

RÉPARTITION ET VARIATIONS DU SYSTÈME ASCORBIQUE CHEZ LES VÉGÉTAUX

par P. LECAT

Laboratoire de Physique Végétale, Muséum d'Histoire Naturelle de Paris

PLAN DU MÉMOIRE

INTRODUCTION.

CHAPITRE I. — Le système ascorbique dans les feuilles :

Influence de la morphologie.

Influence de l'âge de la feuille et de sa position sur la tige.

Influence de la pigmentation.

Variation du taux d'acide ascorbique et déhydroascorbique avec les espèces.

CHAPITRE II. — Le système ascorbique dans les pièces florales :

Etude des Iris.

„ „ Arum.

CHAPITRE III. — Le système ascorbique chez les fruits :

Fruits sucrés.

Un fruit à graines amylacées.

Fruits oléagineux.

CHAPITRE IV. — Influences externes s'exerçant sur le système ascorbique :

Influence de la nutrition minérale de la plante.

Influence de la lumière et de la température.

Influence des solutions sucrées comme source alimentaire des feuilles détachées de leur tige.

INTRODUCTION

Principalement étudié sous l'aspect de vitamine en physiologie humaine et animale, l'acide ascorbique a un rôle moins bien connu en physiologie végétale.

En vue de préciser ce rôle, le présent travail a étudié systématiquement la répartition et les variations de l'acide ascorbique dans les divers organes des plantes. Corps essentiellement réducteur, qui

se transforme en acide déhydroascorbique par une réaction réversible, il peut difficilement être séparé de ce dernier; aussi avons-nous étudié parallèlement la répartition et les variations de l'acide déhydroascorbique. La mesure du rapport entre ces deux formes, que nous avons désignée par l'expression „Quotient d'Oxydation réversible ¹¹⁾ nous a aidé à comprendre certains aspects du rôle oxydo réducteur de ce système.

§ 1. *Le système oxydo réducteur ascorbique.*

Par la perte des deux hydrogènes de son groupement diénolique, l'acide ascorbique se transforme en acide déhydroascorbique, et par la perte d'un seul H, il prend la forme semi-oxydée ou forme S.

Cette faculté de perdre un ou deux H fait de l'acide ascorbique un réducteur énergétique, cependant que l'acide déhydroascorbique qui regagne non moins facilement les deux hydrogènes est un oxydant d'une égale énergie. Ces deux corps forment un système oxydo réducteur dont le potentiel ou rH est très sensible à divers facteurs: pH du milieu, lumière, température. Or un système oxydo réducteur réduit les systèmes de rH plus élevé que le sien, et oxyde ceux de rH inférieur. Cette loi permet de situer les transporteurs (ou transmetteurs) d'hydrogène soit dans la chaîne de dégradation des corps qu'ils permettent d'oxyder, soit dans la chaîne anabolique de construction des corps qu'ils permettent de réduire. Mais il suffit que les conditions du milieu changent pour que change aussi le sens de l'action du système qui d'oxydant peut devenir réducteur ou inversement.

Il apparaît donc qu'un même corps peut être inhibiteur ou activateur d'oxydation, donateur ou accepteur d'hydrogène vis à vis du système ascorbique, suivant les circonstances. Il ne faut pas oublier, l'action des diastases dont beaucoup nous échappent encore totalement ou partiellement, mais qui dans la cellule vivante doivent avoir une importance primordiale: si dans tel ou tel groupe de cellules vivantes l'acide ascorbique oxyde ou est oxydé par un corps donné, nous avons tout lieu de penser qu'il le fait sous l'action d'une enzyme dont l'action est elle-même conditionnée par le milieu physico chimique intra cellulaire au sein duquel elle agit.

§ 2. *Dosage de l'acide ascorbique.*

L'action réductrice de l'acide ascorbique a été mise à profit pour son dosage

par divers auteurs, entre autres par Tillmans, employant le 2-6 dichlorophénol-indophénol, méthode simplifiée par Sosa²⁵⁾ et par Martini et Bonsignore¹⁶⁾, employant le bleu de méthylène, méthode ultérieurement modifiée par Mentzer¹⁷⁾ et considérée comme plus spécifique, mais moins rapide que la première.

Nous avons généralement employé la méthode à l'indophénol pour nos premiers dosages, et celle au bleu de méthylène pour nos vérifications.

§ 3. *Dosage de l'acide déhydroascorbique.*

Nous rappellerons brièvement ici la technique de nos dosages, déjà indiquée au bulletin de la Société Botanique de France¹²⁾, et qui comprend les opérations essentielles suivantes: broyage de l'échantillon en présence d'un volume déterminé d'acide métaphosphorique en solution aqueuse à 5%.

Première défécation et filtration. — Le filtrat est séparé en deux parties: une partie sert au dosage de l'acide ascorbique après une 2ème défécation effectuée par saturation au sulfate neutre d'ammonium, et neutralisation de l'acidité par le carbonate de calcium. L'autre partie est portée à pH = 6,2 par le carbonate de Ca, puis traitée par un courant de SH₂ passant bulle à bulle pendant 10 à 15 minutes. Elle est ensuite saturée de sulfate d'ammonium, puis débarrassée de SH₂ par un léger courant de Co₂ ou d'azote. Toutes ces opérations sont effectuées le plus possible à l'obscurité et à la température de la glace fondante pour éviter ou réduire à des quantités négligeables toutes pertes d'acide ascorbique par oxydation. Cette partie est prête pour le dosage de l'acide total (ascorbique + déhydroascorbique) qui est effectué comme celui de l'acide ascorbique seul par l'une des méthodes précédemment indiquée. L'acide déhydroascorbique est donné par la différence des deux dosages.

Cette méthode ne permet pas de faire la différence entre l'acide totalement oxydé ou déhydroascorbique et l'acide semioxydé ou forme S. Il en résulte que les quantités X trouvées d'acide déhydroascorbique, sont peut-être, en réalité, des quantités 2X de forme S, ou un mélange des deux formes. Notre quotient d'oxydation réversible est moins un rapport:

$$\text{qu'un rapport: } \frac{\text{„acide déhydroascorbique”}}{\text{acide ascorbique}} \cdot \frac{\Sigma \text{ des formes oxydées}}{\Sigma \text{ des formes réduites}}$$

Nous n'avons jamais trouvé trace „d'acide combiné”.

Dans les pages suivantes, la valeur du quotient d'oxydation réversible sera souvent exprimée par la fraction simple la plus approchée du rapport réel des chiffres donnés par l'analyse.

CHAPITRE I

LE SYSTÈME ASCORBIQUE DANS LES FEUILLES

Données antérieurement acquises.

Des études des nombreux auteurs qui se sont penchés avant nous sur cette question, un certain nombre de points sont fermement acquis: la feuille est, d'une manière générale une des parties les plus riches de la plante en acide ascorbique; cependant quelques fruits, dont le piment, quelques fleurs dont le *Citrus trifoliata*, sont actuellement connus pour réaliser dans leurs tissus des concentrations en vitamine C supérieures à celles des tissus foliaires.

Mais le taux de vitamine C de la feuille est variable avec divers facteurs, parmi lesquels nous distinguerons: 1°) l'état de développement et l'état fonctionnel: âge de la feuille, position sur la tige, âge du végétal, forme générale ou fonctionnelle de la feuille, sa pigmentation.

2°) les tendances héréditaires, des différentes espèces.

3°) les facteurs du milieu extérieur: lumière, température, milieu écologique et nutritif.

Nous verrons avec l'étude des facteurs écologiques, l'influence marquante de la lumière et de la température, comme de l'heure de la journée, sur le taux d'acide ascorbique des feuilles. Aussi indiquerons nous pour certains dosages, les conditions météorologiques de la cueillette et des 24 heures qui l'ont précédée. Le taux moyen d'acide ascorbique dans la feuille est, de plus, un caractère variétal excessivement changeant, puisqu'il peut aller du simple au décuple suivant les diverses variétés d'une même espèce.

§ 1. Influence de la morphologie de la feuille:

a) Limbe et pétiole. Si dans l'étude des facteurs de variation nous commençons par celui-là, c'est que nous entendons faire immédiatement la différence entre les tissus conducteurs et les tissus assimilateurs, donc, par voie de conséquence, entre le limbe et le pétiole d'une feuille normale; en effet, le taux d'acide ascorbique du pétiole ne dépasse pas, en général, la moitié de celui du limbe qui lui correspond (tissus frais en pleine turgescence). Ainsi pour un limbe de feuille de Cassis (*Ribes nigrum* L.) contenant en moyenne 230 mg d'acide ascorbique pour 100 g de tissus frais, le

pétiole contient 110 mg. Chez le Ricin de Zanzibar (*Ricinus zanzibariensis* L.) pour un taux moyen du limbe de 190 mg. le pétiole accuse un taux de 70 mg. Chez le Persil, (*Petroselinum sativum* Joffm.) pour une moyenne des limbes des folioles de 300 mg% le pétiole dose 140 mg%. Chez *Helianthus annuus* L., 80 mg% chez le limbe, 20 mg% chez le pétiole. Chez le Tulipier de Virginie (*Lyriodendron tulipifera* L.) limbe 37 mg% — pétiole 10 mg%. Chez divers *Arum*, ces proportions sont les suivantes: *Arum maculatum* L.: limbe 125 mg% — pétiole 37 mg%. *Arum dracunculus*: limbe 179 mg% — pétiole, 67 mg%. *Richardia oethiopica*: limbe 49 mg% — pétiole 3,7 mg%. Bien tranchée en ce qui concerne l'acide ascorbique, la différence qui sépare tissus assimilateurs et tissus conducteurs ne l'est pas moins, en ce qui concerne soit le taux absolu d'acide déhydroascorbique, soit sa proportion relative par rapport au taux d'acide réduit, c'est à dire „le quotient d'oxydation" réversible de l'acide ascorbique.

Le pétiole se distingue du limbe par un quotient d'oxydation réversible très supérieur. En effet, reprenons *Ribes nigrum*: tandis que ce quotient est de $30/230 \geq 1/8$ pour le limbe, il devient $35/110 \leq 1/3$ pour le pétiole. Chez *Ricinus zanzibariensis*: limbe $60/190 \leq 1/3$ pétiole $65/70 \leq 1$. Chez *Richardia oethiopica*: limbe $18/49 \leq 2/5$ pétiole: $26/3,7 \leq 8$. Chez le persil (*Petroselinum. sativum* L.): limbe des folioles $30/300 = 1/10$; pétiole: $45/140 \leq 1/3$. Chez la Clématite, (*Clematis vitalba* L.): limbe des folioles $35/317 \leq 1/9$ pétiole: $70/70 = 1$.

D'après ces quelques exemples, pris au hasard dans le règne végétal et qui vraisemblablement représentent la majorité des végétaux supérieurs de notre flore, nous pouvons retenir que: Le pétiole est sensiblement moins riche que le limbe en acide ascorbique réduit mais, par contre, il le dépasse largement, soit en valeur absolue, soit au moins en valeur relative des deux formes, par le taux d'acide déhydroascorbique.

b) Modifications fonctionnelles de la feuille. Si maintenant nous considérons une feuille profondément modifiée, par sa fonction, par exemple les feuilles réduites à des vrilles comme celles de pois, de bryone ou de citrouille, nous trouvons des modifications notables dans le taux des deux formes ascorbiques. Soit, par exemple *Bryonia dioica* ♂ pris le 5 Juin par une journée pluvieuse au moment de la floraison: vrilles, feuilles et tiges analysées ont été

prélevées à l'extrémité d'un rameau sur les 40 derniers centimètres de celui-ci et tous ces éléments sont en pleine croissance — les vrilles ne sont pas encore enroulées autour d'un quelconque support, les feuilles ont de 1 cm, 5 à 4 cm de large.

Les chiffres trouvés sont les suivants :

Organes	Poids de l'organe		Matière sèche %	En mg% du poids frais		Quot. d'ox. rév.
	frais	sec		Ac. asc.	Ac. déhydroasc.	
Limbes . . .	1,200	0,1675	14	24	0	0
Pétioles et tiges	3,600	0,279	7,75	29	2	≥ 1/15
Vrilles. . . .	0,550	0,051	11,0	96	9	≤ 1/10

Les vrilles de Bryone ont donc une richesse en acide ascorbique de beaucoup supérieure à celle des limbes des feuilles correspondantes et un quotient d'oxydation réversible qui les rapproche plus des tiges que des limbes.

Chez *Cucurbita maxima* L. (var. Potiron jaune de Paris) les données sont les suivantes :

Organes	Poids de l'organe		% de mat. sèche	En mg% de poids frais		Quot. d'ox. rév.
	Frais	Sec		Ac. asc.	Ac. déhyd.	
Limbes . .	2,730 g	0,570 g	20,8	60	15	1/4
Pétioles . .	3,290 g	0,365	11,1	21	5,5	1/4
Tige	3,252 g	0,314	9,6	11	2,0	1/5
Vrilles non enr. . . .	1,007 g	0,0985	9,8	27	7,5	1/4
Vrilles enroulées	1,012 g	0,100	9,9	11,6	0	0

Enfin chez *Pisum sativum* L. (var. Sénateur), les quotients d'oxydation réversibles sont (en mg% de substance fraîche) :

pour les stipules: 45/145 soit un rapport ≤ 1/3
 pour les folioles 35/178 „ „ „ ≤ 1/5
 pour les vrilles (non enroulées) . . . 21/25 „ „ „ ≤ 1
 pour les tiges 15/20 „ „ „ = 3/4

Les vrilles surtout formées de tissus conducteurs et de soutien se rapprochent donc très fortement des organes conducteurs de la plante (tiges et pétiotes) avec une richesse en vitamine C qui n'est peut être pas étrangère au travail qu'elles doivent normalement fournir pour fixer la plante sur un support.

c) **Forme ordinaire de la feuille.** L'exemple des folioles de pois nous amène à parler des feuilles composées et à voir comment se répartit la vitamine C dans les différentes folioles: leur teneur est loin d'être égale pour toutes, peu importe d'ailleurs qu'il s'agisse de feuilles composées pennées ou de composées palmées, les variations du taux d'acide ascorbique sont du même ordre dans ces deux sortes de feuilles: minimum pour les folioles les plus voisines du rameau, il augmente régulièrement jusqu'à la foliole terminale chez les pennées, jusqu'à la folioles opposée au pétiole chez les palmées.

Ainsi chez <i>Clematis vitalba</i>	} folioles du bas de la feuille: 51 mg%	
des tissus frais		„ intermédiaires 59 mg%
„ „ „		„ terminales 94 mg%

Chez le lupin vivace à fleurs bleues:

Les deux folioles inférieures	120 mg% de tissus frais
„ „ „ suivantes	130 „ „ „ „
„ „ „ „	150 „ „ „ „
la foliole terminale.	190 „ „ „ „

Le quotient d'oxydation réversible diminue de la base au sommet, mais pas toujours de façon constante ou régulière; nos quelques observations faites sur ce sujet ne sont pas concordantes:

Ainsi chez *Phaseolus vulgaris* L. (var. noir de Belgique):

les deux folioles de la base	31/157 = 1/5
la foliole terminale	40/180 = 1/4,5

Chez *Solanum tuberosum* L. (var. Esterlingeen):

les folioles de la base	2/25
„ „ intermédiaires (indosées)	
la foliole terminale	2/30

Le comportement des feuilles simples est d'ailleurs identique. Voici les valeurs trouvées sur une feuille de *Ricinus zanzibariensis*, divisées en secteurs par sa forme et ses nervures — chaque secteur traversé au milieu par sa nervure principale pouvant être assimilé à une foliole de feuille composée:

secteur No. 1 (base)	36/175 mg%
secteur No. 2	38/198 mg%
secteur No. 3	37/207 mg%
secteur No. 4 (sommet).	39/210 mg%

§ 2. *Influence de l'âge de la feuille et de sa position sur la tige.*

Au cours d'une précédente étude¹³), nous avons montré par l'examen détaillé du système foliaire de *Ribes nigrum* et d'*Helianthus annuus*, que chez les Dicotylédones l'influence de l'âge de la feuille se double de celle d'un autre phénomène: celui du changement de position de la feuille sur la tige au fur et à mesure que celle-ci s'allonge et pousse de nouvelles feuilles. Non seulement la feuille cesse de se développer et vieillit, mais elle passe de première position tout au sommet de la tige, à la seconde, troisième, puis enième position, s'éloignant ainsi de plus en plus de la zone active de croissance de la tige et des feuilles. Chez *Ribes nigrum*, le maximum d'acide ascorbique se situe dans les premières feuilles du haut de la tige en voie de croissance — souvent dans la 3ème feuille où il correspond à un minimum d'acide déhydroascorbique; le maximum de celui-ci se rencontre immédiatement au-dessus dans les toutes premières feuilles en voie d'épanouissement.

Dans le temps, on note 2 maxima pour les 4 premières feuilles: l'un au départ de la végétation au début d'Avril; l'autre courant Juin.

Chez *Helianthus A.*, la plus forte teneur en acide ascorbique se rencontre dans les 2 premières feuilles tout au long de la végétation, avec un maximum avant la floraison du capitule principal. La forme oxydée se rencontre également dans les premières feuilles et avant la floraison.

Voici maintenant le cas de deux autres Composées: l'Artichaut et le Chrysanthème horticole:

Cas des plantes vivaces. Chez l'artichaut (*Cynara scolymus*) pris le 15 Juin avant la floraison, les feuilles jeunes encore blanchâtres et repliées sur elles mêmes — et les feuilles plus âgées bien vertes et bien étalées, les taux respectifs sont les suivants:

	Ac. ascor.	Ac. déhydro.	Total	Quotient d'ox. rév.
Feuilles jeunes	22 mg%	15 mg%	37	2/3
„ adultes	72 mg%	24 mg%	96	1/3

Il y a donc une augmentation très appréciable du taux d'acide ascorbique et déhydroascorbique, mais baisse non moins sensible du quotient d'oxydation réversible qui retombe de 2/3 à 1/3.

Nous ne quitterons pas la famille des Composées sans examiner

une plante, le Chrysanthème, var. horticole à fleurs rouges, qui par sa floraison préhivernale, est susceptible de nous donner des indications sur l'influence de l'arrière saison sur la répartition de la vitamine C chez ses divers étages de feuilles (par la méthode à l'indophénol):

	Ac. ascorb.	Ac. déhydro.	Ac. total	Quotient d'ox. rév.
Feuille No. 1				
Dessous capit	67,5	44,5	112	2/3
Feuille No. 2	84	56	140	2/3
Feuille No. 3	80	80	160	1
Feuille No. 4	67	67	134	1
Feuille No. 5	85	42	127	1/2
Feuille No. 6	70	18	88	1/4

Chez cette plante qui se distingue de toutes celles examinées jusqu'à maintenant par sa très forte teneur en produits réducteurs après passage de l'hydrogène sulfuré dans la préparation, donc assimilables à l'acide déhydroascorbique, le maximum d'acide ascorbique est atteint par la 2ème feuille: et le maximum de déhydroascorbique par la 3ème feuille. Le quotient d'oxydation réversible est maximum pour les deux feuilles No. 3 et 4. Cette plante d'arrière saison ne diffère donc pas de la plante de pleine saison (*Hélianthus annuus*) pour la répartition du taux d'acide ascorbique. Elle s'en écarte légèrement par une distribution plus régulière de l'acide déhydroascorbique — peut être faut-il voir là l'effet d'une circulation moins intense de la sève et d'un transport moins actif des produits élaborés.

Cas d'une monocotylédone: Quittons les dicotylédones pour étudier une monocotylédone: l'*Iris hybride* des jardins (var. Dorothée). Les dosages ont été faits par la méthode à l'indophénol sur les deux tiers supérieurs de la longueur des deux plus jeunes feuilles de la plante, seuls franchement verts.

Date	État de la végétation	En mg% de matière fraîche	
		Ac. ascorb.	Ac. déhydro.
15 Janv.	au repos	258	0
11 Mars	au repos	300	0
1er Avr.	début de la croissance	492	0
15 Avr.	les fleurs sont en boutons	470	0
1er Mai	fleurs ouvertes	386	0
16 Mai	fleurs fanées	320	0
20 Août	sans signe particulier	310	0

Il ne m'a jamais été possible de mettre en évidence la moindre trace d'acide déhydroascorbique. Il nous faut donc admettre que le métabolisme de l'acide ascorbique chez cet Iris n'est pas le même que chez *Ribes nigrum* et chez *Hélianthus annuus*. Le taux maximum ne se place d'ailleurs pas au même stade végétatif: au début de la floraison chez les deux plantes précédentes — au réveil de la végétation (1er avril) chez l'Iris Dorothée. Comment ne pas être frappé par cette différence fondamentale du groupe des plantes à quotient d'oxydation réversible positif, et d'une plante à quotient constamment nul: l'Iris précité? Chez le premier groupe nous constatons un maximum au début de la floraison, aussi bien dans la forme réduite que dans la forme oxydée, maximum que nous savons correspondre à un sommet dans l'intensité des échanges gazeux respiratoires; tandis que chez l'Iris, s'il y a bien concordance d'un maximum d'acide ascorbique réduit avec un premier sommet des échanges gazeux respiratoires, au réveil de la végétation, il n'y a pas trace d'un second maximum au moment de la floraison. Ce fait et celui de l'absence totale de forme oxydée permettant d'affirmer que le métabolisme de l'acide ascorbique est foncièrement différent chez les plantes du type Ribes-Hélianthus et chez les plantes du type Iris. Il est permis de penser que chez ce dernier type l'acide ascorbique n'a pas de rôle dans les phénomènes oxydo-réducteurs des feuilles de ces plantes, sans quoi l'on trouverait trace de sa forme oxydée. Au contraire, chez les plantes du premier groupe, si nous rapprochons la courbe représentative des variations saisonnières des deux formes de l'acide ascorbique, de celle des autres fonctions vitales de la plante, particulièrement des courbes représentatives des fonctions respiratoires (absorption d'oxygène) et d'assimilation chlorophyllienne (absorption du gaz carbonique) nous constatons une similitude suffisante pour qu'elle nous amène à penser que l'acide ascorbique a bien, chez ces plantes, un rôle actif de substance oxydo-réductrice dont l'activité se traduit par le quotient d'oxydation réversible.

L'hypothèse d'une migration des acides ascorbiques chez *Ribes Nigrum* dans le bois au moment de la chute des feuilles, est infirmée par le fait que le bois n'est pas plus riche en acide ascorbique sur l'arbrisseau feuillu ou l'arbrisseau dépouillé:

rameau au moment de son aoûtement	37/60 mg%
rameau après la chute des feuilles	35/55 mg%

§ 3. Influence de la pigmentation de la feuille.

Nous savons que dans la feuille jaune ou jaunissante, l'acide oxydé a disparu et l'acide réduit est en voie de disparition. La disparition de la chlorophylle au profit de la xanthophylle, fait partie des phénomènes de sénescence sur lesquels nous ne reviendrons pas. Tout différents dans leur processus d'apparition et leur conséquences sont les pigments anthocyaniques qui colorent les feuilles jeunes de certaines variétés ou les feuilles adultes de quelques autres généralement dénommées „rubra” ou „atro purpurea”. Des auteurs, parmi lesquels Huszak¹⁰⁾ ont pensé que les colorations brunes, rouges ou violettes qui caractérisent les organes d'un grand nombre de plantes sont dûes à une réduction des flavones par l'acide ascorbique avec formation de déhydroascorbique. Combes¹⁵⁾ et Willstätter²⁸⁾ ont en effet montré que l'on pouvait obtenir „in vitro” les anthocyanes par réduction des flavones au moyen d'hydrogène naissant. „In vivo” il est séduisant d'admettre que cette réduction s'opère par l'acide ascorbique qui céderait son hydrogène aux flavones, lesquelles donneraient ainsi naissance aux anthocyanes, tandis que lui-même serait oxydé en déhydroascorbique. La conséquence la plus immédiate d'une telle hypothèse est que les organes colorés par les pigments anthocyaniques doivent être particulièrement riches en acide ascorbique et surtout en déhydroascorbique.

C'est dans cette hypothèse que nous avons examiné quelques feuilles fortement colorées en rouge :

Iresine herbstii, var. *acuminata* {Amaranthacées). Ac. asc. 8 mg%
 {Amaranthacées). Ac. dehyd. 5,5 mg%

Si la proportion de forme oxydée est relativement forte par rapport à la forme réduite, le taux absolu des deux formes est dérisoire dans une feuille aussi violemment colorée que celle de cette Amaranthacée. Il est vrai que les dosages ont été faits fin Octobre, mais la plante était encore en pleine végétation.

Chez *Beta vulgaris*, var. rouge longue potagère, les feuilles entièrement pourpres contenaient fin Octobre également :

Ac. ascorb. 52,50 mg% — Ac. Déhydro. 10,30 mg% — Quot. d'O.R. 1/5 tandis que les feuilles d'une betterave abâtardie dont les nervures seules étaient colorées en rouge dosaient. . Ac. asc. 41,40 mg%.
 Ac. déhyd. néant.

S'il y a là une indication en faveur de l'hypothèse formulée plus haut, il faut remarquer que: 1°) dans les feuilles vertes, dépourvues totalement de forme oxydée, les anthocyanes n'étaient pas totalement absents, puisque les nervures étaient colorées.

2°) les facteurs génétiques différents des deux individus étudiés peuvent fort bien être responsables de la différence des taux d'acide ascorbique.

Les Cupuliféracées nous ont fourni deux autres sujets d'étude avec *Fagus sylvatica* et sa variété atropurpurea et *Corylus avellana* et sa variété rouge. Nous avons trouvé en Juillet, pour les limbes du hêtre à feuilles vertes: (40,6% de matière sèche):

Ac. ascorb. 147 mg% - Ac. déhydro. 24 mg% - Quot. d'ox. rév. 1/6 du hêtre pourpre: (44,44% de matière sèche):

Ac. ascorb. 149 mg% - Ac. déhydro. 24 mg% - Quot. d'ox. rév. 1/6 du noisetier à feuilles vertes (33,80% de matière sèche):

Ac. ascorb. 149 mgr% - Ac. déhydro. 24 mg% - Quot. d'ox. rév. 1/6 du noisetier rouge (27,90% de matière sèche):

Ac. ascorb. 172 mg% - Ac. déhydro. 13 mg% — Quot d'ox. rév. 1/13

Les indications de ces deux espèces de Cupuliféracées sont donc assez nettement contraires à l'hypothèse d'H u s z a k — mais on peut encore reprocher à ces deux observations de n'avoir pas tenu compte des facteurs génétiques forcément différents entre la variété commune et la variété pourpre. Aussi, pour éliminer l'influence possible d'un génôme différent, avons nous pris des feuilles vertes et des feuilles rouges sur un même pied de *Berberis vulgaris* — feuilles de mêmes dimensions, mais les vertes un peu plus jeunes que les rouges ainsi que l'indique le pourcentage de matière sèche:

	Pds frais	Pds sec	Matière sèche %	En mg% mat. fraîche		Quot. d'ox. rév.
				Ac. asc.	Ac. déhydr.	
feuilles rouges	0,380	0,1335	35,13	515	255	1/2
feuilles vertes	0,410	0,1325	32,31	650	475	2/3

Malgré la légère différence d'âge entre les deux sortes de feuilles, cette observation, jointe aux précédentes, semble bien trancher le débat dans un sens négatif. Cependant, nous avons fréquemment observé au cours de nos dosages qu'une légère teinte rose de nos extraits métaphosphoriques correspondait souvent à un quotient

d'oxydation réversible élevé. Si l'acide ascorbique n'est pas nécessaire à la formation des anthocyanes, par contre on peut penser que chez certains végétaux, les flavones sont nécessaires à l'oxydation de l'acide ascorbique.

§ 4. *Variation du taux d'acide ascorbique et du quotient d'oxydation réversible avec les espèces.*

C'est un point particulier du problème plus général des rapports de la systématique avec la physiologie. Si cette dernière a souvent ratifié les arrêts de la classification morphologique en confirmant l'identité des mécanismes physiologiques de deux variétés ou même de deux genres voisins, elle a parfois aussi fait apparaître des divergences fondamentales entre des individus qui semblaient par leurs formes extérieures extrêmement proches l'un de l'autre: c'est le cas de nos variétés de plantes de grande culture dont les unes résistent au froid ou à la sécheresse, ou aux maladies cryptogamiques, tandis que les autres y sont sensibles. Les différences physiologiques atteignent même parfois des variétés réputées parfaitement pures, c'est-à-dire parfaitement homogènes du point de vue morphologique et, semblait-il, du point de vue génétique; et qui se séparent soudain en groupes jouissant de propriétés diverses. Au sein des variétés dites pures, les sélectionneurs ont dû admettre l'existence de races physiologiques'' dans l'impossibilité où ils sont de distinguer ces races par un caractère morphologique. Nous ne devons pas nous attendre à moins de variabilité dans le taux d'une substance aussi labile que l'acide ascorbique et c'est bien en effet ce que confirme l'expérience des innombrables chercheurs qui se sont déjà penchés sur cette question. Nous n'avons voulu ici qu'apporter notre modeste pierre à l'édifice déjà considérable de la connaissance de la richesse des végétaux en acide ascorbique et à l'édifice naissant du quotient d'oxydation réversible.

Pour que les chiffres cités puissent avoir une valeur comparative il est nécessaire que l'analyse de la feuille saisisse la plante à un moment bien déterminé de son évolution annuelle. Nous nous sommes donc efforcé de faire nos dosages sur des plantes en fleurs, en prenant les feuilles du tiers supérieur de la tige. Dans le tableau ci-contre, qui groupe quelques uns de nos résultats, nous avons également indiqué le lieu et l'époque du prélèvement afin de circonscrire les conditions extérieures dont nous verrons toute l'importance

Familie	Plante	Lieu de récolte	Epoque	Etat de la végétation	En mg% de matière fraîche		Quotient d'ox. rév.
					As. ascorb.	Ac. déhydro.	
Renouclacées	<i>Ranunculus acris</i>	St. Cloud	Mai	floraison	73	19	92
Cruciféracées	<i>Cheiranthus cheiri</i>	St. Cloud	Avril	"	112	27	139
"	<i>Alliaria officinalis</i>	"	1er Mai	"	156	22	178
"	<i>Iberis sempervirens</i>	Paris	Novembre	ordinaire	283	31	314
"	<i>Brassica napus oleif.</i>	Paris	Novembre	ordinaire	112	10	122
"	<i>Brassica napus esculens</i>	St. Cloud	Avril	floraison	112	11	123
Papilionacées	<i>Sarothamnus scop.</i>	Paris	Fevrier	ordinaire	147	7	154
"	<i>Cytisus laburnum</i>	St. Cloud	1er Mai	floraison	239	05	364
"	<i>Lotus corniculatus</i>	Paris	Juillet	"	120	11	101
"	<i>Phaseolus vulgaris</i>	St. Cloud	Septemb.	"	110	38	140
"	<i>Sosa hispida</i> var.	Paris	Juillet	"	148	38	186
"	<i>Trifolium pratensis</i>	St. Cloud	Mai	"	168	100	268
"	<i>Pisum sativum</i>	St. Cloud	Mai	"	178	35	213
"	<i>Wistaria sinensis</i>	St. Cloud	"	"	370	33	403
"	<i>Albizia julibrisen</i>	Paris	fin Août	"	595	95	680
"	<i>Acacia penninervis</i>	en serre	Décembre	ordinaire	61	0	61
"	" <i>lentifolia</i>	"	"	"	51	0	51
"	" <i>senilis</i>	"	"	"	37	0	37
"	" <i>calimifolia</i>	"	"	"	50	0	50
Composacées	<i>Cynara cardunculus</i>	Orly	Décembre	Végét. hiv.	32	4,5	06,5
"	<i>scolymus</i>	"	Juin	floraison	72	24	96
"	<i>Matricaria chamomilla</i>	Paris	Décembre	floraison	56	5	61
"	<i>Calendula arvensis</i>	"	"	"	28	7	35
"	<i>Chrysanthemum</i> var. hort.	Paris	Novembre	"	31	31	62
"	<i>Artemisia</i> vulg.	"	Mai	ordinaire	19	26	45
"	"	Paris	Novembre	ordinaire	22	22	44
"	<i>Leontodon autumnalis</i>	Paris	Décembre	ordinaire	56	41	97
"	<i>Helianthus annuus</i>	St. Cloud	Août	gèle	20	5	25
"	<i>Solanum nigrum</i>	Paris	"	fin flor.	30	4	34
"	<i>tuberosus</i>	"	Septembre	"	60	2	60
Solanacées	<i>Ruscus aculeatus</i>	Paris	Fevrier	shivernal	140	8	148
Liliacées	" <i>hypoglossum</i>	"	"	"	126	0	126
"	" <i>racemosus</i>	"	"	"	126	0	126
Iridacées	<i>Iris</i> hybr. Dorot.	Paris	Mai	floraison	386	0	396
"	<i>Gladiolus</i> hybr.	St. Cloud	Juillet	"	478	19	497
Aroïdacées	<i>Arum dracunculoides</i>	Paris	Août	"	179	11	190
"	" <i>maculatum</i>	Angers	Mai	"	125	indosé	—
"	" <i>italicum</i>	Paris	Avril	"	130	13	143
"	<i>Richardia oethiopica</i>	Paris	Janvier	"	49	18	67
"	(inférieur)						3,6/10

dans un prochain chapitre. Malgré l'inévitable diversité des résultats entraînée par la diversité des circonstances écologiques et du milieu externe, les familles se résolvent en un certain nombre de groupes au sein desquels les espèces ou variétés qui les composent, se caractérisent non pas par un taux déterminé d'acide ascorbique: (ainsi chez les Cruciféracées, le groupe *Cheiranthus*, *Brassica* avec 112 mg%), mais par une tendance héréditaire à produire ou à accumuler une certaine quantité de vitamine C dans leurs tissus: c'est en un mot, un caractère fluctuant comme le sont tous les caractères placés sous la dépendance du milieu externe.

Chez les Papilionacées, le groupe *Lotus-Phaseolus-Soja* et *Trifolium* qui s'échelonne de 110 à 168 — puis le groupe exotique avec *Wistaria* et *Albizzia* qui va de 370 à 595. Le genre *Acacia* est à mettre à part, étant donné les conditions très particulières de sa végétation dans une serre, en plein hiver, lorsqu'ont été faits nos dosages.

S'il est permis de parler de groupes plus ou moins homogènes en ce qui concerne la teneur des végétaux en acide ascorbique, il semble par contre tout-à-fait impossible de faire la même classification en ce qui concerne l'acide déhydroascorbique, et par voie de conséquence, le quotient d'oxydation réversible.

Est-ce à dire qu'il y ait opposition entre les deux formes ascorbiques? Nous ne le pensons pas. Leur taux dans les tissus de la plante sont tous deux des caractères fluctuants soumis aux influences extérieures. Mais l'amplitude des variations du second, beaucoup plus considérables que celles du premier, ne nous permet pas encore de grouper les plantes autour d'un taux moyen de forme oxydée. Cependant, au chimisme particulier de chaque espèce ou variété doit correspondre la faculté de former, conserver ou accumuler une quantité fixe d'acide déhydroascorbique dans des circonstances déterminées.

Nous estimons probable la concordance du groupement des espèces réalisé suivant ces données avec celui que nous avons pu établir suivant le taux de l'acide ascorbique.

CHAPITRE II

LE SYSTÈME ASCORBIQUE CHEZ LES PIÈCES FLORALES

Connaissances antérieurement acquises.

Résultant d'une modification morphologique de la feuille, les pétales et sépales nous offrent d'une manière générale, un exemple de

l'influence des couleurs ou de l'albinisme sur le taux d'acide ascorbique et le quotient d'oxydation réversible que nous avons déjà noté en étudiant la feuille proprement dite. Mais il s'y ajoute l'action particulière des fonctions de reproduction qui sont dévolues à l'ensemble floral. Ainsi Mme S o s a- B o u r d o u i l²¹⁾ a montré comment varie l'acide réduit avec l'ouverture des pièces florales et la fécondation chez *Iberis sempervirens*, *Matthiola fenestralis*, *Iris germanica* et *orientalis*. Elle a mis en évidence:

1°) une chute brusque du taux d'acide ascorbique chez les étamines au moment de la maturation du pollen;

2°) l'absence à peu près complète d'acide réduit dans le pollen mûr

3°) une chute brusque dans l'ovaire de l'Iris au moment de l'ouverture des étamines, chute suivie d'un accroissement non moins brusque au moment de l'ouverture des stigmates. Ensuite, suivant que l'on considère la quantité d'acide ascorbique par ovaire ou le taux pour 100 de matière fraîche, il y a accroissement régulier dans le premier cas, ou légère diminution du taux envisagé dans le second.

§ 5. Les Iris.

Étudiant divers Iris, nous avons pour notre part, trouvé les chiffres suivants, par la méthode à l'indophénol. En mg pour 100 gr de tissus frais:

Iris hybride des jardins, var. Dorothée — fleur bien épanouie — étamines ouvertes.

	Poids de d'organe	Ac. ascor.	Ac. déhydro.	Quot. d'O. R.
Sépales	0,850	257	0	0
Pétales	0,828	234	0	0
Styles et stigmates . .	0,250	143	0	0
Ovaire	0,600	218	22	1/10

d'autre part, étudiant le taux de vitamine C au cours de l'évolution de l'ovaire de ce même Iris et par la même méthode, nous avons trouvé les résultats suivants:

Stade floral	Poids de l'ovaire	Ac. ascor.	Ac. déhydro.	Quot. d'O. R.
Fleur fermée	0,408	226	42	1/5
Fleur ouverte depuis peu	0,500	179	33	1/5
Étamines ouvertes. . .	0,550	196	54	1/4
Stigmates ouverts. . .	0,600	218	22	1/10

Mais chez cet hybride, la fécondation est plus ou moins bonne; le plus souvent, le fruit avorte, la graine ne se forme pas, parce que les chromosomes du pollen et de l'ovule n'ont pu s'apparier. Aussi avons nous étudié l'ovaire de deux espèces pures et fécondes:

Iris pallida et *Iris germanica*.

Stade floral	<i>Iris Germanica</i>				<i>Iris Pallida</i>			
	Poids de l'ovaire	Ac. as.	Ac. déh.	Quot. d'ox. rév.	Poids de l'ovaire	As. as.	Ac. déh.	Q. d'ox. rév.
1) bouton fermé	0,212	353	12	1/30	0,285	262	14	1/19
2) étamines ouvertes	0,480	280	24	1/12	0,331	396	14	1/28
3) stigmates fécondés	0,751	308	11	1/30	0,362	168	62	1/3

Dans les ovaires de ces deux *Iris*, ou bien le chimisme ascorbique est foncièrement différent, ou bien: Chez *Pallida*, les phénomènes sont plus longs à se produire que chez *Germanica*: les stades floraux ne se correspondent pas ou se correspondent avec un certain décalage dans le temps: 2 et 3 chez *Pallida* étant l'équivalent de 1 et 2 chez *Germanica*. Pour permettre la comparaison des parties sexuées et non sexuées, nous avons fait le dosage du tronçon de la hampe florale situé juste au-dessous de la première ramification de la grappe.

	<i>Iris Germanica</i> (des st. 1 et 3)			<i>Iris Pallida</i> (des st. 2 et 3)		
	As. asc.	Ac. déh.	Quot. d'O. R.	As. asc.	Ac. déh.	Quot. d'ox. rév.
Hampe florale	582	22	1/26	162	8	1/20
Bractée	448	12	1/37			

Chez les *Iris*, il existe donc de grandes différences variétales tant au point de vue de la teneur absolue en acide ascorbique qu'au point de vue des variations de celui-ci au cours de l'évolution de la fleur et de la fécondation. En outre, tandis que les pétales et les sépales se rapprochent des feuilles par leur quotient d'oxydation réversible, nul, les bractées de la grappe forment transition entre les feuilles et les ovaires. Ceux-ci se rapprochent à leur tour des axes floraux qui les portent et qui, chez *Germanica* sont nettement plus riches qu'eux en acide réduit.

§ 6. *Les Arum*.

Un autre exemple des variations du taux d'acide ascorbique sous

ses deux formes en corrélation avec l'évolution florale nous est fourni par l'étude d'*Arum dracuncululus* L. dont la curieuse inflorescence se prête assez bien à l'étude qui nous occupe dans chacun des ensembles fonctionnels.

Nous avons en outre cherché à déterminer s'il existait ou non une corrélation entre les variations du taux d'acide ascorbique et celles de la température de ces inflorescences: variations minutieusement décrites par Garreau en 1851, puis par Senebier, Goeffert et Brougniart et reprises par L. Blaringhem³⁾ dans sa belle étude sur la fièvre des Arum où il démontre que le maximum de température qui a lieu dans la région des fleurs mâles, correspond à une quantité considérable d'oxygène consommé.

Les dosages d'acide ascorbique ont été faits par la méthode au bleu de méthylène, la mesure des températures par un couple thermo électrique monté en aiguille très fine que l'on pique au sein des tissus étudiés. Le couple est relié à un galvanomètre très sensible, gradué directement en degrés centigrades. La température du sol est prise pour zéro.

Voici comme premier exemple, une inflorescence dont la spathe n'est pas encore ouverte: l'androcée a tout son pollen:

Pièce florale	En mg% de matière fraîche			Temp. relative
	Ac. asc.	Ac. déh.	Quot. d'ox. rév.	
Spadice	133	4	1/35	-4°
Androcée	75	30	1/2,5	-3°
Partie interm. à poils glandulaires	68	24	1/3	-3°
Gynécée.	53	24	1/2	-3°
Axe floral	30	2	1/15	+3°
Spathe	39	3	1/12	+1°
Bulbe	7	0	0	+1°

d'après ce tableau, il est difficile à ce stade floral de reconnaître une corrélation quelconque entre la température et les données des trois autres colonnes. Plus intéressant est le tableau suivant concernant des fleurs plus âgées:

Pièce florale	As. asc.	Ac. déh.	Quot. d'ox. rév.	Température
Androcée avant l'ouv. des anthères	28	6	1/5	0
Androcée au moment de l'ouv. des anth.	23	10	1/2	+12°
Androcée qqs. heures après (16 h)	24	8	1/3	+2°
Partie interméd. à 16 heures	43	13	1/3	+6°
Gynécée au moment de la fécondation	28	6	1/5	+3°
Spadice même heure	89	14	1/6	+1°
Gynécée 48 h après	34	5	1/7	0
Spadice même heure	10	0	0	0

Le maximum de température +12° est atteint dans l'androcée au moment où le quotient d'oxydation réversible atteint sa valeur maxima, voisine de 1/2. Toutefois, si l'oxydation réversible de l'acide ascorbique peut avoir une part dans l'élévation de la température de cet organe, elle n'est pas seule en jeu. puisque le tableau précédent nous a montré une valeur très voisine du quotient d'oxydation réversible en l'absence de température positive. La migration intense de l'acide ascorbique du spadice vers le gynécée est d'ailleurs de nature à troubler l'observation du phénomène qui nous intéresse. A décroissance régulière du taux d'acide ascorbique que l'on observe sur l'inflorescence non épanouie, depuis l'extrémité du spadice jusqu'au bulbe, les phénomènes sexuels substituent un ordre inverse, avec minimum dans le spadice en voie de flétrissement et maximum dans le gynécée en train de développer ses fruits.

Toutefois, avant d'arriver à ce stade, 24 heures environ après l'ouverture des anthères, les taux d'acide oxydé et réduit tout le long de l'inflorescence sont les suivants :

Pièce florale	Ac. ascorb.	Ac. déhydro.	Quot. d'ox. rév.
Spadice	70	8	1/9
Androcées	24	8	1/3
Axe interméd.	30	11	1/3
Gynécée	25	13	1/3
Spathe	36	3	1/8

Avant de quitter les Monocotylédones, signalons encore les chiffres trouvés par la méthode à l'indophénol sur deux Aroïdés, prélevées dans les serres du Muséum :

	As. ascorb.	Ac. déhyd.	Quot. d'ox. rév.
1°) <i>Anthurium splendens</i>			
parties ♂ et ♀ de l'inflorescence	40	22	1/2
Spathe	20	25	1
2°) <i>Philodendron giganteum</i>			
fleurs mâles	14	0	0
fleurs femelles	22	0	0

Ces deux inflorescences sont donc aux deux pôles de la famille des Aroïdés en ce qui concerne la valeur du quotient d'oxydation réversible: valeur nulle pour *Philodendron*, très élevée pour *Anthurium* — mais étant donné d'une part la difficulté que l'on éprouve à caractériser exactement un stade floral — et d'autre part, l'extrême variabilité des taux ascorbiques avec l'évolution de la fleur les chiffres précédents peuvent n'être que l'expression d'un stade floral différent.

Conclusions.

Chaque espèce végétale a un type de variation qui lui est propre, mais dans lequel on retrouve les traits essentiels suivants :

1°) décroissance régulière de l'acide ascorbique dans les pétales et les sépales pétalloïdes, depuis la formation du bouton, jusqu'au flétrissement final.

2°) décroissance chez les étamines, avec chute plus ou moins accentuée au moment de l'ouverture des anthères, cependant que la forme oxydée augmente.

3°) deux maxima de la forme réduite chez l'ovaire accompagnant ou suivant de près deux maxima de la forme oxydée et du quotient d'oxydation réversible. Ces variations semblent être en rapport assez étroit avec les variations de l'intensité respiratoire des diverses pièces florales.

CHAPITRE III

LE SYSTÈME ASCORBIQUE CHEZ LES FRUITS

En raison de leur valeur alimentaire, les fruits ont donné lieu à de très nombreuses recherches.

§ 7. *Les fruits sucrés.*

Un de ceux qui a été le plus universellement étudié est la tomate sur laquelle se sont penchés plusieurs auteurs.

Tous sont arrivés à des conclusions identiques à savoir : que la teneur du fruit en acide ascorbique augmente régulièrement du fruit vert et dur au fruit rouge et mûr,

dans un même fruit, irrégulièrement mûr et pigmenté, ce sont les parties les plus rouges qui sont les plus riches en vitamine C.

D'après W o k e s et O r g a n ²⁰⁾ c'est l'épiderme du fruit qui serait le mieux pourvu, aussi bien dans le fruit mûr que dans le fruit vert. Ensuite, d'après P i e g a i et D e l i n d a t i ²¹⁾, viendrait le liquide mucilagineux dans lequel baigne les graines, de 26 à 132 mg pour 100; puis la pulpe solide, de 22 à 23 mg % : enfin les graines qui ne contiennent plus que des traces d'acide réduit.

Les variations du taux d'acide ascorbique de la tomate sont donc maintenant bien étudiées mais celles de la forme oxydée le sont beaucoup moins. Aussi avons nous sommairement essayé d'y remédier car, outre l'intérêt général que nous avons attaché à la connaissance de l'évolution concomitante des deux formes, nous nous sommes posé la question de savoir si l'on peut établir une corrélation entre le changement de pigmentation du fruit

au moment de sa maturation et les variations des deux formes, une absence totale de corrélation ayant été notre conclusion vis-à-vis du système foliaire.

a) Le système ascorbique et les changements de pigmentation du fruit.

Le rougissement de la tomate a été expliqué par une altération de la chlorophylle, par les enzymes oxydants (Willstätter) avec formation de lycopène et de lycopénoïdes. Ce phénomène ne se produirait pas seulement dans le fruit mûrissant, mais également dans le fruit jeune et complètement vert: mais, tandis que chez ce dernier, une peroxydase détruit le lycopène au fur et à mesure de sa formation, dans le fruit mûrissant, une antioxydase permet l'accumulation des pigments rouges. Ceux ci résulteraient donc d'une oxydation freinée à un certain stade. Or nos recherches nous ont montré: que l'acide déhydroascorbique existait normalement chez deux variétés de tomates et qu'il y avait une tendance à l'augmentation du quotient d'oxydation réversible à partir du début du rougissement du fruit:

		Ac. ascorb.	Ac. déhydro.	Q. d'ox. rév.
Tomate „Rouge grosse lisse”	{ verte	21	15	3/4
	{ route	18	14	7/9
Cerise rouge	{ verte	13,3	3,8	1/4
	{ rouge	23,2	6,4	1/4

Mais ces chiffres, outre qu'ils sont peu probants par eux-mêmes, le sont encore moins si l'on considère qu'ils ont été obtenus sur des fruits différents, n'appartenant pas à la même grappe (cerise rouge) ou qui plus est, récoltés à des dates différentes (rouge grosse) entre lesquelles des changements de température et d'éclaircissement se sont produits. Beaucoup plus significatifs sont les chiffres obtenus sur un fruit voisin de la tomate, celui du piment doux d'Espagne, où les deux teintes existant sur un même fruit, nous ont permis une comparaison plus exacte des teneurs en vitamine C de ces deux zones.

Piment doux d'Espagne		As. ascorb.	Ac. déhydro.	Mat. Sèche
Région du pédoncule	{ péricarpe vert	140 mg%	0 mg%	11%
	{ „ rouge	186 „	10 „	11%
Région de la pointe	{ „ vert	186 „	0 „	11%
	{ „ rouge	207 „	22 „	11%

Nous constatons donc:

- 1°) un enrichissement du péricarpe en vitamine C depuis la base du fruit (région voisine du pédoncule) jusqu'à la pointe.
- 2°) un accroissement très net de l'acide réduit dans les zones rouges
- 3°) l'apparition de la forme oxydée dans les zones rouges alors

qu'elle était absente des zones chlorophylliennes. Mais le fruit ci-dessus analysé, avait rougi à la lumière et température du laboratoire, séparé de son pied-mère — le pédoncule trempant dans l'eau de source. Il fallait s'assurer que ces conditions artificielles n'avaient pas d'influence perturbatrice sur le taux de vitamine C. C'est ce que nous avons fait en dosant, huit jours auparavant, au moment de la mise en route de l'essai de maturation, un fruit complètement vert, analogue à celui qui allait mûrir. L'absence de forme oxydée et des doses de forme réduite, tout à fait voisines de celles trouvées ci-dessus dans les régions vertes, nous permettent de penser que les conditions de conservation et de maturation artificielles n'ont pas eu d'influence perturbatrice sur le phénomène étudié.

Un autre genre de Solanées, voisin des deux précédents, *Solanum pseudo-capsicum*, nous a également fourni un exemple de l'augmentation des deux formes ascorbiques dans le fruit rouge :

		As. ascorb.	Ac. déhydro.
<i>Solanum pseudo-capsicum</i>	fruit vert . . .	19 mg%	2 mg%
	„ jaune. . .	22 „	3 „
	„ rouge. . .	26 „	6 „

Barker et Parkinson³²⁾ étudiant à maturité un certain nombre de variétés de tomates, y ont trouvé des doses variables mais très notables d'acide déhydroascorbique.

L'étude de la pulpe du fruit de *Rosa canina*, nous apporte un aspect nouveau de la question, qui nous a manqué jusqu'ici; peut-être parce que l'étude des autres fruits n'a pas été poussée jusqu'à son terme extrême, et qui est celui-ci: la disparition totale de la forme oxydée dans le fruit complètement rouge; mais encore ferme et dur, et la diminution de la forme réduite dans le fruit parfaitement mûr où l'amidon a fait place à des sucres. Notons, en passant l'extraordinaire richesse de ces fruits d'églantiers, déjà signalée par T. Sabalitschka et H. Michels²³⁾.

Mais voyons plutôt les chiffres — par la méthode au bleu de méthylène.

	Pois frais	% de mat. sèche	Ac. ascor.	Ac. déhyd.	Quot. d'ox. rév.
Fruit parfait, vert . . .	0,150 g	36,30	1736 mg%	82 mg%	1/21
„ jaune rougis. . .	0,155 g	36,80	1900 mg%	296 mg%	1/6
„ parfait, rouge et dur	0,342 g	38,20	1956 mg%	0	0
„ parfait/mûr, rouge et mou	0,344 g	46,00	1260 mg%	0	0

L'oxydation réversible est donc maxima dans le fruit jaune rougissant, mais devient nulle dans le fruit complètement rouge où la forme réduite est à son maximum; il serait donc nécessaire de faire l'analyse chromatographique rigoureuse de chacun des stades étudiés, afin de déterminer aussi exactement que possible la transformation pigmentaire qui correspond à cette oxydation; cette transformation semblant à priori, se situer à la hauteur des pigments xanthophylliens-caroténiens, beaucoup plus que dans la formation des pigments anthocyaniques, ce qui expliquerait l'absence de corrélation constatée à propos des feuilles. Il est vrai que les circonstances atmosphériques particulières du milieu de Décembre, époque à laquelle ont été faits ces dosages, peuvent très bien troubler l'observation exacte des phénomènes oxydatifs en favorisant par le froid, l'accumulation de quantités importantes d'acide ascorbique.

Peut-on concevoir une liaison entre les deux phénomènes: changement de pigmentation du fruit et oxydation de la vitamine C que les exemples précédents nous ont montré en corrélation. Nous sommes réduits à des hypothèses, mais l'une des plus vraisemblables si l'on admet la théorie de Willstätter, est que l'acide ascorbique sert d'antioxydant au lycopène et aux lycopénoïdes qu'il protège de leur destruction. Il serait à lui, seul, ou pour partie, l'antioxydase entrevue par cet auteur.

b) *Maturation de la pulpe d'une cerise de Montmorency*: les fruits ont été cueillis sur une même branche au fur et à mesure des besoins analytiques: (dosages faits au dichlorophénol indophénol).

		En mg% de matière fraîche	
20 Mai	fruit vert (1 g 50)	Ac. ascorbique = 5	Ac. déhydro. = 3
9 Juin	fruit jaune (3 g 98)	„ 9	„ 7
„	fruit rouge (4 g 06)	„ 10	„ 10

Il y a donc, comme chez les Solanées étudiées plus haut, augmentation constante de l'acide ascorbique et du quotient d'oxydation réversible qui devient égal à l'unité dans le fruit rouge. Le rougissement de la cerise a été particulièrement étudié par O'baton²⁶; il a montré qu'il se produisait moins sous l'influence de la lumière que de la chaleur. Aussi avons nous fait l'essai suivant: nous avons prélevé sur un cerisier de Montmorency, trois branches aussi sem-

blables que possibles et semblablement exposées toutes trois portant une dizaine de fruits jaunes sur le point de mûrir, c'est à dire de tourner au rouge.

Nous avons dosé par le bleu de méthylène la vitamine C des fruits de la 1ère branche, ainsi que la matière sèche de la pulpe: c'est notre témoin de départ ou témoin No. 1.

La seconde branche a été mise à tremper par son extrémité inférieure dans un vase contenant de l'eau de source et laissée dans le laboratoire à la température de 16-18°. C'est notre témoin proprement dit ou témoin No. 2.

La troisième branche, trempant également dans l'eau de source, fut placée dans une étuve vitrée maintenue à la température de 35°. Au bout de 48 heures, les fruits avaient pris une teinte légèrement brunâtre mais n'avaient pas sensiblement rougi. Ils furent alors analysés avec ceux de la branche No. 2. Outre les deux formes ascorbiques et la matière sèche, nous avons dosé l'acidité totale et les sucres réducteurs par la liqueur de Fehling (mg % de tissus frais):

	Mat. sèche	Ac. asc.	Ac. déhyd.	Quot. d'ox. rév.	Ac. totale	Sucres réduct.
Branche No. 1	10,50	7,84	3,08	1/2,5	—	—
Branche No. 2	10,00	7,75	3,10	1/2,5	125 cc N/10	9,04
Branche No. 3	7,10	4,30	7,40	4/2,5	80 „	6,13

Comme pour le piment, le fait d'être coupé de la branche-mère et de tremper dans l'eau de source à la température de 16-18° n'a pas apporté de changement notable dans le taux de vitamine C des fruits de cette branche, puisque 1 et 2 sont identiques aux erreurs d'expérience près.

L'élévation de température subis par les fruits a eu pour corollaire une diminution importance de la matière sèche, résultant de la consommation des sucres et des acides organiques, ce qui est la conséquence normale d'une augmentation des échanges respiratoires. Ce sont là des phénomènes bien connus sur lesquels il est inutile de nous étendre: mais l'élément nouveau de ces déterminations, c'est la variation inverse des deux formes d'acide ascorbique et la brusque élévation du quotient d'oxydation réversible qui apparaît ici comme le traducteur fidèle de l'activité oxydo-réductrice de la vitamine C dans le fruit.

Si nous pouvons tirer de cet essai d'utiles renseignements sur la

corrélation existant entre les phénomènes respiratoires et l'acide ascorbique, nous ne pouvons pas en déduire la moindre conclusion quant à la liaison possible des variations de ce corps avec le rougissement des cerises.

c) Les agrumes ont fait l'objet d'un grand nombre de travaux. Nous avons pour notre part, étudié quelques pepins d'agrumes dont voici les teneurs obtenues par la méthode à l'indophénol. En mgr% de substance fraîche:

	As. ascorb.	Ac. déhydro.	Total	Quot. d'ox. rév.
Citrons	44 mg	12 mg	56 mg	1/4
Oranges douces	22 „	22 „	44 „	1
Mandarines	8 „	8 „	16 „	1
Pamplemousses	8 „	14 „	22 „	1,5

Les pépins de ces fruits qui en constituent la graine proprement dite sont donc encore très bien pourvus en vitamine C à l'époque de la pleine maturité du fruit; et non seulement celle-ci s'y trouve sous sa forme réduite, mais encore sous sa forme oxydée, dans des proportions telles que le quotient d'oxydation réversible est égal ou supérieur à l'unité.

§ 8. *Un fruit à graines amylacées.*

Sur *Phaseolus vulgaris*, var. Métis nain — nous avons étudié la formation de la gousse et du grain. La gousse très jeune, pesant à peine 4 g et dans laquelle les grains ne sont qu'à l'état embryonnaire: dose (méthode à l'indophénol): Ac. ascorb. 15 mg% — ac. déhydro. 3 mg%. Huit jours plus tard, les grains sont toujours à peine développés: ils ne dépassent pas la grosseur d'une grosse tête d'épingle: la gousse pèse 7 g. Ac. ascorb. 22 mg% Ac. déhydro. 6 mg%.

Dans une gousse plus âgée, où les grains sont nettement formés, la part qui revient à chacun est la suivante:

Gousse 6 g 500 — Ac. ascorb. 71 mg% — Ac. déhydro. 17 mg%
 Grains: 2 g 700 — Ac. „ 100 mg% — Ac. „ 0

Dans une gousse plus âgée, encore, et qui commence à jaunir, les chiffres deviennent:

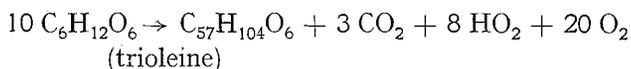
Gousse: 5 g 500 — Ac. ascorb. 50 mg% — Ac. déhydro. 2 mgr%
 Grains: 6 g 800 — Ac. „ 20 „ — Ac. „ 0

La gousse passe donc par un maximum ascorbique (aussi bien

forme oxydée que forme réduite) au moment du plein développement du grain, alors que sa croissance propre atteint son maximum. Il nous manque, malheureusement le poids sec de chacun des constituants qui seul nous aurait permis de fixer avec exactitude le stade évolutif de chacun des échantillons.

§ 9. *Les fruits oléagineux.*

Cette sorte de fruits a retenu notre attention, à cause de la genèse des substances grasses qui se forment à partir des oses par réductions successives se résumant dans le schéma très simplifié suivant:



Il y avait donc là un domaine d'action possible pour l'acide ascorbique et c'est ce point particulier que nous avons tenté d'éclaircir.

Prenons le capitule d'*Hélianthus a.* en pleine floraison: des rangs du centre à ceux du pourtour, les formes ascorbiques varient comme suit dans les ovaires:

Centre:	As. ascorb.	18 mg%	Ac. déhydro.	23 mg%	
Milieu:	„ „	25 „ „	„ „	18 „	
Pourtour:	„ „	13 „ „	„ „	15 „	

Huit jours après la fin de la floraison des fleurs centrales les doses sont le suivantes:

	Pds frais.	% de mat. sèche	Ac. ascorb.	Ac. déhyd.	Q. d'ox. rév.
Le 26 Juillet					
Centre . . .	0,064 g.	16,77	7,2	5,6	3/4
Milieu . . .	0,128 g.	17,54	7,2	4,0	1/2
Pourtour . .	0,152 g.	20,30	6,8	3,2	1/2
Le 2 Août					
Pourtour . .	0,185 g.	20,80	2,7	16,0	6

Jusqu'à cette dernière date, il est impossible de séparer les téguments de l'amande qui n'est encore qu'un sac embryonnaire minuscule et excessivement fragile, mais le 16 Août on peut traiter à part les deux tissus; il n'y a pas trace de matière grasse dans l'amande.

	Pds frais.	% de mat. sèche	Ac. ascorb.	Ac. déhyd.	Q. d'ox. rév.
Le 6 Août					
Amande . . .	0,060 g.	23,0	1,8	0	0
Téguments . .	0,134 g.	25,5	5,4	8,3	≤ 1,5

Le 12 Août les matières grasses apparaissent dans l'amande ; mais encore en très faible quantité: 0.12%.

	Pds frais.	% de mat. sèche	Ac. ascorb.	Ac. déhyd.	Q. d'ox. rév.
Le 12 Août					
Amande	0,080 g	28	2,2	1,1	1/2
Téguments	0,100 g	40	5,6	2,8	1/2

Enfin le 18 Août la graine est presque mûre, le taux de matières grasses dans l'amande est important: 21%.

	Pds frais.	% de mat. sèche	Ac. ascorb.	Ac. déhyd.	
Le 18 Août					
Amande	0,220 g	35	2,5	0,2	
Téguments	0,080 g	50	0	0	

Deux mois après la récolte dans une graine analysée au mois de Novembre, les chiffres sont les suivants:

	Pds frais.	% de mat. sèche	Ac. ascorb.	Ac. déhyd.	
Le 13 Août					
Amande			2,5	1,1	
Téguments			0	0	

Au cours de l'évolution de cette graine, l'acide ascorbique qu'elle contient a bien été l'objet d'une oxydation très intense, mais celle-ci s'est produite un peu avant l'apparition des matières grasses dans l'amande, et s'est surtout maintenue ensuite dans les téguments. Donc, à moins que l'on ne démontre un jour que la lipogénèse a lieu dans les téguments, et que, de là, les matières grasses formées émigrent rapidement vers l'amande; il est impossible de voir une liaison entre la lipogénèse et l'oxydation réversible ascorbique. Cette manière de voir est d'ailleurs confirmée par l'étude de l'olive et du pavot

Le 16 Juillet — très jeune capsule de pavot — les graines très molles et très tendres ne laissent aucune tache grasse sur le papier: (par le bleu de méthylène).

	Mat. sèche	Ac. ascorb.	Ac. déhyd.	Q. d'ox. rév.
Graines.	11,50%	34,4 mg%	12 mg%	1/3
Capsule	24,20%	58,8 mg%	18,6%	1/3

Le 26 Juillet — capsule un peu plus âgée — mais les graines ne laissent encore aucune tache grasse bien caractéristique sur le papier

	Mat. sèche	Ac. ascorb.	Ac. déhyd.	Quot. d'ox. rév.
Graines	28,70%	34,4 mg%	8 mg%	1/4
Capsules	42,50%	48,1 mg%	15 mg%	1/3

A cette même date une capsule plus avancée :

	Mat. sèche	Ac. ascorb.	Ac. déhyd.	Quot. d'ox. rév.
Graines	34,40%	42,2 mg%	6,2 mg%	1/7

Le 5 Août — une capsule encore verte, mais en voie de dessèchement, les graines laissent, cette fois, une tache grasse bien caractéristique sur le papier :

	Mat. sèche	Ac. ascorb.	Ac. déhydr.	
Graines	53,0%	9 mg%	0 mg%	

Nous n'avons malheureusement pas eu le temps de faire des dosages des matières grasses des graines étudiées ci-dessus et nous avons dû nous contenter du test bien approximatif de la tache grasse sur le papier. Il est certain cependant que la lipogénèse débute très tôt, bien avant que la graine écrasée ne fasse une tache lipidique. Mais en admettant qu'elle soit déjà active à l'époque de nos premières analyses et que ce soit là une raison possible pour expliquer la valeur relativement élevée du quotient d'oxydation réversible, comment invoquer la même raison pour les parois de la capsule qui ont sensiblement même valeur pour leur quotient ? Il est plus vraisemblable de penser qu'un même phénomène se déroulant à la fois dans les graines et dans les parois de la capsule, imprime une même valeur à leur quotient respectif.

Chez le péricarpe d'un fruit oléagineux comme l'olive dont la maturité a été ainsi décrite par Molliard¹⁸⁾ : „vers le 15 Août, alors que le noyau présente un poids de 170 à 400 mg la teneur en huile est de 4 à 15% ; à la fin d'Août commence une 2ème période caractérisée par un accroissement rapide : elle se termine vers le début d'Octobre — la teneur en huile est alors de 30 à 62% dans

une 3ème période qui s'étend jusqu'au 15 Novembre, on observe une légère diminution du taux de l'huile qui peut s'abaisser à 50%''.

10 Août: Ac. ascorb. 53 mg% Ac. déhydro. 8 mgr% de substance fraîche

28 Sept.: Ac. ascorb. 30 mg% Ac. déhydro. 6 mgr% de substance fraîche

1er Décembre: olive commençant à noircir:

Ac. ascorb. 38 mg% Ac. déhydro. 4 mg% de substance fraîche

olive noire: Ac. ascorb. 16mg% Ac. déhydro. 0 mg% de substance fraîche

Il apparait donc pour tous les fruits ou graines oléagineux étudiés ci-dessus que:

1°) au fur et à mesure que les oses disparaissent pour faire place aux matières grasses, le taux d'acide ascorbique diminue.

2°) que le quotient d'oxydation réversible conserve une valeur sensiblement égale jusqu'à une phase avancée de la maturation et qu'il devient très faible ou nul à la maturité complète. Il est donc à rapprocher beaucoup plus des phénomènes respiratoires que de ceux de la lipogénèse.

Conclusions.

Les fruits sont des organes souvent assez riches en acide ascorbique; mais leur teneur va en diminuant de la périphérie au centre du fruit (abords du noyau).

Elle augmente en valeur absolue et relative dans un fruit du début à la fin de la formation de celui-ci.

Les recherches que nous avons entreprises ont mis en évidence une certaine corrélation entre les variations du quotient d'oxydation réversible et certains changements de pigmentation des fruits qui approchent de leur maturité.

Elles n'ont pas réussi, par contre à faire apparaître la moindre corrélation entre ce quotient et la lipogénèse; si celle-ci a bien lieu „in situ" dans la graine et non dans les téguments de la graine ou du fruit comme il apparait logique de le penser.

Le quotient d'oxydation réversible semble donner une idée plus exacte du rôle respiratoire de l'acide ascorbique que le seul dosage de la forme réduite et la constatation d'un stock plus ou moins important de cette forme dans le fruit.

CHAPITRE IV

INFLUENCE DES CONDITIONS EXTÉRIEURES SUR LA TENEUR DES VÉGÉ-
TAUX EN VITAMINE C

Nous distinguerons les conditions de nutrition de la plante et les conditions écologiques ou climatiques.

§ 9. *Nutrition de la plante.*

Influence des substances minérales: Bien que n'ayant apporté aucune contribution personnelle à cette question qui a déjà fait l'objet de multiples recherches, nous avons fait l'exposé bibliographique rapide de ce chapitre qui apporte des données importantes à la conception du rôle général de l'acide ascorbique.

a) Influence des sels azotés (nitrates ou sels d'ammonium).

L'azote est un des éléments principaux de la nutrition minérale de la plante, généralement apporté aux végétaux cultivées par les engrais azotés; aussi est-ce un des éléments minéraux qui a été le plus étudié par un grand nombre de chercheurs.

En dernier lieu: *Borje Aberg* et *Ivar Ekdahl*¹⁴⁾ trouvent que l'acide ascorbique pour 100 de matière fraîche passe par un minimum avec les faibles fumures azotées; mais ils notent une certaine corrélation positive entre la teneur en acide ascorbique et la matière sèche des feuilles

Sur les tomates les essais des deux auteurs précités montrent un accroissement de l'acide réduit dans les feuilles des plantes jeunes sous l'influence de la fumure azotée, et une réduction qui peut aller du double au simple chez les feuilles des plantes plus âgées cultivées en serre, d'Octobre à Février. En été, ce sont les doses les plus élevées qui provoquent la plus grande concentration en acide ascorbique dans les feuilles et les fruits. Il apparaît alors qu'une même dose d'azote, nuisible à la plante lorsque l'éclaircissement est insuffisant, lui devient profitable lorsque celui-ci redevient normal pour la plante. Dans le 1er cas, cette dose provoque une baisse de l'acide ascorbique; dans le 2ème cas, une élévation. La concentration ascorbique dans les tissus serait en rapport avec la vigueur et l'équilibre végétatif de la tomate. *B. Aberg* et *I. Ekdahl* s'appuyant sur les remarques précédentes, émettent l'hypothèse que l'acide ascorbique est un facteur de croissance.

L'action de l'azote ammoniacal a été étudiée en détail par *L. W. Mason* et *Z. M. Cruickshand*¹⁵⁾ sur les jeunes plantes de cresson: avec les plus hautes concentrations (0,1 m) l'effet dépressif du sulfate d'ammoniaque fut considérable et se marqua aussi bien sur la croissance de la plantule que sur le taux relatif d'acide ascorbique dans les tissus frais. Avec des doses plus réduites (0,02 m) la croissance fut normale mais le taux de vitamine C fut néanmoins très réduit. Il n'y a donc pas de corrélation posi-

tive entre la réduction de la croissance et la réduction du taux ascorbique.

Si l'on en juge par le tableau ci-dessous donné par M a p s o n et C r u i c k s h a n d, l'acide déhydroascorbique est moins influencé que la forme réduite par l'azote ammoniacal.

Solution nutritive	Durée de l'expérience en heures	Acide ascor.		Acide déhydro.		Acide total	
		Concent. en mg/g	Total produit par 100 feuilles	Concent. en mg/g	Total produit par 100 feuilles	Concent. en mg/g	Total produit par 100 feuilles
Eau distil . . .	90	0,485	0,86	0,08	0,14	0,55	1,0
E.D. + 0,02 m .	90	0,215	0,35	0,085	0,13	0,30	0,48
Sol. nutrit. . . .	90	0,365	0,77	0,051	0,105	0,47	0,87
S.N. + 0,02 m .	90	0,145	0,28	0,06	0,11	0,205	0,39

Mais l'effet dépressif du sel d'ammonium employé ci-dessus, semble dû à l'anion SO_4 beaucoup plus qu'au cation NH_4 puisqu'il ne se produit pas avec les sels d'ammonium des acides: carbonique nitrique, acétique ou succinique.

Les sels de sodium et de potassium des quatre acides ci-dessus augmentent la quantité d'acide ascorbique produit restant dans les tissus, cependant que les acides eux-mêmes sont sans action sur ce phénomène. Ces sels ont une action antagoniste du sulfate d'ammonium — mais non leur acide.

Les deux auteurs ont noté une corrélation positive entre la valeur du pH du suc cellulaire et le total d'acide ascorbique synthétisé. Enfin, ils attribuent l'action des sels sur le taux de synthèse de l'acide ascorbique, à la quantité de base alcaline restant libre pour la plante après les échanges du métabolisme. Cette dernière hypothèse est évidemment très discutable, les auteurs n'ayant pas vérifié si les variations trouvées dans les tissus frais résultent d'une synthèse moins grande ou d'une disparition plus rapide: c'est là d'ailleurs, une critique générale que l'on peut faire à toutes les études sur la synthèse ascorbique dans l'impuissance où nous sommes de mesurer la quantité d'acide ascorbique qui disparaît chaque jour d'un végétal entier ou d'un tissu déterminé. L'étude du quotient d'oxydation réversible de cette plante ou de ce tissu peut cependant nous donner de précieuses indications sur cette disparition: il faut voir en lui, moins un critérium absolu qu'un fil conducteur propre à nous permettre de débrouiller un écheveau passablement compliqué. Or si nous nous reportons au tableau ci-dessus, nous voyons que l'addition de 0,02 m de sulfate d'ammonium soit à l'eau distillée, soit à la solution nutritive a pour effet d'augmenter considérablement le quotient d'oxydation réversible qui dans le premier cas passe de 1/6 à plus de 1/3 et dans le second, de 1/7 à près de 1/2, ce qui tendrait à indiquer que la diminution d'acide réduit constaté par les auteurs est le fait d'une oxydation plus grande et non de la réduction de la synthèse. A priori, il était d'ailleurs surprenant qu'une plantule vivant sur eau distillée pure puisse synthétiser plus d'acide ascorbique qu'une plantule vivant sur une solution nutritive appropriée.

Cette étude de Mapson et Cruickshand a eu le mérite de mettre en lumière l'action réciproque des éléments nutritifs entre eux et des facteurs écologiques sur lesquels nous reviendrons plus loin.

b) Influence du potassium, du calcium, du magnésium, des anions sulfurique et phosphorique, et des oligoéléments.

Une étude très complète de ces facteurs nutritifs a été faite par Stanley, A. Watson et G. R. Noggle²⁶⁾ sur les jeunes plants d'avoine. Ils ont trouvé que la suppression du potassium et surtout du magnésium dans la solution nutritive avait pour effet d'augmenter considérablement le taux d'acide ascorbique des feuilles. La suppression des sulfates et phosphates augmente très légèrement ce même taux, tandis que la suppression du calcium et des nitrates le réduisent un peu pour le calcium, beaucoup pour les nitrates.

Les phénomènes sont les mêmes dans la tige, sauf en ce qui concerne le potassium, dont la disparition dans la solution nutritive provoque une légère diminution.

Devant l'augmentation considérable de l'acide réduit en l'absence de magnésium, les auteurs hésitent entre les deux hypothèses possibles: synthèse plus grande ou utilisation moindre. Ils penchent d'ailleurs pour la première hypothèse, qui nous paraît cependant la moins vraisemblable; en effet, étant donné le rôle du magnésium et du potassium dans la synthèse, et la polymérisation des oses, il serait surprenant que leur disparition provoque la formation surabondante d'un corps aussi voisin des oses que la vitamine C — tandis que la non utilisation de celui-ci apparaît comme la conséquence logique de l'interruption de la chaîne métabolique provoquée par l'absence des deux métaux alcalins ou alcalino-terreux. Il y a même une indication supplémentaire dans le fait que l'absence de potassium provoque une augmentation dans les feuilles et une diminution dans les tiges, cette observation met en lumière non seulement l'opposition des deux métaux avec les autres ions nutritifs, mais leur opposition entre eux et l'antagonisme des feuilles et des tiges dans la métabolisme ascorbique: celui-ci ne doit pas être simple, mais doit élarger à un certain nombre de systèmes, probablement à un ou plusieurs systèmes anaboliques d'une part et à un ou plusieurs systèmes cataboliques d'autre part.

Feres et Brown⁷⁾ ont étudié l'influence des oligoéléments sur la richesse en vitamine C des légumes à feuilles ou à tubercules. Ils ont trouvé que le zinc seul avait une influence positive (accroissement du taux d'acide ascorbique). Mais Brown, Patton, Blythe et Shetland⁴⁾ notent une augmentation pour les cultures de bettes (*Beta vulgaris*) dépourvues de manganèse, magnésium, potassium et azote.

Enfin Chandler et Miller⁶⁾ cultivant des rutabagas, notent une élévation du taux d'acide ascorbique dans les cultures ayant reçu du bore. Mais bien des auteurs, parmi lesquels Amner et Nightingale, ont

noté que l'influence des éléments nutritifs minéraux, était moindre que celle des facteurs écologiques entourant les cultures et que, parmi ceux-ci, l'éclairage et la température ont une influence prépondérante sur la richesse des tissus en acide ascorbique.

§ 10. *Influence de la lumière et de la température.*

M a p s o n et C r u i c k s h a n d, dans leur étude sur les jeunes plants de cresson ont montré que l'action dépressive du sulfate d'ammonium se manifeste aussi bien à l'obscurité qu'à la lumière, malgré la réduction de 50% du taux d'acide ascorbique observé chez les plantules venues à l'obscurité.

D'autres observations ont été faites sur ce sujet par divers auteurs: entre autres M a c I n t o s h¹⁴⁾ remarque que le teneur des plantes en acide ascorbique s'accroît par exposition au soleil.

G i r o u d⁹⁾ puis M o l d t m a n n¹⁰⁾, R e i d²²⁾, S m i t h et G i l l i e s²⁴⁾ avaient signalé une certaine fluctuation diurne du taux d'acide ascorbique, celui-ci ayant son maximum au milieu de la journée.

Mais il faut attendre B ö r j e A b e r g pour avoir une étude systématique des deux principales influences qui s'exercent sur la synthèse ascorbique: la température et l'éclairage avec son intensité, sa durée journalière ou photo période et la qualité de sa lumière. Les conclusions de cet auteur sont les suivantes:

1°) La lumière bleue — et, d'une manière générale, les radiations lumineuses comprises entre 400 et 500 μ sont sans effet sur le taux des feuilles en acide ascorbique. Les radiations ultra-violettes n'ont pas d'effet ou un léger effet dépressif.

2°) La quantité d'acide ascorbique contenue dans une feuille diminue en même temps que l'intensité lumineuse chez les jeunes tomates. Mais des plantes conservées longtemps à l'obscurité, contiennent encore une dose très notable d'acide ascorbique. Il y a donc plusieurs modes de synthèse ascorbique dans la plante et la lumière n'est pas indispensable à l'un d'eux. De plus, à l'obscurité ce sont les feuilles No. 3 et 4 (en partant du sommet de la tige) qui perdent le plus d'acide ascorbique. Il y a donc migration de la vitamine C à partir de ces feuilles et des feuilles plus âgées, vers les feuilles les plus jeunes.

3°) Chez la tomate, la quantité d'acide ascorbique contenue dans les feuilles, augmente chez les plus âgées avec l'allongement de la photopériode, mais chez les plus jeunes, il y a un plafond à partir de 12 heures d'éclairage journalier. Ce fait s'explique par les troubles de croissance provoqués chez la tomate par un éclairage journalier trop long (18 et 24 heures) — troubles qui suspendraient la migration des produits élaborés et en particulier de l'acide ascorbique, des feuilles âgées vers les plus jeunes.

4°) L'augmentation de la température de 15 à 23° a provoqué chez de jeunes plants de tomates une diminution d'environ 30% de la quantité d'acide réduit contenu dans les feuilles. L'auteur pense que ce fait est en

rapport avec l'augmentation de la vitesse de croissance de la plante. La synthèse ascorbique est peut-être plus active à 23° qu'à 15°, mais son catabolisme est activé dans une proportion supérieure.

§ 11. *Observations personnelles sur l'influence de la lumière et de la température.*

Des nombreux dosages que nous avons effectués sur *Ribes nigrum* nous avons tenté d'extraire quelques indications relatives à l'influence de la lumière et de la température sur la richesse en acides ascorbique et déhydroascorbique des feuilles de cet arbrisseau. Malheureusement, nos sujets étant situés en pleine terre et à l'air libre, étaient soumis aux conditions météorologiques, c'est-à-dire à un ensemble de conditions dont nous pouvions bien enregistrer certaines données, mais non pas les modifier. Il en est résulté que la plupart de nos observations sur ce sujet n'ont pas toute la rigueur et la précision désirables, que certains éléments nous échappent, n'ayant pu, suivant la pensée de Descartes, „diviser le problème en autant de parties qu'il est nécessaire pour les mieux résoudre”.

D'autre part, l'Office National Météorologique qui a aimablement mis à notre disposition le relevé journalier des températures maxima et minima, et la somme des heures d'insolation, n'a pu nous fournir d'indications sur l'intensité lumineuse journalière qui eut été cependant une donnée importante dans la résolution du problème que nous proposons actuellement.

Voici les dosages comparatifs faits sur les feuilles de *Ribes nigrum*, mis en regard: 1°) des sommes de températures maxima et minima et d'insolation du jour du dosage et des 48 heures qui l'ont précédé. — 2°) des températures maxima et minima et du total d'heures d'insolation de la seule journée du dosage. Ces chiffres sont ceux relevés à l'observatoire du Parc St Maur à Paris.

Le prélèvement des échantillons a toujours été fait entre 13 et 15 heures. — Les flèches indiquent le sens de la variation entre la 1ère et la 2ème observation.

Les feuilles sont numérotées en partant de l'extrémité supérieure du rameau, dont le bourgeon terminal ou la très jeune feuille a peine sortie de lui, portent le No. zéro.

Date du pré- lèvement.	No. de la feuille	En mg% de tissus frais			1e pour les 3 jours		2e pour la journée	
		Ac. asc.	Ac. déhyd.	Q. d'ox. rév.	Σ des tempé- tures maxim. minim.	Σ des heures d'insolation.	Σ des tempé- ratures maxim. minim.	Σ des heures d'insolation.
19 Avr. 1947	3ème	210	20	1/10	67,9 + 28,2	23,1	20,3 + 9,3	8,3
3 Mai 1947	3ème	185	80	4/9	50,6 + 19,8	19,4	20,8 + 8,7	9,2
19 Avr. 1947	4ème	176	11	1/17	67,9 + 28,2	23,1	20,3 + 9,3	8,3
3 Mai 1947	4ème	194	10	1/19	50,6 + 19,8	19,4	20,8 + 8,7	9,2
20 Juin 1947	1ère	134	14	1/10	73,7 + 43,2	16,7	21,7 + 14,8	1,7
24 Juin 1947	1ère	73	27	1/3	71,7 + 34,3	34,8	28,9 + 12,0	14,9
20 Juin 1947	3ème	123	0	0	73,7 + 43,2	16,7	21,7 + 14,8	1,7
24 Juin 1947	3ème	98	28	1/4	71,7 + 34,3	34,8	28,9 + 12,0	14,9
22 Juin 1947	1ère	100	18	1/5,5	62,8 + 42,3	11,0	20,3 + 12,2	6,0
26 Juin 1947	1ère	162	27	1/6	105,0 + 44,3	42,1	36,5 + 16,1	12,4
19 Sept. 1947	4ème	154	4	1/40	90,6 + 49,5	22,5	32,9 + 17,0	7,3
26 Sept. 1947	4ème	150	0	0	50,3 + 24,2	12,9	16,9 + 12,1	3,2
3 Avr. 1948	4ème	156	30	1/3	37,8 + 15,9	17,3	12,4 + 4,6	9,2
17 Avr. 1948	4ème	175	8	1/22	50,3 + 17,3	17,7	19,0 + 7,3	1,7
24 Avr. 1948	1ère	227	63	1/4	55,9 + 26,1	14,1	18,5 + 7,7	4,1
1er Mai 1948	1ère	137	87	3/5	45,9 + 20,2	27,1	15,9 + 6,1	4,7
24 Avr. 1948	4ème	219	27	1/8	55,9 + 26,1	14,1	18,5 + 7,7	4,1
1er Mai 1948	4ème	149	81	1/2	45,9 + 20,2	27,1	15,9 + 6,1	4,7
8 Mai 1948	3ème	196	58	2/7	66,0 + 30,5	31,2	25,0 + 10,6	13,3
22 Mai 1948	3ème	216	56	1/4	64,5 + 30,5	36,9	21,2 + 9,3	13,7
22 Mai 1948	1ère	219	20	1/11	64,5 + 30,5	36,9	21,2 + 9,3	13,7
29 Mai 1948	1ère	196	12	1/16	52,1 + 23,2	14,6	15,5 + 9,0	3,0
16 Sept. 1948	4ème	174	10	1/16	58,5 + 35,0	9,2	18,6 + 10,6	0,6
27 Sept. 1948	4ème	194	21	1/10	78,0 + 30,6	29,3	28,3 + 14,0	9,2

Les indications qui se dégagent de ce tableau sous les réserves que nous avons indiquées plus haut et en remarquant, en outre, que les phénomènes de floraison viennent interférés sur les observations faites dans la 2^{ème} quinzaine d'Avril, sont les suivantes :

chez les feuilles supérieures d'un rameau de *Ribes nigrum*, les variations de l'acide ascorbique sont généralement de même sens que les variations de la température,

tandis que les variations de l'acide déhydroascorbique sont généralement de même sens que les variations de la durée d'insolation.

Mais en ce qui concerne les variations de la forme réduite, il y a parfois antagonisme entre la température et l'éclairement : la température, ayant pour effet d'accroître le catabolisme de ce corps, en accélère la disparition, tandis que l'éclairement, qui favorise son anabolisme, favorise son accumulation dans les feuilles. Il en résulte des indications discordantes, suivant que l'un ou l'autre de ces phénomènes a une action prépondérante.

Les variations de la forme oxydée, dont la concordance avec les variations d'insolation est bien meilleure qu'avec les variations de température, apportent un commencement de preuve en faveur de l'opinion d'un certain nombre d'auteurs, parmi lesquels *Giroud*, *Ratsimamanga* et *Leblond*, *Mentzer*, *French*, *West* et *Ney*. Ces biologistes ont pensé que l'acide ascorbique participait au processus même de la photosynthèse, c'est à dire à la synthèse des glucides et *Mentzer*¹⁷⁾ à remarqué à ce propos, que l'oxydabilité, considérablement accrue par la lumière, de l'acide ascorbique, serait un point avantageux pour ce processus.

D'autre part, *French*⁸⁾ a isolé par vibrations ultrasonores les pigments assimilateurs de certaines bactéries et a vu qu'ils accélèrent considérablement l'oxydation de l'acide ascorbique en présence de lumière. Le phénomène varie avec les longueurs d'onde et l'intensité du flux lumineux.

De leur côté, *West* et *Ney*²⁸⁾ ont montré que la présence d'acide ascorbique en milieu alcalin, accélérât considérablement la polymérisation des aldéhydes dont l'aldéhyde formique en oses.

Temps d'observation	Substances réductrices formées à partir de	
	H.C.HO + Ca(OH) sans acide ascorbique	H.CHO + Ca(OH) avec acide ascorbique
0 minute	0	24
60 „	0	391
120 „	11	269
180 „	154	199

Rapprochons ces observations de celles que nous avons précédemment rencontrées, à savoir :

L'influence de la nutrition azotée qui dans la mesure où elle favorise la formation de la chlorophylle, favorise également celle de l'acide ascorbique.

L'influence de deux carences minérales : la magnésienne qui entrave la formation de la chlorophylle, la potassique, qui trouble gravement le métabolisme glucidique en empêchant la polymérisation des oses, favorisent toutes deux une accumulation insolite d'acide réduit, comme si la diminution de l'assimilation chlorophyllienne la laissait sans emploi.

Les deux mécanismes d'apparition de l'acide ascorbique, à la lumière et à l'obscurité comme si l'assimilation chlorophyllienne et la respiration engendraient chacune l'acide ascorbique dont elles avaient besoin.

L'influence prépondérante de la lumière dans la formation de l'acide déhydroascorbique.

L'influence dualiste de la température qui augmente et la synthèse et la destruction de l'acide ascorbique, pourvu que la plante soit exposée à la lumière, sans quoi la destruction est seule perceptible, ainsi que nous allons le monter au paragraphe suivant.

Il y a là tout un ensemble de faits qui militent singulièrement en faveur d'un rôle actif du système ascorbique dans le mécanisme de la photosynthèse.

De quelle nature peut être cette intervention ? C'est encore sous forme de transporteur ou d'activateur d'hydrogène que le rôle de l'acide ascorbique nous semble le plus vraisemblable. Cette notion de transmetteur d'hydrogène qui n'est plus discutée dans la dégradation des corps, nous semble également devoir s'imposer dans leur synthèse — d'une part à cause du parallélisme rigoureux des deux ordres de phénomènes : anabolisme et catabolisme — et d'autre part parcequ'il serait bien étonnant que l'hydrogène provenant de la photolyse de l'eau, puisse se fixer directement sur le gaz carbonique, s'il n'y a pas entre eux au moins un de ces activateurs qui permettent ce genre d'union dans le catabolisme. On voit mal, d'autre part, l'oxygène moléculaire libéré au sein des chloroplastes où il ne manquerait pas de causer des oxydations dangereuses pour le protoplasme. On conçoit très bien par contre, l'acide ascorbique intervenant à ce moment là pour transformer en peroxyde d'hydrogène,

l'oxygène libéré par la photosynthèse. Cette hypothèse rend compte, à notre avis du fait que nous avons constaté de la richesse relative en acide déhydroascorbique des tissus conducteurs qui sont la voie d'évacuation normale des produits de la photosynthèse.

Pour en revenir à l'influence de la lumière et de la température sur le taux de vitamine C dans le système foliaire, nous avons tenté de résoudre la question en séparant ces deux facteurs dans l'expérience suivante:

Six pots aussi semblables que possible et remplis de sable de rivière bien homogénéisé, ont été ensemencés le 17 Avril avec des petits pois de la variété Sénateur. Trois plantes ont été laissées dans chaque pot, et le 29 Mai, alors que les plantes comptaient six étages de folioles — deux pots désignés par A ont été laissés en place dehors, comme témoins —

deux autres pots B ont été transportés au laboratoire, à une température moyenne de 20° et placés à l'obscurité complète:

les deux derniers pots C ont été mis dans la glacière à une température de +1 à 2°, à une obscurité complète;

48 heures après les 18 plantes ont été récoltées et analysées; les résultats ont été les suivants:

		En mg% de tissus frais		
		Ac. ascorb.	Ac. déhyd.	Quot. d'O. R.
Pots A	{ Stipules et folioles	113	4	1/28
	{ Tiges	42	12	3/11
Pots B	{ Stipules et folioles	47	2	1/24
	{ Tiges	20	6	3/10
Pots C	{ Stipules et folioles	112	4	1/28
	{ Tiges	42	11	3/11

Un accident nous à malheureusement privé du poids sec de ces plantes, mais leur substrat sableux ayant été maintenu à son maximum d'humidité, nous pouvons, sans erreur appréciable estimer qu'il était le même dans les trois sortes de pots.

Du 27 au 29 Mai, les conditions météorologiques auxquelles sont restés soumis les pots A ont été les suivantes: température moyenne maxima: 17,9, température moyenne minima: 7,7. Somme des heures d'insolation: 14,6.

La comparaison des pots A et B fait ressortir que l'absence complète de lumière, jointe à une légère augmentation de température a provoqué une diminution de plus de 50% du taux d'acide ascorbique

oxydé et réduit, aussi bien dans les stipules et folioles que dans les tiges.

La comparaison des pots A et C fait ressortir qu'une température suffisamment basse pour ralentir la plupart des réactions métaboliques de la plante (sans nuire toutefois à la vitalité de celle-ci) assure la conservation des deux formes ascorbiques, même en l'absence totale de lumière.

La comparaison des pots B et C montre qu'une élévation de température, non compensée par un éclairage suffisant, diminue rapidement le taux des deux formes ascorbiques dans la plante (tissus conducteurs et tissus assimilateurs).

L'action opposées de la lumière et de la température sur le taux des tissus foliaires en acide déhydroascorbique qui nous avait échappé par l'observation de *Ribes nigrum* à l'air libre, existe donc, au moins chez *Pisum sativum*.

§ 12. *Influence des solutions sucrées comme source alimentaire des feuilles détachées de leur tige.*

Nous avons fait l'essai suivant : dans une planche de haricots Noir de Belgique, au moment de la floraison, au mois de Septembre, par journée ensoleillée, nous avons à 8 heures du matin, cueilli sur quelques pieds, deux feuilles déterminées que nous avons réparties en deux groupes : les pétioles du premier trempaient dans l'eau distillée, tandis que les pétioles du second trempaient dans une solution de dextrose à 3%. Les deux groupes furent laissés au milieu de la planche, auprès de leurs pieds-mères et exposés comme eux. A 17 heures, des feuilles semblables aux précédentes furent cueillies sur les mêmes pieds et les deux formes ascorbiques dosées dans les trois groupes de feuilles :

	<i>Ac. ascorb.</i>	<i>Ac. déhydro.</i>	
1°) feuilles restées sur pieds	110 mg%	59 mg%	} tissus frais. ,,
2°) feuilles sur eau distillée	130 „	70 „	
3°) feuilles sur sol. à 3% de dext. . .	155 „	60 „	

Nous n'avons malheureusement pas pu calculer la matière sèche de ces trois groupes de feuilles, mais le moins turgescents et le moins aqueux ne pouvait être que celui des feuilles témoins, restées sur pied, ce qui augmenterait encore la différence en faveur des deux autres groupes. Si l'on considère l'eau distillée comme équivalente à la sève brute pendant la durée de l'expérience (soit de 8 à 17 heures),

il semble possible d'évaluer la quantité de vitamine C élaborée par une feuille de haricot Noir de Belgique, pendant cette même durée et qui serait de: acide ascorb. 130—110 = 20 mg%

acide déhydro. 70—59 = 11 mg%

de tissus frais, soit environ le 1/5 des quantités totales (feuilles jeunes, en pleine activité fonctionnelle, mais totalement développée et par journée ensoleillée).

Les oses augmentent considérablement le taux de l'acide réduit dans les feuilles, mais semblent sans effet ou d'un effet inhibiteur, sur la formation d'acide oxydé. Si l'on considère que les jeunes feuilles d'un rameau reçoivent des plus âgées non seulement de l'acide ascorbique, mais encore les oses de la sève élaborée, on aura là l'explication: de la richesse de certaines jeunes feuilles en acide réduit — et de la pauvreté ou de l'irrégularité de la forme oxydée dans ces mêmes feuilles.

Conclusions.

Les actions fertilisantes, dans la mesure où elles sont profitables à la plante et augmentent sa croissance tout en respectant son équilibre végétatif, augmentent aussi la quantité d'acide ascorbique réduit, contenu dans les tissus. Toutefois, les carences magnésienne et potassique qui provoquent des troubles graves dans la photosynthèse et le métabolisme des glucides, et par là dans la physiologie toute entière de la plante, provoquent une augmentation du taux d'acide réduit chez les feuilles.

La lumière augmente le taux d'acide ascorbique dans les feuilles, par augmentation de sa synthèse; toutefois, une partie de l'acide ascorbique prend naissance à l'obscurité. L'élévation de la température jusqu'à un maximum non déterminé, doit également favoriser la synthèse ascorbiques; mais par une action antagoniste, elle favorise aussi son catabolisme et sa destruction, de sorte que, l'action résultante est souvent une diminution du taux d'acide ascorbique au sein des tissus.

L'accumulation d'acide déhydroascorbique dans les feuilles, est sous la dépendance de l'éclairement, sans qu'il nous ait été possible de faire la part revenant à chacun des deux facteurs: intensité et durée d'éclairement. Divers faits, dont celui-ci, militent activement en faveur de l'hypothèse d'une intervention du système ascorbique dans le processus de la photosynthèse.

RÉSUMÉ ET CONCLUSION

Au cours de cette étude, nous avons cherché à préciser les variations chez les végétaux supérieurs des deux formes de l'acide ascorbique, de leur rapport mutuel et de leur équilibre que nous avons appelé le quotient d'oxydation réversible de l'acide ascorbique.

L'étude de ce rapport nous semble une étape indispensable à la bonne compréhension du véritable rôle d'un corps dont la principale propriété connue est une oxydabilité réversible tout à fait remarquable et qui doit agir tantôt comme intermédiaire d'oxydation, tantôt comme intermédiaire de réduction.

Nous avons suivi ces variations dans les feuilles, les inflorescences et les fruits de certaines plantes, et cherché à préciser le rôle des influences extérieures, particulièrement des facteurs lumière et température sur ces variations.

Les variations du quotient d'oxydation réversible nous ont permis de confirmer l'opinion des auteurs qui ont assigné au système ascorbique l'un ou l'autre, ou plusieurs à la fois des rôles suivants:

- tampon d'oxydo-réduction lors d'une oxydation ou d'une réduction très active au sein des tissus et qui pourrait être dangereuse pour eux,
- transporteur d'hydrogène dans certains des phénomènes ordinaires de la respiration,
- transporteur d'hydrogène au cours des phénomènes de l'assimilation chlorophyllienne.

Reçu le 14 mars 1951.

BIBLIOGRAPHIE

- 1) Aberg, B. et Ekdahl, I., *Physiologia Plantarum* **1**, 290-329 (1948).
- 2) Barker, L. C. et Parkinson, T. L., *J. Soc. Chem. Ind. G. B.* **66**, 1-2 (1947).
- 3) Blaringhem, L., *Compt. Rend. Ac. Sc.* **197**, 1551 (1933).
- 4) Brown, H. B., Patton, M., Blythe, A. and Shetland, M. R., *Food Research* **5**, 247 (1940).
- 5) Combes, R., *Compt. Rend. Ac. Sc. Paris* **157**, 1002-5 et 1454-7 (1913).
- 6) Chandler et Miller, *Rev. Amér. Soc. Hort. Sci.* **47**, 331-4 (1946).
- 7) Ferres, H. M. and Brown, W. P., *Australian J. Exp. Biol. and Med. Sci.* **24**, 111 (1946).
- 8) French, dans Giroud, A., *Rev. Sci.* **80**, 10-20 (1942).
- 9) Giroud, A., Ratsimamanga, A. R. et Leblond, C. P., *Bull. Soc. Chim. Biol.* **17**, 232 (1936).
- 10) Huszac, S. T., *Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem.* **247**, 239-47 (1937).
- 11) Lecat, P., *Compt. Rend. Ac. Sc.* **224**, 751-2 et 845-47 (1947).
- 12) Lecat, P., *Bull. Soc. Bot.* **91**, 57-59 (1944).
- 13) Lecat, P., *Ann. Sci. Nat. Bot.* **11**, 165-194 (1950).
- 14) Mac Intosch, I., *Exp. Sta. Bull.* **391**, 320 (1938).
- 15) Mapson, L. W. et Cruickshand, *Biochem. J.* **41**, 197-205 (1947).

- 16) Martini et Bonsignore, *Biochem. Z.* **273**, 170-77 (1934).
- 17) Mentzer, Ch., Thèse Fac. Pharmacie, Paris 1940.
- 18) Molliard, M., Formation des substances ternaires. *Nutrition de la plante* **2**.
- 19) Moldtmann, H. G., *Planta* **30**, 297-342 (1939).
- 20) Obaton, *Compt. Rend. Sc. Ac.* **195** (1932).
- 21) Piegai, Delindaḡti, *Ind. Ital. Conservo* (1942).
- 22) Reid, Mary E., *Bull. Torrey Botan. Club* **62**, 204 (1942).
- 23) Sabalitschka, T. et Michels, H., *Angew. Botan.* **24**, 233-47 (1942).
- 24) Smith, A. M. et Gillies, I., *Biochem. J.* **34**, 1312-20 (1940).
- 25) Sosa-Bourdouil, Mme C., *Compt. Rend. Ac. Sc.* **212**, 1000 (1941).
- 26) Sosa, A., *Compt. Rend. Ac. Sc.* **213**, 706 (1941).
- 27) Stanley, Watson, A. et Noggle, G. R., *Plant. Physiol.* **22**, 228-43 (1947).
- 28) West, E. S. et Ney, L. P., *Science* **84**, 294 (1936).
- 29) Willstätter, R., Zechmeister, L., *Liebigs Ann. Chem.* **412**, 113 (1916).
- 30) Wokes, F. et Organ, I. C., *Biochem. J.* **37**, 259-65 (1943).