

0,74 volts des forces électromotrices mesurées. Durant les mesures, la température a été maintenue entre 19 et 22°.

Comme on le voit, l'éclairement ultra-violet agit sur l'électrode d'ozone en diminuant notablement son potentiel, aussi bien pour la lame de platine poli que pour la lame de platine platiné.

Pour l'électrode d'ogygène, au contraire, dès qu'on fait agir les radiations ultra-violettes, il se produit toujours un accroissement du potentiel, faible il est vrai (ordre des $\frac{1}{100}$ de volt), mais un peu plus marqué pour le platine poli que pour le platine platiné. A propos du potentiel de l'électrode d'oxygène, il faut rappeler la variabilité des valeurs que l'on enregistre et qui est due à des processus irréversibles.

RÉSUMÉ.

L'action des radiations ultra-violettes diminue d'une manière marquée le potentiel de l'électrode d'ozone et accroît faiblement le potentiel de l'électrode d'oxygène.

Laboratoires de Chimie technique, théorique et d'Electrochimie,
Université de Genève, juin 1943.

137. Recherches sur les chromatophores IV.

Sur la structure des chromatophores de la carotte

par Werner Straus.

(18 VI 43)

Dans les communications précédentes¹⁾ nous avons démontré que divers corpuscules colorés peuvent être séparés des sédiments purifiés des chromatophores de la carotte: des petits grains („grana“) de grandeurs différentes (environ 1 μ jusqu'au domaine ultramicroscopique), et des particules plus grandes, les „rubans“, „cristaux“ et „bâtonnets“. La parenté chimique de toutes ces particules se manifeste par les propriétés communes suivantes: agglutination par des acides faibles, insolubilité dans l'eau à l'état agglutiné, rédis-solubilité dans des alcalis très faibles, et altération par dessiccation.

Nous avons soulevé la question des rapports existant entre tous ces corpuscules, porteurs de pigments. Nous avons discuté l'hypothèse²⁾ que les petits grains („grana“) isolés étaient apparentés

¹⁾ Helv. **25**, 179, 489, 705 (1942). Par suite de circonstances exceptionnelles nous avons dû interrompre notre travail. Comme nous ne savions pas si les recherches pourraient être reprises plus tard, nous avons publiés nos premiers résultats. Nous aurions préféré disposer de données expérimentales plus étendues avant de les publier.

²⁾ Helv. **25**, 712 (1942).

ou identiques aux grains qui apparaissent dans les „rubans“, „cristaux“ et „bâtonnets“ lors de la déshydratation. De même, les „bâtonnets“ isolés seraient apparentés aux fibrilles qui apparaissent dans les „rubans“ et dans les „cristaux“ lors de la déshydratation. Ainsi, outre la parenté chimique, il existerait une parenté génétique entre tous ces porteurs de pigments.

Notre opinion sur les cristaux rouges de la carotte est en contradiction avec l'opinion presque généralement admise depuis 60 ans, d'après laquelle les petits cristaux des carottes seraient des cristaux de carotène. Cette conception date des recherches de *P. Fritsch*¹⁾, *A. Meyer*²⁾, *W. Schimper*³⁾ et *M. Courchet*⁴⁾. Selon ces auteurs, les cristaux de carotène se formeraient dans les chromatophores. Ils se seraient ou bien complètement détachés des chromatophores ou resteraient accompagnés d'une faible quantité de protides provenant des chromatophores. Si cette opinion était exacte, la teneur en carotène des cristaux rouges de carottes devrait approcher de 100 %. Par contre, nous avons trouvés pour les fractions de chromatophores, enrichies en „rubans“, „cristaux“ et „bâtonnets“, une teneur d'environ 45 % aussi bien pour les protides que pour les lipides, et une teneur en carotène d'environ 5 %⁵⁾.

L'existence de structures cellulaires ayant la forme d'un cristal régulier, mais étant constituées par des fibrilles et des granules, nous paraît mériter le plus grand intérêt. Nous savons peu de chose de telles structures et de leurs rapports avec les virus, les chondriosomes et le pourpre visuel, dont les parentés avec les chromatophores ont été mentionnées précédemment. Il nous paraît indiqué d'approfondir nos connaissances sur les propriétés biologiques des chromatophores avant de poursuivre leur étude chimique. Le présent travail s'occupe de la morphologie des chromoplastes et, dans une communication ultérieure, on examinera les rapports entre les chromatophores et le protoplasme.

Action de divers réactifs.

Nous avons tout d'abord examiné au microscope les altérations provoquées par divers réactifs chimiques chez les particules rouges de la carotte. Une structure rendue visible par un traitement chimique peut être considérée comme structure naturelle si les réactifs les plus divers font apparaître la même structure et si cette structure est retrouvée ensuite *in vivo* dans les chromoplastes en voie de formation.

1) *P. Fritsch*, Jb. Bot. **14**, 222 (1883).

2) *A. Meyer*, Das Chlorophyllkorn 1883, p. 48.

3) *W. Schimper*, Jb. Bot. **16**, 122 (1885).

4) *M. Courchet*, Ann. Sci. nat. [7] **7**, 330 (1888).

5) *Helv.* **25**, 709 (1942).

Pour l'examen histochimique des chromoplastes nous avons fait des coupes dans différentes régions de la carotte. Les coupes ont été mises en contact dans des éprouvettes avec des solutions de réactifs et examinées au microscope après des temps différents¹⁾.

Nous avons examiné l'action des réactifs suivants:

NaCl; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; KNO_3 ; MgSO_4 (tous en solutions à 5%).

NaOH; NH_3 ; HCl (tous en solution à 1%). H_3PO_4 (10%).

$\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$; FeSO_4 ; CuSO_4 ; $\text{Pb}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2$; HgCl_2 ; K_2CrO_4 ; AgNO_3 (tous en solutions à 1%).

J_2 (0,05—0,5% en solution de KJ); CrO_3 (0,01%); H_2O_2 (30%).

Acide phosphomolybdique; acide phosphotungstique; acide osmique; acide formique; acide trichloracétique; chloral hydraté; phénol; acide salicylique; acide picrique (tous en solutions à 1%); formol (10—40%); glycérol (100%); glucose (5%).

Ces réactifs provoquent une lente désorganisation de la structure des chromoplastes en quelques heures, jours ou semaines. Dans les stades intermédiaires de la désorganisation, les chromoplastes, d'apparence primitivement homogène, deviennent granuleux. Les structures particulières, intermédiairement décelables, seront décrites plus loin.

Les effets des dissolvants organiques sont beaucoup plus rapides. Le méthanol, l'éthanol, l'acétone, l'acide acétique glacial, l'éther, l'éther de pétrole, le benzène, le chloroforme, la pyridine — tous ces dissolvants provoquent une destruction de la structure en quelques minutes.

Il est naturel que les propriétés des chromoplastes dépendent aussi du stade de développement. Ainsi, les chromoplastes très jeunes ou très âgés (dans les carottes d'hiver, conservées pendant quelques mois) ont une tendance plus marquée à se fragmenter et l'action des réactifs est plus prononcée dans ces cas.

Pour étudier en détail la structure des chromoplastes, nous nous sommes servi de quelques réactifs seulement que nous avons trouvés les plus favorables. Parmi ceux-ci, deux groupes de réactifs peuvent être distingués:

1) des réactifs attaquant les pigments caroténoïdes. Ils forment des complexes avec les pigments, colorés en bleu ou en vert, et les décolorent finalement. En même temps, ces réactifs agissent comme fixateurs des structures principales qu'ils conservent assez longtemps pour permettre l'observation après décoloration. Nous avons utilisé surtout de l'eau iodée (0,05—0,5% en solution d'iodure de potassium de double concentration) et de l'acide phosphomolybdique (0,5—1%²⁾). L'effet de ce dernier réactif est pourtant moins favorable que celui du premier.

¹⁾ Parfois nous avons employé, à la place de coupes de tissu, une goutte de jus frais exprimée de la carotte qui contient toujours beaucoup de chromoplastes intacts. La goutte de jus a été additionnée d'une goutte de solution de réactif directement sur le porte-objet.

²⁾ Si une solution colloïdale de carotène est additionnée de ces réactifs, la solution se colore en bleu-vert.

2) des réactifs qui n'exercent pas une influence rapide sur les pigments, mais, comme fixateurs de protides, permettent de distinguer la structure fondamentale, intermédiairement visible. Les pigments n'étant pas détruits, on peut obtenir aussi des indications sur leur état. Nous nous sommes servi surtout du formol (10—40 %) et du chromate de potassium (en solution de 1 %), mais quelques-uns des autres réactifs cités peuvent être employés également.

Examen de la structure microscopique après l'action de l'eau iodée.

Dans la fig. 1, on distingue plusieurs anneaux (diamètre environ 8μ), disposés les uns à la suite des autres. Les anneaux peuvent occuper toute la largeur du ruban, ou plusieurs raies d'anneaux plus petits s'alignent parallèlement et forment une texture réticulaire. Dans la fig. 2, nous avons dessiné ces raies de petits anneaux. Tous les anneaux ainsi que les bords des rubans sont d'aspect granuleux. Les bords sont fortement développés et présentent un caractère fibrillaire. Au fort grossissement, on reconnaît que les bords ainsi que les anneaux plus grands, sont formés eux-mêmes par des anneaux très petits (fig. 3).



Fig. 1

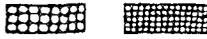


Fig. 2



Fig. 3

Entre les plus grands anneaux (diamètre d'environ 10μ , voir fig. 1) et les plus petits anneaux visibles (grandeur environ $0,5 \mu$, voir fig. 3), on trouve aussi des grandeurs intermédiaires (fig. 2). S'il est facile de les reconnaître comme « anneaux » quand ils sont grands (au-dessus de 1μ), ce n'est plus le cas, quand ils sont petits (au-dessous de 1μ , près de la limite de visibilité). Ces petits anneaux peuvent être considérés aussi comme « granules » ayant un petit espace clair au centre. Nous préférons les désigner comme « petits anneaux » et non pas comme « granules » parce qu'il est possible que tous les anneaux de grandeurs différentes soient constitués selon un principe analogue qui se répète du domaine microscopique au domaine ultramicroscopique et submicroscopique.

Le système d'anneaux sera appelé le « stroma » des chromatophores selon une expression déjà employée par *N. Pringsheim*¹⁾ et *W. Schimper*²⁾ dans un sens analogue. Le stroma se colore par le bleu de méthylène et le vert de méthyle.

Le stroma peut contenir plusieurs couches superposées de systèmes annulaires. La grandeur des anneaux varie souvent dans

¹⁾ *N. Pringsheim*, Jb. Bot. **12**, 288 (1881).

²⁾ *W. Schimper*, Jb. Bot. **16**, 1 (1885).

les différentes couches. La structure en couches est du reste difficile à distinguer. Nous n'avons pas encore pu déterminer si, en général, il y a seulement une couche ou deux ou toujours plusieurs couches superposées.

On trouve parfois des disques très minces à la place des anneaux. Il est possible que ces disques puissent se transformer en anneaux.

Nous avons mentionné plus haut le caractère fibrillaire des bords qui résulte de l'association de « petits anneaux » en ligne droite. Des fibrilles de même caractère peuvent aussi se trouver à l'intérieur des rubans. Ils traversent les rubans, dans la plupart des cas, parallèlement à l'un des côtés et ils semblent appartenir à une couche supplémentaire, ce qui accentuerait leur visibilité.

Examen ultramicroscopique de l'état du pigment.

Pour mieux reconnaître l'état du pigment, nous nous sommes servi de l'ultramicroscope. *Schimper*¹⁾ avait observé le premier le fort pléochroïsme que présentent beaucoup de chromoplastes à la lumière polarisée. Au champ noir de notre microscope, les chromoplastes de la carotte sont colorés en rouge et en vert. Quand les chromoplastes sont en mouvement (p. ex. dans une solution ammoniacale), les couleurs changent, car les teintes de ces particules mobiles varient au champ noir selon la direction de la lumière qui les illumine.

Dans les chromoplastes développés (riches en carotène), le pigment apparaît lors de l'examen ultramicroscopique comme répandu de façon homogène. Ceci n'est plus le cas si les coupes de carottes ont été traitées par des réactifs appropriés, le formol ou le chromate de potassium par exemple. Après ce traitement, de petits points rouges deviennent visibles dans les chromoplastes; ils sont disposés en ligne droite ou en forme de cercle. On les distingue déjà lors de l'examen microscopique à la lumière ordinaire.

Pour l'étude ultramicroscopique, nous avons aussi employé des chromoplastes isolés qui ont été simplement abandonnés en solution ammoniacale pendant longtemps (quelques semaines ou mois à l'obscurité). Par suite de ce traitement, la structure fibrillaire et granuleuse des chromoplastes devient bien visible. Même après des mois, la plupart des chromoplastes ont gardé leur solubilité colloïdale. Ceci indique qu'ils ne sont pas profondément altérés. (La plupart des autres réactifs provoquent une perte de la solubilité (dénaturation) après peu de temps.)

Dans des chromoplastes ainsi traités, le pigment se présente à l'ultramicroscope et à un grossissement plus fort (90 fois $15 = 1350$) sous forme de petits disques colorés, serrés les uns contre les autres.

¹⁾ *W. Schimper*, l. c.

Une ligne foncée entre les disques indique que chacune de ces plaquettes est individualisée. Le rayonnement des petites plaquettes pléochroïques est si intense que les autres structures ne sont pas bien visibles au champ noir. C'est pourquoi il est très difficile de reconnaître à quel endroit des „petits anneaux“ (granules) — visibles après décoloration — le pigment est contenu. Primitivement, nous avons cru que le pigment se trouvait à l'intérieur des petits anneaux. Mais des observations répétées nous conduisent à l'opinion que le pigment revêt les côtés des petits anneaux.

Action de l'acétone à 70—90 %.

L'état du pigment subit une altération intéressante par le traitement des coupes de carottes à l'acétone à 70—90 %. La plupart des chromoplastes se décolorent plus ou moins vite sous l'influence de ce réactif et le stroma devient visible. Dans d'autres chromoplastes par contre, le pigment, à partir de l'état décrit plus haut, se transforme en grands cristaux qui dépassent finalement plusieurs fois la grandeur primitive des chromoplastes. La vitesse avec laquelle la cristallisation du pigment a lieu dépend de la concentration de l'acétone. A la suite du traitement à l'acétone à 90 %, on peut trouver les grands cristaux de carotène après une demie heure déjà, avec de l'acétone à 75—85 % après plusieurs heures et avec de l'acétone à 70 % après plusieurs jours.

Le pigment des chromoplastes isolés peut se cristalliser d'une façon analogue lorsque les chromoplastes floculés par l'acide et lavés à l'eau sont additionnés d'acétone jusqu'à une teneur de 80—90 %.

La réaction rappelle la méthode connue de *Molisch* pour l'épreuve histochimique des caroténoïdes au moyen de la potasse alcoolique.

Observations sur des chromoplastes vivants.

On pourrait penser que les structures décrites ci-dessus pour le stroma des chromoplastes sont des formations artificielles provoquées par l'influence des réactifs. Cependant, l'examen *in vivo* confirme la réalité de ces structures. On reconnaît, par exemple, le fort développement des bords (c'est-à-dire les fibrilles) déjà dans les chromoplastes intacts. Souvent, les «anneaux» peuvent être distingués si l'on ferme suffisamment le diaphragme du microscope. La formation en couches se révèle parfois lorsqu'une section bien délimitée du ruban apparaît d'un rouge plus intense que le reste.

L'observation la plus favorable est rendue possible par l'examen ultramicroscopique des cellules vivantes de la carotte. Nous avons examiné à l'ultramicroscope les chromoplastes en voie de formation et essayé de suivre ainsi leur développement. Les résultats de cette étude seront communiqués ultérieurement. Mentionnons déjà ici

qu'on retrouve dans les chromoplastes vivants en voie de formation les mêmes structures fibrillaires et annulaires qu'on peut révéler à l'aide de réactifs dans les chromoplastes développés (riches en carotène).

DISCUSSION.

Avant de tirer les conclusions de nos expériences, nous résumons les observations d'autres auteurs qui se sont longtemps occupé du problème des chromatophores. Pour pouvoir se faire une meilleure idée des formes des chromoplastes, nous avons reproduit dans les figures 4—7 les contours de quelques chromoplastes tels que *M. Courchet*¹⁾ et *W. Schimper*²⁾ les ont observés.

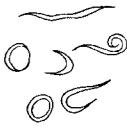


Fig. 4



Fig. 5



Fig. 6



Fig. 7

Sur la fig. 7 on reconnaît d'ailleurs les formes régulières des «rubans», «cristaux» et «bâtonnets» de la carotte. Des formes semblables à celles des fig. 4—7 se trouvent dans des centaines d'autres plantes. Ces chromatophores pointus avec des côtés droits ou incurvés se développent à partir de chromatophores arrondis qui peuvent être incolores (leucoplastes), verts (chloroplastes), et jaunes ou rouges (chromoplastes).

Sur quoi repose la forme plus ou moins régulière des chromoplastes pointus ?

*A. Meyer*³⁾ et *W. Schimper*⁴⁾ étaient d'accord qu'un processus de cristallisation devait avoir joué un rôle lors de la formation des chromoplastes pointus. Cependant, ces deux auteurs ne pouvaient pas s'entendre sur la nature de la matière qui cristallise. *Schimper*⁵⁾ avait observé que divers leucoplastes contiennent des cristaux protidiques en forme de fuseaux, d'aiguilles, de bâtonnets et de petits cubes ou octaèdres. Selon l'avis de *Schimper*, ces cristaux représentent le protoplasme des plastides à l'état inactif; ils peuvent de nouveau abandonner leur forme cristalline et se transformer en protoplasme vivant. Ces mêmes cristaux protidiques qui se trouvent dans les leucoplastes sont — à l'avis de *Schimper* — également responsables des formes régulières des chromoplastes. Pendant la cristallisation du protide, le pigment est, soit entraîné mécaniquement, soit séparé du protide. *Schimper* donne comme exemple pour ce dernier cas les chromoplastes de *Chrysanthemum phoeniceum*. Ils contiennent des fuseaux ou des triangles incolores recouverts de minuscules grains jaunes.

¹⁾ *M. Courchet*, 1888, l. c. (fig. 4) chromoplastes des fleurs de *Allium siculum* et des bractées du *Strelitzia Reginae*, pl. 15, fig. 1 et pl. 14, fig. 22. (fig. 5) chromoplastes des baies de *Physalis fulvomaculata* et de *Sarracha viscosa*, pl. 15, fig. 13 et 14.

²⁾ *W. Schimper*, 1885, l. c. (fig. 6) chromoplastes des fruits de *Sorbus aucuparia*, pl. 3, fig. 47. (fig. 7) chromoplastes de la racine de *Daucus Carota* «avec cristaux pigmentaires», pl. 3, fig. 28.

³⁾ *A. Meyer*, Bot. Ztg. **41**, 489 (1883).

⁴⁾ *W. Schimper*, Bot. Ztg. **41**, 105 (1883).

⁵⁾ *W. Schimper*, 1883, l. c., p. 155.

*Meyer*¹⁾, discutant l'idée de *Schimper* sur le protoplasme cristallisé dit « dass er Bezeichnung ,krystallisiertes Protoplasma' eine gewisse Originalität nicht abzusprechen ist. Mir scheint die Bezeichnung nur sehr originell, aber nicht zutreffend zu sein. » *Meyer* considère les cristaux protidiques de *Schimper* comme des produits du métabolisme des chromatophores, tels que l'amidon, et analogues aux cristaux de réserve protidiques qui, par ailleurs, se rencontrent dans les tissus. Pour *Meyer*, c'est la cristallisation du pigment qui est responsable de la forme pointue des chromoplastes. *Meyer* cite les points suivants à l'appui de son hypothèse: 1) Si des chloroplastes ou leucoplastes arrondis se transforment en chromoplastes anguleux, le changement de forme est toujours lié à l'apparition du pigment jaune. 2) La forme cristalline est d'autant plus parfaite que le chromatophore contient plus de pigment et d'autant moins parfaite qu'il contient du substratum protidique. Les cristaux pigmentaires les plus parfaits sont formés quand le pigment s'est complètement séparé du substratum protidique comme c'est le cas par exemple pour les cristaux de carotène des carottes. 3) Dans les chromoplastes de *Eccremocarpus*, il se produit une contraction du plastide et la formation d'un fuseau cristalloïde sous l'action de l'acide acétique glacial²⁾. Si le plasma protidique était responsable de la forme, le réactif devrait provoquer un gonflement du plastide. 4) Quand les pigments sont extraits des chromoplastes arrondis par le chloroforme ou l'acide acétique glacial, on peut obtenir, à partir des solutions de pigments, des cristaux pigmentaires, qui ressemblent tout à fait aux formes en fuseaux des chromoplastides développés.

*Schimper*³⁾, dans sa réplique, accorde qu'avec l'expression de « protoplasme cristallisé » il aurait donné à son opinion une forme un peu osée; il aurait seulement voulu dire que les cristaux protidiques seraient apparentés chimiquement au protoplasme vivant et qu'ils pourraient de nouveau se transformer en protoplasme vivant. Il est d'ailleurs facile, pour *Schimper*, de citer des exemples qui contredisent les 4 points sur lesquels *Meyer* a basé son hypothèse sur la cristallisation des pigments. Ainsi, par exemple, les plastides peuvent déjà avoir leur forme cristalloïde avant l'apparition du pigment. Selon l'opinion de *Schimper*, l'image que *Meyer* se fait de la cristallisation des pigments dans les plastides, est incompatible avec les lois de la cristallographie.

Plus tard, *Schimper*⁴⁾ doit cependant admettre qu'une cristallisation du pigment peut avoir lieu dans les plastides, comme *Meyer* le dit. *Schimper* avait été particulièrement impressionné par un travail de *Millardet*⁵⁾ sur les chromatophores de la tomate. Toutes les réactions histochimiques des cristaux rouges de la tomate, exécutées par *Millardet*, semblent indiquer qu'il s'agit de cristaux pigmentaires. En outre, *Schimper* avait observé le fort pléochroïsme que beaucoup de chromoplastes montrent à la lumière polarisée. En ceci également, *Schimper* voit une preuve de l'état cristallin du pigment. *Schimper* distingue alors trois cas: 1) les chromoplastes avec cristaux protidiques dont le pigment est amorphe (en forme de « grana »), 2) les chromoplastes avec cristaux protidiques et cristaux pigmentaires, 3) les chromoplastes sans cristaux protidiques et avec cristaux pigmentaires. C'est dans cette catégorie que *Schimper* compte les cristaux rouges de la carotte, dont il détermine la classe cristallographique.

*M. Courchet*⁶⁾ confirme la plus grande partie des résultats de *Schimper* et démontre que l'existence de cristaux pigmentaires — comme dans la carotte — est répandue. Ces cristaux pigmentaires sont formés dans les chromatophores. Ils sont encore accompagnés d'une faible quantité de substances protidiques ou ils se sont complètement détachés

¹⁾ *A. Meyer*, Bot. Ztg. **41**, 491 (1883).

²⁾ Cette cristallisation secondaire du pigment, observée par *Meyer*, correspond à la cristallisation du carotène dans les chromoplastes de carottes après l'action de l'acétone, décrite plus haut. *Meyer* n'a pourtant pas interprété ce phénomène à sa juste valeur.

³⁾ *W. Schimper*, 1883, l. c., p. 813.

⁴⁾ *W. Schimper*, Jb. Bot. **16**, 1 (1885).

⁵⁾ *A. Millardet*, Note sur une substance colorante nouvelle (Solanorubine), Nancy 1876.

⁶⁾ *M. Courchet*, Ann. Sci. [7] **7**, 330 (1888).

des chromatophores. *Courchet* ne doute pas que les cristaux ne contiennent que du pigment; la forme cristalline est une preuve de pureté¹⁾. Cependant, il ne s'agit pas toujours de véritables cristaux en considérant qu'ils montrent souvent une forte flexuosité. Il s'agit plutôt de « cristallites organiques », caractérisés par un état intermédiaire du pigment entre l'état amorphe et l'état cristallin²⁾.

Les idées de *Schimper*, *Meyer* et *Courchet*, selon lesquelles les formes régulières des chromoplastes prennent naissance à la suite d'un processus de cristallisation ne concordent guère avec une autre théorie, défendue surtout par *G. Kraus*³⁾ et *P. Fritsch*⁴⁾. *A. Trécul*⁵⁾ et *A. Weiss*⁶⁾ avaient déjà exprimé auparavant de semblables hypothèses. D'après cette théorie, les chromoplastes pointus prennent naissance par déhiscence de formes annulaires. *G. Kraus*³⁾ décrit de tels phénomènes pour les plastides en forme de fuseaux et tables triangulaires dans les fruits de *Solanum Pseudocapsicum*. Ces plastides se développent à partir de chromatophores verts (chloroplastes) en se colorant d'abord en jaune tout en conservant leur forme ronde. Le pigment, primitivement répandu d'une façon homogène, se déplace ensuite vers un ou plusieurs côtés de la périphérie. En même temps, une ou plusieurs vacuoles se forment à l'intérieur; elles grandissent, atteignent la surface et font éclater le corps globulaire. Les fuseaux résultent alors du déroulement de l'anneau pigmentaire rompu. *Fritsch*⁴⁾ généralise les opinions de *Kraus* en démontrant par plusieurs exemples que les fuseaux colorés dérivent des chromatophores sphéroïdaux. Ceux-ci se creusent d'une ou de plusieurs vacuoles. Suivant l'endroit où les vacuoles atteignent la surface et se fusionnent, on voit naître des formes pointues différentes.

*Schimper*⁷⁾ considère les phénomènes décrits par *Kraus* et *Fritsch* comme des stades de désorganisation et non pas de développement. *Courchet*⁸⁾ admet cependant que la formation des chromatophores pointus observée par *Kraus* et *Fritsch* ne correspond pas toujours à une désorganisation comme le pense *Schimper*. (La figure 4 montre d'ailleurs différents stades d'un tel développement observé par *Courchet*.) *Courchet* met ce phénomène en relation avec un autre qu'il a vu souvent. Les fuseaux et les tables à plusieurs pointes se fragmentent en de nombreuses et fines aiguilles qui se trouvent parfois par centaines dans une cellule. Il s'agit, selon l'avis de *Courchet*, d'aiguilles pigmentaires qui donnent, disposées en faisceaux parallèles ou divergents, leurs formes particulières aux fuseaux, triangles etc.

Après avoir résumé les conceptions des auteurs sur la formation des chromoplastes pointus, il sera utile de mentionner brièvement les opinions sur l'origine des chromatophores arrondis (leucoplastes et chloroplastes). Cette question doit être reprise plus tard en détail en rapport avec le problème du développement. *Schimper*⁹⁾, comme d'ailleurs plusieurs auteurs avant lui, avait cru que les chromatophores se différenciaient à partir du protoplasme. Mais *Schimper*¹⁰⁾ changea son opinion quand il constata la présence de chromatophores différenciés dans les cellules embryonnaires déjà. C'est à partir de ces chromatophores préexistants dans les cellules embryonnaires que — selon l'avis de *Schimper* — tous les autres dérivent par division. *F. Schmitz*¹¹⁾ et *A. Meyer*¹²⁾ arrivèrent à la même conclusion. C'est d'une toute autre façon que *A. Guillermond*¹³⁾ considère le développement

1) *M. Courchet*, l. c., p. 293.

2) l. c., p. 311, 333, 341.

3) *G. Kraus*, Jb. Bot. **8**, 131 (1872).

4) *P. Fritsch*, Jb. Bot. **14**, 185 (1883).

5) *A. Trécul*, Ann. Sci. nat. [4] **40**, 155 (1858).

6) *A. Weiss*, Sitz.-B. Akad. Wiss. Wien **50**, 6 (1865); **54**, 157 (1866).

7) *W. Schimper*, Bot. Ztg. **41**, 128 (1883).

8) *M. Courchet*, l. c.

9) *W. Schimper*, Bot. Ztg. **38**, 881 (1880).

10) *W. Schimper*, Bot. Ztg. **41**, 105 (1883).

11) *F. Schmitz*, Verh. naturhist. Verein Bonn **40**, 1 (1883).

12) *A. Meyer*, Das Chlorophyllkorn 1883.

13) *A. Guillermond*, *G. Mangenot*, *L. Plantefol*, Cytologie Végétale, 1933.

des chromatophores. Comme nous l'avons déjà mentionné dans notre précédente communication, les chromatophores se développent — selon *Guillemont* — à partir de petits éléments cellulaires, les chondriosomes, qui ont la forme de petits grains ou de bâtonnets et qui sont présents dans toutes les cellules végétales et animales. — Quant aux chromatoplastes en forme de fuseaux, losanges, triangles etc., *Guillemont* se rallie d'ailleurs à l'opinion de *Meyer* et de *Courchet*: la cristallisation des pigments détermine la forme; les chromatoplastes « épousent la forme » des cristaux pigmentaires.

En considérant ces différentes conceptions, on se rend compte d'une certaine divergence que *Schimper* semble avoir déjà ressentie. D'un côté, les phénomènes qui régissent le développement des chromatophores, sont reconnus comme essentiellement vitaux, leur division par exemple. D'autre part ce serait un processus de cristallisation qui déterminerait la forme de certains chromatophores. Pour *Schimper*, l'état cristallin impliquerait nécessairement la nature inanimée. Ainsi, *Schimper* ne pouvait pas poursuivre son idée du protoplasme cristallisé. De même, *Schimper*¹⁾ ne pouvait pas admettre l'opinion de *W. Hofmeister* qui ne semble guère concorder avec la cristallisation. *Hofmeister*²⁾ explique les pointes effilées des chromatoplastes par une croissance inégale. *Schimper* ne considère pas non plus les phénomènes décrits par *Kraus* et *Fritsch* comme étant des stades de croissance, mais comme des stades de désorganisation. *Schimper*³⁾ est du reste lui-même conscient de la difficulté. Il se demande comment une cristallisation peut déterminer la forme dans les nombreux cas où cette forme évolue peu à peu, avec des stades intermédiaires entre la forme ronde et la forme pointue. *Schimper* fait alors l'hypothèse suivante: Ce n'est pas toute la masse du chromatophore qui cristallise d'un coup, mais d'abord une petite partie, puis la croissance lente du cristal protidique modifie graduellement la forme du chromatophore. Aussi paradoxale que puisse paraître cette interprétation, nous pensons que *Schimper* était bien guidé par son intuition lorsqu'il a voulu rapprocher la croissance et la « cristallisation » des chromatophores.

Si nous essayons maintenant de tirer les conclusions de nos propres expériences sur les carottes, nous nous trouvons devant de grandes difficultés: D'une part, les cellules de carottes contiennent des formations régulières qui semblent être des cristaux parfaits à en juger leur forme. D'autre part, nous constatons que ces cristaux se composent de petites particules visibles et font partie du système cellulaire. Devant ce mystère, nous devons avouer que nous ne savons rien et que nous ne pouvons que tâtonner.

La forme régulière d'un cristal est due à la disposition régulière d'unités fondamentales, des atomes et des molécules qui s'attirent par des forces de nature électrique. Les mêmes dispositions des unités se répètent toujours dans les mêmes directions (parallèles). Les unités forment un réseau.

En comparant la structure des chromatoplastes avec un réseau moléculaire, on ne peut pas nier les analogies. Les unités, ici les «grana», ont la tendance à se disposer d'une façon définie et cette disposition se répète toujours dans le même sens. Il y a plusieurs raisons de croire que les grana visibles se composent pour leur part d'unités plus petites qui suivent les mêmes lois d'association. Ces unités ultravisibles s'approcheraient de l'ordre de grandeur des molécules.

1) *W. Schimper*, Bot. Ztg. **41**, 129 (1883).

2) *W. Hofmeister*, Die Lehre von der Pflanzenzelle 1867, p. 377.

3) *W. Schimper*, 1883, l. c., p. 817.

Si les grana ont vraiment le caractère d'unités, cette propriété doit être attribuée aux molécules de protides. *T. Svedberg* a démontré que les poids moléculaires de divers protides sont des multiples de la même unité. Si notre conception de la structure des chromatophores est juste, les grana, (c'est-à-dire leurs parties protidiques), suivent les lois révélées par *Svedberg* pour les protides.

Même si ces analogies existent entre les cristaux ordinaires et les cristaux de chromatophores, on ne doit pas oublier la grande différence entre eux: Les cristaux de chromatophores sont vivants, ils ont la faculté de croître et de se diviser. Par quels phénomènes les molécules protidiques deviennent-elles vivantes? Nous ne pouvons pas percer ce mystère de la nature.

Il résulte de ce que nous avons dit que nous attribuons les formes régulières des chromoplastes aux tendances d'organisation de molécules de protides. Ainsi, nous nous rapprochons des conceptions (abandonnées plus tard partiellement) de *Schimper* sur le rôle des cristaux protidiques dans les chromoplastes (voir plus haut). Par cette opinion, nous ne voudrions pourtant pas exclure la possibilité que les pigments et les autres lipides ne prennent pas aussi part à la structure des chromoplastes. Car il est à noter que les dissolvants des lipides détruisent la structure des chromoplastes de la carotte. On peut s'expliquer cela de la manière suivante: Le pigment ou les autres lipides agissent dans le sens d'une solidification (fixation) de la substance cytoplasmique molle de nature protidique, en éloignant peut-être par leur nature hydrophobe l'eau de certaines parties du chromatophore et en enchaînant ainsi plus étroitement les unités protidiques. En ce qui concerne l'état des pigments, les caroténoïdes sont probablement liés aux unités protidiques par une liaison peu stable («symplexe»). Comme l'indique la couleur rouge des carottes, le carotène se trouve dans les chromoplastes à un degré de dispersion relativement faible correspondant probablement à des petites particules cristallines de dimension colloïdale. Nous pensons que cet état est semblable à celui que *P. Karrer*¹⁾ a observé dans des solutions colloïdales rouges de carotène de faible degré de dispersion.

Notre opinion sur la signification des molécules protidiques pour les formes régulières des chromoplastes se confirme par l'étude des propriétés morphologiques des cristaux protidiques répandus dans les tissus végétaux et surtout dans les graines.

En effet, ces cristaux protidiques montrent les mêmes particularités morphologiques que nous avons décrites pour les chromoplastes de la carotte. *C. Nägeli*²⁾ et *W. Schimper*³⁾ (*Hartig, Holle, Radlkofer et Maschke*⁴⁾) ont observé dans ces cristaux protidiques la formation de raies et de vacuoles et des phénomènes de fragmentation. *Schimper*³⁾ a pu

¹⁾ *P. Karrer, W. Straus, Helv. 21, 1624 (1938).*

²⁾ *C. Nägeli, Sitz.-B. Akad. Wiss. München 1862, 2, 120.*

³⁾ *W. Schimper, Untersuchungen über die Proteinkristalloide der Pflanzen, thèse 1878.*

⁴⁾ Cité d'après *C. Nägeli, l. c.*

reconnaître au microscope leur structure réticulaire et en couches. Selon *Schimper*, les cristalloïdes protidiques sont constitués par un treillis (« Maschenwerk ») de substance plus dense dont les mailles contiennent une substance de densité moindre. Selon *Nägeli*, la structure des cristalloïdes protidiques est comparable à celle des grains d'amidon et à celle de la membrane cellulaire (cellulose). Toutes ces substances « organisées » se composent, selon *Nägeli*, de particules cristallines submicroscopiques (« micelles ») qui ont la tendance à se disposer de façon régulière. A l'état humide, chaque particule est entourée d'une couche d'eau. A l'état sec, les micelles se touchent. Lorsque la dessiccation est très poussée, la substance organisée devient friable et se casse facilement¹⁾.

Nous n'hésitons pas d'envisager la structure des chromatophores d'une manière semblable et d'y voir une confirmation de la théorie micellaire de *Nägeli*. Même si nous n'avons pas pu distinguer en détail la structure des grana au microscope, nous considérons comme probable leur caractère cristallin. Du reste, les propriétés d'anisotropie optique que montrent les grana en solution colloïdale, parlent en cette faveur²⁾.

Des structures analogues à celles dont nous avons parlé jusqu'ici se retrouvent dans d'autres formations cellulaires dont les parentés avec les chromatoplastes de la carotte sont aussi très proches. Nous pensons aux pyrénoides et aux chloroplastes.

Les pyrénoides, étudiés spécialement par *F. Schmitz*³⁾, sont des inclusions incolores des chromatophores d'algues qui se multiplient par division ou par formation *de novo*. Selon *Schmitz*⁴⁾, les pyrénoides ont la même structure réticulaire que les autres parties des chromatophores, mais ils contiennent encore une substance supplémentaire incolore qui leur confère une forte réfringence. Selon *Meyer*⁵⁾ et *Schimper*⁶⁾, les pyrénoides ne sont pas ronds comme le pense *Schmitz*, mais anguleux; ce sont donc des cristaux. *Meyer* les compare aux cristaux protidiques des leucoplastes et énumère plusieurs réactions histo-chimiques des pyrénoides qui concordent avec celles des cristalloïdes protidiques. Pour *Schimper*, la forme en cristal des pyrénoides cause la même difficulté que nous avons mentionnée plus haut pour le cas des chromatoplastes. Ainsi, *Schimper* a attribué primitivement aux pyrénoides la faculté de se multiplier par division, mais il abandonne cette opinion lorsqu'il reconnaît la forme polyédrique des pyrénoides. L'auteur cherche maintenant à prouver que pour les pyrénoides seulement une formation *de novo* a lieu, « wie sie bei krystallinen Körpern natürlich allein möglich ist⁷⁾ ».

Quant à la structure des chloroplastes, nous avons cité dans notre précédente communication les travaux récents dans lesquels leur structure granuleuse et lamellaire a été démontrée. *Rosanoff*⁸⁾ et *Klebs*⁹⁾ ont observé déjà depuis longtemps des rayures dans les chromatophores verts. *N. Pringsheim*¹⁰⁾ a reconnu dans les chloroplastes une structure poreuse-spongieuse, et *C. Frommann*¹¹⁾ et *F. Schmitz*¹²⁾ y trouvent une structure fibrillaire-réticulaire.

1) *C. Nägeli*, Sitz.-Ber. Akad. Wiss. München 1862, I, 311.

2) *Helv.* 25, 489 (1942).

3) *F. Schmitz*, 1883, l. c.

4) *F. Schmitz*, Jb. Bot. 15, 1 (1884).

5) *A. Meyer*, Bot. Ztg. 41, 493 (1883).

6) *W. Schimper*, Jb. Bot. 16, 1 (1885).

7) *W. Schimper*, l. c., p. 78.

8) *Rosanoff*, cité par *W. Hofmeister*, Pflanzenzelle 1867, p. 369, fig. 58.

9) *G. Klebs*, Unters. Bot. Inst. Tübingen 1883, t. I, 2, p. 264.

10) *N. Pringsheim*, Jb. Bot. 12, 288 (1881).

11) *C. Frommann*, Beobachtungen über Struktur und Bewegungserscheinungen des Protoplasmas der Pflanzenzellen 1880.

12) *F. Schmitz*, Jb. Bot. 15, 149 (1884).

*Meyer*¹⁾ et *Schimper*²⁾ distinguent par contre une structure granuleuse dans les chloroplastes. Selon *Meyer*, des grains colorés en vert foncé (« grana ») sont contenu dans une masse incolore ou très peu colorée. Pour *Schimper*, le « stroma » incolore est rempli de nombreuses vacuoles contenant une substance visqueuse et colorée. Les vacuoles de *Schimper* correspondent donc aux « grana » de *Meyer*.

Selon nos expériences sur les carottes, la structure fibrillaire-réticulaire et la structure granuleuse des chromatophores ne sont pas en contradiction, mais se conditionnent réciproquement. Comme il résulte de l'exemple des chromoplastes de la carotte, des granules (« petits anneaux ») s'associent en fibrilles et en réticules.

Les chloroplastes peuvent d'ailleurs également présenter la forme de cristaux.

*H. v. Mohl*³⁾ et d'autres auteurs ont attribué les formes polygonales à la pression réciproque des chloroplastes. *A. Gris*⁴⁾, *J. Sachs*⁵⁾ et *W. Hofmeister*⁶⁾ ont cependant démontré que la forme polyédrique des chloroplastes est une conséquence directe de la différenciation. D'après *Stahl*⁷⁾, les chloroplastes anguleux se contractent sous l'effet de la lumière et s'arrondissent. Ainsi, de proches rapports s'expriment entre les formes anguleuses et les formes arrondies, rapports dont la notion du « sphaero-cristal » (*Nägeli*⁸⁾) tient compte.

Nous avons indiqué précédemment⁹⁾ les analogies entre les virus et les chromoplastes de la carotte. Les recherches de *A. Butenandt* et de ses collaborateurs¹⁰⁾ sur la structure du virus de la mosaïque du tabac confirment ces parentés. Selon *Butenandt*, le virus de la mosaïque du tabac se compose d'environ 70 particules protidiques de charge et de masse égale qui sont disposées de façon très régulière. Les associations des molécules de virus en « cristaux » sont donc à mettre en parallèle avec les associations des grana (c'est-à-dire de leurs unités protidiques submicroscopiques) dans les chromatophores¹¹⁾.

Dans une communication ultérieure on essayera de démontrer que toutes les structures analogues dont on a parlé sont à ramener à une source commune: les unités fondamentales protidiques du protoplasme. C'est grâce à ces rapports génétiques que tous les corps « organisés » sont liés entre eux par un principe morphologique commun ainsi que le prévoit la théorie micellaire de *Nägeli*.

¹⁾ *A. Meyer*, Das Chlorophyllkorn 1883, p. 24.

²⁾ *W. Schimper*, 1885, l. c., p. 147.

³⁾ *H. v. Mohl*, Bot. Ztg. **13**, 109 (1855).

⁴⁾ *A. Gris*, Ann. Sci. nat. [4] **7**, 179 (1857).

⁵⁾ *J. Sachs*, Flora **20**, 162 (1862).

⁶⁾ *W. Hofmeister*, Pflanzenzelle 1867, p. 364.

⁷⁾ *E. Stahl*, Bot. Ztg. **38**, 361 (1880).

⁸⁾ *C. Nägeli*, Sitz.-B. Akad. Wiss. München 1862, **I**, 314.

⁹⁾ Helv. **25**, 490, 714 (1942).

¹⁰⁾ *A. Butenandt*, Die Chemie **56**, 76 (1943).

¹¹⁾ Nous avons pu cristalliser in vitro certaines fractions des chromatophores ultra-microscopiques, les plus riches en protides (= fractions protoplasmiques). Ceci nous confirme dans notre opinion que les virus sont des particules de protoplasme.

RÉSUMÉ.

1) La structure microscopique des chromoplastes de la carotte consiste en « petits anneaux » (granules, grana) qui sont disposés en ligne droite ou en forme de cercle les uns à côté des autres. L'association linéaire des petits anneaux a un caractère fibrillaire. La disposition parallèle de plusieurs fibrilles forme une texture réticulaire dont les mailles peuvent être de grandeur différente selon la grandeur des anneaux. Le chromoplaste peut contenir plusieurs couches superposées de systèmes annulaires. Tous les anneaux sont d'aspect granuleux. De plus grands anneaux permettent de distinguer qu'ils sont eux-mêmes composés de très petits anneaux. La structure plus détaillée des petits anneaux n'a pas pu être perçue au microscope.

2) Après un traitement approprié des chromoplastes de la carotte, le pigment apparaît à l'ultramicroscope sous la forme de petites plaquettes pléochroïques disposées en ligne droite ou en cercle les unes à côté des autres. Il résulte d'un examen plus détaillé que le pigment revêt les côtés des petits anneaux (grana). A partir de cet état, le pigment peut se transformer en grands cristaux, à la suite d'un traitement à l'acétone d'une certaine concentration.

3) De même que les anneaux plus grands se composent d'anneaux plus petits, on suppose que les anneaux les plus petits (limite de la visibilité) sont constitués eux-mêmes par des particules submicroscopiques qui suivent les mêmes tendances d'association. La structure des chromoplastes est comparée à un réseau moléculaire dont les unités fondamentales sont les molécules de protides. On suppose que les unités protidiques suivent les lois que *Svedberg* a reconnues pour les molécules de protides.

4) Les chromoplastes de la carotte montrent les mêmes particularités morphologiques que les cristaux protidiques des tissus végétaux (formation de raies, de couches, de vacuoles, fragmentation), et qui ont été décrites par d'autres auteurs. La structure des chromatophores est considérée comme une confirmation de la théorie micellaire de *Nägeli* sur la structure des corps « organisés ». Les grana, c'est-à-dire leurs constituants submicroscopiques, sont comparés aux micelles de *Nägeli*.

5) Les analogies entre la structure des chromoplastes de la carotte et celle des chloroplastes, pyrénéides et virus sont discutées.

Institut de Botanique de l'Université de Genève,
Laboratoire de Chimie et de Microbiologie.

138. Le calcul des équilibres chimiques et ses progrès récents¹⁾

par Ch. G. Boissonnas.

(23 VI 43)

La mesure directe de la constante d'équilibre en fonction de la température est difficile, particulièrement lorsque plusieurs des substances participant à la réaction se trouvent sous forme de gaz. C'est pourquoi elle n'a été faite que pour un petit nombre de réactions²⁾.

¹⁾ Conférence faite à l'assemblée de la Société suisse de Chimie, à Berne, le 28 février 1943; un court résumé a été publié dans la *Schweiz. Chem. Zeitung*.

²⁾ Les réactions homogènes en phase gazeuse pour lesquelles les tables de *Landolt-Börnstein* donnent des valeurs de la constante d'équilibre en fonction de la température, sont au nombre d'une soixantaine environ.