

Zeitschrift: Bulletin de la Société botanique de Genève
Herausgeber: Société botanique de Genève
Band: 33 (1941)

Artikel: Sur le rougissement d'une Algue verte
Autor: Haag, Erwin
DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-1099462>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. [Mehr erfahren](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. [En savoir plus](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. [Find out more](#)

Download PDF: 17.04.2026

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

BULLETIN
DE LA
SOCIÉTÉ BOTANIQUE DE GENÈVE

Publié sous la direction du Dr F. CHODAT, professeur à l'Université

Chaque collaborateur est responsable de ses travaux

Les abonnements (SUISSE : 12 fr. — UNION POSTALE : 13 fr. 50)
sont perçus au Siège social, Institut de Botanique Générale, Genève.

Compte de chèques postaux : I. 3088

VOLUME XXXIII

GENÈVE, Janvier à Décembre 1941

Sur le rougissement d'une Algue verte *

PAR

Erwin HAAG

INTRODUCTION

Sous la direction de F. CHODAT, F. WENZINGER⁽¹¹³⁾ a fait une étude comparative des quantités de caroténoïdes chez une Algue poussant tantôt verte, tantôt rouge. Il s'agissait du *Dictyococcus cinnabarinus* qui se développe en vert dans un milieu *A*, et en rouge dans un milieu *C*. Ces deux milieux *A* et *C* se distinguaient uniquement par la richesse en deux aliments: *A* contenait cinq fois plus d'azote que *C*, et contenait du fer, tandis que *C* ne contenait que le fer apporté par les impuretés des autres aliments.

Pour son étude, WENZINGER a divisé les caroténoïdes en trois catégories : carotènes, xanthophylles et esters de xanthophylles. Au cours de la culture, il a suivi l'évolution de ces trois classes de pigments en effectuant des dosages simul-

* Travail effectué à l'Institut de Botanique générale de l'Université de Genève et subventionné par la Fondation Dr. Joachim de GIACOMI, Société Helvétique des Sciences Naturelles.

tanés sur les Algues verte et rouge. Parmi les résultats obtenus par WENZINGER, il en est un qui est particulièrement utile pour le travail présent : l'Algue rouge est de 2 à 3 fois plus riche en caroténoïdes que l'Algue verte. Par rapport à la quantité de pigments caroténoïdes contenus dans l'Algue verte, il y a par conséquent accumulation de ces pigments chez l'Algue rouge. La teinte rouge du *Dictyococcus* peut alors servir d'*indicateur* d'une *accumulation* des caroténoïdes. Il aurait été possible que les pigments de l'Algue verte fussent masqués par la chlorophylle et qu'ils devinssent visibles lorsque cette dernière disparaît. Cette possibilité a cependant été écartée par le travail de WENZINGER. Cet auteur a en effet montré que l'Algue rouge se distingue de l'Algue verte non seulement par la disparition de la chlorophylle, mais encore par l'accumulation des caroténoïdes.

Sur la proposition et sous la direction de M. le Professeur Fernand CHODAT, tout en nous servant des résultats obtenus par WENZINGER, nous avons poursuivi l'étude du rougissement de la même Algue verte, soit le *Dictyococcus cinnabarinus* (*Kol. et F. Chodat*) *Vischer* (103).

La deuxième partie de ce travail est consacrée à l'étude systématique des conditions de culture entraînant l'accumulation des caroténoïdes. Nous nous sommes limité aux éléments plastiques de la nutrition de l'Algue. Le rôle des facteurs accessoires (éléments catalytiques et facteurs de croissance) n'est par conséquent pas traité dans cette étude, quoique ces facteurs interviennent certainement dans le phénomène de rougissement de l'Algue. Pour ce qui concerne les éléments catalytiques (manganèse, zinc, etc.), il y a lieu de remarquer que nous n'avons jamais ajouté ces catalyseurs aux milieux de cultures. En fait, ils s'y trouvaient quand même, apportés dans les impuretés des sels du commerce avec lesquels les milieux furent confectionnés.

La troisième partie comporte la vérification quantitative d'une hypothèse de F. CHODAT. Appuyé par des observations anatomiques et microchimiques sur des cellules vertes et rouges du *Dictyococcus*, F. CHODAT a en effet avancé que

L'Algue rouge accumule non seulement des caroténoïdes mais encore des lipides.

Dans la dernière partie de cette étude, nous avons fait la revue critique des connaissances actuelles sur la chlorose des Algues et esquissé la direction à suivre pour les recherches dans ce domaine.

PREMIÈRE PARTIE

Méthodes analytiques

CHAPITRE PREMIER

Analyse de l'Algue sèche.

Poids sec.

Toutes les cultures entreprises en vue de déterminer l'interdépendance de la composition du milieu de culture, de la récolte et de la teinte des Algues sont faites dans des fioles coniques de 100 cc. Ces fioles contiennent toujours 50 cc de solution nutritive.

Pour déterminer la récolte, exprimée en poids sec, la culture est filtrée à travers des filtres compensés (Schleicher et Schüll n° 575). Après lavage des Algues, les filtres compensés sont séchés à 105° pendant 3 heures. Après ce temps de dessiccation, les poids restent constants.

Le filtrat, y compris les eaux de lavage, est complété à 100 cc avec de l'eau distillée. Cette solution est conservée pour divers dosages (voir : Analyse du filtrat).

Extraction et analyse des lipides.

Préparation du matériel

Au moment de l'analyse, l'Algue est recueillie sur un filtre Schleicher et Schüll n° 595. L'Algue est lavée sur le filtre. Les eaux de lavage sont réunies au filtrat qui est finalement complété à 1000 cc. Ce liquide est réservé aux dosages des quantités restantes de glucose, nitrate, phosphate.

L'Algue recueillie et lavée est mise en couche mince sur une plaque de verre et placée dans le vide, en présence d'acide sulfurique, jusqu'à ce que son poids reste constant. Après 24 heures de dessiccation cette constance est atteinte.

Extrait brut

L'Algue sèche est réduite en poudre fine au moyen d'un mortier. Environ 500 mg de cette poudre sont placés dans une cartouche à extraction Schleicher et Schüll n° 603, et pesés à 0,1 mg près. La cartouche contenant l'Algue est ensuite placée dans un appareil à extraction de SOXHLET entièrement en verre. Elle y est mise de telle manière que le fond de la cartouche se trouve toujours au-dessus du liquide d'extraction. Cet artifice permet d'extraire le produit par les vapeurs du solvant. L'extraction est commencée par l'éthanol 99-100 %. Le choix de l'éthanol et de la température d'extraction d'environ 80° a été adopté dans l'intention d'obtenir, dans l'extrait, également les lipides liés aux protides. L'extraction aux vapeurs d'éthanol est poursuivie pendant 8 heures. Ce temps passé, l'éthanol est chassé au bain d'eau. La cartouche à extraction est ensuite mise à sa place normale, c'est-à-dire dans le solvant condensé, et on continue l'extraction pendant 3 heures au moyen de l'éther éthylique. Cette opération terminée et l'éther chassé dans le vide, l'extraction est achevée au moyen de benzène. Après 3 heures d'extraction, le benzène est chassé au bain d'eau, le résidu est séché dans le vide, en présence d'acide sulfurique, jusqu'à poids constant. Le résidu des extractions éthanolée, étherée et benzénée est appelé extrait brut.

Lipides bruts

L'extrait brut contient les lipides de l'Algue sèche et autre chose. Pour n'avoir que les lipides, l'extrait brut est repris par l'éther éthylique anhydre. L'éther est chassé et le résidu est séché dans le vide jusqu'à poids constant. Le poids du résidu ainsi obtenu est appelé lipides bruts.

Saponification

La saponification des lipides est faite par la potasse alcoolique contenant un grand excès de potasse. Nous avons procédé de la façon suivante :

Aux lipides bruts se trouvant dans un ballon de 50 cc, on ajoute 25 cc d'éthanol et 9,2 g d'hydroxyde de potassium. Le ballon de 50 cc est ensuite appliqué à un réfrigérant rodé, ascendant de DIMROTH. La saponification sous reflux est faite au bain d'eau bouillante pendant 3 heures. Le liquide de saponification refroidi est additionné de 50 cc d'éther de pétrole et de 25 cc d'eau. Après agitation vigoureuse, la couche d'éther de pétrole est décantée. L'extraction à l'éther de pétrole est répétée deux fois. Finalement, on a une solution d'éther de pétrole qui contient l'insaponifiable (hydrocarbures et alcools à poids moléculaires élevés et une couche aqueuse qui contient l'hydrosoluble et les acides gras à l'état de sels de potassium.

Insaponifiable

La solution d'éther de pétrole contenant l'insaponifiable est acidifiée par l'acide chlorhydrique. Elle est ensuite lavée par l'eau jusqu'à ce que la dernière eau de lavage ne soit plus acide (titration avec KOH n/20 en présence de phénolphtaléine). L'éther de pétrole est ensuite chassé dans le vide. Le résidu, séché dans le vide jusqu'à poids constant, représente l'insaponifiable.

L'insaponifiable, additionné de 10 cc de NaOH n/20, est chauffé sous reflux au bain d'eau bouillante pendant 10 minutes.

Après refroidissement, l'excès de soude est titré par HCl n/20 en présence de phénolphtaléine. Le résultat, exprimé en acide oléique, est appelé acidité de l'insaponifiable.

Acides gras

La solution aqueuse contenant les savons et l'hydrosoluble est acidifiée par l'acide chlorhydrique dilué. Les acides gras ainsi libérés sont enlevés par trois extractions successives à l'éther. L'éther lavé à l'eau est ensuite chassé dans le vide. Le résidu, séché jusqu'à poids constant, représente les acides gras.

Les acides gras, additionnés de 20 cc de NaOH n/20, sont chauffés sous reflux au bain d'eau bouillante pendant 10 minutes. Après refroidissement, l'excès de soude est titré par HCl n/20 en présence de phénolphtaléine. Le résultat, exprimé en acide oléique, est appelé acidité des acides gras.

Hydrosoluble

La différence entre lipides bruts et insaponifiables plus acides gras indique la quantité de l'hydrosoluble.

Remarque

La méthode d'analyse des lipides bruts qui vient d'être exposée est sommaire et comporte beaucoup d'imprécisions ; en particulier celles qui sont inhérentes à une méthode de séparation basée sur les solubilités. Pour le but poursuivi dans la recherche entreprise, elle est cependant amplement suffisante.

CHAPITRE II

Analyse du filtrat.

Glucose

Le glucose est dosé d'après KOLTHOFF (a) de la manière suivante : 10 cc de filtrat contenant au plus 11 mg de glucose

sont additionnés de 25 cc d'une solution d'iode n/100 fraîchement préparée à partir d'une solution n/10, et de 5 cc de NaOH n/10. Le flacon contenant ces liquides, bouché, est abandonné pendant 10 minutes à l'obscurité. Ce temps passé, la liqueur est acidifiée par HCl et l'excès d'iode est titré par l'hyposulfite n/100 fraîchement préparé à partir d'une solution n/10.

Par cette méthode, la fonction aldéhydique est quantitativement transformée en fonction carboxyle. La précision est supérieure à 0,5 pour cent.

Nitrate

Les nitrates sont dosés colorimétriquement d'après l'excellente méthode de LEMOIGNE, MONGUILLON et DESVAUX (b). Le principe de la méthode est de réduire les nitrates par le zinc en un mélange de nitrite et d'hydroxylamine, d'oxyder par l'iode l'hydroxylamine en nitrite pour appliquer finalement au nitrite la réaction colorée de P. GRIESS.

Voici le mode opératoire, (avec un changement insignifiant) :

Solution I : Dissoudre 5,25 g d'acide sulfanilique dans 400 cc d'eau chaude, ajouter 100 cc d'acide acétique.

Cette solution se conserve pendant des mois.

Solution II : Ajouter à 500 cc d'eau bouillante 3,00 g de α -naphtylamine, faire bouillir quelques minutes, filtrer chaud, ajouter au filtrat 25 cc d'acide acétique.

Cette solution doit être renouvelée dès qu'elle forme un dépôt.

Solution III : Dissoudre 1,3 g d'iode dans 100 cc d'acide acétique cristallisable.

Solution IV : Dissoudre 2,5 g d'hyposulfite dans 100 cc d'eau.

Dans une fiole jaugée de 20 cc, on met une quantité déterminée de liquide à analyser (exempt d'hydroxylamine et de nitrite); on ajoute une goutte de HCl n/1 et 5 cc d'une solution de sulfate d'ammonium à 20 %; on complète à

20 cc avec de l'eau. Le liquide est refroidi à 0°. On ajoute 1,00 g de poudre de zinc, on agite. Après trois minutes, on sépare du zinc par filtration. 10 cc du filtrat sont mis dans une fiole jaugée de 50 cc, on y ajoute 1 cc de solution I et 2 cc de solution III. Après 3 minutes, on décolore par addition de 1 cc de solution IV. Puis on ajoute 1 cc de solution II et on complète immédiatement à 50 cc avec de l'eau. L'extinction de la solution colorée obtenue est mesurée, après 20 minutes, au photomètre de Pulfrich (écran coloré S 53), en mettant dans la deuxième cuve le liquide d'une expérience à blanc.

Nous avons vérifié par des mesures préliminaires que les coefficients d'extinction sont directement proportionnels à la concentration en ion nitrate.

Phosphate

L'ion phosphate est dosé d'après BELL-DOISY-BRIGGS (c) suivant les indications de BARAC (d):

Solution I: 25,0 g de molybdate d'ammonium sont dissous dans 300 cc d'eau; on ajoute 200 cc de solution aqueuse contenant 75 cc d'acide sulfurique.

Cette solution se conserve pendant des mois.

Solution II: Une fiole conique de 100 cc contenant 20,0 g de sulfite de sodium et 0,50 g d'hydroquinone est complétée jusqu'au trait de jauge avec de l'eau.

Cette solution devient inutilisable dès qu'elle se colore.

Dans une fiole jaugée de 10 cc, on verse la solution à analyser, 2 cc de la solution I et 1 cc de la solution II et on complète jusqu'au trait de jauge. L'extinction de la solution colorée obtenue est mesurée, après 90 minutes, au photomètre de Pulfrich (écran coloré S 72), en mettant dans la deuxième cuve le liquide d'une expérience à blanc.

Les coefficients d'extinction sont directement proportionnels à la concentration en ion phosphate.

DEUXIÈME PARTIE

**Sur les conditions d'accumulation des caroténoïdes
chez le *Dictyococcus cinnabarinus***

Les cultures de l'Algue sont faites en milieu liquide contenant les substances suivantes :

glucose,
nitrate de calcium,
phosphate monopotassique,
sulfate de magnésium,
chlorure de potassium,
sulfate ferreux.

Les produits employés proviennent de Siegfried S. A., Zofingue. Ce sont toujours les produits les plus purs de cette Maison qui nous ont servi. Ils ont été employés tels quels.

L'Algue est toujours cultivée sur 50 cc de liquide, contenu dans une fiole conique de 100 cc, en verre Pyrex. La stérilisation est réalisée par un chauffage à 115° durant 25 minutes. Après l'ensemencement, les fioles sont placées dans une chambre éclairée 12 heures par jour au moyen d'une forte lampe électrique. La température de cette chambre varie entre 15 et 30° suivant les saisons. Les cultures sont agitées fréquemment.

La plupart des essais sont faits dans les deux milieux suivants, glucosés à des proportions variables :

	Milieu <i>A</i>	Milieu <i>C</i>
$(\text{NO}_3)_2 \text{Ca} + 4 \text{H}_2\text{O}$	1000,0 mg	200,0 mg
$\text{PO}_4 \text{KH}_2$	83,3 »	83,3 »
$\text{SO}_4 \text{Mg} + 7 \text{H}_2\text{O}$	83,3 »	83,3 »
ClK	83,3 »	83,3 »
$\text{SO}_4 \text{Fe} + 7 \text{H}_2\text{O}$	2,5 »	—
Eau distillée q.s. pour	1000 cc	1000 cc

Suivant la teneur en glucose, l'Algue pousse plus ou moins rouge en milieu *C* et plus ou moins verte en milieu *A*.

En parlant des Algues cultivées en milieu *A* ou *C*, on les nommera par extension Algues *A* et *C*, étant bien entendu qu'il s'agit de la même Algue.

Après un temps voulu de culture, on procède à l'analyse. Les buts de l'analyse sont :

- la teinte des Algues,
- la récolte (poids sec),
- la quantité de glucose consommé,
- la quantité d'azote consommé,
- la quantité de phosphore consommé.

Nous nous sommes limité aux trois éléments carbone, azote et phosphore, qui, en dehors de l'oxygène et de l'hydrogène, entrent d'une façon prépondérante dans la constitution de la matière vivante.

CHAPITRE PREMIER

Rôle du temps de culture ⁽¹¹⁵⁾.

Pour nous faire une première idée du métabolisme de l'Algue, nous avons suivi, en fonction du temps de culture, la consommation des aliments pour les deux liquides nutritifs *A* et *C*.

	Milieu A	Milieu C
SO ₄ Mg + 7H ₂ O	83,3 mg	83,3 mg
PO ₄ KH ₂	83,4 »	83,4 »
ClK	83,2 »	83,2 »
(NO ₃) ₂ Ca + 4H ₂ O	1000 »	200 »
SO ₄ Fe + 7H ₂ O	2,5 »	—
Eau distillée q.s. pour	1000 cc	1000 cc

Ces milieux ont été additionnés de glucose. Lorsque ce dernier était consommé, une quantité nouvelle d'ose était ajoutée tout de suite ou après un certain temps.

Aux premiers jours de la culture, les teintes de toutes les Algues sont jaunâtres*. Les Algues C prennent ensuite une coloration jaune franche, qui vire progressivement à l'orangé à mesure que la culture vieillit. La couleur des Algues A vire par contre au vert. Cette coloration verte devient intense et foncée chaque fois que le glucose manque dans le milieu ; elle pâlit, au contraire, chaque fois que le glucose est en excès.

L'expérience, commencée le 20 mars, a donné à l'analyse les chiffres suivants (nitrate et phosphate sont exprimés en azote et en phosphore) :

Milieu A.

Age de la culture	Poids sec	Glucose		Azote		Phosphore		Teinte
		Offert	Consummé	Offert	Consummé	Offert	Consummé	
	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	
6 jours	22	95	34	5,95	—	0,95	0,16	jaune
9 »	41	95	65	»	—	»	0,24	jaune
13 »	53	95	89	»	—	»	0,50	jaune-vert
15 »	49	95	89	»	0,92	»	0,58	vert
21 »	107	190	179	»	2,30	»	0,83	vert-jaune
23 »	105	190	—	»	2,85	»	0,87	vert
24 »	100	190	181	»	2,95	»	0,89	vert
34 »	148	287	271	»	3,80	»	0,90	vert
48 »	163	378	320	»	—	»	—	vert-jaune
75 »	157	378	362	»	—	»	—	vert
111 »	157	378	371	»	5,60	»	—	vert foncé
140 »	264	576	568	»	5,95	»	0,95	vert-jaune
190 »	243	576	567	»	5,95	»	0,95	vert-jaune
252 »	219	576	570	»	5,95	»	0,95	jaune-rouge

* En lumière moins violente (lumière naturelle diffuse), les Algues A commencent par pousser verdâtres et les Algues C jaunâtres.

En examinant ce tableau d'analyse, nous constatons que la récolte augmente tant qu'il y a excès de glucose. L'ose manquant, le poids sec diminue. L'augmentation signifie que l'Algue accumule des substances issues du glucose tant que celui-ci est en abondance dans le milieu ; la diminution indique que ces substances sont brûlées (« respirées ») lorsque le glucose est en insuffisance. Autrement dit, suivant les conditions extracellulaires, l'Algue constitue des réserves ou mobilise des réserves constituées.

En ce qui concerne la couleur des Algues, le tableau montre bien la corrélation étroite entre le glucose présent dans le milieu et la teinte de l'Algue. Chaque fois qu'il y a excès de glucose dans le milieu, il y a tendance au jaunissement, mais sitôt le glucose épuisé, la couleur vire rapidement au vert. Tout se passe comme si l'Algue était très gourmande en glucose. Cette « gourmandise » entraîne un métabolisme exceptionnel, se manifestant entre autre dans la pigmentation. La « gourmandise » en glucose arrêtée par l'épuisement du milieu, le métabolisme redevient normal : l'Algue verdit. Ce retour à une « vie saine », dont le verdissement est l'indicateur, n'est cependant pas possible après 140 jours de culture, moment où les réserves en azote sont épuisées : l'Algue accentue alors son virage au jaune quoique le milieu ne contienne plus de glucose.

Milieu C.

Age de la culture	Poids sec	Glucose		Azote		Phosphore		Teinte
		Offert	Consummé	Offert	Consummé	Offert	Consummé	
	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	
6 jours	20	95	34	1,19	—	0,95	0,09	jaune
10 »	39	95	68	»	—	»	0,20	↓ rouge vif
13 »	—	95	74	»	—	»	0,21	
15 »	45	95	87	»	1,10	»	0,25	
21 »	47	190	100	»	1,16	»	—	
24 »	56	190	115	»	1,18	»	0,33	
34 »	88	190	180	»	1,19	»	0,50	
48 »	95	281	176	»	—	»	—	
75 »	110	281	276	»	—	»	—	
111 »	99	281	279	»	1,19	»	—	
140 »	110	479	332	»	1,18	»	0,95	
190 »	111	479	359	»	1,19	»	0,95	
252 »	111	479	383	»	1,19	»	0,95	

Dans cette série *C*, nous retrouvons un résultat déjà constaté à propos de la série *A* : un manque de glucose provoque une diminution de la récolte. En effet, le seul moment où l'Algue n'avait plus de glucose à sa disposition correspond également à l'unique diminution de poids (après 111 jours de culture).

La récolte maximum est beaucoup moins élevée que dans la série *A*. C'est la teneur plus faible en azote du milieu *C* qui en est la cause. Cependant, l'azote est déjà épuisé après 24 jours de culture ; néanmoins, la récolte augmente encore. Cette augmentation de poids est attribuée principalement à une assimilation de produits ternaires (« engraissement »), hypothèse qui sera prouvée dans la troisième partie de ce travail.

Nous venons de voir que le poids sec continue à augmenter quoique la source azotée soit épuisée. A ce moment, soit après 24 jours de culture, le milieu renferme encore beaucoup de phosphore. Cet élément s'épuise finalement lui aussi ; dès lors (après 140 jours de culture) la croissance est définitivement arrêtée.

L'Algue *C* vire progressivement du jaune initial au rouge vif final. Une tendance au verdissement ne se manifeste à aucun moment, même pas au moment où l'Algue ne trouve plus de glucose dans le milieu (après 111 jours de culture). Comme nous l'avons vu plus haut, le verdissement est conditionné par deux faits au moins : manque de glucose et disponibilité d'azote. Or, dans le cas présent, une des deux conditions (disponibilité d'azote) n'est pas remplie : l'Algue ne verdit pas.

Les analyses ci-dessus comportent encore d'autres résultats. Pour les mettre en évidence, il a fallu établir des rapports entre les données précédentes. Ces valeurs sont consignées dans le tableau suivant :

Age de la culture	Poids sec		Poids sec		Poids sec		G. consommé		G. consommé		N consommé	
	G. consommé	N consommé	P consommé	P consommé	P consommé	P consommé	P consommé	N consommé	N consommé	P consommé	P consommé	
Série	A	C	A	C	A	C	A	C	A	C	A	C
Jours												
6	0,65	0,59	—	—	140	210	220	380	—	—	—	—
9-10	0,63	0,58	—	—	170	190	270	340	—	—	—	—
13	0,60	—	—	—	110	—	180	350	—	—	—	—
15	0,55	0,52	53	41	83	180	150	350	97	79	1,6	4,4
21	0,60	0,47	46	40	130	—	210	—	78	86	2,8	—
23	—	—	37	—	120	—	—	—	—	—	3,3	—
24	0,55	0,49	34	47	110	170	200	350	61	97	3,3	3,6
34	0,55	0,49	39	74	160	170	300	360	71	150	4,2	2,4
48	0,51	0,54	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
75	0,43	0,40	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
111	0,42	0,35	28	83	—	—	—	—	66	235	—	—
140	0,46	0,33	44	93	280	120	600	350	96	280	6,3	1,2
190	0,43	0,31	41	93	260	120	600	380	95	300	6,3	1,3
252	0,38	0,29	37	93	230	120	600	400	96	320	6,3	1,3

Relevons de ces chiffres :

1. — *Poids sec*/glucose consommé :

Au fur et à mesure que l'âge des cultures augmente et que les milieux s'appauvrissent en sels, le glucose est de plus en plus mal utilisé. Au début, les rapports sont grands, ce qui veut dire que le glucose est surtout matière première d'assimilation ; vers la fin, les rapports sont petits, ce qui veut dire que le glucose joue surtout le rôle de « combustible ». Les séries *A* et *C* se distinguent par le fait que le glucose est mieux utilisé (relativement au poids sec) par les Algues *A*. En milieu *C*, le glucose joue davantage le rôle de combustible. Ce dernier fait a déjà été constaté par F. CHODAT pour une autre Algue (¹⁰⁶).

2. — *Poids sec*/N consommé :

Ce rapport, en première approximation, reste constant pour les Algues *A*, tandis qu'il passe du simple au double pour les Algues *C*. Ce résultat trouvera sa signification dans ce qui sera exposé dans la troisième partie de ce mémoire.

3. — *Poids sec*/P consommé :

Les valeurs sont constamment décroissantes pour les Algues *C*, c'est-à-dire que l'Algue s'enrichit en phosphore au

cours du vieillissement de la culture. Ce fait est à rapprocher de l'enrichissement simultané en lipides. (Voir troisième partie.)

4. — *Glucose consommé/P consommé* :

Ce rapport est constant pour la série C. Tout se passe comme si l'assimilation du glucose par l'Algue — souffrant d'un manque d'azote — était conditionnée par le phosphore. Ce serait donc le phosphore qui jouerait le rôle de facteur limitant.

5. — *Glucose consommé/N consommé* :

Phénomène inverse : le rapport étant constant pour la série A, tout se passe comme si l'assimilation du glucose par l'Algue — souffrant de ressources insuffisantes en phosphore — était conditionnée par l'azote. Ici, ce serait l'azote qui jouerait le rôle du facteur limitant.

6. — *N consommé/P consommé* :

La succession des chiffres indique que l'Algue poursuit sa croissance jusqu'à l'épuisement complet des réserves en azote et en phosphore. Ce fait souligne d'une façon frappante l'« élasticité » du métabolisme de cette Algue.

En résumé, cette étude de la nutrition de l'Algue en fonction du temps nous montre les grandes variations du métabolisme qui sont indirectement exprimées par l'accumulation des caroténoïdes. Le facteur dominant (plastique) de cette accumulation — nous pouvons l'affirmer dès maintenant — est l'offre excessive du glucose.

CHAPITRE II

Rôle de la concentration en glucose.

Dans le chapitre précédent, le rôle joué par le glucose dans le phénomène du rougissement de l'Algue a pu être établi d'une façon nette. Cet élément, en effet, a toujours déplacé la teinte des Algues vers le rouge, chaque fois qu'il était présent en abondance, et cela indépendamment de la présence ou de l'absence d'autres aliments.

En vue de préciser encore l'intervention du glucose dans le métabolisme de l'Algue, nous avons entrepris une nouvelle série de cultures sur les milieux *A* et *C* qui contenaient cette fois des quantités variables de glucose. Les concentrations employées vont de 0,18 pour cent (n° 1) à 9,44 pour cent (n° 5).

Après 92 jours de culture, du 15 avril au 16 juillet, l'analyse a été faite. Voici les résultats :

Milieu A.

N°	Glucose		Poids sec	Azote		Phosphore		Teinte
	Offert	Con-sommé		Offert	Con-sommé	Offert	Con-sommé	
	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	
A 1	94	92	41	5,95	2,40	0,95	0,93	vert
A 2	236	231	101	»	4,25	»	0,95	vert
A 3	472	454	200	»	5,40	»	0,54	jaune
A 4	1180	441	178	»	4,50	»	0,54	jaune
A 5	4720	—	125	»	—	»	—	jaune-brun

La marche des chiffres concernant la récolte révèle un optimum de concentration en glucose. En effet, de *A 1* à *A 3*, la concentration et la récolte augmentent parallèlement. Pour des concentrations encore plus élevées en glucose, il se produit une inhibition de la croissance. En ce qui concerne la couleur des Algues, le tableau confirme les résultats précédents : l'Algue est verte lorsqu'il n'y a plus de glucose dans le milieu, tandis qu'elle manifeste une tendance vers le rougissement lorsque le glucose est disponible en abondance.

Milieu C.

N°	Glucose		Poids sec	Azote		Phosphore		Teinte
	Offert	Con-sommé		Offert	Con-sommé	Offert	Con-sommé	
	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	
C 1	94	90	35	1,19	1,18	0,95	0,81	jaune-brun
C 2	236	232	93	»	1,18	»	0,95	jaune-orangé
C 3	472	308	119	»	1,18	»	0,65	orangé
C 4	1180	345	134	»	1,19	»	0,75	orangé
C 5	4720	—	79	»	—	»	—	orangé

Dans cette série *C*, il y a donc également un optimum de concentration en glucose au point de vue de la récolte. Par rapport à la série *A*, cet optimum est déplacé vers les concentrations élevées.

La couleur des Algues *C* 1 et *C* 2 n'est pas verte quoique les milieux ne contiennent plus de glucose. C'est l'épuisement du milieu en azote qui en est la cause. A côté d'un premier facteur engendrant l'accumulation des caroténoïdes, à savoir l'*abondance* en glucose, nous en notons maintenant un second, à savoir la *carence* en azote.

Nous complétons l'influence de la concentration du glucose sur le métabolisme des Algues *A* et *C* par les rapports des quantités mesurées, rapports consignés dans le tableau suivant :

N°	Poids sec		Poids sec		Poids sec		G. consommé		G. consommé		N consommé	
	G. consommé		N consommé		P consommé		N consommé		P consommé		P consommé	
	A	C	A	C	A	C	A	C	A	C	A	C
1	0,45	0,38	17	29	44	43	39	76	100	110	2,6	1,4
2	0,44	0,40	24	79	110	97	54	200	240	240	4,5	1,2
3	0,44	0,39	38	101	380	180	84	260	840	470	10,0	1,8
4	0,40	0,39	40	113	330	180	98	290	820	460	8,3	1,6

Relevons de ces chiffres :

Poids sec/Glucose consommé : les chiffres indiquent que pour chaque gramme de glucose consommé, il y a 0,44 g d'Algue *A* ou 0,39 g d'Algue *C* de formée, ceci restant vrai quelle que soit la concentration du glucose offert. L'utilisation du glucose en milieu *A* est donc meilleure qu'en milieu *C*, en accord avec les résultats précédents.

Quant aux rapports

Poids sec/N consommé

Poids sec/P consommé

Glucose consommé/N consommé

Glucose consommé/P consommé

nous constatons que ces valeurs augmentent pour les Algues nos 1 et 2, c'est-à-dire pour celles qui ne disposent plus de

glucose dans les milieux de culture. Les Algues n^{os} 3 et 4 étant encore en présence d'un excès de glucose, fournissent des rapports constants plus élevés que ceux valables pour les Algues n^{os} 1 et 2.

Quelle est la signification de ces faits ?

Admettons, pour simplifier, que les quantités consommées d'azote et de phosphore soient réellement assimilées. En ce qui concerne le phosphore, cette hypothèse n'est guère douteuse, tandis qu'une certaine quantité d'azote, consommée comme nitrate, pourrait être éliminée sous une autre forme. Ceci posé, rappelons qu'en présence de glucose, le poids sec constitué au bout d'un temps donné est beaucoup supérieur (environ mille fois) à celui d'une culture développée dans un milieu non sucré. Toutefois la teneur en azote et en phosphore n'est pas proportionnée à l'augmentation du poids sec. Il en résulte que le corps de l'Algue développée en milieu sucré est pauvre en azote et en phosphore. C'est cet appauvrissement qui prélude, au moins en ce qui concerne l'azote, à l'accumulation des caroténoïdes.

Pour finir ce chapitre, nous insisterons sur les rapports indiquant la teneur des Algues en azote et en phosphore. Les Algues *A* et *C*, tout en étant très pauvres en ces éléments, ne le sont toutefois pas au même degré. Les rapports

$$\frac{\text{Poids sec}}{N \text{ consommé}}$$

$$\frac{\text{Poids sec}}{P \text{ consommé}}$$

de ce chapitre, de même que ceux du premier chapitre, montrent en effet que l'Algue *A* peut être jusqu'à trois fois plus riche en azote que l'Algue *C*. Pour le phosphore, c'est l'inverse qui se produit : les Algues *C* peuvent être jusqu'à deux fois plus riches en phosphore que les Algues *A*. Ce dernier fait cadre bien avec les résultats exposés dans la troisième partie de ce travail.

CHAPITRE III

Rôle de l'azote (¹¹⁶).

L'intervention d'un manque d'azote dans le changement de la pigmentation des Algues a souvent été mise en évidence. Dans les deux chapitres précédents, nous avons également insisté sur la nécessité de ressources suffisantes en azote pour que l'Algue puisse se teinter en vert. L'importance de ce facteur nous a incité à étudier le rôle de l'azote d'une façon plus approfondie. Pour ce faire, nous avons cultivé l'Algue dans des milieux de plus en plus pauvres en azote. Le milieu de base a été le suivant :

$(\text{NO}_3)_2\text{Ca} + 4\text{H}_2\text{O}$	910	mg
PO_4KH_2	172	»
$\text{SO}_4\text{Mg} + 7\text{H}_2\text{O}$	168	»
ClK	168	»
$\text{Cl}_3\text{Fe} + 6\text{H}_2\text{O}$	1,25	»
Glucose	18460	»
Eau distillée q.s. pour	1000	cc

En variant la dose de nitrate de calcium, — toutes les autres concentrations restent inchangées, — nous avons fait neuf cultures sur des milieux qui contenaient au litre les quantités suivantes :

N° 2	0,0 mg	$(\text{NO}_3)_2\text{Ca} + 4\text{H}_2\text{O}$
4	18,2	»
6	45,5	»
8	91,0	»
10	182	»
12	364	»
14	546	»
16	728	»
18	910	»

La culture qui se développe la première est le n° 18, celle qui dispose de la plus grande quantité d'azote. Le n° 16 montre un développement visible seulement quelques

jours plus tard ; les n^{os} 14, 12, 10 encore plus tard. Les cultures restantes, disposant de très peu d'azote, ne se développent pas du tout, même pas après un second ensemencement.

Le n^o 10 atteint (voir le tableau ci-dessous) un poids sec de 118 mg, tandis que le n^o 8, disposant pourtant d'une demi-ration d'azote (par rapport au n^o 10), ne se développe plus du tout. Ce fait montre bien un côté particulier d'un régime déséquilibré. Le milieu n^o 8 est tellement déséquilibré, c'est-à-dire tellement pauvre en azote comparativement aux autres ressources minérales, que l'Algue est incapable de profiter du peu d'azote qu'on lui a offert*. Pour ce cas particulier, on est fondé à dire que l'Algue « ne sait pas choisir ». Cet organisme se révèle inapte à « absorber » électivement l'azote. Tout se passe comme si la cellule, recevant du milieu une certaine quantité d'azote, recevait en même temps et *malgré* elle une certaine dose des autres aliments du liquide nutritif ; cette dose est sans doute trop grande par rapport à celle d'azote pour que le processus de l'édification de la matière vivante puisse jouer. En résumé, la perméabilité de la cellule du *Dictyococcus* nous paraît insuffisamment coordonnée pour concilier les possibilités intracellulaires avec les données extracellulaires.

Les cultures ensemencées le 15 juillet ont été analysées après 249 jours. Voici les résultats obtenus :

N ^o	Azote		Poids sec	Glucose		Phosphore		Teinte
	Offert	Consummé		Offert	Consummé	Offert	Consummé	
	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	
2	—	—	—	923	—	1,96	—	—
4	0,11	—	—	»	—	»	—	—
6	0,27	—	—	»	—	»	—	—
8	0,54	—	—	»	—	»	—	—
10	1,08	1,08	118	»	350	»	1,04	rouge
12	2,16	2,16	162	»	545	»	0,55	rouge
14	3,24	3,24	243	»	750	»	1,64	orangé
16	4,32	4,32	287	»	915	»	0,72	orangé-jaune
18	5,40	5,40	287	»	910	»	0,55	brunâtre

* Rappelons cependant que des croissances d'Algues ont été obtenues sur des milieux tout aussi pauvres en azote, mais présentant une dilution simultanée de tous les aliments minéraux.

Au cours de la culture, la couleur des Algues s'est transformée. Les n^{os} 10 et 12 ont débuté par du jaune pour aboutir au rouge. Le n^o 14, partant d'un vert franc, a passé par le vert-jaune pour arriver à l'orangé. Enfin, les n^{os} 16 et 18 ont commencé par du jaune-vert et, en gardant pendant tout le temps de la culture une nuance verte, ont fini par les teintes indiquées dans le tableau ci-dessus. Ces évolutions des teintes sont conformes aux résultats antérieurement décrits.

Les résultats d'analyse concernant les quantités de phosphore consommé (voir le tableau ci-dessus) sont très irréguliers. Ces irrégularités ne sont nullement dues à des défauts de la méthode de dosage. Nous verrons dans ce chapitre et dans le suivant le rôle exceptionnel que joue le phosphore dans la vie du *Dictyococcus*.

* * *

La série des cultures dont nous venons de rendre compte a été complétée par une deuxième, où seul l'apport de fer a été supprimé, toutes les autres conditions demeurant inchangées.

Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau suivant :

N ^o	Azote		Poids sec	Glucose		Phosphore		Teinte
	Offert	Con- sommé		Offert	Con- sommé	Offert	Con- sommé	
	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	
1	—	—	—	923	—	1,96	—	—
3	0,11	0,11	15	»	16	»	0,22	orangé
5	0,27	0,27	32	»	115	»	0,53	rouge
7	0,54	0,54	59	»	196	»	0,78	rouge
9	1,08	1,08	67	»	144	»	0,03	blanc
9'	1,08	1,08	75	»	285	»	0,04	orangé pâle
11	2,16	2,16	191	»	583	»	0,28	orangé
13	3,24	3,24	249	»	789	»	1,32	orangé-brun
15	4,32	4,32	255	»	826	»	1,42	orangé-brun
17	5,40	5,40	256	»	861	»	1,06	orangé-brun

Les cultures de cette série ont étéensemencées en même temps que la série avec fer. Comme pour la série avec fer, l'ordre chronologique du début de développement s'échelonne suivant les concentrations décroissantes en azote. C'est le n° 17 qui se développe le premier, puis le n° 15 et ainsi de suite jusqu'au n° 3. Toutes ces cultures sans fer se sont d'ailleurs développées avant celles avec fer. Ce retard du développement doit être attribué à la présence du fer. Le manque de fer a encore une autre conséquence. Le tableau ci-dessus indique, en effet, qu'il y a partout développement où il y a présence d'azote, contrairement à ce que nous avons vu à propos de la série avec fer. Pourtant le fer est nécessaire au bon développement de l'Algue, notamment au verdissement. Nos résultats indiquent que le *Dictyococcus* est très sensible au fer, même à des concentrations très faibles.

Cette affirmation est vraie pour des cultures disposant de faibles ressources en azote. Pour des doses plus élevées en azote, la présence du fer est favorable au point de vue de la récolte finale. En effet, alors que le n° 17 ne produit que 256 mg d'Algue sèche, la culture correspondante (disposant en plus de 0,013 mg de fer), le n° 18, en produit 287 mg.

L'augmentation de la production des pigments caroténoïdes par des cultures à faibles doses d'azote est confirmée par les résultats de ce chapitre. Les Algues les plus rouges sont aussi celles qui ne disposent que de peu d'azote. Celles qui bénéficiaient de doses d'azote plus élevées ont une teinte orangée-brune, couleur transitoire entre le rouge et le vert. Vers la fin de la culture, alors que les teintes étaient dans toutes les cultures plus ou moins orangées, nous avons vu des cellules vertes, disposées en fine couche sur les cellules orangées. C'est pour les cultures n°s 13 et 15 que nous avons observé ce phénomène de verdissement des vieilles cultures à dose élevée en azote. Ce verdissement n'a pu se poursuivre, l'azote s'épuisant finalement, et il en résultait la teinte orangée-brune.

* * *

Au cours de nos essais, nous avons dû constater assez souvent que des cultures en milieu C blanchissaient rapidement. Ainsi, parmi 38 cultures identiques, 6 blanchissaient subitement après avoir atteint une teinte orangée (117).

Les Algues blanches sont mortes. Des réensemencements sur des milieux neufs en apportent la preuve. Si une culture présentant une teinte orangée montre un léger pâlissement, on peut être certain qu'en peu de jours toutes les cellules deviendront blanches et seront mortes. Quelles sont les causes de cette épidémie mortelle des Algues ? Dans le dernier tableau d'analyse, nous avons inscrit les résultats pour une culture morte (n° 9) et pour une culture en train de succomber (n° 9'). Le tableau suivant montre les valeurs des rapports *poids sec/P consommé* pour la série sans fer.

N°	Poids sec P consommé
1	—
3	66
5	61
7	75
9 †	2100
9'	1900
11	680
13	190
15	180
17	240

Etant donné, d'une part, les valeurs de ce rapport, et comme on sait, d'autre part, que le n° 9 est mort et que le n° 9' est gravement malade, on peut affirmer que la cause ou l'effet de la mort de l'Algue est l'appauvrissement des cellules en phosphore. Sur la base de ces chiffres, on peut même dire que le n° 11 est déjà « atteint ». L'extrême pauvreté en phosphore des Algues mortes nous suggère que ces cultures, après avoir été rouges et *riches* en phosphore, ont subitement commencé à éliminer cet élément. Il ne s'agit donc pas d'une assimilation défectueuse du phosphore. Au contraire, la mort des Algues est liée à une dégradation massive du

phosphore organisé, autrement dit à une phospholyse. La mort de l'Algue, et corrélativement la phospholyse, est d'ailleurs accompagnée d'une lyse générale. En effet, les cultures identiques nos 9 et 9' sont d'un poids différent. Le n° 9', malade seulement, pèse encore 75 mg alors que le n° 9, mort, ne pèse plus que 64 mg. On est donc en droit de parler d'une lyse.

Nous ne savons rien sur les causes de la mort de l'Algue. Pour le moment, nous devons nous contenter du fait que la maladie mortelle est liée à une phospholyse. Toujours est-il que ces faits peuvent donner une certaine explication sur les valeurs souvent irrégulières, trouvées pour le phosphore consommé. Tout indique qu'un facteur, intervenant dans le métabolisme du phosphore, fonctionne mal chez le *Dictyococcus*. Le chapitre suivant, traitant du rôle du phosphore, apportera des précisions nouvelles et inattendues sur ce sujet.

CHAPITRE IV

Rôle du phosphore (¹¹⁶).

Il a été montré dans les chapitres précédents que le phosphore intervient dans la différenciation des Algues *A* et *C*. En vue de suivre de plus près cette action du phosphore, nous avons fait une série de cultures en mettant à la disposition des Algues des quantités décroissantes de phosphate monopotassique. Le milieu de base avait la composition suivante :

$(\text{NO}_3)_2\text{Ca} + 4\text{H}_2\text{O}$	926 mg
PO_4KH_2	247 »
ClK	250 »
$\text{SO}_4\text{Mg} + 7\text{H}_2\text{O}$	250 »
$\text{SO}_4\text{Fe} + 7\text{H}_2\text{O}$	10 »
Glucose	10800 »
Eau distillée q.s. pour...	1000 cc

En diminuant le taux de PO_4KH_2 dans les milieux, c'est non seulement la concentration du phosphore qui est changée, mais encore, entre autres facteurs, celles des ions potassium et hydrogène.

Pour ce qui concerne le potassium, nous verrons par la suite que la diminution de sa concentration, résultant de la suppression totale du PO_4KH_2 n'intervient pas dans l'analyse, c'est-à-dire dans les phénomènes qui nous intéressent ici. Si l'Algue a besoin de potassium, la quantité provenant du ClK du milieu de culture lui suffit. Il est par conséquent permis de ne pas tenir compte de ces diminutions de la concentration en potassium. Le pH des milieux à teneur diminuée en PO_4KH_2 sera légèrement plus élevé que celui du milieu de base. Cette petite variation de pH est négligeable comparativement aux réactions grossières des Algues à une baisse de la concentration en phosphore; et cela d'autant plus que le milieu ne renferme que peu d'électrolytes (milieu complet : 1,27 p. mille; milieu sans PO_4KH_2 : 1,02 p. mille) et que ce milieu n'est pas tamponné.

En résumé, les effets observés sont attribuables uniquement au phosphore. La culture, commencée le 2 mai, a duré 177 jours. L'analyse a fourni les chiffres suivants :

N°	Phosphore		Poids sec	Glucose		Azote		Teinte
	Offert	Consummé		Offert	Consummé	Offert	Consummé	
	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	
1	2,81	2,28	193	540	534	5,49	5,48	vert
2	0,84	0,84	186	»	532	»	5,48	vert
3	0,28	0,28	183	»	531	»	5,42	vert
4	0,08	0,08	178	»	516	»	5,48	brun
5	—	—	182	»	525	»	5,48	chocolat

En examinant ce tableau, nous constatons un résultat inattendu : la récolte est approximativement la même quelle que soit la quantité offerte de phosphore, même si cette quantité est zéro. Il est évident que l'Algue ne peut se développer dans un milieu rigoureusement dépourvu de

phosphore. Dans nos cultures, il y a effectivement une certaine quantité de phosphore provenant d'une part des impuretés des produits ayant servi à la confection des milieux, et d'autre part de l'ensemencement. En ne tenant compte que de ce dernier apport, nous avons trouvé que l'ensemencement a apporté 0,021 mg de phosphore au maximum par culture. Il n'en reste pas moins vrai que le *Dictyococcus* peut s'accommoder de très peu de phosphore. Cet organisme consomme du phosphore s'il le peut, mais son développement pondéral n'est pas affecté lorsque cet élément est supprimé parmi les aliments. On sait que les végétaux inférieurs sont capables de se contenter de très faibles quantités de phosphore. Ainsi MORQUER (^{97bis}) a trouvé que le *Dactylium macrosporum* cultivé à partir de la spore peut donner, avec 1,6 mg de phosphore, 925 mg de substance sèche. Ces chiffres donnent un rapport *poids sec/P consommé* de 578. Pour le *Dictyococcus*, ce rapport peut être beaucoup plus grand, comme le montre le tableau suivant, où sont inscrites les valeurs des rapports des analyses ci-dessus :

N°	Poids sec	Poids sec	Poids sec	G. consommé	G. consommé	N consommé
	G. consommé	N consommé	P consommé	N consommé	P consommé	P consommé
1	0,36	35	85	97	230	2,4
2	0,35	34	220	97	630	6,5
3	0,34	34	650	98	1900	19
4	0,34	32	2100	94	6100	65
5	0,35	33	> 8600	96	> 25000	260

Si la récolte d'Algue est sensiblement indépendante de la quantité offerte de phosphore, il n'en est pas de même de la couleur. Il est en effet manifeste que l'Algue absorbant beaucoup de phosphore aura un métabolisme différent de celle qui n'en consomme que des traces. Or, la teinte de l'Algue indique fidèlement ce changement de métabolisme. Commençons par décrire l'évolution des teintes des cultures ci-dessus. Le tableau qui suit résume les observations.

N°	Age des cultures				
	60 jours	70 jours	85 jours	100 jours	177 jours
1	jaune	vert	vert	vert	vert
2	jaune	jaune-vert	vert	vert	vert
3	jaune	jaune	jaune-vert	vert	vert
4	jaune-brun	jaune-brun	brun-jaune	brun-vert	brun
5	chocolat	chocolat	chocolat	chocolat	chocolat

Les appréciations des teintes consignées dans ce tableau attestent que le phosphore est nécessaire au verdissement. La nécessité du phosphore pour la formation de la chlorophylle est d'ailleurs connue depuis longtemps. Dans les cultures avec très peu de phosphore, les teintes observées sont brunes. Cette couleur brune franche est-elle due aux mêmes pigments que la teinte orangée des Algues *C* ? Cette question n'est pas encore résolue. Cependant, étant donné la corrélation qui existe entre le métabolisme et la couleur des Algues, il est probable que le mélange des pigments donnant la teinte brune soit, quantitativement du moins, différent de celui des caroténoïdes des Algues *C*. En effet, dans les chapitres I et II, nous avons insisté sur le fait que les Algues *C* sont plus riches en phosphore que les Algues *A*. Or, les Algues « brunes » ci-dessus sont même encore beaucoup plus pauvres en phosphore que les Algues *A*.

CHAPITRE V

Rôle du sulfate de magnésium (¹¹⁶).

La série de cultures exposée dans le chapitre précédent a été refaite avec une autre variable : le sulfate de magnésium. L'Algue a donc été cultivée dans des liquides dérivant de ce milieu de base par une diminution progressive de l'aliment SO_4Mg .

En faisant varier la concentration du SO_4Mg , nous changeons simultanément les quantités présentes du magnésium et du soufre. Par conséquent, nous ne sommes pas en droit d'attribuer uniquement à un de ces éléments les observations découlant des essais de culture.

L'ensemencement a été fait le 2 mai. Après 177 jours de culture, l'analyse a fourni les chiffres suivants :

N°	$\text{SO}_4\text{Mg} + 7 \text{H}_2\text{O}$ offert	Poids sec	Glucose cons. (offert : 540 mg)	Azote cons. (offert : 5,49 mg)	Phosphore cons. (offert : 2,81 mg)	Teinte
	mg	mg	mg	mg	mg	
1	12,5	193	534	5,48	2,28	vert
2	3,75	168	533	5,48	2,57	vert-jaune
3	1,25	138	535	5,29	2,78	orangé
4	0,37	90	433	5,05	2,70	orangé
5	0,00	46	252	3,65	2,53	orangé

En examinant ce tableau d'analyse, on constate que la récolte diminue au fur et à mesure que baisse la quantité disponible de SO_4Mg . Le n° 5, qui n'a pas reçu du SO_4Mg , atteint quand même 46 mg de poids sec. Il est manifeste que ce développement est dû au soufre et au magnésium apportés par l'ensemencement et par les impuretés des produits ayant servi à la confection des milieux de culture. Il est intéressant cependant de noter que le *Dictyococcus* peut se développer avec des traces de soufre et de magnésium.

L'évolution des teintes des Algues au cours de la culture a été la suivante : au début, toutes les cultures étaient jaunes. Avec le temps, le jaune s'est nuancé et a finalement abouti aux teintes consignées dans le tableau ci-dessus. Les nos 4 et 5 sont orangé-rouge et disposent encore d'azote et de phosphore. Dans ces deux cultures, il n'y a par conséquent qu'un manque de SO_4Mg . Ce fait prouve que l'accumulation des caroténoïdes peut être provoquée par une carence en SO_4Mg .

Les rapports des valeurs d'analyse ci-dessus sont consignés dans le tableau suivant :

N°	Poids sec	Poids sec	Poids sec	Glucose cons.	Glucose cons.	N consommé
	Glucose cons.	N consommé	P consommé	N consommé	P consommé	P consommé
1	0,36	35	85	97	230	2,4
2	0,32	31	64	97	210	2,1
3	0,26	26	50	100	190	1,9
4	0,21	18	33	86	160	1,9
5	0,18	13	18	69	100	1,4

L'utilisation du glucose au point de vue de la récolte, exprimée par le rapport *poids sec/glucose consommé*, baisse considérablement lorsque la quantité de SO_4Mg diminue. La culture n° 1 — disposant de beaucoup de SO_4Mg — consomme 3 g de glucose pour arriver à 1 g d'Algue sèche, tandis que la culture n° 5 — ne disposant que de traces de SO_4Mg — doit mettre en jeu 6 g de glucose pour arriver au même poids sec de 1 g.

Les valeurs des rapports *poids sec/N consommé* apportent un résultat nouveau. En effet, supposé que l'azote assimilé par l'Algue n'ait pas été éliminé en partie, on constate que les Algues sont d'autant plus riches en azote qu'elles disposaient de moins de SO_4Mg . Comme nous l'avons montré dans les deux premiers chapitres, l'Algue accumule d'autant plus de caroténoïdes que le rapport *poids sec/N consommé* est plus grand. Ceci est valable pour des cultures abondamment pourvues de SO_4Mg . Il n'en est pas de même pour des cultures suffisamment fournies en azote, mais carencées en SO_4Mg . Si les résultats sont les mêmes — accumulation des caroténoïdes —, les causes sont différentes. En effet, les Algues rouges issues d'une culture pauvre en azote sont elles-mêmes pauvres en azote, tandis que les Algues rouges issues d'une culture pauvre en SO_4Mg sont riches en azote. Par conséquent, deux alimentations carencées (azote et SO_4Mg) provoquent un même symptôme — accumulation des caroténoïdes —, quoique le métabolisme des deux cultures soit différent.

En ce qui concerne le rapport *poids sec/P consommé*, nous constatons que l'Algue verte (n° 1) est plus pauvre

(près de 5 fois) en phosphore que l'Algue rouge (n° 5). Ici, nous avons parallélisme avec les cultures carencées en azote.

En résumé, il faut ajouter un nouveau facteur provoquant l'accumulation des caroténoïdes à ceux déjà acquis. C'est le manque en SO_4Mg . Ce facteur, comme les autres, tout en faisant aboutir au même résultat, impose cependant à l'Algue un métabolisme azoté différent.

CHAPITRE VI

Rôle du chlorure de potassium.

Pour connaître le rôle joué par le chlorure de potassium dans l'accumulation des caroténoïdes, nous avons répété l'expérience du quatrième chapitre, avec, cette fois-ci, le chlorure de potassium comme variable. Après 177 jours de culture (ensemencement : 2 mai), nous avons obtenu les résultats suivants :

N°	ClK offert	Poids sec	Glucose cons. (offert : 540 mg)	Azote cons. (offert : 5,49 mg)	Phosphore cons. (offert : 2,81 mg)	Teinte
	mg	mg	mg	mg	mg	
1	12,5	193	534	5,48	2,28	vert
2	3,75	191	532	5,48	1,80	vert
3	1,25	182	532	5,48	2,63	vert
4	0,37	191	533	5,48	2,29	vert
5	0,00	172	534	5,48	2,44	vert

Il ressort de ces chiffres que le chlorure de potassium n'intervient ni dans la récolte d'Algues, ni dans l'accumulation des caroténoïdes. Si les résultats après 177 jours sont les mêmes pour les cinq cultures, la vitesse avec laquelle les cultures atteignent leur terme (poids sec et teinte verte) est cependant dépendante du ClK offert. Ce développement, d'autant plus rapide que l'Algue dispose de plus de ClK,

est révélé par l'évolution des teintes. Pendant les deux premiers mois de culture, toutes les cultures sont jaunes. Le n° 1 verdit le premier (après 70 jours), suivi du n° 2 (90 jours), du n° 3 (120 jours), du n° 4 (130 jours), et enfin du n° 5 (140 jours).

En dissociant l'action des deux constituants du chlorure de potassium, nous pouvons dire que le phénomène de l'accumulation des caroténoïdes n'est pas influencé par la présence ou l'absence du chlore. La diminution de la concentration du potassium, résultant de la suppression du ClK du milieu de culture, n'influe pas non plus sur l'accumulation des caroténoïdes.

CHAPITRE VII

Rôle de quelques autres sources de carbone que le glucose.

Dans les chapitres précédents, nous nous sommes toujours servi du glucose comme source de carbone. Pour savoir si le glucose joue un rôle spécifique dans l'accumulation des caroténoïdes, nous avons remplacé cette source carbonée par quelques autres. Parmi ces nouvelles sources de carbone, les unes sont assimilées par le *Dictyococcus*, tandis que les autres ne le sont pas. La question de savoir si un composé organique est assimilé ou non peut être résolue par la mesure du poids sec de la culture. Si la récolte d'une culture est supérieure à celle de la culture témoin (sans source de carbone), nous disons que le corps organique est utilisé par l'Algue; dans le cas contraire, nous disons que la substance en question n'est pas assimilée.

Nos essais ont été faits avec les milieux *A* et *C*, auxquels nous avons ajouté 100 mg de substance organique par culture. Après deux mois de culture, l'expérience-témoin a fourni 4 mg de poids sec. Ce même poids sec a été atteint par les cultures *A* et *C* ayant reçu les sources carbonées suivantes :

arabinose,
xylose,
érythrite,
dulcité,
isodulcité,
quercité,
mannite.

Ces composés ne sont par conséquent pas assimilés. Aussi les teintes des Algues étaient-elles indifféremment vertes.

Les autres sources de carbone essayées étaient les suivantes :

glucose,
lévulose,
mannose,
galactose,
saccharose,
lactose.

Le poids atteint par ces cultures (*A* et *C*) était en moyenne 40 mg, c'est-à-dire dix fois supérieur à la culture-témoin. Cela revient à dire que ces dernières sources carbonées sont assimilées par l'Algue. Une autre preuve de cette assimilation est fournie par les teintes des cultures qui, d'une façon générale, évoluent de la même manière que dans les milieux glucosés.

En résumé, les substances carbonées assimilées par l'algue se comportent, apparemment du moins, comme le glucose au point de vue de l'accumulation des caroténoïdes.

CHAPITRE VIII

Rôle du carbone organique.

Les cultures dont nous avons rendu compte jusqu'ici ont toutes été faites en présence de glucose. Pour préciser encore le rôle joué par le glucose, il nous manque un élément de comparaison, celui qu'apportent des cultures faites sans autre source de carbone que le gaz carbonique de l'air.

D'autre part, l'étude de l'influence des divers sels constituant le milieu nutritif a été faite en présence de glucose. Il nous a semblé nécessaire de compléter cette étude par des expériences analogues en supprimant partout le glucose, c'est-à-dire en imposant à l'Algue une vie autotrophe.

Les deux lacunes sont comblées dans ce chapitre. Nous avons choisi comme milieu de base le liquide suivant :

$(\text{NO}_3)_2 \text{Ca} + 4\text{H}_2\text{O}$	926 mg
PO_4KH_2	247 »
ClK	250 »
$\text{SO}_4\text{Mg} + 7 \text{H}_2\text{O}$	250 »
$\text{SO}_4\text{Fe} + 7 \text{H}_2\text{O}$	10 »
Eau distillée q.s. pour....	1000 cc

La concentration de chacun des sels de ce milieu a été progressivement diminuée, la concentration des autres sels restant inchangée. Pour désigner les cultures, nous mettrons, à côté du sel qui est pris comme variable, un chiffre qui indique le degré de diminution de ce sel. Ainsi, par exemple, ClK 1 désignera une culture-témoin (milieu complet) et ClK 0,3 désignera la culture faite dans un milieu où la concentration en ClK a été réduite de 250 mg par litre à $250 \cdot 0,3 = 75$ mg par litre.

Les cultures ont étéensemencées le 2 mai à partir d'une culture de 42 jours sur milieu C sans glucose. Le tableau ci-dessous résume l'évolution des teintes.

Cultures	Temps de culture					
	80 jours	160 jours	240 jours	320 jours	500 jours	
$(\text{NO}_3)_2 \text{Ca} + 4 \text{H}_2\text{O}$:	1 0,3 0,1 0,03 0	vert vert vert vert (pas de développement)	vert vert vert —	vert vert vert jaune-vert —	vert vert vert-jaune orangé —	vert vert vert-jaune orangé —
PO_4KH_2 :	1 0,3 0,1 0,03 0	vert vert vert vert vert-brun	vert vert vert vert-brun vert-brun	vert vert vert-brun vert-brun vert-brun	vert vert vert-brun vert-brun vert-brun	vert vert-brun vert-brun vert-brun brun
$\text{SO}_4\text{Mg} + 7 \text{H}_2\text{O}$:	1 0,3 0,1 0,03 0	vert vert vert vert vert	vert vert vert vert vert	vert vert vert vert vert	vert vert vert vert vert-jaune	vert vert vert vert vert-jaune
CIK :	1 0,3 0,1 0,03 0	vert vert vert vert vert	vert vert vert vert vert	vert vert vert vert vert	vert vert vert vert vert	vert vert vert vert vert
$\text{SO}_4\text{Fe} + 7 \text{H}_2\text{O}$:	1 0,25 0,05 0	vert vert vert vert	vert vert vert-jaune vert-jaune	vert vert vert-jaune vert-jaune	vert vert-jaune vert-jaune vert-jaune	vert vert-jaune vert-jaune vert-jaune

Le développement de l'Algue, dans ces milieux sans carbone organique, est lent. Néanmoins, après 500 jours de culture, les résultats inscrits dans le tableau sont déjà suffisamment nets pour que nous puissions nous prononcer. D'une façon générale, ces cultures en milieu minéral aboutissent aux mêmes résultats que celles en milieu glucosé. Un manque d'azote ou de SO_4Mg provoque l'accumulation des caroténoïdes. La différence entre les deux milieux organique et minéral porte seulement sur la vitesse de croissance de l'Algue, tandis que le phénomène de l'accumulation des caroténoïdes n'est pas touché.

CHAPITRE IX

Résumé de la deuxième partie.

Dans notre étude systématique des conditions nutritives qui entraînent l'accumulation des caroténoïdes chez le *Dictyococcus cinnabarinus*, nous avons limité notre champ de travail aux aliments qui entrent dans la matière vivante comme éléments plastiques. Ces éléments sont le carbone, l'azote, le phosphore, le magnésium et le soufre.

Nous ne nous sommes pas occupé des éléments et d'éventuels facteurs qui agissent, à de très faibles concentrations, et sur la croissance et sur la pigmentation de l'Algue de nos expériences. Sous cette réserve, nous pouvons énoncer les principaux résultats obtenus.

Le glucose et, plus généralement, les sources carbonées assimilables, favorisent l'accumulation des caroténoïdes, particulièrement en lumière forte. La cause de la synthèse excessive de ces pigments semble résider dans le fait que l'Algue est incapable de se défendre contre une abondante offre de carbone. L'intervention du glucose n'est pas déterminante; ce sucre pousse seulement à l'accumulation des caroténoïdes. En effet, dès qu'il est épuisé, les cultures redeviennent vertes.

Une carence en azote, en phosphore ou en sulfate de magnésium provoque l'accumulation des pigments caroténoïdes. A chacune de ces trois alimentations carencées correspond un métabolisme particulier. Ces trois métabolismes sont accompagnés d'un phénomène commun : l'accumulation des caroténoïdes.

Il arrive qu'une culture soit atteinte d'une chlorose rapide qui aboutit à des cellules blanches et mortes. Ce phénomène, dont nous ne pouvons préciser le mécanisme, est accompagné d'une légère lyse générale et d'une phospholyse massive.

TROISIÈME PARTIE

**Sur l'évolution des lipides au cours de l'accumulation
des caroténoïdes chez le *Dictyococcus cinnabarinus***

Dans la deuxième partie de ce travail, les Algues n'ont pas été analysées autrement que par leur aspect. Nous nous sommes contenté de noter les teintes des cultures. La méthode consistait à soumettre l'Algue à des alimentations diverses et de voir ce qui se passait dans la solution nutritive. Le but était de faire des déductions sur le métabolisme de l'Algue, à partir des changements du milieu sur lequel l'organisme avait vécu. Le résultat général de cette investigation était que le *Dictyococcus* est capable de vivre dans des conditions très différentes les unes des autres. Chaque condition de vie entraînait un métabolisme particulier. Certains de ces métabolismes allaient de pair avec une accumulation des caroténoïdes.

La suite de ce travail sera consacrée à l'analyse directe de l'Algue. Les déductions de la deuxième partie seront vérifiées et précisées. Nos recherches porteront particulièrement sur les lipides et, accessoirement, sur les protides et les glucides.

CHAPITRE PREMIER

Accumulation concomitante
des caroténoïdes et des lipides⁽¹¹⁴⁾.

Dans ce premier chapitre, nous suivrons, au cours de la culture, l'évolution des lipides totaux et, accessoirement, celle des protides et des glucides. Pour ce faire, nous avons entrepris une série de cultures sur les milieux *A* et *C* du premier chapitre de la deuxième partie. En vue d'obtenir une

quantité suffisante d'Algues, les cultures ont été faites sur 500 cc de milieu, contenus dans des fioles coniques de 1 litre.

Ensemencées le 20 mars, les cultures ont été analysées après les temps indiqués dans le tableau ci-dessous. Pour des raisons qui seront exposées plus bas, peu de glucose seulement a été offert aux Algues au début de la culture (voir les milieux de culture). Plus tard, les cultures *A* et *C* ont reçu de nouvelles quantités de glucose, à savoir :

après 15 jours de culture : 953 mg par culture,
après 112 jours de culture : 1980 mg par culture.

A côté de l'analyse quantitative des lipides, l'azote total des Algues a été dosé par microdosage d'après KJELDAHL*. Ces derniers résultats ont été exprimés en protides, en supposant que tout l'azote soit à l'état protidique et que les protides des Algues *A* et *C* en contiennent invariablement 16 pour cent.

Voici les résultats obtenus :

Age de la culture	75 jours		111 jours		141 jours	
	A	C	A	C	A	C
Poids sec	670 mg	600 mg	820 mg	840 mg	1085 mg	1060 mg
Glucose offert	1,92 g	1,92 g	1,92 g	1,92 g	3,90 g	3,90 g
Glucose consommé ..	1,41 g	1,30 g	1,86 g	1,86 g	2,79 g	2,52 g
Lipides, pour cent ..	18,2	22,5	16,0	26,4	22,1	32,0
Protides, pour cent..	11,7	9,1	15,2	7,7	<15	5,8
Teinte des algues ...	vert-jaune	jaune-orangé	vert-intense	orangé	vert-sale	rouge-orangé

Examinons d'abord l'Algue *A*.

Après 75 jours de culture, elle est composée de 18,2 pour cent de lipides et 11,7 pour cent de protides. A ce moment, l'Algue dispose encore de 0,51 g de glucose. Cet aliment est consommé dans le temps qui suit et, après 111 jours, l'analyse révèle que presque tout le glucose a été consommé. En même temps, la teinte de l'Algue est devenue vert intense. Ce verdissement, provoqué par une carence en glucose, a été maintes fois observé dans les expériences consignées dans la

* Ces dosages ont été effectués par Mlle M.-L. Busset.

deuxième partie. Nous sommes maintenant en mesure de préciser les phénomènes se passant dans la cellule lors de ce verdissement. Il y a, en effet, une diminution des lipides de 18,2 à 16,0 pour cent et une augmentation des protides de 11,7 à 15,2 pour cent. En résumé, pendant la période d'abondance en glucose, l'Algue a stocké cet aliment à l'état des lipides, négligeant en même temps la synthèse des protides. Le glucose venant à manquer, la cellule réalise le stock des lipides et augmente concomitamment sa teneur en protides. En offrant une nouvelle quantité de glucose, l'Algue ainsi verdie renverse de nouveau son métabolisme. Elle refait des lipides, délaissant la synthèse des protides.

L'Algue *C*, qui rougit au cours de la culture, s'engraisse aussi.

Après 75 jours, elle contient en effet 22,5 pour cent de lipides, alors qu'elle en renferme 32,0 pour cent après 141 jours. A ce moment, l'Algue *C* comprend 50 pour cent de plus de lipides que l'Algue *A*. Par conséquent, nous pouvons affirmer que l'accumulation des caroténoïdes et des lipides est simultanée. En même temps que l'Algue *C* engraisse, sa teneur en protides diminue. De 9,1 pour cent après 75 jours de culture, elle passe à 5,8 pour cent après 141 jours. A ce propos, il est intéressant de noter que l'Algue *C* ne disposait plus d'azote assimilable après 111 jours de culture. Son poids était alors de 840 mg. Trente jours plus tard, le poids avait passé à 1060 mg, quoique l'Algue ne disposât plus d'azote. Ce fait nous met en présence d'un phénomène de croissance (augmentation de la récolte) sans apport d'azote. Quelle en est l'explication ? Deux possibilités se présentent : Premièrement, la cellule d'Algue se divise, répartissant ainsi l'azote total aux cellules-filles. Ces cellules-filles, ne disposant plus d'azote extracellulaire, croissent ensuite par assimilation exclusive de produits ternaires. Dans ce cas, on serait en présence d'une « dilution » d'azote de la cellule-mère aux cellules-filles. Deuxièmement, la cellule d'Algue ne se divise pas. Cela revient à dire que les cellules grossissent (puisque la récolte augmente) par une même assimilation exclusive de produits ternaires. La question pourrait être tranchée par une numé-

ration ou une mensuration des cellules. Quoi qu'il en soit, notre résultat est le même : l'Algue rouge est « grasse » et l'Algue verte est « maigre ».

Les résultats ci-dessus permettent de faire une déduction sur l'évolution des glucides de l'Algue C. En effet, la différence entre 100 et la somme des pourcentages des lipides et protides fournit le pourcentage des glucides. On obtient ainsi :

Age	Glucides (pour cent)
75 jours	68,4
111 jours	65,9
141 jours	62,2

D'après ces chiffres, il y a une légère diminution du taux des glucides de l'Algue C au cours de la culture.

Résumant les résultats de ce chapitre, nous pouvons affirmer que l'accumulation des caroténoïdes chez le *Dictyococcus* est concomitante d'un enrichissement considérable en lipides et d'un appauvrissement en protides et glucides.

CHAPITRE II

Composition des lipides.

Les lipides bruts dont il a été question dans le chapitre précédent ont été fractionnés en leurs constituants, acides gras, insaponifiable et hydrosoluble. Le tableau ci-dessous donne la composition centésimale des lipides bruts.

Age de la culture	75 jours		111 jours		141 jours	
	A	C	A	C	A	C
Acides gras, pour cent ..	—	—	—	—	84	88
Insaponifiable, pour cent .	12	14	13	8	11	6
Hydrosoluble, pour cent ..	—	—	—	—	5	6

D'après ces chiffres, l'insaponifiable des Algues *A* reste quantitativement constant au cours de la culture, tandis que celui des Algues *C* diminue de 14 à 6 pour cent. Ce résultat est d'autant plus remarquable si on pense que les caroténoïdes font partie de l'insaponifiable et que les Algues *C* sont plus riches en ces pigments que les Algues *A*.

Pour ce qui concerne les autres constituants des lipides totaux, on remarque que la culture *C*, âgée de 141 jours, est plus riche en acides gras que la culture *A*, alors que le taux en hydrosoluble est approximativement le même pour les deux Algues.

A cause d'une faute analytique, nous ne sommes pas en mesure de donner les chiffres des acides gras (et conséquemment ceux de l'hydrosoluble) pour 75 et 111 jours de culture. Nous basant sur les titrations des acides gras, et en supposant que le poids moléculaire moyen des acides gras soit toujours le même, nous pouvons affirmer ceci : la teneur en acides gras des lipides *A* ne varie pas au cours de la culture ; celle des lipides *C*, par contre, augmente.

L'acidité de l'insaponifiable a toujours été faible ; celle des Algues *A* a été régulièrement plus élevée que celle des Algues *C*.

* * *

En vue de vérifier et d'approfondir les résultats obtenus sur la mort de l'Algue (IIe partie, chapitre III), nous avons fait l'analyse des lipides d'une culture morte (¹¹⁷).

Pour ce faire, nous nous sommes servi d'une culture *A* de la série ci-dessus. Primitivement verte, elle a présenté une teinte vert-sale après 141 jours de culture ; la culture se prolongeant, la couleur a viré peu à peu au rouge et finalement au blanc (300 jours de culture). A ce moment, nous avons vérifié que l'Algue était morte.

L'Algue a été récoltée après 412 jours de culture. Son poids sec a été de 967 mg, en diminution de 118 mg sur la culture âgée de 141 jours. La première proposition antérieurement acquise est ainsi confirmée : la mort de l'Algue est

accompagnée d'une légère lyse. La deuxième proposition, concernant le rapport *poids sec/P consommé* est également confirmée : l'analyse a fourni en effet la valeur de 4600 pour ce rapport qui se chiffrait à 990 après 141 jours de culture ; la mort de l'Algue va de pair avec une phospholyse massive.

Le tableau ci-dessous indique les résultats obtenus sur la composition de l'Algue morte. Pour les mettre en évidence, nous y avons ajouté quelques chiffres du chapitre précédent.

Age de la culture	75 jours	111 jours	141 jours	412 jours (Algue morte)
Lipides, pour cent	18	16	22	20
Protides, pour cent	12	15	—	12
Glucides, pour cent	70	69	—	68

Ces chiffres permettent d'affirmer que la composition de l'Algue morte est la même au point de vue des lipides, protides et glucides que celle de l'Algue vivante et saine. Ce résultat confère à la phospholyse le caractère d'un signe diagnostique spécifique de la mort de l'Algue. Il est remarquable que la légère lyse générale porte uniformément sur les trois constituants principaux de la matière vivante.

Le fractionnement des lipides de l'Algue morte a fourni les chiffres qui sont consignés dans le tableau suivant :

Acides gras	79,3 %
Insaponifiable	4,0 %
Hydrosoluble	16,7 %

En comparant ces chiffres avec ceux trouvés pour les lipides des Algues vivantes, nous constatons une baisse en acides gras et une augmentation en hydrosoluble.

Mais c'est le résultat ayant trait à l'insaponifiable qui est le plus intéressant. Il nous permet en effet de tirer les conclusions suivantes :

Tant que l'Algue est verte, sa teneur en insaponifiable est constante. Lorsqu'elle commence à rougir, le

taux en insaponifiable diminue. Cette diminution est concomitante avec l'intensification du rougissement. Ainsi les lipides des Algues vertes renferment 12 pour cent d'insaponifiable, tandis que l'Algue rouge n'en renferme que 8 pour cent après 111 jours de culture et plus que 6 pour cent après 141 jours. Enfin, l'Algue blanche et morte en contient seulement 4 pour cent.

Au point de vue de la teneur des lipides en insaponifiable, il y a donc continuité dans la série Algue verte — Algue rouge — Algue blanche.

Cette continuité, d'une part, la prédisposition des Algues rouges à un accident mortel accompagné d'une phospholyse, d'autre part, nous autorisent à attribuer une santé précaire à l'Algue rouge.

QUATRIÈME PARTIE

Chlorose et carence

Pour la commodité de l'exposé, nous emploierons les termes de « chlorose blanche » et de « chlorose colorée ». Le terme de chlorose signifiera « perte de chlorophylle ». La chlorose blanche sera un phénomène qui comporte la perte de la chlorophylle et des autres pigments, tandis que la chlorose colorée est caractérisée uniquement par la perte de la chlorophylle. Dans ce dernier cas, il faut distinguer deux possibilités : la chlorose qui résulte de la seule disparition de la chlorophylle et la chlorose qui comporte simultanément une accumulation de pigments autres que la chlorophylle.

CHAPITRE PREMIER

Note historique sur le *Dunaliella salina*

Nous n'avons pas l'intention, dans cette revue critique, de faire l'historique complet des colorations rouges intenses, constatées dans la nature et imputables à des Algues. Ainsi nous laisserons de côté l'apparition de la *neige rouge*, de même que la coloration rouge, très rare d'ailleurs, de lacs entiers. Cependant, il nous a semblé digne d'intérêt de relater l'étude très controversée d'une Chlorophycée, le *Dunaliella salina*. C'est cette Algue qui cause la coloration rouge temporaire des salines et des lacs salés.

En 1770, PALLAS ⁽¹⁾, au cours de ses voyages en Russie, rencontre un lac salé, « auquel on a donné le nom de *Malinovoé Ozéro*, lac de framboise, parce que sa muire et son sel sont rouges et ont l'odeur de la violette ». Cette odeur de violette, nous le savons aujourd'hui, est due à l'ionone, provenant de la décomposition d'un certain pigment rouge des Algues. L'auteur ajoute que cette couleur, qu'il croit minérale, est attribuable aux rayons du soleil et qu'elle « se perd par les temps pluvieux ».

PAYEN ⁽²⁾, chargé en 1836 par l'*Institut* de rechercher la cause de la couleur rouge de sang ou rouge orangé des eaux des marais salants méditerranéens, arrive à la conclusion que voici : A un moment donné, « tous les Crustacés, devenus rougeâtres, arrivent à la superficie de la solution et forment une écume rouge, dans laquelle se confondent bientôt leurs parties désagrégées. Celles-ci répandent aux alentours l'odeur caractéristique de violette ».

Deux années plus tard, DUNAL ⁽³⁾ affirme que la couleur rouge des salines n'est pas due à des Crustacés du genre *Artemia*, mais au contraire à des Algues qu'il nomme *Haematococcus salinus* et *Protococcus salinus*.

Pour trancher le différend, l'*Institut* nomme une commission, dont le rapporteur, TURPIN (4), se déclare entièrement d'accord avec les résultats de DUNAL.

En 1840, JOLY (5) range de nouveau l'organisme en question parmi les animaux. Il dit en effet : « La couleur rouge des marais salants n'est point due aux *Artemia salina*, ni à des végétaux du genre *Protococcus*. Elle a pour cause unique la présence des animaux infusoires que nous avons appelés *Monas Dunalii*. »

DUJARDIN (6) propose, en 1841, de placer le *Monas Dunalii* dans le genre *Diselmis*.

Les eaux de mer elles-mêmes peuvent prendre quelquefois une coloration rouge. Ainsi, MONTAGNE (7) signale ce fait insolite dans l'Atlantique. Il l'attribue à une Algue qu'il appelle *Protococcus atlanticus* et qui n'est autre que le *Dunaliella salina*. A ce propos, il est intéressant de noter que le nom de Mer Rouge provient sans doute d'un phénomène analogue.

En 1865, COHN (9) place cet organisme dans le genre *Chlamydomonas*.

Jusqu'ici, les auteurs sont certains que la couleur rouge, observée par eux, est la couleur invariable de l'organisme qu'ils étudient.

GELEZNOV (11), après avoir étudié à son tour en 1872 le phénomène des eaux rouges dans un lac salé de Crimée, affirma le premier que les Algues ne sont pas toujours rouges. Elles seraient vertes durant leur jeunesse et rougiraient dans leur vieillesse. Ce rougissement serait d'ailleurs dû à la concentration élevée des eaux en sel.

En 1886, HANSGIRG (13) considère notre organisme comme une variété de *Sphaerella lacustris*.

La présence du *Monas Dunalii* est signalée par BLANCHARD (14) dans les eaux des marais salants de l'Afrique du Nord. Il attribue à cet organisme la coloration rouge de ces marais. Il indique en outre (21) que tous les *Monas Dunalii* ne sont pas rouges, car il en a trouvé de verts et d'incolores. D'après lui, l'état incolore serait un caractère de jeunesse.

Par la suite, BUTSCHINSKY (29) signale cet organisme près d'Odessa, FLORENTIN (32) en Lorraine et BUJOR (33) en Roumanie.

Après que WILLE (44) eut exprimé l'opinion qu'il fallait le ranger parmi les *Chlamydomonas*, TEODORESCO (48) enfin fit la systématique définitive de cette Algue. Cet auteur, en effet, reconnut que l'organisme en question ne pouvait être rangé dans aucun genre alors existant. C'est pourquoi il en créa un nouveau parmi les Volvocacées-Polyblépharidées, à savoir le genre *Dunaliella*, dont le seul représentant, aujourd'hui encore, est le *Dunaliella salina*. Le même auteur dit qu'il existe une Dunalielle rouge et une Dunalielle verte. Dans un mémoire ultérieur, TEODORESCO (53) arrive à la conclusion, fautive d'ailleurs, qu'au point de vue génétique, il n'y a aucune relation entre les Dunalielles vertes et les rouges.

HAMBURGER (49), qui retrouva le *Dunaliella* dans la saline de Cagliari, pense que cette Algue rougit seulement en vieillissant.

Beaucoup plus tard, LABBÉ (86) en 1921, et BUJOR (92) en 1928, reconnaissent que la même Algue peut être soit verte, soit rouge. Ils se trompent cependant lorsqu'ils attribuent à la concentration élevée en sel le changement de la coloration verte en coloration rouge.

Ce n'est qu'en 1937, que LERCHE (107) met les choses définitivement au point, en prouvant que le *Dunaliella salina* est normalement vert et que les cellules rouges sont uniquement le signe visible d'une maladie de carence.

CHAPITRE II

Facteurs chimiques de la chlorose

Chlorose par alimentation « riche » ou « pauvre ».

Toutes les observations publiées sur le changement de la couleur d'une Algue, se ramènent, d'après l'état actuel de nos

connaissances, à trois causes, qui sont : la carence en un aliment minéral, l'offre excessive d'un aliment organique ou l'insolation intense.

Nous avons groupé dans ce chapitre les références bibliographiques concernant les deux premières de ces causes.

Pour ne pas alourdir l'exposé et pour être complet quand même, nous résumerons dans le tableau ci-dessous la bibliographie des chloroses blanches et colorées. Ces chloroses sont dues, soit à une alimentation riche en « corps organiques » (il s'agit surtout de sucres), soit à des carences minérales non spécifiées.

Auteur	Algue	Alimentation	
		Riche	Pauvre
RICHTER (12)	<i>Phormidium lyngbyaceum</i>		*
	<i>Oscillaria major</i>		*
	<i>Gloeocapsa monococca</i>		*
BELJERINCK (17)	<i>Scenedesmus acutus</i>	*	
KRÜGER (24)	<i>Chlorella protothecoïdes</i>	*	
	<i>Chlorothecium saccharophyllum</i>	*	
ZUMSTEIN (35)	<i>Euglena gracilis</i>	*	*
KARSTEN (36)	Diatomées	*	
BELJERINCK (46)	<i>Chlorella variegata</i>	*	
WOLLENWEBER (54)	<i>Haematococcus</i>	*	*
WOLLENWEBER (55)	<i>Haematococcus pluvialis</i>		*
ANDREESEN (57)	Desmidiacées	*	
PRINGSHEIM (69)	<i>Euglena gracilis</i>		*
GISTL (75)	Desmidiacées		*
PRAT (77)	<i>Trentepohlia annulata</i>		*
STEINECKE (79)	<i>Stigonema ocellatum</i>		*
LIMBERGER (82)	<i>Zoochlorella</i>	*	
STEINECKE (90)	Diverses Schizophycées et Chlorophycées		*
CHODAT ET MAYER (91)	<i>Scenedesmus obtusiusculus</i>	*	*
	<i>Chlorella rubescens</i>	*	*
	<i>Haematococcus pluvialis</i>	*	*
	<i>Scenedesmus chlorelloïdes</i>	*	*
	<i>Scenedesmus dactylococcopsis</i>	*	*
MEIER (93)	mêmes Algues que ci-dessus	*	*
WENZINGER (113)	<i>Dictyococcus cinnabarinus</i>	*	*

Les travaux mentionnés ci-dessus ne demandent pas de commentaires ou de rectifications, exception faite pour deux d'entre eux.

RICHTER ⁽¹²⁾ attribue la chlorose colorée de ses Algues à un manque d'eau. Ce n'est évidemment pas le manque d'eau qui est responsable du changement de la teinte des Algues, mais le manque des sels dissous dans l'eau. Dans nos expériences, nous avons souvent constaté le même phénomène. Des cellules d'Algues se sont quelquefois collées sur les parois des récipients de culture au-dessus du niveau de la solution nutritive. Ces cellules n'ont pas tardé à rougir, alors que les cellules plongées dans le milieu nutritif sont restées vertes.

PRAT ⁽⁷⁷⁾ a observé la *Trentepohlia annulata* poussant verte sur l'écorce d'un arbre et brun-or sur la partie non corticale de la section de cet arbre. Nous ne risquons pas de nous tromper en interprétant cette chlorose sur la coupe de l'arbre par une carence de matières minérales. On sait en effet que l'écorce est beaucoup plus riche en sels minéraux que le bois.

Chlorose par carence en azote.

Cette chlorose a été constatée pour beaucoup d'Algues. Le tableau suivant résume les indications que nous avons trouvées dans la littérature.

Auteur		Algue
MOLISCH	⁽²⁶⁾	<i>Microthamnion Kützingerianum</i>
BENECKE	⁽³¹⁾	<i>Vaucheria</i> <i>Cladophora</i> Conjuguées <i>Hormidium nitens</i>
ZUMSTEIN	⁽³⁵⁾	<i>Euglena gracilis</i>
REICHENOW	⁽⁵⁹⁾	<i>Haematococcus pluvialis</i> <i>Euglena sanguinea</i> <i>Euglena gracilis</i>
BORESCH	⁽⁶²⁾	Cyanophycées
MAGNUS ET SCHINDLER	⁽⁶⁵⁾	voir SCHINDLER ⁽⁷¹⁾
PRINGSHEIM	⁽⁶⁹⁾	<i>Euglena gracilis</i>

Auteur		Algue
PRINGSHEIM	(70)	<i>Oscillaria brevis</i> <i>Nostoc sp.</i> <i>Oscillaria sp.</i> <i>Oscillaria tenuis</i>
SCHINDLER	(71)	<i>Phormidium autumnale</i> <i>Oscillatoria formosa</i> <i>Oscillaria limosa</i>
BORESCH	(72)	<i>Phormidium corium</i> <i>Chlamydomonas sp.</i> <i>Hydrodictyon reticulatum</i> <i>Oedogonium sp.</i>
MENDRECKA	(73)	<i>Chlorella variegata</i>
PRINGSHEIM	(74)	<i>Haematococcus pluviialis</i>
MAERTENS	(76)	<i>Oscillaria brevis</i> <i>Oscillaria tenuis</i> <i>Nostoc sp.</i>
NAKANO	(80)	?
BORESCH	(83)	<i>Phormidium foveolarum</i>
BORESCH	(85)	<i>Phormidium Retzii</i>
R. CHODAT ET MAYER	(91)	<i>Scenedesmus obtusiusculus</i> <i>Scenedesmus chlorelloïdes</i> <i>Scenedesmus dactylococcopsis</i> <i>Chlorella rubescens</i> <i>Haematococcus pluviialis</i>
URHAN	(98)	<i>Chlorella</i> <i>Scenedesmus</i>
FLEISCHER	(104)	<i>Chlorella sp.</i>
F. CHODAT	(106)	<i>Chlorella rubescens</i>
LERCHE	(107)	<i>Dunaliella salina</i>
PIRSON	(109)	<i>Chlorella vulgaris</i>
F. CHODAT	(110)	<i>Chlorella rubescens</i>

Tous les auteurs mentionnés dans ce tableau constatent que la carence en azote provoque une chlorose. Au cours de nos recherches, nous sommes arrivé au même résultat.

Quel est le mécanisme intime qui relie ici la cause à l'effet ? Nous ne pouvons qu'avouer notre ignorance à ce sujet. Si une interprétation est actuellement exclue, nous pouvons cependant préciser le problème à résoudre. Pour ce faire, il nous semble qu'il faille distinguer entre les chloroses blanches et les chloroses colorées.

D'une façon générale, une Algue qui est devenue blanche au cours d'une culture, est morte. La chlorose blanche relève dans ce cas d'un autre domaine. La cellule meurt, c'est-à-dire que les synthèses ne se font plus, tandis que les dégradations actionnées par des enzymes desmolytiques survivants ou par d'autres agents (air, lumière, etc.) se poursuivent encore. En conséquence, nous pouvons dire que la chlorose blanche constitue un phénomène banal.

Il existe cependant quelques Algues qui peuvent blanchir par carence azotée sans succomber pour cela. Disons d'emblée que cette chlorose ne peut se produire que dans un milieu pourvu d'un aliment organique. L'explication habituellement fournie est que l'Algue, n'ayant plus besoin de sa chlorophylle, se passe d'en produire. Cette pseudo-explication gratuite ne contribue pas à résoudre le problème.

Par contre les chloroses azotées colorées ne se rencontrent que chez les Algues vivantes qui synthétisent encore tous leurs pigments, à l'exception de celui de la chlorophylle. Ces pigments sont, d'une manière générale, des corps non azotés. Il faut croire que l'Algue oriente le peu d'azote dont elle dispose, non pas vers la chlorophylle, mais vers d'autres substances. Ceci nous semble d'autant plus plausible, que l'Algue par le fait de la carence en azote, ne peut plus se multiplier. NAKANO⁽⁸⁰⁾ va même plus loin en prétendant que l'Algue détruit sa chlorophylle pour récupérer l'azote qui s'y trouve.

Chlorose par carence en phosphore.

Nous n'avons trouvé dans la littérature que quatre auteurs qui aient signalé une influence du phosphore sur la pigmentation des Algues. Ce sont LÆW⁽¹⁹⁾ ⁽²⁰⁾, REICHENOW⁽⁵⁹⁾, BORESCH⁽⁷²⁾ et LERCHE⁽¹⁰⁷⁾. Travaillant sur des Algues diverses, ces auteurs aboutissent au même résultat : une carence en phosphore entraîne la disparition de la chlorophylle. Cette chlorose peut aller de pair avec l'accumulation des pigments rouges. Ceci a lieu avec les Algues *Haemato-*

coccus pluviialis et *Dunaliella salina*. Nos propres recherches sont en accord avec ces résultats.

LÆW (20) conclut que la formation de la chlorophylle exige la présence du phosphore. La nécessité de la présence du phosphore pour la synthèse de la chlorophylle n'est qu'un fait secondaire et isolé. Aujourd'hui, on ne peut plus poser le problème de la synthèse naturelle de la chlorophylle sous cet angle. Actuellement nous sommes obligés de dire que le phosphore est indispensable à la vie normale de chaque cellule. Une cellule carencée en phosphore subit une multitude de déviations et aboutit à un état qui, dans le cas des Algues, ne permet plus la synthèse de la chlorophylle. Cette synthèse étant une des premières réactions qui se révèlent impossibles lorsque la cellule vit dans des conditions défavorables, nous paraît délicate. Ainsi, nous ne saurions dire pourquoi la carence phosphorée amène une chlorose.

Chlorose par carence en magnésium.

FLEISCHER (104) a obtenu des cellules blanches de *Chlorella sp.* lorsqu'il carençait cet organisme en magnésium. C'est la seule indication sur le rôle du magnésium dans la chlorose des Algues que nous ayons trouvée dans la littérature.

Chez le *Dictyococcus cinnabarinus* nous avons constaté qu'une chlorose colorée peut être provoquée si on offre à cet organisme des ressources insuffisantes en magnésium. Ici encore, nous ne savons rien sur le mécanisme intime de cette chlorose. Constatons toutefois que la quantité de magnésium offerte à l'Algue au cours de ces expériences a toujours été supérieure à celle dont elle aurait eu besoin pour synthétiser son taux normal de chlorophylle.

Chlorose par carence en fer.

Voici la liste des Algues chez lesquelles une chlorose par carence en fer a été observée.

Auteur	Algue	Chlorose	
		Blanche	Colorée
MOLISCH (26)	<i>Microthamnion Kützianum</i>	*	
R. CHODAT (63)	Diverses Protococcacées		*
BORESCH (85)	<i>Phormidium Retzii</i>		*
MEIER (93)	<i>Scenedesmus obtusiusculus</i>		*
	<i>Scenedesmus chlorelloïdes</i>		*
	<i>Scenedesmus dactylococcopsis</i>		*
	<i>Chlorella rubescens</i>		*
	<i>Haematococcus pluvialis</i>		*
EMERSON (96)	<i>Chlorella vulgaris</i>		*
FLEISCHER (104)	<i>Chlorella sp.</i>		?
F. CHODAT (110)	<i>Chlorella rubescens</i>		*
NOACK et PIRSON (111)	<i>Chlorella pyrenoidosa</i>		?

Que savons-nous de la chlorose par carence en fer ? Depuis très longtemps on avait remarqué que la synthèse de la chlorophylle nécessitait la présence du fer. D'après BORESCH (85), le fer semble jouer un rôle dans la synthèse biologique des principes azotés en général, et particulièrement dans celle de la chlorophylle. Le travail de NOACK et PIRSON (111) révèle quelques chiffres relatifs à la quantité de chlorophylle formée en fonction de l'offre de fer :

Fer/litre	Chlorophylle/100 mg de substance sèche
0 γ	610 γ
10	1000
300	1490

EMERSON (96) qualifie d'anormal le métabolisme de son Algue lorsqu'elle est carencée en fer, sans pour cela préciser les déviations du métabolisme. L'étude de ces déviations permettrait sans doute de situer l'intervention du fer dans la synthèse de la chlorophylle et d'expliquer le métabolisme anormal lorsque cet élément fait défaut.

Nous avons vu plus haut que toutes les Algues examinées subissent une chlorose *colorée* lorsqu'elles sont carencées en

fer. Ce fait semble indiquer que si le fer est nécessaire à la synthèse de la chlorophylle, sa présence l'est moins pour celle des autres pigments. ZIRPEL⁽¹¹⁹⁾ confirme cette manière de voir au cours de ses expériences avec une bactérie, le *Rhodobacillus palustris*.

Chlorose par carence en potassium.

La seule référence que nous ayons trouvée est récente ; c'est un mémoire de PIRSON⁽¹⁰⁹⁾. Cet auteur a travaillé avec le *Chlorella vulgaris* f. *pyrenoïdosa*. En mettant à la disposition de son Algue des doses décroissantes de potassium et en dosant la quantité formée de chlorophylle, il constate que le taux de ce pigment peut tomber à moins de la moitié de sa valeur normale.

Nos expériences n'ont pas permis de constater une chlorose par carence potassique. Cette divergence s'explique peut-être par le fait que PIRSON et nous-même n'avons pas travaillé avec la même Algue.

Chlorose par carence en calcium.

On sait depuis MOLISCH⁽²⁶⁾ que les Algues d'eau douce n'ont pas besoin de calcium. C'est pourquoi le résultat de BOKORNY⁽²⁵⁾ est étonnant, car cet auteur affirme que certaines Algues (*Spirogyra*, *Zygnema*, *Mesocarpus*) réagissent à une carence en calcium par une chlorose. Cette mention, unique à notre connaissance dans la littérature, trouve peut-être son explication dans le fait qu'à cette époque (1895), la chlorophylle passait pour un composé calcique.

Chlorose par alimentation organique.

Sous l'influence d'une alimentation par des substances organiques ternaires, beaucoup d'Algues perdent leur chlorophylle et, dans certains cas, accumulent des pigments jaunes et rouges.

Voici les références de la littérature à ce sujet :

MIQUEL⁽²²⁾, KRÜGER⁽²⁴⁾, BOHLIN⁽²⁸⁾, MEYER⁽³⁰⁾, RADAIS⁽³⁴⁾, ZUMSTEIN⁽³⁵⁾, ARTARI⁽³⁹⁾, MATRUCHOT et MOLLIARD⁽⁴⁰⁾,

GRINTZESCO (42), GRINTZESCO (43), BEIJERINCK (46), ADJAROF (47), R. CHODAT (58), R. CHODAT (63), TERNETZ (64), HOFFMANN-GROBÉTY (66), R. CHODAT (67), KUFFERATH (68), PRINGSHEIM (70), MENDRECKA (73), R. CHODAT et MAYER (91), MEIER (93), LWOFF et LWOFF (97), MEYER (100), MEYER (102), MEYER (105), F. CHODAT (106).

La plupart de ces auteurs ont seulement constaté la chlorose résultant de l'action des composés organiques ternaires. Les autres ont tenté une explication de l'intervention de ces substances.

L'opinion la plus souvent exprimée veut que la cellule, n'ayant plus besoin d'assimiler le gaz carbonique, réduit quantitativement la synthèse de son pigment assimilateur. Cette explication ne nous semble pas digne d'être retenue. C'est en effet une pure supposition tirée d'une conception utilitaire de la nature. A ce propos, il faut remarquer qu'il existe des Algues qui, tout en assimilant du carbone organique, ne délaissent pas la synthèse de la chlorophylle.

R. CHODAT (67), constatant que certaines Algues rougissent lorsqu'on leur offre du sucre et qu'elles restent vertes lorsqu'on leur donne en plus une ressource azotée facilement assimilable (peptone), dit qu'« il est évident que cela ne peut être attribué qu'à la présence d'un excès de matière hydrocarbonée par rapport à l'azote organique ». Autrement dit, cet auteur constate une perméabilité sélective insuffisante, fait sur lequel nous avons beaucoup insisté dans la partie expérimentale de ce travail.

LWOFF et LWOFF (97) signalent l'importance de la structure propre des substances organiques pouvant provoquer la chlorose colorée. Ils montrent que n'importe quel composé organique assimilé ne déclenche pas ce phénomène. Ainsi, parmi beaucoup d'autres substances, seul l'acide acétique détermine une chlorose rouge chez le *Haematococcus pluvialis*.

MEYER (100) fait une constatation semblable. Il trouve que le galactose, quoique assimilé par son Algue, n'entraîne pas la chlorose, tandis que le glucose et le fructose l'amènent rapidement.

Rappelons que chez le *Dictyococcus cinnabarinus*, tous les composés organiques assimilés ont également provoqué la chlorose.

Nous ignorons pourquoi certaines substances organiques ternaires déterminent une chlorose chez beaucoup d'Algues. Une possibilité nous semble pourtant plus probable que beaucoup d'autres. En général, les « chloroses sucrées » sont obtenues dans des milieux dont la concentration en composé organique est très élevée par rapport à la concentration des sels minéraux. On offre à l'Algue une quantité énorme d'aliment ternaire alors que ses ressources en azote, phosphore et magnésium sont limitées. Tout porte à croire que la pénétration de l'aliment ternaire et des sels minéraux à l'intérieur de la cellule se réalise sans changement des rapports relatifs des concentrations extracellulaires. Une fois à l'intérieur de la cellule, ces aliments subissent l'action des enzymes. Or, on sait que la loi d'action des masses s'applique aux réactions enzymatiques tant que les enzymes ne sont pas « saturés » par les substrats. Dans le cas de ressources glucidiques excessives, cette loi joue par conséquent en faveur d'une exaltation des synthèses ternaires (lipides, glucides, pigments ternaires). Par contre, l'action des enzymes responsables des synthèses quaternaires souffrira de la carence de matière première.

Cette conception — nous ne l'ignorons pas — est très critiquable. Elle ne tient pas compte, faute de renseignements précis, des facteurs régulateurs qui ont été trouvés chez tous les organismes où on les a cherchés. Toujours est-il qu'elle tient compte du seul fait qui soit bien établi : l'insuffisance de sélectivité dans la perméabilité des Algues susceptibles de subir une chlorose par alimentation organique.

Chlorose et lipides.

La chlorose des Algues est accompagnée d'une accumulation de lipides. Ce phénomène qui semble être général, a été constaté par beaucoup d'auteurs ⁽¹⁵⁾, ⁽¹⁹⁾, ⁽²⁴⁾, ⁽²⁸⁾, ⁽³⁰⁾, ⁽³⁵⁾, ⁽³⁶⁾, ⁽⁴⁰⁾, ⁽⁴²⁾, ⁽⁴³⁾, ⁽⁵⁸⁾, ⁽⁶³⁾, ⁽⁶⁶⁾, ⁽⁶⁸⁾, ⁽⁸⁸⁾, ⁽⁹⁰⁾, ⁽¹⁰⁰⁾.

Tous ces auteurs ont conclu, par l'observation microscopique, à l'accumulation des lipides de leurs Algues. Le fait que cette observation a pu être faite visuellement indique que cette accumulation est grande. Par nos dosages, nous avons pu prouver que notre Algue rouge renferme 150 pour cent des lipides de l'Algue restée verte.

Les botanistes, dont les travaux sont cités ci-dessus, ont constaté l'accumulation des lipides lors de toutes les chloroses qu'ils ont observées. Ces indications devraient être encore vérifiées par des dosages comparatifs, car nos déterminations des lipides n'ont porté que sur la chlorose azotée.

CHAPITRE III

Facteurs physiques de la chlorose

Chlorose et pH.

D'après MIGULA⁽¹⁵⁾, de faibles doses d'acides organiques provoquent le jaunissement des filaments du *Spirogyra orbicularis*. MOLISCH⁽²⁷⁾ indique que le *Spirogyra* et l'*Oscillaria* deviennent blancs et dépérissent en un milieu faiblement acide, tandis qu'ils subsistent, verts, si le même milieu a été rendu légèrement alcalin.

LWOFF et LWOFF⁽⁹⁷⁾ ont découvert que le *Haematococcus pluvialis*, cultivé dans un milieu contenant de l'acétate, synthétise d'une façon massive des pigments caroténoïdes. Les auteurs ont étudié l'influence du pH sur cette chlorose colorée. Ils ont abouti au résultat que le pH n'intervient pas dans la synthèse massive des caroténoïdes dans les limites où il y a croissance (6,3 à 8,6).

NOACK et PIRSON⁽¹¹¹⁾ établissent que le pH de 3,7 constitue un point critique pour le *Chlorella pyrenoidosa*. Cultivée dans un milieu dont le pH est au-dessous de 3,7, cette Algue perd en effet sa chlorophylle.

Au cours de notre travail, nous avons fait une expérience isolée pour voir si le pH influe sur l'accumulation des pigments rouges. Dans ce but, nous avons ajouté au milieu *A*, qui est légèrement acide, un excès de carbonate de calcium. Cet artifice permet de maintenir le pH à une valeur voisine de 7. Le résultat de l'expérience fut très net. Comme d'habitude, les Algues ont poussé jaunes dans le milieu acide. La culture dans le milieu tamponné, par contre, a développé une teinte vert tendre.

L'importance du résultat de cette expérience sera mis en valeur dans un paragraphe ultérieur.

En conclusion, le rôle du pH joué dans la chlorose des Algues est encore trop peu connu pour qu'on puisse en dégager dès maintenant, une notion générale.

Chlorose et lumière.

Nous nous occuperons dans ce paragraphe de l'influence de la lumière sur la coloration des Algues. Cette influence sera étudiée au seul point de vue de l'intensité lumineuse (lumière du jour ou lumière électrique); le rôle des différentes radiations, en particulier la théorie de l'adaptation chromatique, dépasse le cadre de cette étude.

Voici les résultats d'observations puisés dans la littérature.

Presque toutes les Algues se laissent cultiver à l'obscurité lorsqu'elles trouvent dans leur milieu de culture, en dehors des sels minéraux, un aliment organique assimilable. Ce mode de culture entraîne dans la plupart des cas une perte de chlorophylle ⁽³⁵⁾, ⁽⁴⁷⁾, ⁽⁶⁶⁾, ⁽⁶⁸⁾, ⁽⁶⁹⁾, ⁽⁸⁹⁾, ⁽⁹⁵⁾, ⁽¹⁰¹⁾. URHAN ⁽⁹⁸⁾ a fourni la première contribution à la solution de ce problème en prouvant que l'absorption de l'azote par plusieurs Algues dépend de la présence de la lumière. Le pigment vert se reforme, si, après le séjour dans l'obscurité, on place les cultures à la lumière. Pour d'autres Algues, l'absence de lumière ne semble avoir aucune influence sur la synthèse de la chlorophylle ⁽³⁴⁾, ⁽³⁷⁾, ⁽⁸⁴⁾, ⁽⁹⁹⁾. L'exemple le plus probant est cité par van NIEL ⁽⁹⁹⁾: « It has first been shown by the

experiments of Beijerinck that green Algae can be grown on organic media in the dark, and that under these conditions they continue to produce chlorophyll. These cultures have been transferred in the Laboratorium voor Microbiologie of the Technical University in Delft, Holland, for over 30 years and they are still green. »

Le cas qui nous intéresse le plus est celui où une insolation forte comporte une perte de chlorophylle, ou du moins un ralentissement de sa synthèse par l'Algue (1), (18), (56), (67), (76), (79), (81), (88), (90), (107). Dans ces conditions-là, les observateurs ont toujours constaté une chlorose *colorée*. Comme nous le verrons par la suite, ce fait a incité plusieurs auteurs à attribuer aux pigments jaunes et rouges un rôle protecteur contre l'intensité excessive de la lumière.

D'après ZOPF (23), le pigment rouge de *Trentepohlia Jolithus* ne joue pas un rôle protecteur contre la lumière, mais constitue une matière de réserve.

COHN (10) croit que le pigment rouge se forme aux dépens de la chlorophylle.

STEINECKE (79) attribue à l'irradiation forte la plupart des cas de coloration rouge des Algues dans la nature. Ainsi il dit : « Wesenberg-Lund beobachtete, dass *Botryococcus* in dänischen Seen im Sommer rot, im Winter dagegen grün gefärbt ist. *Euglena sanguinea* färbt sich nur in warmen, flachen, stark durchleuchteten Tümpeln rot. Algen, die auf besonnten Steinen und solche, die in der Schnee- und Eisregion leben, sind meist rot gefärbt. Zu den ersteren gehören die Trentepohlien, zu den letzteren u. a. *Sphaerella nivalis*, *Gloeocapsa sanguinea* und *Chlamydomonas sanguinea*. Auch die Rotfärbung der Dauersporen gewisser Algen (*Pandorina*, *Sphaeroplea*) ist wohl ähnlich zu verstehen. » L'auteur explique son opinion de la manière suivante : « Man könnte denken, dass es (le chromatophore) sich hier gelb färbt, um jene besonders die Assimilation fördernden wirksamen Strahlen (les rayons rouges) abzuhalten. Denn eine gesteigerte Assimilation würde fortwährend Zufuhr von Nährstoffen erfordern, die aus dem nährsalzarmen Substrat nicht in solcher Menge

bezogen werden können.» STEINECKE conclut qu'il existe une coordination entre les conditions extérieures (aliments et insolation) et la pigmentation, en ce sens que la composition des pigments capteurs d'énergie lumineuse varie, quantitativement et qualitativement, de manière à protéger la vie de l'Algue. C'est peut-être vrai, mais il faudrait le prouver. Supposons pour l'instant que l'Algue réduise sa teneur en chlorophylle pour se protéger contre un excès de lumière. Pourquoi élabore-t-elle dans ces conditions une quantité plus grande de pigments jaunes et rouges ? En cessant totalement de produire des pigments (chlorose blanche), elle n'aurait plus à craindre les effets de l'excès d'énergie lumineuse. Autrement dit, la disparition de la chlorophylle et l'accumulation concomitante des pigments rouges correspond-elle à une régulation de l'apport d'énergie⁽⁸⁷⁾, ou bien cette accumulation des pigments rouges marque-t-elle un « trop plein » dans le sens avancé par F. CHODAT⁽¹¹⁰⁾ ? Cet auteur suppose que l'enchaînement des réactions synthétiques qui aboutissent normalement à la chlorophylle, est dévié à un certain stade (phytol) pour aboutir aux carotènes.

Plus tard, STEINECKE⁽⁹⁰⁾ revient sur le même problème et conclut que le rougissement ou le jaunissement des Algues est dû à une adaptation soit à l'insolation soit à la rareté des aliments, le résultat étant dans les deux cas de réduire l'assimilation.

D'après ce qui précède, on constate que le problème de la « chlorose lumineuse » est encore très mal connu.

Chlorose et pression osmotique.

Rappelons que GELEZNOW⁽¹¹⁾, LABBÉ⁽⁸⁶⁾ et BUJOR⁽⁹²⁾ attribuent la coloration rouge du *Dunaliella salina* à la concentration élevée en sel. CAVARA⁽⁴¹⁾,⁽⁵¹⁾, exprime la même opinion pour deux Algues de salines. Ces résultats doivent être considérés comme faux (voir Chapitre premier).

LWOFF et LWOFF⁽⁹⁷⁾ ont signalé qu'un effet accélérateur, au point de vue de l'accumulation des carotènes, peut être attribué à la concentration élevée en sel. Le résultat de ces

auteurs est probablement juste, car avec leur Algue — le *Haematococcus pluvialis* — le sel produit des « cultures en souffrance », tandis que les Algues des salines supportent très bien une solution très concentrée en sel.

D'autre part, beaucoup d'Algues ont été cultivées dans des solutions renfermant des quantités élevées de substances diverses, sans que cela ait donné lieu à des chloroses ⁽³⁸⁾, ⁽⁴⁵⁾, ⁽⁵²⁾.

Chlorose et génétique.

Jusqu'ici nous avons parlé de la chlorose des Algues comme d'un phénomène qui n'est que transitoire et qui se réalise lorsque l'Algue est soumise à certaines conditions définies. En dehors de ces facteurs chimiques et physiques engendrant la chlorose, quelques cas d'apparition spontanée de *chlorose constante* sont connus. Ces phénomènes de mutation, dont les causes sont inconnues, doivent être séparés des chloroses provoquées et transitoires.

BEIJERINCK ⁽⁴⁶⁾ a obtenu, à partir de cultures vertes du *Chlorella variegata*, des mutants jaunes. TERNETZ ⁽⁶⁴⁾ a constaté qu'on trouve, parmi des milliers d'*Euglena gracilis* verts, de temps en temps une cellule blanche. Lorsqu'on isole une de ces Algues blanches et qu'on réussit à la cultiver, on constate qu'elle reste héréditairement blanche.

R. CHODAT ⁽⁹⁴⁾ écrit : « Le *Chlorella rubescens* Chod., en culture pure depuis 1907 et manifestant, en tant que lignée pure (population de cellules issues d'un même germe) une stabilité coloniale remarquable, fournit en 1927 à la suite de sélections, au moyen du micromanipulateur, une série de mutants, les uns à peine différents du type dont on est parti, les autres suffisamment distincts pour mériter une désignation particulière ». Parmi plusieurs centaines de cultures, obtenus à partir de cellules uniques, l'auteur trouve deux clones particulièrement différents. Ces différences qui sont stables, sont les suivantes : cultivés sur le même milieu, le clone 49 (= anticaroténogène) croît lentement et reste vert pendant des mois, tandis que le clone 6 croît et rougit

rapidement. F. CHODAT (¹⁰⁶), après avoir poussé plus loin l'analyse de ces deux clônes, conclut : « Quant aux clônes carotinogènes d'Algues, qui se disjoignent somatiquement, de la souche phototrophe, ils nous apparaissent comme des unités physiologiques, marquant le chemin d'une évolution vers le saprophytisme. »

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Le problème de la chlorose des Algues est actuellement encore très loin de sa solution. On sait que quelques carences minérales, certaines alimentations organiques et une insolation forte peuvent la provoquer.

Dans ce dernier chapitre, nous insisterons sur quelques problèmes de la chlorose et de la carence. Nous indiquerons une direction de recherche qui permettra peut-être de découvrir le mécanisme intime de la chlorose.

Commençons par définir les termes de consommation et d'utilisation. La consommation d'un aliment est la quantité de cet aliment qui a disparu dans le milieu de culture. L'utilisation est la quantité d'aliment incorporée par l'Algue. Dans le cas d'un aliment organique, la différence entre la consommation et l'utilisation sera surtout représentée par la respiration.

La conséquence principale de la carence nous semble consister en une respiration exaspérée des cellules carencées. Au cours de notre travail nous avons en effet constaté, pour chaque carence, que l'utilisation du glucose est mauvaise par rapport aux cellules non carencées. Rappelons, à titre d'exemple, les expériences se rapportant à la carence en sulfate de magnésium. La culture qui disposait de beaucoup de sel consommait 3 g de glucose pour aboutir à un poids sec de 1 g. La culture carencée, par contre, devait mettre en jeu 6 g de glucose pour arriver au même poids sec de 1 g. La différence d'utilisation est donc énorme ; la carence comporte une respiration exaspérée.

L'appareil de respiration, dans le cas de carence, est par conséquent mis fortement à contribution. Or, la respiration passe par le stade de l'acide pyruvique chez beaucoup d'organismes. En serait-il de même chez le *Dictyococcus cinnabarinus* ?

La respiration exagérée du *Dictyococcus* carencé nous semblait présenter une chance d'accumulation de l'acide pyruvique au cas où cette respiration passe par l'acide pyruvique.

Nous avons donc cherché l'acide pyruvique dans nos cultures carencées. Dans un cas (culture N° A 5 de la page 16) nous avons pu mettre en évidence cet acide cétonique.

Cette expérience, si elle est confirmée, revêt une importance considérable.

La présence d'acide pyruvique fournit, en effet, la preuve que l'Algue dégrade le glucose à la manière des Levures, en passant par le stade intermédiaire de l'acide pyruvique.

Cette constatation nous permet de faire deux déductions : Premièrement l'Algue doit posséder de la carboxylase et deuxièmement elle fait la synthèse totale de l'aneurine (puisque l'Algue peut être cultivée dans un milieu purement minéral).

S'il en est de même pour d'autres Algues, en particulier pour celles du sol, on entrevoit le rôle joué par ces organismes dans l'économie du sol. Ces questions sortent cependant du cadre de notre exposé.

A la suite de cette expérience, nous avons fait des cultures à pH 7 dont nous avons déjà parlé dans le chapitre *Chlorose et pH*. Nous avons constaté que ce changement de pH a favorisé le verdissement des Algues et, par conséquent, la synthèse des protides. Ce résultat, qui demande également à être confirmé, peut être interprété comme suit : On sait que la carboxylase est inhibée par un milieu neutre ou alcalin. Dans notre expérience à pH 7, l'acide pyruvique sera donc moins rapidement décarboxylé qu'à un pH acide. D'après les expériences de SCHOPFER⁽¹⁰⁸⁾, on sait, d'autre part, qu'une carence en aneurine favorise l'accumulation des protides.

L'action de la carboxylase sera, pour l'expérience à pH 7, légèrement inhibée, ce qui nous placerait dans des conditions favorables à la formation des protides et de la chlorophylle. Cette manière de voir explique peut-être pourquoi à pH 7, notre Algue est verte, tandis qu'à un pH plus acide, elle est rouge.

F. CHODAT (¹¹⁰) pense à des relations de ce genre, lorsqu'il dit qu'il faut distinguer les carences de *matière* et d'*utilisation*. Cet auteur a ainsi montré la direction des recherches futures dans le domaine de la chlorose. La vitamine B₁ semble être un de ces facteurs d'utilisation.

Les pigments caroténoïdes, qui s'accumulent souvent lorsqu'une chlorose se produit, doivent également être examinés sous cet angle, de même que les substances sexuelles secrétées par certaines Algues. LERCHE (¹⁰⁷) a fourni la première donnée à ce sujet, en montrant que le *Dunaliella salina* chlorotique sécrète moins de ces substances que l'Algue verte.

En conclusion, nous pouvons affirmer qu'actuellement les recherches sur la chlorose des Algues ont exploré d'une manière quasi définitive le champ de la « carence de matière », tandis que le domaine du « rôle des facteurs d'utilisation » est désormais ouvert aux investigations des biologistes.

RÉSUMÉ DES RÉSULTATS PRINCIPAUX

1. — Le *Dictyococcus cinnabarinus* est une Algue verte qui s'accommode aux alimentations les plus diverses. Cultivé en différents milieux, cet organisme réagit grossièrement aux différences de ces milieux. Notre étude a porté sur la consommation des aliments, sur la composition et la couleur de l'Algue, ceci en fonction des milieux de culture offerts.
2. — Le glucose augmente fortement la croissance du *Dictyococcus*. Cette croissance rapide est concomitante d'une accumulation par l'Algue de matières de réserve. Le glucose du milieu une fois épuisé, les matières de réserve sont réalisées (diminution de poids).
3. — D'une manière générale, l'utilisation du glucose est

meilleure (poids sec) en milieu complet qu'en un milieu carencé.

Il existe une concentration de glucose pour laquelle la croissance est à son maximum. Cet optimum de concentration est fonction de la composition minérale du milieu.

4. — Nous avons insisté sur trois facteurs primaires qui déterminent l'accumulation des pigments rouges. Ce sont des carences du milieu de culture soit en azote, soit en phosphore, soit en magnésium et en soufre.
5. — Il y a également des facteurs secondaires qui interviennent dans le phénomène du rougissement. Ces facteurs — nous en avons étudié deux — donnent à l'Algue une tendance au rougissement. Il s'agit de l'offre de glucose, ou plus généralement d'aliments carbonés organiques, et de lumière forte.
6. — L'Algue rouge a une composition minérale très différente suivant la carence responsable de sa coloration. Ainsi, une carence en sulfate de magnésium produit une Algue riche en azote et en phosphore. Si la carence a porté sur l'azote, l'Algue est riche en phosphore, tandis que l'Algue issue d'une culture carencée en phosphore est riche en azote.
7. — La « chlorose rouge », par suite d'une carence azotée, a été étudiée de plus près. Lorsqu'une culture primitivement verte rougit, il se produit concomitamment une accumulation des caroténoïdes et des lipides et un appauvrissement en protides. Par rapport à l'Algue verte, l'Algue rouge peut contenir 50 pour cent plus de lipides et seulement la moitié des protides.
8. — S'il y a disparition du facteur déterminant le rougissement, les teneurs en pigments, en lipides et en protides se rapprochent de celles qui caractérisent l'Algue verte.
9. — Les lipides des Algues vertes et rouges se distinguent principalement par leur fraction d'insaponifiable. L'insaponifiable des Algues vertes reste quantitati-

vement constant au cours de la culture, tandis que celui des Algues rouges baisse. Cette chute peut atteindre le 50 pour cent de la valeur de l'insaponifiable des Algues vertes.

10. — A côté d'une chlorose rouge, l'Algue peut aussi subir une chlorose blanche. Cette chlorose blanche, signe visible de la mort de l'Algue, est concomitante de la libération de la totalité du phosphore organisé, dans le milieu de culture. Un deuxième caractère de la mort de l'Algue est constitué par le taux de ses lipides en insaponifiable. Ce taux est de 4 pour cent, tandis qu'il se chiffre à 6-8 pour cent pour l'Algue rouge et à 12 pour cent pour l'Algue verte.
11. — Nos connaissances actuelles sur la chlorose des Algues ont été revues. En outre nous avons fait une esquisse pour les recherches futures dans ce domaine.

BIBLIOGRAPHIE

1. P. S. PALLAS. — Voyages en différentes provinces de l'empire de Russie. 1789, t. II, p. 500.
2. PAYEN. — C. R. Acad. Sciences. Séance du 5 sept. 1836.
3. F. DUNAL. — Extrait d'un mémoire de M. F. Dunal sur les Algues qui colorent en rouge certaines eaux des marais salants méditerranéens. Ann. sciences nat. Botanique, 2^me série. 1838, 9, 172-175.
4. TURPIN. — Quelques observations nouvelles sur les Protococcus qui colorent en rouge les eaux des marais salants. C. R. Acad. Sciences 1839, 9, 626-635.
5. JOLY. — Histoire d'un petit Crustacé (*Artemia salina* Leach), auquel on a faussement attribué la coloration en rouge des marais salants méditerranéens, suivie de recherches sur la cause réelle de cette coloration. Ann. sciences nat. Zoologie 1840, 13, 225-290.
6. F. DUJARDIN. — Histoire naturelle des Zoophytes (Infusoires). 1841, p. 344.
7. C. MONTAGNE. — Sur un nouveau fait de coloration des eaux de la mer par une Algue microscopique. Ann. sciences nat. Botanique 1846, 6, 262-268.
8. v. WITTICH. — Ueber den Farbstoff der *Euglena sanguinea*. Arch. path. Anat. u. Phys. u. klin. Med. (Virchow) 1863, 27, 573-575.
9. F. COHN. — *Chlamydomonas marina*. Hedwigia 1865, 4, 97.

10. F. COHN. — Beiträge zur Physiologie der Phycchromaceen und Florideen. *Schultze's Arch. f. mikroskop. Anat.* 1867, 3, 44.
11. N. GELEZNOV. — Ueber die Ursache der Färbung des Salzwassers im See Sak in der Krim. *Bull. Acad. Imp. Sciences St. Pétersbourg* 1872, 17, 557-575.
12. P. RICHTER. — Ueber den Wechsel der Farbe bei einigen Süßwasseralgen, insbesondere den Oscillarien. *Bot. Centralblatt* 1880, 2, 605-607.
13. A. HANSGIRG. — Prodomus der Algenflora von Böhmen. Prague 1886-93, t. I, p. 106.
14. R. BLANCHARD. — Note préliminaire sur *Monas Dunali*, flagellé qui cause la rubéfaction des marais salants. *Bull. Soc. zool. France* 1888, 13, 153-154.
15. W. MIGULA. — Ueber den Einfluss stark verdünnter Säurelösungen auf Algenzellen. Thèse Breslau 1888.
16. G. VILLE. — Recherches sur les relations qui existent entre la couleur des plantes et la richesse des terres en agents de fertilité. *C. R. Acad. Sciences* 1889, 109, 397-400.
17. M. W. BEIJERINCK. — Culturversuche mit Zoochlorellen, Lichenen-gonidien u. anderen niederen Algen. *Bot. Ztg.* 1890, 48, 724-739, 741-754, 756-768, 781-785.
18. G. KARSTEN. — Untersuchungen über die Familie der Chroocypideen. *Ann. Jard. bot. Buitenzorg* 1890, 10, 38.
19. O. LÆW. — Ueber die physiologischen Funktionen der Phosphorsäure. *Biologisches Centralblatt* 1891, 11, 269-281.
20. O. LÆW. — Ueber den Einfluss der Phosphorsäure auf die Chlorophyllbildung. *Botanisches Centralblatt* 1891, 48, 371-372.
21. R. BLANCHARD. — Résultats d'une excursion zoologique en Algérie. *Mémoires Soc. zool. France* 1891, 4, 208-245.
22. MIQUEL. — Recherches expérimentales sur la physiologie, morphologie et pathologie des Diatomées. *Ann. de micrographie.*
23. W. ZOPF. — Zur Kenntnis der Färbungsursachen niederer Organismen. *Beitr. Physiol. u. Morphol. nied. Org.* 1892, fasc. 1, 30-56.
24. W. KRÜGER. — Beiträge zur Kenntnis der Organismen des Saftflusses (sog. Schleimflusses) der Laubbäume. II. Ueber zwei aus Saftflüssen rein gezüchtete Algen. *Ibid.* 1894, fasc. 4, 91-116.
25. T. BOKORNY. — Ueber den Einfluss des Calciums und Magnesiums auf die Ausbildung der Zellorgane. *Botanisches Centralblatt* 1895, 62, 1-4.
26. H. MOLISCH. — Die Ernährung der Algen (Süßwasseralgen. I. Abhandlung). *Sitz.-ber. math.-naturwiss. Kl. kais. Akad. Wissensch. Wien* 1895, 104 Abt. I, 783-800.
27. H. MOLISCH. — Die Ernährung der Algen (Süßwasseralgen. II. Abhandlung). *Ibid.* 1896, 105 Abt. I, 633-648.
28. K. BOHLIN. — Studies af öfver några slägta af algengrupper Converwales Borzi. *Bih. kongl. Svenska Ak. Afhandl.* 1897, 22, 1.
29. P. BUTSCHINSKY. — Die Protozoen-Fauna der Salzsee-Limane bei Odessa. *Zool. Anz.* 1897, 20, 196.
30. H. MEYER. — Untersuchungen einiger Flagellaten. *Rev. Suisse Zool.* 1897-1898, 5, 43.

31. W. BENECKE. — Ueber Culturbedingungen einiger Algen. Bot. Ztg. 1898, 56, 83-97.
32. R. FLORENTIN. — Faune des mares salées de Lorraine. Nancy 1899.
33. P. BUJOR. — Contribution à la faune des lacs salés de Roumanie. Ann. sc. Université de Jassy 1900, 1.
34. RADAIS. — Sur la culture pure d'une Algue verte ; formation de chlorophylle à l'obscurité. C. R. Acad. Sciences 1900, 130, 793-796.
35. H. ZUMSTEIN. — Zur Morphologie und Physiologie der Euglena gracilis Klebs. Jahrbuch wissensch. Bot. 1900, 34, 149-198.
36. G. KARSTEN. — Ueber farblose Diatomeen. Flora 1901, 89, 404-433.
37. A. ARTARI. — Zur Ernährungsphysiologie der grünen Algen. Ber. deutsch. bot. Ges. 1901, 19, 7-9.
38. A. ARTARI. — Zur Frage der physiologischen Rassen einiger grünen Algen. Ibid. 1902, 20, 172-175.
39. A. ARTARI. — Ueber die Bildung des Chlorophylls durch grüne Algen. Ibid. 1902, 20, 201-207.
40. L. MATRUCHOT et M. MOLLIARD. — Variations de structure d'une Algue verte sous l'influence du milieu nutritif. Rev. générale Bot. 1902, 14, 193-241.
41. F. CAVARA. — Resistenza fisiologica de « Microcoleus chthonoplastes Thur. » a soluzioni anisotoniche. Nuovo giorn. bot. ital. 1902, 9, 59-80.
42. J. GRINTZESCO. — Recherches expérimentales sur la morphologie et la physiologie de Scenedesmus acutus Meyen. Bull. Herbar Boissier 1902, 2, 217-264, 406-429.
43. I. GRINTZESCO. — Contributions à l'étude des Protococcacées. Chlorella vulgaris. Rev. générale Bot. 1903, 15, 1-19, 67-82.
44. N. WILLE. — Algologische Notizen. IX-XIV. Nyt Magazin f. Naturvidenskab. 1903, 41.
45. A. ARTARI. — Der Einfluss der Konzentration der Nährlösungen auf die Entwicklung einiger grüner Algen. I. Jahrb. wissensch. Bot. 1904, 40, 593-613.
46. M. W. BEIJERINCK. — Chlorella variegata, ein bunter Mikrob. Rec. trav. bot. Néerlandais 1904, 1, 14-27.
47. M. ADJAROF. — Recherches expérimentales sur la physiologie de quelques Algues vertes. Inst. bot. Univ. Genève, 6^{me} série, VII^{me} fasc., 1905, 104.
48. E. C. TEODORESCO. — Organisation et développement du Dunaliella, nouveau genre de Volvocacée-Polyblépharidée. Beih. bot. Centralblatt 1905, 18, 215-232.
49. C. HAMBURGER. — Zur Kenntnis der Dunaliella salina und einer Amöbe aus Salinenwasser von Cagliari. Arch. Protistenkunde 1905, 6, 111-130.
50. O. TREBOUX. — Organische Säuren als Kohlenstoffquelle bei Algen. Ber. deutsch. bot. Ges. 1905, 23, 432-441.
51. F. CAVARA. — Alcune osservazioni sulla Dunaliella salina (Dun.) Teodoresco delle saline di Cagliari. Rend. Accad. Sc. Fis. e Mat. (Napoli). 1906 (Anno 45), Serie 3a, Vol. 12, 431-445.

52. A. ARTARI. — Der Einfluss der Konzentration der Nährlösungen auf die Entwicklung einiger grüner Algen. II. Jahrb. wissensch. Bot. 1906, 43, 177-214.
53. E. C. TEODORESCO. — Observations morphologiques et biologiques sur le genre *Dunaliella*. Rev. générale Bot. 1906, 18, 353-371, 409-427.
54. W. WOLLENWEBER. — Das Stigma von *Haematococcus*. Ber. deutsch. bot. Ges. 1907, 25, 316-321.
55. W. WOLLENWEBER. — Untersuchungen über die Algengattung *Haematococcus*. Ibid. 1908, 26, 238-298.
56. G. A. NADSON. — Ueber den Einfluss der Lichtstärke auf die Färbung der Algen. Bull. Jard. Imp. Bot. St. Pétersbourg 1908, 8, 122-141.
57. A. ANDREESSEN. — Beiträge zur Kenntnis der Physiologie der Desmidiaceen. Flora 1909, 99, 373-413.
58. R. CHODAT. — Etude critique et expérimentale sur le Polymorphisme des Algues. Genève 1909. 165 p.
59. E. REICHENOW. — Untersuchungen an *Haematococcus pluvialis* nebst Bemerkungen über andere Flagellaten. Arbeiten a. d. kais. Gesundheitsamt 1909, 33, 1-45.
60. J. BRUNNTHALER. — Der Einfluss äusserer Faktoren auf *Glœotheca rupestris* (Lyngb.) Born. Sitz.-ber. kais. Akad. Wiss. math.-naturwiss. Kl. Wien 1909, 118, Abt. I, 501-573.
61. O. RICHTER. — Die Ernährung der Algen. Leipzig 1911.
62. K. BORESCH. — Zur Physiologie der Blaualgenfarbstoffe. Bot. Zentralblatt 1911, 117, 191.
63. R. CHODAT. — Principes de Botanique. 2^{me} édition 1911.
64. C. TERNETZ. — Beiträge zur Morphologie und Physiologie der *Euglena gracilis* Klebs. Jahrb. wissensch. Bot. 1912, 51, 435-514.
65. W. MAGNUS u. B. SCHINDLER. — Ueber den Einfluss der Nährsalze auf die Färbung der Oscillarien. Ber. deutsch. bot. Ges. 1912, 30, 314-320.
66. A. HOFFMANN-GROBÉTY. — Contribution à l'étude des Algues unicellulaires en culture pure. Bull. Soc. Bot. Genève 1912, 4, 73-104.
67. R. CHODAT. — Monographie d'Algues en culture pure. Matériaux pour la flore cryptogamique suisse 1913, 4, fasc. 2, 266 p.
68. H. KUFFERATH. — Contribution à la physiologie d'une Proto-coccacée nouvelle *Chlorella luteo-viridis* Chodat, nov. spec. var. *lutescens* Chodat, nov. var. Recueil Inst. bot. Léo Errera (Bruxelles) 1913, 9, 113-319.
69. E. PRINGSHEIM. — Kulturversuche mit chlorophyllführenden Mikroorganismen II. Zur Physiologie der *Euglena gracilis*. Beitr. Biol. Pflanzen 1913, 12, 1-47.
70. E. G. PRINGSHEIM. — Kulturversuche mit chlorophyllführenden Mikroorganismen III. Zur Physiologie der Schyzophyceen. Ibid. 1913, 12, 49-106.
71. B. Schindler. — Ueber den Farbenwechsel der Oscillarien. Z. Bot. 1913, 5, 497-575.

72. K. BORESCH. — Die Färbung von Cyanophyceen und Chlorophyceen in ihrer Abhängigkeit vom Stickstoffgehalt des Substrates. *Jahrb. wissenschaft. Bot.* 1913, *52*, 145-185.
73. S. MENDRECKA. — Etudes sur des Algues saprophytes. *Bull. Soc. Bot. Genève* 1913, *5*, 150-180.
74. E. G. PRINGSHEIM. — Kulturversuche mit chlorophyllführenden Mikroorganismen IV. Die Ernährung von *Haematococcus pluvialis* Flot. *Beitr. Biol. Pflanzen* 1914, *12*, 413-434.
75. GISTL. — Beiträge zur Kenntnis der Desmidiaceenflora der Bayr. Hochmoore. *Diss. Techn. Hochschule München* 1914.
76. H. MAERTENS. — Das Wachstum von Blaualgen in mineralischen Nährlösungen. *Beitr. Biol. Pflanzen* 1914, *12*, 439-496.
77. S. PRAT. — *Trentepohlia annulata* Brand in Mähren. *Oesterr. bot. Z.* 1914, *64*, 420-421.
78. C. VAN WISSELINGH. — Ueber die Nachweisung und das Vorkommen von Carotinoiden in der Pflanze. *Flora* 1915, *107*, 371-432.
79. F. STEINECKE. — Die Algen des Zehlaubruches in systematischer und biologischer Hinsicht. *Schriften Phys. ök. Ges. Königsberg* 1915, *56*, 1-138.
80. H. NAKANO. — Untersuchungen über die Entwicklung und Ernährungsphysiologie einiger Chlorophyceen. *Imp. Univ. Tokio* 1917.
81. R. HARDER. — Ernährungsphysiologische Untersuchungen an Cyanophyceen, hauptsächlich dem endophytischen *Nostoc punctiforme*. *Z. Bot.* 1917, *9*, 145-242.
82. A. LIMBERGER. — Ueber die Reinkultur der *Zoochlorella* aus *Euspongilla lacustris* und *Castrada viridis* Volz. *Sitz. ber. Akad. Wiss. math. naturwiss. Kl. Wien* 1918, *127* Abt. I, 395-412.
83. K. BORESCH. — Ueber die Einwirkung farbigen Lichtes auf die Färbung von Cyanophyceen. *Ber. deutsch. bot. Ges.* 1919, *37*, 25-39.
84. DANGEARD. — *Le Botaniste* 1921-1926, *14*, 1-224.
85. K. BORESCH. — Ein Fall von Eisenchlorose bei Cyanophyceen. *Z. Bot.* 1921, *13*, 65-78.
86. A. LABBÉ. — Sur les modifications adaptives de *Dunaliella salina* Dunal. *C. R. Acad. Sciences* 1921, *172*, 1074. — Le cycle évolutif de *Dunaliella salina*. *ibid* 1689.
87. K. BORESCH. — Die komplementäre chromatische Adaptation. *Arch. Protistenkunde* 1922, *44*, 1-70.
88. R. FISCHER. — Die *Trentepohlia*-Arten Mährens und West-Schlesiens. *Oesterr. bot. Z.* 1922, *71*, 1-30.
89. A. PASCHER. — Ueber das regionale Auftreten roter Organismen in Süßwasserseen. *Bot. Arch.* 1923, *3*, 311-314.
90. F. STEINECKE. — Ueber Beziehungen zwischen Färbung und Assimilation bei einigen Süßwasseralgen. *Ibid.* 1923, *4*, 317-327.
91. R. CHODAT et F. MAYER. — Sur les conditions de la formation de la carotène chez les Algues vertes. *C. R. Soc. Phys. Hist. Nat. Genève* 1927, *44*, 107-110.
92. P. BUJOR. — Nouvelle contribution à l'étude de la biologie du lac salé de Tékirghiol. *Comité 5^{me} congrès int. Jassay Thalassothérapie* 1928.

93. F. E. MEIER. — Recherches expérimentales sur la formation de la carotène chez les Algues vertes unicellulaires et sur la production de la gelée chez un Stichococcus (*S. mesenteroides*). Thèse Genève 1929, 42 p.
94. R. CHODAT. — La mutation généralisée et les mutations chez le *Chlorella rubescens* Chod. C. R. Soc. Phys. Hist. Nat. Genève 1929, 46, 31-38.
95. A. JANKE. — Natürliches Bakteriensystem und biochemische Mikrogenleistungen. Oesterr. Bot. Z. 1929, 78, 97-128.
96. R. EMERSON. — The relation between maximum rate of photosynthesis and concentration of chlorophyll. J. general Physiol. 1929, 12, 609-622.
97. M. LWOFF et A. LWOFF. — Détermination expérimentale de la synthèse massive de pigment carotinoïde par le flagellé *Haematococcus pluvialis* Flot. C. R. Soc. Biol. 1930, 105, 454-456.
- 97 bis. R. MORQUER. — Thèse doctorat sc., Paris 1931.
98. O. URHAN. — Beiträge zur Kenntnis der Stickstoffassimilation von *Chlorella* und *Scenedesmus*. Jahrb. wiss. Bot. 1931, 75, 1-44.
99. C. B. VAN NIEL. — On the morphology and physiology of the purple and green sulphur bacteria. Arch. Mikrobiol. 1931, 3, 1-112.
100. H. MEYER. — Das Chlorose- und Panaschürephänomen bei Chlorellen I. Beih. bot. Centralblatt 1932, 49, 496-544.
101. I. LUCKSCH. — Ernährungsphysiologische Untersuchungen an Chlamydomonaden. Ibid. 1933, 50, 64-94.
102. H. MEYER. — Das Chlorose- und Panaschüreproblem bei Chlorellen II. Ibid. 1933, 51, 170-203.
103. E. KOL et F. CHODAT. — Quelques Algues nouvelles des sols et de la neige du Parc National Suisse Engadine. Bull. Soc. Bot. Genève 1934, 25, 1-14.
104. W. E. FLEISCHER. — The relation between chlorophyll content and rate of photosynthesis. J. general Physiol. 1934, 18, 573-597.
105. H. MEYER. — Stickstofffreie, aliphatische Verbindungen als organische Nährstoffe bei Algen. Biochem. Z. 1936, 283, 364-381.
106. F. CHODAT. — Carotène et oxytrophie. Actes Soc. Helv. Sc. Nat., Soleure 1936, 321-324.
107. W. LERCHE. — Untersuchungen über Entwicklung und Fortpflanzung in der Gattung *Dunaliella*. Arch. Protistenkunde 1937, 88, 236-279.
108. W. H. SCHOPFER. — Recherches sur le métabolisme de l'azote d'un microorganisme acellulaire (*Phycomyces Blakesleeanus* Bgf.). Le rôle des facteurs de croissance. Protoplasma 1937, 28, 381-434.
109. A. PIRSON. — Ernährungs- und stoffwechselphysiologische Untersuchungen an *Fontinalis* und *Chlorella*. Z. Bot. 1937, 31, 193-267.
110. F. CHODAT. — Etudes sur la genèse des carotinoïdes. Arch. Sc. Phys. Nat. Genève 1938, 20, 96-114.
111. K. NOACK et A. PIRSON. — Die Wirkung von Eisen und Mangan auf die Stickstoffassimilation von *Chlorella*. Ber. deutsch. bot. Ges. 1939, 57, 442-452.
112. W. MENKE. — Ueber den Zustand der Carotinoïde in den Plastiden. Naturwiss. 1940, 28, 31.

113. F. WENZINGER. — Evolution des pigments caroténoïdes chez une Algue verte. Thèse Genève 1940.
114. F. CHODAT et E. HAAG. — Sur les conditions d'accumulation des caroténoïdes chez une Algue verte. I. Accumulation concomitante des caroténoïdes et des lipides. C. R. Soc. Phys. Hist. Nat. Genève 1940, 57, 265-269.
115. F. CHODAT et E. HAAG. — Sur les conditions d'accumulation des caroténoïdes chez une Algue verte. II. Consommation comparée de quelques aliments dans les milieux caroténogène et anticaroténogène. Ibid. 1941, 58, 28-33.
116. E. HAAG. — Sur les conditions d'accumulation des caroténoïdes chez une Algue verte. III. Rôle de l'azote, du sulfate de magnésium et du phosphore. Ibid. 1941, 58, 288-291.
117. E. HAAG. — Sur les conditions d'accumulation des caroténoïdes chez une Algue verte. IV. Sur la mort de l'Algue. Ibid. 1941, 58, 291-294.
118. E. G. PRINGSHEIM. — The interrelationship of pigmented and colourless flagellata. Biological Reviews 1941, 16, 191-204.
119. W. ZIRPEL. — Ueber den Eisenbedarf von Rhodobacillus palustris und dessen Beziehung zur Bakteriochlorophyll- und Karotinoidbildung. Z. Bot. 1941, 36, 538-561.
- a) I. M. KOLTHOFF. — Z. Unters. Nahrsgs.-u. Genussmittel 1923, 45, 131.
- b) M. LEMOIGNE, P. MONGUILLON et R. DESVEAUX. — C. R. Acad. Sciences 1937, 204, 683-686.
- c) A. B. BRIGGS. — A modification of the Bell-Doisy-phosphate method. J. biol. Chem. 1922, 53, 13-16.
- d) G. BARAC. — Précisions sur la technique de dosage du phosphore suivant Bell-Doisy-Briggs. Bull. Soc. Chim. Biol. 1939, 21, 139-142.

Table des matières

Introduction	1
Partie I. Méthodes analytiques	3
Chapitre I. Analyse de l'Algue sèche	3
Poids sec	3
Extraction et analyse des lipides	4
Préparation du matériel	4
Extrait brut	4
Lipides bruts	5
Saponification	5
Insaponifiable	5
Acides gras	6
Hydrosoluble	6
Remarque	6

Chapitre II. Analyse du filtrat	6
Glucose	6
Nitrate	7
Phosphate	8
Partie II. Sur les conditions d'accumulation des caroténoïdes chez le <i>Dictyococcus cinnabarinus</i>	9
Chapitre I. Rôle du temps de culture	10
Chapitre II. Rôle de la concentration en glucose	15
Chapitre III. Rôle de l'azote	19
Chapitre IV. Rôle du phosphore	24
Chapitre V. Rôle du sulfate de magnésium	27
Chapitre VI. Rôle du chlorure de potassium	30
Chapitre VII. Rôle de quelques autres sources de carbone que le glucose	31
Chapitre VIII. Rôle du carbone organique	33
Chapitre IX. Résumé de la deuxième partie	35
Partie III. Sur l'évolution des lipides au cours de l'accumulation des caroténoïdes chez le <i>Dictyococcus cinnabarinus</i>	37
Chapitre I. Accumulation concomitante des caroténoïdes et des lipides	37
Chapitre II. Composition des lipides	39
Partie IV. Chlorose et carence	42
Chapitre I. Note historique sur le <i>Dunaliella salina</i>	43
Chapitre II. Facteurs chimiques de la chlorose	45
Chlorose par alimentation riche ou pauvre	45
Chlorose par carence en azote	47
Chlorose par carence en phosphore	49
Chlorose par carence en sulfate de magnésium	50
Chlorose par carence en fer	50
Chlorose par carence en potassium	52
Chlorose par carence en calcium	52
Chlorose par alimentation organique	52
Chlorose et lipides	54
Chapitre III. Facteurs physiques de la chlorose	55
Chlorose et pH.	55
Chlorose et lumière	56
Chlorose et pression osmotique	58
Chlorose et génétique	59
Conclusions générales	60
Résumé des résultats principaux	62
Bibliographie	64

