

ANNALES

DE LA

SOCIÉTÉ LINNÉENNE

DE LYON

Année 1917

—
(NOUVELLE SÉRIE)
—

TOME SOIXANTE-QUATRIÈME

LYON

H. GEORG, LIBRAIRE-ÉDITEUR

36, PASSAGE DE L'HOTEL-DIEU

MÊME MAISON A GENÈVE ET A BALE

—
1918

ÉTUDE CRITIQUE
DE QUELQUES TRAVAUX RÉCENTS
RELATIFS A
LA BIOPHOTOGÉNÈSE

PAR

M. RAPHAEL DUBOIS

Dans un récent mémoire (1), j'ai montré que les critiques formulées par l'anatomiste Förster au sujet de la structure des organes photogènes et des éléments qui les constituent chez *Pholas dactylus*, dont j'ai jadis donné la description, non seulement n'étaient pas fondées, mais que cet auteur avait à tort considéré comme des éléments glandulaires fixes les cellules migratrices renfermant des granulations de luciférine, que l'on rencontre également chez d'autres animaux marins, et qui ont été décrites aussi comme des glandes unicellulaires et figurées par Riechensperger et Trojan, particulièrement chez certains Echinodermes (*Ophiacantha* et *Ophiopsila*) (1). En outre, Förster a méconnu les connexions entre les cellules glandulaires fixes des organes lumineux et le système nerveux, établies par l'intermédiaire de segments contractiles susceptibles de provoquer en se contractant la sécrétion glandulaire. C'est par la découverte de ces connexions que j'ai pu expliquer le mécanisme intime de la sécrétion photogène chez *Pholas dactylus*, et que j'ai été amené à conclure de nombreuses observations et expériences faites, non seulement sur les animaux lumineux, mais encore chez beaucoup d'autres organismes végétaux et animaux que le phénomène de la sécrétion, soit interne, soit externe, est, d'une manière générale, lié à la

(1) V. note additionnelle, p. 46 et 47.

contractilité et que c'est par son intermédiaire que le système nerveux intervient dans l'accomplissement de la fonction sécrétoire chez les métazoaires (1).

Plus heureux que Förster, Trojan ainsi que Dahlgreen ont montré que de telles connexions existent bien réellement pour les éléments glandulaires photogènes du *Phyllirohë bucephale*, qui est, comme la *Pholade dactyle*, un mollusque photogène à sécrétion externe (2). Ce dernier fait est nettement établi dans l'un des mémoires de Dahlgreen (3) (p. 34 et fig. 9).

Dans un précédent mémoire, Dahlgreen s'est occupé aussi des Photobactéries. Il fait remarquer que le microscope ne permet pas de fixer le siège de la luminosité de ces microbes lumineux, en raison de leur petitesse. « Il en est résulté, dit-il, des hypothèses contradictoires relativement à ce siège. Certains auteurs ont dit que la photogénèse se confond avec le fonctionnement général de la Photobactérie, et plus particulièrement avec la respiration de son bioprotéon constituant. D'autres ont avancé que la réaction photogène a lieu dans l'intérieur de la Bactérie ; ils ont même fixé le siège de cette réaction. Enfin, on a soutenu également que la réaction avait lieu dans le milieu liquide ou gélatineux, où se multiplient les Photobactéries, entre des substances préparées, puis sécrétées, par ces dernières, ou même simplement par leur action sur des corps plus ou moins modifiés par la putréfaction, ou autrement, et appartenant exclusivement au milieu ambiant (Poissons phosphorescents après leur mort seulement).

Tout cela est exact, mais Ulric Dahlgreen a eu le tort de dire que j'avais soutenu que la production de la lumière avait lieu en dehors de la Photobactérie. En effet, dès 1898, j'avais établi que la lumière des Photobactéries est le résultat d'une réaction intraplastidaire (4), et c'est encore cette opinion que j'ai exprimée dernièrement (5 et 6). Dahlgreen, d'ailleurs, paraît ignorer la plupart de mes dernières publications, notamment mon livre : *la Vie et la Lumière*, paru en 1914 (5). Il en résulte qu'il attribue à d'autres expérimentateurs des faits que j'ai mis depuis longtemps en évidence, comme l'action de

(1) V. Raphaël Dubois, Du rôle de la contractilité dans les sécrétions glandulaires (*Ann. de la Soc. Linnéenne de Lyon*, 1917).

(2) V. note additionnelle, p. 46.

la filtration et de la centrifugation sur la luminosité des cultures liquides de Photobactéries, ma lampe vivante, antérieure à celle de Molich, etc. : c'est ainsi qu'il dit ([3] p. 12) qu'à Berlin on a éclairé de grands bacs avec des microbes lumineux et que cela permettait de lire et de faire des démonstrations pendant un temps considérable. Cette opération n'est que la copie de celle que j'ai faite au Palais de l'Optique à l'Exposition internationale de 1900, où, pendant plusieurs mois, une grande salle a été éclairée par ce moyen.

En revanche, il m'impute des erreurs dont je suis innocent.

L'auteur ne paraît pas être un expérimentateur, mais plutôt un morphologiste ; aussi son travail, en ce qui concerne la physiologie, n'est-il qu'une compilation. Mais il est regrettable qu'il renferme de graves erreurs bibliographiques, parce qu'en raison de la nature des illustrations qu'il renferme, il paraît destiné surtout à la vulgarisation, et qu'il est toujours fâcheux de répandre dans le grand public des renseignements inexacts. Il est orné de très belles figures.

On y trouve, entre autres, une intéressante reproduction de préparations de Photobactéries vues à un fort grossissement (3, fig. 5, p. 24, fasc. 1915-16), due à miss E. Grace White, montrant la structure interne de ces micro-organismes, qui présentent à leur centre une véritable vacuole. Cette particularité les rapproche de ces organites élémentaires du bioprotéon, auxquelles j'avais donné autrefois, pour cette raison, le nom de « vacuolides » et que l'on appelle aujourd'hui « mitochondries », expression fâcheuse à tous les points de vue. C'est dans les organes lumineux que j'ai aperçu pour la première fois les vacuolides, et je les ai, dès le début de ma découverte, en raison même de leur structure vacuolaire, assimilés aux leucites. Cette opinion, rééditée par mon élève Guilliermond, de Lyon, est admise aujourd'hui d'une manière générale, mais il est regrettable que ce dernier ait oublié de faire mention de ce que j'ai écrit et enseigné à ce sujet, il y a bien des années (4, p. 73 et 75) (1).

(1) Remarque. — En raison de l'analogie fonctionnelle et de l'homologie morphologique des vacuolides de Dubois et des mitochondries de Benda, et de l'assimilation que j'ai établie de ces éléments ultimes de la substance vivante ou bioprotéon, avec les leucites, il serait, à mon sens, préférable de leur donner le nom de *microleucites*. Quoi qu'il en soit, les Photobactéries

Suivant Dahlgreen, quelques observateurs ont pu voir, après fixation et coloration, que la ségrégation de la luciférine s'observe dans l'intérieur du corps de la Photobactérie. Les vacuoles ont été observées par l'auteur, aussi bien que par d'autres. Elles semblent exister dans les cultures activement lumineuses, et être absentes dans les colonies qui ne donnent pas de lumière pour un temps, mais sont néanmoins saines et en condition d'active multiplication. Il en conclut que c'est une matière sécrétée intérieurement par l'organisme bactérien, qui peut être brûlée en présence de l'oxygène et dégager ainsi une réserve d'énergie donnant 98 à 99 % (1) de lumière.

Cette opinion lui paraît renforcée par les recherches expérimentales de Newton Harvey, dont il sera bientôt question.

Mais, avant d'y arriver, je dois insister sur la ressemblance existant entre les vacuolides de la sécrétion photogène et les Photobactéries. En effet, on a pensé parfois que les organismes peuvent être photogènes normalement par une symbiose bactérienne héréditaire.

Piérantoni (20), à la suite de ses recherches sur la symbiose héréditaire chez les *Coccidies*, a été conduit à l'hypothèse que la sécrétion colorée de certaines espèces de cette famille et le phénomène de la luminosité de beaucoup d'Insectes, peut être attribuée à une symbiose spéciale de ces animaux avec des organismes respectivement chromogènes ou photogènes. Ainsi, l'organe larvaire du Lampyre serait, par sa position et sa structure, identique à l'organe symbiotique d'*Aphrophora*. Il a vu dans les organes photogènes du Lampyre deux sortes de corpuscules : des sphéro-cristaux et des granulations arrondies ; il en trouve même de forme allongée, en bâtonnets : « Les divisions, dit-il, qui se rencontrent dans certains corpuscules font même penser aux *Bactéries blastomycètes* à l'état de *symbionte*, et conduisent à la certitude que ces granulations sont des micro-organismes symbiotiques appartenant au groupe des *photogènes*. » A propos des granulations sphéro-cristallines, Piérantoni cite Kol-

offrent, sous ce rapport, une ressemblance très grande avec les vacuolides, qui constituent précisément les granulations photogènes au moment de la fonte glandulaire des cellules photogènes.

(1) Cette évaluation paraît avoir été établie, d'après les résultats de mes recherches photométriques, qui sont les plus anciennes, et dont Very et Langley n'ont fait que vérifier l'exactitude.

liker et Bongardt, mais il ne sait pas que j'ai depuis bien longtemps démontré qu'il n'y a qu'une sorte de glande photogène dans le Lampyre comme dans le Pyrophore, et que ce qui a pu faire croire à l'existence de deux sortes d'éléments glandulaires, c'est qu'il y a, comme dans tous les organes sécréteurs, des éléments en voie de désagrégation et d'autres qui ne sont pas encore arrivés à cet état.

Les sphéro-cristaux et les granulations arrondies sont de même origine et de même espèce : ce sont des vacuolides de luciférine, seulement elles sont arrivées à des degrés différents d'évolution. J'ai montré très nettement cette dernière dans mon ouvrage sur les Elatérides (22) dès 1886, et depuis dans d'autres publications ([4], p. 450 et 451 et fig. 192 et 193, et [5], p. 57). Il est surprenant que Bongardt ait, longtemps après mes recherches sur les Pyrophores, ressuscité l'hypothèse des deux éléments glandulaires distincts dans les organes photogènes des Insectes. Les granulations sphéro-cristallines sont des vacuolides mortes, dans lesquelles la luciférine colloïdale a été transformée en cristalloïdes.

D'autre part, la présence de bâtonnets, surtout en voie de division, fait penser, en effet, à des micro-organismes. En tous cas, je puis affirmer qu'ils ne sont pas photogènes, car j'ai multiplié les essais de culture avec la pulpe des organes lumineux du Lampyre sur les milieux les plus divers, propres à la culture des Photobactéries, sans jamais avoir obtenu une seule colonie lumineuse. Ce semble bien être aussi le cas des colonies obtenues par le même moyen par Piérantoni (21) : les micro-organismes qui les forment n'ont pas les caractères morphologiques des Photobactéries et ne sont pas photogènes, ce que l'auteur n'eût pas manqué de dire dans le cas contraire. On rencontre des micro-organismes dans les parties les plus intimes des Insectes, parce que celles-ci sont en rapport avec l'extérieur par les stigmates et par les trachées, qui leur font suite, et vont se ramifier à l'infini dans tous les organes. Il n'y a même rien de très extraordinaire à ce qu'ils pénètrent ensuite, même dans l'œuf, où, paraît-il, d'après Piérantoni, on peut les observer.

A l'appui de la thèse qu'il a soutenue dans sa première note, Piérantoni dit (p. 4 [20]) : « *Ma, perquanto riguarda qu'est ultima questione, trovo gia nella litteratura osservazioni molto*

importanti che vengano in appoggio della mia affermazione », et cette affirmation est très nette : « Tutti questi dati, insienne con quelli morfologia, di forme cioè di divisione che si riscontrano nei corpuscoli et che fanno pensare ad una moltiplicazione simile a questo dei batterii et dei plastomiceti allo stato di simbiotici di cui mi sono occupato in precedenti lavori, permetto di concludere con ogni probabilità di attersersi al vero, che i generatori della luce no, siano altro che microorganismi simbiosici appartenenti al gruppo dei fotogeni.

Je n'ai donc pas mal interprété la pensée de l'auteur, comme il est dit dans son second travail à propos de la remarque que j'avais publiée dans mon ouvrage de *la Vie et la Lumière* (p. 81) : c'est l'opinion de M. Piérantoni qui s'est modifiée, mais la mienne n'a pas varié. Il est vrai que je ne puis pas faire à M. Piérantoni un gros grief d'avoir émis l'hypothèse d'une symbiose, puisqu'elle m'était venue à l'esprit également lorsque je découvris des Bactéries photogènes dans le mucus lumineux de la Pholade dactyle. Mais je ne tardai pas à reconnaître qu'il ne s'agissait pas d'une symbiose photogène, mais seulement de ce que les Photobactéries se rencontrent à la surface de presque tous les animaux marins, où elles ne brillent, d'ailleurs, qu'après la mort de ces organismes.

Le fait de la continuité de la lumière depuis la formation de l'œuf du Lampyre et du Pyrophore jusqu'à l'éclosion de la larve, sa persistance, même chez les œufs non fécondés, que j'ai mises en évidence, ne sauraient non plus être invoqués en faveur de la symbiose photogène, les œufs ne m'ayant jamais fourni de cultures lumineuses. Quant à l'inoculation expérimentale possible de Photobactéries lumineuses, que j'ai pratiquée, le premier, en 1889, et qui a été répétée depuis par divers expérimentateurs, elle ne saurait être considérée comme la cause d'une symbiose, mais bien d'une simple contagion parasitaire de nature pathologique et d'ordinaire mortelle, même quand elle se produit spontanément, comme dans le cas des Cousins (*Chironimus*) ou des Talithres, des Crevettes, etc.

J'ai le regret également de ne pouvoir souscrire à la conclusion suivante du second travail ([21], p. 87) de Piérantoni :

« A me sembra che il concorso dei microorganismi al fenomeni luminosi non turbi in alcu modo le teorie et le scorperte

del Dubois sulla produzione della luce, essendo anzi verosimile che i microorganismi concorrano alla elaborazione delle due sostanze « al cui conflitto » secondo il Dubois, sarebbero dovuti, fenomeni luminosi. »

Cette conclusion mitigée a le grand inconvénient de compliquer une question très simple et de rouvrir un débat que je crois avoir clos par des expériences et des démonstrations irréfutables. Chez les animaux photogènes, la luciférine est un produit de sécrétion et la luciférase n'est pas le résultat d'une fabrication microbienne : or, le conflit de ces deux substances, en présence de l'air et de l'eau, est nécessaire et suffisant pour produire la lumière *in vitro*, en l'absence de toute cellule de micro-organisme ou autre.

Mais la thèse reprise par Piérantoni n'en présente pas moins un certain intérêt, ainsi que mes hésitations d'autrefois à propos d'une symbiose photogène possible.

Tout cela montre combien l'on peut avoir de tendance à rapprocher, ou même à confondre, les vacuolides, où se forme la luciférine (grains de ségrégation, microsomes, mitochondries, microleucites), avec des Photobactéries, lesquelles présentent aussi une vacuole centrale, où se forme la luciférine. Et l'on songe involontairement à cette hypothèse de Béchamp et d'Altmann, qui croyaient que les microbes n'étaient autre chose que ces ultimes éléments, qu'ils avaient vus dans les cellules, et qu'ils avaient dénommés « microzyma » et « microsomes », tandis que je les appelais « vacuolides », et dont Benda fit depuis les « mitochondries ». Ces corpuscules élémentaires étant des microleucites, comme je l'enseignais dès 1898 ([4], p. 73 et 75), voire même avant, et comme l'a réédité récemment mon élève, M. Guilliermond, de Lyon (je le répète à dessein), on pouvait, en effet, supposer que, jouissant de la propriété de se multiplier, ils pouvaient devenir des microbes après la désagrégation nécrobiotique des cellules et acquérir une existence indépendante après la dissolution de la société coopérative cellulaire.

Dépassant l'hypothèse de Béchamp et d'Altmann, je me suis demandé un instant si les Photobactéries n'étaient pas susceptibles de s'associer de nouveau pour reconstituer des cellules photogènes, cellules dont elles seraient elles-mêmes issues pri-

mitivement par une désagrégation granulaire, comme celle que l'on observe dans tous les éléments glandulaires des organes photogènes.

Cette hypothèse était d'autant plus spécieuse que j'avais obtenu, en ensemençant profondément dans un bouillon de gélatine peptone additionnée de lécythine, des cultures d'une nature extrêmement curieuse, que j'ai décrites et figurées dans mes *Leçons de physiologie générale et comparée* ([4], p. 508 et 509 et fig. 220 et 221).

Le savant professeur de botanique Geddes, de Dundee, auquel je montrais un jour mes préparations, dont je ne lui avais pas révélé la nature, me dit : « Mais cela paraît être un tissu parenchymateux végétal. » Avec un faible grossissement, on voyait, en effet, de grosses cellules serrées les unes contre les autres et déformées par leur pression réciproque : il y en avait plusieurs rangs superposés et garnissant les bords du sillon d'inoculation, au-dessus desquelles elles formaient un bourrelet. Les plus profondes, c'est-à-dire les plus jeunes, étaient aussi les plus petites, ce qui prouvait qu'elles étaient susceptibles d'accroissement, donc de nutrition. Mais, chose plus curieuse encore, les plus extérieures, les plus âgées avaient pris l'aspect blanc mat de la *couche crétaée*, où se rencontrent les granulations sphéro-cristallines dans les organes lumineux des Lampyres, tandis que les plus profondes étaient seulement finement granuleuses comme les cellules de la *couche parenchymateuse*.

Dans ces temps derniers, j'ai repris ces expériences en les variant. J'ai employé non seulement le bouillon gélatine peptone salé à 3 % et contenant de la lécythine, mais aussi d'autres bouillons solides renfermant du nucléinate de soude, de la nucléine, de l'extrait de levure de bière, etc. Au lieu d'un sillon profond, j'ai enfoncé le fil de platine à inoculation enduit de *Photobacterium sarcophilum* Dubois perpendiculairement à la surface, de façon à faire une piqûre de 5 à 10 millimètres de profondeur. Autour du point de pénétration du fil s'est développée rapidement une colonie à bords festonnés, qui n'a pas tardé à recouvrir complètement le point de pénétration, de telle sorte que les Photobactéries entraînées par le fil de platine dans la profondeur du bouillon gélatineux se trouvaient complètement séparées de l'air extérieur.

Malgré cela, elles ont donné tout le long du trajet creusé par la pénétration du fil des colonies extrêmement curieuses et *lumineuses*, bien qu'elles fussent dans des conditions d'existence anaérobie.

Ces colonies étaient représentées par des agglomérations arrondies, isolées, mais groupées en séries linéaires, se développant perpendiculairement à l'axe du trajet inoculé. Elles affectaient la forme de grosses cellules granuleuses visibles à la loupe, comme celles qui ont été figurées dans mes leçons de physiologie générale (*loc. cit.*), mais non déformées par pression et développées à l'abri de l'air. Au bout de quelques jours, je vis ces pseudocellules primitivement transparentes et granuleuses devenir opaques de plus en plus quand on les observait par transparence. Vues par réflexion, elles prenaient l'aspect crayeux des cellules de la couche crayeuse des organes lumineux des Insectes. Dans cette zone se rencontraient également de nombreux petits cristaux. Les coupes ont montré que toute la pseudocellule n'était pas devenue « crayeuse », mais seulement la partie externe, laquelle coiffait comme d'une calotte hémisphérique le reste de la pseudocellule resté transparent et granuleux. Ces granulations se présentent comme de très petits microcoques encapsulés chacun dans une substance claire non colorable comme eux par le bleu polychrome. Les Bactéries primitives, qui ont engendré ces pseudocellules, n'y sont plus représentées que par ces microcoques beaucoup plus petits qu'elles. Au bout de quelques semaines, ces colonies se sont éteintes. On a ici un exemple de polymorphisme accompagnant un état de « polybie ». Ces pseudocellules se disposent d'une manière très particulière dans les bouillons renfermant de l'extrait de levure de bière. De chaque côté du trajet d'inoculation, elles forment des festons aplatis, qui donnent à l'ensemble un aspect foliacé. Il est probable qu'en variant la composition des milieux, on obtiendrait encore d'autres aspects, et c'est ce que je me propose de rechercher. Ces pseudocellules, formant des pseudotissus, des pseudorganes foliacés, ne renferment aucun noyau, aucune structure interne rappelant celle des cellules vraies : elles sont dépourvues de membrane d'enveloppe. Dans certains cas, on remarque seulement une condensation plus grande des micro-organismes vers le centre. Dans mes *Leçons*

de *physiologie générale et comparée*, je les ai considérées comme des *zooglyphes*. Mais, en vérité, on dirait qu'il y a là comme un effort d'évolution vers l'organisation cellulaire, et, je le répète, involontairement l'on est entraîné à penser aux microzymas de Béchamp et aux microsomes d'Altmann, ainsi qu'à leur homologie et leur analogie supposées avec les micro-organismes proprement dits.

Enfin, j'ajouterai que j'ai vu mes vacuolides de la purpurase (23) se grouper spontanément, dans un verre de montre contenant un peu d'eau, en files, en chapelets rappelant aussi bien des chaînes de Streptocoques que des filaments de granulations mitochondriales ou de grains de sécrétion résultant de la division d'un chondriochonte.

Et c'est l'hypothèse de la symbiose photogène de Piérantoni, qui n'est certainement pas exacte, qui m'a conduit à cette longue digression. Pour mon excuse, je ne puis que répéter ce que j'ai dit à la fin de mon livre sur *la Vie et la Lumière* :

« Ce n'est pas l'espoir de doter l'humanité d'un nouveau procédé usuel d'éclairage qui m'a guidé et soutenu dans mes recherches ; c'est le désir de pénétrer plus avant dans la connaissance du secret de la Vie. Il m'avait semblé que de toutes les manifestations énergétiques des êtres vivants : mouvement, chaleur, électricité, la production de la lumière était celle qui devait me conduire plus directement aux sources mêmes de ce qui fait la Vie. Mon attente n'a pas été trompée, puisque c'est à l'étude de la biophotogénèse que je dois la découverte de la théorie vacuolaire et la conception du protéon (v. 5 introduction et 23).

Des recherches moins spéculatives, moins théoriques, ayant trait exclusivement au mécanisme intime de la production de la lumière par les organismes vivants, non pas au point de vue fonctionnel des organes photogènes, mais seulement des réactions chimiques d'où naît la lumière, ont été entreprises par Newton Harvey, qui a publié sur ce sujet divers mémoires (7, 11, 14, 15, 16, 17, 19, 24).

Les résultats des recherches de cet auteur sont importants, quoique parfois contradictoires.

Dans un premier mémoire (7), nous trouvons les conclusions suivantes :

1° La poudre obtenue par les cultures desséchées des Bactéries lumineuses se comporte comme celle obtenue des Lampyridés. La lumière des Bactéries, qui ont été desséchées rapidement sous le chlorure de calcium dans le vide, brille avec l'oxygène et l'eau (*oxygen-containing water*), mais non avec l'oxygène sec (*oxygen-free water*). Le dessèchement ne doit pas tuer toutes les Bactéries, mais doit en tuer la plus grande partie ; aussi, la phosphorescence ne doit-elle pas dépendre des cellules vivantes ;

2° Les Bactéries desséchées et finalement broyées avec du sable ne peuvent pas donner une bien longue phosphorescence après avoir été mouillées. Aucune des Bactéries broyées ne peut cultiver. La phosphorescence dépend de l'intégrité de quelque structure interne de la cellule ;

3° Les Bactéries desséchées traitées par l'éther ou par le toluol peuvent encore briller, si on les mouille, et peuvent développer des colonies en milieu de culture convenable. En conséquence, ni l'éther, ni le toluol ne détruisent le photogène. Les Bactéries dans l'eau de mer aérée (*oxygenated*), à laquelle on a ajouté de l'éther et du toluol, cessent de briller, probablement à cause de l'oxydation rapide de la substance photogène qui est complètement usée quand la cellule bactérienne est cytolysée. Dans l'eau de mer dépourvue d'oxygène (*oxygen-free sea water*), elles brillent seulement si on ajoute de l'oxygène, et cela même après trente-quatre heures de contact avec l'eau sans oxygène. Les Bactéries maintenues dans l'eau privée d'oxygène, à laquelle on a ajouté de l'éther ou du toluol, ne peuvent plus briller si l'oxygène est rendu après quinze minutes. Ainsi, en l'absence d'oxygène, la substance photogénique est décomposée, non par le toluol, mais cette destruction est due probablement à l'action d'une enzyme. On sait, en effet, que le toluol n'affecte pas l'action des enzymes (1).

4° Les Bactéries humides auxquelles on ajoute de l'eau distillée aérée (*oxygenated*) cessent de briller probablement parce

(1) *Remarque.* — J'ai démontré, il y a longtemps déjà, que non seulement les liquides organiques neutres, comme les carbures d'hydrogène, n'altèrent pas les zymases et ne s'opposent pas à leur activité ; mais encore que dans certains cas ils peuvent même la provoquer là où elle ne se manifesterait pas sans leur intervention. (V. HYDRATATION (*fonction d'*), in *Grand Dictionnaire de Physiologie de Ch. Richet*, Alcan, Paris.

que le photogène est rapidement oxydé et usé quand la cellule bactérienne est cytolysée.

Les Bactéries humides auxquelles l'eau distillée privée d'oxygène est ajoutée ne peuvent pas briller, même momentanément, si l'oxygène est rendu quinze minutes après. Ce résultat doit être attribué à l'instabilité du photogène, lorsque la structure de la cellule est affectée par la cytolysé.

Les Bactéries desséchées placées dans l'eau de mer avec oxygène brillent un moment ; mais si les Bactéries desséchées restent en contact avec l'eau de mer privée d'oxygène, aucune lumière ne se montre quand on rend l'oxygène. Ainsi, comme dans les cas 3 et 4, le photogène est décomposé. Il est donc impossible d'extraire une substance phosphorescente des Bactéries avec des solvants aqueux dépourvus d'oxygène.

6° Avec les dissolvants des graisses, on ne peut extraire aucun photogène des Bactéries desséchées. Quelques-unes de ces Bactéries survivent et peuvent cultiver après ce traitement.

L'alcool bouillant, l'acétone froid et le butyrate d'éthyle détruisent le pouvoir photogénique.

7° Les Bactéries desséchées ne perdent pas le pouvoir photogène après vingt-quatre heures de contact avec l'alcool absolu froid, mais les Bactéries humides (centrifugées) traitées par cinq volumes d'alcool absolu, et celles qui ont été desséchées rapidement ne brillent pas si on les mouille.

Les enzymes concernant la photogénèse sont donc, en conséquence, très différentes des oxydases ordinaires, lesquelles ne sont pas détruites par l'alcool ou l'acétone. C'est la confirmation de mes propres conclusions (26).

Harvey annonce qu'il a commencé des recherches sur les enzymes oxydantes des Bactéries lumineuses et qu'il compte en publier bientôt les résultats.

Il pense que la matière photogène est probablement de nature protéique (p. 238), et là encore il confirme l'exactitude de mes recherches.

Harvey dit aussi qu'il a conduit ses recherches en admettant que la lumière est produite par l'oxydation d'une substance fluorescente (photogène), en présence de l'eau de l'oxygène libre et de quelqu'enzyme oxydante. Mais il ne dit pas, à cette occasion, que cette théorie est précisément celle à laquelle j'ai

été conduit le premier par mes recherches sur la photogénèse, poursuivie pendant plus d'un quart de siècle. Il attribue, à tort, à Molish l'expérience que j'ai réalisée le premier, et qui consiste à séparer, au moyen d'un filtre de Chamberland, d'un bouillon tenant en suspension des Bactéries lumineuses seulement un liquide non lumineux stérile (v. 2, p. 506, et 3, p. 28). Cela tient sans doute à ce que, dans son livre (6), Molish ne parle guère de mes recherches que lorsqu'il croit pouvoir les prendre en défaut, ce qu'il prouve qu'il ne les ignore pas (7). Il les réédite parfois sans me citer ; par exemple, dans le cas relaté plus haut, et aussi à propos de ma « lampe vivante », qu'il a purement et simplement réinventée (8), entre autres choses relatives à la biophotogénèse.

Dans le travail de Harvey, paru en 1915 (7), non seulement il est attribué à Molish des recherches qui ne lui appartiennent pas (9 et 10), mais encore j'ai été surpris d'y voir citer, en outre, le nom de Mc Dermott, alors que le mien est passé complètement sous silence. Il est vrai que Harvey donne une référence ([11], p. 397) dans laquelle je trouve cette phrase : « *these results, as well as the previous result of Mc Dermott (1911) and Dubois (1912), using fresh watery material, show conclusively that the photogenic substance is not a fat or fat-like body any Kind.* » La situation ne doit pas être présentée de cette façon, car le lecteur non prévenu pourrait croire que je n'ai fait que contrôler et vérifier les résultats obtenus par Mc Dermott, alors que c'est tout le contraire qui est la vérité. Cela tient sans doute à ce qu'à ce moment Harvey ne connaissait encore que ma communication au Congrès international de Chimie appliquée, tenu à Washington, New-York, en septembre 1912. Et encore n'est-ce pas là une explication suffisante, car dans cette note (12) se trouvent les indications bibliographiques nécessaires pour établir que si mes recherches m'ont conduit, particulièrement en ce qui concerne les Insectes lumineux (Pyrophores), à des conclusions de même ordre que celles de Mc Dermott, elles sont de beaucoup antérieures à ces dernières et bien plus complètes, puisque je ne me suis pas contenté de dire que le principe photogène n'est pas un corps gras ou un lipoïde, mais

que j'ai montré expérimentalement qu'il s'agit d'un corps protéique (1).

Toutefois, je dois m'empresseur d'ajouter que je ne veux en aucune façon mettre en doute la bonne foi de Harvey, car il m'a, postérieurement à la publication de la note visée plus haut, écrit une lettre pour me demander des renseignements complémentaires sur les résultats de mes recherches.

Enfin, dans une seconde note parue en 1916 (7), E. Newton Harvey rappelle mes recherches sur la Pholade dactyle et sur le Pyrophore noctilucque, démontrant que la lumière naît du conflit de la luciférine et de la luciférase, en présence de l'oxygène, qui oxyde la luciférine, et il dit à ce propos (p. 449) : « *I have been able to verify the above for Pyrophorus and to show that the common American fire-flies contain luciferin and luciferase also to demonstrate that luciferine from one genus of fire-fly (PHOTINUS) will act with luciferase from another genus (PHOTURIS) and VICE VERSA ; also that fire-fly (LAMPYRIDÆ) luciferase will act with Pyrophorus (ELATERIDÆ) luciferine and VICE VERSA. Non-luminous parts of fire-fly contain no luciferase, however, no do non-luminous insect or extracts of earth-worms, slugs or pill bugs.* »

« J'ai pu vérifier ce qui précède pour le Pyrophore et démontrer que la Mouche lumineuse américaine commune contient la luciférine et la luciférase ; et aussi démontrer que la luciférine d'une espèce de Mouche lumineuse (*Photinus*) peut agir avec la luciférase d'un autre genre (*Photuris*) et *vice versa* ; aussi que la luciférase de Mouche lumineuse (*Lampyridæ*) peut agir avec la luciférine du Pyrophore (*Elateridæ*) et *vice versa*. Les parties non lumineuses des Mouches lumineuses ne contiennent pas de luciférase, à quelque degré que ce soit, non plus que les Insectes non lumineux, ou les extraits de Ver de terre, de Limaces ou de Scarabées. »

Il reconnaît que l'oxygène est essentiel pour la production de la lumière, mais qu'en son absence la luciférase est cependant

(1) *Remarque.* — Quoique cela me soit infiniment pénible, j'ai dû bien souvent faire des réclamations de priorité, particulièrement à propos de publications américaines, comme celles de MM. Ives et W. Coblenz, de Mc. Dermott, par exemple. Ceci ne veut pas dire que les indications bibliographiques insuffisantes ou inexacts soient spécialement fréquentes aux Etats-Unis, car, en ce qui me concerne, c'est plutôt mon pays qui tient le

capable de modifier la luciférine en quelque manière. Il peut être démontré par introduction dans l'eau privée d'oxygène que la luciférine et la luciférase mélangées se maintiennent, mais peu de temps, car si l'oxygène est admis en cinq minutes, on obtient encore de la lumière ; mais si l'on attend une heure avant d'introduire l'oxygène, la lumière ne se produit pas. La luciférine seule ou la luciférase seule sont stables plus de six heures.

J'ai depuis longtemps (5, p. 132) démontré que l'on pouvait éviter ces altérations en mettant la luciférine seule, et la luciférase seule, ou même les deux substances mélangées dans une solution saturée de sucre ; je n'ignorais donc pas les faits signalés comme nouveaux par Harvey. Le sirop de sucre a la propriété d'empêcher la luciférine de s'oxyder lentement, et sans lumière, au contact de l'oxygène de l'air, comme cela arrive pour d'autres produits très oxydables. Il agit autrement sur la luciférase, dans le mélange de luciférine et de luciférase : chacun sait que les enzymes n'agissent pas sur les substances qu'elles attaquent ordinairement, en présence des solutions concentrées, exosmotiques, la luciférase se comporte ici encore comme une enzyme et son action spéciale destructive de la luciférase, qui peut, en effet, s'exercer même dans l'eau privée d'oxygène, est également empêchée. Il n'y a là rien de nouveau.

Harvey dit encore (p. 450) : « Les Bactéries contiennent aussi de la luciférine, mais en très petite quantité, comme il appert de leur faible intensité lumineuse et aussi à cause de sa production ininterrompue. *« I have been wholly unable to demonstrate it y a repetition of Dubois experiment, due in part I think to the fact that in Bacteria the luciferase ist an endoenzyme wich cannot be extracted by the ordinary biochemical methods. »* « J'ai pu complètement démontrer cela par la répétition des expériences de Dubois, résultat dû, en partie, je pense, à ce que la luciférase est un endoenzyme, qui ne peut pas être extrait par les méthodes ordinaires de la biochimie. »

« Si on emploie la luciférase de la Mouche lumineuse (Luciole), on peut obtenir de la lumière, dit Harvey, avec la luciférine bactérienne préparée de la manière suivante : on

record, mais j'ai bien souvent pensé à cette sentence, attribuée à Edison, qu'il est plus facile de faire une découverte que d'en conserver la propriété.

ajoute de l'alcool absolu au magma dense de bactéries, on sépare l'alcool par centrifugation, et on dessèche rapidement par évaporation dans le vide. La poudre qui en résulte ne donne pas de lumière avec l'eau, mais donne une lumière très faible avec une solution de luciférase de Luciole. Cette opération, pratiquée avec l'acétone au lieu d'alcool, ne donne pas de lumière avec la luciférase de Luciole, non plus qu'avec les Bactéries chauffées une demi-minute à deux minutes, à 100 degrés centigrades. Pensant que la luciférine bactérienne, aussi bien que la luciférase, peut être détruite au-dessous de 100 degrés, j'ai employé des températures inférieures de 90, 80, 70, 60 et 50 degrés pendant deux minutes, mais, dans aucun cas, la lumière n'a été obtenue quand on ajoutait de la luciférase de Luciole à ces Bactéries. Probablement, la provision de luciférine dans les Bactéries lumineuses est si petite, qu'elle est brûlée avant que la température se soit élevée assez pour détruire la luciférase. D'ailleurs, l'addition de l'alcool empêche instantanément l'action de la luciférase. *Pour obtenir une poudre bactérienne qui puisse donner la lumière avec la luciférase de Luciole, il est nécessaire d'enlever l'alcool et de dessécher aussi vite que possible ; autrement, la luciférine est aussi détruite... »*

« La luciférine des Bactéries, comme celle de la Luciole, peut être transformée ou disparaître en restant en contact avec l'eau dépourvue d'oxygène, comme je l'ai démontré. On peut objecter, en passant, que les expériences avec la luciférine des Bactéries ont été faites avec une émulsion non filtrée de Bactéries, et qu'il en est passé une petite quantité au travers du filtre. Mais la luciférine de Luciole peut être obtenue en filtrat parfaitement clair, libre de toute cellule ou débris de cellules.

Harvey n'a pu extraire la luciférase des Bactéries, mais cela n'est pas surprenant, dit-il, car beaucoup d'enzymes se trouvent dans les Bactéries dans des conditions qui défient l'extraction, excepté par le moyen de la presse de Büchner, et il est difficile d'obtenir des Bactéries en assez grande quantité pour appliquer cette méthode. « *Je considère comme certain, ajoute-t-il, que des oxydases y sont contenues et qu'elles sont à l'état d'endoenzymes.* » « *I fell certain that the oxidases are*

contained in these Bacteria in this endoenzyme condition. » (P. 45.)

Plusieurs auteurs cités par Harvey ont échoué dans leurs tentatives d'extraction des endoenzymes des microbes, par exemple de la tyrosine : « Here also the tyrosinase is apparently in an endoenzyme condition (macrozymases avec structure spéciale : vacuolide, microleucites).

« D'ailleurs, s'il n'est pas douteux que la luciférase soit une oxydase, elle n'est pas semblable aux oxydases des sucres de plantes : de Pommes de terre ou de Navet. La luciférine des Bactéries ou des Lucioles ne donne pas de lumière, avec le jus de Pomme de terre ou de Navet, même après addition de H_2O_2 . La luciférase de Luciole est aussi très rapidement détruite par l'eau chloroformée, alors que l'oxydase du jus de Navet peut être indéfiniment préservée par le chloroforme. La luciférine de Luciole n'est pas détruite par le chloroforme, mais une solution de luciférine gardée sous le chloroforme perd son pouvoir de phosphorescence dans le courant de dix à douze jours. Sous beaucoup de rapports, la luciférine de la luciole est de beaucoup la substance la plus stable.

Harvey a résumé ses recherches de la façon suivante et ses conclusions méritent d'être reproduites textuellement (p. 452) :

1° L'attention est appelée sur la découverte de R. Dubois, en 1885-1886, de la présence d'une substance « thermostable », oxydable, la luciférine, et d'une thermolabile « enzyme-like substance », la luciférase, dans les organes lumineux d'un Mollusque : *Pholas dactylus*, et d'un Coléoptère : *Pyrophorus noctilucus* ;

2° De semblables substances se trouvent dans la Mouche lumineuse américaine et peuvent être obtenues en solution filtrée au travers du papier ;

3° La luciférine de *Photinus*, *Photuris*, *Pyrophore* peut donner de la lumière avec la luciférase de l'un des trois genres, et vice versa ;

4° Les parties non lumineuses des Mouches lumineuses, ou extraits de quelque autre Insecte non lumineux, Limaces, Vers de terre ou Scarabée, ne donnent aucune lumière avec la luciférine ;

5° La luciférine dans un état très impur peut être obtenue

par précipitation des Bactéries lumineuses avec l'alcool, et peut donner de la lumière avec la luciférase de Luciole ;

6° La luciférase ne peut pas être extraite des Bactéries, parce qu'elle y est probablement à l'état d'endoenzyme ;

7° Les oxydases du Gaïac, de α -naptol, de paraphénylène-diamine, phénol, phénolphtaléine, pyrogallol ou de composés indo-phénoliques, s'ils sont présents, sont aussi dans une condition d'endoenzyme ;

8° En présence de l'oxygène, la luciférase décompose la luciférine avec production de lumière ; en l'absence d'oxygène, la luciférine est aussi décomposée, mais sans production de lumière ;

9° La luciférase de la Luciole est rapidement détruite par l'éther ou par le chloroforme, ce qui les différencie des oxydases végétales. La luciférine de Luciole n'est pas rapidement détruite par l'éther ou le chloroforme ;

10° La luciférine des Bactéries ou des Lucioles ne donne pas de lumière avec les oxydases de la Pomme de terre, avec ou sans addition de peroxyde d'hydrogène (1).

En lisant le compte rendu du travail d'Harvey du *the Pharmacy Journal* et celui du *Journ. Amer. Chem. Soc.* parus en 1916, et en se rapportant à ce qui a été dit plus haut, on voit combien est incomplète et même inexacte l'idée qu'il peuvent en donner. Enfin, n'est-il pas piquant de constater que mon

(1) *Remarque.* — Les écrits d'Harvey ont été altérés dans d'autres comptes rendus, en particulier dans celui du *Journal de Pharmacie et de Chimie* (p. 160, 1916) : *Nature de la substance photogénique de la Mouche lumineuse* ; par M. E.-N. Harvey. Il est vrai que ce compte rendu est emprunté au *the Pharmac. Journal* (du 10 juin 1916, p. 597). « Des recherches sur la biophotogénèse ont montré que trois facteurs au moins sont nécessaires pour qu'il y ait production de lumière : l'eau, l'oxygène et une substance photogénique ; il y a probablement un quatrième facteur, qui ne serait autre qu'un ferment oxydant. On ne sait rien de précis sur cette enzyme, au moins dans le cas de la Mouche lumineuse, mais il a été démontré que la substance photogénique n'est ni une graisse, ni une substance se rapprochant des corps gras. L'auteur décrit ses essais d'extraction de la substance photogénique. Ils montrent que : le photogène, l'enzyme, les « activateurs » de l'enzyme, ou toutes ces trois substances, subissent des modifications qui ne sont pas des oxydations, lorsqu'elles restent en contact avec l'eau durant un temps suffisant pour dissoudre la substance lumineuse. L'eau, l'oxygène et une substance photogénique ne seraient pas les seuls facteurs de la luminescence. Les résultats obtenus montrent que le problème de l'isolement et de l'identification de la substance photogénique est extrêmement délicat. »

nom est complètement passé sous silence à propos d'une découverte dont Harvey lui-même a pu contrôler l'exactitude et m'en attribuer tout le mérite.

Dans une autre note (11) antérieure à celle dont j'ai parlé plus haut, Harvey rappelle mes recherches et celle de Mc Dermott, de beaucoup postérieures aux miennes, sur l'action des agents liquides sur la substance lumineuse des Insectes, et admet, à son tour, que le photogène n'est ni un corps gras, ni un lipoïde. Il dit que la poudre obtenue par dessèchement des Bactéries lumineuses est entièrement semblable à la substance lumineuse des Lucioles.

Entre temps, Harvey étudie la production de la lumière par certaines substances en présence des oxydases (17).

Après avoir rappelé les recherches de Radziszewski sur la luminescence de la lophine, de différents alcools et aldéhydes dans des conditions incompatibles avec la vie, et celles de Trautz, qui a ajouté quelques autres exemples à la liste de Radziszewski, Harvey cite ma découverte de la luminescence de l'esculine et de sa luminosité à froid, en présence du sang et de l'eau oxygénée H_2O_2 (1), dont il a contrôlé l'exactitude. Il a trouvé, en outre, que, contrairement à mon opinion, l'esculine peut donner de la lumière avec $K_2Mn_2O_8$ et H_2O_2 . Il est préférable d'agir à une température de 60 degrés centigrades. Il a trouvé également que l'esculine brille avec $FeCl_3 + H_2O_2$, mais non avec $FeCl_3$ ou $K_2Mn_2O_8$ ou H_2O_2 seuls, ni avec les extraits de plantes riches en oxydases (Navet, Pomme de terre, Radis rouges, même avec ou sans H_2O_2). L'ébullition ne fait pas perdre au sang son action, la turpentine ozonisée peut remplacer H_2O_2 .

« Il est intéressant, dit Harvey, de noter la ressemblance entre l'oxydation avec production de lumière de l'esculine et de la lophine par le moyen des oxydases du sang, et l'oxydation de la luciférine par la luciférase, substances trouvées dans les animaux lumineux. Sauf que la luciférase est instantanément détruite par l'ébullition, et est active à une très basse température, le parallèle est vraiment frappant. »

(1) Il ne parle pas de la collection des corps luminescents nouveaux que j'ai découverts en plus de l'esculine (8), bien que mes recherches aient donné lieu à d'intéressantes applications.

Harvey a récemment découvert une réaction lumineuse qui imite dans tous ses détails le processus qui se présente dans les organismes lumineux et établit la nature intime de ce processus : c'est l'oxydation d'un mélange de pyrogallol + H_2O_2 par une oxydase végétale, accompagnée de production de lumière. « Cette réaction est hautement intéressante, dit-il, et remarquable pour cette raison qu'une lumière perceptible est encore produite avec une partie de pyrogallol pour 254.000 parties de solution. Une faible lumière se produit même à 0 degré centigrade, et une brillante lumière à 10 degrés centigrades ; KCN n'inhibe pas la réaction : l'ébullition détruit l'oxydase juste comme cela arrive pour la luciférase.

Le pyrogallol + H_2O_2 correspond à la luciférine et l'oxydase végétale à la luciférase. La lumière produite est jaunâtre et dure deux à quatre minutes, avec une intensité à peu près égale à celle d'une culture liquide de Photobactéries. Harvey dit qu'il ne sait pas si la luciférase n'est pas usée en oxydant la luciférine, et que ce sera l'objet d'une prochaine note. C'est cependant sur sa persistance que repose mon procédé de séparation de la luciférine et de la luciférase de la sécrétion de Pholade.

L'oxydase de jus de Pomme de terre peut oxyder le Gaïac sans H_2O_2 .

Il s'agit donc, dans l'expérience de Harvey, d'une peroxydase, puisque le sang aussi donne la réaction (1).

De tous les amino-phénols, seul le pyrogallol donne de la lumière. $K_4Fe(CN)_6$, $KMnO_4$ ou $FeCl^3$ peuvent prendre la place de l'oxydase. Na_2O_2 , BaO_2 , ou la turpétine ozonisée ne peuvent pas remplacer H_2O_2 . Les extraits animaux, excepté

(1) *Remarque.* — La différence entre le jus de Pomme de terre qui oxyde le Gaïac sans addition de H_2O_2 , et celui de Navet, qui requiert cette addition de H_2O_2 , paraît liée, d'après Harvey, à ce fait que la Pomme de terre contient une substance « oxydisable » spontanément par addition d'un peroxyde, ce que le Navet ne présente pas. En conséquence, nous devons, dit Harvey, ajouter un peroxyde à ce jus de Navet. Cette substance « oxydisable » spontanément a été appelée par Bach et Chodat « oxygénase ». — Les deux jus contiennent une peroxydase. Les « oxydases directes » (Pomme de terre) contiennent, eux, de l'oxygénase plus une peroxydase, tandis que les « oxydases indirectes » (Navets) sont des peroxydases seules. Dans cette note le mot « oxydase » exprime, en général, soit une enzyme oxydisante avec peroxydase, soit une enzyme transférant l'O d'un peroxyde à une substance oxydisable. (V. à ce sujet in *Bayliss' Principles of general. physiol.*, 1915, p. 584.)

ceux de Chiton et de quelques Annélidés marines, ne donnent pas de lumière.

La lumière est produite à 0 degré et est brillante à 10 degrés. L'oxydase du jus de plante est détruite entre 80 degrés et 85 degrés.

KCN inhibe la production de la lumière en très faible concentration : $n/1280$ à $n/2560$. NaOH l'inhibe en $n/40$ et HCl en $n/80$ de concentration.

L'éther et le chloroforme n'ont pas d'effet sur la production de la lumière.

L'oxydase n'est pas un vrai catalyseur, mais il agit en transférant oxygène de H_2O_2 au pyrogallol.

La réaction est comparable à la production de la lumière par les animaux lumineux, *qu'elle imite vraiment très exactement.*

Dans sa note du 11 août 1916 (16), Harvey dit que l'on sait depuis longtemps que la poudre d'organes lumineux desséchée mise en contact avec de l'eau froide contenant de l'oxygène, donne de la lumière. Si cette eau froide est privée d'oxygène, il n'y a pas de lumière, mais au bout d'une heure le pouvoir photogénique a disparu, si l'on rend O. La substance photogène est donc décomposée sans lumière. Le même phénomène lumineux se produit avec la lophine (triphénylglyoxaline) en présence de la potasse alcoolique et de O et il y a formation d'acide benzoïque et d'ammoniaque; au contraire, en l'absence d'O, on n'a pas de lumière, mais formation de benzaldéhyde, au lieu d'acide benzoïque. L'alcali agit comme un catalyseur.

Dans la Mouche lumineuse, il est naturel de supposer qu'un catalyseur organique, une enzyme intervient dans la production de la lumière, et le but de cette note, dit Harvey, est de marquer ce point que *le fait de l'existence d'une telle enzyme a été définitivement prouvée*, et d'ajouter certains faits nouveaux pour la connaissance de la bioluminescence. « *Le mérite de cette découverte revient entièrement au professeur Raphaël Dubois, de l'Université de Lyon. Au début, en 1884, Dubois fait les expériences cruciales, dans lesquelles il montre que deux substances sont présentes dans l'organe lumineux du PYROPHORUS NOCTILUCUS, « le WEST INDIAN CUCULLO » : une thermostable (1) substance, la luciférine, qui s'oxyde avec produc-*

(1) Il fallait écrire « thermolabile ».

tion de lumière, et une thermolabile enzyme, la luciférase. En 1887, Dubois montre que la même chose est vraie pour un Mollusque lumineux, *Pholas dactylus*. « *In the fire-fly it is natural to suppose that on organic catalyser an enzyme, is concerned in licht production and it is the purpose of this paper to point out the fact to our knowledge of bioluminescence. The credit of this discovery belongs entirely to Professor Raphaël Dubois, of the University of Lyon. As early as 1884 Dubois made the crucial experiments in wich he showed that tow substances are present in the luminous organs of PYROPHORUS NOCTILUCUS, THE WEST INDIAN CUCULLO, a thermostabile substance, luciférine wich oxidizes with licht production and a thermolabile enzyme luciferase. In 1887, Dubois showed that the same was true for the luminous mollusc Pholas dactylus...* »

Harvey décrit mon expérience cruciale sur la Pholade et ajoute : *It is astonishing that work such as that referred to above, published in well-known journals by a competent physiologist, should have receive so little attention no good account of Dubois's work is to be found in any if the physiologie in English as German although he is mentioned as the author of luciferin- luciferase « theory ». I have recently a great many of Dubois's statements and to add some new facts. My material has been the WEST INDIAN CUCULLO, PYROPHORUS (1), the eastern american fire-flies, PHOTINUS and PHOTURIS, and luminous BACTERIA. THERE IS ABSOLUTELY NON DOUBT OF THE EXISTENCE OF LUCIFERASE AND LUCIFERINE and the possibility of separating these tow substances (1).* »

Harvey insiste de nouveau sur ce qu'il a dit précédemment.

A propos de la présence de la luciférase et de la luciférine dans les Photobactéries et sur la possibilité de produire de la lumière en faisant agir la luciférase d'une espèce sur la luciférine d'une autre espèce et *vice versa*, Harvey se demande si la luciférine et la luciférase de toutes les espèces sont identiques, et dit que la question reste ouverte.

J'ai répondu par avance à cette question dans mon livre LA VIE ET LA LUMIÈRE (p. 133) : « Il existe peut-être plusieurs varié-

(1) Les études de Harvey ont été faites au *Departement of biology, Princeton University New-Jersey*, sous les auspices du département de la biologie marine, de l'Institut de Carnegie, de Washington.

tés de luciférasas et de luciférines, mais ce ne sont que des variétés, et le processus photogénique est le même partout. »

C'est après plus d'un quart de siècle de recherches sur les organismes photogènes les plus variés que j'ai cru pouvoir formuler cette affirmation.

Harvey ajoute encore :

« D'une manière générale, nous avons dit que le problème de la bioluminescence est résolu, au moins dans son plus large aspect. *In a general way, we many say that the problem of bioluminescence has been solved at least in its broad aspects* (p. 4).

« Il reste plusieurs détails à poursuivre, qui exigent quelque temps pour être complétés. La nature chimique de la luciférine est méconnue, mais la méthode pour attaquer le problème a été déterminée, et il est nécessaire d'avoir une quantité suffisante de matériel pour en fixer la nature chimique. La difficulté d'en obtenir assez pour l'analyse est indiquée par ce fait que la luminescence du pyrogallol exige une quantité infiniment petite de substance : 1 : 254.000. »

Après tout ce qui vient d'être rapporté, n'y a-t-il pas lieu d'être véritablement stupéfait en lisant, dans un autre mémoire d'Harvey (24), cette phrase (p. 322) : *At one time I believed Dubois' interpretation of this experiment to be correct but results on Cypridina have led me to wholly dimerent conclusions regarding the existence of luciferine and luciferase. Dubois' interpretation is ineadad attractive. We know that the light production is an oxidation, that tow substances are concerned, that these substances give light in very small concentration comparable with enzyme activity, that one of them con use a large amount of the other and possesses certain properties (destruction by heat, phosphotungtic and tannic acide) characteristic of enzymes. Further, we actually know of oxidative reactions taking place with the production of light under the action of oxidizing enzyme from plants and animals.*

« *It is quite possible that light production in Pholas dactylus is of this nature as it differ, radically in very essential point from the mecanisme in Cypridina and in Fire-fly.* »

Et, plus affirmativement encore, Harvey dit (p. 319) :

« *Contrary to my stand in previous papers of this serie, I am*

now certain that Dubois' explanation of the action of luciferase and luciferine is quite incorrect, unless indeed light production be a different process in Pholas dactylus from that in Cypridina and Fire-fly. »

Ce qui est incorrect, c'est ou bien tout ce que Harvey a écrit antérieurement à ses recherches sur *Cypridina* ou bien tout ce qu'il a écrit après, puisque dans la première série de ses recherches expérimentales tout confirme mes résultats, en les complétant même, et que, dans la seconde, il déclare inexact le rôle que j'attribue respectivement à la luciférine et à la luciférase !

L'examen attentif du mémoire en question montre que ce sont les dernières conclusions de Harvey qui sont incorrectes, et on se rend facilement compte des causes de cet avatar pourtant si imprévu.

Harvey s'est rendu au Japon, et là, il a étudié la biophotogénèse sur deux Lucioles, *Luciola parva* et *Luciola vitticollis*, sur un Crustacé Ostracode *Cypridina hilgendorfi*, sur un Squid ?) *Watasenia scintillans*, sur une Pennatulide, *Cavernula haberi* et sur un Protozaire, *Noctiluca miliaris*. Il n'a pas réussi à obtenir la réaction luciférine-luciférase avec *Watasenia Cavernula* et *Noctiluca*. Il reconnaît que les organismes renfermant assez de substances photogènes pour se prêter à une étude chimique sont rares.

C'est bien pour ce motif que je me suis plus spécialement attaché à l'étude approfondie de *Pyrophorus noctilucus* et de *Pholas dactylus*, qui, outre une quantité relativement abondante de matière photogène, offrent un terrain particulièrement propice à une analyse physiologique du mécanisme organique de la fonction photogénique, laissé complètement de côté par Harvey, qui paraît être exclusivement chimiste.

Harvey a accordé sa préférence aux Lucioles et à la Cypridine, et il a constaté que **ces espèces contiennent toutes deux certains corps semblables à la luciférine et à la luciférase** : « *As Dubois first demonstrated for Pyrophorus in 1885, so also in Cypridina, we may distinguish and separate two substances, in Dubois' terminology, luciferin and luciferase, which must be brought together before light will result* » (p. 319).

Comme dans tous les autres animaux méazoaires, la sub-

stance photogène est une sécrétion formée dans une glande spéciale. Chez la Cypridine, il s'agit d'une glande à sécrétion externe, dont l'ouverture se fait près de la bouche. Son anatomie a été décrite par Doflein (1) et 3, 1917.

Les cellules glandulaires sont jaunes, comme de coutume : on peut exciter la sécrétion par la pression ou par l'électricité : elle diminue, puis cesse par la fatigue. De tout ceci, il ne résulte rien de nouveau.

Ces cellules glandulaires sont remplies d'une substance jaune, composée de globules jaunes de 2 à 6 μ de diamètre. C'est ce que l'on voit partout : ce sont mes vacuolides.

Ces globules sont « dissous » dans un liquide incolore, absolument libre des granulations visibles donnant la lumière. Harvey ne dit pas d'où vient ce liquide : il ne l'a pas examiné à l'ultramicroscope et ne peut pas, par conséquent, affirmer qu'il ne renferme pas de granulations.

La sécrétion de *Cypridina*, vue la nuit, « paraît » parfaitement homogène, mais cela ne prouve nullement qu'elle le soit ; la lumière de la voie lactée nous donne la même impression d'homogénéité.

Cela n'empêche pas Harvey de reconnaître que « la lumière, sans aucun doute, vient des globules jaunes ». C'est ce qui a toujours été constaté et dit par moi de la luciférine, en général.

« Le fait que les deux substances photogènes peuvent traverser les filtres Pasteur-Chamberlain ou Berkefeld, prouve que les particules, si elles existent, sont extrêmement petites ».

Mais oui, elles sont très petites, et si Harvey avait employé l'ultramicroscope, il les aurait vues, car il y en a dans toutes les substances colloïdales, c'est une nécessité de l'état colloïdal ; or, la luciférine et la luciférase sont des colloïdes. La dialyse n'infirmes nullement la présence de granulations colloïdales, car il y a des colloïdes qui dialysent. Or, j'ai dit que la luciférine dialyse assez facilement et la luciférase beaucoup plus difficilement, ce qui, d'ailleurs, a été vérifié par Harvey.

Les globules jaunes, qui sont des vacuolides de luciférine, qu'il ne faut pas confondre avec les granulations colloïdales, ne se « dissolvent » pas, comme le pense Harvey, elles se résol-

(1) *Sitzungsber d. Ges. f. Morph. u. physiol. München*, 1906, t. XXII, p. 133.

vent en sols colloïdaux et non en solutions vraies. Mais tout cela n'empêche pas que les dernières propriétés indiquées par Harvey pour la substance jaune des glandes photogènes confirment bien que cette substance jaune photogène est certainement de la luciférine.

Harvey reconnaît que la présence de l'oxygène est nécessaire pour que le phénomène lumineux se produise. Ai-je dit autre chose ?

La substance des glandes broyée et desséchée brille avec l'eau et garde son pouvoir lumineux après plusieurs lavages à l'éther : ce n'est donc pas un lipide. Encore une fois, ai-je dit autre chose de la luciférine ?

L'eau de mer rendue lumineuse par la pression des Cypri-dines et filtrée ne *répond* pas, dit Harvey, aux réactifs biochimiques communs. Elle ne donne pas de précipité par l'acide picrique, ou par saturation avec $(\text{NH}_4)_2 \text{So}^4$, ou par ébullition, même avec une légère acidification. La réaction de Fehling est négative, comme celle du biuret, et aussi comme la réaction xanthoprotéique pour protéines^e; elle ne donne pas la réaction de Molish pour les hydrates de carbone et ne répond pas au réactif de l'indophénol (naphtol α + paraphénilène diamine + H^2O^2) pour oxydases.

Mais Harvey s'empresse d'ajouter heureusement qu'il n'a pas l'intention d'inférer de cela que la substance lumineuse n'est pas une protéine, un corps gras ou un oxyde de carbone, mais simplement que la concentration donnant une vive lumière est encore trop faible pour répondre aux réactifs chimiques. En effet, d'après l'auteur, une partie de la substance de la glande lumineuse, mêlée à 1.600.000.000 parties d'eau, peut encore donner une lumière visible.

Mais Harvey aurait pu et dû ajouter que tous les réactifs physiques et chimiques qui précipitent ou altèrent les substances protéiques éteignent la lumière : ébullition, acide picrique, tanin, sublimé, etc., etc., ce qui prouve bien leur présence et leur activité dans le liquide lumineux.

Quant à l'absence de la réaction indiquant la présence des oxydases, nous aurons l'occasion d'y revenir, mais on peut dire qu'ici encore la quantité infinitésimale de substance oxydante peut être invoquée et qu'en outre, on peut admettre que celle-ci

a plus d'affinité pour la luciférine que pour toute autre substance oxydable.

La lumière de la sécrétion de Cypridine dans l'eau de mer disparaît au bout de quelque temps et aucune agitation ne la peut faire reparaître.

C'est ce qui se passe exactement avec la sécrétion lumineuse de Pholade dactyle, parce que la luciférine est oxydée et détruite par la luciférase bien avant que cette dernière soit usée.

Plus loin, Harvey ajoute : « Si nous mêlons ce liquide éteint avec un extrait où la lumière a été détruite par l'ébullition, la lumière reparaît de nouveau. »

Mais n'est-ce pas là la reproduction exacte de mon expérience initiale, qui m'a conduit à la découverte de deux substances distinctes de la réaction desquelles naît la lumière ?

Seulement, Harvey parle d'extrait éteint par *ébullition*. Or, la luciférine de la Pholade est détruite à 70 degrés. En serait-il autrement de la luciférine de Cypridine ? Cela me paraît très douteux ; en tous cas, cette expérience de Harvey n'est que la répétition de la mienne, *sauf que je ne chauffe pas au delà de 70 degrés* pour détruire la luciférase en conservant seulement la luciférine.

« *According to Dubois, one of these, luciferase, is an oxidizing enzyme and is destroyed by heat : the other, luciferine a substance not destroyed by heat is capable of oxidation with light production by means of luciferase.* »

Tout cela est exact, sauf un point *essentiel* signalé plus haut, et je ne conçois pas que Harvey ait pu écrire que, d'après moi, la luciférine est « thermostabile », qu'elle n'est *pas détruite* par la chaleur, alors que je n'ai cessé de répéter qu'elle l'était à 70 degrés.

Je ne suis pas surpris qu'après avoir admis dans ses nouvelles expériences que la luciférine n'était pas détruite par la chaleur, il arrive à des conclusions différentes des miennes et à embrouiller une question jusque-là très claire pour moi et pour lui-même : « *but results of CYPRIDINA have led me to wholly different conclusions regarding the existence of luciferine and luciferase* » (p. 322). *Dubois' interpretation is indeed attractive.*

En pouvait-il être autrement, puisque ma luciférine qui n'est pas *thermostabile*, comme le dit Harvey, mais *thermolabile*,

comme la luciférase, devient, dans les expériences d'Harvey, une substance non détruite par la chaleur. C'est à partir de ce moment que commence notre « brouille », et, comme on le voit, elle repose sur une erreur de fait commise par Harvey, à mon grand étonnement.

Alors, sur l'extrait de Cypridine *qu'il a fait bouillir*, Harvey essaie les réactifs de la luciférine, et il ne trouve plus aucune des réactions que j'ai indiquées comme la caractérisant : sang et H^2O^2 , $KMnO_4$, BaO_2 , PbO_2 faisant apparaître la lumière par oxydation de la luciférine.

Le contraire eût été bien surprenant, en vérité, puisqu'encore une fois, la luciférine est détruite à 70 degrés. On obtiendrait le même résultat négatif en faisant bouillir la sécrétion de Pholade ;

Harvey trouve que sa « *Cypridina luciferin* » (substance non immédiatement détruite par la chaleur) donne de la lumière avec luciférase), mais non avec les oxydants mentionnés ci-dessus, et qu'elle se rencontre en beaucoup d'autres animaux non lumineux ainsi que dans les parties non lumineuses de *Cypridina hilgendorffii*.

J'ai vainement cherché la luciférine en dehors des organismes photogènes les plus divers, et la seule affirmation de M. Harvey, qui n'indique pas sur quelles expériences elle repose, ne saurait me convaincre. D'autant moins que voici une autre affirmation, de même ordre, que je ne puis accepter, comme contraire également à mes travaux poursuivis pendant un quart de siècle, à savoir que la luciférase se trouve seulement dans les organes lumineux de Cypridine.

Comment Harvey peut-il arriver à une semblable constatation ? Il semble ignorer tous les travaux qui ont été faits avant lui sur les *Crustacés lumineux*, à moins qu'il ne les passe volontairement sous silence, ce qui serait plus regrettable encore.

La sécrétion se forme dans une glande spéciale de cellules fusiformes jaunes, comme toutes celles qui renferment de la luciférine. En outre, un excellent observateur, qui s'est beaucoup occupé de la biophotogénèse chez les Crustacés, Giesbrecht, a vu que dans les glandes lumineuses des Copépodes, la sécrétion peut être lumineuse même avant d'être rejetée au dehors, dans l'intérieur même des cellules glandulaires,

comme je l'ai constaté pour les glandes photogènes des Myriapodes. C'est ce qui ressort également de l'examen d'autres travaux sur les Crustacés physiologiquement lumineux.

Giesbrecht a montré, en plus, que les Copépodes Entomostracés du Golfe de Naples peuvent lancer à une certaine distance le contenu de la glande déjà lumineux avant l'éjaculation. Il a vu, en outre, avant Harvey, que le pouvoir photogène persiste assez longtemps après la mort sur les cadavres desséchés, où l'on peut ranimer la lumière avec un peu d'eau douce. L'alcool suspend par deshydratation la luminosité, les acides la suppriment et l'ammoniaque l'exagère : c'est ce que l'on voit partout, comme je l'ai fait remarquer dans mon livre sur *la Vie et la Lumière* (p. 50).

Les Crustacés ne constituent donc pas une exception, comme tendraient à le faire croire les paroles de Harvey.

Il ne se contente pas de cette affirmation que la luciférase seule se trouve dans les glandes lumineuses de Cypridine, sans dire comment il a fait cette étrange constatation, mais il avance que j'ai prétendu que la luciférine chez la Pholade dactyle se trouve seulement dans les organes lumineux. Cette assertion est inexacte ; Harvey pourra s'en convaincre en se reportant à mon mémoire intitulé : *Anatomie et la Physiologie de la Pholade dactyle* (p. 139 et 141 et pl. XIII, fig. 1, 2, 3), in *Ann. de l'Univ. de Lyon*, 1892, et, plus récemment, à ma critique du travail de Förster (1).

On ne doit pas attribuer des erreurs imaginaires à des chercheurs dont on se propose de combattre les idées, parce que cela peut prêter à des interprétations malveillantes, alors même qu'elles ne seraient pas fondées. Ayant admis, à tort, que la luciférase seule existe dans les glandes photogènes des Cypridines, Harvey trouve que cette substance, en solution concentrée, peut donner de la lumière avec des principes extraits de plusieurs animaux non lumineux.

Ce n'est pas de la luciférase (*Cypridina luciferase* de Harvey) que l'on peut dire cela, mais seulement du contenu des glandes photogènes. Or, ce dernier renferme la luciférine de Dubois, en même temps que la luciférase du même auteur, puisque le contenu des glandes des Crustacés peut briller avant l'émission de la sécrétion au dehors !

Si on éteint par la chaleur (70 degrés) le liquide lumineux de *Cypridina*, il renfermera encore de la luciférine et, dès lors, il n'y a rien d'étonnant à ce que des produits (extraits?) retirés d'animaux non photogènes fassent reparaitre la lumière.

C'est ce que j'ai établi depuis longtemps à propos de la Pholade dactyle (28 et 5, p. 130). C'est la luciférase que j'ai rencontrée chez beaucoup d'organismes non photogènes, et pas la luciférine, laquelle est spéciale aux organismes lumineux.

En appelant « luciférase » ce que j'appelle « luciférine » et « luciférine » ce que je nomme « luciférase », Harvey est parvenu à introduire une regrettable confusion dans une question particulièrement très claire, comme on en peut juger par la lecture de mon livre sur *la Vie et la Lumière*.

Le revirement brusque d'opinion de Harvey n'est cependant pas de nature à me faire supposer qu'il ait voulu, comme on dit dans certains cas, « pêcher en eau trouble ».

Partant de faits inexacts et d'assertions contraires à ce que j'ai avancé, il n'est pas étonnant que l'*imbroglio* continue.

Alors, Harvey nous annonce que le contenu des glandes photogènes, qui, d'après lui, serait exclusivement formé de « *Cypridina luciferase* », donne de la lumière quand on le mélange avec des substances diverses : chloroforme, éther, benzol, thymol, saponine, acide oléique, atropine, NaCl et autres ! Autant dire avec n'importe quoi.

Et il ajoute :

« Puisque la plupart de ces substances ne peuvent être oxydées par la luciférase, j'en conclus qu'elles causent en quelque sorte l'émission de la lumière comme ce que Dubois appelle luciférase. « Since most of the above substances could not possibly be oxidized by the luciferase, I conclude that the cause in some way the giving out of light in what Dubois terms luciferase. » (P. 323.)

Cette manière de raisonner est contraire aux principes les plus élémentaires de la logique puisque *ma* luciférase est un agent oxydant !

Dans cette vue nouvelle, la luciférase (*Cypridina luciferase*), principe qui, d'après Harvey, se trouve, à l'exclusion de tout autre photogène, dans les glandes), serait la source de la

lumière, et la luciférine (principe persistant dans l'extrait *chauffé* de cypridine) est quelque chose (?) qui excite la luciférase à donner de la lumière.

C'est bien cela, Harvey appelle luciférase ce qui est luciférine et luciférine ce qui est luciférase ! A part cela, nous sommes toujours d'accord.

Pourtant, à la réflexion, il me semble que le malentendu ne doit pas persister. M. Harvey a lui-même eu le soupçon qui m'est venu de suite à l'idée.

M. Harvey ajoute, en effet (p. 323) :

« Les substances (citées plus haut) produisant la lumière dans les solutions concentrées de luciférase sont semblables à celles qui produisent la *cytololyse des cellules*, et j'ai considéré la possibilité que l'extrait concentré peut contenir des fragments de cellules de la glande lumineuse, qui sont cytolysées avec production de lumière, ou peut-être de granules, qui se dissolvent avec production de lumière, comme dans plusieurs autres espèces, spécialement dans la sécrétion de *Cavernularia*.

Mais au lieu de persister dans cette voie, qui est la vraie, Harvey ajoute : « Je suis *convaincu* qu'il n'y a dans l'extrait pouvant donner de la lumière avec une substance inoxydable aucun fragment de cellule et aucune granulation dépassant les diminutions des granulations ultramicroscopiques des colloïdes. »

Seulement, les raisons qu'il donne pour justifier sa conviction sont absolument insuffisantes.

Il invoque l'homogénéité de la lumière, mais, encore une fois, ce n'est pas une preuve. Quand on examine la Voie lactée, ou seulement une Noctilique, même avec une loupe, on ne voit qu'une lumière homogène et pourtant à un grossissement suffisant, cette lumière, en apparence homogène, se résoud en une pléiade de petites étincelles distinctes.

En général, la lumière d'un liquide de sécrétion liquide n'est pas assez forte pour permettre, même à un fort grossissement, de voir briller les particules photogènes, mais on peut distinguer les vacuolides (microleucites), dans lesquelles se forme la luciférine, et aussi les granulations ultra-microscopiques, dont elles procèdent (voir LA VIE ET LA LUMIÈRE, introduction, pp. 5 et suiv.). D'ailleurs, l'examen microscopique à un fort

grossissement ne paraît, pas plus que l'examen à l'ultramicroscope, avoir été fait par Harvey. Son argument le plus sérieux paraît être le passage au travers des filtres Pasteur-Chamberlain et Berkefeld. Mais Harvey, quand il a écrit ces lignes, avait-il oublié qu'il a dit (p. 320) que la substance jaune des cellules photogènes (luciférine de Dubois) est composée de granules jaunes de 2 à 6 microns en diamètre. Ces globules sont d'une consistance *presque fluide*, et peuvent être vus affectant des formes amœboïdes. Mais ce sont les vacuolides de la luciférine, et nous savons que celle-ci, comme les granulations de la luciférase, peuvent traverser les filtres. Les corps non oxydants excitants de la lumière ne cytolysent pas les cellules, mais bien les vacuolides ou microleucites photogènes, avec mise en liberté des principes photogènes, qui n'avaient pas été libérés antérieurement. C'est de cette façon que j'ai pu expliquer l'action excitante de l'éther, que l'on peut constater sur des mélanges non lumineux ou peu lumineux, mais qui contiennent toujours de la luciférase et de la luciférine, à l'état vacuolaire et non à l'état de sels; quand l'un des deux principes fait défaut, l'éther est inactif (1). Peut-être peut-on expliquer de même l'action très excitatrice de l'ammoniaque. Pour ce corps, cependant, on peut proposer une autre explication, peut-être plus plausible, à savoir que les alcalis activent des oxydations de corps facilement oxydables, comme la luciférine, la lophine, etc.

Enfin, il ne faut pas oublier que dans une liqueur renfermant encore de la luciférine et de la luciférase, la réaction photogène peut être empêchée par l'acidité du milieu, qui augmente au fur et à mesure de l'oxydation de la luciférine. Il suffit alors d'ajouter une trace d'ammoniaque pour neutraliser l'acidité inhibante et rallumer la lumière éteinte. Inversement, on peut éteindre une liqueur bien lumineuse par addition d'un excès d'ammoniaque. Si l'on ajoute alors au liquide éteint par ce moyen de l'acide acétique ou un autre acide faible comme l'acide chlorhydrique dilué, la lumière reparait. J'ai pu ainsi éteindre et rallumer successivement une liqueur photogène par additions alternatives d'acide acétique et d'ammoniaque. Les alcaloïdes, comme l'atropine, les acides faibles, comme

(1) V. *Addendum*, p. 112.

l'acide oléique, employés par Harvey, ont pu jouer un rôle de cet ordre.

Sans parler du rôle cytolytique que d'autres agents, comme le chloroforme, l'éther, le benzol, etc., peuvent remplir vis-à-vis non seulement des cellules, mais encore des granulations vacuolaires, il faut se rappeler que l'inhibition de la réaction luciférine-luciférase peut tenir encore à des conditions d'équilibre chimique pouvant être modifiées par l'adjonction d'un corps qui n'est ni un oxydant, ni un acide, ni un alcali, d'un sel neutre, par exemple : tout dépend alors de la proportion dans laquelle ce dernier est ajouté.

Principalement dans la chimie-physique des colloïdes, les agents modificateurs de la diffusibilité, de la tonicité, des phénomènes d'absorption et d'adsorption, des tensions de surface, des charges électriques des granulations colloïdales en présence peuvent changer la marche de la réaction, soit dans un sens, soit dans l'autre. Ainsi, si à une liqueur faiblement lumineuse on ajoute une proportion assez forte d'un sel neutre, sulfate de soude ou sulfate de magnésic, la lumière s'éteint aussitôt ; si, au contraire, on n'ajoute qu'une trace de ces sels, elle augmente passagèrement d'éclat. On peut même, de cette manière, rallumer une liqueur qui paraît complètement obscure à notre œil.

La seule addition d'eau à une liqueur éteinte par une forte proportion de sel neutre, NaCl ou autre, saccharose, etc., suffit pour faire reparaître la lumière, tant qu'il reste encore de la luciférine et de la luciférase.

En quoi ces phénomènes peuvent-ils être comparés à l'action oxydante de la luciférase ? Et cependant Harvey n'hésite pas à les assimiler !

Enfin, les agents physiques tels que la chaleur, l'électricité peuvent, selon la manière dont on les emploie, être des extincteurs ou des excitateurs de la lumière. L'agitation mécanique peut suffire à faire apparaître la lumière dans une liqueur éteinte.

Pour être logique, Harvey aurait dû donner à tous ces agents excitateurs chimiques, physiques, mécaniques, le nom par lequel il propose de remplacer celui de « luciférine », comme on va le voir.

Pour les raisons indiquées plus haut, l'*imbroglio* continue

et Harvey s'exprime ainsi (p. 324) : « Je conclus, en conséquence, que la luciférase de Dubois, corps thermolabile des cellules lumineuses (il aurait fallu dire : un des deux corps thermolabiles), est le corps producteur de lumière. Il donne de la lumière avec beaucoup de substances non nécessairement oxydantes, et spécialement une brillante lumière avec une substance « thermostabile ».

Cette dernière n'est pas plus ma luciférine que la première n'est ma luciférase, puisqu'elle est thermostabile.

La substance thermostabile de Harvey — qui n'est pas ma luciférine, ni ma luciférase — se trouve en forte proportion dans le corps de *Cypridina* et en faible proportion dans le corps d'autres invertébrés non lumineux.

« En conséquence, dit Harvey, je propose les noms nouveaux de « photogénine » (de *phos*, lumière, et *gennao*, j'engendre) pour remplacer le mot luciférase et celui de « photophelein » (de *phos*, lumière, et *opholeo*, j'aide, j'assiste) pour remplacer le mot luciférine.

Cette suppression des deux expressions que j'ai employées pour désigner deux substances à fonctions nettement définies (v. 5, p. 130 et suiv., et 13) est inacceptable, et j'ai la conviction qu'elle ne sera pas acceptée par les auteurs clairvoyants.

Les rôles attribués aux prétendues substances qu'Harvey nomme respectivement « photogénine et photopheline » sont un mélange de propriétés appartenant à la luciférase et à la luciférine, et ne représentent exactement ni celles de l'une, ni celles de l'autre.

Je considère comme très regrettable l'avatar de Harvey, qui admet toujours, il est vrai, que la lumière naît du conflit de deux substances, en présence de l'eau et de l'oxygène, mais dont l'une est oxydable même par des substances qui ne sont pas oxydantes, comme le NaCl, benzol, chloroforme, etc., etc. !!

J'ai expliqué plus haut comment ces substances avaient pu agir en mettant en contact par cytolysé les colloïdes renfermés dans les globules ou vacuolides de luciférine et de luciférase, assez petits et assez fluides pour passer au travers des tubes de porcelaine, ou bien pour d'autres raisons physico-chimiques.

Néanmoins, Harvey s'exprime ainsi (p. 325), à la fin du para-

graphe intitulé « *Photophelein and Photogenin* » : « *Whatever the exact interpretation of the facts may be, it is certain that two substances are concerned in light production and these may be separated because they are destroyed at different temperatures. We may now inquire into each of their properties separately and return to a discussion of the mechanism of light production, in considering the possible enzyme nature of photogenin.* »

Il est seulement regrettable qu'Harvey n'ait pas mis dans cette phrase le mot « luciférase » à la place de celui de « photogénine », puisqu'il les considère comme équivalents au commencement de ce chapitre. C'est compliquer comme à plaisir une question des plus simples.

Le paragraphe intitulé : *Distribution of photophelein and photogenin in organisms* ne renferme rien de saillant, rien de nouveau, mais il permet de se rendre compte combien il doit être difficile, avec d'aussi petits organismes que *Cypridina*, d'obtenir des parties non contaminées par la sécrétion mixte des glandes photogènes.

Les essais avec des extraits d'animaux non photogènes ne font que confirmer ce que j'ai dit à propos de l'oxydation possible, avec émission de lumière, de la luciférine par le sang de divers animaux non lumineux.

Harvey dit qu'avec le contenu des glandes ne donnant plus de lumière, on peut faire reparaître cette dernière avec de l'urine : il obtiendrait le même résultat avec un peu d'eau tiède, certainement. Lorsque le mélange de luciférase et de luciférine s'est éteint spontanément, ces deux produits ne sont pas complètement détruits, si l'on n'attend pas un temps suffisant, et alors une légère élévation de température, une trace d'ammoniaque et même d'éther peut brusquer la fin de l'oxydation et faire reparaître la lumière pour un moment, comme il a été dit plus haut.

Les substances qui produisent ce réveil de la lumière sont nombreuses, comme l'indique Harvey lui-même, car il ajoute : « Il est difficile de voir de quelle façon toutes ces substances agissent. On est incliné à comparer la production de la lumière à un procédé de cytolyse ou à une réaction stimulante, comme dans la parthénogénèse artificielle. » Mais alors c'est à l'ensem-

ble de tous ces corps-là qu'il convenait de donner le nom de « photophélines » et non à la luciférine de Dubois, puisqu'ils aident, assistent les produits photogènes dans leur réaction et la font même repartir avec lumière, quand celle-ci vient de disparaître.

Harvey n'a pu obtenir aucune lumière avec des extraits de beaucoup d'animaux non photogènes par l'action des oxydants H_2O_2 neutre, BaO^2 , sang oxygéné seul ou avec H^2O^2 , ou avec H^2O^2 neutre additionnée de jus de Pomme de terre, ou avec ce dernier seul, ni avec $KMnO_4$, « ce qui, dit-il, est en complète opposition avec le cas de la Pholade dactyle, comme le décrit Dubois » ; cela prouve simplement ce que j'ai déjà dit, à savoir qu'il n'y a pas de luciférine dans ces extraits traités par le permanganate de potasse, entre autres, et c'est exactement le même résultat que j'ai obtenu dans les mêmes conditions ; mais, contrairement à Harvey, j'en ai tiré la seule conclusion qui fût logique, à savoir l'absence de luciférine. Dans les autres cas également, Harvey avait préalablement détruit par la chaleur la luciférine, laquelle est thermolabile et non « thermostable ».

Harvey (p. 328, en note) dit qu'un extrait concentré de suc de *Cavernularia* donne une brillante lumière par addition d'eau douce. C'est la répétition pure et simple de mon expérience sur les *Cœlentérés* photogènes (5, p. 41).

Dans le paragraphe *Dyalisis*, Harvey ne fait que répéter ce qu'il a déjà dit antérieurement.

A propos de l'*absorption* (p. 329), Harvey a constaté, après moi, que le noir animal dépouille les pseudosolutions de leurs principes photogènes. L'hydrate de fer $Fe(OH)^3$ frais produit le même effet par action purement physique.

La *température* de destruction de la lumière du liquide lumineux de Cypridine, d'après Harvey, dépend de la concentration et du temps de chauffe. A ce propos, il aurait dû faire une distinction entre l'extinction obtenue par une élévation de température soutenue activant la réaction photogène et, par conséquent, en abrégant la durée, et la suppression brusque de la lumière par un échauffement rapide détruisant les principes photogènes avant leur épuisement, ou l'épuisement de l'un d'eux seulement.

Si l'on chauffe le mélange des deux principes photogènes à

70 degrés, la lumière disparaît définitivement. C'est ce que j'ai indiqué pour le mélange aqueux de luciférine et de luciférase de la Pholade, et ce qui prouve bien l'identité de ces principes avec ceux de *Cypridina*. La lumière des Cypridines peut être suspendue par une température de 52 à 54 degrés et revenir par le refroidissement : alors, il n'y a pas destruction, mais seulement inhibition.

Harvey aurait dû voir là une nouvelle preuve qu'il s'agit bien d'une réaction zymasique, car dans celle-ci toujours l'activité décroît de plus en plus au fur et à mesure que l'on dépasse la température optima. Elle finit même par s'arrêter complètement. La zymase est inhibée, mais non encore détruite, c'est pourquoi elle retrouve toute son action par le retour à une température moins élevée.

Les recherches d'Harvey sur la stabilité des principes photogènes et sur la durée de la luminosité des pseudosolutions lumineuses de sécrétion de *Cypridina* n'apprennent rien de nouveau. Dans l'extinction spontanée et définitive, la photophéline (luciférine) est « apparemment » oxydée !

Il examine ensuite, dans le paragraphe intitulé : *Preservatives and anesthetics* (p. 331), l'action de divers anesthésiques : l'éther, le benzol, le chloroforme hâtent la destruction spontanée de la luciférine et préservent la luciférase. J'ai noté que l'éther facilite l'oxydation de la luciférine et que les anesthésiques prolongent la conservation de la luciférase, ce qui n'a rien de surprenant, puisqu'ils agissent de même dans tous les sols d'enzymes. C'est même un procédé classique de conservation, nouvelle preuve que la luciférase (photogénine, de Harvey) n'est pas le principe oxydable, mais l'enzyme oxydante.

Harvey a noté que l'alcool butyrique à saturation supprime la lumière, mais qu'elle reparaît par addition d'eau douce ou d'eau de mer. Cela indiquerait que l'alcool butyrique précipite sans coagulation ou destruction les principes photogènes ; il inhibe ainsi l'action de la luciférase, comme d'ailleurs celle des autres enzymes. Harvey ajoute que la sécrétion diluée est éteinte par le passage au travers des filtres de porcelaine, mais qu'elle reparaît avec le temps. Je n'ai pas constaté ce fait avec la Pholade dactyle ; il se peut alors que la sécrétion renferme un proferment qui redonne de la luciférase après filtration,

si l'extinction est due à la séparation de la luciférase. On peut encore admettre que la luciférine formée est usée pendant la filtration et qu'il existe une proluciférine, comme il existe un prochromogène de la pourpre formé par la purpurase (v. 5, p. 285).

Quelques-unes de nos expériences semblent favorables à cette interprétation (25).

On peut interpréter de la même façon le retour de la lumière dans une solution qui a été éteinte par une chaleur modérée; mais on peut aussi supposer plus simplement qu'à une certaine température, la luciférase peut être inhibée sans être détruite, comme cela arrive pour d'autres enzymes, dont la courbe d'activité peut, sous ce rapport, encore être comparée à celle de l'activité du bioprotéon lui-même, ainsi que je l'ai dit plus haut.

Dans le cas de filtrage par le vide, il faut aussi considérer que l'oxygène disparaît pendant la filtration et qu'il n'est de nouveau mis en présence des principes photogènes qu'au bout d'un certain temps d'exposition à l'air.

Harvey a noté, après moi, l'action destructive de l'alcool éthylique et de l'acétone sur la luciférase (photogénine) : cependant, l'addition de 16 % ne fait que l'inhiber et elle ne disparaît définitivement qu'avec 20 % d'alcool : il faut 23 % d'acétone. Pour le premier cas, on peut faire reparaître la lumière par dilution avec de l'eau. Cette action inhibitrice sur la luciférase s'observe avec toutes les enzymes à des degrés divers de concentration, aussi bien qu'avec les ferments figurés d'ailleurs. Mais la luciférase se rapproche des oxydones en ce qu'elle est détruite définitivement par une proportion d'alcool ou d'acétone assez forte.

Harvey trouve que le cyanure de potassium, qui entrave la respiration cellulaire, est pratiquement sans influence sur la biophotogénèse. Cela prouve seulement qu'il ne s'agit pas, en dernière analyse, d'un phénomène cellulaire. Il annonce que la saturation par le sucre arrête la production de lumière dans un mélange de luciférase et de luciférine, et que celle-ci reparaît par dilution avec de l'eau douce : mais il oublie de dire que c'est cette découverte qui m'a permis, il y a fort longtemps déjà, d'inventer mon procédé de conservation, soit d'un mé-

lange de luciférase et de luciférine, soit de ces deux corps séparés (5, p. 132).

Il note également, après moi, et toujours sans me citer, que le sulfate d'ammoniaque éteint définitivement la lumière : cela n'a rien de surprenant, puisque c'est un agent précipitant de la luciférine (26). Harvey étudie ensuite l'action des acides tungstique, picrique, tannique, celle des acides et des alcalis en général. A propos des agents précipitants des protéines, il obtient les mêmes résultats que moi avec ce que j'ai appelé la luciférine et la luciférase, et que, pour cette raison encore, il a tort d'appeler « photophéline » et « photogénine ».

On en peut dire autant des résultats expérimentaux qu'il obtient par l'action des alcalis ou des acides.

A propos de l'influence de la concentration sur la photogénèse, Harvey écrit (p. 336) : Dans la sécrétion normale de Cypridine, il y a plus de photogénine que de photophéline, comme on peut le voir par addition de photophéline fraîche à la sécrétion normale, après que la lumière a disparu par le repos.

Ce n'est pas de cette manière qu'il faut expliquer le résultat expérimental qui m'a permis, il y a fort longtemps, de montrer l'existence de deux substances distinctes réagissant l'une sur l'autre pour donner de la lumière.

Dans cette expérience de Harvey, qui n'est que la répétition de la mienne, dont il ne parle plus maintenant, ce n'est pas que la luciférase (photogénine) soit en plus grande quantité que la luciférine (photophéline) : c'est uniquement que la luciférase se comporte comme une enzyme et qu'il n'y a pas proportionnalité entre son usure et celle de la luciférine, qu'elle oxyde. Quand elle a usé cette dernière, et qu'on en ajoute une nouvelle quantité, la lumière reparaît : c'est bien simple. Harvey réédite, en outre, mon expérience du mélange de la sécrétion éteinte par usure au repos avec la même sécrétion brusquement éteinte par la chaleur (à 70 degrés) et d'où renaît la lumière.

Tout cela ne prouve-t-il pas jusqu'à l'évidence, qu'Harvey aurait mieux fait de ne pas chercher à jeter la confusion dans une question, dont la solution lui avait paru générale et définitive d'après ses premières publications, et qu'il n'y avait aucune raison avouable pour essayer de supprimer les deux expressions de « luciférase » et de « luciférine » ?

Il est vrai, qu'Harvey se demande si la luciférase (photogénine) est bien une enzyme, ainsi que je le pense.

Comme il ne faut pas chercher si une petite quantité de luciférase détruira une grande quantité de luciférine en accordant un temps suffisant, à cause de l'altération spontanée de ces substances, Harvey donne la préférence à la méthode consistant à déterminer si une petite quantité de luciférase, décomposera successivement des quantités de luciférine, sans qu'elle subisse elle-même une diminution d'activité. Il reconnaît que cette méthode n'est pas sans prêter à l'équivoque, car beaucoup de véritables enzymes sont paralysées ou détruites par les produits de décomposition qu'elles ont engendrés.

Si on ajoute, d'après Harvey, à 1 centimètre cube de faible solution de luciférase, successivement, plusieurs fois, 1 centimètre cube d'une solution concentrée de luciférine, on voit que la lumière de la précédente addition a disparu après la quatrième addition de 1 centimètre cube et qu'elle ne reparait pas.

Par un inexplicable raisonnement, Harvey conclut de ce fait que la luciférase est usée, puisqu'il n'y a pas de lumière, malgré la présence d'un excès de luciférine dans le mélange et, pourtant, il ajoute, que la lumière reparait dans le mélange quand on ajoute de l'eau fraîche !

Toute autre personne, non dominée par un parti pris, par une idée préconçue, eût simplement pensé que la luciférase (photogénine) n'était pas détruite, mais simplement inhibée par la concentration progressive des produits de décomposition, puisque l'addition d'eau fraîche, la simple dilution du mélange éteint suffit à rétablir la lumière !

Je n'ai pas prétendu que la luciférase ne pouvait pas, comme d'autres enzymes d'ailleurs, subir une usure, mais seulement que celle-ci n'est pas proportionnelle à celle de la luciférine, comme l'est par exemple la quantité d'oxygène consommée pour l'oxydation de cette dernière.

Harvey, il est vrai, déclare qu'on peut seulement conclure que si la luciférase est capable d'user une grande quantité de luciférine, elle est elle-même changée en quelque manière dans la réaction et finit par disparaître ; et plus loin (p. 338) : « bien que l'évidence conduise à savoir que la luciférase (photogénine) est usée, elle ne l'est pas, à beaucoup près, aussi rapidement

que l'oxydase de la Pomme de terre dans la production de la lumière par le pyrogallol ».

Si nous faisons, dit encore Harvey, l'expérience qui consiste à ajouter 1 centimètre cube de solution de luciférase à 1 centimètre cube de dilution de luciférine dans 50 centimètres cubes d'eau, une brillante lumière apparaît et se maintient dix à quinze secondes. Mais le liquide ne donne plus de lumière quand, après extinction, on rajoute de la luciférase.

N'est-ce pas là encore une preuve évidente du trouble qu'une idée préconçue peut apporter dans la logique du raisonnement. Il est clair que si le principe oxydable a été détruit par l'agent oxydant, ce n'est pas en ajoutant une nouvelle quantité de ce dernier qu'on obtiendra de la lumière : c'est comme si on entreprenait de faire du feu en soufflant sur les cendres !

Peut-être, dit encore une fois Harvey (p. 338), le fait que la (luciférase) photogénine est usée n'est pas une preuve suffisante pour condamner l'opinion que c'est une enzyme, puisque plusieurs enzymes sont empoisonnées ou détruites par les produits de la réaction, mais malgré ses légitimes scrupules, il s'empresse d'ajouter : « Je pense qu'il est préférable, pour le moment, d'annuler la terminaison *ase* ! » Il tient, cela est évident, à créer sans nécessité un mot nouveau pour faire croire à une chose nouvelle. Et alors, pour sortir de l'*imbroglio* qu'il a fait naître, Harvey imagine une explication bien originale du mécanisme chimique de la biophotogénèse.

La (luciférase) photogénine est une enzyme autooxydable, mais elle ne peut être autooxydable qu'avec l'aide de la (luciférine) photophéline qui joue ici le rôle de coenzyme.

Mais les expériences de Harvey, aussi bien que les miennes, prouvent que ce qui est autooxydable ce n'est pas la (luciférase) photogénine, mais la (luciférine) photophéline; elle s'oxyde même sans le concours d'aucun agent autre que l'oxygène, libre ou dissous, d'où la difficulté de sa conservation. Si l'oxydation est lente, elle se fait sans émission de lumière, si elle est brusquée par l'action d'un agent oxydant, elle se fait avec émission de lumière. On peut même dire qu'elle est autooxydable avec émission de lumière, quand, par l'intervention de la luciférase, elle a atteint un certain degré d'oxydation, alors le seul contact avec l'oxygène libre

ou dissous peut suffire à provoquer l'explosion de la lumière : c'est au moins ce qui semble résulter de certaines de mes expériences non encore publiées. Dans cette hypothèse, la luciférine non oxygénée serait un *prophotogène*, comme il y a un propigment, dont j'ai démontré la présence dans la glande à pourpre, et la luciférine oxygénée serait le photogène capable de fournir l'explosion lumineuse sous l'influence excitatrice de divers agents auxquels on pourrait alors réserver le nom de « photophélines » (de *photo*, lumière, et *opheleo*, j'assiste, j'aide). Tous les agents excitateurs, favorisant de la réaction photogénique, seraient des photophélines : agents mécaniques, tels que l'agitation, agents physiques, telle la chaleur, agents chimiques comme l'ammoniaque, l'éther, etc., à moins que l'on ne préfère admettre que ces agents servent simplement d'excitants à l'activité de l'enzyme oxydante, c'est-à-dire de ma luciférase, et ne se comportent comme les coenzymes dont parle Harvey : il n'y a rien là qui justifie la suppression des expressions « luciférine » et « luciférase » qui semble être le but visé par Harvey.

Pour cette dernière, la terminaison « ase » me paraît devoir être maintenue à cause de ses nombreuses propriétés communes avec les oxydones, en particulier, et avec toutes les enzymes, en général. Ceci ne veut pas dire qu'il soit impossible de dégager de la luciférase un corps chimique plus simple capable d'oxyder la luciférase. On sait que les enzymes oxydantes résultent de l'association d'une substance organique colloïdale avec une substance minérale qui peut être manganique, cuprique ou ferrique. Or, j'ai précisément montré que de tels agents peuvent provoquer l'oxydation avec lumière de la luciférine. Il se peut d'ailleurs qu'il existe, non plusieurs genres de luciférase, mais plusieurs variétés, dans lesquels ces corps puissent se substituer les uns aux autres. Ce qui peut renforcer cette hypothèse c'est que dans les organes photogènes du Pyrophore j'ai trouvé beaucoup de manganèse, tandis que ce que l'on rencontre dans ceux de la Pholade c'est un mélange de composés ferreux et ferriques.

On a imité artificiellement les zymases oxydantes en ajoutant un corps oxydant thermostable à une matière organique colloïdale. On peut, de même, obtenir une imitation de la

luciférase en ajoutant à la sécrétion de la Pholade, éteinte par la chaleur à 70 degrés, une petite quantité de KMnO_4 . La lumière reparait, puis s'éteint par usure de la luciférine. S'il reste dans la liqueur un léger excès de KMnO_4 , quand on a opéré à froid, celui-ci persiste assez longtemps sans réduction, et peut ainsi rallumer une nouvelle quantité de luciférine. Mais, si l'on chauffe préalablement la liqueur, le petit excès de KMnO_4 qui avait persisté est brusquement réduit par les matières organiques, et le pouvoir oxydant du mélange est détruit, comme le serait celui de la luciférase dans les mêmes conditions.

J'ai même pu dégager par l'action de l'alcool sur la luciférase au principe oxydant, lequel isolé des substances organiques, qui l'accompagnent dans la sécrétion photogène, devient *thermostable*, comme le serait KMnO_4 dans les mêmes conditions.

Je lui donne provisoirement le nom d'*oxyfère* (qui apporte l'oxygène) en attendant d'avoir pu fixer exactement sa composition chimique. J'y reviendrai dans un prochain mémoire.

L'existence de ce corps n'implique nullement la suppression de la terminaison *ase* dans le mot luciférase et encore moins celle du mot lui-même en entier.

Mais que l'on se place à un point de vue ou à l'autre, il reste définitivement établi que :

Le mécanisme de la biophotogénèse est réductible en dernière analyse à une réaction exigeant le conflit de deux substances et de l'oxygène libre en présence de l'eau. L'une des deux substances est oxydable avec lumière, la seconde accélère l'oxydation : c'est à la première que Raphaël Dubois a donné le nom de luciférine et à la seconde le nom de luciférase, en raison de ses analogies avec les enzymes, en général, et avec les oxydones, en particulier.

La biophotogénèse rentre donc définitivement dans le cadre des CHIMIOXYLUMINESCENCES.

Toutes les discussions à venir ne sauraient porter que sur des points de détail d'une importance d'ailleurs très secondaire.

La puissance éclairante de la sécrétion de *Cypridina* paraît être, d'après les recherches d'Harvey, aussi grande que celle de la sécrétion de la Pholade dactyle. La lumière est encore visible avec une dilution de la sécrétion photogène de 1.600.000.000.

Que serait-ce, dit Harvey, avec des substances pures ? Et quelles conséquences pratiques ne pourrait-on attendre de la synthèse des substances photogènes naturelles ou simplement de l'imitation artificielle complète de ce procédé d'éclairage ! **Harvey ne doute pas que le résultat pratique serait considérable.**

CONCLUSIONS

1° Förster a méconnu les connexions existant entre les éléments sécréteurs de *Pholas dactylus* et les segments contractiles, qui les relie au système nerveux ; cependant ils existent également pour les glandes photogènes de *Phyllirohë bucéphale* ; il a pris des clasmatoctes pour des éléments glandulaires unicellulaires fixes, de même que Riechensperger et Trojan ;

2° Ulric Dahlgren a prétendu, à tort, que j'ai conclu de mes recherches, que la réaction photogène a lieu en dehors de la *Photobactérie* : il attribue, par erreur, à d'autres auteurs, divers résultats que j'ai publiés avant eux ;

3° Piérantoni a attribué, à tort, la luminosité du Ver luisant, et d'autres animaux photogènes, à un phénomène de symbiose bactérienne : il s'appuie sur une hypothèse de Bongardt, que, par avance, j'avais démontrée inexacte ;

4° Les *Photobactéries* peuvent s'organiser en pseudocellules, où l'on constate des phénomènes analogues à ceux que l'on observe dans les cellules des organes photogènes des Insectes ;

5° Ces pseudocellules sont de petites zoogléas, mais elles font penser aux conceptions de Béchamp et d'Altmann sur les rapports des microbes avec les éléments ultimes constituants des cellules que j'ai appelées « vacuolides » ;

6° Les recherches de Harvey sur les *Photobactéries* confirment les résultats, antérieurs à elles, de mes propres recherches. Mais Harvey attribue à Molish des résultats que j'ai fait connaître avant cet auteur. D'ailleurs, ce dernier, lui-même, me réédite souvent sans me citer, sauf quand il croit devoir critiquer mes idées. Harvey parle aussi des résultats obtenus par

Mc Dermott, comme s'ils étaient antérieurs aux miens, ce qui est inexact, surtout en ce qui concerne la démonstration que la luciférine n'est pas un lipoïde;

7° En ce qui concerne mes recherches générales sur la biophotogénèse, Harvey confirme l'exactitude de mes résultats et de mes explications théoriques en les complétant. Il montre que la luciférine d'une espèce peut donner de la lumière avec la luciférase d'une autre espèce et *vice versa* ;

8° Il confirme encore mes conclusions en montrant, à son tour, que la luciférine et la luciférase sont facilement altérables spontanément, et qu'elles peuvent même réagir l'une sur l'autre, en l'absence d'oxygène, dans certaines circonstances, sans donner de lumière. Il a omis d'indiquer le procédé que j'ai inventé pour entraver l'altération spontanée de ces produits isolés ou réunis, en produisant la saturation de leur sol avec le sucre;

9° Harvey constate la présence de la luciférine dans les Photobactéries. Il y admet également la présence de la luciférase, mais cette dernière ne peut en être extraite par les méthodes chimiques ordinaires, parce qu'elle y est à l'état endoenzyme. Avec de la luciférine de Photobactérie et de la luciférase de Luciole on peut obtenir de la lumière;

10° Harvey fait erreur lorsqu'il écrit que j'ai expliqué la réaction photogénique par l'action d'une substance « *thermolabile* » sur une autre substance « *thermostabile* ». La luciférase et la luciférine sont *toutes deux* thermolabiles : la première vers 65 degrés et la seconde un peu au-dessus de 70 degrés centigrades ;

11° Harvey confirme une autre de mes conclusions, à savoir que la luciférase n'est pas, sous tous les rapports, semblable aux oxydases. C'est, d'ailleurs, pourquoi je l'ai rapprochée des oxydones;

12° Après avoir rappelé les recherches de Radziszewski, sur l'oxydation photogène de quelques composés chimiques dans des conditions incompatibles avec la vie, Harvey dit que Trautz en a découvert d'autres, mais il passe sous silence celles que j'ai personnellement fait connaître, sauf en ce qui concerne l'esculine, bien qu'elles aient donné lieu à d'intéressantes applications pratiques ;

13° S'appuyant sur mes propres expériences et sur les siennes, Harvey déclare que l'existence de la luciférase et de la luciférine ne fait *aucun doute*, non plus que la possibilité de séparer ces deux substances. Il reconnaît que cette découverte appartient entièrement au professeur Raphaël Dubois;

14° Il existe peut-être quelques variétés spécifiques de luciférase et de luciférine, mais le processus physiologique fondamental est le même partout;

15° La nature chimique de la luciférine n'est pas inconnue, comme l'avance Harvey : la luciférine de *Pholas dactylus* est une matière protéique de la catégorie des albumines naturelles; il en est de même pour la luciférine des autres organismes lumineux ;

16° Harvey reconnaît que le nombre des animaux avec lesquels on peut tenter une analyse chimique sont peu nombreux : il a pu extraire des *Lucioles* du Japon et d'un Crustacé Ostracode du même pays, deux principes correspondant à la luciférase et à la luciférine de Dubois;

17° La difficulté d'obtenir ces produits à l'état nettement séparé, et l'erreur initiale d'Harvey que la luciférine est « thermostable », l'ont conduit à attribuer à l'un des deux agents photogènes de Dubois, certaines propriétés appartenant à l'autre, et réciproquement. Il a vainement essayé certaines réactions indiquées par R. Dubois, pour caractériser la luciférine (oxydation photogène par permanganate de potasse, par bioxyde de baryum, etc) avec des extraits où elle avait été préalablement détruite par l'ébullition. Il devait en être ainsi, et cette mauvaise expérience est devenue le point de départ d'un fâcheux *imbroglio*;

18° Contrairement à *tout* ce que l'on sait des organes glandulaires photogènes, dans la série animale, Harvey localise la luciférase exclusivement dans les cellules photogènes et trouve de la luciférine dans les parties non lumineuses de *Cypridina*, ainsi que dans le corps de nombreux animaux non photogènes ; c'est le contraire qu'il fallait dire !

19° Harvey ne parle pas des expériences faites avant lui sur les Crustacés photogènes, et semble ignorer qu'elles démontrent nettement que dans les glandes lumineuses de ces animaux la luciférine et la luciférase existent à la fois, puisque la

lumière peut se produire dans la cellule glandulaire elle-même;

20° Harvey a obtenu de la lumière en faisant agir divers corps non oxydants sur la sécrétion éteinte spontanément de *Cypridine*. Ce résultat n'infirme nullement les résultats de R. Dubois, ils montrent, au contraire, le rôle d'*excitateurs* de la réaction qu'il a signalé pour divers corps, en particulier, pour l'éther. La cytolyse des vacuolides paraît jouer le rôle prépondérant dans ce phénomène d'*ordre accessoire*. Toutefois, il faut retenir que dans les réactions entre colloïdes principalement, il faut tenir le plus grand compte des conditions d'équilibre physico-chimique, lesquelles peuvent être modifiées par une foule d'agents chimiques, physiques et mécaniques non oxydants. Mais la lumière ne peut reparaître alors dans une liqueur éteinte qu'autant qu'elle contient encore de la luciférase, ou son noyau oxydant, et de la luciférine;

21° En raison des interprétations incorrectes de ses expériences, Harvey en arrive à supposer qu'il existe pour les Crustacés un processus spécial. Pourtant, il admet toujours que la lumière résulte du conflit de deux agents distincts, isolables, avec oxydation en présence de l'eau ;

22° Dans l'explication d'Harvey, c'est le principe oxydant de Dubois (la luciférase) qui devient le principe oxydable, et même autooxydable. La luciférine de Dubois aiderait seulement à l'oxydation, par un mécanisme que n'explique pas Harvey, mais qui se rapprocherait de celui des coenzymes. Elle partagerait cette propriété avec le chloroforme, l'éther, la saponine, le chlorure de sodium, etc., etc.;

23° Harvey propose, en conséquence, de remplacer les mots luciférase et luciférine par deux mots nouveaux, « photogénine » et « photophéline », correspondant respectivement cependant à la luciférase et à la luciférine. La raison de cette proposition de « démarquage » ne peut échapper aux moins clairvoyants. Il suffit de lire attentivement le mémoire d'Harvey et la critique que j'en présente dans ce travail, pour demeurer convaincu qu'il n'y a rien à modifier dans mes conclusions, qui restent les mêmes dans tous les cas, ni dans les mots que j'ai créés pour désigner les deux substances photogènes que j'ai découvertes.

Le néologisme « photophéline » (*photos*, lumière, et *opheleo*,

j'assiste, j'aide) imaginé par Harvey pourrait, à la rigueur, être conservé pour désigner les agents activants de la réaction, et ils sont nombreux dans l'ordre mécanique, physique et chimique. Quant à l'autre expression de « photogénine », elle ne peut qu'indiquer la substance qui, par son oxydation, *engendre* (*genao*, j'engendre) la lumière, et c'est ma « luciférine ». Il n'est pas nécessaire d'être un logicien de profession pour tirer ces conclusions, même des écrits d'Harvey, à l'exclusion des miens.

24° Le mécanisme de la biophotogénèse est réductible, en dernière analyse, à une réaction exigeant le conflit de deux substances et de l'oxygène libre en présence de l'eau. L'une des deux substances est oxydable avec émission de lumière; la seconde accélère l'oxydation de la première. C'est à la première que Raphaël Dubois a donné le nom de luciférine, et à la substance oxydante le nom de luciférase, en raison de ses analogies avec les enzymes, en général, et, en particulier, avec les oxydones ;

La biophotogénèse rentre donc définitivement dans le cadre des *Chimiooxyluminescences* par oxydation indirecte. C'est une des rares fonctions physiologiques que l'on ait pu réduire à un phénomène physico-chimique, susceptible d'être reproduit *in vitro*.

25° La biophotogénèse constitue un des plus beaux chapitres de la physiologie générale, c'est-à-dire de l'étude des phénomènes de la Vie communs aux animaux et aux végétaux : il doit être placé sur le même plan que la biothermogénèse et la bioélectrogénèse.

ADDENDUM

Ce n'est que plusieurs semaines après la rédaction de ce mémoire que j'ai reçu, du professeur Ulric Dahlgren, la troisième partie de sa belle publication : *The production of light by animals (Worms, Crustaceans, and Lower Insects)* (3, 1917). On y trouve de très bonnes figures et des descriptions anatomiques et histologiques du plus grand intérêt, d'après les travaux originaux de divers auteurs. Une analyse

détaillée de l'ensemble du travail du savant américain sera publiée ultérieurement. Pour le moment, je me contenterai de présenter quelques réflexions au sujet de certains points ayant trait aux idées exposées dans plusieurs publications personnelles antérieures, particulièrement dans ma critique du travail de Förster (1) et dans le présent mémoire.

1° La figure 1 (p. 3), d'une coupe de la région lumineuse de *Polycirrus aurantiacus*, de même que la figure 23 (p. 35), d'une coupe de l'épithélium du *Chaetopterus*, me paraissent, ainsi que les descriptions qui les accompagnent, de nouveaux arguments en faveur de ce que j'ai dit à propos de la Pholade, à savoir que l'on avait fort bien pu prendre pour des glandes unicellulaires des cellules migratrices ou clasmatocytes, chargées de granulations (vacuolides) de luciférine, s'insinuant entre les éléments de l'épithélium de revêtement pour fournir une sécrétion par clasmocytose contribuant à la formation du liquide photogène.

2° La figure 10 montre la coupe de l'organe photogène d'une élytre d'*Acholæ astericola*. Les cellules photogènes n'ont pas de membrane basale, mais, comme les autres cellules de l'hypoderme, elles sont réunies avec le tissu connectif sous-jacent par plusieurs cordons rameux de leur cytoplasme proximal, comme cela se voit souvent chez les Vers et Arthropodes, et plus rarement chez les Mollusques et les Vertébrés. Qu'il me soit permis de rappeler que ce sont précisément des éléments de cette nature que j'ai décrits et figurés dans mon ouvrage sur l'*Anatomie et la Physiologie de la Pholade dactyle* (1), après les avoir isolés par dissociation des organes lumineux de ce Mollusque photogène. Je suis surpris que ces connexions, qui ne sont pas sans rapports avec celles qui ont été signalés par Trojan pour les cellules photogènes du *Phillyrohë*, aient pu échapper à Förster, comme je l'ai fait remarquer au début de ce mémoire et dans ma note antérieure (1), sur l'*Anatomie et la Physiologie de Pholas dactylus*.

3° En ce qui concerne les Vers de terre lumineux, il ne saurait y avoir d'hésitation, mais Dahlgreen ne parle pas de mes recherches à ce sujet (v. 4 et 5). Le mucus photogène est bien

(1) *Ann. de l'Univ. de Lyon*, fasc. II, 1892.

le résultat d'une sécrétion glandulaire et non d'une infection par un Champignon ou une Photobactérie. Ces Vers ne sont pas lumineux toute l'année, et c'est ce qui a fait croire que dans la même espèce il y a des individus anormalement lumineux.

4° Le rôle des muscles dans l'éjection du mucus lumineux décrit par Döflein (p. 41-42), chez *Pyrocypris*, Crustacé Ostracode est un exemple typique à ajouter à ceux que j'ai signalés, pour montrer que c'est par l'intermédiaire des éléments contractiles que le système nerveux agit sur le fonctionnement des glandes (2). La figure 2, empruntée à Döflein, est très démonstrative.

5° A propos de mes recherches anciennes sur les Myriapodes phosphorescents (*Scolioplanes*), Dahlgreen a reproduit une opinion que j'ai abandonnée depuis longtemps, à la suite de recherches subséquentes. Chez ces Myriapodes, comme chez *Orya barbarica*, le liquide photogène est exclusivement fourni par des glandes unicellulaires cutanées.

6° L'abondance des cristaux que j'ai constatée dans le mucus photogène des *Orya barbarica* m'avait fait supposer que la lumière pouvait être un phénomène de cristallo-luminescence. On peut se demander, en effet, si, en dernière analyse, l'émission de lumière n'est pas le résultat de la cristallisation des produits résultant de l'oxydation de la luciférine, ou bien de l'incandescence de particules très petites, possible même au sein d'un liquide. S'il fallait opter entre ces deux hypothèses, je préférerais la première, puisque mes recherches, contrôlées par celles de Very et Langley, ont prouvé qu'il s'agissait de lumière froide. Mais cela ne modifie en rien de ce que j'ai dit du mécanisme intime de la biophotogénèse, qui reste définitivement classée dans la catégorie des *Chimioxylluminescences*.

7° Enfin Dahlgreen cite quelques-unes des dernières recherches de Harvey, sans parler des précédentes, qui confirmaient, en les généralisant, mes conclusions personnelles. Il dit qu'Harvey a suggéré que le processus photogène ne devait pas être le même chez *Pholas dactylus* et chez les autres animaux, ou bien que je me suis trompé dans mes expériences.

Dahlgreen aurait pu rappeler, dans ce cas, qu'Harvey n'ignorait pas que ce sont mes expériences sur un Insecte *Pyrophorus noctilus* qui m'ont conduit à expérimenter sur un Mollus-

que *Pholas dactylus*. Or, les résultats fondamentaux et les conclusions ont été exactement les mêmes pour le processus photogène, au point de vue chimique, pour l'Insecte et pour le Mollusque. Ensuite, si mes expériences avaient été erronées, on n'aurait pas manqué de le faire remarquer quand je les ai répétées devant un public compétent (1) comme au Congrès anglo-français pour l'Avancement des Sciences, au Congrès international de Zoologie, à Monaco, au Congrès international de Physiologie, de Gröningue (Hollande), etc., et en présence de spécialistes éminents de l'Académie des Sciences de Paris, tel que M. Armand Gautier, pour ne citer que ce savant chimiste biologiste, dont les travaux sont universellement connus et appréciés. Je pourrais citer encore nombre de notabilités scientifiques, qui ont pu aussi répéter personnellement mes expériences, tels le professeur Henneguy, du Collège de France; mon collègue de l'Université de Lyon, le professeur Gouy, de l'Institut, etc.

Puisse le présent mémoire aider Harvey à revenir à ses premières conclusions, dont il a été détourné certainement en prenant pour un corps *thermostabile* ce qui est, en réalité, un corps *thermolabile*, et à apporter plus de clarté et une plus grande logique dans l'interprétation de ses dernières expériences.

(1) V. LES ANIMAUX ET LES VÉGÉTAUX LUMINEUX : *le Secret de leur fabrication et la lumière de l'avenir*. CONFÉRENCE PUBLIQUE AVEC PROJECTIONS ET DÉMONSTRATIONS EXPÉRIMENTALES, faite à l'Hôtel de Ville du Havre, le 30 juillet 1914. (*Comptes rendus du Congrès anglo-français de l'Association française pour l'avancement des Sciences*, Paris, Secrétariat de l'Association, Hôtel des Sociétés savantes, 28, rue Serpente, Paris.)

BIBLIOGRAPHIE

1. Raphaël DUBOIS, Sur l'anatomie de la glande photogène de *Pholas dactylus*, à propos d'un travail de J. Förster (*Ann. de la Soc. Linnéenne de Lyon*, t. LXIII, 1916, p. 9-13).
2. Raphaël DUBOIS, Du rôle de la contractilité dans les sécrétions glandulaires (*Ann. de la Soc. Linnéenne de Lyon*, 1917).
3. Ulric DAHLGREEN, The Production of Licht by animals (*Journ. of the Franklin Institut, Press Leppincott Company*, 1915, 1916 et 1917).
4. Raphaël DUBOIS, *Leçons de physiologie générale et comparée*, Masson, éd., Paris, 1898.
5. Raphaël DUBOIS, La Vie et la Lumière : 1 vol., 338 pages, 48 figures (*Bibliothèque internationale*, Alcan, éd., Paris, 1914).
6. Raphaël DUBOIS, Article LUMIÈRE (production de la) (*Grand Dictionnaire de physiologie de Ch. Richet*). (Sous presse.)
7. E.-Newton HARVEY, Studies on Licht production by luminous Bacteria (*Amer. Journ. of Physiology*, vol. XXXVII, n° 2, mai 1915, et : Studies on bioluminescence. II. On the Presence of Luciferine in luminous Bacteria (*Amer. Journ. of Physiology*, vol. XLI, n° 4, octobre 1916).
8. MOLISH, *Leuchtenden Pflanzen*, 1904.
9. Raphaël DUBOIS, Rectification. à propos d'un article de M. Molish (*Rev. Sc.*, 25 nov. 1905).
10. Raphaël DUBOIS, *Sur une lampe vivante de sûreté* (*Comptes rendus de l'Ac. des Sciences*, juin 1903, et *ibid.* 1900, pour les communications antérieures).
11. E.-Newton HARVEY, Experiments on the Nature of the Photogenic Substance in the Fire-fly (*Journ. Amer. Chem. Soc.*, 1915, 37, p. 396).
12. Raphaël DUBOIS, La biophotogénèse réduite à une action zymasique, Mécanisme intime de la production de la lumière physiologique : luciférase, luciférine, luciférescéine (*Orig. com. light : intern. Congress of app. Chem.*, v. 19. p. 83, Washington and New-York, septembre 1912).
13. Raphaël DUBOIS, Examen critique de la question de la biophotogénèse (*Ann. de la Soc. Linnéenne de Lyon*, 1914, A. Rey, éd., Lyon).
14. Raphaël DUBOIS, De la place occupée par la biophotogénèse dans la série des phénomènes lumineux (*Ann. de la Soc. Linn. de Lyon*, 1914).
15. E.-Newton HARVEY, Experiment of the photogenic substance in the Fire-fly (*Journ. of Amer. Chem. Soc.*, n° 2, Février 1915).
16. E.-Newton HARVEY, The mechanism of light production in animals (*Science, N. S.*, vol. XLIV, n° 1128, p. 208-209, august., 11, 1916).
17. E.-Newton HARVEY, Studies on bioluminescence on the Production of Licht of certain substances in the presence of oxidases (*The Amer. Journ. of Physiology*, v. XLI, n° 4, octobre 1916).
18. Raphaël DUBOIS, Luminescence obtenue avec certains composés organiques (*C. R. Ac. des Sc.*, p. 431, 1901).
19. E.-Newton HARVEY, The licht-producing substances photogenin and photophelin, of luminous animals (*Science, N. S.*, vol. XLIV, n° 1140, p. 652-654, 5 nov. 1916).

20. Umberto PIÉRANTONI, La luce degli insetti luminosi et la simbiosi ereditaria. Napoli, 1914, B. de Rubertis fu Michele.
21. Umberto PIÉRANTONI, Sulla luminosità e gli organi luminosi di *Lamprocypha noctiluca* L. : *Bollettino della Società di naturalisti in Napoli*, vol. XXVII (Sér. II, vol. VII, anno XXVIII, p. 83-88, 1914).
22. Raphaël DUBOIS, Contribution à l'étude de la production de la lumière par les êtres vivants : Les Elatérides lumineux 1886, 1 v. gr. in-8, 9 planches, hors texte, 29 fig. dans le texte, 275 pages : thèses de la Faculté des Sciences de Paris et *Bull. de la Soc. Zool. de France*, 1886.
23. Raphaël DUBOIS, Les vacuolides de la purpurase et la théorie vacuolaire (*C. R. de l'Ac. des Sc.*, t. CLIII, p. 1507, 1911).
24. Newton HARVEY, Studies on bioluminescence : the Chemistry of Light Production in Japanese Ostracod Crustacean, *Cypridina hilgendorfii* Müller — The Chemistry of Light Production by the Fire-Fly, Light Production by a Japanese Pennatulid, *Cavernularia haberi* (*The Amer. Journ. of Physiol.*, XLII, n° 2, janvier 1917).
25. Raphaël DUBOIS, Luciférine et proluciférine (*C. R. Soc. de Biol.*, 1905, p. 1043).
26. Raphaël DUBOIS, Mécanisme intime de la production de la lumière chez les organismes vivants (*Ann. Soc. Linn. de Lyon*, 1913).
27. Raphaël DUBOIS, *Les animaux et les végétaux lumineux et le secret de leur fabrication : la lumière de l'avenir*. Conférence publique, avec projections et démonstrations expérimentales, faite au Congrès anglo-français pour l'Avancement des Sciences, au Havre, 30 juillet 1914 (*C. R. de l'A. F. A. S.*, Paris).
28. Raphaël DUBOIS, Nouvelles recherches sur la lumière physiologique chez *Pholas dactylus* (*C. R. Acad. des Ss.*, t. CLIII, p. 690, 1911).
29. Raphaël DUBOIS, A propos des recherches récentes de M. Newton Harvey, sur la biophotogénèse (*C. R. de l'Ac. des Sc.*, t. CLXV, p. 33, 1917).

ERRATA

A L'ÉTUDE CRITIQUE DE QUELQUES TRAVAUX RÉCENTS
RELATIFS A LA BIOPHOTOGENÈSE DE M. RAPHAEL DUBOIS.

- Page 75, 6^e ligne, *lire* eau sans oxygène au lieu de oxygène sec.
— 77, 9^e — *lire* ce qui prouve au lieu de ce qu'il prouve.
— 83, 36^e — *lire* 18 au lieu de 8.
— 86, 27^e — *lire* two au lieu de tow.
— 87, 24^e — *lire* different au lieu de dimerent.
— 95, 23^e — *lire* dimensions au lieu de diminution.
— 106, 25^e — *lire* luciférine au lieu de luciferase.
— 115, 11^e — *lire* tels au lieu de tel.

La note de M. Dubois sur *le Rôle de la Contractilité dans le mécanisme fonctionnel des glandes à sécrétion externe et à sécrétion interne*, annoncée comme devant figurer dans ce volume, paraîtra dans le tome LXV des *Annales de la Société Linnéenne*,