Recherches sur les méthodes de mesure de photosynthèse chez les plantes aquatiques submergées.

Par

FRANCISZEK GÓRSKI.

§ 1. Le problème.

Parmi les méthodes employées dans les recherches photosynthétiques, celle qui consiste à compter les bulles s'échappant des sections des tiges des plantes aquatiques ou, plus généralement, le volume dégagé dans l'unité de temps est une des plus simples et des plus sensibles. Toutefois la présence, facile à constater, d'azote ou de dioxyde de carbone dans les bulles pourrait à juste titre rendre suspects les résultats obtenus par cette méthode.

Se plaçant à un point de vue presque exclusivement théorique et partant des propriétés des gaz dissous dans l'eau, Godlewski père (1) entreprit, dans un mémoire paru en 1874, l'étude de cette question. Dans une plante aquatique en voie d'assimiler, nous pouvons distinguer plusieurs courants gazeux ou de diffusion gazeuse et nous désignons:

par V , le volume total des gaz s'échappant en forme de bulles en unité de temps;

par O , la quantité totale d'oxygène décomposé par la plante en unité de temps;

par w , la partie de O absorbée en unité de temps par l'eau ambiante et qui, par conséquent, ne s'échappe pas sous forme de bulles;

par n , la quantité d'azote qui, venant de l'eau, pénètre dans les lacunes de la plante en unité de temps et s'échappe sous forme de bulles et que nous appellerons invasion azotée;

par c , la quantité analogue de dioxyde de carbone.

Cela étant, il est évident que les quantités définies ci-dessus sont liées entre elles par la relation suivante:

$$V = O + n + c - w.$$

En effet, le volume des bulles doit nécessairement être égal au total des volumes de l'oxygène dégagé, de l'azote et du dioxyde de carbone, qui ont pénétré dans les lacunes, total diminué de la quantité d'oxygène qui s'échappe directement des cellules pour passer dans l'eau.

Désignons pour abrégé par K la quantité $n + c - w$. D'après l'examen détaillé de Godlewski, la valeur de K dépend d'une part de l'intensité assimilatrice de la plante et de l'autre de l'état de saturation de l'eau par les gaz atmosphériques et par le dioxyde de carbone. A condition d'employer de faibles concentrations de dioxyde, l'influence de ce gaz peut être négligée. Par contre, la valeur de n , soit l'invasion de l'azote est d'autant plus grande, que l'eau en contient de plus grandes quantités (à cause de l'augmentation des différences des concentrations entre l'eau et la plante). Au contraire, la valeur de w est d'autant plus basse que l'eau est plus riche en oxygène. L'intensité d'assimilation n'exerce selon Godlewski qu'une faible influence sur w . L'oxygène étant difficilement soluble dans l'eau, la couche d'eau entourant la plante est rapidement saturée d'oxygène. Il s'ensuit que la valeur de w ne peut dépasser une certaine limite.

Si K était toujours égal à zéro, la méthode des bulles donnerait des résultats parfaitement exacts. Mais, en général, il faut s'attendre à ce que K soit différent de zéro. Il s'ensuit que la méthode en question ne saurait donner de résultats exacts, non seulement quand il s'agit de mesures absolues, conformes à l'égalité $V = O$, mais aussi quand nous sommes en présence de mesures relatives pour lesquelles il suffit de satisfaire à la relation suivante:

$$\frac{V}{V_0} = \frac{O}{O_0}$$

L'index 0 se rapporte à des valeurs fixes de V et de O , prises comme valeurs standards avec lesquelles on compare d'autres valeurs de V et de O . Godlewski suppose que les valeurs standards équivalent aux volumes de gaz dégagés par unité de temps dans les conditions les plus favorables. Il conclut qu'en employant de l'eau légèrement chargée de dioxyde de carbone et contenant des quantités d'oxygène et d'azote normales, il est probable que l'erreur commise est

d'autant plus grande que l'assimilation est plus faible. La plante dégagerait donc relativement trop de bulles pour une lumière de faible intensité. Certaines considérations qu'il est possible de déduire des formules de Godlewski et qu'il serait trop long d'exposer en détail, permettent de supposer que l'erreur commise ne sera pas considérable, de sorte que la méthode des bulles pourrait être employée avec succès dans les recherches photosynthétiques, à condition toutefois d'éviter soigneusement l'emploi d'eau sursaturée de gaz atmosphériques et d'éliminer tous les facteurs pouvant conduire à une sursaturation (changement de température, concentration trop forte du dioxyde).

Nous voulons insister sur cette circonstance qu'au point de vue auquel se place Godlewski, l'azote que renferment les bulles est considéré comme l'équivalent, exact ou non, de l'oxygène absorbé par l'eau. Ce point de vue peut être qualifié de conception volumétrique ou compensatoire.

L'insuffisance des méthodes microchimiques à l'époque où parut le mémoire mentionné, fut la cause qu'il fallut attendre longtemps avant d'obtenir une confirmation expérimentale directe des vues de Godlewski. La vaste travail de Devaux (1889) ne s'occupe pas, il est vrai, de questions de méthodes photosynthétiques, toutefois ses résultats concernant la rapidité et les conditions des échanges gazeux entre la plante et l'eau ont confirmé l'existence des courants de diffusion gazeuse admis par Godlewski.

Ce n'est cependant qu'en 1915 que le problème fut abordé expérimentalement par H. Kniep. Au moyen de la pipette microchimique de Krogh il analysa les bulles de gaz développées par différentes plantes aquatiques. Comme source lumineuse, il employait la lumière du jour. Les plantes plongeaient dans une solution de bicarbonate de potassium à 1%. Les résultats des recherches de Kniep relatives à cette question peuvent être résumés comme il suit:

- 1) les bulles de gaz contiennent un faible pour-cent de dioxyde de carbone, s'élevant à environ 2%,
- 2) elles contiennent un pour-cent très fort d'azote, égal à 45—80%,
- 3) elles renferment un pour-cent considérable, cependant plus faible d'oxygène, égal à 20—55%,
- 4) le pour-cent d'oxygène est d'autant plus élevé que le développement des bulles est plus intense.

Nous passons directement aux conclusions relatives à la méthode et renvoyons le lecteur au mémoire original pour les détails du mécanisme, proposé par Kniep pour expliquer la présence de l'azote et

les variations du taux d'oxygène. Nous nous bornons à observer que l'explication de cet auteur ne s'écarte pas essentiellement de celle de Godlewski et qu'elle s'appuie sur les différences de la concentration des gaz en question entre l'eau et les lacunes créées par l'activité assimilatrice de la plante.

"Après avoir montré — dit Kniep — que les variations de la teneur des bulles en oxygène sont très considérables, nous devons conclure que le procédé consistant à compter les bulles comme mesure relative, ne saurait être appliqué qu'entre des limites très étroites. On s'approche plus de la vérité, en tenant compte de la teneur des bulles en oxygène, c'est-à-dire en les analysant". Encore faut-il prendre garde à ce que les analyses se rapportent aux bulles qui ont atteint une composition chimique constante. "Cependant, même alors — continue Kniep — on n'obtiendra pas de valeurs comparables exactes; la diffusion à travers l'eau non agitée de l'oxygène dégagé directement dans l'eau ambiante étant lente, il s'ensuit que relativement plus d'oxygène pénétrera dans les lacunes intercellulaires, lorsque l'assimilation est plus intense, que quand elle est plus faible".

Si l'on veut connaître les quantités totales d'oxygène décomposé, il faut encore tenir compte de l'oxygène directement absorbé par l'eau. Kniep montre expérimentalement qu'il s'agit là de fortes quantités¹⁾.

Kniep se place au point de vue de composition chimique. L'idée que l'azote puisse être considéré comme équivalent de l'oxygène absorbé par l'eau est étrangère à ses raisonnements.

Les conclusions de Kniep équivalent au fond à la suppression de la méthode des bulles d'entre les méthodes photosynthétiques quantitatives. En nécessitant un temps d'expérimentation prolongé, le dosage de l'oxygène absorbé par l'eau, prive cette méthode de ses principales qualités, notamment de sa simplicité et de sa rapidité. Ces conclusions nous paraissent trop pessimistes, en particulier la thèse, suivant laquelle on peut obtenir des résultats plus exacts en analysant les bulles, nous paraît prématurée. C'est la raison pour laquelle nous avons cru utile d'entreprendre des recherches sur la précision de la méthode en question, d'autant plus que dans les dernières années on y a introduit deux améliorations (4, 5).

Dans le présent travail, nous ne publions qu'une partie des résultats de nos recherches: nous avons comparé deux modifications

¹⁾ Kniep l. c. page 480.

de la méthode en question, dont la première, plus ancienne, consiste à prendre comme base de mesure le volume total, tandis que l'autre, recommandée par Kniep, s'appuie sur le volume de l'oxygène contenu dans les bulles.

§ 2. L'appareil employé.

Malgré la simplicité de sa construction, la pipette de Krogh¹⁾ est d'un emploi difficile et encombrant lorsqu'il s'agit d'exécuter des analyses nombreuses. Nous l'avons donc modifiée convenablement et remplacée par un dispositif plus compliqué mais plus commode (Fig. 1). L'appareil employé se compose de plusieurs parties que nous voulons décrire en détail.

a) Le tube capillaire *K*. Ce tube employé aux mensurations est recourbé sous un angle droit. La branche verticale longue de 6 cm, porte à son extrémité un renflement *A* qui plonge dans l'eau *MM* et qui est destiné à recevoir les gaz que l'on se propose d'analyser. De même que l'appareil entier, l'autre branche est fixée à une planchette aux moyen de bandes en caoutchouc.

b) Le tube d'absorption *T*. Les absorptions se font dans l'évasement conique de la branche horizontale du tube capillaire, soudée à une ramification très courte d'un autre tube en forme de *T* (diamètre de la lumière environ 5 mm). Les deux autres extrémités du tube *T* communiquent au moyen de tuyaux en caoutchouc très courts avec les robinets *C* et *D*. Le premier est relié au récipient contenant le réactif chimique, le second communique avec le récipient *E*. Le tube *T* porte en outre une ramification latérale *G*, formée par un tube relativement étroit (1—2 mm de diamètre, 4 cm de longueur).

Pour permettre au réactif de pénétrer plus facilement dans le renflement *X*, on peut intercaler un injecteur *I* entre le robinet *C* et l'extrémité correspondante du tube *T*. Cet injecteur est formé d'un tube de verre très court (1.5 cm) de même diamètre que *T*, auquel est soudé un autre tube, beaucoup plus mince que l'on peut introduire dans le tube *T*. Ce tube doit être assez long pour atteindre l'évasement *X*. Le tube plus large de l'injecteur est relié au tube *C* et au robinet *C* au moyen de courts tuyaux de caoutchouc.

¹⁾ Sur la pipette de Krogh voyez par exemple: Krogh A. 1908, On the mikro-analysis of gases. Skand. Archiv. f. Physiol. vol. 20. — Kniep, H. Handwörterbuch der Naturwissenschaften article Photosynthese. — Grafe, V. 1914, Ernährungspysiologisches Praktikum der höheren Pflanzen. — Donau, J. Arbeitsmethoden der Mikrochemie, Stuttgart 1913.

Fig. 1.

Appareil permettant d'analyser les bulles de gaz dégagées par les plantes (Pour l'explication des lettres v. le texte).

c) Échelle. Le tube capillaire repose sur deux morceaux de liège, d'environ 1 mm d'épaisseur, collés à la planchette à proximité du coude et de X . Dans la fente entre le tube et la planchette se trouve une division graduée en carton ou en cellulose, mobile, longue de 8 cm. qu'il est possible de déplacer horizontalement au moyen de la vis S et du levier H . Un ressort ou une bande élastique Q assure le déplacement de la division, quand on fait tourner la vis en sens inverse. Les deux petites vis s_1 et s_2 empêchent la division de tomber. Le vernier N_1 qui n'est pas indispensable, permet de déterminer les longueurs à 0.1 mm près.

d) Le récipient contenant le réactif chimique peut être d'une construction plus ou moins compliquée. Lorsque le réactif ne se combine pas avec l'air, on peut employer n'importe quel récipient. Quand il en est autrement, il faut se servir d'un dispositif spécial, permettant d'isoler le réactif et de le faire communiquer avec l'atmosphère. En effet, si toute communication avec l'air était supprimée, il serait impossible de faire passer la plus petite quantité du réactif dans le tube T . Cet obstacle a été écarté de la manière suivante.

Le court tube d'écoulement d'un entonnoir à séparation L est relié par un étroit tuyau en caoutchouc (3—4 mm. de diamètre) à une ramification latérale du tube R , composé de deux pièces. La large pièce supérieure (8—10 mm. de diamètre) est soudée à la pièce inférieure beaucoup plus étroite, mais plus longue (20—30 cm.), légèrement évasée à son extrémité inférieure. L'extrémité supérieure de R est fermée par un tube en caoutchouc bouché par une baguette de verre. L'ouverture de l'entonnoir L est fermée par un bouchon hermétique que traverse un tube qui communique avec le robinet C_1 . Dans l'entonnoir L se trouve le réactif, le tube R et le tube en caoutchouc sont remplis d'eau. L'étroitesse de ces tubes rend le mélange des liquides très difficile, voire même impossible lorsqu'on ferme le robinet C_1 .

e) Dispositif permettant d'arrêter la circulation du liquide dans l'appareil. La branche G du tube T communique avec le robinet à trois voies B . Les deux autres branches du robinet communiquent l'une avec le récipient F placé au-dessous du niveau MM , l'autre avec le récipient P placé au même niveau que MM . Ce dernier récipient est mobile, c'est-à-dire qu'on peut le baisser ou l'élever au moyen du levier O et du contrepoids U . En se servant du robinet B , on peut faire communiquer:

1) le tube capillaire et le récipient F ; dans ce cas-là, l'eau passe de MM à F en raison de la différence des niveaux. Nous dirons dans ce cas que le robinet est ouvert,

2) le tube capillaire et le récipient P ; dans ce cas là, toute circulation du liquide est arrêtée à cause de l'égalité des niveaux. Nous dirons que le robinet est fermé. On ne se sert pas de la communication qu'il est possible d'établir entre P et F .

f) Le récipient E sert à remplir plus facilement l'appareil et à évacuer le gaz non absorbé. Il est fermé par un bouchon par lequel passent deux tubes, dont l'un allant jusqu'au fond et relié au robinet C , l'autre très court, prolongé d'un tube en caoutchouc, par lequel on aspire dans l'appareil l'eau ou le réactif.

g) Le tube capillaire, le tube T et les robinets C et D , sont fixés au moyen de bandes de caoutchouc à une planchette d'une forme appropriée. Une bande fixe le tube capillaire près du coude, les deux autres immobilisent les robinets, pour lesquels des trous d'une grandeur appropriée sont percés dans la planchette. Ils sont fixés encore plus solidement au moyen de listeaux vissés dans la planchette. Celle-ci porte au dos deux pinces de bois, analogues à celles qu'on emploie en photographie pour sécher les films. Tout en fixant la planchette à la barre d'un support, ces pinces pourvues de ressort permettent de faire tourner facilement la planchette autour d'un axe vertical.

Le maniement de l'appareil:

a) On fixe la planchette avec le tube capillaire sur un support métallique. Sur la même barre on peut fixer au moyen d'une pince spéciale le robinet à trois voies B , un peu au-dessous de la vis S . Un autre support est destiné à recevoir le reste de l'appareil que l'on fixe au moyen de pinces appropriées. Le levier O doit tourner avec frottement autour de son axe de façon à permettre au récipient P d'occuper en permanence n'importe quelle position. Il est avantageux de placer ce second support de façon à ce que la ficelle du contrepoids U soit rapprochée de la vis S . Le niveau de d'eau dans le récipient M doit être supérieur à celui de F .

Après avoir ouvert les robinets B et D , en aspirant l'air par le tube W , on remplit l'appareil d'eau provenant de F et en partie de M . En fermant le robinet B , on évacue de la même manière l'air du tube qui relie le robinet B à P . Ensuite on procède à l'introduction du réactif dans le tube T . On commence par placer au moyen d'une petite pipette une bulle d'air dans l'évasement inférieur de R . On ouvre les robinets D , C , C_1 , et en aspirant par W on fait passer le réactif de L à T . A mesure qu'il s'écoule, une quantité équivalente d'eau pénètre de R en L . La bulle d'air monte dans le tube R et permet d'évaluer la quantité du réactif qui vient d'être aspirée

dans T . Ce procédé est surtout pratique, quand il s'agit de remplacer le réactif usé dans les analyses par une nouvelle quantité de celui-ci. On peut également remplir le tube T en ouvrant les robinets B , C , C_1 . Il est cependant nécessaire d'établir une différence de niveaux suffisante entre les récipients R et F . Quand le robinet B est fermé, grâce à l'égalité des niveaux de l'eau dans M et P , le réactif ne pénètre pas dans le tube capillaire. L'appareil est prêt à servir aux analyses.

b) La plante, liée à un tube de verre ou immobilisée au moyen d'un support en verre représenté sur la figure, plonge dans le récipient M . En faisant tourner d'un petit angle la planchette avec le tube capillaire autour de l'axe du support, on arrive à placer l'évasement A au-dessus de la tige, de façon à recueillir les bulles qui s'en dégagent. Après un temps donné, 1—5 minutes suivant les circonstances, on déplace légèrement de la même manière l'évasement A et les bulles s'échappent dans l'air. On ouvre alors le robinet B et le gaz de A est aspiré dans le tube capillaire. En fermant B , on arrête instantanément la circulation du liquide. Le gaz, en forme de longue colonne, occupe dans le tube capillaire l'espace au-dessus de la division mobile. Si le gaz continue à se déplacer dans un sens ou dans l'autre, on l'arrête définitivement en élevant ou en abaissant un peu le récipient P . On arrive encore plus facilement au même résultat, en recueillant dans A une ou plusieurs bulles dégagées par la plante. Par suite du jeu des forces capillaires, cette bulle bouche le tube capillaire et assure une immobilité complète au liquide. Au moyen d'une loupe et de la division mobile on détermine la longueur de la colonne de gaz. Lorsqu'on a l'oeil exercé, autrement à l'aide du vernier N_1 , on peut déterminer les longueurs à 0.1 mm. près. On ouvre ensuite le robinet B , le gaz se met en mouvement et se rassemble dans l'évasement X . En ce moment, on ferme le robinet B et l'on fait monter un peu (de 3—5 cm) le récipient P . Le gaz qui prend la forme d'une bulle conique adhérente aux parois, entre en contact avec le réactif. Dans nos recherches, nous avons employé du pyrogallate de potassium qui, comme on le sait, absorbe avidement l'oxygène.

Après un certain temps (deux minutes au moins), en faisant monter P , puis en l'abaissant au niveau MM , on introduit dans le tube capillaire le gaz non absorbé (l'azote). La différence entre la longueur de la colonne telle qu'on l'a notée auparavant et celle qu'on détermine à présent correspond à l'oxygène absorbé.

Pendant que la bulle est en contact avec le réactif, il est indiqué pour des raisons d'économie de temps, de recueillir une nouvelle portion de gaz dans *A* en remplaçant l'extrémité du tube capillaire au-dessus de la tige de la plante. En effet, la présence d'une autre bulle dans *A* n'exerce pas d'influence sur l'analyse de la première bulle. Celle-ci une fois terminée, on ouvre *B* et on introduit la seconde bulle dans le tube capillaire, tandis que la partie non absorbée de la première bulle s'échappe dans le tube *T* et s'arrête au-dessous du robinet *D*. Le petit diamètre du tube *G* (1–2 mm.) amortit les mouvements trop brusques du liquide lorsqu'on fait monter *P*.

c) A mesure que les analyses avancent, le réactif, dilué du reste par l'eau venant de *M*, est voué à l'usure. On peut sans danger d'absorption incomplète, faire avec du pyrogallate de potassium 15–20 analyses, sans qu'on ait besoin de le renouveler. Comme on l'a dit plus haut, on introduit une nouvelle portion de réactif en ouvrant les robinets *C*, *C*₁, et *B* ou *D*. Il est inutile d'introduire à la fois plus de 1 cm³ de réactif.

En cas d'interruption des analyses, il est indiqué de laisser dans *X* la dernière bulle analysée. On empêche ainsi la diffusion du réactif dans le tube capillaire et dans *M*, diffusion qui peut avoir lieu à la longue, surtout lorsque *P* est placé un peu au-dessus du niveau *MM*.

A mesure que les analyses progressent, le réactif dans *L* devient de plus en plus dilué, de sorte qu'il est nécessaire de le renouveler après un certain temps. On peut faire jusqu'à 1000 analyses sans le changer. De même il faut évacuer de temps en temps le gaz rassemblée dans la partie supérieure de *R* et au-dessous du robinet *B*.

Lorsqu'on démonte l'appareil, il faut laver le tube capillaire avec de l'eau distillée ou de l'alcool, pour éviter la formation de sédiments qui pourraient le boucher en permanence.

La précision des mesures. *a* et *b* désignant les longueurs des colonnes de gaz, proportionnelles aux volumes, on calcule le pourcentage d'azote d'après la proportion $a : b = 100 : \%N$. Il est évident et il serait facile de le démontrer par des formules spéciales que les mesures sont d'autant plus exactes que les valeurs de *a* sont plus élevées. Dans nos recherches, nous avons généralement travaillé avec des colonnes de gaz de 40–60 mm. Même dans ce cas-là, les longueurs étant déterminées à 0.1 mm près, on peut s'attendre à des écarts s'élevant jusqu'à 0.3%. Pour d'autres raisons encore, ils peuvent en réalité dépasser cette limite.

En effet, l'absorption incomplète de l'oxygène est une première source d'erreurs. Aussi le gaz doit-il rester en contact avec le réactif au moins deux minutes.

Il semblerait qu'en employant des tubes très étroits, dans lesquels les colonnes de gaz seraient très longues, on obtiendrait des résultats plus précis. C'est cependant une opinion erronée. Les frottements du liquide contre les parois atteignent des valeurs considérables dans des tubes pareils et empêchent le gaz d'occuper le volume qu'il devrait prendre dans les conditions données de température et de pression barométrique. On sait, en effet, que le frottement d'un liquide dans un tube est proportionnel à la quatrième puissance de la valeur réciproque du rayon (loi de Poiseuille). Les tubes capillaires de nos appareils mesuraient 0·2—0·3 mm de diamètre. Le tube avec lequel la plupart de nos recherches a été exécutée, avait un diamètre de 0·24 mm. 1 mm³ de gaz occupe une longueur de 22·1 mm. Les bulles analysées avaient par conséquent un volume de 2—3 mm³.

Disons enfin quelques mots de l'influence de la température sur l'exactitude des mesures. On prend soin en général d'entourer les tubes à mensuration, d'une colonne d'eau protégeant l'appareil contre les variations de la température. Dans le cas qui nous occupe, nous avons renoncé à cette complication. Les dimensions de l'appareil étant réduites et le temps séparant les deux phases d'une analyse étant très court, nous avons pensé que les changements insignifiants de la température du milieu ambiant seraient sans influence sur le volume des gaz. C'est le frottement du liquide dans le tube capillaire et non les variations de température qui est la source principale d'erreurs.

Nous donnons à titre d'exemple le série suivante d'analyses exécutées avec de l'air.

Tableau I.
Analyses de l'air.

air	43·5	55·1	65·4	43·4	42·4	84·8	57·6	61·6	61·7	48·4
azote	34·4	43·7	51·8	34·3	33·6	67·0	45·6	48·7	48·8	38·4
% azote	79·1	79·3	79·2	79·0	79·2	79·0	79·2	79·1	79·1	79·1

Nous voyons que les écarts ne dépassent pas 0·3⁰/₀.

L'avantage principal de l'appareil décrit ci-dessus consiste à permettre d'exécuter toutes les 4 ou 5 minutes des analyses rapides et suffisamment exactes. On peut suivre de la sorte de très près les variations du nombre des bulles ou du taux d'oxygène en fonction

du temps. Les mouvements de l'eau, dans laquelle plonge la plante, et qu'on doit éviter soigneusement¹⁾, sont réduits au minimum. L'appareil est surtout très commode dans les recherches où, pour empêcher la diffusion des gaz, l'eau est recouverte d'une couche de paraffine.

Par contre, le grand inconvénient de l'appareil réside dans l'impossibilité d'analyser par rapport à un autre composant la bulle dont on vient de déterminer le contenu d'oxygène. Dans le cas qui nous intéresse, l'entreprise est compliquée par le fait que le pyrogallate de potassium absorbe également le dioxyde de carbone. Les taux d'oxygène, calculés directement d'après les données des analyses, sont par conséquent un peu trop élevés. Nous avons cherché à éliminer cette source d'erreur en entreprenant au moyen de l'appareil décrit, une série de recherches spéciales sur le taux du dioxyde de carbone. Les analyses au nombre de 100, faites avec 5 plantes dans différentes conditions d'éclairage, permirent d'établir que le taux du dioxyde est pratiquement indépendant de l'intensité lumineuse. Les résultats de ces 100 analyses sont indiqués dans le tableau suivant:

Tableau II.

Pour-cents de dioxyde de carbone dans les bulles.

% CO ₂	1.3	1.4	1.5	1.6	1.7	1.8	1.9	moyenne: 2.024 %
fréquence:	1	2	4	5	6	8	14	
% CO ₂	2.0	2.1	2.2	2.3	2.4	2.5	2.6	Somme: 100.
fréquence:	10	14	10	10	9	5	1	

La moyenne qu'on calcule d'après le tableau équivaut à 2.024⁰/₀. En soustrayant, par conséquent, 2 unités du taux de O₂ + CO₂, obtenu directement par les analyses, on trouve le pour-cent d'oxygène.

§ 3. Dispositif des expériences.

Comme source lumineuse, j'ai utilisé, une lampe à projection de 200 watt. Elle était fixée à un support que l'on pouvait faire glisser le long d'une règle graduée, vissée à la table. En appliquant la méthode actinométrique de D. Szymkiewicz (1926) on établit que l'intensité lumineuse diminuait proportionnellement au carré de la distance.

L'intensité de la lumière à une distance de 40 cm. de la lampe

¹⁾ Sur ce point voyez Kniep l. c. pages 481 ss.

a été supposée égale à 100. Un calcul très simple permet de trouver facilement les intensités correspondantes à d'autres distances.

Un filtre approprié, formé par une couche d'eau courante de 8 cm d'épaisseur, et un bain-marie (chauffé au moyen d'un thermo-régulateur), dans lequel était placé le récipient avec la plante, assuraient une température constante.

Les récipients destinés aux plantes mesuraient 250—500 cm³.

Les plantes plongaient dans une solution de bicarbonate de potassium lequel, constitue comme on sait, une source abondante de dioxyde de carbone. La concentration de 1%, recommandée par Angelstein (1910) à titre de dose la plus favorable, nous parut exercer cependant à la longue une action nocive. C'est la raison pour laquelle nous l'avons remplacée par une solution à 0.5%.

A cause de l'influence considérable, exercée sur le phénomène étudié par l'état de saturation de l'eau par les gaz atmosphériques, il est très important d'éviter l'emploi d'eau sursaturée. Au début de mes recherches j'employais de l'eau distillée, laissée longtemps au laboratoire et contenant, par conséquent, des quantités normales de gaz. Dans les cas où à cause des variations de la température, on pouvait craindre une sursaturation, j'ajoutais une certaine quantité (20—30 cm.³ pour 100 cm.³) d'eau privée de gaz par l'ébullition ou le procédé du vide. Dans mes recherches ultérieures, j'employais uniquement de l'eau provenant d'un récipient maintenu constamment à une température de 20° C.

A l'aide d'un chronomètre, on mesure le temps pendant lequel les bulles se rassemblent dans l'évasement A du tube capillaire. Lorsque les bulles sont grandes et lorsqu'elles font rarement leur apparition, la première bulle, c'est-à-dire celle dont l'apparition coïncide avec le déclenchement du chronomètre, ne doit pas être recueillie dans l'évasement du tube.

La plupart des expériences ont été exécutées avec *Elodea canadensis*, quelques unes avec *Elodea densa* et *Potamogeton lucens*. Une tige renversée, longue de 5—10 cm., était immobilisée au moyen d'un petit support, formé par le bout très court d'un tube de verre, auquel étaient soudées deux branches pliées d'une façon appropriée.

Les expériences se proposaient d'étudier les variations du volume total des gaz et du volume de l'oxygène dégagés dans une unité de temps (1 minute) et du pour-cent d'oxygène en fonction de l'intensité de la lumière. La plante était donc éclairée par la lumière dont l'intensité pouvait être augmentée par le rapprochement de la lampe. La plus grande distance entre la lampe et la plante s'élevait

dans la plupart des cas à 60 cm, les expériences ayant montré que les bulles cessaient de se dégager ou à peu près, lorsque cette distance avait été dépassée.

On sait que lorsqu'on modifie l'intensité de la lumière, le nombre des bulles ou le volume de gaz dégagé en unité de temps atteint très rapidement une valeur constante (après 2—3 minutes). Par contre, un temps assez long, supérieur à 20 minutes, est nécessaire pour que le pour-cent d'oxygène et d'azote devienne constant. Dans la plupart des expériences, après avoir modifié l'intensité lumineuse, j'attendais 15—20 minutes avant d'entreprendre les analyses qui, une fois commencées, étaient poursuivies jusqu'à ce que le pour-cent d'oxygène ne cessât de croître. Une fois cet état de stabilité atteint, je passais à l'intensité lumineuse suivante.

Nous donnons *in extenso* à titre d'exemple les résultats obtenus au cours d'une expérience avec *Potamogeton lucens*. La première colonne du tableau III indique la distance de la source lumineuse de la plante et l'intensité de celle-ci, la seconde le temps nécessaire à recueillir la quantité de gaz indiquée dans la colonne suivante. La quatrième colonne donne la quantité de gaz non absorbé par le pyrogallate de potassium, c'est-à-dire l'azote, la cinquième le quotient des nombres de la 3-me colonne par ceux de la seconde, c'est-à-dire le volume dégagé par minute. La dernière colonne nous renseigne sur le pour-cent d'azote, calculé d'après les données des colonnes 3 et 4.

Le tableau contenant les résultats des expériences sert à calculer les valeurs moyennes. Il permet de trouver immédiatement les moyennes de V et du pour-cent $O_2 + CO_2$ pour chaque intensité lumineuse X . Pour calculer les moyennes de V , toutes les différentes valeurs peuvent être utilisées en règle générale. Par contre, pour calculer le pour-cent d'oxygène, on ne doit, d'après ce que nous avons déjà dit, ne tenir compte que des valeurs correspondant au stade d'équilibre. Dans le tableau III, elles sont pourvues d'un astérisque. On obtient le pour-cent d'oxygène, en retranchant du nombre ainsi trouvé la correction (2%) qui correspond à la présence du dioxyde de carbone. Une fois ce nombre connu, on peut calculer le volume de l'oxygène dégagé par minute, que nous désignerons par t , ainsi que d'autres moyennes. Finalement, on est en état de dresser le tableau suivant qui représente une sorte de résumé (tableau IV).

Les colonnes 7—9 réclament une explication. La 7-me colonne indique le rapport des accroissement du volume total et de l'intensité lumineuse. Ainsi, quand on passe de l'intensité lumineuse 44,4 à l'inten-

Tableau III.

Potamogeton lucens — Protocole d'expérience.

dist. lum X	temps	vol. tot.	azote N_2	vol. 1 min. V	% N_2	dist. lum X	temps	vol. tot.	azote N_2	vol. 1 min. V	% N_2
60	3:03	36:8	25:3	12:1	68:8						
44.4	3:04	36:8	25:2	12:0	68:5						
	4:03	44:4	30:3	11:0	68:2*						
	4:03	47:9	32:4	11:8	67:6*						
48	2:03	54:9	37:0	26:8	67:4	40	73	49:4	31:0	40:6	62:8
69.4	2:10	57:5	37:5	26:5	65:2	100	80	54:6	33:6	41:0	61:5
	2:05	55:0	35:4	26:4	64:4		80	52:1	31:5	39:1	60:5
	2:02	55:0	35:0	27:0	63:6		82	50:2	30:3	37:6	60:4
	2:00	51:2	32:7	25:6	63:9		89	54:8	33:0	36:9	60:2
	2:02	51:1	32:4	25:2	63:4*		91	54:6	32:8	36:0	60:1*
	2:02	50:9	32:4	25:0	63:6*		91	55:4	33:2	36:5	59:9*
36	62	48:5	28:8	46:9	59:4	32	60	60:6	34:4	60:6	56:7
123	80	59:4	34:8	44:5	58:6	156	61	61:0	34:6	60:0	56:7
	80	64:0	36:9	48:0	57:6		60	57:2	31:9	57:2	55:8
	81	64:0	36:9	47:4	57:6		63	59:1	33:1	56:3	56:0
	76	60:7	34:9	47:9	57:5		61	56:4	31:2	55:5	55:4*
	83	61:2	34:9	44:3	57:0*		61	56:1	30:9	55:2	55:1*
	80	61:7	35:2	46:3	57:0*		61	57:0	31:6	56:0	55:4*
	80	59:1	33:8	44:4	57:2*						
28	50	56:0	30:6	67:2	54:6	24	50	62:0	32:8	74:4	52:9
204	49	55:4	30:0	67:8	54:2	278	50	61:9	32:8	74:3	53:0
	49	55:4	29:6	67:8	53:5		51	63:6	32:7	74:8	51:4
	52	57:5	30:4	66:3	52:9*		50	61:0	31:8	73:2	52:1
	51	55:2	29:2	64:9	52:9*		50	61:5	31:8	73:8	51:7*
	50	54:0	28:8	64:8	53:4		50	61:0	31:4	73:2	51:5*
	50	55:0	29:0	66:0	52:7*		51	61:8	31:9	72:7	51:6*
20	50	67:9	34:9	81:5	51:4	18	46	65:0	34:1	86:0	51:7
400	47	63:2	32:8	80:6	51:8	494	54	77:1	39:9	85:6	51:8
	41	54:9	28:3	80:3	51:5*		45	65:2	33:4	86:9	51:2*
	45	62:6	32:2	83:5	51:4*		54	78:9	40:2	87:6	51:1*
	45	61:7	32:0	82:3	51:8						

Tableau IV.

Potamogeton lucens — Moyennes — $\frac{M}{m} = 2.06$.

dis- tance cm	inten. lum. X	vol. 1 min. V	% N_2	% O_2	vol. O_2 1 min. t	rapp. d. accroissements			$\frac{V}{t}$
						$\frac{\Delta V}{\Delta X}$	$\frac{\Delta t}{\Delta X}$	$\frac{\Delta \% O_2}{\Delta X}$	
60	44.4	11:7	67:9	30:1	3:5				3:34
48	69.4	26:1	63:5	34:5	9:0	.575	.220	.164	2:90
40	100.0	38:0	60:0	38:0	14:4	.388	.176	.114	2:64
36	123	46:1	57:0	41:0	18:9	.352	.196	.130	2:44
32	156	57:2	55:3	42:7	24:4	.336	.167	.051	2:34
28	204	66:5	52:8	45:2	30:1	.194	.119	.052	2:21
24	278	73:6	51:6	46:4	34:2	.096	.055	.016	2:15
20	400	81:6	51:5	46:5	38:0	.066	.031	.000	2:15
18	494	86:4	51:1	46:1	39:8	.051	.019	.004	2:17

sité suivante, le volume V s'élève de 11·7 à 26·1. Or, le rapport des accroissements $\frac{26\cdot1 - 11\cdot7}{69\cdot4 - 44\cdot4} = 0\cdot575$ est précisément indiqué dans la colonne 7. Les colonnes suivantes contiennent les mêmes valeurs pour l'oxygène et pour le pour-cent de ce gaz. La dernière colonne donne les rapports entre les nombres des colonnes 3 et 6.

Au lieu de décrire une expérience analogue, faite avec *Elodea canadensis*, nous avons jugé plus utile de dresser le tableau suivant (tableau V) qui contient les moyennes de 10 expériences. Comme dans toutes ces expériences, les intensités lumineuses employées (c'est-à-dire les distances de la lampe et de la plante) n'étaient pas toujours les mêmes, on trouva par interpolation les valeurs permettant d'obtenir les moyennes. Ainsi qu'il est facile de s'en rendre compte, en jetant un coup d'oeil sur le diagramme 2, les valeurs trouvées expérimentalement correspondent très exactement au tracé des courbes, de sorte qu'il est facile de trouver les valeurs intermédiaires par interpolation graphique ou par calcul. Pour trouver les données correspondant au maximum de l'intensité lumineuse on a dû dans trois cas procéder à l'extrapolation. Quatre expériences permettent d'extrapoler le pour-cent d'oxygène pour des intensités lumineuses très faibles.

Tableau V.

Elodea canadensis — Moyennes de 10 expériences — $\frac{M}{m} = 2\cdot15$.

distance cm	inten. lum. X	vol. p. 1 min. V	‰ O_2	vol. O_2 1 min. t	rapports des accroissements			$\frac{V}{t}$
					$\frac{\Delta V}{\Delta X}$	$\frac{\Delta t}{\Delta X}$	$\frac{\Delta \text{‰ } O_2}{\Delta X}$	
75	28·4	—	23·5	—	—	—	—	—
60	44·4	7·8	26·8	2·1	—	—	·206	3·71
48	69·4	12·0	30·9	3·7	·168	·064	·164	3·24
40	100	17·2	34·5	5·9	·170	·072	·118	2·92
35	131	22·4	37·8	8·5	·168	·084	·106	2·64
30	178	29·9	40·8	12·2	·160	·079	·064	2·45
26	237	37·3	43·5	16·2	·125	·068	·046	2·31
23	303	43·3	45·4	19·7	·091	·053	·029	2·2
20	400	49·3	48·0	23·7	·062	·041	·027	2·08
18	494	52·5	48·8	25·6	·034	·020	·009	2·05
15	733	55·1	50·1	27·6	·011	·008	·005	2·0

§ 4. Analyse des résultats acquis.

1. En représentant graphiquement les données des colonnes 2, 3, 4, 5 (les intensités lumineuses correspondant aux abscisses), on se rend mieux compte du caractère général des phénomènes étudiés.

En joignant les point correspondants, on obtient trois courbes que nous designerons par V , t , $\%O_2$ (Fig. 2 et 3).

La courbe V . Sa forme est bien connue, car elle a été observée par tous ceux qui se sont occupé de photosynthèse¹⁾. Tant que les intensités lumineuses que nous désignerons par X sont faibles ou moyennes, la courbe prend exactement la forme d'une droite. Il y a donc proportionnalité entre les accroissements de l'intensité lumineuse et du volume total V . Le point correspondant à une intensité très faible déroge souvent à cette règle, vu qu'il est situé au-dessous de la droite V (voyez *Potamogeton*). Il est probable qu'il faut chercher la cause de ce phénomène dans le manque de pression suffisante des gaz dans les lacunes de la plante. Lorsque l'intensité de la lumière dépasse un certain degré, les accroissements de V cessent d'être proportionnels à ceux de X ; ils deviennent de plus en plus petits et finissent par être nuls, l'intensité lumineuse étant suffisamment forte (colonne 6). Dans le diagramme, à une partie vraiment courbe on voit succéder une droite parallèle à l'axe des abscisses. La courbe V se compose donc au fond de deux segments de droites reliés par un arc.

La courbe $\%O_2$. Elle a une forme différente de la précédente. Elle s'élève assez rapidement au début et de plus en plus lentement à mesure que X augmente, de sorte qu'elle finit par se transformer en une droite parallèle à l'axe des abscisses. Une partie initiale rectiligne fait par conséquent défaut. Comme nous le démontrerons dans la suite, cette courbe peut être considérée comme ayant à peu près la forme d'une hyperbole équilatère qui a pour asymptotes deux droites parallèles aux axes. Celle qui est parallèle à l'axe des abscisses correspondrait au maximum de la valeur du pour-cent d'oxygène. Une signification physiologique déterminée ne revient pas, semble-t-il, à l'autre asymptote. Le pour-cent d'oxygène s'élève de 23·5, nombre rapproché du pour-cent d'oxygène dans l'air (21), à 50·1. L'azote constitue donc toujours la plus grande partie des bulles. Les accroissements, absolu et relatif, de l'oxygène sont respectivement de 26·6 et 113%. Dans l'expérience avec *Potamogeton*, les valeurs des nombres sont rapprochées.

Le pour-cent varie donc entre d'assez larges limites.

La courbe t . Les ordonnées de cette courbe ont été calculées d'après les valeurs des deux courbes précédentes. Elle représente la quantité d'oxygène dégagé par minute que contiennent les bulles.

¹⁾ Voyez p. ex. Bose 1924, pages 35, 43, 248.

Pour connaître la quantité totale d'oxygène décomposé par la plante, il faut encore tenir compte de l'oxygène absorbé directement par l'eau.

La courbe t a une forme analogue à la courbe V . Elle se compose par conséquent de deux segments rectilignes reliés par un arc. Le point correspondant à l'intensité de la lumière la plus faible est toutefois situé un peu au-dessus de la droite t . Observons également que le premier segment est plus long pour la courbe t que pour V . En effet, l'extrémité de l'ordonnée t qui correspond à l'abscisse 237,

Fig. 2. *Potamogeton*. Graphique représentant les variations de O , V , $\% O$ en fonction de l'intensité lumineuse x .

coïncide encore à peu près avec la droite, tandis que l'extrémité analogue de l'ordonnée de V n'est plus située sur la droite.

La courbe t monte plus lentement que V . Il s'ensuit que la différence $V-t$ augmente simultanément avec X . Nous pouvons confirmer ainsi un détail signalé par Kniep. L'invasion de l'azote, c'est-à-dire la quantité de ce gaz qui pénètre dans les lacunes dans l'unité de temps, est d'autant plus grande que la plante dégage plus de bulles c'est-à-dire assimile plus énergiquement. Les quantités d'azote dégagées par minute pour les intensités lumineuses minima et maxima, équivalent à 5.7 et à 37.5. La seconde valeur est six fois plus élevée que la

première. La courbe représentant l'invasion de l'azote en fonction de X aurait évidemment une forme analogue aux courbes V et t .

2. Ayant ainsi examiné en détail la forme des courbes, passons aux conséquences relatives à la méthode. Nous commencerons par faciliter le problème en introduisant provisoirement deux simplifications:

a) nous nous occuperons seulement des parties rectilignes des courbes,

b) nous ferons abstraction de l'oxygène absorbé par l'eau.

Fig. 3. *Elodea*. Graphique représentant les variations de O , V , $\%O$ en fonction de intensité lumineuse x .

En réduisant le problème à l'étude des relations entre deux droites, la première de ces simplifications nous permettra d'appliquer certains principes de géométrie analytique.

Prolongeons les droites V et t et désignons par A et B les points d'intersection avec l'axe des abscisses. Quelle est donc la signification physiologique des points A et B ? Le premier de ces points correspond à l'intensité de lumière laquelle étant donnée, la plante devrait cesser de dégager des bulles, le second à l'intensité en présence de laquelle la plante cesserait de produire de l'oxygène, c'est-à-dire d'assimiler. Or, comme l'abscisse x_B du point B est plus grande que l'abscisse x_A du point A , il en résulte qu'on devrait pouvoir trouver

une intensité de lumière en présence de laquelle la plante dégagerait en théorie des bulles d'azote pur, car on s'aperçoit facilement qu'on ne saurait déterminer expérimentalement les points A et B . On sait, en effet, que l'apparition d'une bulle dépend de l'augmentation de la pression de gaz dans les lacunes, augmentation nécessaire à surmonter les forces de frottements et la pression de la colonne d'eau. Or, si l'intensité de la lumière est trop faible, il se pourrait que le minimum de pression ne fût pas atteint et que le total de de l'oxygène décomposé par la plante s'échappât dans l'eau. Or l'abscisse du point qui correspond à l'arrêt du dégagement des bulles, mais non à l'arrêt de l'assimilation, est évidemment plus grande que les abscisses x_A et x_B . On s'aperçoit qu'il serait tout à fait faux de vouloir déterminer expérimentalement les points, A et B . Ils n'ont qu'une existence virtuelle, ce qui ne les empêche pas d'avoir une certaine importance théorique.

En effet, la grandeur et le signe de l'abscisse x_A nous renseigne sur l'état de saturation de l'eau par les gaz atmosphériques. Lorsque l'eau est sursaturée, la valeur de x_A est négative. L'ordonnée du point d'intersection de la droite et de l'axe Y a par conséquent une valeur positive et la plante dégage des bulles dans l'obscurité. Ainsi dans une expérience avec de l'eau sursaturée, nous avons obtenu $x_A = -22$ et $Y_0 = 4.8$. Inversement, x_A est positif quand l'eau est trop pauvre en gaz. L'oxygène dégagé par la plante étant alors facilement absorbé par l'eau, une activité assimilatrice énergique et par suite une forte lumière, sont nécessaires pour provoquer l'apparition des bulles.

Dans le cas qui nous intéresse, les coordonnées x_A et y_0 sont pratiquement nulles ($x_A = -1.5$, $y_0 = 0.26$). A moins d'employer de l'eau vraiment sursaturée, x_B est toujours positif et toujours plus grand que x_A :

$$x_B > 0 \qquad x_B > x_A.$$

Dans aucun cas, en effet, nous n'avons vu les points A et B coïncider. Leur distance $d = x_B - x_A$, qui peut être plus ou moins forte est d'une grande importance, c'est elle en effet qui est la cause des divergences des résultats obtenus en appliquant les deux modifications de la méthode en question.

Supposons un moment que les points A et B coïncident, c'est-à-dire que le point d'intersection des droites V et t soit situé sur l'axe des abscisses. On s'aperçoit sans peine que la méthode des bulles serait capable de donner dans le cas de l'emploi de mesures relatives, des résultats rigoureusement exacts, car la condition fondamentale exprimée par la relation

$$\frac{V}{V} = \frac{t}{t_0}$$

serait satisfaite. On en tire:

$$\frac{V}{t} = \frac{V_0}{t_0} \quad \text{const} \propto \quad \text{ou} \quad V = \alpha t.$$

α désignant le rapport des valeurs V et t considérées comme valeurs standards. Le volume dégagé dans l'unité de temps serait donc proportionnel à la quantité d'oxygène décomposé au cours de l'assimilation.

Nous venons de voir cependant que les points A et B ne coïncident jamais, et c'est précisément la raison pour laquelle le rapport V/t n'est pas constant, circonstance qui du point de vue de la méthode constitue une source d'erreurs que nous essayerons de définir. Nous appliquerons ici des notions élémentaires de la géométrie analytique.

Les deux droites V et t sont donnés par les équations:

$$V = Mx + H \quad \text{et} \quad t = mx + h,$$

M et m sont les coefficients angulaires, H et h les ordonnées du point d'abscisse o . Nous avons:

$$M > m > 0 \quad h < 0 \quad H \geq 0$$

Dans notre cas les équations sont les suivantes:

$$V = 0.1696 X + 0.26 \quad \text{et} \quad t = 0.07883 x - 1.85.$$

Examinons le rapport $\frac{V}{t} = \frac{Mx + H}{mx + h}$. En divisant, on a:

$$\frac{V}{t} = \frac{M}{m} + \frac{mH - Mh}{m(mx + h)}. \quad (1)$$

On voit immédiatement que pour les grandes valeurs de x , la valeur du second terme du membre droit de cette équation sera petite et négligeable. Le rapport V/t aura donc une valeur sensiblement égale à M/m . A mesure que x décroît, le dénominateur du second terme diminue et devient nul pour la valeur $x = -h/m$, c'est-à-dire pour le point B . Le second terme croît donc de plus en plus et devient infiniment grand pour la valeur $x = -h/m$. Le rapport V/t peut donc prendre toutes les valeurs entre M/m et l'infini. Du point de vue qui nous intéresse, cela signifie que l'on doit s'attendre à des écarts considérables entre les résultats obtenus, suivant l'emploi comme base de mesures du volume total V , ou seulement de l'oxygène t contenu dans les bulles. Il est vrai toutefois, que le point B n'ayant qu'une existence virtuelle, les limites des variations du rapport

V/t se rapprochent considérablement comme l'apprend un coup d'oeil jeté sur les dernières colonnes des tableaux IV et V. Cela tient, soit dit en passant, à ce que la fonction exprimée par la formule 1 est une hyperbole ayant pour asymptotes les droites $x = -h/m$ et $y = M/m$. Par conséquent, les accroissements du rapport V/t croissent rapidement aux environs du point $-h/m, M/m$, et beaucoup plus lentement pour les valeurs de x suffisamment éloignées de ce point. Néanmoins, dans notre expérience le rapport V/t passe de 3.71 à 2.45, valeur correspondant au point d'abscisse 178. Si V et t continuaient à croître proportionnellement à l'intensité de la lumière, le rapport en question devrait tendre à $M/m = 2.15$. Or, si nous examinons les valeurs du rapport V/t pour les points situés sur la partie non rectiligne de la courbe, nous voyons que ce rapport continue à décroître, qu'il atteint et dépasse même légèrement cette valeur pour les derniers points. Il en résulte que le rapport V/t continue à se rapprocher approximativement de M/m , comme si les points en question étaient encore situés sur les prolongements des droites V et t . Nous pouvons par conséquent laisser de côté la première des simplifications introduites plus haut et appliquer nos raisonnements à toutes les valeurs de V .

En supposant que la courbe t est plus conforme à la réalité physiologique et en prenant la valeur la plus grande comme valeur standard, on voit que les petites valeurs de V sont trop élevées par rapport à V et cela d'autant plus qu'elles sont elles-mêmes plus petites. La plante dégagerait donc relativement trop de bulles pour les faibles intensités de lumière. Cette éventualité a été prévue par Godlewski qui cherche à démontrer que le rapport V/O (O indiquant l'oxygène total), augmente à mesure que l'intensité de la lumière décroît.

Nous donnerons à notre formule une forme un peu différente. Désignons par d la distance des points A et B . On a :

$$d = x_B - x_A = \frac{-h}{m} - \frac{-H}{M} = \frac{H}{M} - \frac{h}{m} = \frac{mH - Mh}{mM}.$$

En remplaçant, la formule devient :

$$\frac{V}{t} = \frac{M}{m} + \frac{Md}{mx + h}.$$

Cette forme permet de voir immédiatement que plus d est grand, plus les résultats obtenus au moyen des deux modifications sont divergents.

3. Les considérations qu'on vient d'exposer ci-dessus permettent d'établir que la courbe du pour-cent d'oxygène se rapproche d'une hyperbole. En effet, les ordonnées de cette courbe sont liées à celles de V et de t par la proportion $V:t$ 160: % O_2 , d'où

$$\%O_2 = \frac{100 t}{V}, \text{ ou en remplaçant } V \text{ et } t, \%O_2 = \frac{100(mx+h)}{Mx+H}. \quad (2)$$

Or la courbe représentée par cette fonction n'est rien d'autre qu'une hyperbole équilatère (l'inverse de celle mentionnée plus haut) dont les asymptotes sont données par les équations:

$$x = -\frac{H}{M} \qquad y = \frac{100m}{M}.$$

H étant en général très petit, il s'ensuit que la première asymptote coïncide plus ou moins avec l'axe des ordonnées. Dans notre cas nous avons en effet: $x = -1.53$ et $y = 46.5$.

Il serait peut être intéressant d'étudier à quel point la courbe des pour-cents réels d'oxygène se rapproche de la courbe des pour-cents calculés d'après l'équation (2) (tableau VI).

Tableau VI.

Pour-cents d'oxygène calculés et réels.

intens. lumin.	% O_2 calcul.	% O_2 réel.	diffé- rence
28.4	7.67	23.5	15.83
44.4	21.2	26.8	5.6
69.4	30.1	30.9	0.8
100.0	35.0	34.5	-0.5
131	37.7	37.8	0.1
178	39.9	40.8	0.9
237	41.6	43.5	1.6
303	42.7	45.4	2.7
400	43.6	48.0	4.4
494	44.2	48.8	4.6
733	44.9	50.1	5.2
∞	46.5	—	—

Les ordonnées de la courbe correspondant au % réel de O , sont plus grandes que celles de la courbe théorique pour les valeurs très faibles ou fortes de X . Il n'y a coïncidence que sur un parcours relativement restreint, correspondant aux intensités lumineuses moyennes. Ces résultats n'ont rien de surprenant. Il est en effet impossible, d'après le mécanisme invoqué pour expliquer la présence de l'azote dans les bulles, que le pour-cent d'oxygène descende au-dessous de 21 (pour-

cent de l'oxygène dans l'air). Ce n'est donc pas un hasard que le point d'abscisse 44.4 est situé un peu au-dessus de la droite t . Si ce point se trouvait sur la droite, son ordonnée mesurerait 1.65 (au lieu de 2.2) et le pour-cent équivaldrait à 21.2 (au lieu de correspondre à 26.8). La droite t manifeste par conséquent une tendance à s'incurver pour les lumières de faible intensité. Pour les lumières fortes, les ordonnées de la courbe t sont plus grandes que celles de la courbe théorique, dont nous nous occuperons tout-à-l'heure.

4. Jusqu'à présent nous avons étudié les relations entre V , t et X , mais nous ferons observer que l'influence de la lumière sur la présence de l'azote dans les bulles n'est qu'indirecte. C'est évidemment

Fig. 4. *Elodea*. Graphique représentant les variations de t en fonction de V .

l'intensité d'assimilation qui constitue la cause immédiate de l'invasion plus ou moins grande de l'azote dans les lacunes. Du moins en principe, n'importe quel facteur qui modifie l'intensité de l'assimilation, fait varier indirectement le pour-cent d'oxygène et la force de l'invasion azotée. C'est la raison pour laquelle il faut étudier les relations entre V et t . Cela revient à éliminer x des équations:

$$V = Mx + H \quad \text{et} \quad t = mx + h.$$

On a alors:

$$t = \frac{m}{M} V + \frac{Mh - mH}{M}.$$

V et t sont donc liés entre eux par une équation linéaire. Par conséquent, en représentant graphiquement les résultats expérimentaux, on devrait s'attendre à ce que les extrémités des ordonnées de t (les

abscisses étant proportionnelles aux valeurs de V) fussent situées sur une ligne droite. Sur le diagramme (Fig. 4), on a représenté les résultats moyens de 10 expériences, ainsi que les résultats particuliers de 12 expériences. On aboutit ainsi aux conclusions suivantes:

a) Les points en question ne sont pas situés sur une droite comme le réclamerait la théorie, mais sur une courbe concave d'une faible courbure. Les valeurs de t correspondant à la partie rectiligne de la courbe t , sont nécessairement situés sur une droite. Par contre, les t correspondant aux très faibles et aux fortes valeurs de V sont relativement trop élevés, d'où la forme concave de la courbe. Il en résulte que les pour-cents sont trop élevés pour les fortes intensités de lumière. Dans les diagrammes 2 et 3, les points correspondants ne se trouvent pas sur la branche de l'hyperbole donnée par l'équation (2), mais sont situés, comme nous le savons déjà, au-dessus de cette branche. C'est une position que les données de la dernière colonne du tableau V permettaient de prévoir. En effet, le rapport V/t qui devrait se rapprocher de la limite M/m , l'atteint non seulement, mais la dépasse, circonstance qui nous apprend que les valeurs de t soit les pour-cents d'oxygène croissent, plus rapidement par rapport aux V , quand les valeurs de X sont élevées.

Il est facile d'indiquer la cause de ce phénomène. En assimilant énergiquement, la plante enrichit l'eau ambiante en oxygène, de sorte que les nouvelles quantités de ce gaz décomposé par la plante, éprouvent de la difficulté à pénétrer dans l'eau et s'échappent par conséquent plus abondamment sous forme de bulles. D'autre part, pour la même raison, l'eau ambiante devient rapidement pauvre en azote, lequel, à cause de sa faible vitesse de diffusion, n'afflue pas en quantité suffisante des couches d'eau plus profondes. C'est donc conformément au mécanisme indiqué par Kniep, notamment par des changements dans la concentration des gaz dissous dans l'eau entourant la plante, que nous expliquons des valeurs relativement élevées de t pour les fortes valeurs de V .

b) Les valeurs de t provenant des expériences avec différentes plantes, mais exécutées dans de conditions identiques au point de vue de l'état de saturation de l'eau par les gaz atmosphériques, sont presque toutes situées sur la même courbe. On en déduit que l'invasion azotée, ou la teneur des bulles en oxygène est un phénomène à peu près indépendant des dimensions des plantes ou de leur état physiologique, car il dépend en premier lieu de la quantité absolue de gaz dégagé dans une unité de temps et du degré de saturation de l'eau par l'air. Il est clair que les résultats d'une

expérience analogue exécutée p. ex. avec de l'eau pauvre en azote et riche en oxygène, correspondraient à une courbe dont les ordonnées seraient plus grandes que celles de la courbe obtenue dans nos recherches, où nous nous sommes servis d'eau à 20° C, saturée normalement d'air.

Bien que des expériences concernant cette question n'aient pas encore été exécutées, il est probable que la température modifierait la forme et le trajet de la courbe. Il résulterait cependant d'expériences dans lesquelles on s'est servi d'eau dont la température s'écartait un peu de 20° C (18° et 22°), que la température est sans influence appréciable sur le phénomène étudié.

c) Comme les valeurs de t dépendant presque exclusivement de celles de V , il s'ensuit qu'il devrait être possible de dresser un tableau empirique ou de découvrir une fonction appropriée permettant de trouver la valeur de t , lorsqu'on connaît celle de V . On pourrait par conséquent connaître la teneur des bulles en oxygène sans procéder à des analyses, à condition de déterminer le volume total des gaz dégagé dans une unité de temps. Du point de vue de la technique des expériences, ce procédé entraînerait une simplification et une économie de temps considérables. Pour des raisons exposées plus bas, nous croyons cependant un tableau pareil dépourvu d'utilité.

§ 5. Conclusions.

Jusqu'à présent nous avons comparé deux modifications d'une méthode employée dans les recherches de photosynthèse, l'une basée sur le volume total dégagé par unité de temps, l'autre sur la quantité analogue d'oxygène contenu dans les bulles. Nous avons montré que ces deux modifications menaient à des résultats différents. Il s'agit d'établir à présent laquelle des deux est plus conforme à la réalité physiologique.

Cette décision dépendra en premier lieu de la quantité w d'oxygène absorbé par l'eau, quantité dont nous avons fait abstraction jusqu'à présent. Pour connaître l'oxygène total décomposé au cours de l'assimilation, il faudrait ajouter à chaque valeur de t déterminée expérimentalement, une quantité w égale à celle de l'oxygène absorbé par l'eau. Il est à peu près certain, que la courbe qu'on obtiendrait de la sorte aurait une forme analogue à celle de V . Il est probable en effet que les quantités d'oxygène absorbé par l'eau seront liées par une relation linéaire aux quantités dégagées par les bulles.

Il résulte en second lieu des recherches exécutées en appliquant d'autres méthodes, que l'assimilation est proportionnelle à l'intensité lumineuse, tant que celle-ci est faible. Il faudrait donc tracer dans notre diagramme une nouvelle courbe O dont les ordonnées respectives seraient plus grandes que celles de t . A cette courbe on pourrait appliquer tous nos raisonnements à propos des courbes V et t . Le prolongement de O rencontrerait donc en un point C l'axe des abscisses. La valeur méthodique de l'une ou de l'autre modification dépendra de la position de ce point C par rapport aux points A et B . Si le point C coïncide avec A ou en est plus rapproché que de B , c'est le volume total V qui donnera des résultats plus exacts. Faisons observer que la distance AC sera d'autant plus petite que les ordonnées de O seront plus grandes. Pour différentes raisons, il était probable que les quantités d'oxygène absorbé par l'eau seront considérables. L'expérience confirme cette supposition et montre que les quantités en question sont supérieures non seulement à t mais encore à V . On a dosé d'une part au moyen d'un micro-eudiomètre et d'autre part par la méthode de Winkler les quantités d'oxygène dans les bulles et les quantités de ce gaz absorbées par l'eau. Nous avons réunis dans le tableau VII les résultats de 10 expériences exécutées sur différentes plantes avec des lumières d'une intensité faible, moyenne ou forte¹⁾.

Les expériences étant trop peu nombreuses et insuffisantes au point de vue de l'uniformité des conditions (temps d'exposition, concentration du dioxyde de carbone), nous n'en tirons que la conclusion que les quantités d'oxygène absorbé par l'eau sont supérieures au volume total des bulles. Ce résultat n'a au fond rien de surprenant. Il faut se rendre bien compte que dans une plante pourvue de lacunes, la surface de contact de la phase gazeuse avec la phase liquide est immense par rapport au volume de ces lacunes. Les échanges gazeux sont donc rendus très faciles dans ces conditions. Nous pouvons confirmer la conception de Godlewski, selon laquelle l'azote est considéré comme l'équivalent de l'oxygène absorbé par l'eau. En outre, un excès de pression à l'intérieur des lacunes expliquerait pourquoi la quantité d'oxygène absorbé par l'eau est supérieure à l'invasion de l'azote. Il s'ensuit que la courbe O sera située non

¹⁾ Pour les détails voyez Grafe V. Ernährungs physiologisches Praktikum höherer Pflanzen et Kniep l. c. p. 447. Comme source de dioxyde de carbone on employa non pas une solution de bicarbonate de potassium, mais une solution très faible de dioxyde de carbone dans de l'eau. Comme réactif absorbant l'oxygène, on utilisa le chlorure de chrome.

pas entre les courbes V et t , mais au-dessus de V . Il s'ensuit encore que le point C coïncidera, ou à peu près, avec le point A . Nous aboutissons à la conclusion que des deux modifications de la méthode des bulles, c'est celle qui s'appuie sur le volume total qui donnera des résultats beaucoup plus exacts.

Tableau VII.

Elodea canadensis. Rapports des grandeurs O , V , t , w .

	$\frac{O}{V}$	$\frac{w}{t}$	$\frac{w}{O}$	$\frac{w}{V}$
1	1·63	2·51	0·715	1·17
2	1·55	2·52	0·716	1·11
3	1·73	2·97	0·749	1·29
4	1·97	3·93	0·798	1·57
5	1·93	4·05	0·802	1·55
6	1·41	3·27	0·766	1·08
7	1·46	3·99	0·799	1·17
8	1·52	2·99	0·749	1·14
9	1·41	2·96	0·747	1·06
10	1·51	2·29	0·697	1·05
Moy:	1·61	3·15	0·754	1·22

Quant à savoir quel est le degré de précision de cette méthode — c'est un autre problème que seules de nouvelles expériences, déjà commencées, permettront de résoudre. Il est cependant assez probable (la distance AC étant petite) que les écarts entre la réalité et les résultats obtenus au moyen de cette méthode ne seront pas très sensibles.

Je profite de cette occasion pour exprimer ma profonde reconnaissance à M^r le Professeur K. Ruppert, sous la direction duquel j'ai exécuté le présent travail et qui ne m'a jamais ménagé ses encouragements et ses précieux conseils.

Laboratorium Botanicum Janczewskianum U. J. Cracovie.

Bibliographie.

1. Godlewski, E. O metodzie oznaczania szybkości przyswajania zapomocą obliczenia pęcherzyków gazowych wydobywających się z rośliny pod wodą. — I tom Spraw. Wydz. matem.-przyrod. Akademii Umiejętności, 1874, p. 210—246.

2. Devaux, H. Du mécanisme des échanges gazeux chez les plantes aquatiques submergées. — Annales des Sciences naturelles, série VII, Botanique, tome IX, 1889.

3. Kniep, H. Über den Gasaustausch der Wasserpflanzen. Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik. 56 Band (Pfeffer Festschrift) 1915.

4. Wilmott, A. J. Experimental Researches on Vegetable Assimilation and Respiration. XIV. Assimilation by Submerged Plants in dilute Solutions of bicarbonates and of Acids: an improved Bubble-Counting Technique. — Proc. Roy. Soc. B. 92, p. 304—327, 1921.

5. Bose, J. C. The Physiology of Photosynthesis. London, 1924.

6. Szymkiewicz, D. Études climatologiques. X. Sur un nouvel actinomètre. — Acta Soc. Botan. Poloniae. Vol. IV, Nr. 1, 1926.

7. Angelstein, U. Über die Kohlensäureassimilation submerser Wasserpflanzen etc. — Cohns Beiträge z. Biol. d. Pflanzen, Bd. 10, 1911.