le premier cas, devient deshydrolysante dans le second, c'est-à-dire est susceptible, suivant les conditions, de produire deux actions inverses.

Or nous avons vu qu'on connaît des zymases de décomposition, notamment celle de la fermentation alcoolique ou zymase de Buchner; il pourrait se faire que ces mêmes zymases fussent susceptibles de l'action inverse, c'est-à-dire de la synthèse organique. On sait que Winogradsky puis Goldewsky ont observé que les bactéries nitrifiantes — qui sont incolores — sont susceptibles d'assimiler le carbone du gaz carbonique.

Les diastases qui agissent par hydrolyse, agissent en réalité par oxydation indirecte, puisque l'eau contient 89 pour 100 d'oxygène; mais d'autres diastases, les *oxydases*, sont directement oxydantes, la *laccase*, découverte par Bertrand dans le latex de *Rhus succedanea*, qui oxyde la matière huileuse de ce latex, et qui a la propriété d'accélerer l'oxydation au contact de l'air, de l'acide pyrogallique et de l'hydroquinone, la *tyrosinase* des champignons *(Russula nigricans)*, les oxydases de la casse des vins, du brunissement du cidre, du pain bis, etc.

Ces oxydases, comme on le voit, interviennent dans la production de colorations très diverses et de plus s'accompagnent souvent de dégagement gazeux; ainsi dans l'oxydation du laccol par la laccase il y a absorption d'oxygène et dégagement carbonique, $\frac{CO^2}{O} < 1$ varie entre 0,60 et 0,88, et cette oxydase a été mise en évidence par Bertrand dans la plupart des végétaux. D'autre part, Rey-Pailhade a décrit, sous le nom de *philothion*, une diastase désoxydante, au contraire, qui est aussi très répandue dans les végétaux.

C'est aussi sous l'action d'un oxydase très répandu dans les plantes, la *peroxydase*, que les composés peroxydés de la cellule perdent une partie de leur oxygène, lequel se dégage. Or, en 1893,

Bach *(Compte-rendu Acad. sc.)* expliquait le mécanisme de l'assimilation chlorophyllienne par l'équation :

$$\underset{\text{acide carbonique dissous}}{3\,H^2CO^3} = \underset{\text{acide carbonique peroxydé}}{2\,H^2CO^4} + \underset{\text{aldéhyde formique}}{CH^2O}$$

D'une part, l'aldéhyde se polymérise immédiatement en glucose, et de l'autre, l'acide carbonique peroxydé se décompose ainsi, fournissant l'oxygène : $2\,H^2CO^4 = 2\,CO^2 + 2\,H^2O + O^2$. On voit qu'ici la *peroxydase* interviendrait. — Cette théorie de Bach a un point d'appui en ce que l'acide carbonique, additionné de 1,5 °/₀ d'acétate d'urane, forme un précipité de peroxyde d'urane, pendant qu'un peu d'aldéhyde formique apparaît dans la solution.

Friedel et Marchiatti ont tenté d'expliquer la question chlorophyllienne par le jeu des diastases ; Friedel a observé que la poudre verte de feuilles broyées, portées à l'ébullition, ne dégage pas d'oxygène à la lumière, mais que le dégagement gazeux se produit si l'on vient à ajouter un extrait glycériné et, par conséquent, non vert, de feuilles fraîches. Récemment, M. le professeur Dubois *(Compte rendu Soc. Biol.*, LXII, p. 116) a montré : 1° que des Algues vertes, qui ne dégagent aucun gaz à la lumière dans l'eau de mer bouillie, n'en dégagent pas davantage si on ajoute CO^2 seul, et en dégagent au contraire si on ajoute de l'oxygène seul ; 2° que des Algues vertes plongées dans une solution de 25 pour 100 de formol accélèrent leur dégagement gazeux à la lumière et l'interrompent à l'obscurité. Il en conclut : 1° que le dégagement gazeux provient de l'excédent d'oxygène absorbé pendant le jour en plus forte proportion qu'il n'est consommé, ce qui n'a pas lieu pendant la nuit parce que le végétal, plus actif, travaille et s'accroît ; 2° que cette émission diurne d'oxygène est un simple phénomène diastasique puisqu'il continue dans la plante formolisée ; 3° qu'il n'est pas démontré que les tissus chlorophylliens absorbent plus de CO^2 que les tissus incolores et que si Senebier, après extraction des gaz des feuilles, a vu celles-ci dégager de l'oxygène sous l'eau, à la lumière, c'est que cette eau renfermait de l'oxygène. Cette manière de voir jette un jour nouveau sur le mécanisme de la fonction chlorophyllienne.

Pigment chlorophyllien et pluralité des chlorophylles. — D'après Schwarz, un grain de chlorophylle est formé de filaments de chloroplastine, albuminoïde insoluble dans les alcalis et le suc

gastrique, reliés par une substance, la métaxine, soluble dans les réactifs précédents et lentement dans l'eau ; ces filaments contiennent dans leur épaisseur des grains de Meyer, plus fortement colorés.

Quant à la matière colorante ou pigment chlorophyllien, Etard[1] en a retiré des corps annexes et des chlorophylles distinctes. Pour cela il a opéré sur 100 kilogrammes de feuilles fraîches, se réduisant à 10 kilogrammes après dessiccation à l'étuve à 40 degrés et donnant 1 kilogramme d'extraits verts. Ces 10 kilogrammes de feuilles desséchées sont pulvérisées et on en sépare les tiges et pétioles; puis cette poudre de limbes est mise à digérer avec du sulfure de carbone dans un épuiseur spécial, distillant jusqu'à 50 kilogrammes de ce dissolvant par jour, ce qui représente une charge; après quatre charges de sulfure de carbone, la matière végétale est complètement dégraissée, le sulfure de carbone passant incolore ; on obtient ainsi un premier extrait gras solide, nommé par Etard *extrait sulfocarbonique* et pesant de 250 à 400 grammes.

La matière végétale totalement épuisée au sulfure de carbone est encore verte ; on l'épuise par de l'alcool à 95 degrés, à cinq reprises successives, de telle sorte que la matière est complètement décolorée. On obtient ainsi un extrait brun, et un liquide alcoolique vert. — Le tout est repris par l'eau chaude, et par concentration on obtient un *extrait aqueux* qui se dépose et une matière verte de *chlorophylle alcoolique*, qui surnage; l'ensemble des extraits *secs* représente 8 à 10 pour 100 des feuilles désséchées.

L'extrait sulfocarbonique est séparé par l'alcool en une partie décolorée, qui renferme notamment les cires des feuilles et les cholésterines végétales I
et en une partie alcoolique, colorée en vert. De cette dernière, on sépare par le pentane une partie vert foncé, insoluble . . II
et une partie vert jaûnatre, soluble dans le pentane . . . III

L'extrait de chlorophylle alcoolique est séparé par l'éther, en une partie verte insoluble dans l'éther IV
et une partie verte, soluble V

Cette dernière est dédoublée par le pentane en une partie soluble dans ce corps VI
et une partie insoluble VII

[1] Etard, *Biochimie des chlorophylles*, Masson, 1906.

Enfin l'extrait aqueux est soumis soit à la dialyse, soit à l'action de la levure, soit à l'action d'une solution saturée de sulfate de magnésium, pour en isoler les éléments très variables qu'il renferme, et dont les sucres et les sels sont les principaux.

Dans l'extrait sulfocarbonique on retrouve deux sortes de corps incolores intéressants : les cires et les cholestérines végétales. Les cires des feuilles forment un vernis protecteur à la surface de l'épiderme. Certaines de ces cires sont des carbures saturés, des sortes de paraffines, comme le bryonal de la *Bryonia dioica*, le syringol des lilas ; d'autres sont des alcools monoatomiques des cires oxygénées ou ozokérites, comme l'urticol de l'*Urtica alba*, le porrol du poireau, l'avénol de l'avoine cultivée, l'hordéol de l'orge, le triticol du blé, le trifoliol du trèfle, le médicagol de la luzerne, le loliol de l'ivraie ; Etard fait remarquer que les animaux ne digèrent pas mieux ces cires que les chlorophylles, ce qui est un point de rapprochement. Il montre que les bourgeons et jeunes feuilles de peuplier renferment une matière complexe, mal définie, le populol, tandis qu'au fur et à mesure de l'âge et de la croissance, cette matière se simplifie et devient analysable, sous forme d'une cire. Il observe qu'un grand nombre de Graminées, Légumineuses, Rosacées, etc., donnent pour leur enduit cireux une composition analogue, qui est à peu près celle de l'alcool stéarique et que, par contre, la cire et la chlorophylle du gui, qui se nourrit de la sève du tilleul sont très différentes de celles que forme le tilleul avec cette même sève.

Benecke, Rithausen, Hesse, Liebermann ont admis, dans les feuilles, la présence de cholestérines végétales, de formule

$$C^{25}H^{44} + H^2O \text{ ou } C^{25}H^{42}O + H^2O$$

d'origine terpénique ; mais ces corps sont encore à l'étude.

En appliquant la méthode que j'ai résumée plus haut, Etard a pu isoler les corps suivants retirés de l'ivraie :

Extrait sulfocarbonique	loliol, cire blanche non azotée	$C^{16}H^{34}O$
	loliophylle 1, pigment vert	$C^{129}H^{214}AzO^{14}$
	loliophylle 2, pigment vert	$C^{28}H^{41}AzO^{5}$
	acide lolique, incolore.	$C^{14}H^{24}O^{2}$
Extrait alcoolique.	loliophylle 3, pigment vert	$C^{159}H^{257}AzO^{21}$
	loliophylle 4, pigment vert	$C^{86}H^{156}AzO^{14}$
	loliophylle 5, pigment vert	$C^{52}H^{76}Az^{8}O^{9}$
	loliophylle 6, pigment brun	$C^{34}H^{50}Az^{2}O^{10}$

Comme on le voit, il y a accumulation progressive d'oxygène et

d'azote dans les formules et, de plus, il y a des chlorophylles grasses — solubles dans le sulfure de carbone et intervenant apparemment dans la synthèse des graisses — et des chlorophylles, non solubles dans le sulfure, mais assez hydroxylées pour entrer en relation avec les amyloïdes et l'eau, et tendre vers la formation de glucosides.

Le chanvre donne à Etard 6 chlorophylles ou cannabiphylles, dont 3 sont grasses, c'est-à-dire solubles dans le sulfure.

Dans la fougère *(Aspidium Filix fœmina)*, on distingue une aspidiophylle grasse et 2 aspidiophylles alcooliques.

Il ne faut pas oublier que, pour Etard, ces diverses chlorophylles n'ont pas, dans la cellule vivante, la composition que donne leur analyse, après extraction de la plante; dans la cellule ce serait des substances, *vivantes* ou *chloroglaucines* et, par suite, en état de variation continue, se modifiant avec l'âge et l'espèce; les chlorophylles sont les produits de ces chloroglaucines, qui ont cessé de vivre, par suite des procédés d'extraction.

Twett[1] a examiné les éléments de la chlorophylle surtout au point de vue de leur coloration; il distingue, dans les feuilles, à côté des xanthophylles jaunes et non dichroïques (xanthophylle, carotine, etc.) des chlorophylles qu'il nomme chlorophyllines et dont l'une au moins a une coloration bleue; en soumettant la matière verte des feuilles à des dissolutions successives dans l'alcool à 85 degrés, l'éther de pétrole, l'acool à 90 degrés, il arrive à une liqueur presque bleue, qui cristallise en agrégats noir d'encre à reflet vert et donne la bande caractéristique du spectre chlorophyllique. Guillemare voit aussi l'existence d'un élément bleuâtre dans la chlorophylle; cet élément serait peu abondant, neutre et inactif; quant à l'autre élément, le seul actif, ce serait l'acide chlorophyllique, acide amidé, qui donne des sels ou chlorophyllates alcalins, conformes aux lois de Berthollet, et qui sert dans la cellule à la formation d'un grand nombre de corps azotés. — Ainsi, on tend de plus en plus à admettre parmi les éléments colorés de la chlorophylle, la présence d'un élément bleu ou susceptible de bleuir. — Il y a d'ailleurs dans les plantes, d'autres exemples de principes colorants bleus, non solubles dans le suc cellulaire et imprégnant le proto-

[1] Twett, *Compte rendu*, 1901.

plasme végétal; Ray-Lankester cite une Diatomée, ainsi colorée en bleu, *Navicula ostrearia*, auquel il attribue le verdissement des huîtres.

Quant à la question de savoir quel est l'élément de la chlorophylle, qui présente le dichroïsme, on sait que, d'après Flahaut, ce serait un élément brun. C'est aussi l'avis de M. le professeur Dubois, qui a pu séparer de la chlorophylle des Algues, en dehors de l'élément vert, un élément brun dichroïque. Il a montré d'ailleurs, en comparant les propriétés photochimiques de la chlorophylle à celles de la bonelline et des pigments de certaines Annelides et Holothuries, que, tandis que ces pigments animaux sont fluorescents, le pigment chlorophyllien des végétaux est simplement dichroïque et non fluorescent. Récemment, Haberlandt a remarqué que la chlorophylle en absorbant les rayons de la région la plus réfrangible du spectre, a pour effet, dans les feuilles, de s'opposer à la production des phénomènes héliotropiques.

Les travaux de Schunk et Marchlewsky[1] sont venus apporter une importante contribution aux analogies de la chlorophylle, avec les pigments sanguins et biliaires des animaux. Ces auteurs ont retiré du sang l'hématoporphyrine, dont ils ont pu établir l'isomérie avec un dérivé de la chlorophylle, qu'ils ont désigné sous le nom de phylloporphyrine. D'après leurs travaux, le parallélisme des deux substances, peut se résumer ainsi :

Hémoglobine :	*Chlorophylle :*
Action de $C^4 H^4 O^4 + Hcl$ sur l'hémoglobine = hémine.	Action des acides sur la chlorophylle = phyllocyanine.
Action de $C^4 H^4 O^4$ sur l'hémoglobine = hématine $[C^{32} H^{34} Fe\ Az^4 O^6]$	Action des alcalis sur la chlorophylle = phyllotaonine
En éliminant le fer de l'hématine, par acide sulfurique on obtient = hématoporphyrine $[C^{16} H^{18} Az^2 O^3]$	En traitant la phyllotaonine par les alcalis à chaud on obtient = phylloporphyrine $[C^{16} H^{18} Az^2 O]$
De l'hématoporphyrine, dérive l'hématoïdine ou bilirubine $[C^{32} H^{36} Az^4 O^6]$	. . . . .
De l'hématoïdine dérive : l'hémopyrrol $C^8 H^{13} Az$ puis l'urobiline $C^{32} H^{40} A^7 Az^4$ extrait des urines par l'action de l'ammoniaque.	De même, de la phylloporphyrine, on a pu retirer : l'hémopyrrol $C^8 H^{13} Az$ et par hydratation et hydrogénation : l'urobiline $C^{32} H^{40} O^7 Az^4$.

Comme on le voit, la phyllotaonine donne par les alcalis à chaud

[1] Schunk et Marchlewsky, *Proceedings roy. Soc.*, 1895.

la phylloporphyrine, substance rouge cristallisable, qui est presque isomère, par sa formule $C^{16} H^{18} Az^2 O$, de l'hématine à laquelle on a soustrait le fer et qu'on nomme hématoporphyrine $C^{16} H^{18} Az^2 O^3$; il y a même spectre d'absorption, bande vers D et entre D et E. — Ces deux corps fournissent également par réduction l'hémopyrrol, et par hydratation et hydrogénation l'urobiline.

Assimilation du carbone organique. — On sait que, jusque vers 1840, les physiologistes admirent que la plante forme ses substances carbonées en puisant le carbone, par ses racines, dans l'humus ; on attribuait peu d'importance aux cendres végétales, les considérant comme un résidu analogue aux dépôts calcaires dans les chaudières. Toutefois, depuis longtemps, Bernard Palissy avait avancé que la fertilité du sol dépend de la nature des minéraux qu'il renferme ; Duhamel avait pu cultiver pendant huit ans un chêne, uniquement dans de l'eau ordinaire ; l'arbre avait atteint 0 m. 50 de haut et 0 m. 005 de diamètre ; Lavoisier avait écrit que les végétaux puisent leur nourriture dans l'air, dans l'eau et dans les éléments minéraux du sol.

Mais ce fut Liebig, en 1840, dans sa *Chimie organique*, qui publia la théorie minérale de l'alimentation végétale, et soutint que l'humus et le fumier ne valent que par les principes minéraux qu'ils renferment, qu'une plante peut se développer et fructifier normalement, enracinée dans du verre pilé ou du sable calciné, humecté avec des solutions exclusivement minérales, et que, si le fumier est favorable au végétal, c'est par l'acide carbonique qui provient de sa fermentation, et qui, absorbé par les racines, arrive aux tissus verts de la plante. Cette théorie renversa complètement celle de l'humus jusqu'à nos jours. C'est un caractère de la période contemporaine de l'histoire de la chlorophylle, que ce retour, partiel du moins, à l'idée de l'assimilation du carbone organique.

Laurent[1] en cultivant le maïs sur des solutions nutritives stérilisées additionnées de glucose, a vu que le maïs absorbe et assimile le sucre à la lumière, comme à l'obscurité ; les poids de sucre assimilé ont varié de 5 grammes à 14 grammes, pour des plantes dont le poids variait de 6 à 20 grammes, au bout de 18 à 33 jours. Meyer et Laurent avaient montré aussi que des feuilles détachées fabriquent de l'amidon, aux dépens d'un grand nombre de sucres.

Bokorny[2] a pu alimenter des Spirogyra avec des solutions contenant du methylal ou de l'oxyméthylsulfite de sodium. Hansteen a vu se

[1] Laurent, *Compte rendu*, 1897.
[2] Bokorny, *Deuts. bot. Gesell.*, 1891.

développer des Lemna, à l'obscurité, sur des solutions de sucres et d'asparagine ou d'urée. Mazé a réussi à faire croître complètement des plantes à l'obscurité, dans des solutions nutritives stérilisées, contenant du glucose; les feuilles restaient étiolées, mais l'augmentation de poids démontrait l'absorption et l'assimilation du glucose.

Ce qui avait contribué à faire rejeter l'absorption des substances organiques par les racines, c'est qu'on considérait ces substances comme non dialysables à travers les membranes cellulaires. Or, Petermann, en soumettant à la dialyse 100 grammes de terre fine pendant 100 jours, a eu les résultats suivants :

NATURE DES TERRES	POIDS TOTAL DE LA MATIÈRE DIALYSÉE	MATIÈRE ORGANIQUE DIALYSÉE
Sablonneuses	0 gr. 076	0 gr. 031
Calcaro-schisteuses	0 gr. 165	0 gr. 066
Sablo-argileuses	0 gr. 263	0 gr. 181

Ces résultats prouvent que la matière organique est lentement dialysable. D'autre part on sait qu'au printemps la sève des végétaux renferme, à côté des éléments minéraux, un peu de matière organique. On regarde donc, aujourd'hui, l'acide carbonique de l'air comme la source, non plus unique, mais principale du carbone de la plante, et le protoplasme chlorophyllien, comme l'agent d'organisation de ce carbone ; et on reconnaît qu'en dehors de ce phénomène prépondérant, la plante est susceptible d'absorber lentement par ses racines un peu du carbone organique de l'humus.

NOTA. — La bibliographie des ouvrages consultés sur la chlorophylle végétale se trouve à la page 1 de l'index.

II. — ESQUISSE BIOLOGIQUE SUR LA CHLOROPHYLLE CHEZ LES ANIMAUX

Nous avons vu qu'on a trouvé la chlorophylle dans toutes les branches de la classification animale; elle existe d'abord dans le tube digestif des herbivores et omnivores, et, en outre, dans les tissus de plusieurs animaux.

MÉTHODES

Les méthodes dont on s'est servi pour caractériser la chlorophylle dans les animaux sont au nombre de trois principales :

Méthode microscopique. — On a examiné sous le microscope, soit par transparence, soit à l'aide de coupes, les tissus des divers organes animaux, dans lesquels on soupçonnait la présence de la chlorophylle, en raison par exemple de leur coloration verte ou verdâtre. On a observé dans ces tissus des corpuscules verts, analogues aux grains de chlorophylle des cellules végétales; on les a comparés alors à ces derniers :

1° Au point de vue de la constitution histologique (présence ou absence du noyau, du pyrénoïde, de la membrane, etc.); 2° au point de vue du développement (formation, division); 3° au point de vue de l'action des réactifs chimiques; par exemple, on sait que la chlorophylle se distingue par la coloration vert émeraude, qu'elle prend au contact de l'acide sulfurique concentré, par la coloration jaune ou verte, que lui donne l'acide chlorhydrique, suivant qu'il est dilué ou concentré; par la coloration jaune au contact de l'acide azotique; il y a aussi jaunissement au contact des alcalis; mais si l'on chauffe, un chlorophyllate vert caractéristique se produit.

C'est par cette méthode des réactions microscopiques que, dès 1849, Siebold[1], Schultze[2], Cohn[3], Ray-Lankester[4], ont conclu à la présence de corps chlorophylliens dans *Stentor polymorphus, Paramœcium Bursaria, Orphydium versatile, Spongilla fluviatilis, Hydra viridis, Vortex viridis*, et que Brandt[5], en 1882, a montré le premier que les corpuscules verts de ces animaux se distinguent des grains de chlorophylle par la présence d'un noyau et d'une zone protoplasmique incolore, et se rapprochent au contraire par leur constitution histologique de celle des Algues unicellulaires.

Bory de Saint-Vincent[6], dès 1824, avait rapporté à une Algue, *Anabœnia impalpabilis*, les corps verts de *Spongilla*.

Méthode du dégagement gazeux. — On place les animaux à étudier dans des tubes pleins d'eau légèrement carbonique, renversés sur la cuve à eau ou à mercure, et on observe si, après exposition au soleil, il se dégage ou non des bulles de gaz. Il faut tenir compte

[1] *Zeitschr. wiss. Zool.*, I Bd, 1849.
[2] *Zeitschr. wiss. Zool.*, XXXII Bd, 1879.
[3] *Zeitschr. wiss. Zool.*, III Bd, 1891 et *Beitr. biol. des Pflanzen*, I Bd, 1872.
[4] *Qual micr. Science*, XIV, 1874 et XXII, 1882.
[5] *Biol Centralblatt*, I, 1881-1882 et *Arch. für Physiol.*, 1882.
[6] *Encyclop. méthodiq. Zool.*, 1824.

d'ailleurs des gaz adhérents; pour cela, on place à l'obscurité un tube témoin semblable, contenant aussi les animaux verts à étudier; l'air adhérent se dégage comme à la lumière et on peut en connaître le volume et faire la correction.

Par cette méthode, Hogg[1] a pu constater un dégagement gazeux avec *Spongilla fluviatilis*, Geddes[2] avec *Convoluta roscoffensis*, Blomfield[3] avec *Hydra viridis*, Engelmann[4] avec les Infusoires verts. Geddes recueillit ainsi de 45 à 55 pour 100 d'oxygène, et environ 65 pour 100 d'un gaz qu'il considère comme de l'azote, et Blomfield environ 33 pour 100 d'oxygène. Geddes n'obtint aucun dégagement avec *Bonelia viridis*, *Chœtoptera insignis* et *Idotœa viridis*, par contre des Radiolaires, des Gorgones, des Vellelles et des Actinies colorées en jaune lui donnèrent de 20 à 38 pour 100 d'oxygène.

Engelmann a perfectionné la sensibilité de la méthode du dégagement gazeux en plaçant sous le microscope les Infusoires à étudier, dans une goutte d'eau, riche en *Bacterium termo*, bactéries très avides d'oxygène; par suite, si l'Infusoire dégage de l'oxygène, les bactéries vont s'accumuler principalement dans les parties où se fait un dégagement; c'est effectivement ce qui se produit avec *Paramœcium Bursaria*, *Vorticella campanula* et *Hydra viridis;* de plus Engelmann a vu que certains Infusoires à corpuscules jaunes dégagent aussi de l'oxygène et Brandt eut le même résultat avec les Radiolaires jaunes. Engelmann dit que cette méthode est sensible à 1 centbillionnième de milligramme d'oxygène.

Méthode spectroscopique. — Cette méthode consiste à faire macérer dans de l'alcool à 90 degrés les tissus de l'animal à étudier; on obtient une solution verte ou jaune verdâtre qu'on examine au spectroscope, comparativement à une solution de chlorophylle végétale. Il y a plusieurs précautions à prendre : il faut, quand on s'adresse à un animal à organes digestifs bien distincts, commencer par enlever rigoureusement le tube digestif, et faire macérer seulement les tissus exempts de tout produit d'ingestion; il faut examiner

[1] *Mag. nat. History by Charlestown N. S*, vol. 4.
[2] *Compte rendu Acad. Sc.*, 1878, et *Proceed. roy. Soc. London*, 1879, et *Arch. zool. exper.*, 1879-1880 et *Proc. Roy. Soc. Edimburgh*, 1882.
[3] Voir Lankester, *Qual micr. Science*, XXII, 1882.
[4] *Arch für die gesammt. Physiol.*, XXV Bd., 1881, et *Botan. Zeitung*, 1881.

la solution verte dans une cuvette à faces parallèles et sous une épaisseur assez grande ou après concentration, car plusieurs tissus animaux renferment une faible quantité de chlorophylle; il faut aussi comparer le spectre obtenu à celui d'une solution de chlorophylle végétale, dans le même solvant et au même degré de concentration colorimétrique.

On sait que la chlorophylle végétale a un spectre particulier, présentant sept bandes obscures; cependant ce spectre diffère suivant la concentration. Si la dissolution alcoolique est très foncée, l'extrême rouge du spectre est seul visible, tout le reste étant obscur; si la dissolution est moins concentrée, on observe une large bande noire dans le rouge, jusqu'au vert — une zone lumineuse dans le vert, qui présente toutefois une légère ombre —, puis une extinction à partir du vert extrême; c'est en général le spectre de la feuille vivante, étudiée par transparence comme l'a fait Lommel. Ce n'est qu'avec une dissolution *faiblement* concentrée que se dessinent les sept bandes classiques; de fait, les masses d'ombre de la chlorophylle concentrée semblent se désagréger, se cliver en tranches successives qui affectent chaque couleur du spectre; en effet, de même qu'il y a sept couleurs spectrales, il y a sept bandes obscures: la première dans le rouge est la plus foncée, la plus nette; la deuxième, à la limite du rouge, dans le début de l'orangé, est moins accusée; la troisième, dans le jaune extrême, à la frontière du vert, est moins accusée encore; la quatrième paraît à peine, dans le vert, quand la chlorophylle n'est pas altérée; ces quatre premières bandes constituent ce que Chautard appelle les quatre bandes, dégradées du rouge au vert, de la chlorophylle fraîche. Avec une dissolution très faiblement colorée on distingue encore trois bandes floues, l'une dans le bleu, l'autre dans l'indigo, et la dernière tout à fait à l'extrême violet; mais le degré de dilution, nécessaire pour la netteté de ces trois bandes, nuit à la netteté des bandes précédentes, de telle sorte que les deuxième, troisième et quatrième bandes sont effacées et que la bande du rouge est réduite à un simple linéament. D'ailleurs, si ces diverses bandes ont une situation constante, relativement les unes aux autres, il suffit de l'addition d'un réactif (huile, acide) pour les déplacer de quelques degrés à droite ou à gauche. Pringheim a montré que ces bandes reculent d'autant plus vers l'extrémité du spectre que le dissolvant

a un indice de réfraction plus grand. On voit donc que le spectre de la chlorophylle est variable suivant la concentration, et que la méthode spectroscopique serait assez vague si toutes les bandes avaient une égale importance pour la diagnose. Mais Chautard a montré que la première bande, dite bande du rouge ou de Brewster, et comprise entre λ 678 et λ 647, suffit à elle seule pour caractériser la présence de la chlorophylle; qu'elle persiste seule dans les solutions de chlorophylle où toutes les autres bandes sont effacées; qu'elle résiste à l'action des réactifs (acide chlorhydrique, alcalis à chaud, etc.) donnant lieu parfois à des bandes surnuméraires, mais en tout cas ne s'effaçant jamais, même dans des solutions très étendues, contenant moins de 1/10.000 de chlorophylle. Cette résistance aux réactifs constitue ce qu'on peut appeler *l'épreuve chimique* du spectre de la chlorophylle.

Ainsi les caractères spectroscopiques essentiels de la chlorophylle sont :

1° La présence d'une bande dans le rouge;

2° La résistance de cette bande à l'action des réactifs et à la dilution de la solution.

A ces caractères, Chautard ajoute la présence d'une bande dans le vert, lorsque la chlorophylle a subi une altération.

En 1873, Sorby appliqua la méthode spectroscopique à la recherche de la chlorophylle dans les tissus animaux; il montra ainsi que le pigment de *Spongilla fluviatilis* se rapproche exactetement de la chlorophylle des Lichens et des Algues et que le pigment de *Bonellia viridis* diffère, au contraire, de la chlorophylle végétale par l'action des acides et alcalis sur les bandes spectrales. En 1883, Mac Munn modifie un peu la méthode de Sorby : au lieu de faire des solutions alcooliques de pigments, il les traite par la potasse alcoolique à chaud et obtient des savons en solution, qu'il compare, au point de vue des bandes spectrales au chlorophyllate vert, obtenu par le même procédé. Il établit ainsi l'identité du pigment de *Spongilla* avec la chlorophylle et les analogies chlorophylliennes de nombreux pigments hépatiques de Mollusques qu'il nomme pigments *chlorophylloïdes* ou *entérochlorophylle*. Krukenberg avait déjà reconnu par la même méthode les analogies chlorophylliennes des pigments de divers Mollusques et Crustacés.

ORIGINE ET ROLE DE LA CHLOROPHYLLE ANIMALE

Il faut distinguer la chlorophylle du tube digestif et la chlorophylle des tissus.

Chlorophylle du tube digestif. — Une grande partie de cette chlorophylle paraît d'une digestion difficile et est rejetée avec les aliments non digérés et les fèces; il faut probablement attribuer à son peu de digestibilité le fait que les herbivores produisent une quantité d'excréments beaucoup plus considérable que les carnivores. La coloration de ces excréments n'est pas due seulement à la chlorophylle, mais aux pigments biliaires; en tous les cas, le spectre de la matière colorante des excréments présente la bande du rouge caractéristique de la chlorophylle et la bande du vert, de la chlorophylle altérée.

Cette chlorophylle, qui occupe presque constamment l'intestin des herbivores, n'a-t-elle aucun rôle physiologique? Je reviendrai sur ce point un peu plus loin, dans mes recherches personnelles. Pour le moment, il faut rappeler que plusieurs auteurs ont soutenu que la chlorophylle extraite de la cellule conserve, au moins partiellement, ses propriétés physiologiques.

On sait d'abord que les solutions alcooliques de chlorophylle absorbent les radiations lumineuses comme la chlorophylle des feuilles vivantes. De plus, Regnard a montré que des fragments de feuilles de *Potamogeton* et même des lamelles de cellulose trempées dans une solution alcoolique de chlorophylle et desséchées rapidement à froid dans le vide, sont susceptibles de dégagement d'oxygène à la lumière; cet auteur constate, en effet, que ces lamelles de cellulose teintes par la chlorophylle font virer au bleu, seulement à la lumière, une solution de bleu Coupier exactement décolorée par l'hydrosulfite de soude bien neutre; c'est là, évidemment, l'indice d'une oxydation.

Engelmann a observé aussi par la méthode des bactéries que les *bacterium termo* continuent à se grouper autour de chloroplastides séparés du protoplasma cellulaire, et, par conséquent, en liberté dans la goutte d'eau de préparation.

Plus récemment, Friedel a remarqué que des feuilles vertes tuées

par la dessiccation à 100 degrés et pulvérisées ne dégagent plus d'oxygène à la lumière, mais que le dégagement recommence si on ajoute à cette poudre verte un peu de l'extrait glycériné jaunâtre retiré de feuilles fraîches. Marchiatti a confirmé ce fait.

Bien que ces expériences aient été attaquées, elles n'en présentent pas moins une certaine concordance, qui fait présumer que la chlorophylle d'ingestion ou extraite des cellules n'est pas radicalement inerte et inactive.

D'ailleurs, on sait, d'après les expériences de Becquerel, que la chlorophylle extraite exerce une action sur la décomposition des sels d'argent; Cloëz a montré aussi qu'un peu de chlorophylle ajoutée à un peu d'huile siccative rend cette huile moins siccative à l'obscurité et plus siccative à la lumière.

Chlorophylle des tissus animaux. — Deux opinions ont été avancées à ce sujet; certains auteurs ont prétendu que cette chlorophylle est produite par l'animal; d'autres qu'elle provient de son alimentation.

La première opinion se base sur ce que dans certains cas les corpuscules chlorophylliens des tissus animaux se multiplient par division dans l'intérieur de la cellule animale, qu'ils y subsistent durant toutes les phases de la vie de l'animal, vie active, enkystement (Infusoires), que l'œuf même en renferme (Hydre), qu'ils meurent et se décomposent seulement lorsque meurt la cellule animale qui les contient, qu'ils paraissent coiffer des sortes d'émergences incolores du protoplasme cellulaire, suivant Ray-Lankester, qu'ils ne sont pas inoculables d'une espèce d'Infusoire à une autre espèce différente, et que, dans la même espèce, ils présentent fréquemment des variations de taille et de nombre, qui paraissent en rapport avec le développement de l'espèce. D'autre part, on sait que le protoplasme animal ne se distingue pas fondamentalement du protoplasme végétal, et puisque ce dernier est susceptible de produire la chlorophylle, il n'y a pas de raison pour que le premier n'ait pas cette propriété.

Les partisans de l'origine végétale se fondent sur le fait que si on soumet certains animaux chlorophylliens à un jeûne prolongé, on constate que leur teneur en chlorophylle diminue et arrive même à disparaître complètement; c'est ainsi que M. Dastre a prouvé

l'origine végétale de la chlorophylle de l'hépato-pancréas des Hélix.

D'ailleurs, les arguments des partisans de l'origine animale ont été réfutés en partie par ceux qui soutiennent que les corps chlorophylliens des animaux sont des Algues qui y ont élu domicile. A l'appui de cette assertion, on a observé dans tout le groupe des animaux à Zoochlorelles les faits suivants :

1° Brandt a coloré par l'hématoxyline un noyau dans chaque Zoochlorelle qui, par suite, devient homologuable à une cellule et non pas à un chloroplastide ;

2° Famintzin et Beyerinck ont isolé de *Paramœcium bursaria*, de *Stentor polymorphus*, d'*Hydra viridis* quelques Zoochlorelles qui, cultivées sur gélatine, gélose, silice gélatineuse, humectées de solutions minérales, se sont divisées chacune en quatre Zoochlorelles qui, à leur tour, se sont divisées chacune en quatre ;

3° Le Dantec a réussi à inoculer à une Paramécie incolore une Zoochlorelle provenant d'une paramécie verte ; cette Zoochlorelle en se divisant a fini par remplir de ses cellules filles tout l'Infusoire ;

4° Beyerinck a cultivé sur gélatine nutritive comparativement des Zoochlorelles d'*Hydra viridis* et des *Chlorella vulgaris*, Algues unicellulaires communes dans les mares ; l'étude parallèle de leur développement lui aurait permis de les identifier. Toutefois, tandis qu'on obtient avec *Chlorella vulgaris* la production de zoospores, les Zoochlorelles ne se multiplient que par division.

D'ailleurs, plusieurs Algues parfaitement caractérisées vivent associées à des animaux, parfois comme parasites. Ainsi, une Algue bleue, *Oscillaria spongeliæ*, vit dans les tissus mous d'une éponge, le *Spongelia pallescens* ; une Algue brune, le *Chœtoceros*, remplit le corps d'un Infusoire cilié, le *Titinnus inquilinus;* le *Chlorochytrium Cohni*, une Protococcacée, passe une partie de sa vie dans le thalle d'une Floridée, le *Polysiphonia unceolaria*, puis ses spores émigrent dans deux Infusoires, *Epistylis* et *Vaginicola crystallina* où elles se développent en entraînant la mort de l'hôte ; une Confervacée, *Dermatophyton radicans*, vit sur la carapace d'une tortue, *Emys Europœa*; une autre Confervacée, *Trichophilus Welckeri* se développe dans la substance des poils de certains Edentés en compagnie d'une Algue bleue du genre *Cyadonerma*. On pourrait multiplier les exemples.

Quant au groupe des Infusoires chlorophylliens *(Euglena)* qui

n'ont pas de Zoochlorelles, la théorie du consortium ne peut pas leur être appliquée.

DIVERSES FORMES DE LA CHLOROPHYLLE DES ANIMAUX

Ainsi la chlorophylle contenue dans les tissus animaux se présente sous diverses formes qui n'ont peut-être pas la même origine. Parmi les animaux inférieurs, je distinguerai deux groupes chlorophylliens : les *Chromatophorés*, dans lesquels la chlorophylle se présente sous forme de masses non nucléées et les *Chlorellophorés* dans lesquels la chlorophylle se présente sous forme de corpuscules nucléés. Quant aux animaux, d'organisation plus élevée, les uns contiennent de la chlorophylle seulement dans des organes internes, non apparents; les autres présentent des pigments chlorophylliens externes ou apparents ; je les classerai donc provisoirement en animaux *endochloropylliens* et en animaux *exochlorophylliens*.

Chromatophorés. — Ce sont particulièrement ces Flagellés dont j'ai parlé plus haut, et qui renferment dans leur protoplasme incolore un ou plusieurs chromatophores verts, jaune-verdâtre, brun-verdâtre, jaunes ou bruns selon les espèces, chromatophores qui paraissent d'ailleurs identiques à ceux des Algues.

Ces êtres flagellés sont-ils des animaux ou des végétaux, des Protozoaires ou des Algues unicellulaires?

Ils se rattachent aux Protozoaires : 1° parce qu'ils sont constitués par une seule cellule libre et automotrice; 2° parce que, sauf le chromatophore, ils ont une organisation qui semble identique à celle des Protozoaires Flagellates incolores : un ou plusieurs flagellums (1 dans *Euglena*, *Phacus ;* 2 dans *Chlamydomonas*, *Pandorina;* 4 dans *Carteria*, etc.); une ouverture buccale, suivie parfois d'un espace pharyngien (*Euglena*, etc.) ; une vacuole contractile (Eugléniens) ; un point oculiforme pigmenté en rouge (Eugléniens, *Pandorina*, Péridiniens, etc.).

Leur multiplication, enkystement, formes coloniales, caractères histologiques du noyau et du protoplasme, enclaves amylacées (paramylon) ne les distinguent en rien des Flagellates incolores ; Dangeard, qui les a étudiés en détail, reconnaît que le *Polytoma uvella*

conduit aux *Chlorogonium*, les *Astasia* aux Euglena, le *Chilomonas Paramecium* aux *Cryptomonas*.

D'autre part, les Flagellés chlorophylliens se rattachent aux Algues :

1° Parce qu'ils ont un ou plusieurs chromatophores, chargés de chlorophylle ou de pigments surnuméraires — présentant parfois un pyrénoïde — et doués de la fonction chlorophyllienne; Engelmann a montré, par la méthode des bactéries, que les Euglènes et divers Flagellates colorés dégagent de l'oxygène à la lumière ;

2° Parce que certains ont une membrane cellulosique — par exemple les Péridiniens.

3° Parce que, par leur constitution et leur motricité, ils se rapprochent en tout point des corps reproducteurs des Algues (zoospores, anthérozoïdes). Ainsi on voit les zoospores des Siphonées *(Botrydium)* et des Confervacées *(Cladophora)* se mouvoir à l'aide de longs cils (1 dans *Botrydium*, 2 dans *Cladophora*, 4 dans *Ulothrix)*, et présenter une simple membrane albuminoïde dépourvue de cellulose, ainsi qu'une tache oculiforme rouge et des vacuoles susceptibles de se contracter suivant la nature du liquide où nage le zoospore. De même les anthérozoïdes de Fougères se meuvent courbées en spire, avec plusieurs longs cils à une extrémité ; celles des Mousses ont seulement deux longs cils ; celles d'une Confervacée, l'*Œdogonium*, ont même la particularité d'être dépourvues de chlorophylle, ce qui augmente leur ressemblance avec les animalcules ; on sait aussi que les zoospores de nombreux Champignons se rapprochent à s'y méprendre des Flagellates ; « une zoospore de Chytridinée a un caractère d'animalité frappant; cependant elle émet de longs filaments mycéliens ».

Quels que soient leurs caractères d'animalité, on est bien obligé d'admettre que les corps reproducteurs des Thallophytes sont des végétaux, puisqu'on les voit se former par division des cellules mères dans le filament et qu'on suit leur développement et la formation de leurs flagellums, et puisqu'on les voit donner naissance à des tubes filamenteux.

Mais on n'a observé rien de semblable au sujet des Flagellates chlorophylliens ; ils ressemblent à s'y tromper aux corps reproducteurs des Algues, mais on ne les a jamais vu pousser des tubes de germination ; de plus, nous avons vu que les Flagellates chloro-

phylliens se rattachent insensiblement à des formes incolores ; Zumstein[1] a pu transformer par une alimentation organique riche, des Euglènes chlorophylliennes en Euglènes incolores, tandis qu'on n'a pas pu encore, par ce procédé, priver de chlorophylle des Algues filamenteuses sans qu'elles ne dégénèrent et ne s'altèrent rapidement. D'ailleurs les mouvements des corps reproducteurs et le fonctionnement de leurs cils sont souvent moins rapides et moins déterminés que ceux des Eugléniens.

Il paraît donc qu'on ne peut pas se prononcer catégoriquement sur le caractère végétal des Chromatophorés. Dangeard, dans son mémoire récent sur les Eugléniens, arrive à les considérer comme des animaux ayant pris les caractères et le mode de vie des végétaux, de telle sorte qu'on ne saurait aujourd'hui les en distinguer et les omettre de la classification végétale ; suivant cet auteur, ils se séparent des Protozoaires non parasites, principalement en ce que jamais ils n'introduisent de substances solides dans leur protoplasme, le mode de nutrition holophytique ou chlorophyllien ayant fait place au mode de nutrition par incorporation, qui est le propre des animaux.

Chlorellophorés. — Bouvier[2], dans un mémoire sur la chlorophylle animale, a fait l'analyse critique de tous les travaux écrits sur les animaux à Zoochlorelles jusqu'en 1890 et je ne puis mieux faire que de le suivre dans cette étude.

Il insiste sur la présence de la chlorophylle dans les Zoochlorelles — reconnaissable à un dégagement d'oxygène à la lumière et à la bande spectrale de Brewster. Il passe en revue les observations relatives à la forme et aux dimensions des Zoochlorelles (1 μ 1/2 à 13 μ de diamètre selon les espèces) — à leur situation dans les tissus de l'animal (endoderme dans *Hydra*, mésoderme dans *Spongilla*, lacunes du parenchyme périphérique dans *Convoluta*, système tubulaire du manteau dans *Elysia*), — à leur structure histologique (zone hyaline de protoplasme contenant le noyau, et chromatophore vert contenant un pyrénoïde), — à leur origine dans l'œuf de l'Hydre et du Vortex (plusieurs œufs de ces animaux donnent naissance à des individus sans Zoochlorelles), — à leur multiplication dans

[1] *Jahr. f. wiss. Botan.* Bd 34, 1900.
[2] *Bull. Soc. Philomatique de Paris*, 8e série., t. V.

l'animal par quadripartition, — à leur culture sur gélatine, agar, silice gélatineuse, après isolement du corps de l'animal, — à leur inoculation expérimentale à des individus incolores de même espèce, — à leur ressemblance et uniformité de développement avec certaines Algues unicellulaires libres *(Palmella hyalina, Chlorella vulgaris)*, — à leur disparition dans les Paramécies, maintenues à l'obscurité, — et à leur utilité pour l'animal, aussi problématique que l'utilité de l'animal pour les Zoochlorelles. Quoi qu'il en soit, Bouvier préfère considérer ces corps comme des Algues adaptées à la vie endocellulaire de ses hôtes plutôt que comme des chloroplastes produits par l'animal. Toutefois, à propos du Convoluta, il reconnaît « qu'il a acquis la certitude qu'on n'est point fixé sur l'origine et le rôle des Zoochlorelles ».

Gamble et Keeble[1] ont étudié récemment les Zoochlorelles de *Convoluta roscoffensis*. Ils remarquent que ces Turbellariés se nourrissent abondamment de Diatomées, d'Algues, de spores, de bactéries, de Zoochlorelles même ; qu'on ne découvre point de germes de Zoochlorelles dans l'œuf ; mais que la capsule de l'œuf porte une collection nombreuse de cellules vertes, verdâtres ou incolores ; que ce serait ces cellules incolores qui, pénétrant dans l'œuf en voie de développement, verdiraient à la lumière, une fois dans l'animal ; qu'en définitive, les Zoochlorelles sont des Algues parasites et qu'il n'existerait pas de symbiose.

Endochlorophylliens. — Le terme d'*entérochlorophylle* a été employé par Mac Munn pour désigner une substance très analogue à la chlorophylle végétale — retirée par Krukenberg, du foie des Mollusques et de quelques Crustacés — par Rey-Lankester, des cellules intestinales d'un Annélide, le *Chœtopterus insignis* — par Moseley, d'un Bryozoaire, le *Flustra foliacea* — que Mac Munn a extraite des tissus de nombreux Spongiaires, Astéries, Mollusques et Crustacés et que Newbigin a signalée dans quelques Annélides, Coraux et Anémones de mer.

Ce qui caractérise cette substance et ses dérivés, c'est : 1° qu'elle est intimement unie à un lipochrome jaune, dont les bandes spectrales ne coïncident pas avec celles de la xantophylle végétale ; 2° qu'après saponification par la potasse alcoolique, elle ne présente

[1] *Proceedings roy. Soc. London*, n° 478.

qu'une des bandes d'absorption de la chlorophylle végétale, semblablement traitée.

M. Dastre[1] a étudié dans les Helix cette substance, qu'il appelle *hépatochlorophylle*. Il contaste que sa proportion diminue progressivement jusqu'à disparaître, dans l'hépatopancréas des Helix, soumis à un long jeûne, tandis qu'au contraire elle augmente si les Helix se nourrissent copieusement de végétaux chlorophylliens. Cette expérience démontre l'origine végétale de l'hépatochlorophylle.

Plateau a étudié les modifications des aliments chlorophylliens dans le tube digestif de *Locusta viridissima;* il constate un brunissement qui s'opère dans le jabot sous l'influence de la sécrétion alcaline, ainsi que l'apparition d'un sucre.

Le Dr Enriquez[2] a suivi au microscope dans les Aplysies, les Helix et l'*Ostrea edulis*, les modifications des matières végétales chlorophylliennes, pendant leur trajet dans le tube digestif. Au cours de la digestion, certaines cellules d'*Ulva* conservent leurs limites, mais la chlorophylle se réduit en petits granules verts; dans d'autres, la paroi cellulosique est digérée et un grand nombre de chloroplastes sont décolorés; dans d'autres, la masse chlorophyllienne brunit de plus en plus et se résout en granulations qui renferment des corpuscules internes de l'aspect des chloroplastes. Les matières ainsi modifiées, grains verts, grains bruns, chloroplastes décolorés, morceaux de cellules, remontent par les petits canaux hépatiques, jusque dans le foie ; là, elles sont englobées par certaines cellules hépatiques, les *Leberzellen* : il se passe une véritable absorption phagocytaire; après quoi, les Leberzellen digèrent peu à peu cette chlorophylle émulsionnée; et l'entérochlorophylle résulte de cette digestion endocellulaire.

Exochlorophylliens. — Pocklington a le premier signalé la présence de la chlorophylle dans les élytres de *Cantharis vesicatoria;* l'extrait alcoolique présente au spectroscope les bandes caractéristiques de la chlorophylle. Cet auteur a même prétendu reconnaître, aux caractères spectroscopiques du liquide, de quelle espèce

[1] Dastre, *Journ. Phys. et Path. gén.*, t. I et *Compte rendu acad.*; Dastre et Floresco, *Arch. Phys.*, 30e année.

[2] Enriquez, *Arch. ital. de Biol.*, t. XXXVII, et *Mitt. a de Zool. station zu Neapel*, 15 Bd, 1901.

de feuilles l'animal s'est nourri. Becquerel et Brongniart[1] étudient le pigment des Phyllies, qu'ils cherchent à identifier à la chlorophylle. En naissant, la Phyllie est d'un rouge sang; elle jaunit au bout de quelques jours et devient verdâtre, puis verte après sa première mue, alors qu'elle se nourrit abondamment de feuilles. Ces auteurs observent au microscope, sous la couche chitineuse, un tissu renfermant une grande quantité de petits grains d'un vert intense, ovoïdes et homogènes, même à un fort grossissement; ce ne sont donc pas des Algues parasites, et comme l'extrait alcoolique vert présente le spectre de la chlorophylle, ils en concluent que le protoplasme des Phyllies renferme des chloroplastes.

Hénocque observe le spectre de la chlorophylle et de la xantophylle dans l'extrait alcoolique des téguments de quelques Orthoptères.

Poulton, en faisant varier la nourriture des chenilles de Pierides, reconnaît que le pigment de leurs téguments est en relation avec la coloration des végétaux dont elles se nourrissent.

Alessandrini, Villon, Blanchard, Joly, Blanc attribuent aux éléments de la chlorophylle ingérée la coloration naturelle des soies des Bombycides. M. le professeur R. Dubois[2] indique les analogies chimiques des principes colorants de la soie jaune de *Bombyx Mori* avec la carotine végétale, et note les différences de solubilité et de cristallisation entre la matière verte de la soie de B. *Yama-Maï* et la chlorophylle végétale. Il tente de colorer la soie dans la glande séricigène de la chenille vivante, en imprégnant les feuilles dont elle se nourrit, de couleurs d'aniline diverses, ou de leucobases susceptibles de donner naissance par oxydation à des matières colorantes. MM. Levrat et Conte[3], en appliquant ce procédé, réussissent avec le rouge neutre, à faire filer, par l'*Attacus Orizaba*, des cocons roses. Ces auteurs attribuent la coloration verte du sang et de la soie d'*Antherea Yama-Maï* et de *Rhodia fugax* à la chlorophylle ingérée, en se basant sur le caractère insuffisant des bandes spectrales. Verson[4] rapporte à l'évacuation alcaline du contenu intestinal des vers à soie pendant le coconage, le brunissement des

[1] *Compte rendu acad.*, CXVIII.
[2] *Travaux du Laboratoire d'Etudes de la Soie*, Lyon, 1889-1890.
[3] *Ibid.*, 1901-1902.
[4] Verson, *Annuar. della Stazione bacologica di Padova*, XXXII.

cocons. Dewitz[1] fait remarquer que les déchets végétaux sont expulsés par certains Bombyx avant le coconage, ce qui n'empêche pas le brunissement qu'il est plus exact d'attribuer à une enzyme.

Nous avons exposé l'ensemble des connaissances sur les animaux chlorophylliens; mais quand on étudie les mémoires des auteurs à ce sujet, on s'aperçoit que les points suivants ne sont pas définitivement fixés :

1° Au sujet des Herbivores, la chlorophylle contenue dans le tube digestif est-elle inerte et inactive durant la digestion?

2° Au sujet des Chromatophorés, les masses chlorophylliennes anucléées qu'ils renferment sont-elles bien les homologues des chromatophores des Algues?

3° Au sujet des Chlorellophorés, faut-il voir définitivement dans les Zoochlorelles, une espèce d'Algue déterminée, qui se développe de préférence dans quelques animaux privilégiés avec lesquels elle vit en symbiose ou du moins comme un parasite inoffensif;

4° Au sujet des Endochlorophylliens, quel rôle joue la chlorophylle dans le foie, par rapport à l'excrétion des produits biliaires?

5° Au sujet des Exochlorophylliens, la coloration verte de leur tégument ou de leur appareil protecteur est-elle due à la chlorophylle qu'ils renferment?

Ces points sont l'objet des recherches personnelles que je vais exposer maintenant; je les ai étudiés très inégalement, insistant spécialement sur la question des Zoochlorelles; et je n'ai nullement la prétention de les avoir tous résolus.

Nota. — La bibliographie de tous les ouvrages consultés sur la chlorophylle animale se trouve à la page III de l'index.

[1] Dewitz, *Zool. Anz.*, lir 27, n° 5, 1903.

DEUXIÈME PARTIE

CHAPITRE PREMIER

MÉTHODES ET TECHNIQUE

J'ai employé, dans ces recherches sur la chlorophylle des animaux, trois méthodes différentes, suivant que j'avais à étudier les corps chlorophylliens de la cellule, les propriétés du pigment vert extrait des tissus, ou le développement de ce pigment dans l'animal vivant.

1° **Méthode histologique.** — Il s'agit de déterminer au microscope les diverses formes des corps verts de la cellule animale, leur situation, leur structure, leurs enclaves, leurs plans de division, leurs variations d'aspect et de couleur sous l'action des réactifs.

Le point particulier de ma méthode a été d'appliquer aux tissus animaux les fixateurs et colorants employés pour l'étude des Levures[1] et Ascomycètes.

a) *Dilacération.* — A l'aide des aiguilles, les cellules du tissu en observation sont déchirées ou écrasées, de manière à mettre, autant que possible, en liberté les corps verts. Pour l'Hydre et le foie des Mollusques on y arrive aisément; pour les téguments d'Insectes, fortement imprégnés de chitine, je les fais préalablement ramollir pendant quarante-huit heures dans l'acide picro-sulfurique, qui dissout la chitine sans détruire les pigments ; ce traitement est suivi de plusieurs lavages.

b) *Fixation.* — J'ai employé suivant les cas la solution aqueuse

[1] Guilliermond, *les Levures*, thèse Faculté, Paris, 1903.

d'acide osmique à 2 pour 100, le sublimé acétique et le picroformol [formol commercial à 40 degrés de methanal = 30; acide acétique cristallisable = 5; eau = 20; on sature le mélange avec des cristaux d'acide picrique]. Pour l'Hydre, les vapeurs osmiques m'ont donné le meilleur résultat, cet animal se contractant fréquemment et rentrant ses tentacules lorsqu'on le fixe par la chaleur ou qu'on le plonge dans un fixateur liquide.

J'ai essayé aussi avec les autres animaux les liquides Bouin et Lenhossek. Avec le premier, l'épaisseur de la pièce à fixer ne doit pas dépasser quelques millimètres ; la quantité de liquide à employer est vingt-cinq fois le volume de la pièce ; la durée de fixation environ dix heures. On lave à l'alcool à 80 degrés et on conserve dans l'alcool à 80 degrés sans laver. Le liquide Lenhossek renferme : solution aqueuse de bichlorure de mercure = 75 vol.: alcool absolu = 20; acide acétique = 5. L'épaisseur de la pièce à fixer peut aller jusqu'à 1 centimètre; la quantité de liquide est environ vingt-cinq fois celle de la pièce; la durée de fixation six à douze heures. On passe directement à l'alcool à 80 degrés additionné de teinture d'iode jusqu'à teinte madère (environ un quart d'heure) pour dissoudre les précipités mercuriels ; on conserve dans l'alcool à 80 degrés.

Ces fixateurs donnent plus de finesse, dans la structure histologique, mais ils sont d'un emploi moins facile que le picroformol.

c) *Décoloration.* — Il est préférable de décolorer les corps verts pour mieux apprécier l'action des colorants nucléaires ou protoplasmiques. J'ai essayé comparativement l'alcool, l'acide sulfureux liquide, l'hypochlorite de soude.

La coloration des corps verts ou Zoochlorelles d'*Hydra* résiste très longtemps à l'alcool ; c'est là un caractère différentiel avec les grains de chlorophylle absorbés. L'acide sulfureux jaunit mais décolore mal. Avec l'hypochlorite de soude, la décoloration est instantanée, mais il faut de nombreuses lévigations pour entraîner l'excès du réactif. D'ailleurs ce réactif dissout la substance du corps de l'Hydre, sauf les Zoochlorelles et enclaves végétales; c'est donc un procédé expéditif pour isoler ces corps.

La fixation doit précéder la décoloration ; néanmoins, pour fixer et décolorer en même temps, le mélange de deux tiers d'acide

osmique 2 pour 100 pour un tiers d'hypochlorite de soude, préparé au moment de l'emploi, m'a donné des résultats convenables.

d) *Coupes.* — J'ai employé principalement le procédé des coupes à la paraffine, bien préférable parce qu'il permet d'observer la situation exacte des corps verts dans la cellule.

Comme l'inclusion nécessite des deshydratations par les alcools gradués, ces corps se trouvent en même temps progressivement décolorés.

Avec les élytres d'Insectes, le procédé des coupes à la paraffine est d'une application difficile. Il faut essayer préalablement de peler l'objet, c'est-à-dire passer le rasoir sur toutes les faces de l'objet pour enlever le plus possible la couche superficielle de chitine qui s'oppose à la pénétration du tissu par la paraffine. Dans tous les cas on devra commencer par faire ramollir le tissu comme je l'ai indiqué plus haut.

e) *Colorants.* — Les carmins boracique ou aluné (Grenacker), le vert de méthyle acétique, ne m'ont pas satisfait comme colorant nucléaire ; j'ai préféré l'hématoxyline ferrique. L'objet est mordancé dans une solution 2 1/2 pour 100 d'alun de fer ammoniacal pendant six ou douze heures, lavé à l'eau, coloré au bain d'hématoxyline pendant vingt-quatre heures et décoloré dans la solution d'alun de fer ammoniacal, la décoloration étant surveillée au microscope.

L'hémalun, le bleu de méthylène, le bleu polychrome (Una) m'ont servi de colorants protoplasmiques.

L'emploi du lichtgrün qui colore les cellules en vert, concurremment avec l'hématoxyline ferrique qui colore les noyaux en bleu, donne des préparations à double coloration d'un bel effet.

f) *Conservation.* — Pour conserver les préparations, je me suis servi du baume de Canada et de la gélatine glycérinée, qui garde moins longtemps les colorations, mais a l'avantage de ne pas trop contracter les cellules des Zoochlorelles.

g) *Microscope.* — J'ai fait mes observations avec les objectifs Stiassnie 3 et 9 secs et 1/15 immersion. Un micromètre oculaire servait soit à repérer les corps verts, soit à mesurer leurs dimensions. Un appareil de polarisation s'adaptait au microscope pour observer les enclaves cristallines des éléments cellulaires.

h) *Réactifs microchimiques.* — J'ai employé directement sur les corps verts extraits de la cellule par dilacération, l'iodo-iodure pour

rechercher l'amidon ou le glycogène, le chlorure de zinc iodé, l'iode après traitement par l'acide phosphorique (réactif de Mangin), le réactif de Schweitzer, pour caractériser la cellulose ; la safranine et le bleu de méthylène pour rechercher les composés pectiques. Quant aux réactifs microchimiques de la chlorophylle (acides concentrés, alcalis à chaud), j'ai reconnu qu'en définitive ces réactifs ne caractérisent pas la chlorophylle verte, mais plutôt le dérivé jauni de la chlorophylle altérée. En effet, les chloroplastides végétaux ou les solutions vertes de chlorophylle commencent par jaunir avant de prendre la teinte vert émeraude, bien connue, au contact de l'acide sulfurique concentré ; de même la coloration verte, au contact de l'acide chlorhydrique concentré, résulte d'un reverdissement, car par l'application d'une très faible quantité de cet acide dilué, il se fait d'abord un jaunissement et une teinte verte ne se reforme que si on ajoute une certaine quantité d'acide ; un phénomène analogue se produit avec les alcalis à chaud, la liqueur chlorophyllienne s'altère, brunit plus ou moins, et le chlorophyllate vert ne se forme qu'à partir d'une certaine concentration de la liqueur. On peut obtenir les réactions du vert émeraude et du chlorophyllate, en partant de la chlorophylle jaunie ou altérée. Par suite, ces réactifs ne me paraissent pas caractéristiques de la chlorophylle verte, comme on les considère en général.

J'ai trouvé préférable, dans ce but, de me servir d'une solution saturée de résorcine, qui déplace la chlorophylle verte des corps chlorophylliens cellulaires et la transforme en gouttelettes vert foncé d'aspect huileux.

2° **Méthode spectroscopique.**— J'ai modifié, en y apportant quelques correctifs et compléments, cette méthode, qui consiste, comme on le sait, à reconnaître la chlorophylle dans une solution, aux bandes qu'elle donne au spectroscope, et notamment à la bande de Brewster.— Le spectroscope employé est à vision directe, un micromètre permet le repérage des bandes ; l'appareil est réglé de manière que la raie D ou raie du sodium corresponde au n° 10 du micromètre.

Les tissus dans lesquels on recherche la chlorophylle, sont mis à macérer dans l'alcool à 92 degrés ; avec les téguments de certains Insectes et le foie des Mollusques, dépouillé préalablement de toute

parcelle du tube digestif, la solution prend rapidement une teinte vert jaunâtre intense. Après filtration elle est examinée dans des tubes à faces parallèles. — Avec l'Hydre verte il est très utile d'écraser l'animal avant de le faire macérer dans l'alcool ; sinon, il se contracterait de telle sorte que l'alcool ne pénétrerait pas toutes les cellules endodermiques et qu'une certaine quantité de pigment vert pourrait échapper à la dissolution ; j'ai observé des Hydres encore non décolorées après plusieurs semaines d'immersion dans l'alcool. Or il est déjà très long de se procurer un nombre d'Hydres suffisant pour obtenir une solution alcoolique d'intensité moyenne. — Les petits flacons spectroscopiques, construits par Poulenc et Cie sont bien disposés pour observer des solutions de faible intensité, sous une épaisseur maximum.

1° *Epreuve chimique des bandes.*— Comme correctifs ou compléments de cette méthode, il importe d'abord de pratiquer toujours *l'épreuve chimique des bandes spectrales.* Plusieurs colorants chimiques (bleu de méthylène) à une certaine concentration, et pigments animaux (chloroyamamaïne) présentent en effet une bande spectrale très nette, située à la même place que la bande de Brewster ; mais elle s'efface par l'action des réactifs ; la bande de Brewster, au contraire, est essentiellement caractérisée par sa résistance vis à vis des réactifs, c'est-à-dire sa stabilité. Lorsque les liqueurs vertes animales présentaient une bande dans le rouge, j'avais soin d'observer l'effet, sur cette bande, produit par l'addition de quelques gouttes d'acides concentrés, et de sulfhydrate d'ammoniaque.

2° *Observation des bandes après dédoublement benzénique.* — D'autre part, il faut remarquer que la présence d'une légère bande de Brewster n'est pas un caractère distinctif de la chlorophylle verte car elle caractérise aussi le dérivé jauni de la chlorophylle altérée. On sait qu'en dédoublant par la benzine des teintures chlorophylliennes vertes, il est presque impossible d'obtenir une couche alcoolique complètement jaune, de telle sorte qu'on attribue la présence de la bande de Brewster dans le spectre de la couche alcoolique, à un reste de matière verte, non épuisée par la benzine. Mais en dédoublant une teinture de feuilles *automnales* de charme, par la benzine, j'ai obtenu une couche alcoolique d'un jaune franc, sans trace de vert et incontestablement plus jaune que la couche benzénique. Or, en observant successivement ces couches au spectro-

scope, j'ai constaté que la bande de Brewster, non seulement existe dans les deux couches, mais qu'elle est bien *plus marquée* dans la couche alcoolique, c'est-à-dire dans la couche la moins verte. Il en résulte qu'il existe dans le pigment chlorophyllien altéré, un élément jauni, apte à donner la bande de Brewster ou tout au moins l'amorce de cette bande, laquelle est simplement renforcée ou intensifiée par les autres éléments du pigment. Nous verrons que ce caractère se reproduit le plus souvent avec les solutions chlorophylliennes des tissus animaux, ce qui montre la prédominance de la chlorophylle altérée ou de l'élément jauni, dans ces tissus.

De même, en laissant macérer dans l'alcool, à l'obscurité, des jeunes germinations de lentilles, j'ai constaté que l'extrait concentré d'un jaune brunâtre, présente au spectroscope le linéament de la bande de Brewster. Ces expériences m'ont servi à préciser la signification de cette bande : la présence d'une faible bande de Brewster dans un extrait de tissus animaux, coloré en vert, prouve que cet extrait contient de la chlorophylle, mais ne prouve pas que la couleur verte de cet extrait provient de ce que la chlorophylle qu'il contient est verte ; elle est le plus souvent altérée, jaunie ou brunie.

3° *Réaction tannoïque.* — J'ai complété, dans mes expériences, la diagnose spectroscopique de la chlorophylle par celle des réactions tanniques. On sait que les teintures chlorophylliennes végétales, traitées par les sels ferriques, donnent un précipité noir, de tannin.

Il parait y avoir une liaison assez caractéristique entre la chlorophylle et les tannins ; ces derniers existent souvent sans la chlorophylle, mais l'inverse a lieu plus rarement. On se rappelle que Senebier a reconnu que l'acide gallique peut remplacer l'acide carbonique, pour provoquer l'assimilation ou le dégagement d'oxygène dans une plante, à la lumière.— Quoi qu'il en soit dans les extraits de tissus animaux qui donnaient la bande spectrale de Brewster, j'ai recherché le tannin par le sulfate de fer ; je l'ai rencontré le plus souvent et sa présence m'a paru un caractère confirmatif, une preuve de plus pour affirmer l'existence de la chlorophylle d'origine végétale dans ces tissus animaux.

4° *Sensibilisation térébenthinique.* — Il m'a paru utile, lorsqu'un extrait de tissus animaux présentait la bande de la chlorophylle, de le dédoubler non pas par la benzine mais par l'essence de térébenthine bien rectifiée. Cette essence a deux propriétés intéressantes au

point de vue qui nous occupe. D'abord elle dissout immédiatement les dérivés végétaux jaunes ou bruns de la chlorophylle, tandis qu'elle ne se mêle que lentement aux *lipochromes* de même teinte et d'origine animale; ceci permet, partiellement au moins, de ne pas confondre les éléments colorés d'origine animale avec les xanthophylles, carotine, etc.. Par addition d'un peu d'acide azotique, les lipochromes donnent, dans l'essence, des gouttelettes huileuses colorées, que l'on n'obtient pas avec la chlorophylle. D'autre part, j'ai reconnu que l'essence de térébenthine constitue un bon sensibilisateur de l'élément vert de la chlorophylle; il suffit d'une quantité à peine perceptible de chlorophylle verte dans cette essence, pour voir se dessiner le premier linéament de la bande de Brewster; et l'essence apparaît légèrement verdâtre à l'œil, même avant que ce linéament devienne distinct; ce caractère, qui se produit principalement avec la chlorophylle *verte*, peut être d'une certaine utilité pour déterminer sa présence.

3° **Méthode physiologique.** — J'ai essayé d'étudier le développement et les transformations de la chlorophylle, principalement dans les Infusoires à Zoochlorelles et l'Hydre verte, animaux assez petits pour se prêter à des cultures en cellules dans des milieux déterminés. Ma méthode a consisté à irriter le protoplasme de ces animaux à l'aide d'une trace de certains sels ou d'alcaloïdes (caféine, quinine), de manière à surexciter leurs fonctions, et à observer l'effet de leurs réactions sur les corps chlorophylliens qu'ils renferment. Il importe de n'employer qu'une trace de ces réactifs si l'on ne veut pas tuer l'animal. J'ai aussi, dans le même but, soumis ces animaux à l'obscurité ou à une lumière très vive, à la famine ou à la suralimentation, etc..

Quand je voulais isoler de toute Algue ou autres impuretés, une Paramécie ou un Stentor, je le portais successivement à l'aide d'une pipette dans une série de gouttes d'eau placées sur le même porte-objet; la première goutte d'eau contenait beaucoup d'impuretés avec l'animalcule; les suivantes de moins en moins et je continuais jusqu'à ce que l'animalcule se trouvât seul dans une goutte d'eau bien limpide.

Quand je voulais étudier l'action d'une substance sur les Paramécies vivantes, je les plaçais en cellules de Van Tieghem dans la

chambre humide. Chaque cellule était préalablement flambée ; une goutte d'eau bouillante était placée au fond ; la lamelle qui devait recevoir la goutte pendante était flambée ; la goutte pendante était préparée et purifiée comme il a été dit, puis lutée avec de la vaseline sur la cellule de verre. — J'ai pu ainsi conserver des Paramécies vivantes pendant deux mois.

Pour les Hydres, le liquide de culture était placé au fond de la cellule de Van Tieghem ; j'employais à cet effet des cellules à double anneau.

CHAPITRE II

CHLOROPHYLLE DU TUBE DIGESTIF DES ANIMAUX HERBIVORES

Mollusques herbivores. — Dans le tube digestif d'*Helix pomatia*, on rencontre des particules chlorophylliennes de trois sortes : amas de très fins granules de chlorophylle, chloroplastes verts libres et grains bruns. Quelquefois la paroi cellulosique de la cellule végétale ingérée, subsiste, mais les chloroplastes deviennent indistincts et la masse verte se résout en granulations extrêmement ténues, punctiformes, de chlorophylle verte ou brune. En somme il se forme un fin précipité de chlorophylle.

D'autres fois, le paroi cellulosique de la cellule végétale introduite dans le tube digestif, est dissoute ; les chloroplastes restent très distincts, mais ils se séparent et deviennent libres dans le contenu digestif ; de plus les uns restent bien verts, et un grand nombre se décolorent complètement.

Fréquemment, la paroi cellulosique de la cellule végétale introduite dans le tube digestif, se résorbe, et se dissout peu à peu ; la partie verte de la cellule devient d'un jaune brun, de plus en plus accusé avec la durée de l'action digestive ; elle se scinde en plusieurs masses chlorophylliennes de grosseur inégale, qui renferment à leur intérieur des granules brun foncé. Ces masses finissent par devenir libres dans le contenu digestif et leurs granules paraissent être les résidus de chloroplastes, rapetissés, recroquevillés.

En tout cas, l'amidon contenu dans la cellule végétale est absorbé ; mais de plus, suivant Enriquez[1] il y a une diastase protéolytique et un suc acide plus ou moins actif, puisque la matière albuminoïde des chloroplastes est dissoute ; il y a aussi une diastase cellulosoly-

[1] Enriquez, *Arch. ital., Biol.*, t. XXXVII, 1902.

tique, qui dissout la paroi cellulosique, et une diastase de nature spéciale, qui décolore un grand nombre des chloroplastes, sans les jaunir ni les brunir; enfin si le suc acide est actif, il jaunit et brunit immédiatement les grains de chlorophylle[1].

Insectes herbivores. — J'ai étudié la chlorophylle dans le tube digestif de divers Orthoptères et chenilles de Lépidoptères. — Le tube digestif est rempli de matière verte; mais cette matière a un aspect un peu différent suivant qu'on la considère dans la région digestive, ou dans la région rectale. Au microscope, la matière de la région digestive est formée d'un grand nombre de lambeaux de feuilles composés chacun d'une masse de cellules plus ou moins déchirées; ces cellules sont, les unes vides, incolores, réduites à la membrane cellulosique, d'autres contiennent encore les grains de chlorophylle inattaqués; le plus grand nombre renferment une substance fondamentale finement granuleuse jaune verdâtre et, de ci de là, quelques gros granules de chlorophylle d'un vert foncé tranchant avec le vert jaunâtre de la substance ambiante; quelques-uns de ces granules, ordinairement sphériques, sont décolorés ou conservent encore en leur milieu un point vert; ils sont colorables en jaune par l'iode, ainsi que les membranes; tout l'amidon qui était contenu dans les cellules végétales a donc été transformé et absorbé par l'animal, mais par contre la cellulose n'a pas été attaquée. — De plus ces lambeaux cellulaires laissent exsuder un liquide jaune verdâtre. En isolant le tube digestif des Insectes en question, et après avoir suturé ses deux orifices, en l'immergeant dans l'eau pure ou additionnée d'une faible quantité de phosphate, bicarbonate, azotate ou sulfate alcalin, j'ai constaté que le liquide jaune verdâtre diffuse plus ou moins à travers la membrane. Ce liquide examiné au spectroscope présente la bande de Brewster et, à forte concentration, une bande dans le vert; il renferme donc bien de la chlorophylle altérée. Au contact de l'air et du fer il noircit très nettement; il est donc riche en tannin. Par la liqueur de Fehling, il donne la réaction des sucres, comme l'a aussi remarqué Plateau pour les Orthoptères.

[1] J'ai essayé de voir l'influence de la concentration des sels, sur la diffusion du dérivé jauni de la chlorophylle; dans quelques cas le bicarbonate de soude a favorisé un peu la diffusion.

Le contenu vert de la partie rectale du tube digestif se présente sous l'aspect d'une masse plus serrée, d'un vert brun, et non plus imprégnée du liquide jaune verdâtre diffusible dont je viens de parler. Au microscope, cette masse se montre composée de lambeaux constitués chacun par un amas de cellules; un grand nombre de ces cellules sont complètement décolorées et réduites aux membranes cellulosiques dont on distingue très nettement les ponctuations; d'autres cellules renferment de ci de là d'assez gros granules de chlorophylle d'un vert foncé ne tirant pas sur le jaune; certains de ces granules sont décolorés et paraissent réfringents; il y a encore un peu de substance granuleuse jaune verdâtre; de plus, on remarque quelques granules déchiquetés sur les bords et d'un vert bleu.

Il paraît donc y avoir, spécialement dans la région digestive du tube digestif, dissolution d'une partie de la chlorophylle ingérée, principalement de l'élément jaune de cette substance et un peu de l'élément vert. Quel est le mécanisme de cette dissolution? On sait que le tube digestif des Insectes, surtout dans la région du jabot, possède une sécrétion fortement alcaline et on sait d'autre part que, sous l'action des alcalis et de la chaleur, la chlorophylle subit une sorte de saponification qui la transforme en chlorophyllate vert soluble, pendant que les produits colorés en jaune sont éliminés. Une action analogue se produirait ici.

Sur les propriétés de la chlorophylle ingérée. — La question de la chlorophylle du tube digestif des animaux herbivores n'a pas été assez prise en considération jusqu'à présent. Des expériences de Regnard, d'Engelmann, de Friedel, que j'ai citées dans le chapitre sur la biologie de la chlorophylle des animaux, on peut induire que la chlorophylle ingérée n'est pas absolument inerte et inactive; elle peut conserver une partie de ses propriétés tant que la cellule qui la renferme n'est pas attaquée par les sucs digestifs; et après destruction de la cellule, on sait que, même altérée, la chlorophylle conserve la propriété d'absorber certaines radiations. Sans doute, le travail digestif ne se passe pas à la lumière, mais j'ai cité plus haut plusieurs exemples d'une chlorophylle se développant et fonctionnant à l'obscurité. Puisque la présence de la chlorophylle favorise, par suite des radiations absorbées, l'assimilation de la matière

minérale, la formation des sucres aux dépens de l'acide carbonique, la régénération des albuminoïdes et la vaporisation de l'eau, il serait intéressant de rechercher si cette action de la chlorophylle est subitement et complètement anihilée après son entrée dans le tube digestif, où se trouvent particulièrement réunis l'acide carbonique, l'humidité, les albuminoïdes et les éléments minéraux des aliments.

Pour ce qui regarde les animaux omnivores, on sait que le régime vert est considéré comme plus favorable à la santé et au développement que le régime carné; et comme ce fait ne s'explique pas par une différence dans la composition des aliments, en principes azotés, peut-être en trouverait-on une explication au moins partielle dans une sorte de prolongation de l'action de la chlorophylle apportée par les aliments végétaux.

Même dans le chyme des Vertébrés herbivores il passe parfois de la chlorophylle et Dastre et Floresco ont trouvé les bandes caractéristiques de cette substance dans un extrait alcoolique de foie de veau.

CHAPITRE III

CHLOROPHYLLE DES CHROMATOPHORÉS

Eugléniens. — Je ne m'étendrai pas sur l'étude de ces animaux qui font l'objet d'un récent mémoire de Dangeard sur les Eugléniens. En général, les botanistes considèrent les Euglènes comme des Algues, leur reconnaissant une période transitoire de vie libre, suivie d'une période de vie fixée, pendant laquelle l'Euglène s'entoure d'une membrane cellulosique. Toutefois, Dangeard ne conteste pas leur vie animale, mais les regarde comme des animaux qui se sont si bien adaptés au mode de nutrition des végétaux — dit holophytique — qu'on ne saurait maintenant les séparer de ces derniers.

Cependant, n'ont-ils pas conservé quelques différences ? orifice buccal, espace pharyngien, production de paramylon, etc. En dehors des mouvements de tactation à l'aide du flagellum, qui leur sont communs avec les zoospores, il y a dans les Euglènes des mouvements de reptation qui rappellent ceux qu'on observe chez certains Infusoires ciliés, tout en étant plus lents. De plus, le passage de la vie libre à la vie fixée et inversement, est plus facilement déterminé que dans les Algues, les réactions des Eugléniens sont plus vives ; sous l'influence de l'étincelle électrique, on voit des Euglènes étirées se contracter en boule.

D'autre part, en examinant les divers individus d'un même groupe d'*Euglena viridis*, j'ai bien rarement observé la disposition étoilée régulière du chromatophore ; j'ai été frappé au contraire des variations de ce chromatophore et de celles du pyrénoïde et de la coloration chlorophyllienne. Dans certains individus, un seul chromatophore se distingue ; il y en a deux dans d'autres, parfois cinq à six inégaux, irréguliers de contour, provenant apparemment

d'une fragmentation; tantôt le pyrénoïde est volumineux, tantôt il en a plusieurs, sans que souvent chacun corresponde à un chromatophore. De plus, très fréquemment la coloration verte n'est pas localisée sur les chromatophores, elle les déborde et paraît un peu diffuse, surtout quand on examine l'animalcule vivant et se mouvant. On ne remarque pas ici l'ordonnance régulière des éléments protoplasmiques des Algues; mais on assiste bien plutôt, dans une zone de chlorophylle diffuse qui occupe une partie plus ou moins considérable de l'Euglène, à une sorte de brassement, de fragmentation, de remaniement des parties susceptibles de fixer cette chlorophylle.

Ayant divisé les Euglènes en plusieurs lots, autant que possible de même nombre, j'en ai cultivé un dans l'eau pure, deux autres dans des infusions filtrées d'Algues vertes et de débris végétaux pilés, un autre dans une eau grasse filtrée. Or, j'ai remarqué que les Euglènes se sont multipliées plus activement dans les infusions végétales. Après un séjour à l'obscurité où les Euglènes ont jauni, l'addition de l'eau d'infusions végétales chlorophylliennes les pousse le plus activement à se développer et à verdir; toutefois, il y a des Euglènes décolorées et dégénérées qui restent telles, comme l'a remarqué M. Couvreur, et ne reverdissent pas. Si donc une eau riche en débris végétaux verts plus ou moins décomposés ou en parcelles chlorophylliennes, favorise le développement des Euglènes, la raison en est peut-être que la chlorophylle qu'elles renferment serait une chlorophylle empruntée provenant d'une imprégnation des sucs végétaux ambiants plus ou moins chargés de très fines particules chlorophylliennes qui sont concentrées dans l'animalcule.

Dinobryon. — J'ai observé à ce sujet un Flagellé mesurant environ 40 μ, muni d'un flagellum assez long et d'un autre très petit. Son corps, renfermé dans une coque hyaline évasée en haut, était uniformément vert; une série de ces Flagellés était disposée en colonie serrée, les uns à côté des autres, et fixée le long d'un filament désorganisé de *Spirogyra*, parmi des Diatomées. Ce Flagellé paraît se rapporter au genre Dinobryon. J'ai vu, sous le microscope, qu'ici la chlorophylle était répartie d'une façon homogène dans le protoplasme et, comme ce mode de répartition de la chlorophylle

est exceptionnel même dans les végétaux, je suis porté à l'attribuer plutôt à une contamination du protoplasme, à une sorte d'intussusception chlorophyllienne sous l'influence du milieu ambiant riche en particules très fines d'Algues désorganisées. Malheureusement, je n'ai pas pu me procurer ce Flagellé en assez grand nombre pour en faire une étude détaillée.

CHAPITRE IV

CHLOROPHYLLE DES CHLORELLOPHORÉS

ETUDE DE PARAMŒCIUM BURSARIA

Ces Infusoires existent en abondance dans les bassins, les mares, les ruisseaux, particulièrement parmi les Algues. J'en ai trouvé durant toute l'année ; pendant l'hiver, même quand l'eau est couverte de glace, ils se tiennent dans les filaments d'Algues attachés le long des tiges submergées et sont en assez petit nombre ; depuis avril, ils se multiplient très activement par scissiparité et se conjuguent ; je les ai rencontrés de préférence sur les masses flottantes de Spirogyres et de Conferves.

Il importe de disposer d'un très grand nombre de Paramécies, Stentors ou autres Infusoires verts, vu les dimensions microscopiques de ces animalcules et la difficulté de les capturer, s'ils sont en petit nombre dans un liquide. Pour enrichir l'eau d'un cristallisoir en Paramécies vertes, j'ajoute deux fois par jour un peu d'eau, provenant de l'expression de masses d'Algues vertes flottantes, et en même temps je soutire à l'aide d'un siphon la partie inférieure de l'eau du cristallisoir. Les Paramécies qui se tiennent à la surface ne sont pas dérangées et il s'en ajoute chaque fois de nouvelles. Il est avantageux aussi de mélanger de l'eau chargée d'Euglènes, dont les Paramécies sont très friandes.

Description des divers éléments contenus dans l'Infusoire. — Dans le protoplasme de tout individu de *Paramœcium bursaria*, il existe constamment : un nucleus, un micronucleus, des microsomes, des Zoochlorelles, un point oculiforme, des vacuoles contractiles ; le plus souvent on rencontre, en outre, des déchets alimentaires, des corps bruns, et, dans certains cas, des corps incolores, avec ou sans granules colorés.

Organites cellulaires. — Les nucleus ne constituant pas le point essentiel de cette étude, je noterai seulement l'aspect muriforme ou alvéolaire du nucleus, qui paraît composé, dans certains individus de *Paramœcium bursaria*, d'un amas de corpuscules arrondis, incolores, de dimension un peu moindre que celle des Zoochlorelles. Après la conjugaison on sait que le nucleus se fragmente, et ses fragments incolores restent libres un certain temps dans le protoplasme de l'animal. Cependant leur nombre n'excède pas une trentaine. Il est difficile de les suivre tous dans leur modification ; mais on en voit qui sont peu à peu digérés ou résorbés.

Les microsomes, animés de mouvements browniens, sont très répandus dans tout le protoplasme. Certains d'entre eux peuvent augmenter de volume ; dans plusieurs Infusoires incolores ils se différencient des trophoplastes, sortes de vésicules sécrétrices tenant lieu et place des Zoochlorelles ; ces formations sont rares en effet dans les Infusoires à Zoochlorelles. En cultivant *Paramœcium bursaria* dans l'eau additionée d'une trace de nitrate de soude, j'ai observé la production d'une quantité énorme de microsomes. Dans l'animal immobilisé, deux microsomes étaient placés régulièrement devant chaque Zoochlorelle marginale.

Inclusions cellulaires. — Les *Zoochlorelles* ou *corps verts* (fig. 1) sont réparties régulièrement dans tout le corps de la Paramécie. Vues en projection, sous le microscope, dans l'animal vivant, immobilisé par aspiration à l'aide du buvard, d'une partie de la goutte d'eau de la préparation, les Zoochlorelles paraissent situées dans deux régions distinctes : les unes sont *fixées* selon une disposition régulière et symétrique dans l'ectoplasme ; les autres sont *charriées* dans l'endoplasme, par le circulus de cytose et, parmi ces dernières, on en distingue plusieurs qui sont rapetissées, recroquevillées et brunies, constituant les *corps bruns* (fig. 2 *a*).

Souvent aussi parmi ces Zoochlorelles endoplasmiques se rencontrent des Diatomées réduites au squelette, et des masses plus ou moins irrégulières, jaunâtres, résultant d'Algues digérées.

Enfin, quand les Paramécies sont restées longtemps dans des conditions de vie défavorables, notamment quand elles ont résisté à l'hiver ou à une longue famine, elles présentent parmi leurs Zoochlorelles vertes, des *corps incolores* (fig. 2 *b*). J'ai observé que ces corps sont des Zoochlorelles *décolorées*. En effet certains pré-

sentent encore une légère teinte verdâtre, et, dans plusieurs, la partie hyaline de la Zoochlorelle se dessine comme une ombre dans la masse plus dense du protoplasme ambiant. La forme de ces corps est arrondie comme celle des Zoochlorelles et de mêmes dimensions sensiblement.

Formes hivernales de Paramœcium Bursaria. — D'ailleurs j'ai pris le 20 février, dans un ruisseau des environs de Lyon, un grand nombre de Paramécies, offrant tous les passages entre les formes à Zoochlorelles vertes et les formes à corps incolores. Ces Paramécies étaient réunies par groupe sous des débris de coquilles flottant sur l'eau. Ayant écrasé sous le microscope plusieurs de ces débris j'ai observé de véritables tribus de Paramécies contenant .

1° Des individus à Zoochlorelles uniquement vertes;

2° Des individus ayant plus de Zoochlorelles vertes que de corps incolores ;

3° Des individus ayant plus de corps incolores que de Zoochlorelles vertes;

4° Des individus ayant seulement des corps incolores;

5° Des individus ayant des corps incolores et des corps bruns, et quelquefois de très petites granulations noirâtres (fig. 3 *a*).

Je représente deux Paramécies, accolées sans doute par le hasard de la préparation, dont l'une est verte et l'autre renferme uniquement des corps incolores (fig. 3). On peut juger de l'uniformité de répartition, de dimensions et d'aspect de ces corps et des Zoochlorelles.

Zoochlorelles décolorées dans l'Infusoire mort. — D'autre part, j'ai obtenu la décoloration des Zoochlorelles, en desséchant graduellement des Paramécies vertes, par évaporation lente de la goutte d'eau de préparation. Il faut plusieurs jours, pour que ces Zoochlorelles se décolorent dans l'Infusoire mort ; en les comparant aux corps incolores des Paramécies hivernales, je n'ai noté aucune différence de forme, d'aspect, de dimension, de réfringence, etc. Ce sont, dans les deux cas, des Zoochlorelles décolorées.

Corps correspondants des espèces sans Zoochlorelles. — J'ai comparé *Paramœcium bursaria* aux Paramécies incolores des infusions, notamment à *Paramœcium aurelia.*

Ce qu'il importe de noter c'est que, dans ces Paramécies toujours

sans Zoochlorelles, il existe constamment dans la région correspondante à celle des Zoochlorelles de *Paramœcium bursaria*, des corps incolores, de dimensions assez uniformes et, autre rapprochement dans ces espèces, les mérozoïtes emportent, en se séparant de l'individu mère, au lieu de Zoochlorelles, un certain nombre de ces corps incolores (fig. 4). Quel est leur nature ? Ils se distinguent par leurs dimensions et leur réfringence, des microsomes et des trophoplastes des Infusoires et ils paraissent être assimilables à des corps de déchets, soit en raison de leur expulsion par l'animal, expulsion qu'on peut provoquer, comme je le montre plus loin, par addition de caféine dans la goutte d'eau de préparation, soit aussi par ce fait qu'on rencontre, parmi ces corps incolores, des résidus non douteux de substances étrangères, tels que des squelettes de Diatomées.

Examen morphologique des Zoochlorelles. — *Les deux zones.* — Au moment de la multiplication la plus active des Paramécies, les Zoochlorelles se présentent sous forme de corps arrondis d'une teinte verte uniforme, avec une partie centrale ombrée, correspondant à une portion protoplasmique plus fluide. Mais, le plus souvent, les Zoochlorelles prennent l'aspect typique *bizonaire :* une zone verte et une zone hyaline, occupant chacune un pôle de la cellule La zone hyaline est la moins étendue ; cependant dans certains cas elle se développe aux dépens de la zone verte, qui se creuse en infundibulum (fig. 1).

Ces formes de Zoochlorelles bizonaires sont semblables à celles du Stentor et de l'Hydre ; mais dans la Paramécie il n'y a pas, comme dans l'Hydre, d'autres Zoochlorelles, de plus fortes dimensions, dont la ressemblance avec les Algues unicellulaires est complète.

Numération des Zoochlorelles. — J'ai compté les Zoochlorelles de quelques Paramécies, en écrasant l'Infusoire de manière à éviter également l'agglomération et la dispersion de ces corps qui, restant dans le champ du microscope, peuvent être assez facilement dessinés un à un à la chambre claire et repérés sans confusion à l'aide de l'oculaire quadrillé. Le nombre des Zoochlorelles a varié selon les individus entre 387 et 610.

Variation de dimensions.

Sur les 387 Zoochlorelles, j'en ai rencontré :

184	ayant plus de	3 μ, 7	et moins de	4 μ, 7	de diamètre.
103	—	4 μ, 7	—	5 μ, 7	—
63	—	2 μ, 7	—	3 μ, 7	—
26	—	5 μ, 7	—	6 μ, 7	—
11	—	6 μ, 7	—	7 μ, 7	—
1	—	7 μ, 7			

Cet exemple, entre autres, suffira pour attirer l'attention sur le *nombre considérable* des Zoochlorelles incluses dans les Paramacies, dont la longueur du corps ne dépasse pas 155 μ; et sur les *différences de dimensions* que présentent entres elles les Zoochlorelles d'un même animalcule. Cependant, je ferai remarquer que la *majorité* de ces corps présentent un *diamètre sensiblement égal* de 4 μ, 7.

Division. — Dans la Paramécie vivante, il existe relativement *très peu* de Zoochlorelles en voie de division ; il en apparaît un peu plus, si l'on écrase fortement l'animalcule. Comme pour l'Hydre, je suis amené à penser que l'action du protoplasme de la Paramécie n'est pas indifférente à ces divisions et qu'elle les provoque souvent.

Améboïsme des mérozoïtes. — Pour le vérifier, j'ai cherché à irriter le protoplasme de l'Infusoire, de manière à observer l'effet sur les Zoochlorelles, de ses contractions ainsi provoquées. En introduisant dans la goutte d'eau de préparation une trace de phosphate d'ammoniaque ou de cantharidine, ou de quinine, j'ai constaté que la Paramécie s'agite, décrit des mouvements de rotation rapides sur elle-même et finit par éclater ; mais, alors, certaines portions du protoplasme s'arrondissent en boules qui bientôt se déforment, s'étirent et progressent en poussant des pseudopodes comme de véritables amibes (fig. 5) ; les mouvements de ces amibes durent parfois plus de vingt-quatre heures ; ils ne sont pas continus, mais il suffit d'une particule étrangère, de quelques microsomes, d'un microbe venant en contact avec ces amibes, pour voir leurs mouvements reparaître. Mais ce qu'il faut noter, c'est que les Zoochlorelles renfermées dans ces amibes subissent d'importantes modifications.

Influence sur les Zoochlorelles. — Le plus souvent elles sont fragmentées et comme broyées par les mouvements et les vacuolisations de l'amibe et transformées instantanément sous l'œil de l'observateur en corps verts bizonaires, tantôt plus gros, tantôt plus petits qu'une Zoochlorelle. On n'observe aucun plan de division, ni aucun stade préparatoire; c'est une sorte de transfor-

mation instantanée; et, par suite, il me paraît évident que ces corps verts, ne représentent pas, dans ce cas, la division normale d'une Algue, mais que ce sont des *formes condensées*, *remaniées*, de corps verts plus volumineux et résultant d'une transformation *provoquée* par la contraction du protoplasme de la Paramécie. Les Zoochlorelles sont d'abord fragmentées, puis les petits fragments sont roulés, arrondis, morcellés ou ressoudés, remaniés en un mot par le flux protoplasmique de l'Infusoire, sans cesser de garder leur coloration verte. Fréquemment ils restent dans le protoplasme; quelquefois ils tombent dans les vacuoles de l'amibe et sont émiettés, fusionnés en masses plus volumineuses, d'un vert olivâtre. Dans tous les cas, ils finissent par être transformées en résidus incolores. Souvent l'amibe éclate ; plusieurs fois je l'ai perdu de vue. Mais il est très curieux d'assister à ces phases améboïdes du protoplasme et on peut se demander s'il ne peut exister certains milieux où ces amibes puissent subsister ainsi pendant un certain temps et si, en définitive, les amibes verts sont toujours de véritables espèces?

Zoochlorelles et gonidies. — J'ai comparé les Zoochlorelles de *Paramœcium bursaria* aux gonidies des Lichens. Ces deux organismes présentent plusieurs analogies. Dans le Lichen, il y a des gonidies vertes et des gonidies décolorées ; de même que dans la Paramécie on trouve des Zoochlorelles vertes et des corps incolores ; il y a une relation intime du filament mycélien du Lichen avec les gonidies, comme il existe un rapport constant entre les Zoochlorelles et le protoplasme de la Paramécie. Le Lichen se multiplie par des sorédies qui sont des sortes de bourgeons renfermant des gonidies, de même que la Paramécie entraîne, dans chacune de ses divisions, des Zoochlorelles, et de même que l'Hydre verte se reproduit aussi par des bourgeons contenant des Zoochlorelles. Enfin, il est possible de séparer l'hyphe du Lichen de ses gonidies et de cultiver isolément ces deux êtres. Semblablement, on est arrivé à cultiver isolément les Zoochlorelles extraites des Paramécies, et à cultiver des Paramécies vertes, après étiolement de leurs Zoochlorelles.

J'ai tenté de licheniser les Zoochlorelles extraites d'une Paramécie, en faisant développer dans la préparation qui les renfermait, soit l'hyphe qui est constamment mélangé aux *Protococcus* des troncs d'arbres, soit l'hyphe du *Parmelia parietina* que j'avais précédemment isolé par une culture sur gélatine. Les filaments mycéliens arrivèrent

à former un magma englobant les Zoochlorelles, mais je n'ai pu constater si des liaisons intimes s'étaient produites entre ces deux êtres.

D'ailleurs, l'action des filaments mycéliens sur les gonidies paraît moins profonde que celle du protoplasme animal sur les Zoochlorelles, car les gonidies conservent leur membrane cellulosique et les Zoochlorelles en sont dépourvues.

Toutefois, comme l'a observé Bornet, les gonidies « qui ne diffèrent en rien d'autres productions libres et autonomes constituant des Algues plus ou moins bien connues » se trouvent gênées dans le Lichen; ces Algues se déforment, se reproduisent mal et il arrive que plusieurs sont tuées; de là, la présence de gonidies décolorées et mortes dans les Lichens. De même dans les formes hivernales de Paramécies, on observe des Zoochlorelles décolorées, et plus ou moins mortifiées. Enfin Beyerinck a observé que les gonidies isolées ne peuvent se nourrir avec l'azote nitrique, mais que sucre et peptone constituent son aliment préféré; et de même pour les Zoochlorelles isolées.

Zoochlorelles et Algues unicellulaires. — J'ai comparé les Zoochlorelles à diverses Algues unicellulaires et à des cellules d'Algues déformées.

En cultivant des *Protococcus* sur des substratums nutritifs (liquide Raulin, carotte, etc.), j'ai constaté l'amincissement progressif et la disparition complète de la membrane cellulosique; de plus, le protoplasma très granuleux dans les cellules en liberté prend un aspect plus homogène et la coloration verte se condense quelquefois en un point de la cellule. A côté de quelques cellules protococciennes, se modifiant ainsi, j'en ai remarqué un certain nombre, se décolorant simplement sans que leur membrane soit même amincie.

D'autre part, j'ai trouvé dans une solution d'alun une petite Algue unicellulaire, allongée, présentant un chromatophore vert pariétal et une zone hyaline. Dans certaines cellules, le chromatophore se replie en U affectant un aspect semblable à celui des Zoochlorelles.

Or, j'ai constaté que ces petites Algues unicellulaires ne correspondent pas à une espèce déterminée, vivant dans l'alun; mais que c'est une simple déformation, une forme contractée de *Pleurococcus* provoqué par l'action de la solution d'alun, car, ayant placé cette Algue dans des solutions d'alun de plus en plus diluées, et finale-

ment dans l'eau pure, j'ai obtenu des formes arrondies et plus dilatées, correspondant au genre *Pleurococcus*.

J'ai étudié des *Sticochoccus baccillaris* sur les chapeaux de *Polyporus;* ces petites Algues sont d'un vert homogène, sauf en hiver, où elles prennent une teinte brune. Cultivées sur carotte ou dans liquide peptonisé, elles donnent lieu à une condensation de la matière verte dans une seule partie de la cellule, comme dans les Zoochlorelles.

On sait que dans les Lichens, les Algues filamenteuses subissent des modifications profondes, deviennent flexueuses, contournées, « se dissocient en courts fragments ou se réduisent en cellules isolées *(Opegrapha, Roccella)* », de telle sorte qu'on peut considérer les gonidies, d'après Bornet, comme « des états déformés d'Algues beaucoup plus variées et plus compliquées » qu'on ne pourrait le supposer par l'inspection de ces gonidies.

D'ailleurs, j'ai été frappé de la ressemblance d'aspect de certains corps provenant de la désorganisation de cellules de *Spirogyra*, avec les Zoochlorelles. Dans les cellules de *Spirogyra* en voie de désorganisation, la spirale verte du chromatophore se fragmente, se résorbe en plusieurs points; mais il reste souvent autour des pyrénoïdes des débris de protoplasme vert. On observe dans les Conferves une sorte d'émiettement analogue du chromatophore autour des pyrénoïdes. Ces petites masses renfermant un pyrénoïde ont une grande ressemblance d'aspect avec les Zoochlorelles; il en est de même des corps verts de *Vaucheria* ayant subi un commencement de désorganisation. Ainsi, il m'a paru que, sous l'influence d'un changement de milieu, d'un substratum organique, d'un milieu salin concentré, de conditions défavorables, la cellule végétale verte, avant de périr, se contracte, modifie son aspect normal et se rapproche des formes des Zoochlorelles.

Examen histologique des Zoochlorelles. — Il y a une difficulté dans les préparations de corps verts ou Zoochlorelles d'Infusoires : ces Zoochlorelles occupent un point très petit de la préparation et dans les lévigations successives, dans le passage par aspiration sous la lamelle, des fixateurs ou des colorants, elles sont très facilement entraînées. Pour éviter cet inconvénient, on peut mettre des obstacles (fil d'amiante) sous la lamelle ou frotter préalablement le porte-objet avec une colle (albumine Meyer). Pour immobiliser les Zoo-

chlorelles, je préfère déposer sur le porte-objet un peu de silice gélatineuse ; j'y ajoute la goutte d'eau purifiée renfermant l'animalcule et je laisse évaporer peu à peu. Il peut arriver, d'ailleurs, que la silice gélatineuse se fendille, mais en tout cas, l'animal se trouve appliqué contre les aspérités, éclate, et les Zoochlorelles retenues par les surfaces plus ou moins irrégulières des fragments de silice gélatineuse. Par la chaleur ou la simple dessiccation les Zoochlorelles restent souvent en majeure partie dans les tissus de l'animal.

J'ai indiqué au chapitre de la technique ce qui concerne la fixation, la décoloration et les colorations des Zoochlorelles de Paramécies.

Les Zoochlorelles ont les caractères des substances albuminoïdes, se colorent en rose par l'éosine, en jaune par l'acide azotique concentré, jaunissent par le permanganate de potasse.

Zoochlorelles décolorées.— A la différence des Zoochlorelles vertes, elles se colorent directement en bleu violet par le bleu de méthylène, leur protoplasme prend un aspect filamenteux ; la coloration, plus accentuée en un grand nombre de points, n'est pas homogène; on ne peut caractériser ni pyrénoïde, ni grains amylacés, ni noyau.

Noyau. — Par l'hématoxyline ferrique, j'ai constaté l'existence d'un noyau dans la zone hyaline de la Zoochlorelle ; ce noyau est formé d'un nucléoplasme incolore entouré d'une membrane colorée en bleu sombre et renfermant en son centre un nucléole semblablement coloré (fig. 6).

Pyrénoïde. — La solution de potasse ne décolore pas les Zoochlorelles, mais paraît les dilater et dans la zone verte se détache le pyrénoïde ; sous l'action prolongée du réactif, ce corps paraît se creuser en vacuole, présentant un bourrelet circulaire (fig. 7).

Le pyrénoïde se colore d'une façon homogène, en bleu sombre, par l'hématoxyline ferrique.

Par la teinture d'iode, il se colore en jaune avec un liséré bleu sur son pourtour, correspondant à de très fins granules amylacés.

Par l'acide acétique, la Zoochlorelle jaunit et le pyrénoïde apparaît sous forme cristalloïde, avec un contour anguleux.

Par l'acide azotique, la Zoochlorelle jaunit et le pyrénoïde prend, au contraire, un aspect vacuolaire; de plus, dans le protoplasme de la Paramécie, certains microsomes se colorent en rouge grenat pendant quelques secondes, après quoi cette coloration se diffuse.

Chlorophylle. — Par l'acide sulfurique concentré la Zoochlorelle

ne se décolore pas; au contraire, elle tourne en vert émeraude, ce qui est une réaction de la chlorophylle. D'ailleurs Engelmann a observé un dégagement d'oxygène par les Zoochlocelles de Paramécie, à l'aide de la méthode des bactéries. Il est donc certain que la chlorophylle existe dans ces Zoochlorelles.

En traitant les Zoochlorelles par une solution alcoolique de résorcine à 10 pour 100, j'ai remarqué que la matière verte de ces corps se réduit en gouttelettes vertes qui quelquefois se réunissent pour former des gouttes plus grosses, pouvant atteindre les dimensions des Zoochlorelles.

Membrane. — Je n'ai pas pu mettre en évidence une membrane cellulosique dans les Zoochlorelles, en traitant ces corps par le chloroiodure de zinc ou par l'iode et l'acide phosphorique.

Par le réactif de Schweitzer le contour reste intact, également. D'autre part, les Zoochlorelles décolorées par l'alcool ne se colorent pas par le bleu de méthylène directement, mais j'ai obtenu la coloration, en mordançant par l'eau alunée; on sait que les composés pectiques se colorent ordinairement sans mordançage par le bleu de méthylène, il est donc probable que la surface du corps des Zoochlorelles renferme des composés pectiques mêlés à d'autres substances, ou qu'elle est imprégnée de corps gras ou gélatineux par suite, peut-être, de son contact avec le protoplasme, ce qui nécessite un mordançage préalable.

Corpuscules métachromatiques. — J'ai vu qu'il existe dans la zone hyaline des Zoochlorelles, tout autour du noyau, des granulations, qui possèdent les propriétés des corpuscules métachromatiques (fig. 8). Le phénomène est plus marqué dans les Zoochlorelles extraites de la Paramécie et conservée quelque temps dans l'eau. Ces granulations se colorent en rouge par le bleu polychrome et par le bleu de méthylène, en violet par l'hémalun. Elles sont solubles dans l'eau, insolubles dans l'acide acétique et ne se colorent pas en noir par l'acide osmique. Elles sont tout à fait comparables à celles des Zoochlorelles de l'Hydre et aussi à celles des Levures, et de nombreuses Algues unicellulaires. J'ai constaté que ces corpuscules métachromatiques sont en nombre variable dans les diverses Zoochlorelles ; *que quelques-unes en sont dépourvues;* et qu'il *en existe, au contraire, dans le protoplasme de l'Infusoire.* Il se peut donc que les corpuscules

métachromatiques produits par les Zoochlorelles soient expulsés quelquefois dans l'Infusoire ou soient extraits par l'Infusoire ; et ce phénomène serait d'autant plus important que les corpuscules métachromatiques sont considérés par plusieurs auteurs comme des prodiastases. A ce propos, il est bon de rappeler qu'Haberlandt a vu des granulations passer des Zoochlorelles du *Convoluta* dans le protoplasme de cet animal.

D'autre part, les expériences de M. Guilliermond sur les Levures et l'épiplasme des Ascomycètes tendent à faire admettre que les corpuscules métachromatiques chez ces végétaux représentent des corpuscules de réserve. Comme j'ai montré que les corpuscules métachromatiques des Infusoires ont les propriétés de ceux des Levures, on voit que les Zoochlorelles contribueraient directement de cette manière à l'alimentation de l'animal ; je n'ai pas trouvé de corpuscules métachromatiques dans les Zoochlorelles décolorées (corps incolores) ni dans les Zoochlorelles digérées (corps bruns). Par contre, j'ai dit qu'il y a des Zoochlorelles vertes qui n'en renferment pas. Enfin, d'après divers auteurs, les corpuscules métachromatiques seraient des produits de dégénérescence ou d'altération cellulaire ; on en rencontre, en effet, dans certaines glandes excrétrices ; de cette manière, les Zoochlorelles subiraient dans l'animal une dégénérescence ou une altération progressive, et les Zoochlorelles décolorées et les corps bruns seraient des stades plus avancés de cette altération.

Quoi qu'il en soit, l'existence de corpuscules métachromatiques, dans la zone protoplasmique hyaline des Zoochlorelles, est un fait acquis.

Développement de la coloration verte de Paramœcium Bursaria. — Cet infusoire se multiplie le plus fréquemment par scissiparité. Il se conjugue également. J'ai assisté à la conjugaison de Paramécies vertes, cherchant si, dans ce cas, il y a échange de quelques Zoochlorelles. Ce qui est certain, c'est que, dans la zone de jonction des deux individus, il existe des Zoochlorelles qui se trouvent ainsi être communes pendant le temps de la conjugaison.

Quel est le résultat du phénomène ? Y a-t-il simplement rajeunissement ?

Zoochlorelles des jeunes Paramécies. — J'ai observé, au mois de février, des groupes de très petites Paramécies enkystées, renfermant pour la plupart des corps incolores ou Zoochlorelles décolorées. Parmi

ces petites Paramécies il y en avait quelques-unes cependant renfermant, en sus des corps incolores, une ou deux Zoochlorelles bien vertes (fig. 9). Ces groupes formaient de véritables colonies de petites Paramécies. On peut s'expliquer ces formations de deux manières : on peut admettre, avec Claparède, qu'à un certain moment, il se forme à l'intérieur d'une Paramécie, après conjugation, des *embryons ciliés*, constitués tout d'abord par des masses protoplasmiques arrondies, qui renferment, en sus des éléments nucléaires, soit quelques Zoochlorelles vertes, soit des corps incolores, soit l'un et l'autre. Si ce mode de reproduction par embryon se fait l'hiver ou dans des conditions défavorables, la Paramécie mère contiendra principalement des corps incolores ou Zoochlorelles décolorées, comme je l'ai déjà fait observer, et par conséquent la plupart des embryons contiendront principalement des corps incolores. On peut admettre aussi, avec Balbiani, une multiplication des Paramécies par *mérozoïtes*, constituant tout d'abord une sorte de colonie plus ou moins irrégulière par suite des coalescences qui s'établissent entre les individus composants, et finissant par se dissocier ; de là ces groupes de petites Paramécies. Ce qui plaide en faveur de cette interprétation, c'est que dans la plupart des individus groupés, je n'ai pu observer de noyaux. Or, Balbiani a remarqué précisément que les noyaux individuels sont absents chez les rejetons périphériques de la colonie et remplacés pendant un certain temps par un noyau colonial. Mais quelle que soit l'interprétation qu'on admette, il m'a paru qu'à un certain moment la Paramécie donne naissance à des individus, embryons ou mérozoïtes, dont la plupart renferment des corps incolores et dont quelques-uns seulement renferment des Zoochlorelles vertes. Cette observation concorde avec ce qui se passe pour les Hydres et les Vortex. Enfin j'ai trouvé plusieurs fois, dans le voisinage des Paramécies vertes enkystées, de petits kystes renfermant quelques Zoochlorelles (fig. 10).

Influence de l'alimentation verte sur le développement des Zoochlorelles. — Si les Zoochlorelles vertes ne se transmettent pas toujours de la mère à ses rejetons, comment ceux-ci arrivent-ils à se remplir de Zoochlorelles ? J'ai déjà parlé plus haut de la comparaison des Zoochlorelles avec diverses Algues, modifiées sous l'influence de milieux défavorables.

J'ai d'ailleurs remarqué plusieurs fois dans le protoplasme des Paramécies, des sporanges ou kystes d'Algues unicellulaires (fig. 11). Ces kystes restent *verts* pendant un certain temps dans le protoplasme de la Paramécie ; et on remarque que les spores qu'ils renferment ressemblent aux Zoochlorelles par leurs dimensions et leur aspect, tout en étant d'un vert moins vif.

D'autre part, en plaçant une Paramécie dans une goutte d'eau remplie d'Euglènes vertes, j'ai constaté qu'elle absorbait une quantité considérable de ces Euglènes; que ces Euglènes, en passant dans le protoplasme de la Paramécie, subissaient une contraction de volume, une condensation, et qu'en même temps elles jaunissaient; le lendemain, en écrasant quelques-unes de ces Paramécies, j'y ai vu plusieurs masses brunes en plus d'un grand nombre de Zoochlorelles. J'ai, en effet, constaté que le nombre des Zoochlorelles augmente considérablement dans une Paramécie nourrie d'Euglènes, de telle sorte que cette Paramécie se divise jusqu'à quatre fois en trente heures, chaque Paramécie nouvelle étant aussi chargée de Zoochlorelles que la Paramécie mère ; au contraire, une Paramécie placée comme témoin dans une goutte d'eau sans Euglènes, ne se divise pas pendant le même laps de temps.

Il est certain qu'il existe un rapport entre l'absorption des Algues et notamment des Flagellés verts par la Paracémie, et l'apparition ou du moins l'augmentation du nombre de Zoochlorelles qu'elle contient.

Influence de la famine. — Inversement, en empêchant la Paramécie d'absorber des Algues, par exemple en la cultivant dans de l'eau stérilisée pendant plusieurs semaines, et de préférence à l'obscurité, j'ai constaté que le nombre de Zoochlorelles diminue progressivement, et qu'elles finissent par être complètement digérées.

Une Paramécie verte est placée, à la lumière, dans une goutte d'eau stérilisée, en cellule, dans la chambre humide. Je l'ai conservée du 27 décembre au 14 janvier ; à ce moment, elle a éclaté. Durant sa vie en cellule, j'avais observé les Zoochlorelles vertes charriées constamment dans l'endoplasme et un assez grand nombre de corps bruns ou Zoochlorelles digérées.

Vers la fin de sa vie, la Paramécie paraissait moins verte; elle ne renfermait plus de Zoochlorelles dans la portion de son corps voisine du macronucleus et du micronucleus. Après éclatement, je compte 235 Zoochlorelles vertes ; c'est beaucoup encore, mais

c'est moitié moins que dans les Paramécies vertes cultivées en aquarium, qui renfermaient de 387 à 610 Zoochlorelles.

Dans une autre Paramécie, soumise à la famine, je n'ai compté après éclatement que 120 Zoochlorelles.

En général la Paracémie soumise à la famine, à la lumière, éclate toujours avant d'avoir fini de consommer ses Zoochlorelles.

Il n'en est pas de même à l'obscurité.

Influence de l'obscurité. — J'ai placé en cellule à l'obscurité plusieurs lots de Paramécies vertes. Au bout de cinq jours, ayant examiné un lot, j'ai constaté que les Paramécies avaient perdu la plupart de leurs Zoochlorelles ; la portion du corps occupée par les noyaux en était totalement dépourvue, et la plupart de celles qui restaient étaient accumulées dans la partie aborale de l'animalcule ; elles étaient bien vertes ; dans leur voisinage, il y avait une grosse masse d'un vert uniforme plus ou moins irrégulière, autour de laquelle on distinguait des vésicules bulleuses brunâtres. Ayant sacrifié ce lot aux réactifs microchimiques, je constatai par l'iode, dans la masse verte, la présence de très gros grains d'amidon, se colorant fortement en bleu. Ce qu'il faut noter ici, c'est la manière dont les Zoochlorelles sont digérées à l'obscurité. La Paramécie les accumule dans sa partie aborale, et là, il y a fusion des Zoochlorelles ou au moins des parties vertes des Zoochlorelles en *une seule et même masse* verte que l'animal digère, tandis qu'il se produit, tout autour de cette masse, des bulles brunâtres dont je n'ai pu éclaircir la nature.

J'ai maintenu à l'obscurité quelques lots de Paramécies vertes jusqu'à ce que les Zoochlorelles aient complètement disparu. En ce cas, j'ai constaté :

1° Que les Paramécies avaient considérablement diminué de volume, au moins de moitié ;

2° Qu'il restait à leur intérieur une masse jaunâtre, provenant des Zoochlorelles digérées ;

3° Que les vésicules bulleuses noirâtres ont disparu ;

4° Qu'à la place des Zoochlorelles, c'est-à-dire répartis très régulièrement dans tout le protoplasme de l'animal, il existe un grand nombre de très petits corpuscules biréfringents ; ils ne donnent pas par l'iode les réactions des amylacés ; et au microscope polarisant, ils s'éclairent comme des corps *cristallisés*.

Ayant replacé à la lumière ces Paramécies complètement débar-

rassées des Zoochlorelles, j'ai vu qu'elles ne redeviennent pas vertes au moins pendant les jours qu'ont duré mes observations ; mais il se forme dans leur protoplasme de gros corps blancs. Il peut se faire que ces corps soient des productions de l'animal ; en tous les cas il vit et évolue sans Zoochlorelles, ce qui prouve que les Zoochlorelles ne lui sont pas de grande utilité.

Evacuation forcée des Zoochlorelles.— A l'aide de la caféine, ajoutée en très faible quantité à une goutte d'eau renfermant un Infusoire, j'ai pu lui faire évacuer presque constamment les matières qu'il s'était incorporées (Protococcoïdées, Diatomées, etc.).

L'expérience réussit bien avec les Stylonichies et les Paramécies. L'animal tourne d'abord sur lui-même avec une grande rapidité, il se forme dans le protoplasme, des vacuoles qui, captant de côté et d'autre les matières étrangères éparses, finissent par se réunir en une grosse vacuole renfermant toutes ces matières; cette vacuole fait une hernie de plus en plus prononcée sur la membrane de l'animal jusqu'au moment où elle s'en détache entraînant à l'extérieur les matières incorporées Or, j'ai pu obtenir par ce procédé l'évacuation simultanée d'un certain nombre de Zoochlorelles, l'animal continuant à vivre et à s'agiter après cette expulsion.

Toutefois, j'ai réussi assez rarement, parce que l'évacuation de quelques Zoochlorelles entraîne souvent l'éclatement de l'animal. Cela provient d'un état de tension, résultant de l'accumulation d'un très grand nombre de Zoochlorelles dans le protoplasme. Cet état de tension est peu favorable à la division et aussi à l'alimentation de l'animal, et c'est peut-être pour cette raison que *Paramœcium Bursaria* est un des Infusoires qui se divise le moins et avec le plus de lenteur.

Influence de la dessication. — En laissant évaporer, à l'obscurité, la goutte d'eau de Zoochlorelles isolées, jusqu'à dessication complète j'ai constaté au bout de plus d'un mois, que ces Zoochlorelles se sont transformées en un grand nombre de masses plus petites, sorte de pseudospores, d'un vert bleu homogène, et où on ne distingue plus de protoplasme hyalin. – Tandis que dans l'Infusoire mort, les Zoochlorelles se décolorent au bout d'un certain temps, elles restent bien vertes dans l'Infusoire enkysté, et ceci peut s'expliquer par l'effet d'une dessication partielle, d'une deshydratation à laquelle les Zoochlorelles résistent comme je viens de le montrer.

Influence des sels minéraux sur les Zoochlorelles. — Je me suis appuyé sur ce que les végétaux chlorophylliens bénéficient de l'apport d'engrais minéraux, pour étudier l'effet de l'addition de certains sels sur les Zoochlorelles isolées de l'animal et cultivées en cellule dans une goutte d'eau stérilisée.

Avec le nitrate de soude, je n'ai pas trouvé d'accentuation de la teinte verte de la chlorophylle des Zoochlorelles, comme on l'observe par exemple au printemps par suite de l'application de nitrate sur les plantes ; j'ai observé au contraire sur les Zoochlorelles une teinte verte légèrement jaunâtre.

L'action du phosphate d'ammoniaque a été plus favorable (fig. 12); plusieurs Zoochlorelles ont augmenté de volume, d'une façon sensible ; la teinte verte est restée vive ; et dans la zone de protoplasme hyalin il s'est produit des granules, plus gros que dans le cas de culture dans l'eau pure (fig. 12 *a*).

On sait que Hafkine ayant dans une goutte d'eau à la fois des *Chilomonas* et des *Paramœcium aurelia* constata que l'addition de 1/300 de carbonate de potasse tue les Chilomonas sans tuer les *Paramœcium*, tandis que l'addition de 1/1500 d'acide sulfurique tue les *Paramœcium* sans tuer les Chilomonas. J'ai cherché vainement à constater si *Paramœcium Bursaria*, contenant des Zoochlorelles capables d'élaborer le carbone minéral, serait susceptible de supporter des doses plus appréciable de carbonate soluble.

Déformations aberrantes. — Avec la cantharidine, j'ai remarqué des déformations assez curieuses de Zoochlorelles, une sorte d'hypertrophie (fig. 12 *b*), le bord libre de la zone hyaline se dentelant parfois en frange, les granulations incolores étant aussi plus grosses, et la zone chlorophyllienne présentant certains points, comme des panachures.

Désorganisation des Zoochlorelles. — J'ai cultivé des Zoochlorelles dans l'eau ordinaire, à la lumière pendant plusieurs semaines; certaines Zoochlorelles paraissent rester inertes pendant longtemps; dans d'autres, au bout de quelques jours, il paraît se produire une division de la zone chlorophyllienne ou chromathophore (fig. 13); la zone hyaline se dilate par son bord libre, qui devient de moins en moins distinct; souvent elle disparaît, le chromatophore continue à se diviser ou à se morceller et on observe des petits groupes d'une dizaine de ces petites masses chlorophylliennes d'un vert homogène, sans espace hyalin.

Ces formations gardent leur coloration verte même à l'obscurité; par la dessiccation elles prennent une teinte *d'un vert bleuté*.

STENTOR POLYMORPHUS

J'ai soumis les Zoochlorelles de *Stentor polymorphus* à la plupart des expériences que j'ai faites avec celle de *Paramœcium bursaria*. Je ne noterai donc ici que quelques particularités.

J'ai rencontré, au printemps principalement, des *Stentor polymorphus* fixés dans des pièces d'eau, sur des filaments d'Algues ; j'ai remarqué que ces animalcules étaient fixés plus spécialement sur les filaments immergés, décolorés et un peu désorganisés de *Spirogyra*, plutôt que sur les filaments verts flottants.

Formes libres.— Comme il est assez difficile sous le microscope d'isoler, sans les égarer, les Stentors, à travers le lacis des filaments, j'ai trouvé un procédé commode, qui montre en même temps que ces animalcules recherchent l'oxygène de l'air, quand bien même les Zoochlorelles qu'ils renferment en dégageraient une certaine quantité ; il suffit de laisser reposer pendant quelques jours, sans la renouveler, une eau contenant des Algues chargées de Stentors, pour constater, au bout de ce temps, que ces animalcules se sont détachés des filaments d'Algues immergées, pour monter à la surface du liquide, de telle sorte qu'en y promenant le doigt on capture plusieurs individus non fixés, et par suite naturellement isolés des filaments.

Zoochlorelles.— Les Zoochlorelles de Stentors me semblent formées et constituées de la même manière que celle de *Paramœcium bursaria ;* les mêmes éléments histologiques (noyau, pyrènoïde, corpuscules métachromatiques) s'y caractérisent.

Développement de la coloration. — J'ai remarqué également près de Stentors enkystés et restés bien verts, un ou deux petits kystes détachés renfermant seulement quelques Zoochlorelles.

Tandis qu'il est possible, en conservant *Paramœcium bursaria* à l'obscurité, de lui faire consommer toutes ses Zoochlorelles, je n'ai pu y arriver avec *Stentor polymorphus*, car il éclatait au bout de quelques jours à l'obscurité, quand il ne s'enkystait pas.

En fournissant à un Stentor des cellules de *Chlorella vulgaris*, je remarque deux cas :

S'il en absorbe seulement quelques-unes, elles sont immédiament jaunies et digérées par l'animal;

S'il en absorbe une grande quantité, un certain nombre sont jaunies et digérées, d'autres sont jaunies superficiellement sans être digérées puisque l'animalcule devient plus riche en corps verts, de même que *Paramœcium bursaria*, après l'absorption d'une grande quantité d'Euglènes, comme je l'ai indiqué plus haut.

INTERPRÉTATION CRITIQUE DES RÉSULTATS ET CONCLUSIONS.

Il convient maintenant de discuter, à la lumière des faits que je viens d'exposer, les diverses opinions émises sur la nature et le rôle des Zoochlorelles de *Paramœcium bursaria*.

a) **Chloroleucites animaux.** — La première opinion en date est celle des auteurs qui regardent les Zoochlorelles de *Paramœcium bursaria* comme des grains de chlorophylle, ou chloroplastides produits par cet Infusoire.

Cohn observe que ces corps verts ressemblent tout à fait aux corps chlorophylliens de certaines Algues, surtout des *Vaucheria*.

Il y a évidemment un rapport de forme, mais la coloration des corps verts de *Vaucheria* est homogène; il n'y a pas d'espace hyalin; par les réactifs et colorants appropriés, on ne peut mettre en évidence aucun noyau; de plus, les corps verts de *Vaucheria*, isolés dans l'eau, se décolorent instantanément et se désorganisent, tandis que les Zoochlorelles isolées de l'animal se conservent bien vertes.

Ray-Lankester a regardé également les Zoochlorelles comme des chloroplastides produits par l'animal; ses arguments sont les suivants :

1° Les Zoochlorelles se composent uniquement d'un chromatophore, la zone hyaline observée par divers auteurs étant simplement formée d'un lambeau protoplasmique arraché à l'animal et plus ou moins niché dans la cavité du chloroleucite;

2° Elles sont dépourvues de membrane et de noyau.

Ces arguments se trouvent infirmés par la mise en évidence d'un noyau dans la partie claire du protoplasme de la Zoochlorelle.

Le perfectionnement des méthodes histologiques a permis d'obtenir ce résultat, comme je l'ai montré plus haut.

Si donc il y a un noyau dans la Zoochlorelle, c'est que ce n'est ni un plastide cellulaire, comme tout grain de chlorophylle, ni un lambeau protoplasmique arraché à la cellule de l'Infusoire, qui est mononucléé, mais une cellule.

J'ai confirmé ce résultat en mettant en évidence dans la Zoochlorelle l'existence d'un nouvel organite cellulaire constitué par les corpuscules métachromatiques.

Quant à l'absence de membrane, on ne saurait rien en conclure, car, d'une part, il y a des grains de chlorophylle qui ont une membrane, tels que ceux du fruit d'*Atropa belladona* par exemple; et, d'autre part, il y a des Algues unicellulaires qui manquent de membrane cellulosique, telles que *Sticoccocus bacillaris*.

D'ailleurs, l'assimilation de la Zoochlorelle au grain de chlorophylle ne peut pas mieux se faire sur le terrain physiologique. La Zoochlorelle est facilement isolable de l'Infusoire, se conserve bien verte dans l'eau; Famintzin, Beyerinck, Dangeard en ont obtenu une division par quadripartition sur des milieux nutritifs divers; Le Dantec a pu l'inoculer à des Paramécies incolores. Aucun de ces résultats n'est atteint avec les grains de chlorophylle, qui se désorganisent instantanément dans l'eau, ne se divisent pas sur des milieux artificiels et ne subsistent pas par inoculation. Dans les greffes herbacées, en effet, il n'y a pas mélange ou mise en commun des grains de chlorophylle du greffon et du sujet, mais chaque individu conserve son assise chlorophyllienne, fonctionnant à part. Dans les transfusions de sève, l'observation montre que les grains de chlorophylle entraînés ne tardent pas à se désorganiser dans le nouvel individu.

De plus, la cellule végétale productrice de chlorophylle renferme fréquemment, au premier stade, une chlorophylle *diffuse*. Rien de semblable dans la Paramécie jeune, où la chlorophylle se présente constamment et exclusivement localisée dans la Zoochlorelle.

Les grains de chlorophylle s'étiolent généralement à l'obscurité et reverdissent à la lumière, bien que ceux de certaines Algues restent verts à l'obscurité. Les Zoochlorelles restent vertes à l'obscurité quand elles sont isolées de l'Infusoire, mais elles se résorbent au contraire à l'obscurité quand elles sont dans l'Infusoire, et si on

remet l'Infusoire à la lumière, les Zoochlorelles étiolées ne reverdissent pas.

Enfin, la cellule verte végétale donne naissance, en se divisant, à des cellules jeunes constamment pourvues de grains de chlorophylle. Or, j'ai montré que fréquemment les rejetons de Paramécies vertes ne renferment pas de Zoochlorelles.

Il n'y a donc pas d'homologation possible entre la Zoochlorelle et le grain de chlorophylle, entre la cellule végétale productrice de chlorophylle et la cellule paramécique pourvue de Zoochlorelles.

D'ailleurs, presque aucun auteur contemporain n'admet aujourd'hui cette opinion.

b) **Algues symbiotiques.** — Tous, au contraire, se sont ralliés à l'opinion du symbiotisme, qui consiste à regarder les Zoochlorelles de *Paramœcium bursaria* comme des Algues unicellulaires du genre *Chlorella*, introduites dans l'Infusoire et y vivant en symbiose.

Voici les arguments :

Brandt, le premier, a mis en évidence un noyau dans les Zoochlorelles ; puisque ce ne pouvait être des grains de chlorophylle, c'était donc nécessairement des Algues unicellulaires.

De plus, cet auteur remarque que certaines Zoochlorelles présentent une division en quatre ; puisque ces Algues se divisent, c'est donc qu'elles vivent dans l'animal.

Viennent les expériences de cultures artificielles et celles d'inoculation des Zoochlorelles qui confirment la vitalité de ces êtres.

Famintzin réussit à cultiver quelques Zoochlorelles sur la gélatine nutritive et sur la silice gélatineuse, imprégnée d'une solution minérale. Il voit ces Algues se diviser d'abord en deux, puis en quatre.

Beyerinck cultivant comparativement sur gélatine des Zoochlorelles et des *Chlorella vulgaris*, observe que le développement est semblable de part et d'autre.

Le Dantec réussit à inoculer une Zoochlorelle, retirée d'une Paracémie verte écrasée, à une Paracémie incolore et constate que cette Zoochlorelle se divise successivement au point de remplir complètement de ses divisions la Paramécie incolore.

Comme d'autre part les Paramécies paraissent s'accommoder très bien de la présence des Zoochlorelles, les auteurs en concluent

qu'elles ne sont pas nuisibles à l'animal. Si donc elles ne sont pas nuisibles, leur présence à peu près constante dans les Paramécies prouve qu'elles leur sont utiles. Brandt croit observer que la Paramécie, en effet, ne prend à peu près aucun aliment, et comme les Zoochlorelles dégagent de l'oxygène, absorbent de l'acide carbonique et forment de l'amidon, il en conclut que ce sont elles qui pourvoient à la nourriture de la Paramécie et que celle-ci leur donne, en échange, un abri protecteur et peut-être certains produits azotés non déterminés.

Telle est l'ingénieuse théorie de Brandt, qui est devenue classique.

Il y a deux points à examiner :

1° Les Zoochlorelles sont-elles des Chlorelles ?

2° Ces Algues sont-elles susceptibles de vivre en symbiose dans la Paramécie ?

1° Les Zoochlorelles sont-elles des chlorelles ?

Nous devons reconnaître que, sur ce point, les auteurs ont différé d'opinion.

Famintzin les a considérées comme une espèce de Protococaccées, Dangeard comme une *Palmella hyalina* [1], Beyerinck comme une *Chlorella vulgaris*. Brandt a été frappé de la différence de taille des Zoochlorelles dans les animaux. Ainsi, celles de *Spongilla fluviatilis* mesurent 1 μ 1/2 ; celles de *Convoluta* jusqu'à 13 μ. De là, Brandt a adopté plusieurs variétés de Zoochlorelles : *Chlorella conductrix* et *Chlorella parasitica*.

Or, j'ai observé que dans le même animal il existe des variations de volume des corps verts pouvant aller de 3 μ jusqu'à 8 μ, comme dans *Hydra viridis* par exemple, de 3 μ jusqu'à 12 μ comme dans *Stentor polymorphus*. Donc les Zoochlorelles — si elles ressemblent à *Chlorella vulgaris* — ressemblent autant à plusieurs autres Algues unicellulaires et, de plus, elles se distinguent de ces Algues tout aussi bien que de *Chlorella vulgaris* par ce fait qu'elles présentent, dans certains exemplaires d'un même animal, des différences de volume qu'elles ne présentent pas normalement.

[1] 1 partie phosphate de K et 1 p. sulfate d'Am pour 1000 p. d'eau ; on y ajoute en outre du cabonate de Mg et du sulfate de Ca en poudre.

D'autre part, les eaux riches en Paramécies sont fréquemment dépourvues de toute *Chlorella vulgaris* libre. Cependant, s'il y a contamination, il faut nécessairement la présence de l'agent contaminateur.

De plus, j'ai montré que les Zoochlorelles, retirées des Paramécies, non seulement ne se développent pas dans l'eau, où les *Chlorella vulgaris* se développent au contraire très facilement, mais s'y désorganisent peu à peu. On répondra peut-être que c'est parce que la Zoochlorelle a subi une adaptation dans l'animal et qu'elle a été modifiée.

Mais, si c'est une Algue *modifiée*, comment peut-on se baser sur sa forme pour l'identifier avec *Chlorella vulgaris?* Le développement des cultures comparées de Beyerinck ne peut donc plus être invoqué, car on ne peut comparer une Algue *modifiée* à une Algue qui ne l'est pas. Il y a entre la fonction et l'organe une corrélation qui fait que la modification de l'un entraîne la modification de l'autre.

D'ailleurs j'ai dit plus haut que beaucoup d'Algues de forme très différente peuvent, dans un milieu défavorable, prendre des *formes chlororelliennes*, de même que certains champignons prennent des formes *levures*.

Notons encore que Famintzin n'a réussi qu'*assez rarement* à cultiver les Zoochlorelles libres; qu'il n'a trouvé un milieu approprié qu'après plusieurs années de recherches, que sur toutes les Zoochlorelles ensemencées sur ce milieu il n'y en a qu'une faible partie qui se divisent, et que le nombre de ces divisions n'arrive pas à former un groupe comparable à celui contenu dans une Paramécie verte et qui peut atteindre plusieurs centaines.

Quant à l'expérience de Le Dantec où il dit qu'une seule Zoochlorelle, en se divisant, a pu remplir tout le protoplasme d'une Paraménie incolore qu'il avait observée, ce même auteur fait remarquer que si cette expérience réussit quelquefois, le plus souvent, il a vu la Paramécie incolore, rebelle à l'absorption de la Zoochlorelle, l'évacuer aussitôt après l'avoir absorbée.

Quant à moi, j'ai essayé de placer des Paramécies incolores dans des gouttes d'eau, où j'avais introduit des *Chlorella vulgaris* bien caractéristiques, et j'ai constaté : 1° que ces Paramécies ne se contaminent pas et ne se transforment pas en Paramécies vertes;

2° que les Paramécies se montrent moins friandes de ces petites Algues que de certains Flagellés verts comme les Euglènes; 3° que les *Chlorella vulgaris* absorbées subissent une altération analogue dans l'animal.

Pour ces motifs, il me paraît que les Zoochlorelles de Paramécie ne sont pas identiques à *Chlorella vulgaris*.

2° Les Zoochlorelles sont-elles symbiotiques dans les Paramécies?

a) Sont-elles utiles à l'animal? Lui fournissent-elles les hydrates de carbone?

Brandt dit oui, en s'appuyant sur ce fait que *Paramœcium Bursaria* peut vivre pendant une semaine dans l'eau *filtrée*, par conséquent sans prendre de nourriture. Il en conclut que l'animalcule se nourrit nécessairement à l'aide des hydrates de carbone résultant de l'assimilation chlorophyllienne des Zoochlorelles.

Mais si Brandt avait compté les Zoochlorelles de l'animalcule resté dans l'eau filtrée pendant une semaine, il aurait constaté que leur nombre avait sensiblement diminué et que plusieurs étaient transformées en corps bruns, plus ou moins digérés. S'il reste à prouver que l'animalcule peut se nourrir à l'aide des produits de la fonction chlorophyllienne des Zoochlorelles, il est prouvé au contraire qu'il se nourrit directement des Zoochlorelles mêmes. En plaçant la Paramécie à l'obscurité, j'ai vu qu'elle concentre ses Zoochlorelles dans sa partie aborale et en forme une seule masse compacte où on ne distingue plus aucune structure cellulaire; or, dans cette masse, il est facile de reconnaître par l'iode de gros grains d'amidon que l'animalcule n'a pas utilisés.

b) Les Zoochlorelles fournissent-elles d'oxygène l'Infusoire?

Les auteurs s'appuient sur ce fait que les Paramécies vivent souvent dans des eaux plus ou moins fangeuses, riches en acide carbonique, et qu'elles ne pourraient le faire si l'oxygène dégagé par les Zoochlorelles ne suppléait à la rareté de l'air pur.

Mais le fait que j'ai observé avec les Stentors infirme cette conclusion. En effet, en laissant corrompre une eau chargée de filaments de *Spirogyra* sur lesquels un grand nombre de *Stentor polymorphus* étaient fixés, j'ai constaté au bout d'une semaine que ces Stentors s'étaient détachés des filaments immergés et venaient flotter à la surface de l'eau. Il est évident que si leurs Zoochlorelles

avaient suffi à leur fournir l'oxygène, ils seraient restés immergés, au lieu de rechercher l'air libre.

D'ailleurs, les Infusoires à Zoochlorelles se rencontrent de préférence, non pas dans les eaux riches en detritus, mais surtout dans les eaux riches en Algues bien vivantes, et se groupent sur les paquets d'Algues qui flottent à la surface de l'eau, c'est-à-dire sur les Algues autour desquelles le dégagement d'oxygène est le plus actif.

Ainsi les Zoochlorelles ne subviennent pas plus au besoin d'oxygène de l'animalcule qu'elles ne le nourrissent de leurs hydrates de synthèse.

D'autre part, que fournit l'animal aux Zoochlorelles ?

Il ne leur fournit même pas un abri sûr, puisqu'il les digère. J'ai insisté en maints endroits sur la digestion des Zoochlorelles par la Paramécie. Il suffit d'ajouter que, même les auteurs qui admettent le symbiotisme, tels que Famintzin, Beyerinck, Le Dantec, etc., reconnaissent tous que cette digestion a lieu. Ce fait de la digestion des Zoochlorelles par l'Infusoire prouve péremptoirement qu'elles ne tirent pas profit de leur séjour dans l'animal, puisqu'elles y trouvent leur perte.

De plus, Brandt prétend que la Paramécie ne prend pas d'aliment et cependant qu'elle fournit des produits azotés à ses Zoochlorelles. Mais comment peut-elle fournir ces produits azotés, si elle ne prend pas d'aliment?

Les Zoochlorelles sont-elles parasites?

Je répondrai non, parce que les Zoochlorelles ne nuisent pas à l'animal. L'animal continue à se mouvoir, à se diviser, à se conjuguer, à s'enkyster selon les circonstances, et si l'on compare ses actes à ceux d'une Paramécie incolore, on ne constate pas de différence fondamentale.

Mais si les Zoochlorelles n'ont pas une influence nocive sur la Paramécie, leur accumulation détermine un état de tension de l'animalcule qui peut lui être défavorable, car, en cas de blessure, tandis qu'une Paramécie incolore arrive à refermer sa plaie, la Paramécie verte périt presque toujours, parce que les Zoochlorelles jaillissent en fusée par la plaie entraînant tout le protoplasma de l'animal.

Il n'en reste pas moins vrai, que les Zoochlorelles ne nuisent pas

à l'Infusoire, à la manière des véritables parasites, c'est-à-dire en se nourrissant de sa substance et en déterminant son affaiblissement.

Conclusion. — Algues alimentaires. — Résumant maintenant mes recherches sur *Paramœcium Bursaria*, j'ai montré :

1° Que les Zoochlorelles ont tous les caractères histologiques des cellules d'Algues; qu'on y distingue, en effet, protoplasma incolore, noyau (nucléoplasme et nucléole), corpuscules métachromatiques, chromatophore *chlorophyllien*, pyrénoïde, membrane albumino-pectique;

2° Que ces Zoochlorelles présentent dans le corps de l'Infusoire une série de formes, d'autant plus modifiées que l'animal est dans des conditions d'alimentation moins favorables (disette, obscurité, etc.); qu'on peut y distinguer en effet :

a) Des *Zoochlorelles vertes*, avec des réductions plus ou moins grandes du volume du chromatophore (fig. 2);

b) Des *Zoochlorelles décolorées* (fig. 3), soit encore très légèrement verdâtres, soit entièrement décolorées mais avec protoplasma plus réfringent dans la partie correspondante au chromatophore, soit incolore et homogène, soit incolore avec quelques granules résiduaires colorés. — Ces Zoochlorelles sont d'ailleurs de même dimension que la majorité des Zoochlorelles vertes; quelquefois, elles sont les unes plus grosses, les autres un peu moindres. — Je n'ai pu caractériser ni noyau, ni autre organite cellulaire dans les Zoochlorelles décolorées;

c) Des *Zoochlorelles altérées (corps bruns)*, recroquevillées, où se distingue encore le chromatophore en U, mais rétréci et bruni; on voit l'Infusoire expulser de temps en temps un de ces corps, de sorte qu'ils sont rarement en grand nombre (fig. 3).

3° Que le nombre des Zoochlorelles diminue, quoique lentement, dans l'Infusoire soumis au jeûne à la lumière; que l'Infusoire, après un séjour d'un certain temps à l'obscurité, digère complètement ses Zoochlorelles, les accumulant, les fusionnant en une seule masse verdâtre, qui jaunit et qui finit par être résorbée, laissant quelque déchet biréfringent; et qu'alors, si on replace l'Infusoire à la lumière dans l'eau pure, on ne voit reparaître ou se reformer aucune des Zoochlorelles, l'animal ne reverdit pas;

4° Que les jeunes Paramécies ou leurs kystes sont le plus souvent

dépourvus de toute Zoochlorelle verte ; certains en ont une ou deux ; plusieurs ont des Zoochlorelles décolorées ;

5° Que si la plupart des Algues ou débris d'Algues vertes jaunissent au moment où l'animal les capture et se les incorpore, on peut observer plus d'une fois dans son protoplasme la présence d'Algues ou de kystes d'Algues, restant verts ;

6° Que les aliments *chlorophylliens* (Algues ou débris d'Algues, Flagellés verts) ont pour effet d'augmenter beaucoup le nombre des Zoochlorelles vertes dans l'animal, tandis que la rareté de nourriture verte (hivernage), a pour effet de le diminuer, une grande partie des Zoochlorelles étant alors décolorées ;

7° Qu'on remarque des variations de volume dans les Zoochlorelles contenues dans l'animal et que ce fait doit être attribué à une sorte de *remaniement* par l'animal, des Zoochlorelles existantes ou des matières chlorophylliennes incorporées, car, à l'aide de divers réactifs, j'ai pu provoquer la désagrégation de l'Infusoire en plusieurs mirozoïtes chargés de Zoochlorelles et doués de mouvements amiboïdes, — dans lesquels on assiste, soit à un fusionnement de Zoochlorelles en une masse plus grosse, soit à un émiettement en masses plus petites, par suite des contractions et des vacuolisations du protoplasme de ces pseudo-amibes.

Mes recherches m'amènent donc à considérer les Zoochlorelles, non pas comme une espèce d'Algue déterminée, vivant en symbiose avec la Paramécie, mais comme des Algues *alimentaires*, — unicellulaires, ou dissociées, — plus ou moins remaniées par l'animal avant d'être digérées, — y conservant une vitalité plus ou moins atteinte — que l'animal consomme, à l'occasion, quand il ne trouve pas mieux, — et qui lui servent, peut-être inconsciemment, à échapper à ses ennemis en lui donnant l'aspect d'une Algue ; les Zoochlorelles constituent ainsi pour l'animal une réserve nutritive, se conservant d'elle-même sans se corrompre, — en même temps qu'un moyen de mimétisme.

ÉTUDE D'HYDRA VIRIDIS

Je me suis procuré, en assez grande abondance, l'*Hydra viridis* dans un bassin d'eau vive de Sainte-Foy, près de Lyon. Ces animaux étaient fixés sur les feuilles immergées d'un lierre, qui garnis-

sait le pourtour du bassin ; il y en avait aussi sur les débris de bois flottés, et une grande quantité, au fond de la pièce d'eau, sur les pierres et les feuilles tombées. — J'ai récolté pendant *toute* l'année, des Hydres bien *vertes ;* l'hiver, elles étaient rares et celles que j'ai trouvées dans les feuilles à demi-décomposées dans l'eau, avaient leurs tentacules *complètement rétractés et leur orifice buccal obturé.*

Dès le mois de mars, on les voit se multiplier activement par bourgeonnement ; j'en ai rencontré à cette époque, au milieu d'un grand nombre qui étaient d'une teinte verte intense, quelques-unes *à peine verdâtres ou presque incolores.*

Description de la cellule endodermique de l'Hydre verte. — *Divers éléments de la cellule.* — Les *seules* cellules vertes d'*Hydra viridis* sont les cellules de l'endoderme qui forment la paroi de la cavité digestive ; les cellules *glandulaires* endodermiques ne renferment pas de corps verts ou Zoochlorelles ; de même, ces corps n'existent jamais dans l'ectoderme. — Les cellules endodermiques à Zoochlorelles sont volumineuses, de forme polygonale ; on y distingue un gros noyau, formé par un nucléoplasme résiliforme et un ou plusieurs nucléoles. Les *corps verts* ou Zoochlorelles sont situés principalement et localisés contre la base de la cellule, formant un amas serré de plusieurs couches que je puis comparer à une sorte de tissu continu ; cet amas de corps verts déborde aussi le plus souvent le long des parois latérales. Il existe presque toujours des *corps bruns* ou brun verdâtre (fig. 14), plus petits et de contour irrégulier, dans la région interne de la cellule, c'est-à-dire celle directement en contact avec la cavité digestive et, au contraire, on remarque peu de Zoochlorelles dans cette région. Il y a aussi des *corps incolores* ayant la forme et les dimensions des corps verts et la réfringence de gouttes d'huile ; et on remarque la formation momentanée, en divers points de la cellule endodermique, de *grosses vacuoles*, pouvant renfermer quelques corps verts, incolores ou bruns.

Aprés fixation au picroformol et coloration par l'hématoxyline ferrique, le nucléole et la membrane nucléaire du noyau des cellules de l'Hydre se colorent en bleu sombre. Il y a des noyaux qui renferment, au lieu d'un seul gros nucléole, plusieurs petits, répartis dans les diverses mailles du nucléoplasme qui ressemble parfois,

sous cet aspect, à un amas de petites Zoochlorelles, ayant subi le même traitement histologique.

Rapprochement avec l'Hydre grise. — Il est intéressant de rapprocher la cellule endodermique d'Hydre verte de la cellule endodermique d'Hydre grise, laquelle ne renferme aucune Zoochlorelle. On voit que dans l'Hydre grise, il existe constamment, dans le protoplasme des cellules endodermiques, des corps incolores, refringents, quelquefois irréguliers, assez souvent de dimensions uniformes, qui sont par leur situation les homologues des Zoochlorelles. Or, ces corps sont des produits de déchets, des corps non digérés ou incomplètement digérés, des grains amyloïdiens, résultant d'animalcules absorbés. On retrouve, en effet, dans un certain nombre de Protistes verts ou non verts, des grains d'amyloïde et, cette matière résistant aux sucs digestifs plus longtemps que l'amidon, il est assez naturel de la rencontrer parmi les déchets contenus dans les cellules endodermiques de l'Hydre grise.

Rapport de la Paramécie et de la cellule endodermique de l'Hydre. — Au point de vue de la répartition des Zoochlorelles, il existe un grand rapport entre la cellule endodermique de l'Hydre verte et la Paramécie verte. Dans l'un et dans l'autre on distingue, dans la partie marginale de la cellule, des Zoochlorelles régulièrement disposées et bien vertes, tandis qu'au centre de la cellule on rencontre d'autres Zoochlorelles plus modifiées et un certain nombre de corps bruns et incolores, qui représentent les déchets alimentaires des Zoochlorelles et qui sont les homologues des corps réfringents des diverses espèces de Paramécies sans Zoochlorelles et de ceux des cellules endodermiques de l'Hydre grise.

J'ai placé dans la même préparation une Hydre verte et plusieurs Paramécies vertes bien vivantes. Or, j'ai constaté que ces deux espèces de Chlorellophorés subissent une influence réciproque. Les Paramécies s'orientent d'abord régulièrement par rapport à l'axe de l'Hydre et arrêtent leurs mouvements; puis elles se rapprochent, circulent à l'aise dans les intervalles des tentacules de l'Hydre, sans que celle-ci cherche à les paralyser à l'aide de ses nématocystes; parfois même elles pénètrent dans l'Hydre par l'orifice buccal et dans certains cas il m'a semblé les voir en ressortir et continuer à se mouvoir sans aucun signe d'altération.

Examen morphologique des Zoochlorelles. — En écrasant délicatement une Hydre verte ou seulement un tentacule dans une goutte d'eau, je me suis rendu compte au microscope :

1° Que ces Zoochlorelles ressemblent à de petites Algues arrondies, ne présentant pas de membrane ou double contour ;

2° Qu'elles sont souvent de *dimensions différentes*. Par la mesure minutieuse à l'aide du micromètre oculaire d'un grand nombre de ces corps j'ai constaté qu'il existe en général dans l'Hydre un certain nombre de *grosses Zoochlorelles*, dépassant nettement la moyenne ; mais que, celles-ci mises à part, le plus *grand nombre des Zoochlorelles* ont très sensiblement le *même diamètre* (fig. 14) ;

3° Que la coloration verte s'étend soit sur toute la Zoochlorelle, soit seulement sur la plus grande partie ; et dans ce dernier cas une petite masse de protoplasme hyalin se remarque à l'un des pôles de la Zoochlorelle, qui ressemble à première vue à un œuf dont la partie verte représenterait le vitellus et la partie hyaline, le germe : c'est la forme la plus typique. J'ai observé que généralement les grosses Zoochlorelles sont complètement vertes, sans espace hyalin. Celles qui ont un espace hyalin sont principalement les petites. — L'aspect des grosses Zoochlorelles vertes ressemble beaucoup à celui des Algues unicellulaires ; elles ne sont pas homogènes, mais apparaissent comme remplies d'un protoplasme hyalin semi-fluide, au milieu duquel se meuvent des granulations incolores ; la coloration verte ne m'a pas paru s'étendre beaucoup en profondeur, mais elle s'étend à toute la surface de la Zoochlorelle, sauf quelquefois en un point qui forme une sorte de hile très étroit. — Au contraire, dans les petites Zoochorelles, la zone verte est très homogène, lisse et unie, et la partie hyaline s'avance plus ou moins profondément dans cette zone, qui est parfois réduite aux jambages épaissis d'un U ;

4° Que certains Zoochlorelles présentent une quadripartition. — Toutefois il m'a paru que dans les cellules de l'Hydre le nombre des Zoochlorelles présentant des plans de division est l'exception par rapport à celui des Zoochlorelles non divisées, et que, si l'on écrase les cellules dans l'eau, il apparaît un bien plus grand nombre de Zoochlorelles divisées. — Au premier examen on pourrait penser que ces différences de dimensions, d'aspect, de divisions se rapportent aux divers stades d'un même développement, et que

les grosses Zoochlorelles se divisent en quatre petites, qui s'accroissent progressivement pour recommencer le cycle. Mais un examen plus approfondi montre qu'on trouve des exemples de quadripartitions aussi bien dans les petites que dans les grosses Zoochlorelles.

Examen histologique. — *Fixation.* — 1° En fixant les Zoochlorelles de l'Hydre par l'alcool ou les vapeurs osmiques, j'ai constaté que les grosses Zoochlorelles subissent une modification du protoplasme *plus accentuée que les petites Zoochlorelles*, de telle sorte qu'après fixation l'aspect et le volume des diverses Zoochlorelles sont beaucoup moins différents qu'avant la fixation : toutes présentent une zone verte et une zone hyaline. — Donc, on peut expérimentalement transformer les grosses Zoochlorelles en petites, lesquelles existent normalement et en majorité dans la cellule endodermique vivante.

2° Sur des coupes horizontales, faites à la paraffine dans l'Hydre verte, j'ai fait agir les colorants nucléaires — hématoxyline ferrique — comme je l'ai indiqué au paragraphe de la technique. Toutes les Zoochlorelles offrirent, après ce traitement, le même aspect.

Epaississement chlorophyllien. — La coloration verte a totalement disparu; et, fait intéressant, il n'existe aucune trace de limitation de la zone verte, aucun contour de chromatophore décoloré; la matière verte est donc simplement déposée à la surface d'une partie du protoplasme; la zone verte constitue un épaississement par suite de ce dépôt, sans individualisation d'un plastide particulier. La Zoochlorelle se présente en effet, après le traitement histologique, sous forme d'une masse protoplasmique incolore, de structure réticulée très homogène, dans laquelle on distingue deux organites semblablement colorés, le noyau et le pyrénoïde (fig. 15 *bis*).

Noyau. — J'ai vu que le noyau est constitué par un nucléoplasme incolore, limité par un contour arrondi coloré en bleu sombre par l'hématonyline ferrique, et portant en son milieu un nucléole, de même teinte (fig. 15). Ce noyau est exactement constitué comme celui des Levures.

Pyrénoïde. — Le pyrénoïde d'après mes observations consiste en une masse compacte, également colorée en bleu sombre, et entourée d'une zone *anhiste* qui est limitée du côté du protoplasme par un contour coloré en bleu sombre, mais moins régulier que celui du noyau.

De plus, il existe entre ces deux organites un rapport de situation ; ils sont généralement rapprochés, quelquefois même appliqués l'un contre l'autre. Le noyau se divise avant le pyrénoïde, mais ce dernier prend part à son tour à la division, se sépare par un étranglement, se résorbe quelquefois et il s'en forme dans ce cas un nouveau, de telle sorte que la Zoochlorelle renferme constamment ces deux organites. — Fréquemment le noyau est divisé en deux ou en quatre dans une Zoochlorelle, tandis que le pyrénoïde volumineux reste indivis et qu'aucun plan de division ne se dessine dans le corps vert (fig. 15).

Plans de division. — Les Zoochlorelles *polynucléées* sont nombreuses dans l'Hydre. On pourrait penser qu'il s'agit là d'un commencement de division qui s'achèvera peu à peu aux stades successifs du développement de l'Hydre. Or, j'ai constaté sur des Hydres prises à tous les degrés de développement, sur les bourgeons de divers âges aussi bien que sur l'Hydre mère, qu'il existe *constamment* des Zoochlorelles polynucléées, et de toute dimension, bien que les variations de dimensions de ces corps soient peu importantes, après fixation, comme je l'ai dit plus haut. Dans les Zoochlorelles divisées en quatre, il y a quatre noyaux et quatre pyrénoïdes (fig. 15).

Amylacés. — Le pyrénoïde a un rôle important dans la nutrition et notamment dans la formation des amylacés. Par l'action de la teinture d'iode sur les Zoochlorelles décolorées par l'alcool, j'ai vu le contour du pyrénoïde se colorer ; la teinte étant à mon avis, non pas bleue, mais brun rougeâtre, l'amylacé formé doit être un corps intermédiaire entre l'amidon et le glycogène. Mais ce qu'il faut noter ici, c'est le rapport du pyrénoïde, d'une part, avec le gisement de matière verte de la Zoochlorelle et, de l'autre, avec la différenciation glycogénique. Dans la Zoochlorelle libre, le pyrénoïde devient quelquefois visible : il présente alors une apparence vacuolaire, que j'ai rendue plus nette par un traitement potassique à 2 pour 100 ; la matière chromatique du pyrénoïde, histologiquement colorable, provient sans doute d'une précipitation sous l'influence des deshydratations.

Corpuscules métachromatiques. — Dans le voisinage du noyau, j'ai constaté la localisation d'un certain nombre de fins granules, et j'ai vu qu'ils ont les propriétés *métachromatiques* des

grains rouges[1]. Ils donnent lieu après fixation au picro-formol des coupes de l'Hydre, à une métachromasie très accusée du bleu polychrome, du bleu de méthylène, du violet de gentiane et de l'hémalun. La coloration varie du bleu violacé au rouge vif selon le degré de décoloration. Et à les voir ainsi colorés dans les Zoochlorelles, on les prendrait au premier abord pour des colonies de microbes infestant des cellules. Ces corpuscules, comme les « grains rouges », ne se dissolvent pas par l'acide acétique et ne brunissent pas par l'acide osmique. Ils sont formés d'une partie centrale molle et d'une partie annulaire épaissie; cette structure se rapproche beaucoup de celle des vacuolides découvertes par M. R. Dubois dans les organes lumineux des Phollades et dans la glande à pourpre des Murex. Les corpuscules métachromatiques ou « grains rouges » sont regardés tantôt comme des produits de réserve, tantôt comme des grains de sécrétion ou prodiastases, mais tous les auteurs s'accordent à considérer leur présence dans une cellule comme un signe de sa vitalité (fig. 15 *bis*).

Or, j'ai observé que les Zoochlorelles présentent, à l'égard de ces grains, de profondes variations : dans plusieurs Zoochlorelles, ils forment des traînées de très petits points; dans d'autres, ils sont plus gros et moins nombreux; *dans plusieurs, ils manquent totalement.*

Les diverses observations que je viens de soumettre dans ces examens morphologiques et histologiques des Zoochlorelles de l'Hydre peuvent se résumer ainsi :

1° Il existe dans les cellules endodermiques deux sortes de Zoochlorelles : les unes, plus grosses, qui ont tous les caractères de certaines Algues unicellulaires; les autres, les plus nombreuses et les plus typiques, qui sont caractérisées par leurs deux zones homogènes, verte et hyaline, et leur éclat spécial.

2° L'action d'un fixateur suffit pour convertir les grosses Zoochlorelles en Zoochlorelles typiques; on peut donc regarder ces dernières comme provenant d'une contraction des premières exercée par l'animal.

[1] Les *grains rouges* ont été décrits par Ernst et Babès dans les Bactériacées; par Bütschli et Busquet dans les Diatomées, les Ciliés, les Flagellés, les Sporozoaires; par Matruchot et Molliard dans les Algues; par Guilliermond dans les levures et les Ascomycètes.

3° Les Zoochlorelles typiques ne peuvent être considérées comme des formes de l'évolution des grosses, car on rencontre des quadripartitions aussi bien chez les unes que chez les autres.

4° La rareté relative des Zoochlorelles quadripartites dans l'Hydre vivante et, d'autre part, l'abondance et la permanence des Zoochlorelles polynucléées, c'est-à-dire à division ébauchée mais inachevée, dans tous les stades de l'évolution de l'Hydre, peut s'expliquer par un arrêt du développement de ces Zoochlorelles.

5° Les variations et surtout l'absence des corpuscules métachromatiques dans un certain nombre de Zoochlorelles montrent que la vitalité ou l'activité sécrétrice est modifiée ou terminée dans un certain nombre d'entre elles.

6° La présence de corps décolorés et de corps bruns dans la partie la plus digestive, la plus active de la cellule endodermique de l'Hydre et l'absence correspondante de Zoochlorelles dans cette partie démontrent l'activité digestive de la cellule de l'Hydre relativement aux Zoochlorelles.

Examen spectroscopique. — J'ai pu me procurer une quantité d'Hydres vertes suffisante pour que leur macération dans l'alcool à 93 degrés donnât une coloration d'un beau vert. Toutefois, ces animaux ne se décolorent pas tous également dans l'alcool. Je constatai qu'un certain nombre d'Hydres, même après plusieurs mois de macération dans l'alcool, conservent une coloration *bleu ardoisé*, et l'examen microscopique me montra que plusieurs Zoochlorelles présentaient dans certaines cellules de l'endoderme une teinte bleue dûe à un principe spécial, car, ayant remis macérer ces Hydres, après *dilacération*, je vis quelles n'abandonnaient rien à l'alcool et restaient colorées. — Quant à la solution alcoolique verte, elle donne au spectroscope la bande de Brewster stable aux réactifs et située à la même place que celle d'un extrait alcoolique de feuilles vertes de même concentration. L'existence de la chlorophylle dans l'Hydre verte est donc certaine. D'ailleurs, les acides sulfurique et chlorhydrique concentrés, agissant sur les Zoochlorelles de l'Hydre, donnent la coloration vert émeraude de la chlorophylle. Je n'ai pu obtenir un dégagement sensible d'oxygène à l'aide d'Hydres vertes placées sous petites éprouvettes au soleil dans de l'eau légèrement carbonique, mais Engelmann a constaté

ce dégagement par le procédé très sensible des bactéries au microspectroscope.

La matière verte des Zoochlorelles de l'Hydre est-elle identique à celle des végétaux? En dédoublant par la benzine, j'obtiens avec le liquide vert de l'Hydre deux couches, dont l'inférieure, alcoolique, reste plus verte et présente au spectroscope une bande de Brewster plus accentuée. Avec le liquide vert végétal de même concentration, c'est, au contraire, la couche benzénique qui a ces caractères. De plus, en évaporant le liquide vert de l'Hydre et en reprenant le résidu soit par l'acide acétique, soit par l'acide azotique concentré, je constate la formation d'un grand nombre de fins globules, dont la coloration peut varier du rouge au noir. Ce phénomène ne se produit pas avec l'extrait vert végétal et il se produit, au contraire, avec les matières végétales encore vertes, rejetées par l'intestin de certaines chenilles. En tous les cas, ces résultats montrent que la chlorophylle des Zoochlorelles de l'Hydre diffère de celle des feuilles. D'ailleurs, l'observation simple laisse prévoir cette conclusion, les Zoochlorelles typiques présentant un éclat vert bleuté qui tranche avec l'éclat vert jaunâtre des Algues et même des grosses Zoochlorelles. Et en traitant par une solution concentrée de résorcine ces Zoochlorelles typiques, j'ai constaté que la Zoochlorelle se décolore peu à peu, tandis que le pyrénoïde se colore en bleu. La Zoochlorelle prend d'abord une teinte verte uniforme, et presque en même temps un aspect granuleux comme un grain de chlorophylle; le pyrénoïde ressort nettement, puis la décoloration se fait progressivement, la Zoochlorelle devient incolore, sauf le pyrénoïde, qui prend une teinte bleu ardoisé.

Développement de la coloration verte de l'Hydre. — Je n'ai rien à ajouter aux observations des auteurs, qui ont constaté que les œufs de l'Hydre verte donnent naissance soit à des embryons à Zoochlorelles, soit à des embryons incolores.

Mais j'ai étudié un certain nombre d'Hydres *pâles* ou *verdissantes* c'est-à-dire à peine vertes ou presque incolores qui se rencontrent assez fréquentes à travers les Hydres vertes. L'examen microscopique m'a montré, dans les cellules endodermiques de ces Hydres pâles, la présence de cellules typiques de *Protococcus*, avec le double contour et quelquefois divisées en deux ou quatre. Le contenu

de ces Algues était vert, très granuleux ; plusieurs de ces cellules protococciennes étaient transformées en sporanges, remplis de corps verts, de teinte et de dimensions voisines de celles des Zoochlorelles. Les cellules endodermiques de ces Hydres étaient le siège d'une vacuolisation active ; dans certaines vacuoles il n'y avait que des cellules de *Protococcus ;* dans d'autres, ces cellules étaient divisées et accompagnées d'un petit nombre de Zoochlorelles. D'autre part, en maintenant un Hydre pâle dans l'eau pure exempte d'Algues, je suis arrivé à la décolorer complètement, les quelques Zoochlorelles se transforment en corps bruns.

Ayant placé des Hydres vertes dans des couvercles de porcelaine, renfermant de l'eau pure, je les exposai sous verre, à la lumière, pendant plusieurs jours. Fréquemment je remarquai la formation de *trainées* vertes, épousant assez exactement le contour de l'animal, avec un épanouissement correspondant à la région orale, de telle sorte qu'après déplacement d'une de ces Hydres, sa trace restait et ressortait en vert sur le fond blanc du vase. Ce phénomène d'ailleurs ne nuisait pas à la vitalité de l'Hydre, qui restait *vivante*. Au microscope j'observai que ce dépôt est semblable à celui laissé par des Hydres éclatées, c'est-à-dire formé de Zoochlorelles plus ou moins déformées et empâtées de portions protoplasmiques provenant de l'Hydre. Il est donc certain que les Hydres peuvent dans certains cas, tout en restant vivantes, expulser une partie de leurs Zoochlorelles. Il est probable que la paroi endodermique se renouvelle de temps à autre et se répare comme la paroi du tube digestif des animaux, et que les vieilles cellules endodermiques sont rejettées avec les Zoochlorelles plus ou moins altérées.

J'ai placé un même nombre d'Hydres vertes dans six cuvettes de porcelaine recouvertes de verres colorés : violet, bleu, vert, jaune, rouge et je les ai exposées à la lumière. Au bout de dix jours les Hydres avaient éclaté dans tous les lots sauf dans le vert et dans le rouge. Deux jours après, elles ont éclaté dans le vert ; celles du rouge ont subsisté encore trois jours. Quant aux Zoochlorelles libres, au contraire, elles ne tardèrent pas à jaunir dans le rouge, dans le vert et dans le violet tandis qu'elles restèrent vertes plusieurs mois dans le bleu. Ainsi les radiations le mieux supportées par l'Hydre sont les rouges et les vertes ; ce sont précisément

celles qu'absorbent le moins les Zoochlorelles ou plutôt leur chlorophylle. La cellule endodermique de l'Hydre pourrait donc tolérer plus facilement et plus longtemps la présence de ces corps, sans leur nuire.

Enfin j'ai placé un même nombre d'Hydres vertes dans quatre cuvettes de porcelaine, renfermant de l'eau ordinaire additionnée d'un très petit cristal d'un des sels suivants : nitrate de chaux, biphosphate de potasse, saccharose pur ; un lot témoin renfermait l'eau pure. J'ai constaté dans tous les lots la formation de traînées vertes, beaucoup plus abondante que dans le lot témoin. Le troisième jour les Hydres ont éclaté dans le lot à biphosphate, tandis qu'elles vivent toutes dans les autres lots. Au microscope, j'ai observé, dans les traînées vertes, de nombreuses Zoochlorelles libérées et un grand nombre de gouttelettes protoplasmiques dont plusieurs renfermaient des Zoochlorelles. Dans ces gouttelettes il y avait également de nombreux microsomes animés de mouvements browniens ; certaines gouttelettes s'étiraient en pseudopodes et manifestaient des mouvements amiboïdes. Des colonies microbiennes s'étant développées dans le lot sucré, je remarquai que les Hydres résistaient à la fermentation et à la putréfaction pendant fort longtemps.

Les diverses observations qui ressortent de l'examen spectroscopique et de celui du développement de la coloration verte peuvent se résumer ainsi :

1° Présence de la chlorophylle reconnaissable à la bande de Brewster, au dégagement gazeux et aux réactifs ;

2° Modification de cette chlorophylle, fondée sur la présence de la bande de Brewster, plus accusée dans la couche alcoolique de l'extrait dédoublé ; sur la présence d'un lipochrome animal reconnaissable aux globules oléiformes, par action nitrique ; sur la présence, dans certaines Zoochlorelles, d'un élément bleu ;

3° Présence d'Algues autres que les Zoochlorelles, dans les cellules endodermiques de l'Hydre ;

4° Coexistence dans une même vacuole, de cellules protococciennes en voie de se modifier, et de quelques Zoochlorelles ;

5° Expulsion par les Hydres vivantes, surtout dans les liquides actifs, de nombreuses Zoochlorelles et de lambeaux de cellules endodermiques ;

6° Tolérance des Hydres pour les radiations non absorbées par les Zoochlorelles.

Conclusion. — L'ensemble de mes expériences m'amène à penser :

1° Que les diverses Zoochlorelles de l'Hydre verte ne représentent pas les stades de l'évolution d'une Algue verte symbiotique ou parasite, mais que ce sont des Algues alimentaires entraînées et accumulées dans les cellules endodermiques ;

2° Que l'Hydre étant plutôt carnivore, la digestion de ces Algues se fait lentement et difficilement, d'où l'accumulation des Zoochlorelles dans ces cellules ;

3° Que dans une première phase, ces Algues, entraînées dans l'Hydre, sont divisées, remaniées, transformées en masses chlorelliennes, imprégnées par les sécrétions cellulaires de l'Hydre, modifiées en un mot dans leur forme, qui devient plus contractée, dans leur coloration, qui devient plus bleue, dans leur vitalité, qui est amoindrie ou ralentie, et qu'elles sont parquées à cet état dans la partie la moins active de la cellule endodermique. Ces Zoochlorelles sont ainsi *homologues* des matières végétales incomplètement digérées entrant dans les excréments de nombreux animaux ; seulement, n'étant pas déchirées par la mastication ou un acte analogue, elles peuvent conserver un reste de vitalité ;

4° Quand elles deviennent en trop grand nombre dans la cellule endodermique, au point d'arriver jusque dans la partie la plus active de celle-ci, elles sont reprises par les sécrétions de cette cellule et décolorées ou transformées en *corps bruns* irréguliers. Mais souvent elles sont rejetées en dehors de l'Hydre par une sorte de desquamation des cellules de l'endoderme sans être transformées en corps bruns.

Cette conclusion n'est contraire avec aucun fait précédemment établi :

Les expériences de Famintzinet de Beyerinck sur la division des Zoochlorelles à l'état isolé s'expliquent par l'effet de la vitalité remanente de ces corps ; et même le fait que ces auteurs n'ont pas réussi l'expérience avec toutes les Zoochlorelles employées se comprend très bien, puisque les Zoochlorelles n'ont pas, d'après mes observations, la même vitalité, et que certaines même l'ont perdue.

Ayant, à propos des Zoochlorelles de *Paramœcium Bursaria*, déjà discuté les opinions régnantes, je renvoie à ce paragraphe.

VERS CHLOROPHYLLIENS

Ce groupe hétérogène d'animaux est intéressant au point de vue qui nous occupe, parce qu'il présente les passages entre la cellule verte telle que nous l'avons vue dans les animaux à Zoochlorelles et la cellule verte telle que nous la retrouverons dans le foie des Mollusques.

Nous examinerons donc :

1° Les corps verts de *Convoluta roscoffensis* et de *Vortex viridis* (Turbellariés), et ceux d'*Aelosoma variegatum* (Annelide);

2° Le pigment vert de *Bonellia viridis*.

Zoochlorelles de Convoluta roscoffensis. — Ces corps ont été très bien étudiés par Haberlandt, et dernièrement par Gamble et Keeble. Ils sont situés dans les espaces lacunaires du parenchyme, constituant l'intérieur du corps de ce vers, qui, étant un *Rhabdocœle acœle*, n'a pas de tube digestif défini. Ils se trouvent rarement dans les parties profondes de ce parenchyme, mais s'accumulent au contraire dans ses parties sous-épidermiques.

Ils sont de forme sphérique ou ovalaire et mesurent de 8 à 13 μ de diamètre. Fait remarquable, ils se déplacent sous la moindre pression, en s'effilant pour franchir les espaces étroits, et reprennent ensuite leur forme ovale ou arrondie; ils se déforment sous la moindre altération; ces figures de translocation ne sont pas sans analogie avec celles des gouttes d'huile.

De plus, ces corps verts présentent des *enclaves :* c'est d'abord une masse cristalliforme, le pyrénoïde, colorable par l'hématoxyline; il peut y avoir 1, 2 et jusqu'à 3 pyrénoïdes dans un corps vert.

On remarque en outre des granules d'amidon, colorables en bleu par l'iode; mais ces granules sont excessivement petits, ponctiformes, et avoisinent constamment le contour du pyrénoïde.

Enfin il existe encore des granules réfringents, non colorables par l'iode et solubles dans l'eau : ces granules sont homologues à ceux que j'ai signalés dans les Zoochlorelles d'*Hydra viridis* et que j'ai identifiés à des corpuscules métachromatiques.

Quant au noyau des corps verts de *Convoluta*, il n'est pas toujours

net; Geddes indique sa présence; et Haberlandt s'est servi pour sa recherche de l'eau de mer iodée, suivie d'un traitement au carmin boracique. Il faut faire la recherche sur des *Convoluta* bien vivants, car aussitôt après la mort, les corps verts se modifient et on ne peut pas mettre de noyau en évidence ; cependant ces corps verts restent verts quelque temps, mais paraissent se résinifier, prennent un aspect fibreux spécial; c'est encore là un point de ressemblance avec les gouttes huileuses. Il faut ajouter que le pigment colore les corps verts de *Convoluta* d'une façon très homogène, sans distinction de protoplasme hyalin.

Les œufs de *Convoluta* sont en général incolores, c'est-à-dire sans corps verts ; mais à la capsule qui protège l'œuf sont attachées souvent des cellules incolores ou jaunâtres que Gamble et Keeble considèrent comme une forme de développement d'Algue *Chlorella*, qui pénétrerait dans le jeune embryon à cet état incolore et y verdirait. Mais il faudrait assister à ce phénomène.

Quoi qu'il en soit nous constatons que les corps verts de *Convoluta* diffèrent des Zoochlorelles d'Infusoires et d'*Hydra* :

1° Par plus d'homogénéité dans la répartition du pigment vert ;

2° Par la *plasticité* très particulière de leur forme ;

3° Par la disparition de leur noyau et une sorte de résinification, qui font qu'on n'a pas réussi à les cultiver en dehors de l'animal ou à les inoculer ;

4° Par une division moins nette en deux ou en quatre et une taille plus considérable.

Par contre, elles présentent comme les Zoochlorelles des enclaves amylacées, un ou plusieurs pyrénoïdes et des corpuscules métachromatiques. Leur pigment vert soluble dans l'alcool, donne au spectroscope les bandes d'absorption de la chlorophylle ; et bien qu'on ne constate pas que les *Convoluta* vivants dégagent au soleil d'abondantes bulles gazeuzes, du moins Geddes en a retiré de l'oxygène et beaucoup d'azote.

Notre conclusion est que les corps verts de *Convoluta* représentent un stade de modifications digestives d'Algues, plus accusé que celui des Zoochlorelles des Infusoires et d'*Hydra*.

Zoochlorelles de Vortex et de Mesostomum. — Ces espèces sont des Rhabdocœles proprement dits, c'est-à-dire ayant un intestin

bien distinct. Ils présentent des corps verts dans les tissus avoisinant la cavité générale. Mais ici ces corps s'éloignent de plus en plus de l'aspect Zoochlorelle pour se rapprocher de plus en plus de l'aspect de gouttes oléiformes.

Ces corps mesurent de 3 à 6 μ dans le Vortex ; mais dans le *Mesostomum viridatum* le diamètre varie de 1 μ 2/10 à 7 μ 1/2 ; Graff n'a pu trouver de noyau dans les plus petits et il a constaté que les plus gros formaient des groupes autour des plus petits. En outre, le pigment vert n'est pas réparti uniformément dans toute la masse du corps vert, mais est divisé quelquefois en petites gouttelettes vertes séparées, comme l'a observé Geddes. Il paraît y avoir là un *état d'émulsion* de la substance chlorophyllienne.

De plus, d'après Graff, les *Vortex viridis* donnent des œufs incolores, sans trace de particules vertes.

Corps verts d'Aelosoma variegatum. — Ce ver appartient aux Annelides. Il contient dans ses cellules intestinales des corps verts, étudiés par Zacharias et que Brandt a considérés comme des Algues. Or, de même que les corps verts de *Convoluta*, ces corps ont la particularité de changer de forme très facilement sous la pression ; Vedjooslki et Beddard n'hésitent pas à les considérer comme des gouttelettes d'huile verte, d'autant plus qu'ils se colorent en noir par l'acide osmique.

Ainsi il me paraît que par le *Convoluta* où les corps verts rappellent encore les Zoochlorelles par leurs enclaves, on arrive en passant par le Vortex, à l'*Aelosoma* où la chlorophylle est émulsionnée, saponifié en gouttes oléiformes et cette sorte de saponification progressive de la chlorophylle dans les tissus animaux s'accompagne et se traduit par une plasticité de plus en plus grande du corps vert.

Corps verts de Bonellia viridis. — Je mentionne en passant *Bonellia viridis*, parce que quelques auteurs ont regardé son pigment vert comme chlorophyllien.

Ce Géphyrien abondant dans la baie de Tamaris, est remarquable par sa belle coloration verte.

Ce pigment vert est soluble dans l'alcool et dans les divers solvants de la chlorophylle.

Le spectre, de plus, est très analogue ; en comparant des solutions alcooliques de même concentration, nous trouvons :

Pour la Chlorophylle.		*Pour la Bonellie.*	
Bande nette . . .	de 5,9 à 7,2	Bande nette . . .	de 6,9 à 8
Petite bande. . .	de 8,3 à 8,9	Petite bande. . .	de 8,5 à 8,8
Bande	de 12,6 à 13,2	Bande	de 9,6 à 10,3
		Ombre.	de 12,7 à 13,1

Les ombres de la région la plus réfrangible sont à peu près les mêmes ; cependant, dans la bonelline, on remarque une bande de 14,2 à 14,6, qui manque à la chlorophylle, et l'extinction commence à 15,2 pour la chlorophylle et à 15,6 pour la bonelline.

Comme on le voit, les spectres sont très analogues ; mais celui de la bonelline renferme deux bandes de plus et les autres bandes ne coïncident pas absolument mais sont rejetées un peu à droite.

De plus la bonelline traitée par les acides et neutralisée, donne un spectre différent de celui de la chlorophylle semblablement traitée, comme l'a montré Sorby.

Par exemple la bande de Brewster persiste si l'on alcalinise la solution.

D'autres caractères physico-chimiques sont différents entre la bonelline et la chlorophylle.

Ainsi, en évaporant légèrement la solution alcoolique de bonelline, on obtient une substance d'un noir intense.

Par l'action du perchlorure de fer, la bonelline donne des colorations irisées, bleu, violet, rouge, et un précipité rouge.

Par l'acétate d'urane, le précipité formé est vert.

Par les alcalis, la bonelline prend une teinte violacée.

De plus les dédoublements par l'essence de térébenthine n'influent pas semblablement sur le spectre. La couche d'essence à bonelline ne donne pas la bande nette 6, 9-8, 8 ; il n'y a qu'une bande bien nette entre 7,2 et 7,4 et pas d'autres bandes.

La Bonellie ne dégage pas d'oxygène à la lumière, comme l'a montré Geddes.

Donc pas d'identification possible entre la chlorophylle et la bonelline. Ce sont deux substances de nature et de composition différente, qui offrent une certaine analogie quant à l'absorption des radiations.

Voici un exemple d'un pigment vert formé par l'animal et qui a, de plus, la particularité de présenter un pouvoir absorbant de même ordre que celui des végétaux verts.

M. le professeur R. Dubois a indiqué une nouvelle différence entre la chlorophylle et la bonelline : la solution de chlorophylle est simplement dichroïque, celle de bonelline est fluorescente.

On sait que le pigment vert de la Bonellie est localisé dans des sortes de papilles qui font saillie sur la peau et qui sont disposées à des intervalles réguliers. Sous l'action d'une forte lumière, l'animal rejette le pigment en un nuage vert protecteur.

Une Annelide, *Eulalia clavigera*, qui vit comme la Bonellie, caché dans les *mattes*, et qui rejette à la lumière une substance jaune fluorescente, a les parapodes colorés en vert d'herbe ; sur des coupes, j'ai constaté que ce pigment est réparti sous forme de grains verts, irréguliers et très serrés ; de plus le pigment est soluble en vert jaunâtre dans l'alcool et les dissolvants de la chlorophylle, mais l'étude spectrale m'a montré qu'il ne présente pas les bandes caractéristiques de cette substance. J'ai caractérisé dans la partie la plus interne des cellules intestinales de cet Annelide, des corpuscules métachromatiques.

CHAPITRE V

CHLOROPHYLLE DES ENDOCHLOROPHYLLIENS

PHOLAS DACTYLUS

Comme l'a le premier signalé, en 1892, le professeur R. Dubois (*Ann. Univ. de Lyon*, t. II), il existe à la surface de la *tige cristalline* de *Pholas dactylus* des Algues unicellulaires, les unes vertes, les autres violettes, présentant le même aspect que les Zoochlorelles décrites par Brandt chez les animaux chlorophylliens. La *tige cristalline* contenue, comme on sait, dans un cæcum stomacal et dont le rôle est resté longtemps ignoré, serait le lieu d'accumulation de certaines Algues ingérées, qui, à la faveur de la substance semigélatineuse de cette tige, pourraient s'y conserver jusqu'à ce que l'animal les consomme, en cas de disette d'autres nourritures. On constate, en effet, dans les Pholades, placées pendant plusieurs semaines dans l'eau pure, que les Algues de la tige cristalline forment un long boyau, qui arrive peu à peu dans le tube digestif et qu'à côté d'Algues unicellulaires vertes, il en est de décolorées et d'autres qui sont brunies et homologues des corps bruns des Zoochlorelles digérées.

HELIX POMATIA

Description des inclusions chlorophylliennes des cellules hépatiques. — Les cellules hépatiques des Mollusques ont été l'objet de nombreuses études parmi lesquelles il faut citer celles de Frenzel, *Mikrographie der Mitteldarmdrüse der Molluschen;* de Biedermann et Moritz, *Physiologie der Verdauung;* de Cuénot, *l'Excrétion des Mollusques;* de Dastre, *Chlorophylle du foie des Mollusques;* de Enriquez, *Il fegato dei Molluschi*, et de Bottazi, *Fisiologia della digestione*,

Biedermann et Moritz ont figuré sur des coupes de lobules hépatiques d'*Helix hortensis*, trois sortes de cellules caractéristiques. Ce sont : 1° de grandes cellules secrétrices remplies d'un liquide incolore et contenant des masses opaques brunes ou brun verdâtre ; ces cellules sont appelées Fermentzellen ou *Secretzellen ;* 2° d'autres grandes cellules avec gros noyau, les *Kalkzellen* renfermant un grand nombre de corps arrondis *incolores* réfringents, d'un aspect brillant et qu'on a pris soit pour des gouttes d'huile soit pour des masses calcaires (phosphate de chaux), d'après Barfuth ; mais ces corps ne présentent aucune coloration par l'acide osmique, à la différence des huiles, et ne donnent pas d'effervescence par les acides ; 3° des cellulles allongées en forme de massues et remplies de fines granulations vertes ou jaune verdâtre. Ces cellules sont appelées *Körnerzellen* ou Leberzellen. D'ailleurs ces différentes cellules sont très inégalement réparties dans les ascinus hépatiques.

Le Dr Enriquez a étudié spécialement les Leberzellen ou *Körnerzellen* du foie d'*Aplysia limacina* et *Aplysia depilans* et il a cherché à interpréter la nature des granules verts ou vert jaunâtre dont ces cellules sont remplies. Les ayant comparés aux particules alimentaires d'*Ulva lactuca*, amassées dans le tube digestif, il a pu conclure « que les inclusions des Körnerzellen sont les produits de la digestion gastrique des Algues mangées ».

Il y retrouve, en effet, précisément les trois formes de produits chlorophylliens qu'il a distinguées dans le tube digestif et sur lesquelles je me suis étendu dans le chapitre de la chlorophylle digestive, savoir : des amas de chlorophylle précipitée, des chloroplastes libres, verts ou décolorés, et des grains bruns.

En outre, il remarque qu'il y a coïncidence : c'est quand le contenu digestif est très chargé en chloroplastes verts libres, que les Körnerzellen sont également très remplis de chloroplastes verts libres ; et c'est quand ce contenu digestif est chargé de grains bruns qu'également les Körnerzellen sont riches en grains bruns. En général, il y a plus de Körnerzellen à grains uniquement bruns que de Körnerzellen à grains uniquement verts.

Peu après le repas, on trouve toujours dans le canal digestif de nombreux chloroplastes verts libres, qui sont ensuite remplacés par des grains bruns. Mais ce n'est pas que les uns se transforment en les autres, car les grains bruns sont une transformation des cel-

lules entières ou de gros morceaux de celles-ci et par conséquent ne peuvent provenir de chloroplastes verts déjà libres.

Quant aux Kalkzellen, Enriquez insiste sur l'inexactitude de leur dénomination, étant donné que les corps arrondis qui les remplissent n'ont pas les caractères de concrétions calcaires; il préfère appeler ces Kalkzellen, cellules *vésiculeuses*.

Les Fermentzellen ou Secretzellen sont remplis d'un liquide incolore au milieu duquel se trouvent des masses vertes brun verdâtre ou jaune verdâtre et dont l'origine est encore obscure. S'agit-il d'une transformation spéciale des produits chlorophylliens absorbés ou est-ce une sécrétion propre au foie? Quoi qu'il en soit, les corps des Secretzellen ressemblent à des masses chlorophylliennes et on y remarque même des pseudo-divisions en deux et même en quatre (forme radiée).

J'ai retrouvé les diverses formes que je viens de passer en revue sur des coupes de lobules hépatiques d'*Helix pomatia*. Les Leberzellen ou Körnerzellen se présentent sous forme de cellules allongées, souvent en forme de massue, à protoplasma granuleux renfermant une infinité de corpuscules jaune vert. Le noyau de la cellule est à la base; les corpuscules verts sont plus particulièrement abondants dans les deux tiers de la cellule; le tiers terminé en massue renferme surtout des corpuscules incolores.

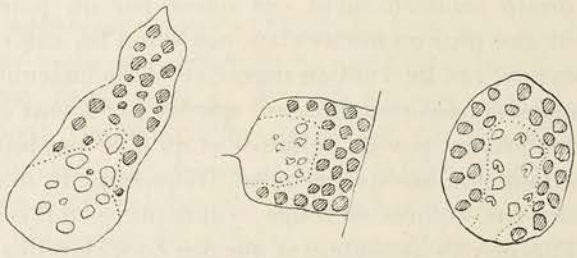
Les Kalkzellen apparaissent avec leurs masses arrondies caractéristiques. Par l'hémalun ou le bleu polychrome, elles sont colorables et présentent une certaine métachromasie. Ces masses sont d'ailleurs solubles dans l'eau et incolorables par l'acide osmique. Ces caractères les rapprochent des granulations métachromatiques des Zoochlorelles, ainsi que de celles que j'ai rencontrées dans les cellules intestinales d'*Eulalia clavigera*. Il est remarquable de constater la présence de granulations analogues dans les divers cas de la décomposition ou digestion de la chlorophylle, et ce fait est d'autant plus significatif qu'il existe dans un grand nombre de graines des corpuscules (globoïdes) qui ont la propriété métachromatique comme je l'ai remarqué avec M. Guilliermond dès 1902.

Enfin, les Secretzellen renferment au milieu d'un espace cellulaire vide occupé par un liquide sur le vivant, des masses vertes ou brun verdâtre, qui ressemblent en effet à des drops de sécrétion; mais leur analogie avec les masses chlorophylliennes est si grande

En cas d'alimentation verte abondante, les corps verts prédominent et existent souvent seuls.

qu'on peut les regarder comme résultant d'un remaniement des particules chlorophylliennes arrivées au foie, soit que ces particules aient subi une première dissolution suivie d'une précipitation en une seule masse, soit qu'il s'agisse là d'une saponification de la chlorophylle sous forme de chlorophyllates.

Analogies entre les inclusions hépatiques et les Zoochlorelles. — Ces diverses inclusions chlorophylliennes dans les cellules hépatiques des Mollusques m'ont paru présenter des analogies assez profondes avec les Zoochlorelles et dérivés qui constituent effectivement les inclusions chlorophylliennes des Infusoires et de l'Hydre verte.



Soit une coupe *schématique* du corps de *Paramœcium bursaria*, d'une cellule endodermique d'*Hydra viridis* et d'une cellule hépatique (Körnerzellen) d'*Helix* figurées seulement quant aux inclusions chlorophylliennes.

Je remarque que ces trois cellules sont analogues au point de vue de la nature des inclusions chlorophylliennes, de leur répartition ou des zones d'activité cellulaire, de l'action digestive.

1° Au point de vue de la nature des inclusions, nous observons dans chacune de ces cellules :

Des corps verts, uniformément arrondis et chlorophylliens ;

Des corps incolores qui sont des corps verts décolorés ;

Des corps bruns plus ou moins irréguliers, qui sont des résidus de corps verts digérés.

Ces éléments n'existent pas toujours simultanément dans les cellules; suivant les conditions d'alimentation, les uns ou les autres prédominent; mais ici encore l'analogie subsiste dans chacune des trois cellules comparées.

En cas de disette ou d'alimentation verte, rare, les corps incolores ou les corps bruns prédominent et existent parfois seuls.

En cas normal, il y a une forte quantité de corps verts, presque constamment un certain nombre de corps bruns et assez souvent quelques corps incolores.

2° Au point de vue de la répartition des inclusions, chacune des trois cellules comparées présente deux zones : l'une comprenant les portions basilaires et latérales de la cellule, où sont spécialement accumulés et localisés les corps verts; l'autre, comprenant les portions centrales et antérieures, où le mouvement protoplasmique est plus actif et où les corps verts entraînés sont digérés et transformés en corps incolores ou en corps bruns principalement, car la simple décoloration se produit parfois aussi dans la première zone. (J'ai limité arbitrairement ces zones par un pointillé, mais elles peuvent être plus ou moins étendues selon les cas.)

3° Au point de vue de l'action digestive, dans chacune des trois cellules comparées nous remarquons : que les inclusions chlorophylliennes ne renferment pas de cellulose et qu'il se produit dans leur masse un certain nombre de granules, fréquemment incolores, et, dans plusieurs cas, colorés en rouge; j'ai capturé en février notamment deux Paramécies ne contenant que des Zoochlorelles décolorées dont chacune portait un ou deux granules rouges; le fait est plus fréquent dans les inclusions hépatiques.

A côté de ces analogies, notons les principales différences.

Les Zoochlorelles renferment un noyau, quelquefois plusieurs, et un pyrénoïde ; les corps verts hépatiques en sont normalement dépourvus ; cela montre que l'action de la diastase protéolytique, qui existe dans la cellule hépatique des Mollusques, est plus énergique ou plus prolongée que celle du protoplasme des animaux inférieurs, puisqu'elle parvient à dissoudre les éléments chromatiques des cellules végétales ingérées, en entraînant par conséquent leur mort; tandis que les Zoochlorelles gardent au contraire une certaine vitalité à cause de la persistance de ces éléments.

Les Zoochlorelles renferment des corpuscules métachromatiques; je n'en ai pas trouvé dans les inclusions hépathiques ; mais par contre, j'ai constaté que les sphérules contenues dans les Kalkzellen présentent la métachromasie comme je l'ai dit plus haut.

Quant aux plans de division qu'on remarque dans certaines Zoo-

chlorelles, on n'en voit pas d'analogues dans les corps verts des Körnerzellen ; toutefois les masses vertes, qu'on observe dans les Secretzellen (fig. 17), et que l'on considère comme des gouttes de sécrétion présentent quelquefois une disposition radiée qui simule une division.

Sans doute, si l'on ne distinguait pas un noyau et un protoplasme hyalin dans les Zoochlorelles, on serait tenté de les considérer comme des produits de sécrétion formés par l'Infusoire, à la suite d'une alimentation chlorophyllienne.

Il n'en reste pas moins vrai, qu'il existe entre les inclusions chlorophylliennes du foie des Mollusques et les Zoochlorelles des animaux inférieurs plusieurs analogies qui peuvent éclairer sur la signification physiologique de ces Zoochlorelles.

Examen spectroscopique.— D'ailleurs l'examen spectroscopique de la liqueur verte provenant de la macération des tissus hépatiques d'*Helix*, dans l'alcool, va nous fournir un autre point de rapprochement. Dastre et Floresco en ont fait une étude détaillée; en faisant digérer 10 grammes de tissus hépatiques dans 50 centimètres cubes d'une solution de papaïne à 1 °/₀ à l'étuve à 37 degrés ces auteurs obtiennent un liquide neutre coloré en jaune rouge et renfermant les peptones, sucres et tout le fer, et un dépôt, soluble dans le chloroforme; le premier est appelé *pigment aqueux* ou hémochromogène, et le second, *pigment chloroformique* ou choléchrome. Le pigment aqueux, riche en fer, présente au spectroscope, dans le vert, deux bandes disparaissant par les acides énergiques et se renforçant par le sulfhydrate d'ammoniaque ; ce pigment n'a donc rien de chlorophyllien, et les auteurs y voient le noyau fondamental de l'hémoglobine, qui cependant n'existe pas dans le sang des *Helix*. Quant au pigment chloroformique, qui est le même que dans *Ostrea*, *Mytilus*, *Pecten* et *Octopus*, il présente quatre bandes spectrales : la première dans le rouge, vers B, très noire ; la deuxième, faible, dans l'orangé, avant D; les deux autres entre D et F, dans le vert. C'est donc un spectre chlorophyllien. Ceci ne peut surprendre car chez les Mollusques les canaux biliaires sont des sortes de diverticules de l'intestin. Cependant ce spectre, par sa quatrième bande dans le vert, se rapproche de celui de la chlorophylle *altérée*; nous savons que cette bande à peine sensible dans la chloro-

phylle fraîche, s'accentue quand elle a subi l'action des acides ou des sucs digestifs.— De plus, quand on observe la liqueur verte tirée du foie de l'*Helix*, sans séparation du pigment aqueux, on voit dans la portion la plus réfrangible du spectre une extinction plus étendue qu'avec la chlorophylle végétale ; ce qui est l'indice d'un lipochrome absorbant provenant de l'animal.

Si on dédouble la liqueur verte par la benzine ou la térébenthine, la bande spectrale du rouge reste aussi accusée dans la couche alcoolique ; ce qui est un premier rapprochement avec la chlorophylle des Zoochlorelles de l'Hydre ; de plus, si on ajoute une goutte d'acide nitrique, la liqueur jaunit, mais on voit se former des globules oléiformes variant du brun au rouge et surnageant sur la liqueur ; ce caractère a lieu semblablement avec la chlorophylle des Zoochlorelles de l'Hydre, tandis qu'il ne se produit pas avec une solution de chlorophylle extraite directement des végétaux.

Ceci contribue donc à montrer qu'il existe une altération de même ordre dans la chlorophylle du foie des *Helix* et dans celle des Zoochlorelles de l'Hydre, et c'est un indice de l'action des sucs digestifs de l'animal sur cette substance.

Avec le tissu hépatique d'*Ostrea edulis*, les caractères sont les mêmes qu'avec les *Helix*, mais le spectre est surtout caractéristique par la bande du rouge ; on voit également, par l'action des sels ferriques, que la chlorophylle, ingérée et entrainée jusqu'au foie, a été accompagnée par les composés tanoïdes, qui sont en rapport avec elle dans les végétaux.

Dans *Ostrea edulis*, variété verte de Marennes, j'ai cherché si le foie contenant de la chlorophylle, le pigment pourrait en dériver. Sur des coupes, le pigment vert n'est pas uniquement localisé aux extrémités des papilles branchiales, mais il existe en grande abondance aux extrémités des papilles labiales et quelquefois à la partie inférieure du tube digestif ; j'ai observé que certains granules pigmentaires gagnent le tissu sous-jacent ; il paraît donc y avoir contamination.

Quant à ce pigment vert, plusieurs auteurs l'attribuent à une Diatomée, *Navicula ostrearia* (Lankester, Sauvageau), d'autres à un composé cuivrique, d'autres (Carrazi) à une substance organique spéciale, produite par l'animal, la marrénine. Je l'ai constamment vu se présenter sous forme de granules microscopiques extrêmement

fins, d'un vert bleuté, ne se décolorant ni par l'alcool, ni par le xylol, résistant aux acides concentrés et à un grand nombre de réactifs, ne jaunissant pas à la lumière.

Ces caractères paraissent fort différents de ceux de la chlorophylle ; et s'il est apporté par une Diatomée il ne me paraît pas provenir de la chlorophylle de cette Algue, mais plutôt d'un autre principe pigmentaire qui y est mélangé. J'ai cherché à comparer le pigment vert d'*Ostrea edulis* à celui de certains champignons, tels que *Peziza leporina ;* là en effet, le pigment, d'un brun verdâtre, se présente semblablement, sous forme de fins granules localisés aux extrémités des paraphyses ; ils sont également insolubles et non décolorables dans l'alcool, le xylol, et divers réactifs ; comme le pigment de l'huître dans les papilles branchiales, le pigment de ce champignon est localisé à l'extrémité des paraphyses, qui sont considérées comme ayant un rôle dans la respiration ; je n'ai pas poussé plus loin cette étude comparée du pigment vert de l'*Ostrea*, puisque je n'ai pu lui reconnaître les caractères de la chlorophylle, et que, par suite, il n'intéresse pas directement mon sujet, mais il a certainement plus de rapport avec ceux formés par les Thallophytes non exclusivement chlorophylliens qu'avec la chlorophylle ou ses dérivés.

Conclusions. — Pour ce qui concerne la chlorophylle des Endochlorophylliens, nous concluerons donc que les modifications des inclusions vertes des cellules du foie des Mollusques, et les caractères du spectre de ce pigment vert permettent de le considérer comme de la chlorophylle végétale, provenant de l'alimentation, et un peu altérée par les sucs digestifs ; et qu'entre les corps chlorophylliens foie des Mollusques et les Zoochlorelles, il existe plusieurs analogies tant au point de vue morphologique que physiologique qui nous confirment sur la signification de ces Zoochlorelles.

CHAPITRE VI

CHLOROPHYLLE DES EXOCHLOROPHYLLIENS

PARAPLEURUS ALIACEUS

Cet animal est un Orthoptère acridien, commun dans les prés ombragés, à l'automne, et remarquable par la coloration vert d'herbe des parties thoraciques de l'abdomen, des pattes et de la partie sous-costale des élytres.

Examen microchimique. — J'ai remarqué dans l'élytre que le dépôt *vert* se fait le long des nervures *secondaires* qui sont *très rapprochées*, et finit par couvrir l'espace qui les sépare. Ce dépôt vert se présente sous forme de *granulations*, qui ne se teignent pas par l'iode et se dissolvent dans l'acide nitrique en même temps qu'il se produit de grosses bulles gazeuses. Ces granulations remplissent *complètement* des cellules à contour polygonal, qui se teint en brun par l'iode.

Les nervures principales sont également entourées de cellules de ce genre, mais leur contenu est formé de granulations *brunes*.

J'ai observé de plus dans ces diverses cellules pigmentaires la présence de corps colorés en rouge, et de contour anguleux très irrégulier; ils ne s'éteignent pas sous la lumière polarisée; ils sont insolubles dans l'eau, l'alcool et la potasse. Ces corps existent à l'état de traînées.

Le dépôt vert granuleux ainsi que le dépôt brun sont solubles dans l'acide azotique avec dégagement gazeux, dans l'acide acétique, dans l'eau de Javel, dans la potasse concentrée; avec ce réactif, on obtient la dissolution complète de ces corps, mais avec production de nombreuses gouttelettes oléiformes. Par contre, ils paraissent insolubles dans l'oxyammoniure de cuivre, dans la potasse 4 pour 100 et dans l'acide sulfurique. Les nervures sont

préservées par une enveloppe chitineuse qui se colore en rouge par l'acide nitrique.

Les coupes sont difficiles avec ces téguments ; le mieux est d'en fixer de petits morceaux par l'acide picrosulfurique concentré, puis de les laisser macérer pendant vingt-quatre heures, après lavage préalable, dans l'eau de Javel étendue de quatre volumes d'eau, qui ramollit la chitine sans la dissoudre. Toutefois, cette manipulation ne réussit pas toujours, parce que les granulations pigmentaires sont également solubles dans l'eau de Javel. Elles ne sont donc comparables ni à des leucites protoplasmiques, ni à des Algues et ne renferment aucun organite.

Les nervures sont entourées de cellules polygonales complètement remplies de ces granules. Au fur et à mesure qu'on s'éloigne des nervures, le pigment devient plus rare ; de plus, tandis que les granules sont *bruns* au voisinage des grosses nervures, ils sont *verts* au voisinage des nervures plus petites.

Examen spectrochimique. — J'ai fait macérer pendant plusieurs jours un certain nombre de *Parapleurus aliaceus* préalablement purifiés de toutes particules adhérentes, et après avoir écarté soigneusement des téguments le tube digestif et les divers organes viscéraux. Le liquide de macération des téguments est jaune verdâtre ; il se dédouble par la benzine en deux couches, l'inférieure jaune, la supérieure plus verte. J'ai observé au spectroscope qu'il donne également dans les deux couches la bande de Brewster, caractéristique de la *chlorophylle*, et que cette bande persiste sous l'action des acides, des bases et des réducteurs.

J'ai observé, de plus, que ce liquide donne un précipité noir avec les sels ferriques et non pas avec les sels ferreux, et qu'il précipite la plupart des sels métalliques. Il existe donc là un tannoïde. Cet élément paraît exister dans le sang de l'acridien en question ; ce sang, qui est d'un vert franc, se colore en bleu à une douce chaleur par l'addition d'une goutte de chlorure ferrique.

Les morphologistes ont depuis longtemps été frappés de la ressemblance de certains Orthoptères avec les feuilles (Phyllies, Phylloptères, etc.). La comparaison des pigments permet d'ajouter quelques analogies plus profondes : teinte jaune verdâtre du liquide de macération, *similaire de celui de certaines feuilles automnales ;*

mêmes dissolvants (alcool, éther, sulfure de carbone); dédoublement par la benzine; bande d'absorption de la chlorophylle ; présence d'un composé tannique.

J'ai comparé le pigment vert de *Parapleurus aliaceus* avec celui de *Locusta viridissima*. Le liquide de macération de ce dernier donne un spectre continu : la chlorophylle ne ne s'y rencontre pas, et, fait à remarquer, conjointement les caractères du tannoïde font défaut. Pour m'expliquer cette différence, j'ai étudié au spectroscope les excréments des deux Orthoptères en question, et j'ai constaté que, tandis que *Parapleurus aliaceus* présente de la chlorophylle de déjection, *Locusta* n'en a pas accusé la présence; le premier est herbivore, l'autre, plutôt carnassier.

J'ai obtenu des résultats de même ordre en comparant le pigment vert de deux insectes qui vivent sur le rosier : le puceron, et la larve de la mouche à scie. Tandis que les téguments de cette larve, qui est phytophage, renferment de la chlorophylle, reconnaissable à la bande de Brewster, j'obtiens un spectre continu avec les pucerons, qui se nourrissent seulement de la sève.

Pour savoir si la chlorophylle, qui existe incontestablement dans les téguments de certains Insectes verts (*Parapleurus*, larves, etc.), joue un rôle dans la coloration pigmentaire, j'ai comparé le liquide de macération de *Parapleurus* avec une solution de chlorophylle automnale. Les deux liquides se dédoublent semblablement par la benzine, mais leurs couches alcooliques présentent une différence de solubilité, celle du liquide végétal étant seule immédiatement soluble dans l'essence de térébenthine. De plus, en évaporant les deux liquides et en reprenant les résidus par l'acide acétique, j'ai constaté avec la macération animale, l'apparition de gouttelettes dont la teinte varie du vert olive au rouge, rien de semblable ne se produisant avec le résidu végétal. J'ai constaté également que *Locusta viridissima*, qui ne contient pas de chlorophylle dans les téguments, présente cependant les mêmes caractères pigmentaires (dédoublement benzique, production de gouttelettes, etc.).

Donc, sans absorber de matières chlorophylliennes, certains Insectes arrivent à fabriquer des pigments verts semblables à ceux d'Insectes qui en absorbent; la chlorophylle ne semble donc pas intervenir dans ce phénomène de coloration.

Il me paraît plus probable de faire dériver cette coloration verte

d'un ou de plusieurs principes colorés qui sont répandus dans le sang et les glandes génitales.

Les glandes génitales de *Parapleurus aliaceus* sont jaune verdâtre ; en les faisant macérer dans l'alcool, puis en dédoublant par la benzine la solution filtrée, j'ai obtenu une couche benzénique verte, qui ne présente pas la bande de Brewster. Traité par les réactifs, ce liquide vert m'a donné des caractères très analogues à ceux du sang vert, semblablement traité.

CHLOROPHYLLE DES CHENILLES ET COCONS D'ANTHERÆA YAMA-MAI.— COLORATION NATURELLE DES SOIES VERTES.

Les chenilles de quelques espèces de Bombyx du Japon, *Antheræa Yama-maï*, *Rhodia fugax*, ont la propriété de tisser des cocons verts, d'une teinte très analogue à celle des feuilles de chêne, dont elles se nourissent. Les naturalistes ont cherché à déterminer l'origine de cette coloration. Les uns ont pensé que la matière colorante verte de la soie est élaborée de toute pièce par l'organisme de la chenille ; d'autres soutiennent au contraire, avec Villon et Blanchard, qu'elle est apportée dans la chenille par les feuilles nourricières et qu'elle est dûe à une transfusion pure et simple de la chlorophylle végétale dans le sang et dans la glande séricigène de certains vers à soie ; d'après ce système, les chenilles à soie verte sont celles seulement dont les tissus ont un pouvoir osmotique particulier, qui se prête au passage, dans le sang, de la chlorophylle ingérée.

Cette question présente un grand intérêt physiologique, car elle se rattache à un problème plus général, celui de savoir si l'organisme animal est capable de fabriquer ses pigments ou s'ils lui sont simplement apportés par les aliments ou les infections.

Au point de vue qui nous occupe, deux méthodes expérimentales ont été mises à contribution. L'une, qui est la méthode physiologique, consiste à introduire dans l'organisme animal une matière colorante déterminée, et à observer si cette matière colorante arrive à teindre la soie dans la glande séricigène, sans troubler les fonctions vitales de la chenille.

L'autre méthode qu'on peut appeler spectrochimique, s'applique à extraire de la soie la matière pigmentaire verte et à comparer ses

caractères microscopiques, spectroscopiques et chimiques à ceux de la chlorophylle, extraite des feuilles nourricières par le même procédé.

Méthode physiologique. — M. R. Dubois[1] eut l'idée « d'imprégner les feuilles de mûrier servant à la nourriture des vers à soie avec des substances colorantes très diverses, dissoutes dans des véhicules appropriés ». Les substances colorantes employées furent la cochenille, l'alizarine, l'orseille, l'hématoxyline, la fuchsine, l'éosine, le violet de méthyle et le vert de méthyle. L'auteur se servit également des leucobases, susceptibles de donner naissance par oxydation à des matières colorantes. Je transcris littéralement les résultats de ses expériences : « Avec le violet de méthyle et l'orseille, nous avons obtenu sur le vivant une légère coloration bornée à l'extrémité antérieure du tube digestif, et chez les vers nourris avec les feuilles imprégnées de fuchsine, la coloration s'étendait à la majeure partie du tube digestif et jusqu'aux tubes de Malpighi. Ces résultats ne sont intéressants qu'en ce *qu'ils montrent que certains réactifs colorants peuvent pendant la vie imprégner les éléments anatomiques.* »

Récemment, MM. Levrat et Conte[2] ont repris le principe des expériences de M. R. Dubois en expérimentant avec de nouvelles matières colorantes, notamment le bleu de méthylène, l'acide picrique et le rouge neutre. Ils n'obtinrent pas de résultats nets avec les deux premières substances. Au contraire, les chenilles de Bombyx-Mori se nourrirent sans trop de répugnance, avec les feuilles imprégnées de rouge neutre ; leurs tissus ne tardèrent pas à prendre une teinte rosée et elles tissèrent des cocons rouges. Une espèce exotique, l'*Attacus orizaba*, qui file normalement une soie blanche, fut pliée au même régime et fila de la soie rouge. Ces auteurs conclurent donc à la possibilité de teindre la soie dans la glande sericigène. Toutefois, MM. Levrat et Conte reconnurent que la soie ainsi teinte, se décolore avec une grande facilité ; et, fait plus grave, les cocons rouges obtenus, ne donnèrent pas d'éclosions. Ces expériences prou-

[1] Sur les propriétés des principes colorants de la soie jaune et sur leurs analogies avec la carottine végétale (*Ann. du Laboratoire d'études de la soie*, Lyon, 1889-1890).

[2] *Ann. du Laboratoire d'études de la soie*, Lyon, 1901-1902, vol. XI, et *Comptes rendus Acad. Sc.*, 1902, p. 700.

vent que le rouge neutre a une action moins nocive que la plupart des autres matières colorantes sur l'organisme du ver à soie, puisque les fonctions vitales de la chenille peuvent y résister, jusqu'au moment de la chrysalidation.

D'ailleurs, on sait qu'il est possible de colorer le protoplasme et même le noyau de certains Infusoires et Rotifères sans que l'animalcule cesse de vivre et de se mouvoir. De bons résultats ont été obtenus avec des solutions très diluées de quinoléine, de bleu de méthylène, de brun Bismark, de noir d'aniline, de dahlia, de violet de gentiane, de *rouge neutre,* de rouge Congo et, en général, avec les solutions colorantes neutres ou très faiblement alcalines, les solutions même très légèrement acides étant rapidement toxiques. « Lorsqu'il se produit une coloration, dit Bolles Lee [1], on trouvera toujours, si la cellule est restée bien vivante, qu'il s'agit d'une simple imbibition; les parties colorées seront du pabulum cellulaire ou des produits kataboliques ou bien encore des parties de cellule, qui ont subi plus ou moins l'action toxique de la solution colorante, et se trouvent en état de vitalité amoindrie sinon éteinte. »

L'introduction des matières colorantes dans l'organisme animal a donc un effet toxique plus ou moins lent; on ne saurait donc rapprocher de ces matières colorantes la chlorophylle végétale, qui se comporte d'une manière toute différente dans l'organisme animal. J'ai indiqué dans le chapitre sur la chlorophylle du tube digestif des herbivores, que dans les Orthoptères et les chenilles de Lépidoptères, le liquide qui diffuse des matières chlorophylliennes ingérées est jaune verdâtre, et que l'élément vert de la chlorophylle se retrouve en majeure partie dans les excréments; ce sont principalement les éléments jaunes qui sont diffusibles.

Méthode spectrochimique. — M. Raphaël Dubois [2] a constaté que la matière colorante verte de la soie d'*Antheræa Yama-maï* est soluble dans l'eau, surtout quand on la porte à 120 degrés dans l'autoclave. La solution aqueuse d'un beau vert-pomme laisse déposer par évaporation des cristaux vert clair. Après plusieurs traitements successifs par l'eau même à 100 degrés, on arrive à

[1] *Anatomie microscopique*, Douin, Paris, 1896.

[2] *Loc. cit.* et Matières colorantes de la soie verte du *Saturnia Yama-maï* (*Ann. Laboratoire d'études de la soie*, 1889-1890).

décolorer presque complètement les cocons verts de *Yama-maï*, En traitant par l'alcool bouillant des cocons complètement épuisés de leur matière verte par l'eau, on obtient une solution bleu ardoisé qui laisse déposer par évaporation spontanée à l'air libre des cristaux mâclés bleu pâle, prenant parfois la forme de longues aiguilles prismatiques. Ainsi le pigment de la soie de *Yama-maï* est dédoublable en deux éléments cristallisables, l'un vert, soluble dans l'eau bouillante, l'autre bleu, soluble dans l'alcool à chaud. Ces caractères sont radicalement distincts de ceux de la chlorophylle végétale.

M. le professeur R. Dubois remarque en outre la présence sur les cocons de *Yama-maï* de petites Algues unicellulaires du genre *Protococcus ;* il se demande si ces Algues entrent dans la coloration de la soie, sans rien conclure à cet égard.

MM. Levrat et Conte ont examiné au spectroscope les solutions vertes obtenues en faisant macérer la soie de *Yama-maï* ou de *Rhodia fugax* pendant quelques minutes dans l'acide chlorhydrique concentré et froid, ou en épuisant par l'alcool bouillant cette même soie, traitée préalablement à l'ébullition par l'eau légèrement acidulée. Ils constatent la présence de la bande d'absorption caractéristique des solutions alcooliques de chlorophylle végétale « et, malgré le brunissement qui se fait peu à peu au contact de l'air, cette bande est encore visible un mois après l'extraction ». Ces auteurs figurent sur la même planche le spectre de la chlorophylle des feuilles de chêne, celui du pigment vert de la soie de *Yama-maï* et ceux du sang vert de *Yama-maï* et de *Rhodia fugax*, la concentration des solutions étant la même. En comparant ces spectres, il est facile de remarquer que la bande d'absorption du rouge, qui existe dans tous, n'est pas exactement superposable si l'on fait coïncider les spectres ; ainsi la bande d'absorption du sang de *Yama-maï* finit près de quatre divisions avant celle de la chlorophylle des feuilles ; de plus, en dehors de la bande d'absorption du rouge, le spectre de la chlorophylle des feuilles présente plusieurs autres bandes d'absorption qui manquent absolument dans les autres spectres ; ces différences ne devraient pas exister si les solutions vertes comparées étaient identiques, à concentration égale. Toutefois, les auteurs précités ont conclu « que les matières colorantes naturelles jaunes et vertes des soies sont *identiques* l'une à la xanthophylle, l'autre à la chlorophylle, et que les chenilles les retirent

des feuilles dont elles se nourrissent. Les pigments colorés traversent par osmose les tissus de l'animal et pénètrent jusqu'à la soie par l'intermédiaire du sang. Le pouvoir osmotique des tissus varie avec la race et en est un caractère.

Distinction de la chloroyama-maïne et de la chlorophylle végétale. — Reprenant les expériences de M. R. Dubois, j'ai comparé les propriétés de la matière verte de la soie de *Yama-Maï* à celles de la matière verte des feuilles de chêne.

PIGMENT VERT ANIMAL OU CHLOROYAMA-MAÏNE	CHLOROPHYLLE VÉGÉTALE
Eau bouillante : solution verte.	Insolubilité.
Alcool à froid : solubilité très faible.	Solution vert jaunâtre.
Alcool bouillant : solution vert bleuté	— —
Ether : très peu soluble.	Très soluble.
Dédoublement benzique : la benzine dissout une matière jaune, le liquide alcoolique reste d'un vert *plus bleu*.	A lieu, couche benzique est la plus verte.
Cristallisation : cristaux d'un bleu légèrement verdâtre.	N'a pas lieu dans ces conditions.
Acide chlorhydrique et éther : rien	Couche bleue de *cyanophylle*.
Acides étendus à l'ébullition : solution verte avec dépôt vert.	Solution jaune avec dépôt jaune.
Potasse alcoolique à l'ébullition : solution jaune.	Solution verte de *chlorophyllate*.

Etant donné, comme je l'ai montré dans la première partie, que les caractères de la cyanophylle et du chlorophyllate se présentent avec toutes les liqueurs résultant de modifications et altérations de la chlorophylle végétale, on peut conclure, de l'absence de ces caractères dans le pigment animal en question, qu'il ne dérive pas de cette chlorophylle ni d'une de ses modifications.

Cette conclusion se trouve confirmée par l'examen comparatif des spectres :

PIGMENT VERT ANIMAL	PIGMENT VERT VÉGÉTAL
Solution dans l'alcool à l'ébullition.	
Extinction dans le rouge jusqu'à 6.	Extinction jusqu'à 6.
Bande d'absorption dans le rouge de 6,5 à 7.	Bande d'absorption dans le rouge de 6 à 7.
Par addition d'une goutte de potasse ou ammoniaque, la bande disparaît.	Par addition d'une goutte de potasse ou d'ammoniaque, la bande persiste.
De même par addition de sulfhydrate d'ammoniaque.	De même par addition de sulfhydrate d'ammoniaque.

PIGMENT VERT ANIMAL	PIGMENT VERT VÉGÉTAL
Solution dans l'eau acidulée à l'ébullition.	
Extinction jusqu'à 7 dans le rouge. Pas de bande d'absorption. Obscurcissement faible de tout le spectre.	Extinction dans le rouge jusqu'à 6. Bande d'absorption entre 6,6 et 7. Obscurcissement du spectre à partir de 14.
Solution dans l'alcool après traitement à l'eau acidulée.	
Extinction jusqu'à 6. Bande d'absorption dans le rouge de 6,5 à 7. Bande disparaît avec quelques gouttes de potasse. Pas d'autres bandes.	Extinction jusqu'à 6. Bande d'absorption dans le rouge de 6,6 à 7,4. Autre bande de 9 à 9,8; deux autres bandes dans le vert (11 à 11,6 et 13 à 13,9). Extinction à partir de 16,6; bande persistant sous l'action de potasse.
Solution alcaline.	
Couleur jaune; aucune bande d'absorption.	Couleur verte; bande d'absorption caractéristique.

Ainsi, malgré la présence dans les deux spectres, d'une bande d'absorption dans le rouge, on peut conclure qu'ils ne sont pas identifiables.

Or, j'ai montré que l'épreuve chimique de la bande de Brewster caractérise non seulement la chlorophylle des feuilles vertes, mais ses modifications et altérations. Le pigment vert animal en question ne dérive donc pas de la chlorophylle végétale et, à plus forte raison, ne lui est pas identique.

Pigment vert des chenilles à la sortie de l'œuf. — Là, comme comme dans le cas du *Parapleurus*, il faut chercher dans les glandes de l'animal, l'origine de sa coloration pigmentaire.

J'ai élevé à cette intention des *Anthærea Yama-Maï* et des *Rhodia fugax*. Les œufs me sont arrivés directement de Yokohama le 26 mars, grâce à l'obligeance de M. le professeur de sériciculture que je tiens à remercier particulièrement ici. — Je les ai soumis au froid pour retarder leur éclosion jusqu'au développement des premiers bourgeons. — Le 15 avril, beaucoup de chenilles étaient sorties de l'œuf. J'en ai recueilli un certain nombre, avant qu'elles *aient été mises en contact avec aucun élément chlorophyllien*. J'ai constaté que ces jeunes chenilles ont déjà le tégument *jaune verdâtre*, masqué plus

ou moins par une abondante fourrure de poils ; et que, *dès leur sortie de l'œuf*, elles renferment un pigment *vert*. — Ayant examiné l'enveloppe des œufs, j'ai vu qu'elle ne renferme pas trace de chlorophylle au spectroscope. Les chenilles n'ont donc pas pu se pigmenter par contamination. Il faut en conclure qu'elles ont fabriqué ce pigment, sans le concours d'aucune alimentation végétale.— D'ailleurs, j'ai remarqué que le liquide jaune vert, provenant de la macération alcoolique des téguments seuls des jeunes chenilles à leur sortie de l'œuf, ne présente pas la bande caractéristique de la chlorophylle. Ce n'est que plus tard, lorsque les chenilles se sont nourries de feuilles, que cette bande apparaît dans leurs téguments. Les chênes débourrant tardivement, j'ai employé avec succès, pour nourrir mes chenilles, les bourgeons, puis les feuilles de cerisier. Les croissances et les mûes s'effectuèrent normalement. Au moment de la formation du cocon, j'ai vu que les fils, au sortir de la bouche de la chenille, sont à peine colorés ; même les ébauches des cocons sont d'un vert très pâle ; ce n'est que lorsque le cocon est achevé, qu'il se fonce en certains points ; ce changement de coloration est précédé d'un stade pendant lequel le cocon est fortement imprégné de liquide. D'après Dewitz, ce liquide provient du contenu des tubes de Malpighi, et la coloration verte s'accuse principalement sous l'action de ce liquide et d'une diastase secrétée par les parties buccales de la chenille.

Quant au pigment jaune vert des téguments de la chenille, il existe dans la chenille avant toute absorption de nourriture végétale et ne dépend pas, par conséquent, de la chlorophylle ; mais, au moment où la chenille se nourrit abondamment de feuilles, une partie des éléments jaunis de la chlorophylle, est entraînée dans l'organisme et arrive jusque dans les téguments, comme dans le cas du *Parapleurus*.

Récemment, M. Claude Gautier, ayant obtenu, par des macérations énergiques et prolongées, la solution, dans l'alcool à froid, du pigment vert de la soie de *Yama-Maï*, a prétendu, dans un article à la Société de biologie, que j'avais donné à tort l'insolubilité de ce pigment dans l'alcool à froid, comme un caractère le différenciant de la chlorophylle. — Je ne voulais parler que de l'action *immédiate* du solvant, et, ainsi précisé, mon dire reste exact. Ayant examiné au spectroscope, avant M. Gautier, des solutions de

chloroyamamaïne dans l'alcool, je sais que ce pigment y est soluble, puisqu'il ne s'y précipite pas par refroidissement; mais la chlorophylle étant dans le même cas, je ne pouvais pas indiquer ce caractère comme différentiel. D'ailleurs, la question des caractères différentiels de la *chloroyamamaïne*, ou pigment de la soie verte, et de la chlorophylle, a donné lieu à cinq notes de M. Cl Gautier, réfutées par quatre notes de M. le professeur Dubois, dans le bulletin de la Société de Biologie, de novembre 1906 à mars 1907 ; M. Cl. Gautier soutient : 1° que ces pigments sont tous deux solubles dans l'alcool à froid — le pigment de la soie exigeant, préalablement, une macération prolongée, pour être dégagé de son support protéique; 2° que le pigment de la soie ne cristallise pas, les cristaux verts obtenus par M. Dubois étant attribuables aux *urates* et oxalates dont Verson a montré l'existence sur le fil de soie. — M. Dubois répond : 1° qu'il connaît depuis fort longtemps la solubilité de la chloroyamamaïne dans l'alcool à froid, puisqu'il s'est servi depuis fort longtemps de solutions alcooliques froides pour des examens spectroscopiques; 2° qu'il reste à M. Cl. Gautier à démontrer que les cristaux verts observés et dessinés par M. Dubois et d'autres, et isolés par refroisissement des solutions aqueuses de chloroyamamaïne, sont des urates et des sels de potasse ; 3° que M. Cl. Gautier n'a pu identifier ni les caractères spectraux, ni les autres caractères physico-chimiques de la chloroyamamaïne avec ceux de la chlorophylle des feuilles de chêne. — Ces caractères, que j'ai mentionnés plus haut, et notamment la stabilité ou résistance aux réactifs de la bande de Brewster constituent, en effet, des différences essentielles, qui infirment la théorie de MM. Levrat et Conte et renversent toutes les critiques de M. Cl. Gautier.

Conclusions. — Mes recherches sur la chlorophylle des téguments des Insectes m'amènent à conclure qu'en général elle provient de la chlorophylle des aliments, jaunie, altérée par les sucs digestifs, entraînée en faible quantité par l'hémolymphe jusque dans les téguments, en effet l'observation montre : 1° que le liquide qui diffuse des matières chlorophylliennes du tube digestif d'Orthoptères, de chenilles, etc., renferme principalement les éléments jaunis de la chlorophylle; 2° que, si l'on dédouble par la benzine les liqueurs

vertes de téguments, il arrive souvent que la bande de Brewster est autant ou même plus accusée dans la couche alcoolique; ce caractère n'existe pas avec la chlorophylle verte; il distingue, au contraire la chlorophylle jaunie ou automnale et montre que la chlorophylle entraînée dans les téguments n'est plus verte, et que leur teinte verte doit, par suite, son origine à l'intervention d'un autre principe; 3° que dans les liqueurs vertes de téguments, chlorophylliennes ou non, il existe au moins un élément chromogène, d'origine animale, reconnaissable à sa lente solubilité dans l'essence de térébenthine, et à la formation de gouttelettes colorées par l'action des acides azotique ou acétique concentrés; 4° que dans le cas particulier de la soie verte du *Yama-Maï*, la coloration verte est due à un pigment spécial, la *chloroyamamaïne* du professeur Raphaël Dubois.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS

Dans une première partie, j'ai présenté une vue d'ensemble :

I. Sur la distribution de la chlorophylle chez les végétaux et les animaux, montrant que cette substance est moins répandue qu'elle ne paraît l'être dans l'organisme végétal, tandis que c'est l'inverse dans l'organisme animal ;

II Sur la constitution et les fonctions de la chlorophylle, distinguant trois époques dans l'histoire des progrès dus aux travaux multipliés sur la chlorophylle végétale, et classant en cinq groupes les animaux chlorophylliens, suivant les caractères de la chlorophylle qu'ils renferment :

a) Phytophages ou Herbivores, à chlorophylle renfermée dans le tube digestif;

b) Chromatophorés, à chlorophylle renfermée dans les chromatophores ;

c) Chlorellophorés, à chlorophylle renfermée dans les Zoochlorelles ;

d) Endochlorophylliens, à chlorophylle renfermée dans les tissus profonds ;

e) Exochlorophylliens, à chlorophylle renfermée dans les tissus superficiels ;

Dans une deuxième partie relative à mes recherches personnelles,

I. J'ai exposé mes méthodes :

a) Méthode histologique. — J'ai appliqué à l'histologie des corps chlorophylliens des animaux, la technique et les colorants des éléments histologiques des levures; j'ai comparé des coupes faites sur des animaux (Hydres) capturés non pas à un seul moment, mais tout le long du cours de l'année.

b) Méthode spectroscopique. — J'ai distingué la chlorophylle *altérée*, par les caractères comparés du spectre des deux couches de la liqueur alcoolique chlorophyllienne, après dédoublement benzénique, etc. ;

Méthode physiologique. — J'ai excité par divers réactifs le protoplasme de la cellule chlorophyllienne pour rendre plus sensible l'action qu'il exerce sur les corps verts ;

II° J'ai indiqué mes expériences sur chaque groupe d'animaux chlorophylliens donnant à la fin de chaque chapitre les conclusions qui s'y rapportent ; je ne ferai qu'en rappeler le sens :

a) *Herbivores.* — En général, altération, jaunissement d'une partie de la chlorophylle ingérée par les sucs digestifs ; les éléments jaunes ou jaunis sont diffusibles ou assimilables ; les éléments verts se concentrent dans les excréments.

b) *Chromatophorés.* — Action favorable des eaux riches en particules chlorophylliennes d'Algues désorganisées, sur la multiplication et le verdissement de Flagellés verts.

c) *Chlorellophorés.* — Les Zoochlorelles ont la constitution algaire — avec chromatophore, pyrénoïde, grains amylacés, protoplasme hyalin, muni de corpuscules métachromatiques et d'un noyau très analogues à ceux des Levures ; — ce sont des Algues *alimentaires*, unicellulaires ou dissociées — plus ou moins complètement modifiées, *remaniées*, *chlorellisées* par l'animal et de vitalité plus ou moins atteinte — mises en réserve dans une partie des tissus, avant d'être digérées, et donnant ainsi à l'animal l'aspect mimétique d'une Algue. La nature *alimentaire* et *non symbiotique* ou *parasitaire* des Zoochlorelles est fondée notamment :

1° Sur l'existence dans l'animal de Zoochlorelles progressivement modifiées, Zoochlorelles décolorées, corps bruns ; sur l'expulsion de ces corps bruns ; sur la très faible proportion des Zoochlorelles se divisant ; sur l'ébauche de divisions inachevées et sur la réduction et disparition des corpuscules métachromatiques dans plusieurs Zoochlorelles ;

2° Sur la facilité de faire consommer ses Zoochlorelles par l'animal, placé dans des conditions défavorables (hivernage, séjour à l'obscurité) et sur le fait que les Zoochlorelles disparues ne se reforment pas, à la lumière, l'animal étant dans l'eau pure ;

3° Sur le rejet par l'Hydre, en dehors des Zoochlorelles consommées, de l'excédent des Zoochlorelles ingérées, plus ou moins modifiées, correspondant au rejet des excréments végétaux non complètement digérés par les autres animaux ;

4° Sur la présence d'Algues vertes, autres que les Zoochlorelles, et de kystes chlorophylliens dans le protoplasme de *Paramœcium* et surtout dans les cellules endodermiques d'*Hydra ;*

5° Sur les phénomènes de remaniement, de fusionnement ou d'émiettement des Zoochlorelles sous l'action des mouvements et des vacuolisations des pseudo-amibes de *Paramœcium ;*

6° Sur les caractères spectrochimiques de la chlorophylle des Zoochlorelles, correspondant à ceux des matières chlorophylliennes modifiées par la digestion.

d) *Endochlorophylliens.* — Les corps verts des cellules hépatiques des Mollusques sont des matières chlorophylliennes ingérées, accumulées dans le foie et que l'animal consomme en cas de besoin (jeûne) ; ils présentent une série d'analogies avec les Zoochlorelles ; analogies de modifications digestives (corps incolores, corps bruns) ; de situation (corps verts dans la partie moins active de la cellule, corps bruns, dans la partie plus active) ; d'action digestive (dissolution de cellulose, production de granules) etc.

e) *Exochlorophylliens.* – La chlorophylle entraînée par le sang ou hémolymphe dans les téguments de divers Insectes phytophages, est le plus souvent altérée, jaunie — l'expérience montrant que les dérivés du jaunissement de la chlorophylle sont plus facilement diffusibles que l'élément vert, la comparaison des spectres indiquant que la bande de Brewster est souvent plus accusée dans la couche alcoolique jaune que dans la couche benzénique plus verte, de la solution du pigment. Si la chlorophylle des téguments est jaunie, la coloration *verte* que présente certains Insectes — quelquefois d'ailleurs non phytophages (Mante) — doit être attribuée à l'intervention d'un autre principe.

L'ensemble de ces faits permet de se rendre compte de la nature et de la progression de la chlorophylle animale dans l'organisme ; il résulte en effet :

1° Que les corps chlorophylliens contenus dans les tissus animaux — y compris les Zoochlorelles — sont des matières alimentaires plus ou moins complètement digérées ;

2° Que la digestion des matières chlorophylliennes ingérées s'effectueai nsi :

Une partie de ces matières est digérée immédiatement dans la cavité ou tube digestif;

Une autre partie n'y est pas digérée et est expulsée, plus ou moins tôt, au dehors (excréments chlorophylliens);

Une troisième partie n'y est pas digérée non plus, mais est accumulée, mise en réserve dans une annexe du tube digestif et n'est transformée en produits assimilables qu'en cas de besoin;

3° Qu'à mesure qu'on s'élève dans la classification animale, se différencie de plus en plus cette annexe chlorophyllienne. Dans les Protozoaires, nous avons vu que la partie des corps verts ou Zoochlorelles non directement digérés, est accumulée dans l'ectoplasme ou dans la région la plus externe de l'endoplasme, pour servir à la nutrition quand l'animal est dans des conditions défavorables (hivernage, jeûne, obscurité, etc.); on voit donc se dessiner ici la première ébauche d'une région protoplasmique, destinée à l'accumulation et à l'assimilation des réserves chlorophylliennes et, par là, à la régularisation de la nutrition. Dans l'Hydre verte, la même spécialisation s'accomplit, et le fait que les Zoochlorelles ne pénètrent pas hors de l'endoderme montre que la région des réserves chlorophylliennes est bien une dépendance de l'appareil digestif. Dans les Vers chlorophylliens, cette région, restreinte dans l'Hydre aux parties périphériques des cellules endodermiques, prend plus d'extension et intéresse les lacunes du tissu conjonctif sous-épidermiques; et dans les Insectes, les infiltrations chlorophylliennes peuvent s'étendre jusque dans le tégument. Dans les Mollusques, enfin, un organe régulateur bien circonscrit apparaît : c'est l'hépatopancréas où, en effet, on remarque à la fois l'accumulation et parfois l'assimilation de la partie des matières chlorophylliennes non immédiatement digérée. Ici, ce phénomène de l'assimilation des matières chlorophylliennes est plus net; elles sont accumulées dans les *Leberzellen*, y sont plus ou moins désagrégées, réduites en particules et, finalement, entrent dans le développement des tissus, après s'être épurées, en abandonnant une matière plus ou moins verdâtre, qui se condense dans les *Secretzellen*, et constitue la première forme des pigments biliaires. Cette concentration progressive d'une partie de la chlorophylle ingérée, dans un organe

régulateur qui finit par se différencier nettement en organe hépatique et cette connexion de la chlorophylle hépatique avec les pigments biliaires se trouvent d'ailleurs confirmées par le résultat obtenu par Schunk et Marchlewsky, qui ont retiré du sang des Vertébrés, l'hématoïdine biliaire, l'hémoporphyrine dont ils ont établi l'isomérie avec la phylloporphyrine, dérivée directement de la chlorophylle végétale;

4° Que, parmi les animaux phytophages, il en est un très grand nombre qui digèrent immédiatement les aliments chlorophylliens; par suite, en dehors du tube digestif, on ne trouve pas de corps chlorophylliens dans leurs tissus. Il en est d'autres qui, par suite soit d'une activité digestive plus lente, soit d'une alimentation trop copieuse, soit d'une prédilection pour les aliments non chlorophylliens, ne peuvent pas consommer immédiatement les matières chlorophylliennes qu'ils ingèrent; en dehors de la partie expulsée, une partie est donc accumulée puis digérée peu à peu : ce sont les animaux à tissus chlorophylliens. Entre ces deux extrêmes, on rencontre comme terme de passage des animaux qui présentent, seulement quelquefois, des inclusions chlorophylliennes, comme le fait se présente notamment chez les Infusoires ciliés;

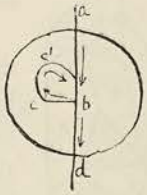
5° Qu'on peut classer ainsi les modifications subies par les matières chlorophylliennes pendant l'acte digestif : *a)* au point de vue *de l'ingestion*, certains animaux (Flagellés verts), les plus inférieurs, paraissent simplement extraire, et s'imprégner des sucs chlorophylliens, sans englober l'aliment; d'autres (Chlorellophorés) englobent l'aliment chlorophyllien sans le tuer nécessairement, si c'est une proie vivante; d'autres enfin englobent l'aliment et le tuent, le dilacèrent : ce sont les animaux à appareil-masticateur; *b)* au point de vue des altérations digestives, les proies chlorophylliennes sont tantôt complètement digérées (produits assimilés), tantôt non digérées (excréments), tantôt non tuées et non déformées (grosses Zoochlorelles de l'Hydre) tantôt non tuées et déformées (Zoochlorelles normales), tantôt tuées, déformées et non dissoutes (corps chlorophylliens du foie des Mollusques), tantôt tuées, déformées et dissoutes (infiltrations chlorophylliennes des Insectes); *c)* au point de vue de l'altération du pigment, les matières chlorophylliennes restent tantôt non altérées dans leur coloration (grosses Zooclorelles de l'Hydre), tantôt jaunies ou décolorées, Zoochlorelles dé-

colorées, spores et débris d'Algues ingérés et directement jaunis); tantôt jaunies superficiellement et reverdis sous l'action des sucs de l'animal (Zoochlorelles typiques); la teinte verte de Zoochlorelles, comme celle des excréments des herbivores, n'a pas les mêmes propriétés spectrales que la chlorophylle verte des feuilles, mais celles de la chlorophylle altérée, jaunie; elle a, en effet, été d'abord jaunie et l'imprégnation, le mélange des sucs colorants de l'animal a transformé cette matière jaune en produit vert plus bleuté, distinct au premier abord du vert chlorophyllien, par une solubilité plus lente dans l'alcool, et par un éclat spécial;

6° Que le prétendu phénomène de symbiose et d'association mutuelle entre les Zoochlorelles et l'animal est une interprétation gratuite ; en réalité, ces Algues fixées dans certaines parties de l'animal sont des Algues ingérées plus ou moins modifiées dans leur forme, leur couleur et leur vitalité, par l'organisme animal, — emprisonnées, domestiquées, remaniées ou façonnées en masses chlorelliennes ou formes condensées de réserve, et finalement consommées par cet organisme, en cas de besoin; il n'y a pas là association mutuelle, mais constamment domination et destruction graduelle de la cellule végétale par l'animal.

CIRCULATION DE LA CHLOROPHYLLE DANS L'ORGANISME ANIMAL

Ainsi, bien qu'il reste encore divers points à éclaircir, nous pouvons essayer de représenter la circulation de la chlorophylle dans l'organisme animal, par le schéma suivant :



Les matières chlorophylliennes ingérées suivent deux voies :

La voie digestive directe *a b d* ;

La voie régulatrice indirecte *a b c c' b d;*

la proportion des matières chlorophylliennes, qui prend l'une ou l'autre voie, variant avec chaque animal.

Celles qui prennent la voie directe subissent les modifications suivantes :

Les éléments jaunes ou xanthophylliques sont absorbés ;

Les éléments verts ou chlorophylliques, sauf ceux qui restent inattaqués, sont jaunis par les sucs digestifs, et subissent des dégradations de teintes, analogues aux dégradations automnales des végétaux feuillés.

Ces matières chlorophylliennes, ainsi *jaunies*, se divisent en deux parts : A et B.

1° *Part* A. — Une part A, au contact des produits de désassimilation plus ou moins colorés ou des sécrétions excrémentitielles du tube digestif, forment des composés brun, brun verdâtre, jaune verdâtre, vert plus ou moins vif selon les cas; et chez les animaux à tissus non chlorophylliens, elles sont directement expulsées à cet état dans les excréments.

Fig. 1.

Mais chez les animaux à tissus chlorophylliens, elles ne sont pas expulsées directement, et prennent la voie régulatrice *b c c'*, étant accumulées, emmagasinées, mises en réserve sous forme de Zoochlorelles ou d'inclusions hépatiques pendant un temps plus ou moins prolongé.

S'il s'agit d'un Infusoire chlorophyllien (fig. 1), *Paramœcium bursaria*, le schéma de la circulation chlorophyllienne sera la figure 1, le trajet, marqué en pointillé puisqu'il n'y a pas de voie canalisée stable dans l'Infusoire, étant *a b c c' b d*.

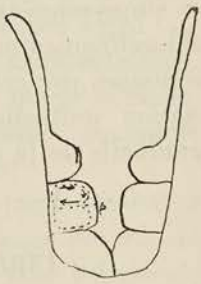


Fig. 2.

S'il s'agit de l'Hydre verte (fig. 2), le schéma sera le même sensiblement, puisqu'au point de vue chlorophyllien, le tissu endodermique de l'Hydre est comparable à une série de cellules paraméciques assemblées en batterie.

Fig. 3.

S'il s'agit d'un Turbellarié (fig. 3), la circulation des matières chlorophylliennes, qui était endocellulaire dans la Paramécie et l'Hydre, devient extracellulaire, se faisant par les lacunes existant entre les cellules conjonctives dans les Turbellariés Acœles, ou par le canal digestif et ses nombreux diverticules dans les autres Turbellariés.

S'il s'agit d'un Mollusque (fig. 4), la voie indirecte sera représentée par les canaux hépatiques et par l'hépatopancréas et ses diverses cellules à inclusions chlorophylliennes.

2° *Part* B. — Une autre part B, des matières chlorophylliennes *jaunies*, est absorbée directement, est diffusée dans l'hémolymphe ou le sang et peut se mélanger avec les pigments de l'animal.

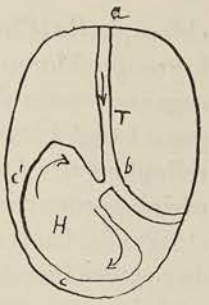


Fig. 4.
T = tube digestif.
H = hépatopancréas.

S'il s'agit d'un Insecte (schéma fig. 5), la chlorophylle infiltrée le long de la partie moyenne ou chilyfique glandulaire du tube digestif se répandra par les lacunes jusque dans les téguments.

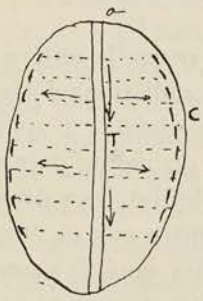


Fig. 5.
T = tube digestif.
C = téguments.

Mais il ne faut pas oublier que cette chlorophylle infiltrée ou diffusée dans l'organisme est de la chlorophylle *jaunie* et que, par suite, la teinte verte des insectes n'est pas attribuable à la teinte verte de la chlorophylle ingérée.

S'il s'agit d'un Vertébré (schéma fig. 6), la chlorophylle *jaunie* absorbée, au lieu de s'étendre jusqu'aux téguments, est généralement concentrée dans le foie, l'organe régulateur, et mêlée aux produits de désassimilation ou de décomposition des globules sanguins pour former la bile.

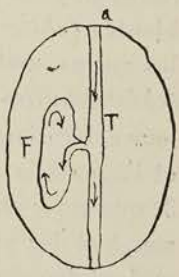


Fig. 6.
T = tube digestif.
F = foie.

On sait, en effet, que l'hématoïdine résulte de la chlorophylle altérée, de même qu'elle résulte de l'hémoglobine modifiée.

RAPPROCHEMENTS ENTRE LES ANIMAUX ET VÉGÉTAUX CHLOROPHYLLIENS

La chlorophylle présente une certaine similitude de répartition dans les Végétaux et les Animaux; il y a, dans les deux cas, un grand groupe chlorophyllien (Végétaux verts, — Animaux se nourrissant de Végétaux verts), aux dépens duquel vit un groupe sans

chlorophylle (Champignons, — Animaux carnivores). De plus, dans le groupe chlorophyllien, on peut distinguer dans les deux cas : *a)* des organes formés d'une ou plusieurs cellules chlorophylliennes composant tout l'organisme (Algues, — Protozoaires chromato- et chlorellophorés); *b)* des organes, à tissu chlorophyllien apparent, périphérique, recouvert d'une couche protectrice (certaines feuilles et tiges herbacées — Hydre, Turbellariés verts, Ailes et téguments de certains Insectes); *c)* des organes à tissu chlorophyllien non apparent, interne, masqué sous des couches opaques (Troncs — Foies chlorophylliens des Mollusques).

Au point de vue pigmentaire, nous avons vu : 1° que la chlorophylle des Végétaux est un pigment, absorbant des radiations déterminées, dont quelques-unes sont obscures (ultra-violet); 2° qu'il est constitué par plusieurs éléments, les uns plus ou moins jaunes (*xantophyllines* : protophylline, carottène, xanthophylle), les autres, bleutés (*chlorophyllines* de Twett), — formant entre eux et avec les autres matières cellulaires, des mélanges et des combinaisons (*chlorophylles* d'Etard), distinctes par leur solubilité et souvent par leur coloration, jaune verdâtre, verte, vert bleuâtre suivant la nature et l'âge de la plante et l'action momentanée des agents extérieurs; 3° que cette chlorophylle est un produit dérivant des amylacés (Belzung) et des albuminoïdes, les composés verts se formant et s'accumulant dans la plante sous l'action de la lumière et d'une absorption d'oxygène plus grande qu'il ne faut pour la respiration (Palladine), et jaunissant, se détériorant à l'obscurité, et même à la lumière, sous l'action des produits cellulaires oxydés.

Or, chez les Animaux contenant des granules de chlorophylle dans certains tissus, cette chlorophylle a la même origine que dans le végétal, car elle n'est pas formée par l'animal, mais provient constamment des végétaux nourriciers, où ils la trouvent toute formée, et sans lesquels ils ne peuvent subsister longtemps. Mais, tout en ayant une répartition analogue et la même origine, la chlorophylle animale n'a pas conservé la même composition que dans le végétal; elle est altérée, plus ou moins jaunie, parfois reverdie sous l'action des sucs colorants de l'animal qui y sont mélangés ou combinés, de sorte que sa coloration, qui peut être verte, ne procède pas des mêmes éléments que celle de la chlorophylle formée dans la plante et ne lui est pas identifiable. Il se passe, dans les Animaux, pour la

chlorophylle, une série de dégradations analogues à celles qui se passent dans les Végétaux à l'automne.

Les corps chlorophylliens des cellules animales sont localisés dans les tissus d'un organe régulateur de la nutrition, l'organe hépatique ou son homologue, et qui est en connexion avec l'appareil absorbant du tube digestif; que cet organe régulateur se caractérise, en ce qu'il emmagasine non seulement les corps chlorophylliens comme dans les animaux étudiés, mais un grand nombre de principes nutritifs, sucres, glycogène, gouttelettes d'huile, albuminoïdes et en ce qu'il les assimile selon les besoins. — De même le tissu chlorophyllien des Végétaux est en connexion avec leur appareil absorbant puisqu'il contient les terminaisons des faisceaux; c'est également un appareil d'emmagasinement, puisqu'on trouve accumulés dans ses cellules des corps verts, des sucres, des grains d'amidon, des albuminoïdes, parfois des gouttelettes d'huile (olive), et que les principes nutritifs y sont assimilés peu à peu.

Les analogies se poursuivent d'ailleurs, quant à cette assimilation. En effet, dans l'organe hépatique, 1° le sucre absorbé est transformé en glycogène, et le glycogène est retransformé en sucre pour être assimilé ; 2° les produits de désassimilation des albuminoïdes (ammoniaque) sont de nouveau organisés[1], transformés en urée ; 3° il y a entre ces deux phénomènes une liaison telle que, par exemple, dans les cas de diabète, l'azoturie accompagne fréquemment la glycosurie.

De même dans le tissu vert des Végétaux, 1° les sucres sont transformés en amidon et l'amidon est retransformé en sucre, selon les besoins ; 2° les produits de désassimilation des albuminoïdes, sont de nouveau élaborés, l'asparagine transformée en produits plus complexes régénérant les albuminoïdes ; et 3° une liaison intime existe entre ces deux phénomènes, car on voit l'amidon ou le sucre servir à la formation du chloroplastide comme on voit le chloroplastide servir à la formation de l'amidon.

De plus nous avons observé que l'organe chlorophyllifère des

[1] L'organisme animal peut transformer le carbonate d'ammoniaque en urée; et, de même, selon quelques auteurs, faire remonter les peptones à l'état d'albuminoïdes; mais il reste une lacune entre l'urée et le peptone, et on n'admet pas jusqu'à présent que l'urée puisse être transformée en peptones par l'organisme animal.

animaux étudiés est le même qui, dans les animaux supérieurs, secrète la bile et les pigments biliaires de telle sorte que nous avons regardé la chlorophylle accumulée, comme remplaçant ici ces éléments et pouvant y suppléer dans une certaine mesure. Un caractère de l'organe régulateur de la nutrition animale est donc la présence d'une matière pigmentaire susceptible d'absorber certaines radiations (spectre à bandes), cette matière pigmentaire consistant régulièrement dans les pigments biliaires, ou pouvant consister dans des pigments homologues plus ou moins mêlés de chlorophylle alimentaire (Mollusques), ou dans cette chlorophylle même (Animaux inférieurs). Semblablement dans les végétaux, un caractère de l'organe régulateur de la nutrition, c'est-à-dire du tissu d'accumulation et d'assimilation des éléments nutritifs, c'est la présence de la matière pigmentaire verte, susceptible d'absorber les radiations.

Dans les animaux ces pigments biliaires ainsi que des corps de déchet (cholestérine, etc.), sont rejetés continuellement dans l'intestin ; dans les végétaux le rejet de matières chlorophylliennes se fait aussi périodiquement, à l'automne, au moment de la chute des feuilles ; et on extrait des feuilles des matières appelées, à cause de leurs analogies, cholestérines végétales ou phyllostérines.

Où il paraît y avoir quelques différences, c'est dans l'utilisation des radiations retenues par les pigments absorbants. En effet, nous savons que le tissu chlorophyllien des végétaux est capable, grâce à ses radiations, d'élaborer par synthèse directe le sucre, aux dépens du carbone du gaz carbonique et de dégager l'oxygène ; mais nous savons également qu'une certaine quantité de CO^2 absorbé vient, d'après Cl. Bernard, non pas des feuilles, mais du sol, par les racines ; de plus, dans le sol, les racines sont, pour ainsi dire, entourées d'une gaine de microbes, désorganisant la matière humique, de telle sorte que la plante est plus ou moins parasite sur ce substratum organique microbien, et qu'à tout moment elle n'est pas seulement en contact avec CO^2 dernier terme de la minéralisation, mais avec tous les termes de simplification intermédiaires, dont les uns ne peuvent être absorbés à cause de leur toxicité, mais dont les autres peuvent être absorbés en nature et directement assimilés (Laurent), de sorte qu'à ce point de vue elle se rapproche assez de la nutrition animale.

Quant aux animaux, nous avons vu que le tissu chlorophyllifère de divers animaux inférieurs *(Paramécie, Hydre, Convoluta)* a comme dans les végétaux, la propriété d'absorber le gaz carbonique et de dégager l'oxygène à la lumière; et d'après de Linden, certaines chrysalides à pigment chlorophylloïde, pourraient aussi assimiler le carbone. Toutefois, à mesure que le tissu chlorophyllifère prend plus franchement le caractère biliaire *(Mollusques)* cette propriété paraît s'affaiblir au point de disparaître; cependant, d'après Cl. Bernard, la proportion de sucre qui, dans des œufs d'oiseaux en incubation, va en diminuant jusqu'au dixième jour, augmente de nouveau jusqu'à la fin de l'incubation, de sorte qu'il se fait, même chez les animaux, une synthèse directe du sucre, au début de la fonction glycogénique. D'ailleurs les matières organiques alimentaires subissent sous l'action de nombreux microbes dans l'intestin, comme les produits humiques dans le sol, des désorganisations qui les simplifient, de sorte que les cellules absorbantes de l'intestin sont en réalité en contact non seulement avec des matières organiques à divers degrés de simplification, mais avec leur produit ultime, le gaz carbonique, lequel on trouve en forte proportion dans la veine porte et dans le foie ; et M. R. Dubois[1] a observé des accumulations de glycogène dans les marmottes en hibernation : 6 gr. 05 après quatre jours de torpeur et 16 gr. 32 après dix jours pour 1000 grammes de foie; bien que la perte de poids soit continue pendant l'hibernation, M. Dubois a remarqué à certains moments de légères augmentations de poids de l'animal, « dues peut-être à une fixation accélérée d'oxygène, coïncidant avec une rétention d'acide carbonique ».

Donc la nutrition du végétal chlorophyllien se fait principalement par synthèse directe et partiellement par assimilation de matière organique ; et la nutrition de l'animal se fait principalement par assimilation de matière organique et partiellement par synthèse directe.

[1] L'accumulation d'acide carbonique dans l'organisme a été maintes fois signalée par M. R. Dubois ; ainsi des escargots en torpeur hivernale ont fourni pour 100 grammes de leur poids, 2 cc. 2 d'acide carbonique et des escargots éveillés 0 cc. 84. Une rétention d'acide carbonique a lieu dans le ver à soie, au moment de la chrysalidation; l'acide carbonique éliminé qui atteignait auparavant de 155 à 218 milligrammes, tombe à 108 et jusqu'à 71 milligrammes. Dans le chien, soumis au jeûne, l'oxygène diminue et l'acide carbonique augmente dans l'artère carotide et la veine jugulaire.

Il y a dans les végétaux chlorophylliens tous les intermédiaires entre le *Protococcus* des rochers nus, où le mode synthétique s'exerce à peu près seul, et le *Gui* vivant aux dépens des matières organisées de son hôte ; de même pour les animaux, on trouverait tous les passages entre le carnivore qui vit des produits élaborés par l'herbivore, et les animaux inférieurs chlorophyllaires ou encore ces microbes observés par Winogradsky et Goldwesky, qui, sans chlorophylle, assimilent directement le carbone de l'atmosphère.

Si, dans la plupart des animaux, on n'observe pas de dégagement d'oxygène, cela peut tenir à l'oxydation des graisses, qui se forment en plus grande abondance dans les animaux que dans les végétaux ; de plus, on sait que quand l'animal est en repos (animaux hibernants) l'absorption d'oxygène est plus forte que le dégagement carbonique et c'est l'inverse, quand l'animal travaille ; or, M. Dubois, admet la même loi dans la plante chlorophyllienne : la nuit, quand elle est en turgescence et travaille à sa croissance, elle consomme tout l'oxygène absorbé ; par suite, pas d'émission nocturne d'oxygène ; le jour, au contraire, le végétal, déprimé par l'insolation, n'utilise pas tout l'oxygène absorbé et en rejette l'excédent (*C. R. Soc. Biol.*, LXII, p. 16).

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE[1]

1° OUVRAGES CONSULTÉS SUR LA CHLOROPHYLLE ET LES ALGUES UNICELLULAIRES

ARNAUD, Carotine *(C. R.*, 1885, 1886, 1889).

ANGSTRÖM, Chlorophylle des Algues *(Pogg. Ann.*, t. XLIII).

BACH, Assimilation du carbone *(C. R. Acad.*, 1893).

BEYERINCK, Culturversuche mit Zoochlorellen, Lichengonidien und anderen niederen Algen *(Bot. Zeit.*, 58, 1890).

— Pleurococcus vulgaris *(Central. f. Bact. und Paras*, 2e Ab., IV, 1898).

BECQUEREL, Réduction des sels d'argent sous l'influence de la chlorophylle *(C. R. Acad.*, 1873).

BELZUNG, *la Chlorophylle et ses fonctions* (Thèse, Paris, 1886).

BELZUNG, Phénomènes protochlorophylliens *(Journal de Botanique*, 1895).

BERTHELOT et ANDRÉ, Influence des carbonates sur l'assimilation *(Ann. phys. et chim.*, 6e sér., t. X, 1887).

BONNIER et MANGIN, Sur l'action chlorophyllienne séparée de la respiration *(Ann. Sc. Nat. Bot.*, 7e sér., III).

BOKORNY, Culture de Spirogyres sur milieux organiques *(Deutsche bot. Gesellsch.* 1891).

BONNIER, Synthèse des Lichens *(Ann. Sc. Nat. Bot.*, 7e sér., t. IX, 1889).

BORANETSKY, Recherches sur la vie indépendante des gonidies *(Bot. Zeit.*, 1868).

BORNET, Gonidies de Lichens *(Ann. Sc. Nat. Bot.*, 5e sér., t. XVII).

BOTTOMLEY et JACKSON, Décomposition de l'oxyde de carbone par la plante *(Proceed. Soc. Roy. London*, n° 478).

BOUSSINGAULT, *Agronomie*, t. III, p. 266 et t. IV, p. 397.

BREWSTER, On the colours of natural bodies *(Transact. of the Roy. Soc. London*, t. XII).

CHAUTARD, Recherches sur le spectre de la chlorophylle *(Ann. Chim. et Phys.*, t. III, 5, 1874).

CIENKOWSKI, *Arch. f. Mikr. Anat.*, 1865 et XII.

[1] Cet index a pour but de compléter la bibliographie que j'ai donnée au bas des pages, car j'y ai ajouté les ouvrages consultés, que je n'avais pas indiqués ou dont j'avais cité seulement le nom de l'auteur, sans renvoi.

Cloez et Gratiolet, Rech. expér. sur végétat. de plantes submergées (*Ann. Chim. et Phys.*, 3e sér., t. XXXII).
Chevreul, *Moyen de définir et de nommer les couleurs*, p. 833.
— *Considérations sur les feuilles, les fleurs et les fruits*, p. 823.
Chodat, Matériaux pour l'hist. des Protoccoïdées (*Bull. de l'Herbier Boissier*, II, no 9, 1894 ; *Principes de Botanique*, Genève, 1907).
Courchet, Rech. sur les chromoleucites (*Ann. Sc. Nat. Bot*, 7e sér., VII, 1888).
Couvreur, Note sur les Euglènes (*Ann. Soc. Linnéenne Lyon*, 1897 ; sur la prétendue digestion des Nepenthes (*C. R. Soc. Biol.*, 1900).
Dangeard, Contribut. à l'étude des Bactériacées vertes (*le Botaniste*, 1890).
— Les Eugléniens (*Id.*, 1901).
— Palmella hyalina (*Id.*, 1re sér., p. 166).
— Rech. sur les Chlamydomonadinées (*Id.*, 6e sér.).
— Rech. sur les Algues inférieures (*Ann. Sc. Nat. Bot.*, 7e sér., VII).
Crato, Assimilation du carbone (*C. R. Acad.*, 1893).
De Candolle, *Physiologie végétale*, Genève 1832.
Dehérain, *Chimie agricole*, p. 62.
Dehérain et Maquenne, Action des lumières artificielles sur la fonction chlorophyllienne (*Ann. agr.*, t. V).
Raphaël Dubois, Sur le prétendu pouvoir digestif du liquide de l'urne de Nepenthes (*C. R. Soc. Biol.*, 1890).
— Sur le mécanisme intime de la fonction chlorophyllienne (*C. R. Soc. Biol.*, LXII, p. 116).
Etard, *Biochimie des chlorophylles*, Paris, Masson, 1906.
Faucheron, *Précis de Botanique*.
Engelmann, Les Bactéries pourprées et leur relation avec la lumière (*Arch. Néerland.*, XXXIII, 1889).
— Couleur et assimilation (*Ann. Sc. Nat. Bot.*, 6e sér., t. XV).
— Nouvelle méthode pour l'essai du dégag. d'oxygène par les plantes et animaux (*Bot. Zeit.*, 1881).
Filhol, Rech. sur la matière colorante verte des plantes (*C. R.*, 1868).
Flahaut, *Bull. Soc. Bot.*, 1888.
Frémy, Sur la composition de la chlorophylle (*C. R. Acad. Sc.*, 1865 à 1877).
Friedel, Assimilation chlorophyllienne en dehors de l'organisme (*C. R. Acad. Sc.*, 1901).
Garreau, Respiration des plantes (*Ann. Sc. Nat. Bot.*, 3e sér., t. XV et XVI).
Gérard, *Traité de Micrographie botanique*, Paris, 1887.
Garcin, Les Euglènes (*Journ. de Bot.*, août 1888).
Gay, *Rech. sur développement et classification de quelques Algues vertes* (Thèse Paris, 1890-1891).
Gautier, Chlorophylle blanche (*Rev. scientif.*, 1877).
Goldewsky, Formation des albumines, trad. par Bourgeois (*Ann. agr.*, 1897).
Gris, Rech. microscopiques sur la Chlorophylle (*Ann. Sc. Nat. Bot.*, t. VIII, 1857).
Green, Ferments solubles des végétaux (*Ann. of Botany*, VII, 1893, trad. Ann. agr.).
Griffon, *l'Assimilation chlorophyllienne* (Bibl. Scientia).
Grintesco, Etude de Chlorella vulgaris (*Rev. gén. de Bot.*, 1903.)
Hansen, Die Chlorophyllfarbstoff (*Arb. bot. Wurzburg*, Bd 3, 1884, 1885, 1886).

JEHOW, Die Gruppe Hymenolichenen (*Jahr. f. wiss. Bot.*, XV, 1884).
JODIN, *C. R.*, 1886.
KIMPFING, Caractérisation d'aldéhyde formique dans la cellule à chlorophylle (*C. R. Acad. Sc.*, 1907).
KRAUS et MILLARDET, Pigment des Phycochromacées et des Diatomées (*C. R.*, 1868).
KREUSLER, Influence de la circulation de l'eau dans la plante sur la fonction chlorophyllienne (*Ann. agr.*, XIV).
KRUGER, Zur Kentniss der Organismen der Saftflusses der Laubbaüme (*Beitr. z. Phys. u. Morph. d. med. org.*, IV, 1894).
LAURENT, Absorption des matières organiques (*C. R. Acad. Sc.*, 1897).
LEFÈVRE, Accroissement du poids sec de la plante verte en sol amidé sans dégagement d'oxygène (*C. R. Acad. Sc.*, 1907).
LOMMEL, Sur le spectre des feuilles vivantes (*Pog. Ann.*, CXLIII).
LOEW, *Ann. agr.* XVIII, 1892.
MAQUENNE, Respiration des plantes vertes (*Rev. gén. Sc.*, 1906).
MARCHLEWSKY, *Die Chemie des Chlorophylls Voss*, Leipzig, 1895).
MACCHIATI, La photosynthèse chlorophyllienne en dehors de l'organisme (*Rev. gén. de Bot.*, XV, 1903).
MATRUCHOT et MOLLIARD, Variation de structure d'une Algue verte sous l'influence d'un milieu nutritif (*Rev gén. de Bot.*, t. XIV, 1902).
MAZÉ, Assimilation du carbone et de l'azote (Bibl. Scientia) et Humus, et assimilation carbonée (*Rev. gén. Sc.*, 1905).
MÖLLER, Ueber die Cultur flechtenbildenen Ascomyceten ohne Algen (*Bot. Inst. Munster*, 1887).
MOROT, La Chlorophylle (*Ann. Sc. Nat. Bot.*, t. XIII, 3e sér.).
NAGELI, *Gattingen einzelliger Algen*, 1849.
NENCKI, Phylloporphyrine (*Arch. Sc. Biol. Inst. médical Saint-Pétersbourg*, p. 304).
PALLADINE, *Rev. gén. de Bot.*, t. IX, p. 385.
POSTERNAK, Sur l'acide phosphoorganique (*C. R. Acad. Sc.*, 1906).
PRINGSHEIM, Sur le lieu de production de l'oxygène (*Ann. agr.*, XIV).
PRILLEUX, Pourriture verte (*Bull. Soc. Bot.*, XXIV, 1877).
RICHET, *Dictionnaire de Physiologie*, articles : Chlorophylle et Fonction chlorophyllienne.
REINKE, *Ann. agr.*, XI, 1885.
RABENHORST, *Flora algarum*.
RADAIS, Culture d'une Algue pure (*C. R.*, 1900).
REGNARD, Action de la chlorophylle sur l'acide carbonique, en dehors de la cellule végétale (*C. R.*, 1885).
SACHS, *Physiologie végétale* (ch. IX).
SCHIMPER, *Jahrbücher wiss. Bot.*, XVI, 1885).
SCHMITZ, Chromatophores des Algues (*Rev. Sc. Nat.*, 3e sér., II, 1883).
STENGER, Raies d'absorption de la Chlorophylle (*Ann. agr.*, XIII, 1887).
SAUSSURE (DE), *Recherches chimiques*, 1804.
SENEBIER, *Physiologie végétale*, Genève, 1783.
SENN, Ueber einige coloniebildende einzellige Algen (*Bot. Zeit.*, 1899).
TIMIRIAZEF, Protophylline (*C. R.*, 1886). Décomposition de l'acide carbonique dans le spectre par les parties vertes (*Ann. chim. et phys.*, 5e sér., t. XII).

Tswett, Chlorophyllines (*C. R.*, 1901).
Trécul, Formations vésiculaires dans les cellules végétales (*Ann. Sc. Nat. Bot.*, 4e sér., t. X).
Thuret, Sur les Zoospores des Algues (*Ann. Sc. Nat.*, 3e sér., XIV, 1850).
Treub, Lichenencultur (*Bot. Zeit.*, 1873).
Van Tieghem, *Traité de Botanique* et *Bull. Soc. Bot. de France*, 1886.
Ville, Rapport entre la couleur des feuilles et la fertilité du sol (*C. R. Acad. Sc.* 1889).
Zimmermann, *Die Botanische Mikrotechnik*, 1892.
Zumstein, Zur Morph. und Phys. Euglena gracilis (*Jahrb. f. wiss. Bot.*, Bd. 34, 1900).

2° OUVRAGES CONSULTÉS SUR LA CHLOROPHYLLE ANIMALE

Atti della Univers. Genova, 1875 : Chlorophylla nell' Elysia viridis.
Archer, A resume of recent observations on Parasitic Algue (*Quat. Journ. micr. Sc.*, XIII, 1873).
Abel and Davis, The Pigments of the Negro's Sun and Hair (*Journ. Exper. Med.* 1896, n° 3).
Balbiani, Evolution des micro-organismes animaux et végétaux (*Journ. de microgr.*, 1887.
— Recherches expér. sur la mérotomie des Infusoires ciliés (*Ann. de microgr.*, 1892-1893).
Barthélemy, Sur la physiologie d'une Planaire verte (*C. R.*, 1884).
Beddard, *Animal Coloration* (London, 1892).
Blomfield-Girod, Sur l'Hydra viridis (*Trav. du Laborat. de Zool.*, t. II, 1888).
Becquerel et Brongniart, La matière verte des Phyllies (*C. R.*, 1894).
Beyerinck, Culturversuche mit Zoochlorellen, etc. (*Bot. Zeit.*, 58, 1890).
Biederrmann et Moritz, Physiologie der Verdaunrg (*Arch. gesammte Phys.*, Bd 73 et 75).
Blochmann, *Die mikroskopische Thierwelt der Süsswassers* (Hamburg, 1895).
Bohn, *les Pigments* (Bibl. Scientia).
Bottazi, Fisiologia della digestione (*Lo Sperimental. Anno*, 55, p. 75).
Bouvier, la Chlorophylle animale (*Bull. Soc. Philomatique de Paris*, 8e sér., t. V, n° 1).
Bogandow, Coloration des oiseaux (*C. R.*, 1858).
Brandt, Ueber die morphol. und physiol. Bedeutung des Chlorophylls bei Thieren (*Arch. für Physiol.*, 1882).
— Sur les Zooxantelles des Radiolaires (*Mittheil. Zool, Stat. Napel*, 4 B., 1883).
Burger, *Die Nemertinen des Golfes in Neapel* (22 monogr.).
Brock, Ueber die sogenannten Augen von Tridacna (*Zeitsc. wiss. Zool*, XLVI, 1888).
Butschli, Protozoa III Abth. (*Bronn's Klassen und Ordn. des Thierreichs*, 1889).
Carnot, *Rech. sur le mécanisme de la pigmentation* (Th. de Paris, 1896).
Candeze, Sur le mimétisme (*Bull. Acad. de Belgique*, déc. 1874).

COHN, Ueber parasitische Algen (*Beitr. biol. der Pflanzen*, 1 B., II, 1872).
CARAZZI, Sur l'huître verte (*Mittheil. Stat. Neapel*, XII, 1896).
CHATIN et MUNTZ, Sur la nature et causes du verdissement de l'Huître (*C. R.*, 1894).
CONTE, *Précis de Zoologie*.
COSTE, PERRY, Insect Colours (*Nature*, XIV, 1892).
CARTER, Parasites of the Spongida (*Ann. of. Nat. Hist*, II, 1878).
CIENKOWSKI, Sur les corps jaunes des Radiolaires (*Arch. mikr. anat.*, VII, Band, 1871).
CLAPARÈDE et LACHMANN, Etudes sur les Infusoires et Rhizopodes.
CUÉNOT, Excrétion chez les Mollusques (*Arch. Biol.*, t XVI, et *Arch. Zool. expér.*, t. VII).
DANGEARD, Ophrydium versatile (*le Botaniste*, 2e sér., 1890).
— Zoochlorelles de Paramœcium Bursaria (*le Botaniste*, 3-4 fasc., mai 1900).
DASTRE, Chlorophylle du foie des Mollusques (*Journ. Phys. Path. gén.*, t. I, p. 111).
DASTRE et FLORESCO, Pigments hépatiques (*Arch. Physiol. et Path. gén.*, 5e sér., t. X).
DANILEWSKY, *Sur la chlorophylle animale*, Karlsoff, 1899.
DEWITZ, Coloration brune des cocons (*Zool. Anz.*, Bd. 27, 1903).
DUJARDIN, *Histoire naturelle des Zoophytes*.
DELAGE, Sur les Planaires Rhabdocœles Acœles (*Arch. Zool. expér.*, IV, 1886).
DELAGE et HÉROUARD, *Traité de Zoologie concrète*, vol. I et II.
R. DUBOIS, les Vacuolides (*C. R. Soc. Biol.*, 1887).
— Contribution à l'étude des soies de Bombyx Mori et Saturna Yama-Maï (*Trav. du Lab. de la soie*, 1889-1890), Lyon, 1891.
— Sur les propriétés des principes colorants naturels de la soie jaune et leurs analogies avec celles de la carotine végétale (*C. R. Acad. Sc.*, sept. 1890).
— Anatomie et physiologie comparée de la Pholade dactyle (*Ann. Univers. Lyon*, t. II, fasc. 2, 1892).
— Sur la solidification du fil de soie, à la sortie de la glande sericigène du Bombyx Mori (*Trav. Lab. de la soie*, 1889-1890).
— Sur la coloration naturelle des soies (*C R. Soc. Biol.*, LVII, p. 201, 1904, et LXII, p. 52, 1907).
— Sur le sommeil hivernal et le mécanisme de l'autonarcose carbonique (*C. R. Soc. Biol.*, 1895).
— Etudes sur le ver à soie dans la période nymphale (*C. R. Soc. Linnéenne*, Lyon, 1901).
— De la présence de certaines substances fluorescentes chez quelques invertébrés (*C. R. Congrès avanc. Sc. Lyon*, 1906).
— Sur l'action de la lumière sur le pigment vert fluorescent de *Bonellia viridis* (*C. R. Soc. Biol.*, avril 1907).
Dr ENRIQUEZ, Le foie des Mollusques et ses fonctions (*Arch ital. de biolog.*, XXXVII, 1902, et *Mitteil. aus. Zool. Station zu Neapel*, 1901-1902, vol. 15).
ENGELMANN, Ueber thierisches Chlorphyll (*Arch. für die gesammte Phys.*, 32 Bd, 1883).
EHRENBERG, *Die Infusionsthieren*, 1838.
ENTZ (Gesa), Ueber die natur der Chlorophyllkoïperchen niederer Thiere (*Biolog. Centralbl.*, 1 Bd, 1881-1882).

FABRE-DOMERGUE, *Recherches snr les Infusoires ciliés* (Th. 1886).
FAMINTZIN, Beitr. zur Symbiose von Algen und Thieren (*Mém. Acad. Sc. Saint-Pétersbourg*, XXXVI, 1889, et XXXVIII, 1891).
FLORESCO, Foie et peau (*C. R.*, 1900).
FRENZEL, Mikr. der Mitteldarmdrüse der Molluschen (*Nov. Acta Léop Car.*, Bd 60).
FUHNER, Biologie de Convoluta (*Journ. Pharmacol. Vienne*, 1905-1906).
GAMBLE et KEEBLE, Sur Convoluta Roscoffensis (*Procedings de la Soc. royale de Londres*, n° 478).
GAUTIER (Arm.), Analogie de la chlorophylle et de la bile (*C. R. Acad. Sc.*, 1879).
GAUTIER (Cl.), Sur un caractère prétendu différentiel de la matière verte de la soie d'Yama-Maï (*C. R. Soc. Biol.*, 1906 et 1907).
GEDDES, Chlorophylle animale et physiologie des Planaires vertes (*Arch. Zool. expér.*, VIII, 1879-1880).
— On the Nature and Fonction of the Yellow Cells of Radolariaus and Cœlenterates (*Proc. roy. Soc. Edimburgh*, 1882).
— Animals containing Chlorophyll (*Nature*, XXV, 1882).
GEORGEVITCH, Sur Convoluta Roscoffensis (*Arch. Zool. exper.*, VII, p. 343).
GRAFF (VON), Zur Kenntniss der physiologische Function der Chlorophylls im Thierreich (*Zool. Anzeiger*, 1884).
GREEWOOD, On Digestion in Hydra (*Journ. of Physiol.*, IX, 1888).
GUILLERMOND, *les Levures* (Th., Paris, 1903).
HABERLANDT, *Ueber den Bau und die Bedentung der Chlorophylzellen von Convoluta* (*in* Graff, *Organ. Turbll. Acœla*, 1891).
HAMANN, Zur grünen Zellen bei Hydra (*Zeitsch. wiss. Zool.*, 1882).
HANSEN, Ueber die Farbstoffe des Chlorophyllkorns (*Arb. bot. Inst. Würzburg*, 1884-1885).
HENNEGUY, la Biologie cellulaire étudiée par la mérotomie (*Rev. gén. des Sc.*, déc. 1893).
HOPKINS, Pigments of Lepidoptem (*Nature*, 1892; *Proc. Roy. Soc.*, 1894).
HENOCQUE, *Spectroscopie* (Bibl. aide-mémoire).
HOGG, On the action of Light upon the Colour of the Rives Sponge (*Mag. nat. history by Charlestown*, vol. 4).
HAFKINE, *Ann. Inst. Pasteur*, t. IV, 1890).
JESSIC et SALLITT, On the chlorophyll corspucules of some Infusoir (*Quat. Journ. of micr. Sc.*, vol. 14).
JICKELI, Ueber Hydra (*Zool. Anzeiger*, 1882).
KLEBS, Ueber Symbiose ung beichentiger Organismen (*Biol. Centralbl*, 2 Bd, 1882-1883).
— Organisation einiger Flagellaten (*Unter aus dem. bot. Inst. zu Tubingen*, 1881-1885).
KUNSTLER, Recherches sur la morphologie des Flagellés (*Bull. Soc. de France et Belgique*, 1889).
KUNSTLER et GENESTE, Sphérules trophoplasmiques (*C. R.*, 1905).
KRUKENBERG. *Vergleichend. physiol. Studien, Heidelberg.*
LANKESTER, On the Chlorophyll-corpuscule and Amyloïd Deposits of Spongilla and Hydra (*Quat. micr Sc*, XXVII, 1882-1883; *id.* 1897, sur le Choetoptera; *id.* 1895).
LACAZE-DUTHIERS, Bonellie (*Ann. Sc. nat. Zool.*, 4e sér., t. X).

LEVRAT et CONTE, Coloration naturelle des soies (*Ann. Laboral. d'études de la soie*, Lyon, 1902, et *C. R.*, 1902).

LE DANTEC, Rech. sur la Symbiose des Algues et des Protozoaires (*Ann. Inst. Pasteur*, VI, 1892).

LINDEN (DE), Assimilation d'acide carbonique par chrysalides, comparaison avec végétaux, augmentation de poids en carbone (*C. R. Soc. Biol.*, déc. 1905).

MAC MUNN, Contributions to animal Chromatology (*Quat. Journ. micr.*, XXX, 1890).

— Further Observations on Enterochlorophyll (*Philos. Transact. roy. Soc. London*, 1886).

MACALLUM, Pigments des Vertébrés (*Quat. Journ. Micr. Sc.*, 1895. et *Journal of Physiology*, t. XXII, n° 92).

MOSELEY, Sur le pigment des Flustra (*Quat. Journ. Micr.*, 1877).

MARSHALL, Ueber eine neue Form von Hydra viridis (*Zeitsch. wiss. Zool.* 37 B., 1882).

MAUPAS, Rech. sur multiplication des ciliés (*Arch. zool. expér.*, VI, 1888).

— Rajeunissement karyogamique (*Id.*, 2e sér., VII).

NEWBIGIN, Sur certains pigments verts chlorophylloïdes (*Quat. Journ. micr.*, sér. 41).

— *Colour of Natur*, Londres, 1898.

NUSSBAUM, Sur Hydra (*Arch. für Mikr. Anat.*, 29 Bd, 1887).

POULTON, *The Colour of Animals*, 1890.

PLATEAU, Sur la physiologie des Orthoptères (*Mém. Acad. Bruxelles*, t. XLI, 1875).

PARKER, Histology of Hydra fusca (*Quat. Journ. mikr.*, XX, 1890).

PETCHENKO, Sur les changements du noyau des Paramécies (*Lab. Zootomiq. Varsovie*, XXX).

PENARD, la Chlorophylle dans les animaux (*Arch. des Sc. phys. et nat.*, XXIV, 1890).

PODIAPOLSKY, Ueber das grüne Pigment bei Locustides (*Zool. Anzeig.*, XXI, 1907).

RYDER, On the chlorophylloïd Granules of Vorticella (*Proceed. Nat. Mus.*, VII).

SALLITT, On the chlorophyll Corpuscules of Infus. (*Quat. Journ. Micr.*, XXIV).

SAUVAGEAU, Sur le verdissement expérimental des huitres (*C. R. Soc. Biol.*, mai 1907).

SCHULTZE, Untersuchung. über den Bau... (*Zeitsch. wiss. Zool.*, XXXII, 1879).

SCHUNCK et MARCHLEWSKY, Hématoporphyrine et phylloporphyrine (*Proceed. Roy. Soc. London*, 1895).

SIEBOLD, Ueber einzellig. Pflanzen und Thiere (*Zeitsch. wiss. Zool.*, Bd I, 1849).

STOKES, Chlorophylle et biliverdine (*Proceed. Roy. Soc. London*, t. XIII).

STEIN, *Der Organismus der Infusionthiere*, 1878.

SCHEWIAKOFF, Zu der Arbeit Famistzin über Zoochlorellen (*Biol. Centralbl.*, 1891).

SORBY, On comparative vegetable Chromatology (*Proc. Roy. Soc. London*, XXI, 1873).

— Sur la Bonelline (*Quat. Journ. micr.*, 1875).

VERSON, Sur la couleur des cocons de Lépidoptères (*Zoologisch Anzeiger*, 1904 mars).

VILLARD (J.), Algue trouvée dans une solution alunée (*Ann. Soc. Linnéenne* Lyon, 1903).

— Contribution à l'étude cytologique des Zoochlorelles (*C. R. Acad. Sc.*, mai 1903).

— Contribution à l'étude des chlorophylles animales (*C. R. Soc. Biol.*, déc. 1903).

— A propos d'une prétendue chlorophylle de la soie (*C. R. Soc. Biol.*, juin 1904).

URECH, Pigments et produits de déchets (*Zeitsch. wiss. Zool.*, vol. I, VII, 1893.

NOTA. — Il a pu m'arriver quelquefois d'indiquer l'objet de l'article, au lieu de son titre précis, mais la référence est exacte, pour le reste.

ADDITIONS ET RECTIFICATIONS

Page 15. — *Tuniciers.* — Au lieu de *Protoascidiens*, lisez *Synascidiens;* j'ai trouvé de la chlorophylle dans les tissus périphériques de quelques espèces, que je me propose d'étudier plus en détail.

Page 72. — *Chlorophylle des Insectes herbivores.* — J'ai de nouveau obtenu, en immergeant dans l'eau la partie moyenne du tube digestif de plusieurs larves de *Lyda pyri*, une diffusion à travers la paroi, du liquide jaune légèrement verdâtre, provenant des matières chlorophylliennes ingérées, par contre l'addition de sels n'a pas excercé d'influence sensible.

Page 76. — *Chlorophylle des Eugléniens.* — Je fais ici une simple supposition, qui n'est pas suffisamment étayée sur des faits jusqu'à présent.

Page 101. — *Discussion sur les Zoochlorelles de Paramœcium.* — Gesa Entz considère les Zoochlorelles comme des Algues symbiotiques, *modifiées* appartenant aux genres *Palmella*, *Tetraspora*, *Glœocystis*, *Pleurococcus*, *Raphidium*, *Senedesmus*, ou des formes *enkystées de Chlamydomonas et d'Euglena;* il rapporte (*Biol. Centralbl.*, Bd I, p. 648) qu'il a reconnu ces Algues, à l'intérieur de *Stentor polymorphus*, resté dans une eau non renouvelée.

Kessler (*Arch. für Physiology*, 1882, p. 492) a vu les Zoochlorelles d'une Planaire d'eau douce se transformer en Algues Flagellées ou Eugléniens, et regarde les Zoochlorelles comme la forme palmellaire d'Algues plus compliquées.

Wille (Engler und Prantl. *Die natürl. Pflanzen*, 2, 2) pense que *Protococcus*, *Palmella*, *Glœocystis et Zoochlorella* sont des formes jeunes de diverses Algues vertes.

Mon opinion se rapproche de celle de Gesa Entz et de Kessler en ce que je considère les Zoochlorelles comme une forme de convergence de plusieurs espèces d'Algues unicellulaires ; mais elle s'en distingue en ce que cette forme résulte, pour moi, de l'action de l'animal sur ces Algues ingérées; il leur fait subir une sorte de *chlorellisation*, c'est-à-dire un remaniement, qui les réduit en masses chlorelliennes.

Page 116. — *Zoochlorelles de Convoluta.* — M. le professeur Raphaël

Dubois a fait, en 1889, des expériences inédites sur les *Convoluta;* il a remarqué que, dans la lumière verte, les Planaires de Roscoff erraient de tous les côtés, tandis que dans le jour elles se dirigent ordinairement vers l'origine de la lumière et que dans l'obscurité, à la nuit, elles se laissent seulement tomber au fond du vase. La lumière blanche a une action directrice, parce qu'elle est utile. — Des Planaires vertes, placées sous un flacon de verre vert, sont mortes assez rapidement et on n'a retrouvé que des granulations et agglomérats de granulations bien vertes. Les radiations vertes sont funestes à la partie animale.

Page 134. — *Pigment vert de Yama-Maï.* — Dans sa note sur la soie du *Yama-Maï (Trav. du Lab. de la Soie*, Lyon, 1889, 1890, 1891), M. Raphaël Dubois a dit : « Il se pourrait que la substance verte fût produite par une modification due à l'influence de l'air et de la lumière, d'une substance préexistant dans la soie. » Le fait que la coloration verte du fil est accusée seulement du côté où il est exposé à la lumière montre que l'action de la lumière paraît seule nécessaire.

M. R. Dubois pense que la *Chloroyamamaïne* se forme par un procédé analogue à celui dont il a démontré l'existence dans la production de la pourpre du *Murex brandaris*, c'est-à-dire par l'intervention d'une zymase produisant des substances, se colorant à la lumière. Ce sont principalement les expériences de M. R. Dubois sur la pourpre qui ont conduit M. Dewitz à l'hypothèse du brunissement de certains cocons par l'action d'une diastase. L'intervention d'une zymase colorigène dans la soie est d'autant plus admissible que M. R. Dubois a démontré que le mécanisme de la solidification du fil de soie était comparable à celui de la coagulation du sang *(Trav. du Lab. de la Soie*, Lyon, 1889-1890).

Page 145. — *Circulation de la chlorophylle dans l'animal.* — Je donne ici simplement ma manière de voir; les schémas grossiers ne représentent de l'animal que ce qui intéresse la question.

PLANCHE I

PLANCHE I

Fig. 1. — Aspect divers de Zoochlorelles de *Paramœcium bursaria*. (Obj. n° 9, ocul. n° 3, tube tiré.)

Fig. 2. — *A gauche*, corps bruns ou Zoochlorelles digérées (même gr.).
A droite, Zoochlorelles décolorées, avec ou sans granules rouges, de quelques Paramécies hivernales (même gr.).

Fig. 3. — Aspect comparé des Zoochlorelles vertes et des Zoochlorelles décolorées, dans des Paramécies, accolées probablement par le hasard de la préparation, et dont l'une contient des Zoochlorelles vertes et l'autre uniquement des Zoochlorelles décolorées. J'ai tracé seulement le contour de l'animalcule sans indiquer les cils, ni l'orifice buccal; j'ai indiqué aussi la position du macronucleus. — En dessous, Paramécie plus petite, sans Zoochlorelles, mais remplies de granulations brunâtres. 21 février. (Obj. n° 2, ocul. n° 1.)

Fig. 4. — Portions protoplasmiques ou mérozoïtes, détachés de Paramécies incolores et contenant des corps incolores et de nombreux granules browniens.

Fig. 5. — Aspect des Zoochlorelles dans les pseudo-amibes de *Paramœcium bursaria:* la figure de droite représente des corps verts résultant de Zoochlorelles fusionnées par l'amibe ; la figure de gauche, en haut, de très petites Zoochlorelles résultant de l'émiettement de Zoochlorelles normales, par l'amibe ; les figures centrales, un pseudo-amibe contracté, et un autre, étiré et se déplaçant, contenant chacun quelques Zoochlorelles normales. (Obj. n° 9, ocul. n° 3.)

Fig. 6. — Noyau dans les Zoochlorelles de Paramécies, coloré par l'hématoxyline ferrique ; on voit aussi dans le chromatophore le contour du pyrénoïde. (Obj. n° 9, ocul. n° 3, tube tiré.)

Fig. 7. — Zoochlorelles avec pyrénoïde après traitement par la potasse ; au-dessus, id., après traitement par l'iode, granules amylacés très fins. (Obj. n° 9, ocul. n° 1.)

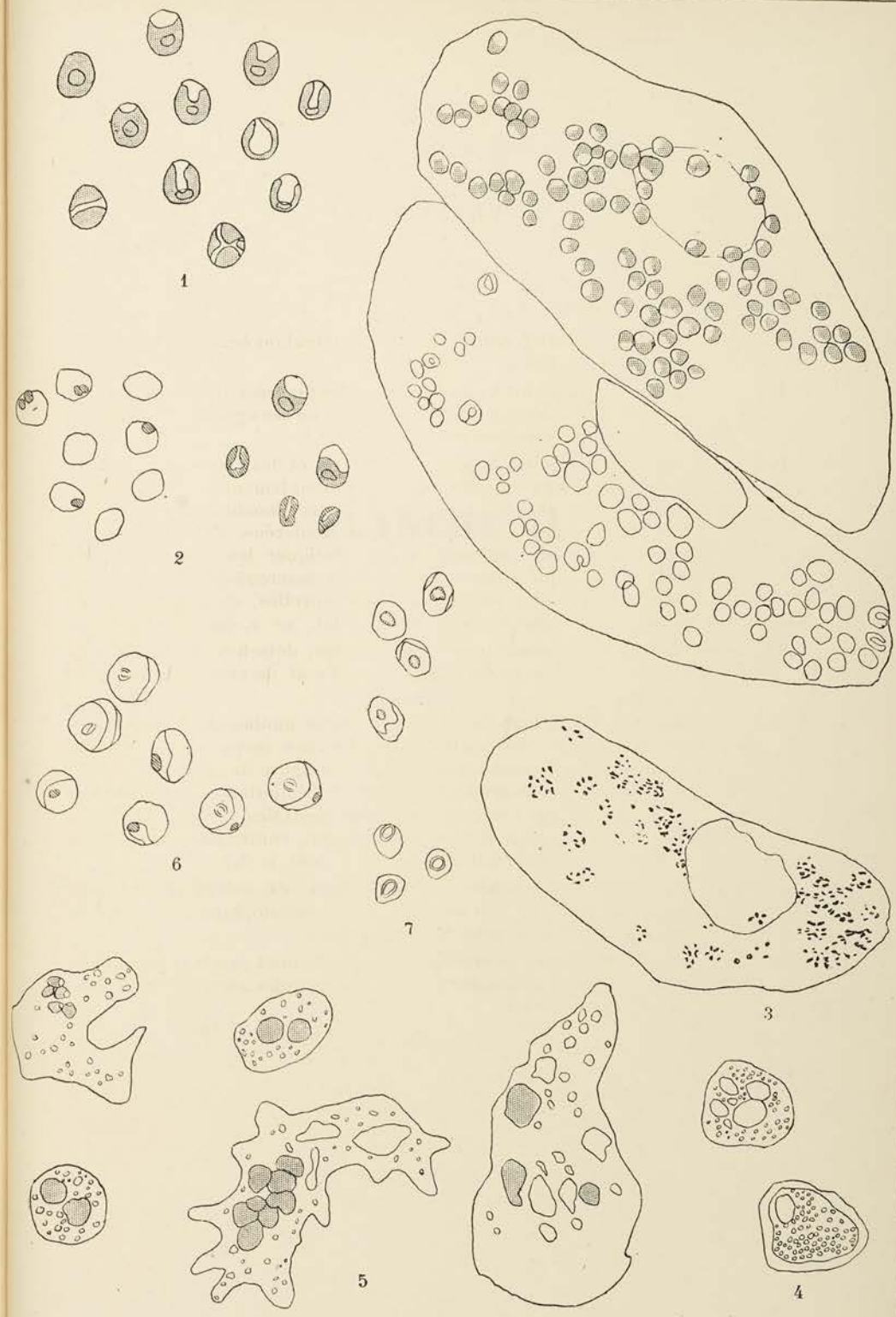


PLANCHE II

PLANCHE II

Fig. 8. — Corpuscules métachromatiques dans la partie hyaline des Zoochlorelles de Paramécie. (Obj. n° 9, ocul. n° 3, tube tiré.)

Fig. 9. — Mérozoïtes de Paramécie verte, coalescents, entourés d'une enveloppe kystique et contenant chacun une ou deux Zoochlorelles vertes et un grand nombre de décolorées. 25 février. Au-dessus, mérozoïte incolore, issu d'une Paramécie verte. (Obj. n° 2, ocul. n° 1.)

Fig. 10. — Petit kyste à trois Zoochlorelles, observé dans le voisinage d'une Paramécie verte enkystée.

Fig. 11. — Sporange d'Algue, renfermé dans une Paramécie verte, aspect comparé des spores avec les Zoochlorelles voisines. (Obj. n° 2, ocul. n° 1.)

Fig. 13 — Formes dilatées, hypertrophiées de Zoochlorelles, *à gauche*, sous l'action d'une trace de biphosphate d'Am ; *à droite*, sous l'action d'une trace de cantharidine. (Obj. n° 9, ocul. n° 3, tube tiré.)

Fig. 14. — Zoochlorelles non encore déformées et, au-dessus, modes de dissociation, de fragmentation de Zoochlorelles conservées dans l'eau pendant plusieurs semaines. (Obj. n° 9, ocul. n° 3, tube tiré.)

Fig. 15. — Zoochlorelles d'*Hydra viridis* montrant la constitution du noyau, les unes présentant 2 ou 3 noyaux accolés et un seul pyrénoïde, les autres, 3 pyrénoïdes, coloration à l'hématoxyline ferrique. (Obj. immersion $\frac{1}{18}$, ocul. n° 3.)

Fig. 15 *bis*. — *a)* Zoochlorelles d'*Hydra viridis*, Zoochlorelles bizonaires ou typiques, Zoochlorelles granuleuses ou grosses Zoochlorelles ; corps bruns ;

b) Zoochlorelles avec corpuscules métachromatiques, colorés par le bleu polychrome.

c) Zoochlorelles montrant la constitution histologique d'un côté, noyau entouré de corpuscules métachromatiques, de l'autre, pyrénoïde entouré d'une zone anhyste. (Obj. n° 9, ocul. n° 1.)

Nota. — Le fin pointillé et les hachures qu'on remarque dans certaines figures accusent simplement les teintes vertes ou autres, sans rien représenter histologiquement.

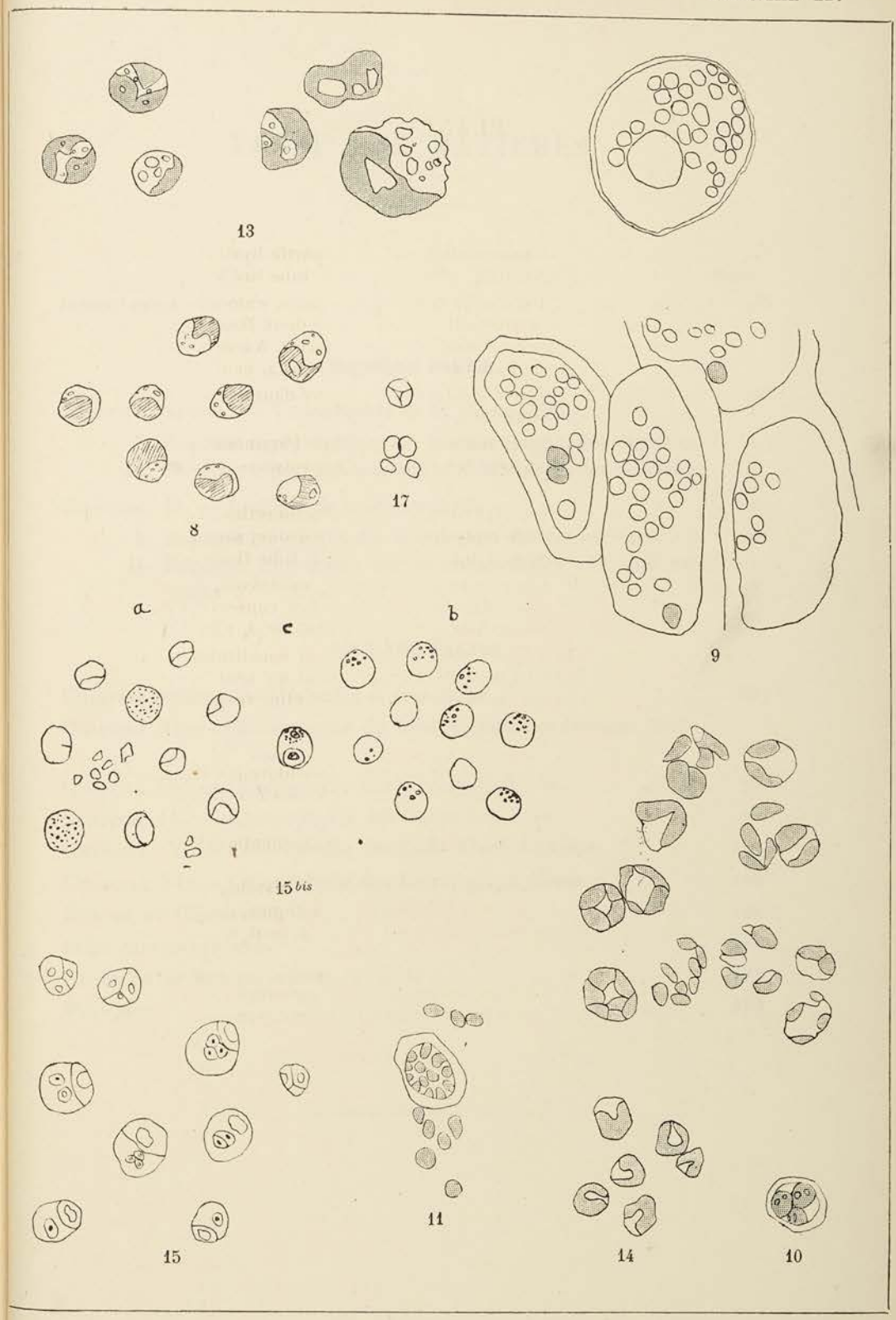


TABLE DES MATIÈRES

SECONDE THÈSE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

1° Botanique. — *Des familles par enchaînement. — Prendre comme type les Renonculacées.*

2° Géologie. — *Le système oligocène dans le Plateau Central Français.*

Lu et approuvé :
Les Membres du Jury :
C. DEPÉRET, R. DUBOIS,
R. GÉRARD.

Vu et approuvé :
Le Doyen,
C. DEPÉRET.

Vu et permis d'imprimer :
Lyon, le 22 Février 1907.
Le Recteur,
P. JOUBIN

Lyon. — Imprimerie A. Rey et Cie, 4, rue Gentil. — 46044

THÈSES
DE LA FACULTÉ
DES SCIENCES
DE LYON

10

1906-1907