

50376
1972
184

50376
1972
184

Mémoire présenté à la Faculté des Sciences
de l'Université de Lille en vue de l'obtention du
Diplôme d'Etudes Supérieures de Sciences Naturelles
par Monsieur Claude PETIT.

INFLUENCE DE LA COUMARINE, DES DERIVES DE LA
COUMARINE, DE LA BENZOXAZOLONE ET DE L'INSULINE SUR
LA GERMINATION DE CICHORIUM INTYBUS L.



Présenté le 21.2. ? devant la commission d'examen

CHAPITRE I

GENERALITES SUR LA PHYSIOLOGIE DE LA GERMINATION.

Le soma étant normalement périssable, il est nécessaire que tout individu assure la propagation de son espèce.

La reproduction asexuelle pourrait suffir, mais nous voyons apparaître une complication de la vie, un véritable luxe : la reproduction sexuelle. Celle-ci consiste en l'union de deux gamètes de sexe opposé, union dont le résultat est un oeuf qui commence immédiatement son développement.

Ce développement peut se continuer sans arrêt : c'est ce qui se produit chez les végétaux dits inférieurs Thallophytes et Cryptogames vasculaires. Bien qu'il existe chez ces plantes une forme de résistance : la spore, point de départ de la phase à n chromosomes, soit le gamétophyte.

Ce développement peut s'arrêter momentanément c'est ce qui se produit chez les végétaux dits supérieurs les Phanérogames où "l'oeuf" devient un organe de résistance en s'entourant de téguments qui l'isolent du milieu extérieur, de réserves diverses qui ne seront utilisées que lors du réveil de l'activité. La graine est le point de départ de la phase à $2n$ chromosomes soit le sporophyte.

La graine est "l'oeuf" de la plante - c'est à dire non seulement un ovule fécondé mais un embryon avec des réserves - "oeuf" qui se distingue de celui de l'animal par ce qu'il conserve pendant un temps indéterminé et souvent fort long toutes ses qualités originelles.

Suivant l'usage, nous dirons qu'une graine est vivante lorsqu'elle est susceptible de germer et au contraire qu'elle est morte quand elle ne germe plus. Mais chacun sait combien une telle position est délicate.

Examinons ce qu'est une graine : on peut distinguer dans une graine une partie vivante l'embryon, entouré de l'albumen, peu vivant, et une partie formée de tissus, morts la plupart : les téguments provenant des téguments de l'ovule auxquels se sont parfois soudés ceux du fruit (ex/ caryopse.).

La physiologie de la graine peut comprendre en gros deux parties :

1^o) la dessiccation qui est la cause de la persistance des qualités premières. En effet, alors que les différentes parties du végétal accusent un pourcentage élevé d'eau, 60 à 80% et parfois plus, les graines n'en renferment que de 3 à 15% suivant les espèces.

L'humidité a une influence néfaste sur la faculté germinative : des graines maintenues dans une atmosphère saturée d'eau sont mortes après trois mois de séjour, quelle que soit l'espèce, alors que des graines ayant subi une deshydratation poussée à l'extrême voient leur faculté germinative stabilisée longtemps.

L'influence favorable de la dessiccation s'explique par la suspension plus ou moins complète de toutes les actions diastasiques qui, au contraire, continuent à se manifester dans les graines humides en pure perte, gaspillant l'énergie disponible.

Dans les conditions de dessiccation optimum, les graines gardent leur pouvoir germinatif grâce à l'imperméabilité des téguments qui permet la résistance aux températures extrêmes et aux toxiques. Cette imperméabilité réduit aussi la respiration qui s'annule presque, empêchant ainsi toute oxydation. Cependant des échanges gazeux sont constatés : ce seraient plutôt de simples réactions chimiques se produisant au contact de l'air et pour lesquelles l'intervention du protoplasme vivant est inutile.

2^o) la maturation qui est la condition nécessaire pour la germination.

On distingue une maturation morphologique et une maturation physiologique, qui ne sont pas forcément synchrones.

La maturité morphologique consiste en l'achèvement de l'embryon, exemple classique le Ginkgo biloba.

La maturation physiologique consiste vraisemblablement en l'élaboration d'"hormones" qui seront nécessaires au moment de la germination.

La maturation, prise dans son sens le plus large, peut être inhibée par le fruit : le cas bien connu de la pomme est significatif à cet égard.

Par contre dans d'autres cas, ceux des légumineuses par exemple, la graine peut germer avant d'avoir atteint son complet développement morphologique.

Dès que la graine est mûre, elle peut germer. Elle garde son pouvoir germinatif un certain temps qui est fonction surtout des réserves accumulées : les graines à réserve lipidique auront un pouvoir germinatif inférieur à celles possédant une réserve glucidique.

Il convient tout d'abord de rappeler quelques définitions classiques :

- on appelle faculté germinative le nombre de graines qui germent sur cent.

- on appelle énergie germinatrice le temps au bout duquel l'évolution commence, temps que nous appellerons - temps de latence - dans notre exposé.

Examinons tout d'abord quelques phénomènes physiologiques qui se produisent lors de la germination.

Il y a tout d'abord imbibition des téguments puis gonflement par turgescence de la graine (rôle des grains d'aleurone) gonflement dû à la pression osmotique qui se développe sous l'influence des produits solubilisés lors de l'action des diastases, car on observe un catabolisme des réserves : glucides sauf la cellulose et les pentosanes, lipides qui se transforment en glucides, protides dont le résultat de digestion permettra la croissance.

On remarque ensuite la manifestation d'une respiration intense, favorisée par la chaleur et attribuable au fonctionnement des diastases oxydantes que renferme la graine.

Il y a ensuite l'auxesis, allongement cellulaire en rapport avec les auxines, puis la méresis qui consiste en de nombreuses divisions cellulaires.

Examinons enfin quelques facteurs influant sur la germination.

1°) il y a tout d'abord la température. Chaque espèce de graine a son optimum, et en général une graine qui a commencé à germer à une température un peu haute, végète si on la transporte dans un milieu plus froid.

La température s'élève d'elle-même au cours de la germination par suite de l'augmentation de la respiration.

L'influence de la température sur la germination est évidemment en rapport avec celle que la chaleur exerce sur l'activité des diastases.

Une remarque personnelle à ce sujet sera faite un peu plus loin (voir page 8).

2°) il y a ensuite l'air qui est indispensable à la respiration dès le début de l'évolution de la graine. Sinon nous aurons une fermentation des réserves pour suppléer à l'oxygène. Il est bon de remarquer que certaines plantes de marécages - le riz par exemple - les plantes aquatiques montrent une aptitude à germer dans des milieux peu oxygénés.

3°) qui dit germination, dit mitose : les agents physiques auront sur elle une influence.

Raoul Combes a reconnu que la lumière est à peu près sans influence sur la germination des plantes qui peuvent vivre sous un éclairage moyen (pisum, triticum, raphanus) avantageuse pour celles qui proviennent d'espèces de grand jour, défavorable pour celles qui proviennent de plantes d'ombre (mercurialis).

Les rayons X et les émanations du radium ont une influence néfaste à dose importante; des doses ménagées auraient une action favorable.

4°) voyons enfin l'inhibition de la germination. On dit qu'il y a inhibition de la germination quand une graine intacte ne germe pas si les conditions sont favorables.

L'inhibition naturelle semble avoir deux causes possibles :

a - une cause tégumentaire.

C'est un cas assez rare qui ne se rencontre que chez quelques Conifères : Pinus, Picea, Abies, Taxus. Les graines de ces Gymnospermes sont difficiles à germer. Cependant si les téguments sont enlevés, elles germent. Il apparaît donc qu'il y a une inhibition mécanique de la germination due à l'imperméabilité des téguments; ce qui peut se vérifier en faisant subir aux graines un trempage préalable, une scarification ou un ramollissement chimique.

b - une cause embryonnaire, relevant de la dormance embryonnaire, car la décortication n'est pas suivie de la germination. Cette dormance est généralement levée par l'application d'une thermopériode efficace, sauf dans les cas rares, tel celui du Ginkgo biloba, où l'embryon est inachevé lors de la chute du fruit, où on observe un certain laps de temps - 10 jours pour le Ginkgo - avant la germination, laps de temps nécessaire à l'achèvement de l'embryon.

Les cas classiques d'inhibition de germination levée par le froid sont ceux des Rosacées arborescentes fruitières. Il est cependant à noter que cette dormance n'est que relative car la graine peut germer, mais on constate qu'elle engendre une plante naine.

Rappelons à titre de curiosité, le cas de quelques Monocotylédones à bulbe et à rhizome, par exemple Convallaria maialis, chez qui la dormance est double :

- dormance embryonnaire levée par le premier hiver
- dormance de l'axe épicotylé levée par le second hiver.

Y a-t-il un inhibiteur naturel de la germination?
Des constatations et des expériences s'imposent.

- dans un fruit, la graine ne germe pas, sauf quelques cas assez rares par exemple le manglier.
- des pépins de raisin séparés du jus de raisin germent si les conditions sont optimum.
- des pépins de raisin arrosés de jus de raisin ne germent pas dans les mêmes conditions.
- même en diluant le jus, le résultat est identique, donc la pression osmotique n'a aucun rôle et le jus de raisin contient une substance active.
- d'autres graines ont leur germination inhibée par le jus de raisin, donc la substance active n'est pas spécifique. Celle-ci appelée "blastokoline" aurait été extraite de tous les organes aériens. Mais en fait beaucoup de corps ont la même action, à savoir des acides organiques, essences, alcaloïdes etc.

Quelles sont les relations blastokoline-gibberellines?
Les recherches se poursuivent actuellement.

Comment agissent les activateurs et inhibiteurs de la germination?

Ils peuvent agir aux quatre clés de la physiologie de la germination.

a - agir sur imbibition de la graine en eau, jouant un rôle sur l'activité des diastases favorisant le passage de l'eau.

b - agir sur le catabolisme des réserves, en particulier des réserves glucidiques, en modifiant l'activité des hydrolases, en particulier, ou des kinases.

c - agir sur l'auxesis en modifiant le mode d'action des hormones par exemple.

d - agir sur le méresis en perturbant par exemple les mitoses au stade de la métaphase (ex: colchicine).

Il faut remarquer que les substances qui activent ou inhibent l'action des diastases ou des hormones ont généralement des formules très voisines de ces corps, et que toute variation de la formule, même légère, entraîne des troubles importants dans l'activité de ces substances.

CHAPITRE II

ACTION DE LA COUMARINE ET DE QUELQUES
SUBSTANCES VOISINES SUR LA GERMINATION DES
SEMENCES DE CICHORIUM INTYBUS L.

Les substances utilisées ont été :

- la coumarine
- la coumarine carboxylate de sodium
- la coumarine acétate de sodium
- la benzoxazolone
- l'insuline sous le nom commercial d'"Insulyl"; terme que nous conserverons car en plus de l'insuline, ce produit comprend du phénol stabilisateur.

Remarques préliminaires.

Notre étude a porté sur des semences de Cichorium Intybus L. provenant d'un même lot obtenu à la maison Truffaut. Leur âge n'a pu nous être précisé.

Nous avons réalisé des groupes de cent semences que nous avons trempées une, deux et trois heures dans les différentes réactifs aux concentrations de 1/1 000, 1/10 000, 1/100 000, réactifs ajustés au pH 9 par adjonction d'une solution de carbonate de sodium.

De plus une expérience témoin a été réalisée après trempage dans de l'eau distillée amenée au pH 9.

Notons que ce pH a été choisi comme étant le plus favorable à la germination.

Toutefois, l'un des produits -l'Insulyl- se décomposant en milieu basique a été essayée à un pH acide maintenant sa stabilité soit le pH 2,5 obtenu par adjonction d'acide chlorhydrique dilué.

La germination a été réalisée dans des boîtes de Pétri, sur papier-filtre maintenu imbibé avec de l'eau distillée ajustée au pH 9 dans tous les cas.

Les comptages ont été réalisés toutes les vingt quatre heures.

Ont été retirées toutes les graines germées; nous avons considéré comme germées celles dont la radicule était visible au niveau des téguments écartés.

Le facteur le plus important pour une telle étude est sans conteste la température.

En effet, dans une première série d'expériences nous avons étudié les réactifs donnés, un à un, réalisant en même temps et à chaque fois une germination témoin après trempage à l'eau distillée ajustée au pH 9.

Bien que les expériences aient été réalisées dans les meilleures conditions d'isothermie possible, nous n'avons pu empêcher des variations brutales de la température lors de certaines nuits, d'une expérience à l'autre - chaque expérience durant vingt jours : la germination après trempage à l'eau faisant foi, nous avons constaté des différences appréciables de la faculté germinative.

Il a donc fallu nous résoudre à étudier simultanément l'action des différents réactifs : dans ces conditions même si de légères variations de températures étaient intervenues, les semences auraient toutes subies cette variation d'où un effet relativement moins grave dans notre étude comparée.

Dans nos expériences, la température a été maintenue de 18 à 20 degrés centigrades.

FACULTE GERMINATIVE.

Avant d'entreprendre l'étude de l'action des différentes substances, il convient d'expérimenter avec l'eau seule, afin de déterminer la faculté germinative de nos semences.

Nous avons travaillé sur des lots de cent semences trempées une, deux ou trois heures.

- d'une part dans de l'eau distillée ajustée au pH 9
- d'autre part dans de l'eau distillée ajustée au pH 2,5.

La germination a été réalisée sur papier filtre imbibé d'eau distillée ajustée au pH 9.

Examinons les tableaux de la page suivante.

EAU DISTILLÉE

-ajustée au pH 9

| Durée Temps | Jours | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----------------|-------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 |
| 1. heure | 0 | 50 | 64 | 72 | 75 | 75 | 76 | 76 | 76 | 76 | 76 | 76 | 76 | 76 | 76 | 76 | 76 | 76 | 76 | 77 |
| 2 heures | 0 | 45 | 68 | 72 | 73 | 77 | 79 | 79 | 79 | 79 | 79 | 79 | 79 | 79 | 79 | 79 | 79 | 79 | 79 | 80 |
| 3 heures | 0 | 48 | 71 | 78 | 83 | 83 | 86 | 86 | 86 | 86 | 86 | 86 | 86 | 86 | 87 | 87 | 87 | 87 | 87 | 88 |

-ajustée au pH 2,5

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----------|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| 1 heure | 0 | 42 | 64 | 73 | 73 | 76 | 76 | 77 | 78 | 78 | 78 | 79 | 79 | 79 | 79 | 79 | 80 | 81 | 81 | 81 |
| 2 heures | 0 | 46 | 70 | 74 | 77 | 77 | 79 | 80 | 82 | 82 | 82 | 82 | 83 | 83 | 83 | 83 | 84 | 84 | 84 | 84 |
| 3 heures | 0 | 37 | 59 | 63 | 66 | 68 | 69 | 69 | 70 | 71 | 72 | 72 | 72 | 72 | 73 | 73 | 74 | 74 | 75 | 75 |

Dans les 2 cas la germination ne commence qu'au deuxième jour.

Dans le cas du trempage pendant trois heures :

- pour l'eau amenée au pH 9: une courbe régulière nous amène au sixième jour après lequel nous avons un palier.
- pour l'eau amenée au pH 2,5, le palier n'est atteint qu'au 18^e jour.

Donc l'acidification de l'eau freine la faculté germinative. Mais si on considère les trempages d'1 heure et de 2 heures, on constate que le pH 2,5 semble favoriser très légèrement la faculté germinative.

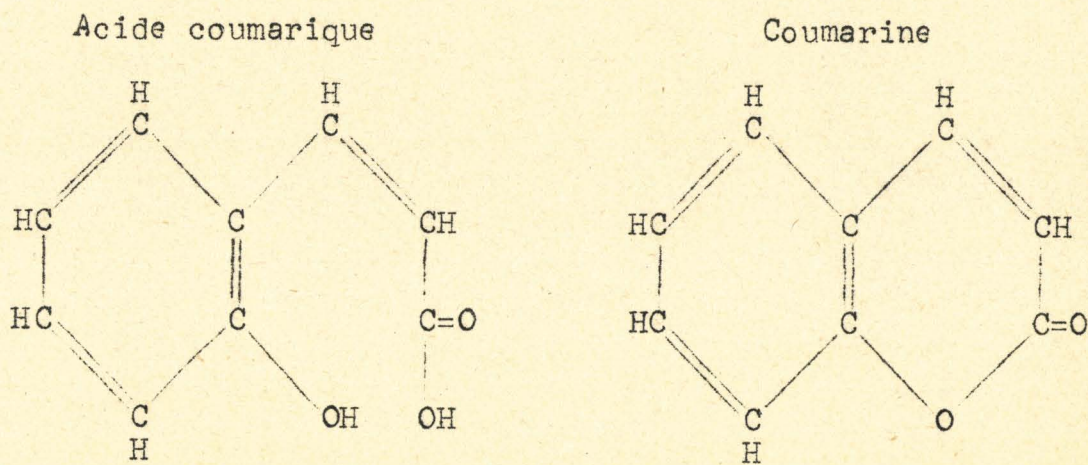
Théoriquement le résultat acquis après le trempage de 3 heures est anormal. Cependant nous avons jugé bon de le laisser tel quel.

Le résultat de ces tableaux a été reproduit sur les graphiques des planches 5 et 6, pages 33 et 37.

ACTION DE LA COUMARINE.

Formée d'aiguilles incolores, très odorantes, la coumarine a été extraite chez *Anthoxanthum odoratum* L. *Melilotus officinalis* Lam. *Latris odorata*, etc...

Du point de vue chimique, c'est la lactone de l'acide coumarique.



Du point de vue biochimique, la coumarine doit prendre son origine dans la cyclisation de la molécule de glucose. C'est le groupement prosthétique de glucosides coumariques formés avec le glucose.

La coumarine étant comme nous le verrons, un produit cyclique toxique, sa combinaison avec un ose le ferait mieux supporter.

Selon certains auteurs, ce glucoside serait un produit de déchet stocké dans les cellules. Mais sa production

en quantité appréciable par certaines plantes déjà citées ont conduit certains physiologistes à penser qu'il pouvait s'agir de réserves réutilisables par la plante.

Cependant, les semences étant généralement riches en amidon, donc en substances glucidiques, les chercheurs actuels essaient de savoir si la coumarine ne joue pas un rôle dans le métabolisme de ces réserves glucidiques, soit directement sous forme de complexe glucosidique, soit indirectement en favorisant le jeu des éléments nécessaires au métabolisme : phosphore, eau, diastases.

Pour ce faire, des trempages de 1, 2 et 3 heures ont été réalisés dans des solutions aqueuses au 1/1 000, 1/10 000, 1/100 000 ajustées au pH 9.

Les résultats sont consignés ci-contre.

COUMARINE

trempage 1h.

| Jours Concent. | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 |
|-------------------|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| $1 \cdot 10^{-3}$ | 0 | 4 | 16 | 21 | 27 | 28 | 29 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 |
| $1 \cdot 10^{-4}$ | 0 | 28 | 59 | 69 | 69 | 70 | 73 | 73 | 73 | 73 | 73 | 73 | 73 | 73 | 74 | 74 | 74 | 74 | 74 | 74 |
| $1 \cdot 10^{-5}$ | 0 | 24 | 57 | 66 | 70 | 72 | 75 | 75 | 75 | 75 | 75 | 75 | 75 | 75 | 75 | 75 | 75 | 75 | 75 | 75 |

trempage 2 h.

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-------------------|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| $1 \cdot 10^{-3}$ | 0 | 1 | 7 | 9 | 13 | 17 | 17 | 18 | 18 | 18 | 18 | 18 | 18 | 18 | 18 | 18 | 18 | 18 | 18 | 19 |
| $1 \cdot 10^{-4}$ | 0 | 23 | 59 | 62 | 69 | 69 | 70 | 72 | 73 | 73 | 74 | 74 | 75 | 75 | 75 | 75 | 75 | 75 | 75 | 75 |
| $1 \cdot 10^{-5}$ | 0 | 26 | 62 | 74 | 75 | 75 | 75 | 75 | 75 | 75 | 75 | 75 | 75 | 75 | 75 | 75 | 75 | 75 | 75 | 75 |

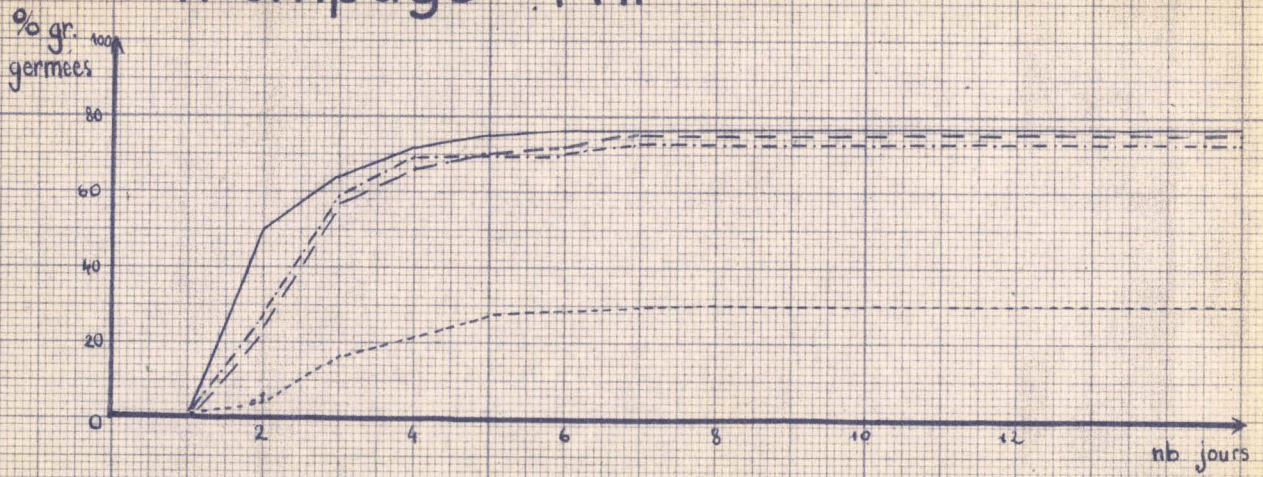
trempage 3 h.

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-------------------|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| $1 \cdot 10^{-3}$ | 0 | 2 | 5 | 8 | 12 | 19 | 22 | 22 | 23 | 23 | 23 | 24 | 25 | 25 | 25 | 25 | 26 | 26 | 26 | 26 |
| $1 \cdot 10^{-4}$ | 0 | 24 | 48 | 56 | 58 | 60 | 62 | 64 | 64 | 64 | 64 | 64 | 64 | 64 | 64 | 64 | 64 | 65 | 65 | 65 |
| $1 \cdot 10^{-5}$ | 0 | 32 | 72 | 83 | 88 | 92 | 94 | 94 | 95 | 95 | 95 | 95 | 95 | 95 | 95 | 96 | 96 | 96 | 96 | 96 |

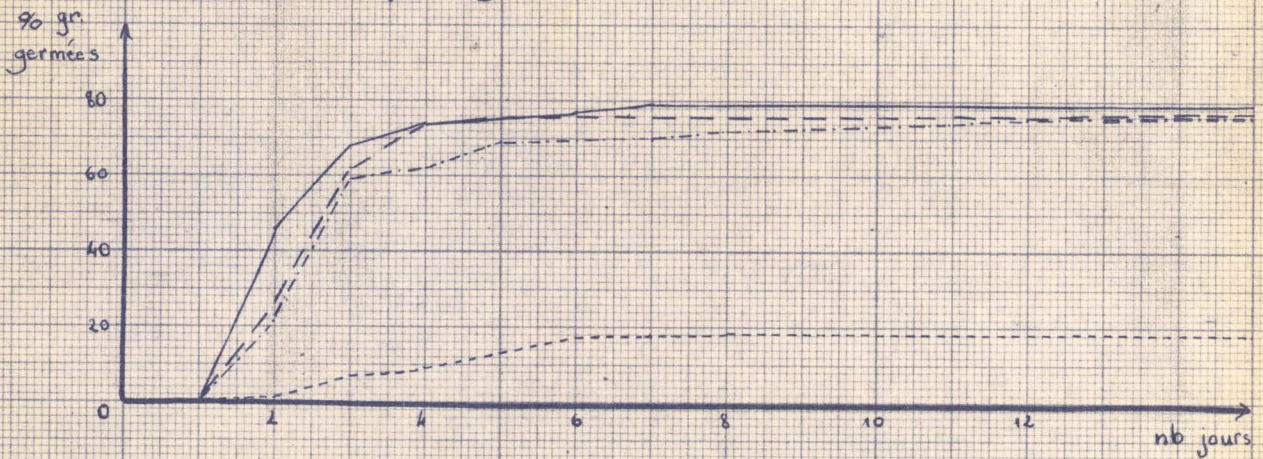
COUMARINE

$1 \cdot 10^{-3}$ ———
 $1 \cdot 10^{-4}$ - - - -
 $1 \cdot 10^{-5}$ ·····
eau pH 9 ———

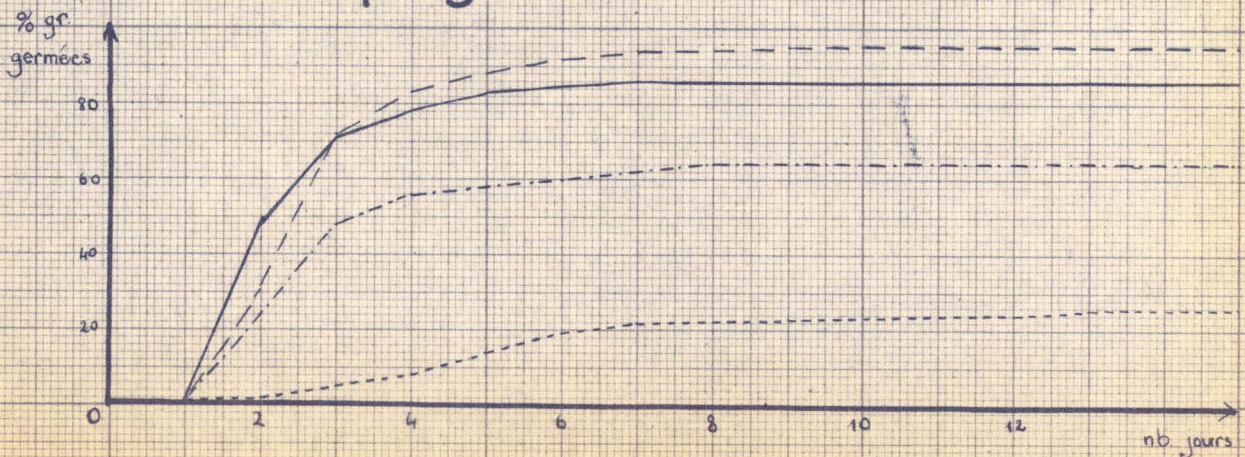
trempage 1 h.



trempage 2 h.



trempage 3 h.



L'examen de la planche I et du tableau relatif à cette planche nous montre que :

1°) la coumarine à la concentration 1/1 000 est très active dans les 3 cas.

2°) la concentration de 1/10 000 a une activité plus faible mais sensible encore.

3°) la concentration de 1/100 000 peut être considérée comme ayant une activité nulle : dans le trempage de 3 heures ne dépasse-t-elle pas la courbe obtenue avec l'eau distillée?

4°) l'activité de la coumarine est nette les cinq premiers jours.

5°) la coumarine ne modifie pas le temps de latence : ce dernier reste toujours 2 jours.

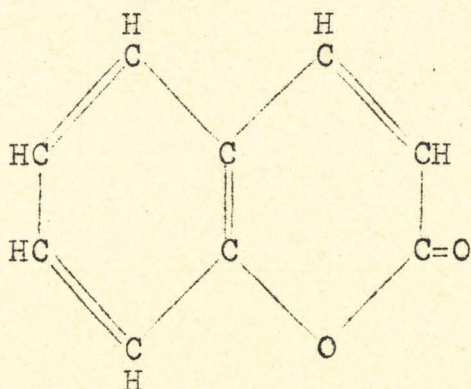
6°) l'activité de la coumarine est maximum pour un trempage de 2 heures.

Donc, la coumarine se révèle être un inhibiteur de la germination de Cichorium Intybus L.

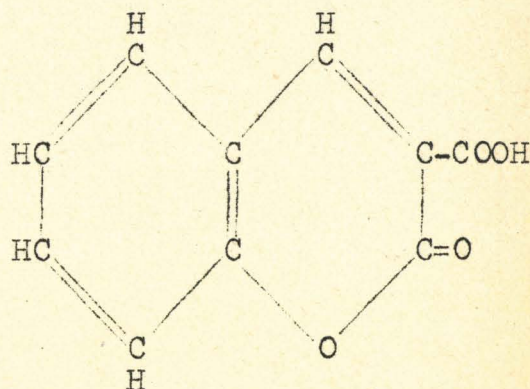
ACTION DE LA COUMARINE CARBOXYLATE DE SODIUM.

La coumarine s'étant montrée si active, il serait profitable de voir l'influence qu'aurait le fait de greffer une chaîne latérale sur le noyau hétérocyclique : d'où l'utilisation de la coumarine carboxylate de sodium obtenue par action du carbonate de sodium sur l'acide coumarine carboxylique de formule :

Coumarine .



Ac. coumarine carboxylique.



Pour réaliser ce sel, à 1g d'acide coumarine carboxylique, nous avons ajouté 28 cm³ de solution de carbonate de sodium à 1/100, puis de l'eau distillée en quantité suffisante jusqu'à 1 000cm³.

Des trempages de 1, 2, et 3 heures dans des solutions à 1/1 000, 1/10 000, 1/100 000 ont donné, après germination sur papier filtre imbibé d'eau distillée ajustée au pH 9, les résultats suivants consignés sur les tableaux et graphiques ci-après :

COUMARINE CARBOXYLATE DE SODIUM

trempage 1 h.

| Jours Conc. | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 |
|-------------------|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| $1 \cdot 10^{-3}$ | 0 | 36 | 65 | 71 | 73 | 75 | 76 | 78 | 78 | 78 | 78 | 78 | 79 | 79 | 79 | 79 | 79 | 79 | 79 | 79 |
| $1 \cdot 10^{-4}$ | 0 | 30 | 50 | 57 | 62 | 64 | 64 | 64 | 64 | 65 | 66 | 66 | 67 | 67 | 67 | 67 | 69 | 69 | 70 | 70 |
| $1 \cdot 10^{-5}$ | 0 | 26 | 57 | 65 | 72 | 74 | 75 | 76 | 77 | 77 | 77 | 77 | 77 | 77 | 77 | 78 | 79 | 79 | 80 | 80 |

trempage 2 h.

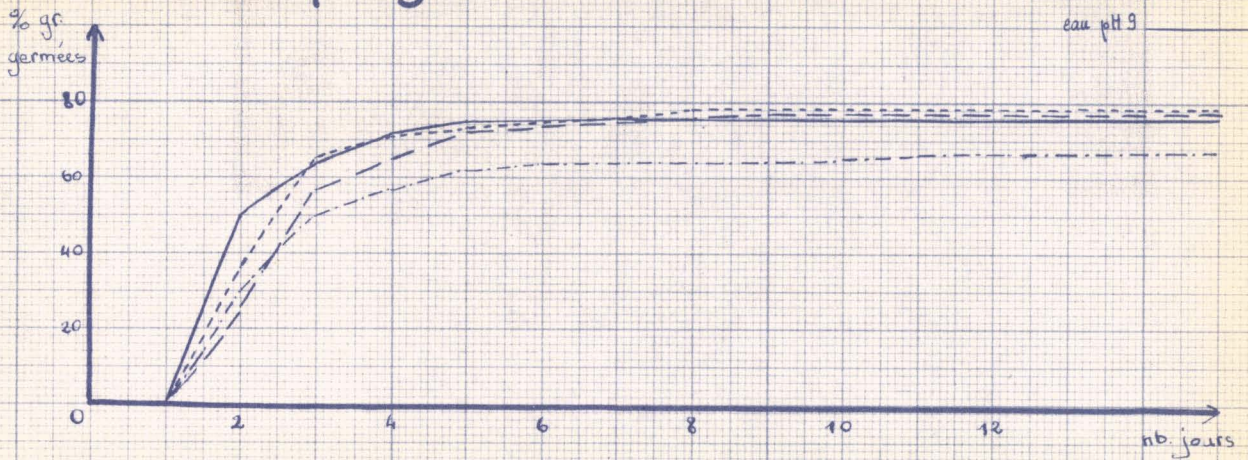
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-------------------|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| $1 \cdot 10^{-3}$ | 0 | 33 | 68 | 75 | 78 | 79 | 79 | 79 | 80 | 80 | 80 | 80 | 80 | 80 | 80 | 80 | 80 | 81 | 81 | 81 |
| $1 \cdot 10^{-4}$ | 0 | 36 | 60 | 66 | 73 | 74 | 76 | 76 | 77 | 77 | 77 | 78 | 78 | 78 | 78 | 78 | 78 | 78 | 78 | 78 |
| $1 \cdot 10^{-5}$ | 0 | 24 | 52 | 65 | 69 | 70 | 73 | 74 | 76 | 77 | 77 | 77 | 78 | 79 | 79 | 79 | 79 | 79 | 79 | 79 |

trempage 3 h.

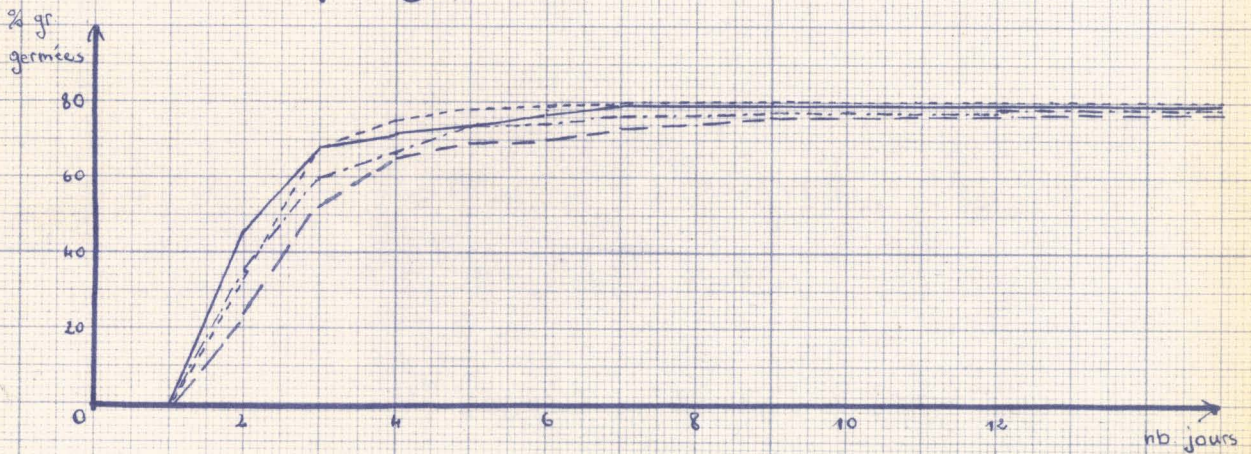
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-------------------|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| $1 \cdot 10^{-3}$ | 0 | 32 | 56 | 65 | 66 | 69 | 69 | 72 | 73 | 73 | 74 | 74 | 74 | 74 | 75 | 75 | 78 | 78 | 78 | 78 |
| $1 \cdot 10^{-4}$ | 0 | 33 | 70 | 79 | 81 | 81 | 81 | 81 | 81 | 81 | 81 | 81 | 81 | 81 | 81 | 81 | 81 | 81 | 81 | 81 |
| $1 \cdot 10^{-5}$ | 0 | 33 | 69 | 76 | 78 | 81 | 82 | 85 | 85 | 86 | 87 | 88 | 88 | 88 | 88 | 88 | 89 | 89 | 89 | 89 |

COUMARINE carboxylate de Sodium

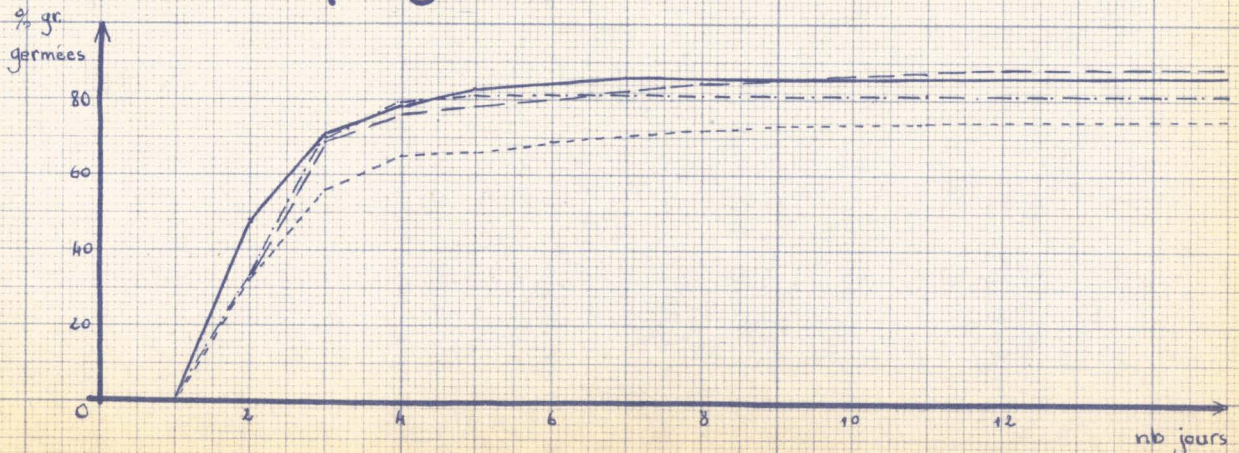
trempage 1 h.



trempage 2 h.



trempage 3 h.



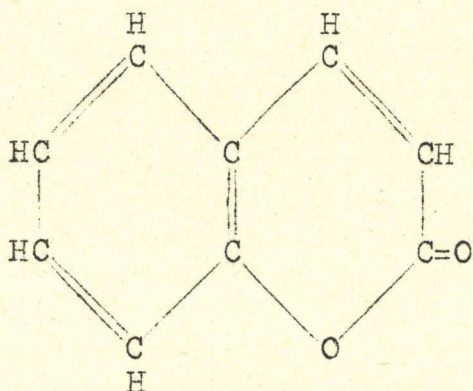
L'examen des résultats, en particulier des graphiques, nous montre que nous pouvons considérer la coumarine carboxylate de sodium comme n'ayant plus aucune action sur la germination.

L'étude du graphique correspondant au trempage 2 heures, nous le montre nettement : n'y voit-on pas une inversion de ce que nous avons constaté pour la coumarine ? à savoir que la concentration la plus forte a une activité proche de celle de l'eau distillée.

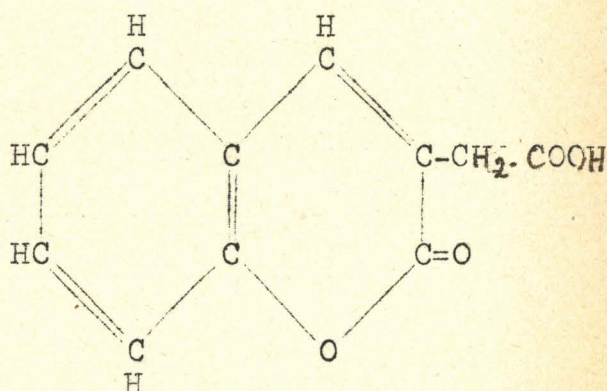
ACTION DE LA COUMARINE ACETATE DE SODIUM.

Dans ce cas, une chaîne latérale dicarbonée est greffée sur la coumarine.

Coumarine.



Ac. coumarine acétique.



Pour réaliser le sel nous avons ajouté à 1g d'acide coumarine acétique 26cm³ de solution de carbonate de sodium à 1/100 puis de l'eau distillée en quantité suffisante jusqu'à 1 000cm³.

Des trempages de 1, 2 et 3 heures dans des solutions à 1/1 000, 1/10 000, 1/100 000 ont donné après germination sur papier filtre imbibé d'eau distillée à pH 9 les résultats consignés sur les tableaux suivants :

COUMARINE ACETATE DE SODIUM

trempage 1 h.

| Jours Conc. | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 |
|-------------------|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| $1 \cdot 10^{-3}$ | 0 | 32 | 63 | 73 | 75 | 81 | 82 | 82 | 83 | 84 | 84 | 84 | 84 | 84 | 84 | 84 | 84 | 84 | 84 | 84 |
| $1 \cdot 10^{-4}$ | 0 | 31 | 67 | 74 | 77 | 79 | 81 | 82 | 83 | 83 | 84 | 84 | 85 | 86 | 86 | 86 | 86 | 86 | 86 | 86 |
| $1 \cdot 10^{-5}$ | 0 | 36 | 59 | 68 | 75 | 76 | 77 | 77 | 77 | 77 | 77 | 77 | 77 | 77 | 77 | 77 | 78 | 78 | 78 | 78 |

trempage 2 h.

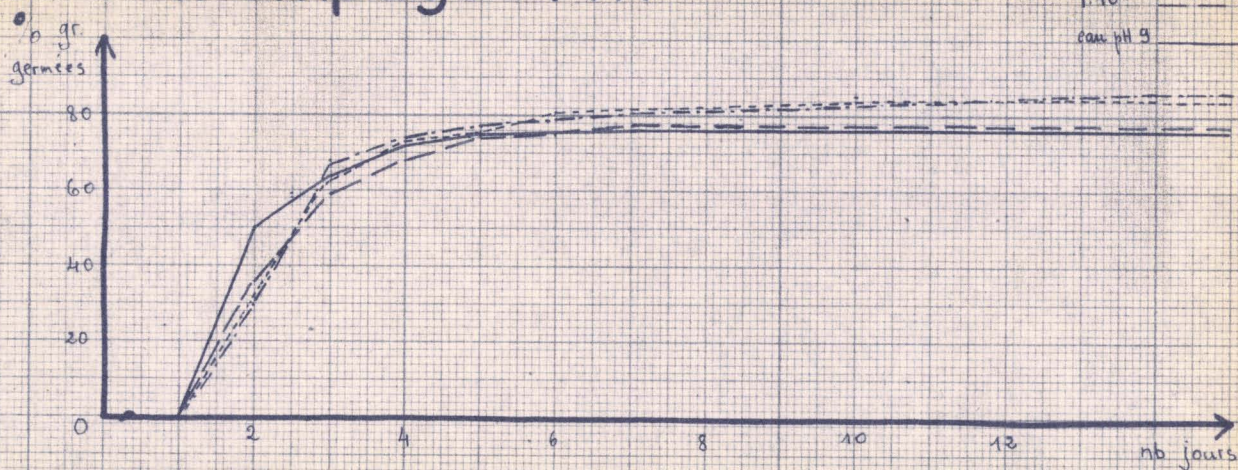
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-------------------|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| $1 \cdot 10^{-3}$ | 0 | 30 | 63 | 70 | 75 | 78 | 80 | 81 | 81 | 81 | 81 | 81 | 81 | 81 | 81 | 82 | 82 | 82 | 82 | 82 |
| $1 \cdot 10^{-4}$ | 0 | 33 | 58 | 67 | 72 | 73 | 75 | 75 | 75 | 76 | 77 | 77 | 77 | 77 | 77 | 78 | 79 | 81 | 81 | 81 |
| $1 \cdot 10^{-5}$ | 0 | 26 | 63 | 73 | 77 | 78 | 79 | 79 | 80 | 80 | 80 | 80 | 80 | 80 | 80 | 80 | 80 | 80 | 80 | 80 |

trempage 3 h.

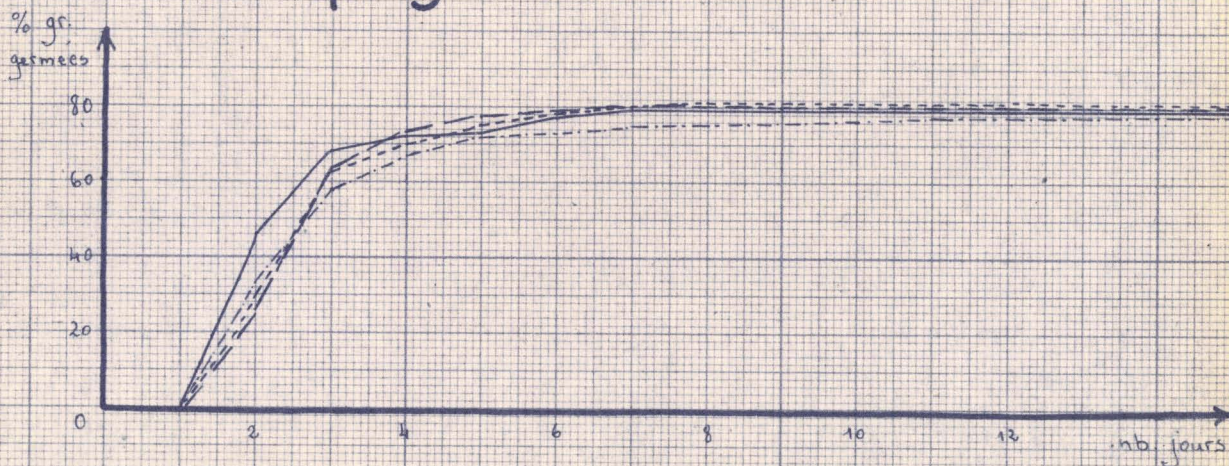
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-------------------|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| $1 \cdot 10^{-3}$ | 0 | 21 | 55 | 69 | 74 | 77 | 77 | 77 | 79 | 79 | 79 | 80 | 81 | 81 | 81 | 81 | 81 | 81 | 81 | 81 |
| $1 \cdot 10^{-4}$ | 0 | 31 | 53 | 64 | 66 | 69 | 71 | 71 | 73 | 74 | 75 | 75 | 76 | 76 | 76 | 76 | 76 | 76 | 76 | 76 |
| $1 \cdot 10^{-5}$ | 0 | 29 | 61 | 67 | 68 | 70 | 70 | 70 | 71 | 71 | 71 | 72 | 72 | 72 | 72 | 73 | 74 | 74 | 74 | 74 |

COUMARINE acétate de Sodium

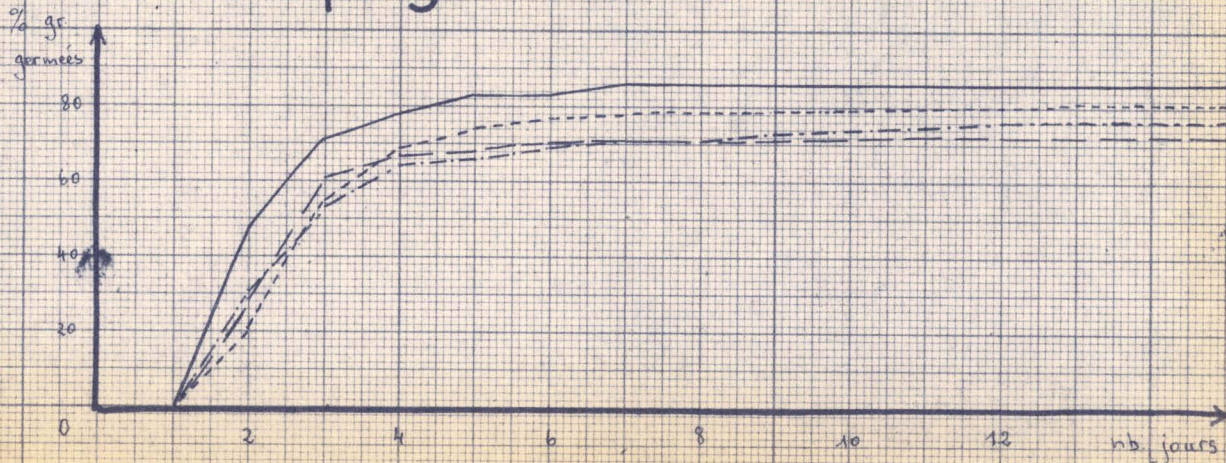
trempage 1 h.



trempage 2 h.



trempage 3 h.



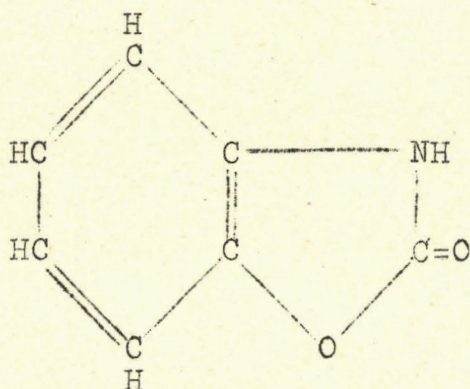
L'examen des résultats, en particulier des graphiques, nous permet de considérer la coumarine acétate de sodium comme n'ayant aucune action sur la germination.

L'examen des graphiques correspondant aux trempages de 1 et 2 heures, nous montre des trajets presque confondus quelle que soit la concentration, toujours au voisinage de la courbe relative à l'eau distillée.

ACTION DE LA BENZOXAZOLONE.

Les dérivés de la coumarine n'ayant manifesté aucune activité nous avons essayé des corps de formule voisine : tout d'abord, la benzoxazolone.

Elle a pour formule :



La benzoxazolone possède, ainsi que ses dérivés de substitution sur l'azote, des propriétés hypnotiques et sédatives en physiologie animale.

Des trempages de 1, 2 et 3 heures dans des solutions à des concentrations de 1/1 000, 1/10 000, 1/100 000 ont donné les résultats suivants :

BENZOXAZOLONE

trempage 1 h.

| $\frac{\% \text{ ST}}{\text{Conc.}}$ | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 |
|--------------------------------------|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| $1 \cdot 10^{-3}$ | 0 | 25 | 48 | 58 | 60 | 61 | 61 | 63 | 63 | 63 | 63 | 63 | 64 | 64 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 | 65 |
| $1 \cdot 10^{-4}$ | 0 | 26 | 57 | 65 | 68 | 70 | 70 | 70 | 70 | 70 | 70 | 70 | 70 | 70 | 71 | 71 | 71 | 71 | 71 | 71 |
| $1 \cdot 10^{-5}$ | 0 | 31 | 59 | 67 | 70 | 72 | 73 | 73 | 73 | 73 | 73 | 73 | 73 | 73 | 73 | 73 | 73 | 73 | 73 | 73 |

trempage 2 h.

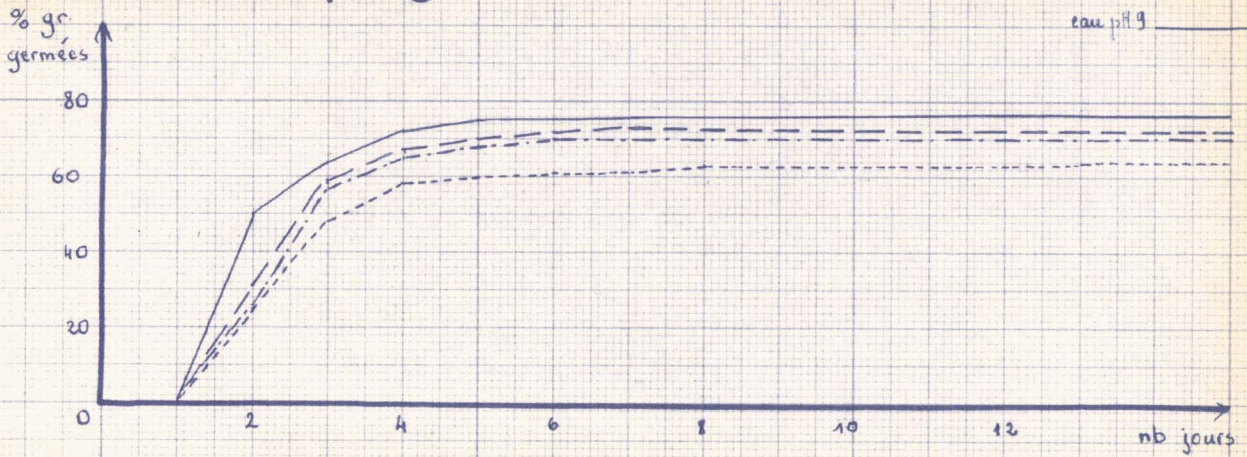
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-------------------|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| $1 \cdot 10^{-3}$ | 0 | 15 | 31 | 46 | 52 | 55 | 56 | 57 | 57 | 58 | 59 | 59 | 59 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 |
| $1 \cdot 10^{-4}$ | 0 | 25 | 56 | 62 | 63 | 64 | 65 | 66 | 67 | 67 | 67 | 67 | 68 | 68 | 68 | 68 | 68 | 68 | 68 | 68 |
| $1 \cdot 10^{-5}$ | 0 | 34 | 62 | 75 | 82 | 83 | 83 | 84 | 84 | 85 | 86 | 86 | 88 | 88 | 88 | 88 | 89 | 89 | 89 | 89 |

trempage 3 h.

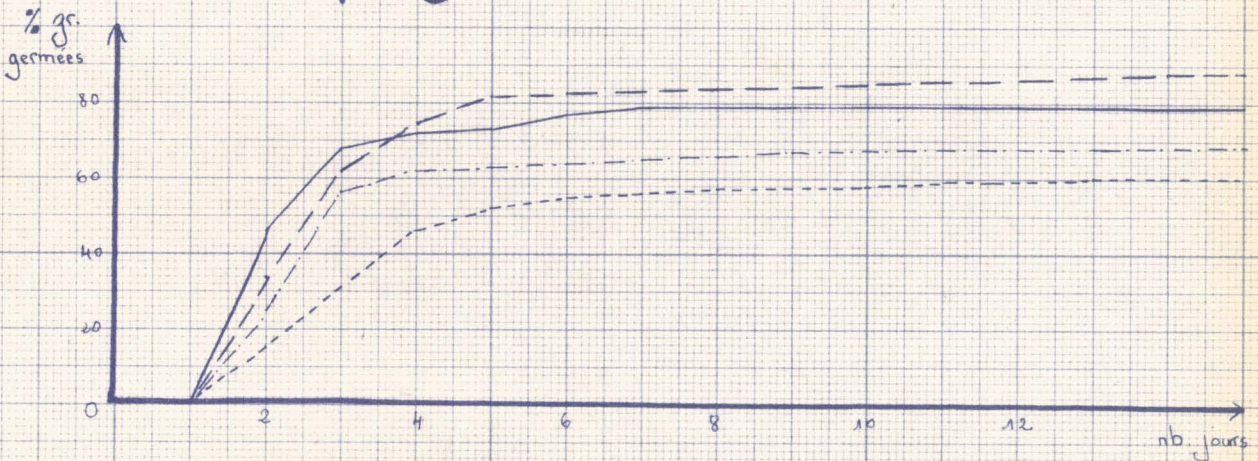
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-------------------|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| $1 \cdot 10^{-3}$ | 0 | 22 | 42 | 52 | 53 | 56 | 56 | 56 | 58 | 59 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 61 | 61 |
| $1 \cdot 10^{-4}$ | 0 | 37 | 66 | 71 | 72 | 73 | 76 | 76 | 76 | 78 | 78 | 78 | 78 | 78 | 78 | 78 | 78 | 78 | 78 | 78 |
| $1 \cdot 10^{-5}$ | 0 | 27 | 51 | 62 | 65 | 66 | 66 | 67 | 67 | 68 | 69 | 69 | 69 | 69 | 69 | 70 | 70 | 70 | 70 | 70 |

BENZOAZOLONE

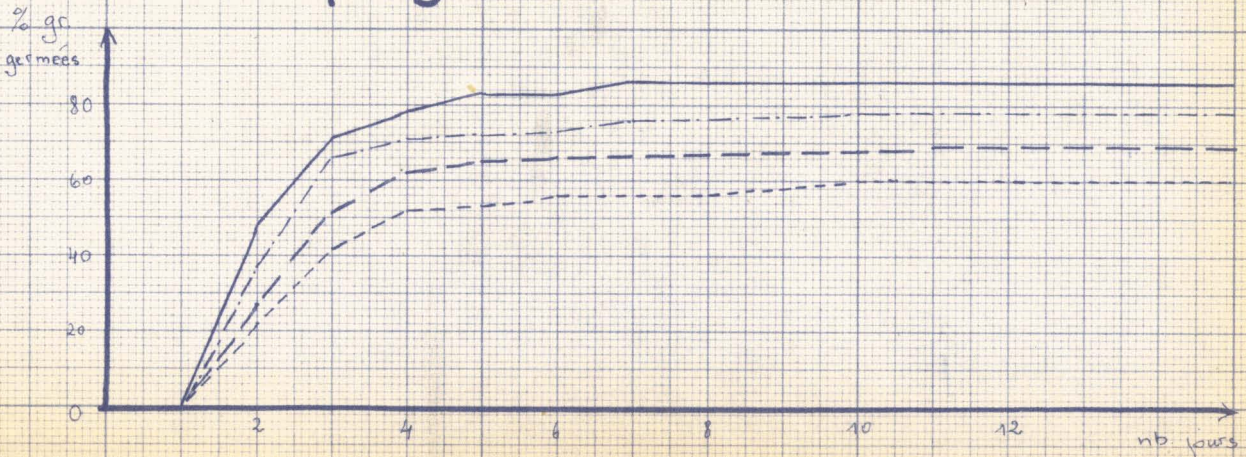
trempage 1 h.



trempage 2 h.



trempage 3 h.



L'examen des résultats et des graphiques nous montre que :

1°) la benzoxazolone à la concentration 1/1 000 est active dans tous les cas, abaissant la faculté germinative de 15 à 25%.

2°) l'activité décroît comme la concentration celle à 1/100 000 étant moins active que celle à 1/10 000 sauf dans le cas du trempage de 3 heures où il y a inversion entre les deux courbes.

3°) l'activité de la benzoxazolone est nette pendant les cinq premiers jours, les paliers étant atteints du 8° au 10° jour.

4°) la benzoxazolone ne modifie pas le temps de latence.

ACTION DE L'INSULYL

en solution ajustée au pH 9.

L'Insulyl n'est autre que le nom commercial de l'insuline stabilisée par 2 mg de phénol par centimètre cube. Les flacons utilisés dosent 100 unités internationales pour 5 cc, c'est à dire que la concentration est d'emblée réalisée au 1/1 000.

La coumarine favorisant la germination chez les plantes à coumarine, il a paru utile d'essayer un corps facilitant l'utilisation des réserves glucidiques : à savoir, l'insuline.

L'insuline est classée parmi les hormones protéïdiques, c'est un polypeptide formé d'arginine, histidine, lysine, cystine, tyrosine, leucine.

Il est à remarquer que parmi ces acides aminés, il y en a qui possèdent des chaînes cycliques, en particulier la tyrosine qui a un cycle phényl. D'ailleurs, Fischer et Scott ont montré que l'activité de l'insuline décroissait proportionnellement au contenu de la molécule en tyrosine.

L'insuline joue un rôle dans l'utilisation des glucides lors du passage du glucopyranose stable en glucofuranose instable en présence d'hexokinase.

Examinons si dans le cas de *Cichorium Intybus* L., l'insuline a une action sur la germination;

Des trempages de 1, 2 et 3 heures dans des solutions aux concentrations de 1/1 000, 1/10 000 et 1/100 000 ont donné les résultats ci-contre.

Il est à noter que nous avons observé un trouble après les trempages dans les solutions les plus concentrées.

INSULYL ajustée au pH 9

trempage 1 h.

| Jours Conc. | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | |
|-------------------|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| $1 \cdot 10^{-3}$ | 0 | 31 | 56 | 65 | 69 | 69 | 69 | 69 | 69 | 70 | 70 | 70 | 72 | 72 | 73 | 74 | 74 | 75 | 75 | 75 | |
| $1 \cdot 10^{-4}$ | 0 | 41 | 62 | 69 | 72 | 73 | 73 | 73 | 73 | 73 | 73 | 73 | 74 | 74 | 74 | 74 | 74 | 74 | 75 | 75 | |
| $1 \cdot 10^{-5}$ | 0 | 37 | 57 | 68 | 72 | 76 | 77 | 77 | 77 | 77 | 77 | 77 | 77 | 77 | 78 | 78 | 78 | 78 | 78 | 79 | 79 |

trempage 2 h.

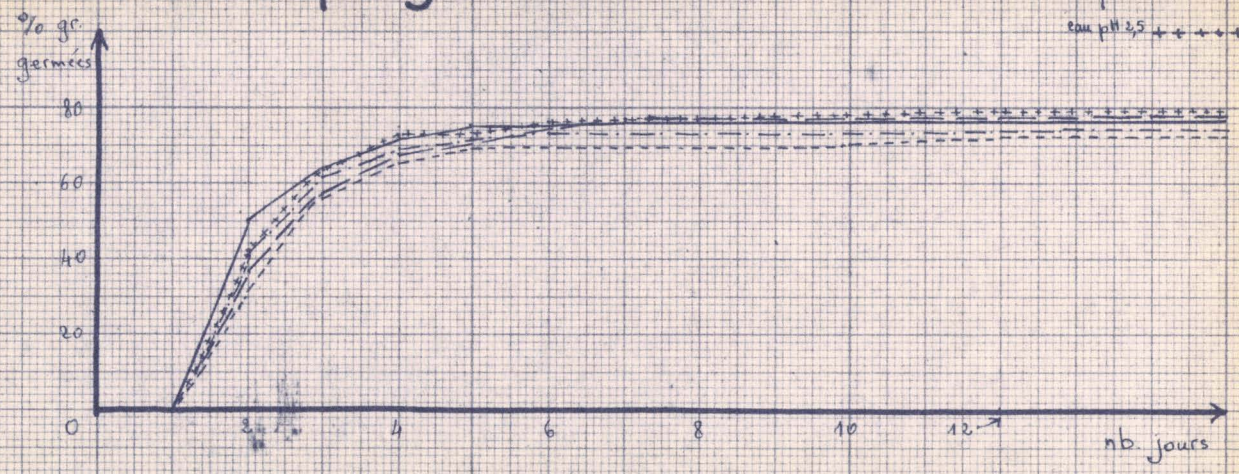
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-------------------|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| $1 \cdot 10^{-3}$ | 0 | 21 | 45 | 55 | 60 | 61 | 62 | 62 | 62 | 63 | 63 | 63 | 64 | 65 | 65 | 65 | 66 | 66 | 66 | 67 |
| $1 \cdot 10^{-4}$ | 0 | 29 | 49 | 59 | 61 | 65 | 65 | 67 | 68 | 68 | 68 | 68 | 68 | 68 | 68 | 69 | 69 | 69 | 69 | 69 |
| $1 \cdot 10^{-5}$ | 0 | 44 | 71 | 75 | 77 | 77 | 77 | 77 | 78 | 78 | 79 | 80 | 80 | 80 | 80 | 81 | 81 | 81 | 81 | 81 |

trempage 3 h.

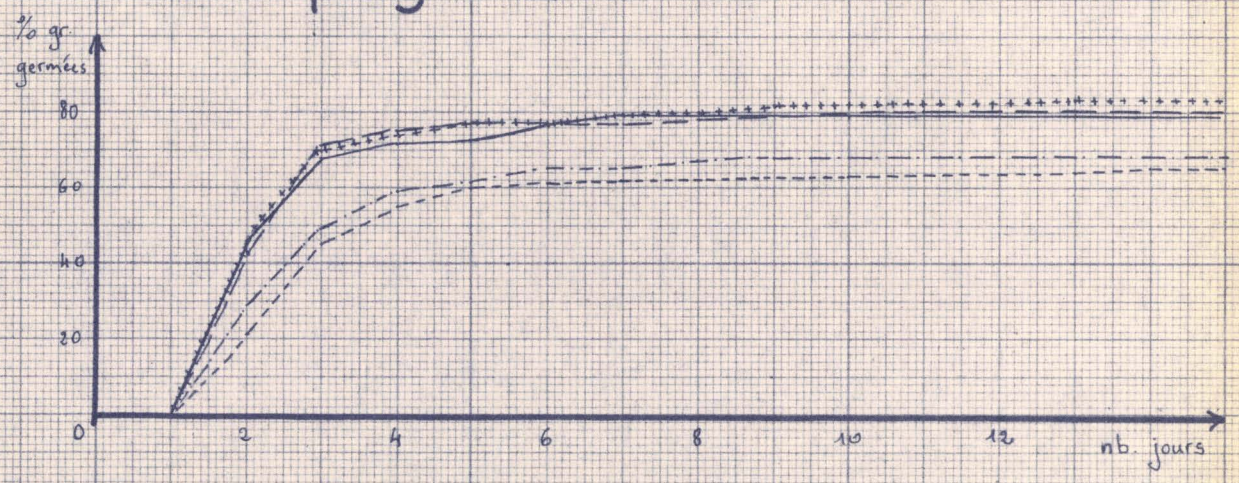
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-------------------|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| $1 \cdot 10^{-3}$ | 0 | 18 | 43 | 51 | 57 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 61 | 61 | 61 | 62 | 62 | 63 | 63 | 64 | |
| $1 \cdot 10^{-4}$ | 0 | 40 | 56 | 58 | 62 | 62 | 63 | 63 | 63 | 63 | 63 | 64 | 64 | 64 | 64 | 66 | 67 | 67 | 67 | 67 | |
| $1 \cdot 10^{-5}$ | 0 | 44 | 66 | 71 | 72 | 74 | 76 | 77 | 77 | 77 | 78 | 79 | 79 | 79 | 79 | 79 | 79 | 80 | 80 | 80 | 80 |

INSULYL pH 9

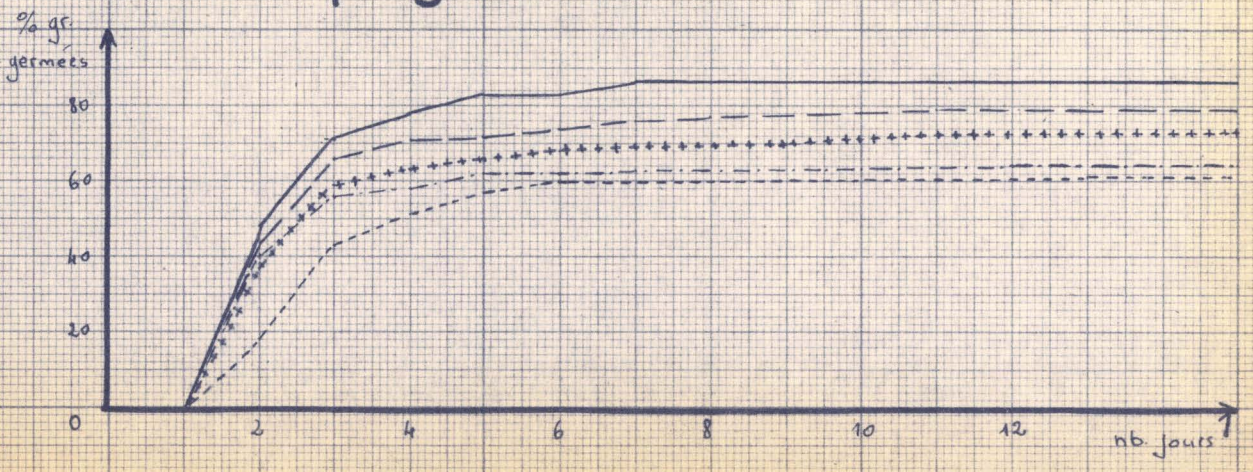
trempage 1 h.



trempage 2 h.



trempage 3 h.



ACTION DE L'INSULYL

en solution ajustée au pH 2,5.

La formation d'un trouble lors du retrait des graines nous signifiant une décomposition au pH 9 pour la concentration de 1/1 000, nous avons expérimenté en utilisant pour le trempage de l'Insulyl amené à un pH acide soit 2,5 par adjonction d'acide chlorhydrique dilué.

Pour ne faire varier qu'un seul facteur, nous n'avons pas jugé bon de changer le pH de l'eau d'imbibition du papier filtre qui a toujours été conservé au pH 9.

Dans ces conditions, les trempages de 1, 2 et 3 heures dans des solutions d'Insulyl au pH 2,5 aux concentrations de 1/1 000, 1/10 000 et 1/100 000 ont donné les résultats ci-joints :

L'examen des graphiques obtenus montre que dans le cas de l'Insulyl en solution ajustée au pH 9 :

1°) pour le trempage de 1 heure on ne constate pas une action très nette; cependant on remarque que la répartition des courbes se fait suivant la concentration du produit la concentration I/100 000 étant très proche de l'eau du point de vue activité.

2°) pour le trempage de 2 heures, on constate que si la courbe obtenue avec la concentration I/100 000 est encore voisine de celle obtenue avec l'eau, celles obtenues avec les concentrations plus élevées montrent l'influence inhibitrice de l'Insulyl sur la faculté germinatrice influence proportionnelle à la concentration.

3°) pour le trempage de 3 heures, on constate que, cette fois, toutes les courbes sont séparées les unes des autres et régulièrement disposées suivant la concentration.

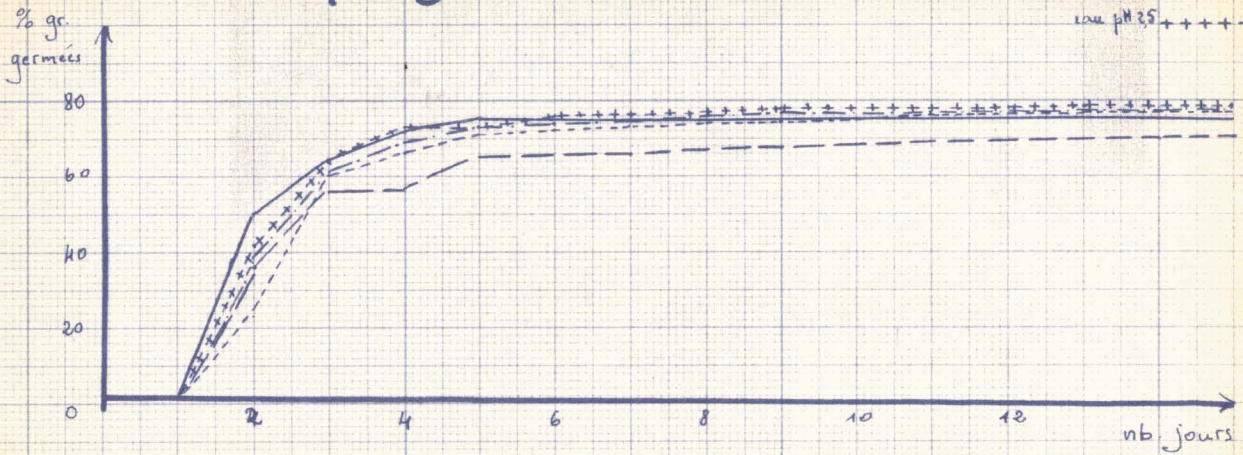
4°) l'Insulyl ne fait pas varier le temps de latence qui est toujours de 2 jours.

Conclusion : L'Insulyl en solution ajustée au pH 9 a une action inhibitrice si la concentration et le temps de trempage sont suffisants.

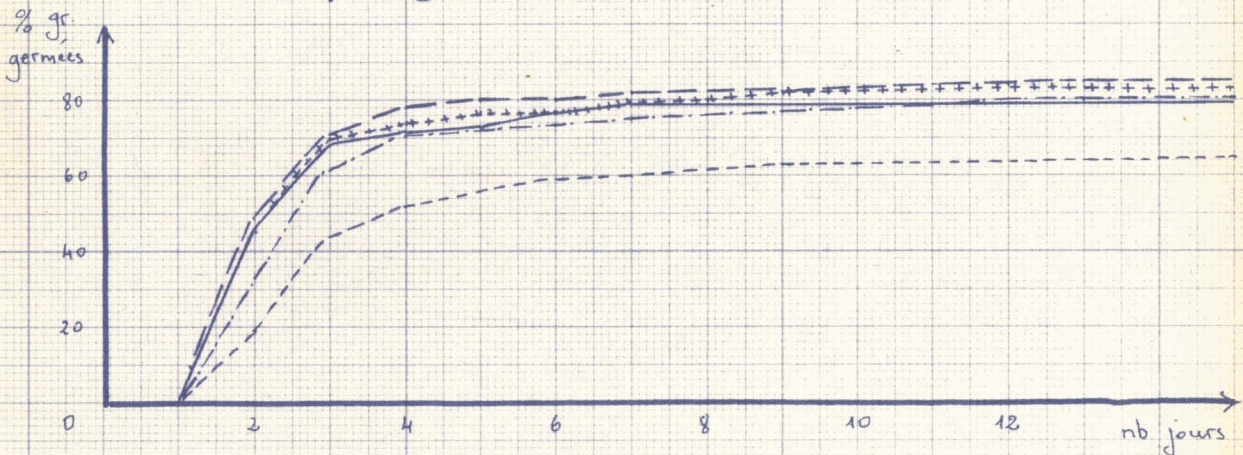
Elle apparaît comme étant inhibitrice de la germination de Cichorium Intybus L. mais ayant une action moins forte que la coumarine.

INSULYL pH 2,5

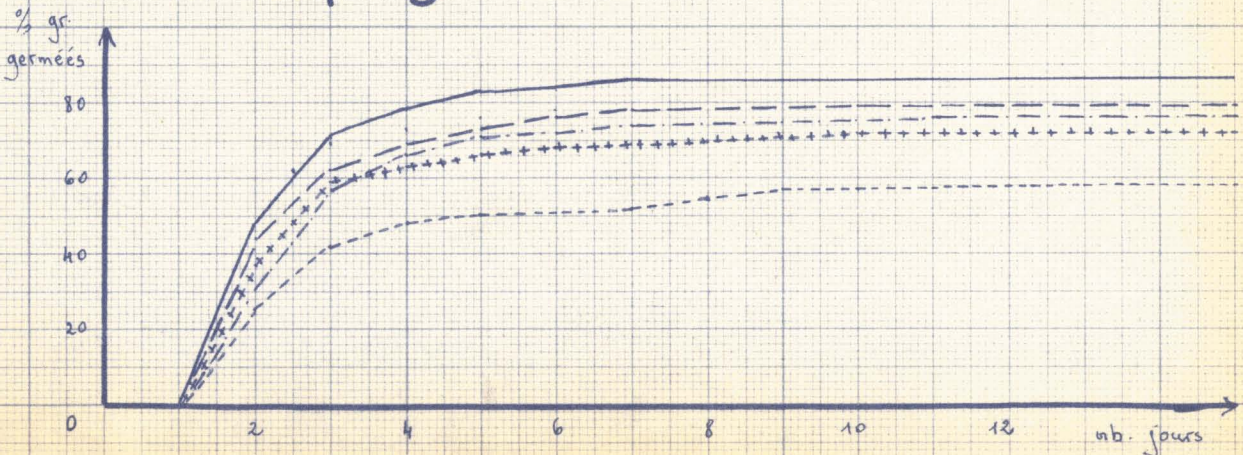
trempage 1 h.



trempage 2 h.



trempage 3 h.



L'examen des graphiques obtenus avec l'Insulyl en solution amenée au pH 2,5 nous montre que :

1°) pour un trempage de 1 heure, l'action est nulle : les courbes obtenues avec l'eau distillée, les concentrations I/I 000 et I/10 000 se confondant presque.

2°) pour les trempages de 2 heures, si les courbes relatives aux concentrations I/10 000 et I/100 000 sont voisines de celle obtenue avec l'eau, la courbe relative à la concentration la plus forte soit I/I 000 en est nettement séparée.

3°) pour un trempage de 3 heures, les courbes sont dissociées de la même façon et disposées en fonction de la concentration.

4°) l'Insulyl en solution amenée au pH 2,5 ne change pas le temps de latence.

Conclusion : l'Insulyl en solution amenée au pH 2,5 a une action nette à condition que la concentration et le temps de trempage soient suffisants.

Il est à noter qu'il y a eu, aussi dans ce cas, un léger trouble pour la concentration la plus forte, donc décomposition.

N'y aurait-il pas fixation du phénol stabilisateur ce qui s'accompagnerait de la décomposition de l'Insulyl? ce qui expliquerait aussi l'identité des résultats obtenus.

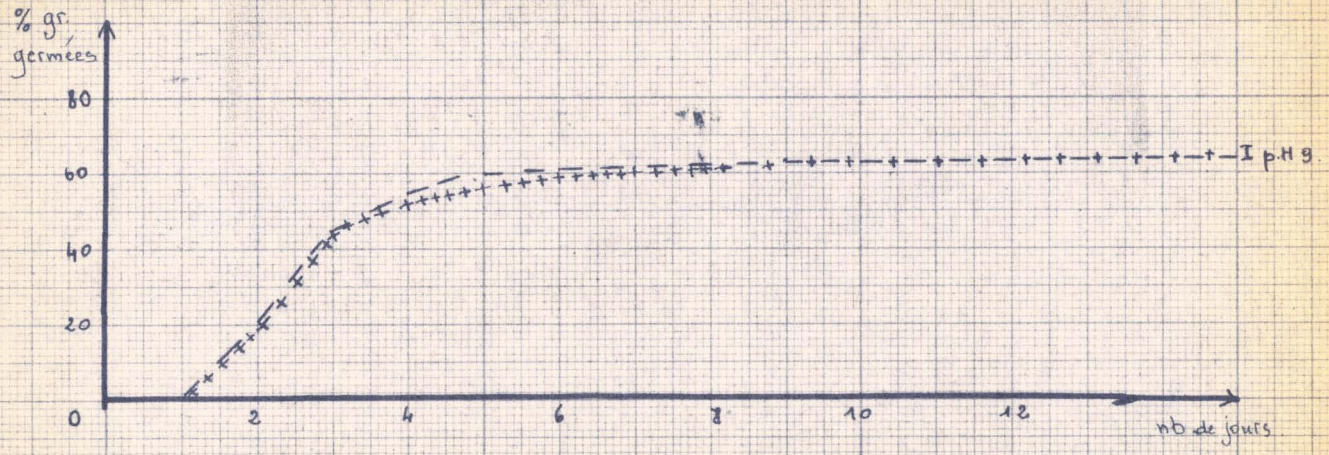
En effet, on pourra constater en reprenant les résultats obtenus et en traçant toutes les courbes comparatives possibles qu'il y a une superposition nette entre les deux actions.

Nous avons, à titre indicatif, tracé dans la planche 7 les courbes correspondant à différentes concentrations pour différents temps de trempage. Dans les 3 cas choisis la superposition est nette.

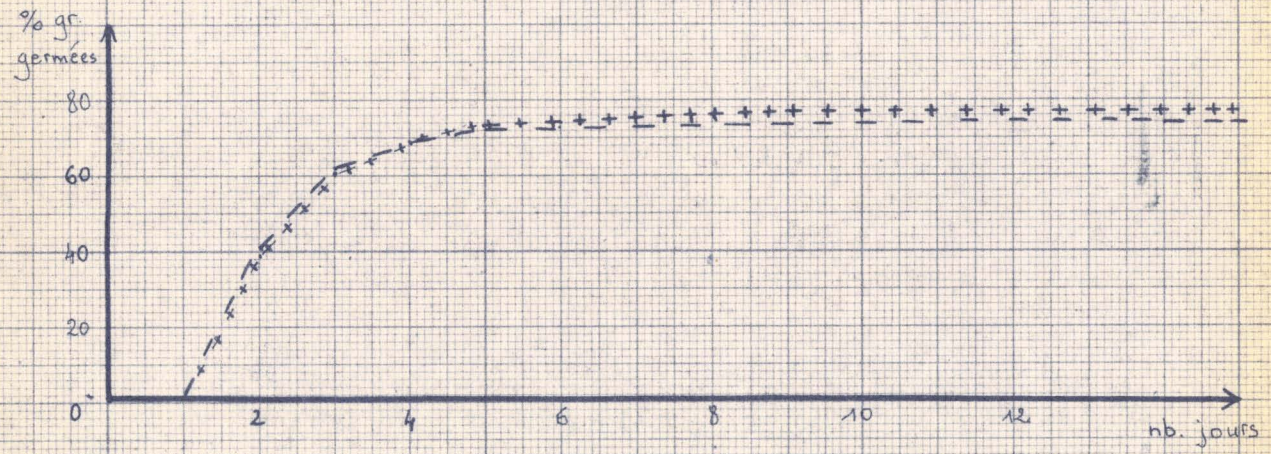
INFLUENCE du pH pour l'INSULYL³⁹

$1 \cdot 10^{-3}$: 2 h.

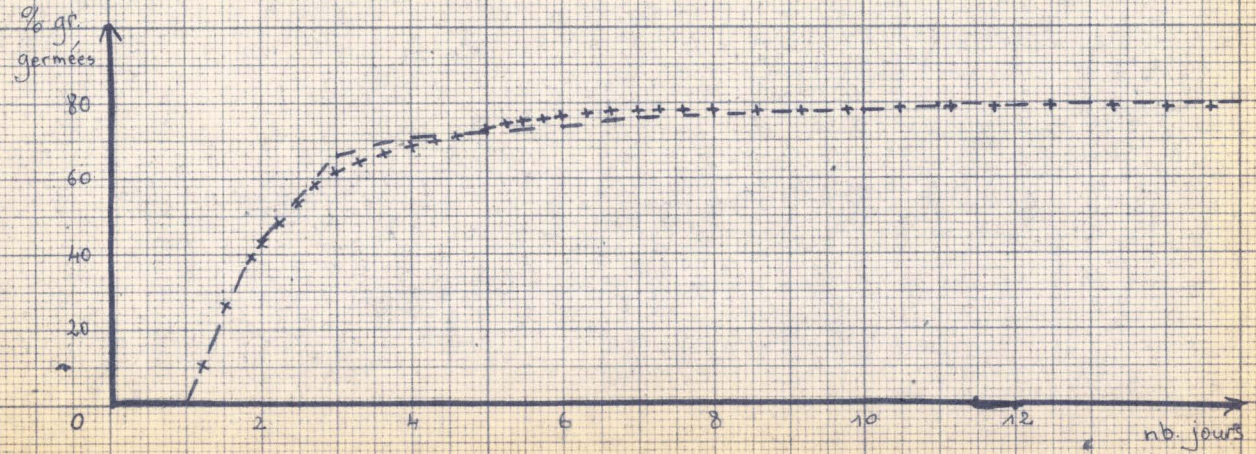
I. pH 9 ---
I. pH 2,5 +++



$1 \cdot 10^{-4}$: 1 h.



$1 \cdot 10^{-5}$: 3 h.



CHAPITRE III

CONCLUSION.

Nous ne saurions mieux faire que de tracer simultanément sur un seul graphique tous les résultats que nous avons obtenus. Mais on peut se rendre compte combien un tel graphique serait peu lisible.

De plus, au cours de nos expériences nous avons remarqué que la durée du trempage influait plus ou moins, mais que les résultats sont identiques pour un trempage de 2 heures ou de 3 heures.

Nous avons donc réuni dans un graphique les résultats relatifs à un trempage de 2 heures et uniquement pour la concentration la plus forte soit I/I 000 :

En effet, nous avons souvent remarqué que la concentration de I/10 000 et I/100 000 n'ont qu'une action peu marquée.

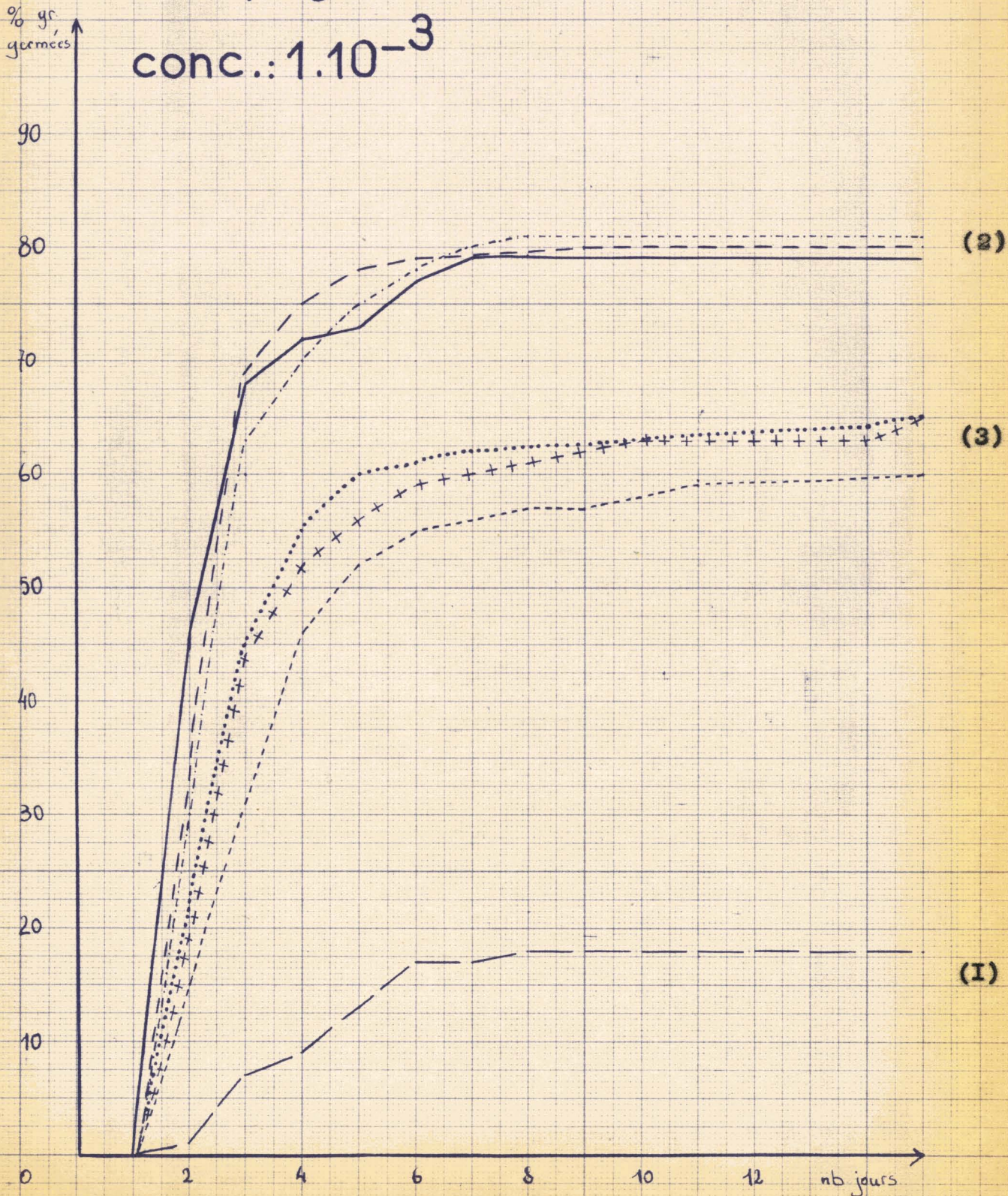
Examinons donc ^{le} graphique situé sur la planche 8.

ACTIVITE comparée

- eau pH 9 ————— 4I
- coumarine $1 \cdot 10^{-3}$ —————
- coum. carb. Na " - - - - -
- coum. acet. Na " - - - - -
- benzoxazolinic " - - - - -
- insulyl pH 9 " x
- insulyl pH 2,5 " + + + + +

trempage 2h.

conc.: $1 \cdot 10^{-3}$



Nous remarquons tout de suite que trois cas distincts, numérotés 1, 2 et 3, se présentent. Cependant dans tous les cas, le temps de latence n'a pas varié : donc les substances utilisées ne sont, ni accélératrices, ni retardatrices de la germination.

Etudions chaque cas en comparant avec la courbe obtenue avec l'eau distillée.

Dans le cas 1), c'est à dire celui de la coumarine, le palier se situe à 18% contre 79% pour l'eau.

Donc la coumarine a un effet très inhibiteur diminuant de plus de quatre fois le pourcentage de semences germées.

Elle est à ce point de vue, aussi toxique, vis à vis de la germination, qu'une solution alcoolique de sublimé corrosif.

Dans les cas 2), c'est à dire ceux de la coumarine carboxylate de sodium et de la coumarine acétate de sodium le palier se situe à 80 et 81%, c'est à dire, se confond avec celui de l'eau. Nous pouvons donc affirmer que la présence d'une chaîne latérale acide à 1 ou 2 atomes de carbone annule totalement l'activité constatée pour la coumarine.

En rapportant ce fait aux phénomènes de la chimie organique, on remarque combien est délicate l'activité d'un corps donné : tout changement dans les molécules annule son effet et ceci nous fait penser à certains biocatalyseurs ou certains inhibiteurs de catalyseurs.

La coumarine inhibant la germination ne bloquerait-elle pas quelque action catalytique?

Cependant, si nous comparons nos résultats avec ceux acquis à propos de l'auxine, nous constatons que si le dérivé carboxylique est inactif comme le dérivé méthanoïque de l'acide indole acétique, le dérivé acétique est aussi inactif contrairement au dérivé acétique de l'acide indole acétique.

De plus, le fait que l'action de la coumarine soit proportionnelle à la concentration de la solution, nous montre que cette action serait quantitative et non qualitative, différence essentielle avec les biocatalyseurs ou les hormones, où les doses requises sont faibles.

Ceci nous fait penser que la coumarine doit s'intercaler dans la chaîne du métabolisme, peut-être celui des glucides, peut-être dans celui du phosphore qui, comme chacun sait, est lié à celui des glucides - où elle jouerait un rôle inhibiteur chez les plantes sans coumarine.

Ceci nous semble

Ceci nous semble confirmé par le cas 3) où nous voyons des substances, l'Insulyl et la benzoxazolone, qui possèdent des propriétés pharmacodynamiques et des formules plus ou moins voisines, jouir de pouvoirs inhibiteurs relativement plus faibles que celui de la coumarine mais visibles quand même étant donné qu'ils font baisser la faculté germinative de 15 à 20%.

Si nous prenons les résultats déjà obtenus avec les mêmes substances en action sur la germination, nous constatons que les nôtres concordent pleinement, à savoir que la coumarine et la benzoxazolone, en particulier, inhibent la germination des semences sans coumarine, aux fortes concentrations.

OBSERVATIONS.

Nos cultures se sont peu à peu recouvertes de moisissures. C'est ainsi qu'après culture nous avons déterminé les genres suivants :

Rhizopus nigricans

Aspergillus niger

Penicillium glaucum

L'eau distillée amenée au pH 2,5 nous a paru inhiber la multiplication des moisissures.

La plupart d'entre elles se sont développées sur les semences généralement avant leur germination.

Dans quelques cas, celle-ci s'est effectuée. Nous avons laissé pousser la plantule et nous avons remarqué que le feutrage des moisissures ne tardait pas à recouvrir la racine et à en inhiber la croissance : des semences témoins ont développé des racines de 8 à 10cm, alors que les graines moisies avaient arrêté leur croissance avec des racines de quelques millimètres.

Nous avons constaté une antibiose développée par les moisissures. Mais il se pourrait aussi que les moisissures aient eu un effet asphyxiant sur les plantules en germination en provoquant la formation d'une gaine imperméable à l'air, donc à l'oxygène.

Remarque : nous avons constaté une résistance généralement bonne de ces moisissures vis à vis des différentes substances essayées.

BIBLIOGRAPHIE SOMMAIRE.

- I Thomas (P) : Manuel de biochimie (1936)
- 2 Renault (R) : Chimie agricole (1955)
- 3 Maquenne (L) : Précis de physiologie végétale.
- 4 Lespagnol (C) : Etude dans la série des benzoxa-
-zolones (1954)
- 5 Mayer (A.M) and Evenari (M) : The relation between
the structure of coumarin and its derivatives and
the activity as germinating inhibitors (1952)
- 6 Giraud (P) : Recherches dans la série des coumarines
- 7 Chouard (P) : Dormance et inhibition des graines
et des bourgeons (1951)
- 8 Burstrom (H) Studies on growth and metabolism of
roots. The influence of auxin and coumarin deriva-
-tives on the cell wall (1954)
- 9 Lacharme (J) : De l'action inhibitrice sur la
croissance des plantes de plusieurs hydroxy-4-
coumarines substituées (1951-1952)
- 10 Mayer (A.M) Quantitative aspect of the behaviour
of coumarin as a germination inhibitor (1953)
- II Thimann (K.V) and Bonner (W.D.Jr) : Inhibition of
plant growth by protoanemonin and coumarin and its
prevention by B.A.L. (1949)

TABLE DES MATIERES.

| | |
|---|------|
| Chapître I | p. I |
| Généralités sur la physiologie de la germination. | |
| Chapître II | p.6 |
| Remarques préliminaires | 7 |
| Faculté germinative | 9 |
| Action de la coumarine | 12 |
| Action de la coumarine carboxylate de sodium | 17 |
| Action de la coumarine acétate de sodium | 22 |
| Action de la benzoxazolone | 26 |
| Action de l'insulyl | |
| - ajustée au pH 9 | 30 |
| - ajustée au pH 2,5 | 35 |
| Chapître III | |
| Conclusion | 40 |
| Observations | 44 |
| Bibliographie | 45 |

