

Sur l'assimilation chlorophyllienne

(Nouvelles recherches.)

par

Ch. Bernard,

Docteur ès Sciences.

Dans une note publiée l'an dernier¹⁾, j'indiquais le résultat de mes recherches sur l'assimilation en dehors de l'organisme. Après avoir relevé l'importance prise en ces derniers temps par les ferments, je rappelais brièvement que Friedel avait obtenu une décomposition de CO_2 accompagnée d'un dégagement corrélatif d'O, tandis qu'au contraire ces expériences, répétées par Harroy d'une part et Herzog de l'autre, n'avaient donné que des résultats négatifs. Friedel lui-même, reprenant ses recherches, n'eut pas de résultats bien convaincants; seul Macchiati prétendit avoir réalisé les conditions nécessaires pour que des quantités notables d'O soient dégagées par suite de la décomposition de CO_2 .

J'ai résumé et discuté les données de ces auteurs dans ma précédente note, et je n'y reviendrai pas ici, pas plus qu'aux méthodes que j'utilisai et dont j'ai déjà exposé le détail: ce furent, outre les méthodes quantitatives de Friedel et de Macchiati, des méthodes qualitatives (par les réactifs de Schützenberger et d'Engelmann) permettant de déceler des traces d'O. Les résultats que j'obtins, en variant les conditions d'expérience et en travaillant sur diverses plantes, furent toujours négatifs: je ne pus jamais constater le moindre dégagement d'O.

A peu près au moment où paraissait mon premier travail, M. Molisch²⁾ publiait un mémoire sur ce sujet et aboutissait aux mêmes conclusions que moi. Ayant reconnu la nécessité de travailler avec un réactif très exact, il appliqua à ses recherches la méthode de Beijerinck, basée sur l'emploi de bactéries phosphorescentes; celles-ci, très vivement aérobies, ne sont lumi-

¹⁾ Bernard, Beihefte z. Bot. Zentralbl. XVI. 1904. I. p. 36.

²⁾ Molisch, Bot. Zeitung. 1904. Heft V.

neuses qu'en présence d'O. Cette méthode serait si sensible, dit Beijerinck, qu'elle pourrait déceler la molécule d'Oxygène.

Le *Micrococcus phosphoreus*, obtenu facilement de la viande, trié en milieu solide et inoculé dans un bouillon qu'il rend lumineux, devient obscur si on le prive d'O. Mais si le bouillon contenait une feuille vivante et si on l'exposait quelques instants à la lumière, la luminosité des bactéries réapparaissait, très intense.

Molisch, ayant ajouté au bouillon de la poudre chlorophyllienne (avec ou sans extrait glycérimé) retirée de diverses plantes, et ayant exposé le mélange à la lumière, ne put jamais constater le retour de la luminosité des bactéries. Il ne se dégageait donc pas les moindres traces d'O. Cependant des feuilles de *Lamium album*, séchées à température ordinaire dans un exsiccateur, ou plus rapidement dans l'étuve à 35°, puis réduites en poudre, provoquaient, il est vrai très faiblement, la luminosité du bouillon bactérien. L'expérience était négative si les feuilles avaient été séchées à plus haute température. Molisch conclut donc que l'assimilation est liée à la présence du plasma vivant. Pourtant le résultat positif, quoique peu convaincant, fourni par *Lamium*, permet d'espérer que l'avenir réalisera cet important problème de l'assimilation en dehors de l'organisme sous l'influence d'un ferment et par l'intermédiaire de la chlorophylle et de la lumière. Mais tous les efforts faits jusqu'ici pour isoler ce ferment ont été infructueux.

A la fin de ma précédente publication, je résumais en note les résultats positifs obtenus par Macchiati¹⁾ dans ses dernières recherches et qui semblaient plus concluants encore que les faits constatés antérieurement. Cet auteur attribuait à la température trop basse les résultats négatifs obtenus par plusieurs expérimentateurs. Il prépara en mars 1902 de la poudre de feuilles d'*Arum italicum* et en juillet 1902 de la poudre d'*Acanthus mollis*; en mars 1903, il exposa à la lumière des mélanges de poudre et d'eau et il obtint des dégagements considérables de gaz (22 cm³ pour *Acanthus* et 25 cm³ pour *Arum*). Mais ces dégagements n'avaient lieu que lorsque la température ambiante devenait assez élevée, et lorsque la poudre avait séjourné quelque temps dans l'eau. En outre, de la poudre mélangée à de l'extrait glycérimé, ne donnait aucun résultat positif.

Je veux citer ici l'opinion de Pollacci²⁾ qui se refuse à admettre les conclusions de Macchiati comme prouvées. Sans nier que Macchiati ait constaté un dégagement de gaz, Pollacci se demande si des corps organiques ayant séjourné 3 jours dans l'eau à 22° ne dégageraient pas des gaz en abondance, par suite de fermentations. Le fait que l'extrait glycérimé ne donne aucun résultat ne pouvait qu'appuyer cette supposition, la glycérine

¹⁾ Macchiati, Bull. soc. bot. ital. 1903. p. 196.

²⁾ Pollacci, Bull. soc. bot. ital. 5—6. 1903, — Nuovo Giorn. bot. ital. X. Nr. 1. 1903.

pouvant fonctionner comme liquide antiseptique. En outre, tant qu'il n'est pas prouvé irréfutablement que le gaz dégagé est de l'O et que cet O correspond à un volume égal de CO₂ décomposé, on ne peut affirmer que le dégagement gazeux soit en relation avec des phénomènes d'assimilation. Quoiqu'il en soit, conclut Pollaci, si la photosynthèse chlorophyllienne par des ferments est une hypothèse qui ne peut être repoussée *a priori*, elle est restée jusqu'ici dans le domaine des suppositions. La résolution de ce problème est de toute importance pour la physiologie, et les auteurs, avant de tirer des conclusions certaines et définitives, doivent opérer avec des appareils plus délicats, étudier attentivement les conditions d'expériences, et surtout augmenter le nombre de leurs observations.

D'autre part, M. Macchiati¹⁾ m'écrivait, peu après la publication de mon travail, pour m'adresser certaines objections et pour me conseiller de reprendre ces recherches en tenant compte exactement de ses indications. Il pensait que mes résultats négatifs dépendaient peut-être des plantes étudiées ou de l'époque de la récolte: la réaction pouvait être empêchée par la présence d'antiseptiques; quant à la modification que j'ai apportée à la manière de disposer l'expérience, il admettait bien qu'elle pût être avantageuse en principe, mais il pensait que j'aurais été prudent si, au moins pour une partie de mes expériences, je m'en étais tenu strictement à sa méthode: il insistait sur la nécessité d'utiliser seulement de l'eau distillée et de la poudre desséchée à moins de 100°. Il reconnaît encore que son appareil est quelque peu primitif; mais il lui a semblé bon de laisser les plantes dans des conditions aussi voisines que possible des circonstances naturelles. Il terminait en me disant que ses expériences avaient été suivies et contrôlées par des personnes compétentes et qu'il avait bon espoir de voir des résultats positifs venir sous peu confirmer ses observations.

J'ai donc suivi le conseil de M. Macchiati, et de Mars 1904 à Mars 1905, j'ai refait toute une série d'expériences²⁾. Je n'ai pas cru nécessaire de reprendre en détail les recherches dont j'ai déjà publié le résultat; je me suis contenté de tenir compte des objections qui me furent adressées et de faire en outre quelques expériences en appliquant la méthode préconisée par Molisch.

Je préparai, en mars-avril 1904, de la poudre d'épinard, de *Lamium album*, d'*Acanthus mollis*; je vérifiai toujours le pouvoir assimilateur des plantes vivantes au moment de la récolte, et je conservai aseptiquement la poudre verte, obtenue par dessiccation à des températures toujours inférieures à 100° (généralement à 50—80°; pour avoir une dessiccation rapide, comme je l'ai

1) Macchiati in litteris, Janvier 1904.

2) Bernard, Voir Bull. Herb. Boissier 1905 et Comptes Rendus Acad. Sc. Paris 1905. J'ai effectué ces nouvelles recherches à Genève et utilisé les appareils que M. le Prof. Chodat a aimablement mis à ma disposition.

indiqué dans ma précédente note, je plaçais les plantes dans des feuilles de papier buvard entre lesquelles passait un courant d'air chaud, dispositif adopté à Leiden pour sécher les plantes d'herbier).

Au mois d'avril, j'appliquai à ces poudres, mélangées à de l'eau et exposées à la lumière solaire; les méthodes que j'avais utilisées déjà pour mes recherches antérieures; je fis plusieurs expériences, soit par les méthodes de Friedel, de Macchiati, soit par les réactifs de Schützenberger, d'Engelmann, mais sans plus de succès que précédemment. Puisque ces procédés me donnaient toujours les mêmes résultats je n'ai pas continué à les employer et je m'en suis tenu aux indications de Macchiati.

Comme cet auteur l'avait fait, j'ai conservé aseptiquement la poudre de chlorophylle et je ne l'expérimentai de nouveau qu'après quelques mois: au mois d'août, alors que la température atteignait 22 - 25° et même plus.

Je mélangeais à 100 gr. d'eau distillée¹⁾ 2—3 gr. de poudre verte obtenue de l'une ou l'autre des plantes indiquées et j'ai disposé mes expériences comme suit:

16 août. Dispositif de Macchiati: éprouvettes surmontant des entonnoirs retournés dans de grands vases, le tout plein des liquides à étudier: eau + poudre verte d'épinard, d'*Acanthus* ou de *Lamium*.

Dispositif de Macchiati modifié: les entonnoirs sont retournés sur des cristallisoirs, de façon que tout le liquide prenne part à la réaction.

L'éprouvette et l'entonnoir contenaient au total 75—125 cm³ de liquide.

J'exposai les six appareils à la lumière directe du soleil; après quelques heures, je ne remarquai aucun changement; mais après 6 ou 7 heures, je pouvais voir dans l'un ou dans l'autre (plus rapidement dans ceux contenant le *Lamium*), des bulles de gaz se dégager. Ce pouvait être de l'oxygène; mais à première vue, il me semblait étrange que l'assimilation — si assimilation il y avait — ne se manifestât qu'après plusieurs heures d'exposition à la lumière.

Je pus constater que ce dégagement gazeux, peu considérable au début, continuait pendant la nuit. Après 24 heures, j'ai arrêté l'expérience; les éprouvettes contenaient, selon les mélanges mis en expérience, de 10 à 25 cm³ de gaz. Ayant retourné les éprouvettes et y ayant introduit une allumette incandescente, celle-ci s'éteignait; une flamme approchée du gaz l'allumait en produisant une petite détonation. L'éprouvette contenait donc non de l'oxygène, mais des gaz inflammables, sans doute H et

¹⁾ Dans toutes mes expériences, j'ai toujours utilisé de l'eau distillée: cela allait tellement sans dire que je n'avais pas cru devoir insister là-dessus et que je ne m'attendais pas à ce que M. Macchiati m'en fit l'objection.

CH_4 , souvent constatés dans les fermentations de substances organiques végétales. La teinte jaunâtre que prenait la chlorophylle durant l'expérience et la mauvaise odeur que dégageait le liquide, venaient encore confirmer l'idée qu'il s'agissait bien de fermentations. Dans toutes mes expériences précédentes, je n'avais que des faits négatifs; ceci me semble être un fait positif à opposer à ceux obtenus par Macchiati; en effet, travaillant dans les mêmes conditions que cet auteur, j'obtiens des dégagements gazeux comparables à ceux qu'il a obtenus; mais en les analysant, je vois qu'ils ne peuvent concorder avec sa théorie.

Le *Lamium* reste plus longtemps vert, mais développe une bonne quantité de gaz; l'épinard semble plus résistant à la fermentation: le gaz qu'il développe est généralement peu considérable, mais suffisant cependant pour permettre de reconnaître qu'il consiste en un gaz inflammable et non en O.

Des expériences semblablement disposées faites du 17—20 août me donnent des résultats identiques pour les diverses plantes étudiées. (*Lamium* entre autres me fournit 20 cm^3 de gaz pour 75 cm^3 du liquide mis en expérience).

Une nouvelle série établie du 18—22 août me donne toujours de forts dégagements de ce même gaz inflammable.

Mais je devais établir des expériences comparatives pour corroborer ces résultats:

Le 22 août je plaçai au soleil une série de trois entonnoirs contenant l'un de la poudre d'*Acanthus* + eau (toujours 2 gr. de poudre pour 100 gr. d'eau distillée) le 2^e de la poudre d'épinard + eau, le 3^e de la poudre de *Lamium* + eau.

Une deuxième série d'entonnoirs contenant respectivement les mêmes liquides, fut exposée à la lumière diffuse. Une 3^e série fut placée à l'obscurité; une 4^e fut exposée au soleil, mais j'avais ajouté au liquide $5 \frac{0}{10}$ de glycérine; une 5^e enfin fut exposée au soleil et contenait $1 \frac{1}{2} \frac{0}{10}$ de camphre pulvérisé.

Après quelques heures, un faible dégagement gazeux pouvait être constaté dans quelques tubes; (la température était de 22° à l'ombre). Après un jour, et surtout après deux jours, il y avait une quantité considérable de gaz dégagé, et autant dans les appareils placés à la lumière solaire directe ou diffuse que dans ceux placés à l'obscurité et que dans ceux contenant de la glycérine. Par contre, ceux contenant du camphre ne montraient pas trace de fermentation. Après 3 jours, j'interrompis l'expérience pour les 4 premières séries; toutes les éprouvettes contenaient $13—20 \text{ cm}^3$ de gaz pour $75—100 \text{ cm}^3$ de liquide mis en expérience. Dans certaines éprouvettes, j'ai traité le gaz dégagé par KOH, puis par le pyrogallol; la potasse me décéla généralement de faibles quantités de CO_2 , le pyrogallol ne me montra jamais d'O. Dans tous ces tubes, le gaz éteignait l'allumette incandescente et détonnait à l'approche d'une flamme.

Après 3—4 jours, il n'y avait pas encore de gaz dans les éprouvettes contenant du camphre, mais au bout de 5 jours l'an-

tiseptique n'était plus assez actif et la fermentation commençait.

Je répétais à plusieurs reprises ces mêmes expériences et toujours les résultats furent identiques; quand la température commença à baisser, au milieu de septembre, je pus constater que le fermentation se faisait beaucoup plus difficilement, et que le dégagement gazeux diminuait, jusqu'à cesser tout-à-fait.

Comme je l'ai dit plus haut, cela m'intéressait de poursuivre ces recherches dans le sens indiqué par Molisch et d'appliquer aux plantes que j'ai étudiées le réactif qu'il préconise. J'ai dû tout d'abord préparer des cultures pures de *Micrococcus phosphoreus* (Cohn) Molisch, et j'en ai obtenu en me basant sur les données très complètes fournies par Molisch dans son livre sur les plantes lumineuses¹⁾ et aussi sur des indications spéciales qu'il m'a très aimablement communiquées. Pour tous les détails de la méthode et pour tous les renseignements nécessaires sur les bactéries lumineuses, je renvoie le lecteur aux très intéressantes publications de M. Molisch.

J'ai donc préparé des bouillons très lumineux et où les bactéries montraient très vivement leur sensibilité vis-à-vis de l'oxygène: dans les tubes de cultures, les ménisques seuls étaient lumineux, mais la luminosité gagnait tout le liquide si j'agitais très faiblement le tube. Dans des flacons complètement remplis de bouillon lumineux et hermétiquement clos, la luminosité disparaissait assez rapidement, mais réapparaissait dès que j'ouvrais le flacon.

Avec ces cultures, j'ai fait les expériences suivantes: Septembre, 1904: j'ai mélangé à de l'eau distillée de la poudre d'épinard, (4 gr. de poudre pour 100 cm³ d'eau) et j'ai mis dans de petits flacons bouchés à l'émeri 1 partie de ce mélange + 1 partie d'un bouillon très lumineux.

J'ai préparé d'autres flacons avec de la poudre d'*Acanthus* et de *Lamium*. (C'était toujours de la poudre séchée à 50—80° en Mars 1904). J'avais constaté au préalable que le bouillon bactérien n'est pas préjudiciable aux plantes vivantes: j'avais exposé au soleil des flacons contenant du bouillon lumineux et des feuilles d'épinard, d'*Acanthus* ou d'*Elodea*; les flacons étant bouchés hermétiquement, et pour plus de sûreté ayant été paraffinés, les bactéries s'éteignaient très vite à l'obscurité. Mais, exposées quelques minutes à la lumière du soleil, l'O dégagé par le phénomène assimilateur leur rendait une très vive luminosité.

Les flacons contenant la poudre furent laissés à l'obscurité jusqu'à ce que leur luminosité eût complètement disparu, puis exposés plus ou moins longtemps à la lumière solaire. Dans aucun, pas plus dans ceux contenant de la poudre de *Lamium* que dans les autres, le réactif ne me montra le moindre dégagement d'O.

¹⁾ Molisch, Leuchtende Pflanzen. Jena, 1904.

Les mêmes expériences, répétées à 3 reprises et dans les mêmes conditions en octobre 1904, janvier et mars 1905, me donnèrent toujours des résultats identiques.

En Septembre 1904, je préparai de nouvelles poudres, en séchant à 80° pendant plusieurs heures, de l'Epinard et du Raiponce. Ces poudres, expérimentées de suite, dans les mêmes conditions que ci-dessus, ne dégagèrent pas trace d'O. Cependant les plantes fraîches assimilaient très vivement.

En Décembre 1904, j'ai broyé des feuilles d'Epinard avec du sable et un peu de glycérine, puis j'ai exprimé le suc, que j'ai filtré aussitôt au filtre de porcelaine.

J'ai préparé de même un extrait glycéринé de feuilles de Raiponce et j'ai d'autre part fait sécher des feuilles de l'une et l'autre plantes à 80° pour en obtenir de la poudre.

J'ai mis dans des flacons:

	Raiponce vivant	+	bouillon lumineux				
	Epinard	"	+	"	"		
poudre	de Raiponce	+	1 partie	extrait	+	1 partie	bouillon
"	d'Epinard	+	"	"	+	"	"
"	de Raiponce	+	"	eau	+	"	"
"	d'Epinard	+	"	"	+	"	"

Un flacon de chaque série était placé à la lumière solaire, l'autre à l'obscurité. Les deux flacons contenant des plantes vivantes donnèrent seuls un dégagement d'O, constaté par le retour de la luminosité des bactéries.

Tous les autres me donnèrent des résultats négatifs: qu'ils aient été exposés à la lumière ou qu'ils soient restés à l'obscurité, dans aucun les bactéries ne redevinrent lumineuses.

En Mars 1905, j'ai préparé comme ci-dessus de l'extrait glycéринé d'Epinard et d'*Elodea* et de la poudre de ces mêmes plantes, séchées à moins de 80°. J'ai disposé mes expériences comme celles du mois de décembre et elles m'ont donné des résultats identiques: tandis que les plantes vivantes exposées à la lumière rendaient une très vive luminosité aux bactéries, les mélanges de poudre et d'eau, ou de poudre et d'extrait ne montraient pas le moindre dégagement d'oxygène.

L'expérience plusieurs fois répétée me donna toujours les mêmes résultats.

En somme, je crois pouvoir, sur ces nouvelles expériences, discuter les objections que M. Macchiati m'a adressées. Je ne pense pas que les résultats négatifs obtenus dépendent des plantes utilisées ou de l'époque de la récolte, puisque j'ai travaillé avec diverses plantes, un peu à toutes les saisons de l'année et à toutes les températures; en outre, si la fonction chlorophyllienne est le résultat d'une action diastatique, du moment que les feuilles vivantes fonctionnaient, elles devaient posséder le ferment présumé.

Macchiati pense que les antiseptiques peuvent avoir été désavantageux pour mes expériences; mais j'ai dit¹⁾ que je n'en utilisais pas lorsque mes essais étaient faits de suite, mais seulement quand je devais attendre un jour ou deux pour employer le suc. D'ailleurs, nombre d'auteurs qui ont travaillé sur les ferments ont utilisé des antiseptiques, et notamment le camphre ou le toluol, sans que les ferments aient été gênés dans leurs actions. D'autre part, si l'on veut faire des expériences de cette nature en été, il est absolument nécessaire d'ajouter aux liquides à étudier un antiseptique faible, afin que des fermentations ne viennent pas fausser les résultats.

Je ne mets pas en doute que Macchiati ait obtenu des dégagements gazeux. Mais, comme j'ai essayé de le montrer ci-dessus, je me demande si ces gaz étaient bien conformes à ceux que la théorie exigerait. Car cet auteur n'a pas recherché quelle était la composition du gaz avant et après l'expérience, il n'a pas indiqué comment, avec son appareil par trop simple, il arrivait à récolter les gaz pour les soumettre à une analyse rigoureuse. Macchiati me dit que s'il a utilisé un appareil peu compliqué, c'était pour s'éloigner le moins possible des conditions naturelles. Je ne suis pas de cet avis, et je pense que ce n'est pas avec un appareil très primitif que nous nous rapprochons le plus des circonstances où se trouve la chlorophylle pour assimiler dans la plante vivante; je crois au contraire que, si les expériences faites pour réaliser la photosynthèse en dehors de l'organisme, n'ont donné que des résultats négatifs, c'est que nous n'avons pas encore réussi à soumettre la chlorophylle aux conditions complexes qu'elle rencontre dans une cellule.

Molisch, il est vrai, a eu, avec une méthode très précise, un résultat qu'on pourrait opposer à ceux que j'ai obtenus; Molisch lui-même considère comme douteuse cette donnée positive; dans ce cas, dit-il, il semble qu'on puisse parler d'une assimilation *post-mortem*; car les feuilles de *Lamium album* qui ont servi dans cette expérience étaient certainement mortes.

Comme je suppose que tous les insuccès sont dûs au manque d'une méthode convenable pour extraire le ferment — car je suis partisan de l'hypothèse de l'assimilation par un ferment — il se pourrait que nous fussions là en présence d'une méthode, qu'il faudrait perfectionner pour la rendre convenable. Mais est-il bien certain qu'on puisse vraiment parler d'assimilation *post-mortem*?

Ces feuilles, séchées à la température ordinaire ou en tout cas à moins de 35°, étaient-elles bien décidément mortes? Et si les cellules étaient tuées, n'est-il pas possible qu'il soit resté dans les cellules des parties qui n'aient pas été atteintes par la chaleur ou la dessiccation? par exemple le stroma protoplasmique des grains de chlorophylle n'aurait-il pas pu rester vivant?

¹⁾ Bernard, Beihefte p. 45.

Ne cite-t-on pas des exemples de plantes soumises à de grands froids, à des températures assez élevées, ou à une dessiccation complète et qui, replacées dans les conditions normales de température et d'humidité, reprenaient toutes leurs fonctions? Il se pourrait que le *Lamium album*, que toute sa biologie caractérise comme une plante très résistante, fût dans le même cas, et que ses grains de chlorophylle, tués en apparence par une forte dessiccation, reprissent, quand on les remet dans l'eau, une partie de leur fonction; (car Molisch remarque que le dégagement d'oxygène est en tout cas très affaibli). Ce cas isolé n'est donc pas encore convaincant.

En résumé, je crois pouvoir placer, à la fin de ce travail, des conclusions identiques à celles que j'ai formulées précédemment et que mes nouvelles expériences viennent appuyer d'arguments nouveaux: Des résultats négatifs ne peuvent pas fournir de preuve contre l'hypothèse de l'intervention d'un ferment dans le processus assimilateur; au contraire, il est permis de supposer que, par d'autres méthodes, par d'autres réactifs, on arrivera à démontrer que l'assimilation a lieu par un procédé diastatique et qu'on réussira à réaliser en dehors de l'organisme la décomposition de CO_2 . Mais on peut dire que, dans l'état actuel de nos connaissances, cette donnée n'est encore qu'une hypothèse, et que certains auteurs ont hâtivement homologué des dispositifs expérimentaux trop simplistes à cet appareil compliqué qu'est une cellule assimilatrice.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Botanisches Centralblatt](#)

Jahr/Year: 1906

Band/Volume: [BH_19_1](#)

Autor(en)/Author(s): Bernard Ch.

Artikel/Article: [Sur l'assimilation chlorophyllienne \(Nouvelles recherches.\) 59-67](#)