

P. Mazé

Évolution du Carbone

et de l'Azote

SCIENTIA

Exposé et Développement des Questions scientifiques
à l'ordre du jour.

RECUEIL PUBLIÉ SOUS LA DIRECTION

DE

MM. APPELL, CORNU, D'ARSONVAL, FRIEDEL, LIPPMANN,
MOISSAN, POINCARÉ, POTIER,
Membres de l'Institut

POUR LA PARTIE PHYSICO-MATHÉMATIQUE

ET SOUS LA DIRECTION

DE

MM. BALDIANI, Professeur au Collège de France, D'ARSONVAL,
FILHOL, FOUQUÉ, GAUDRY,
GUIGNARD, MAREY, MILNE-EDWARDS,
Membres de l'Institut

POUR LA PARTIE BIOLOGIQUE

Chaque fascicule comprend de 80 à 100 pages in-8° écu, avec cartonnage spécial.

Prix du fascicule : 2 francs.

On peut souscrire à une série de 6 fascicules (*Série physico-mathématique* ou *Série biologique*) au prix de 10 francs.

A côté des revues périodiques spéciales enregistrant au jour le jour le progrès de la Science, il nous a semblé qu'il y avait place pour une nouvelle forme de publication, destinée à mettre en évidence, par un exposé philosophique et documenté des découvertes récentes, les idées générales directrices et les variations de l'évolution scientifique.

A l'heure actuelle, il n'est plus possible au

savant de se spécialiser ; il lui faut connaître l'extension graduellement croissante des domaines voisins : mathématiciens et physiciens, chimistes et biologistes ont des intérêts de plus en plus liés.

C'est pour répondre à cette nécessité que, dans une série de monographies, nous nous proposons de mettre au point les questions particulières, nous efforçant de montrer le rôle actuel et futur de telle ou telle acquisition, l'équilibre qu'elle détruit ou établit, la déviation qu'elle imprime, les horizons qu'elle ouvre, la somme de progrès qu'elle représente.

Mais il importe de traiter les questions, non d'une façon dogmatique, presque toujours faussée par une classification arbitraire, mais dans la forme vivante de la raison qui débat pas à pas le problème, en détache les inconnues et l'inventorie avant et après sa solution, dans l'enchaînement de ses aspects et de ses conséquences. Aussi, indiquant toujours les voies multiples que suggère un fait, scrutant les possibilités logiques qui en dérivent, nous efforcerons-nous de nous tenir dans le cadre de la méthode expérimentale et de la méthode critique.

Nous ferons, du reste, bien saisir l'esprit et la portée de cette nouvelle collection, en insistant sur ce point, que la nécessité d'une publication y sera toujours subordonnée à l'opportunité du sujet.

SÉRIE PHYSICO-MATHÉMATIQUE

APPELL (P.). *Les mouvements de roulement en dynamique.*

COTTON (A.). *Le phénomène de Zeemann.*

FREUNDLER (P.). *La stéréochimie.*

JOB (A.). *Les terres rares.*

LIPPMANN (G.). *Détermination de l'Ohm*

MAURAIN (CH.). *Le magnétisme du fer.*

POINCARÉ (H.). *La théorie de Maxwell et les oscillations hertiennes.*

RAYEAU. *Les nouveaux gaz.*

VILLARD. *Les rayons cathodiques*

WALLERAND. *Groupements cristallins ; propriétés optiques.*

SÉRIE BIOLOGIQUE

ARTHUS (M.). *La coagulation du sang.*

BARD (L.). *La spécificité cellulaire.*

BERTRAND (M.). *Mouvements orogéniques et déformations de l'écorce terrestre.*

BORDIER (H.). *Les actions moléculaires dans l'organisme.*

COURTADE. *L'irritabilité dans la série animale.*

DELAGE (YVES) et LABBÉ (A.). *La fécondation chez les animaux.*

FRENKEL (H.). *Les fonctions rénales.*

GILBERT (A.) et CARNOT. *Les fonctions hépatiques.*

HALLION. *Modifications du sang sous l'influence des solutions salines.*

HALLION et JULIA. *Action vasculaire des toxines microbiennes.*

LE DANTEC (F.). *La Sexualité.*

MARTEL (A.). *Spéléologie.*

MAZÉ (P.). *Évolution du carbone et de l'azote.*

MENDELSSOHN (M.). *Les réflexes.*

POIRAULT. *La fécondation chez les végétaux.*

RENAULT (B.). *La houille.*

ROGER (H.). *L'infection.*

THIROLOIX (J.). *La fonction pancréatique.*

VAN GEHUCHTEN (A.). *La cellule nerveuse et la doctrine des neurones.*

WINTER (J.). *La matière minérale dans l'organisme.*

ÉVOLUTION
DU CARBONE ET DE L'AZOTE
DANS LE MONDE VIVANT

PAR

P. MAZÉ

Ingénieur-agronome. — Docteur ès sciences.
Préparateur à l'Institut Pasteur.

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
INTRODUCTION	5
CHAPITRE PREMIER. — Origines du carbone organique.	
L'acide carbonique de l'air source du carbone des plantes. Elaboration des hydrates de carbone dans les feuilles. Les diastases des feuilles. Mécanisme de la formation des hy- drates de carbone dans les feuilles. Assimilation du carbone organique du sol. Formation des matières grasses.	9
CHAPITRE II. — Origines de l'azote organique.	
Nutrition azotée des plantes. Intervention de l'azote libre. Formation des composés quaternaires dans les végétaux supérieurs	45
CHAPITRE III. — Dégradation de la matière organique.	
Rôle des animaux. Rôle des infiniment petits.	90

ÉVOLUTION
DU CARBONE ET DE L'AZOTE
DANS LE MONDE VIVANT

J. Dumas, dans ses Leçons faites à la Société chimique de Paris, a publié un travail inédit de Lavoisier, dans lequel le créateur de la chimie établit en quelques lignes les relations qui existent entre le règne minéral, le règne végétal et le règne animal.

« Les végétaux puisent dans l'air qui les environne, dans l'eau et en général dans le règne minéral, les matériaux nécessaires à leur organisation. Les animaux se nourrissent ou de végétaux ou d'autres animaux qui ont été eux-mêmes nourris de végétaux, en sorte que les matières qui les forment sont toujours, en dernier résultat, tirées de l'air ou du règne minéral.

« Enfin, la fermentation, la putréfaction et la combustion rendent perpétuellement à l'air de l'atmosphère et au règne minéral les principes que les végétaux et les animaux en ont empruntés.

« Par quels procédés la nature opère-t-elle cette merveilleuse circulation entre les deux règnes ? Comment parvient-elle à former des substances combustibles, fermentescibles et putrescibles avec des combinaisons qui n'avaient aucune de ces propriétés ? Ce sont des mystères impénétrables. On entrevoit cependant que, puisque la combustion et la putréfaction sont les moyens que la nature emploie pour rendre au règne minéral les matériaux qu'elle en a tirés pour former des végétaux et des

animaux, la végétation et l'animalisation doivent être des opérations inverses de la combustion et de la putréfaction. »

Tel est le vaste problème sur lequel s'est exercée, un siècle durant, l'activité des chimistes et des physiologistes. On en a précisé les différentes parties ; on a confirmé les idées de Lavoisier en montrant que les végétaux seuls constituent l'usine où se créent les matières combustibles, où s'emmagasine l'énergie empruntée aux radiations solaires, tandis que les animaux, leurs tributaires, sont des organismes de combustion et d'analyse. Mais ils ne minéralisent pas complètement : les débris qu'ils abandonnent à la terre, de même que les résidus végétaux qui y retournent, doivent subir des phénomènes de fermentation et de putréfaction, pour redevenir aptes à l'entretien de la vie. Dans l'esprit de Lavoisier, ces deux mots ne correspondaient à aucune notion précise. Pasteur a montré qu'ils cachent tout un monde nouveau, le monde des infiniment petits. Il a fait voir que ce sont eux les agents actifs de la dégradation de la matière organique ; par leur intermédiaire, toutes les substances fermentescibles confiées à la terre se minéralisent ou se gazéifient et reprennent l'état sous lequel les végétaux les avaient absorbés.

Un petit nombre de corps simples prennent part à cette circulation. Parmi eux on trouve le carbone, l'azote, le phosphore et le soufre, caractérisés au point de vue chimique par leur grand nombre de valences et par l'infinie variété de composés auxquels ils donnent naissance.

Autour de ceux-ci viennent se grouper quelques éléments mono ou bivalents, comme l'hydrogène et l'oxygène. Les matières protéiques, les graisses, les hydrates de carbone ne contiennent pas d'autres corps simples. .

Remarquons en outre que la mobilité de ces éléments et

leur grande diffusion les mettent partout en contact avec les êtres qui les utilisent : le carbone à l'état d'acide carbonique, l'azote, l'oxygène et l'hydrogène forment la masse de l'atmosphère et des eaux. L'azote gazeux n'est utilisé que par un petit nombre d'espèces vivantes; la source principale de l'azote organique se trouve dans l'ammoniaque et les nitrates du sol, et, au point de vue de la mobilité, il est curieux de constater que les nitrates, les aliments préférés des végétaux, circulent librement dans les eaux souterraines.

Les manifestations de la vie sont intimement liées à la présence des matières protéiques; celles-ci forment la presque totalité de la cellule vivante, et à ce titre elles doivent attirer particulièrement l'attention, si l'on veut suivre la rotation des éléments constitutifs des organismes vivants.

Malheureusement, on ne sait rien ou presque rien de la constitution des matières protéiques : ignorant la composition de leur molécule, il est impossible de saisir le mécanisme des transformations dont elles sont le siège. Force est donc de s'en tenir en quelque sorte aux phénomènes extérieurs à la cellule, de faire le bilan de la nutrition végétale et animale et d'examiner les modifications que les infiniment petits font subir à la matière fermentescible. L'examen rapide de ces questions permettra de suivre l'organisation et la dégradation des composés organiques et de passer en revue les différents états sous lesquels se présentent leurs éléments constitutifs, en limitant toutefois le sujet au carbone et à l'azote, les plus intéressants au point de vue où nous nous plaçons.

CHAPITRE PREMIER

ORIGINES DU CARBONE ORGANIQUE

L'acide carbonique de l'air source du carbone des plantes.

C'est un fait d'observation vulgaire que les aliments des animaux sont formés de principes immédiats à peu près identiques à ceux qui constituent leurs tissus. Les végétaux qui plongent leurs racines dans l'épaisseur du sol arable absorbent-ils l'humus et les composés organiques qui se rapprochent le plus de ceux qui entrent dans leurs tissus ? C'était l'opinion à peu près unanime des agronomes jusque vers 1840. Les idées de Lavoisier n'avaient pas été publiées ; les écrits de Bernard Palissy sur le rôle des sels minéraux dans le développement des plantes, rapportés par M. Grandeau dans son Cours d'agriculture professé à l'École forestière, étaient restés ignorés, ou tout au moins n'avaient exercé aucune influence sur la physiologie végétale.

En 1840, Liebig publie sa chimie agricole, dans laquelle il expose la théorie de la nutrition minérale des végétaux. Appuyées par une réputation universelle, une autorité incontestée, les idées de Liebig passèrent immédiatement dans la pratique agricole ; mais elles ont suscité d'ardentes contradictions, qui sont tombées peu à peu, grâce aux faits innombrables que l'expérimentation a apportés en faveur de la théorie minérale. Pour Liebig, ce sont les cendres seules des végétaux qui exercent une influence heureuse sur le développement des plantes ; la fertilité du sol tient à sa richesse en sels minéraux utiles à la végétation et non à la quantité de matière organique qu'il renferme. L'humus ne vaut que par son action sur les propriétés physiques du sol : toujours sans utilité sur la vigueur des plantes, il devient quelquefois nuisible lorsque le sol en

renferme une quantité exagérée. Partant, la plante tire tout son carbone de l'acide carbonique de l'air. On savait déjà, depuis longtemps, que les feuilles des végétaux possèdent la propriété de décomposer l'acide carbonique de l'air, d'assimiler le carbone et de laisser dégager l'oxygène ; mais on ne considérait pas cette source de carbone comme exclusive : les agronomes faisaient intervenir également le carbone organique, et nous verrons plus loin qu'ils n'avaient pas complètement tort. Pour le moment, voyons de quelle manière le carbone de l'acide carbonique est assimilé, et sous quel état il se retrouve dans la plante.

En 1769, le naturaliste genevois Bonnet observait un dégagement de gaz sur des feuilles de vigne immergées et exposées aux rayons solaires ; en répétant l'expérience avec de l'eau bouillie, il a constaté qu'il ne se formait plus de bulles gazeuses à la surface des feuilles.

En 1772, Priestley fait l'expérience suivante : il allume une bougie dans une atmosphère confinée et attend qu'elle soit rendue impropre à la combustion ; il y place alors une plante de menthe en pleine végétation : au bout de quelques jours, il remarque qu'une bougie allumée ne s'y éteint plus et qu'une souris n'y manifeste pas le moindre signe d'asphyxie. Il en conclut que l'air rendu impropre à la combustion et à la respiration, par la perte totale de son oxygène, peut recouvrer ses propriétés initiales sous l'influence de la végétation.

Les végétaux et les animaux exercent donc sur l'air ambiant des actions tout à fait opposées, qui semblent nécessaires au maintien de sa composition normale et à l'entretien de la vie à la surface du globe.

Ingenhousz démontre que les plantes ne dégagent d'oxygène qu'autant qu'elles sont exposées à la lumière : à l'obscurité, le dégagement ne se produit pas.

D'où provient ce gaz éliminé par les feuilles placées à la lumière ? Il peut avoir son origine dans les tissus de la plante, ou bien il est mis en liberté par la décomposition de l'acide carbonique de l'air dont le carbone serait pris par la feuille. C'est Sennebier qui a démontré la justesse de la seconde hypothèse : des feuilles immergées dégagent de l'oxygène dans une eau chargée d'acide carbonique, mais non dans une eau privée de ce gaz.

En résumé, les feuilles des végétaux exposés à la lumière

décomposent l'acide carbonique de l'air, absorbent le carbone et éliminent l'oxygène.

On peut se demander si la décomposition est totale ou partielle. Si elle est totale, le volume d'oxygène dégagé est égal au volume d'acide carbonique décomposé. De Saussure a tenté en vain de résoudre cette question : il a constaté que les feuilles éliminent de l'azote en même temps que de l'oxygène ; il a trouvé en outre que le volume d'oxygène dégagé est inférieur au nombre qui correspond à l'acide carbonique décomposé, et qu'en lui ajoutant l'azote obtenu, on aboutit à un chiffre qui ne s'éloigne pas trop du volume théorique.

Ce résultat est purement accidentel. Cloëz et Gratiolet ont établi que la proportion d'azote éliminé va en diminuant avec la durée de l'expérience ; cet azote est donc dissous dans le suc cellulaire ou contenu dans l'atmosphère interne de la feuille.

C'est en effet ce qu'obtient Boussingault : ses recherches ont été conduites avec toute la rigueur que comportait l'état de la science ; il a trouvé que le rapport $\frac{O}{CO_2}$ est à peu près voisin de l'unité. Après Boussingault, de nombreux savants se sont occupés de cette question ; leurs résultats ont confirmé ses chiffres.

Le rapport $\frac{O}{CO_2}$ exprime la résultante de deux phénomènes superposés et inverses : la respiration, caractérisée comme chez les animaux par une absorption d'oxygène et un dégagement d'acide carbonique ; la décomposition de l'acide carbonique, suivie de l'absorption du carbone et du dégagement de l'oxygène.

Pour établir la part de chacun d'eux, il faut les étudier séparément. La décomposition de l'acide carbonique est supprimée à l'obscurité ; il est donc facile d'établir le rapport de l'oxygène absorbé à l'acide carbonique éliminé dans ces conditions.

MM. Bonnier et Mangin ont trouvé que la valeur du quotient respiratoire $\frac{CO_2}{O}$ est toujours inférieure à l'unité ; de plus, toutes choses étant égales d'ailleurs, ce rapport est indépendant de la température et de l'intensité de l'éclaircissement.

Ils ont réussi à supprimer la fonction chlorophyllienne, tout en laissant intacts les échanges respiratoires, en employant des

vapeurs d'éther. Claude Bernard avait en effet montré que des plantes exposées aux vapeurs d'éther continuent de respirer, tout en se montrant complètement incapables de décomposer l'acide carbonique à la lumière. MM. Bonnier et Mangin ont établi ainsi que le rapport $\frac{O}{CO_2}$ de l'oxygène dégagé à l'acide carbonique consommé est supérieur à l'unité. On s'explique donc que les résultats trouvés par Boussingault soient à peu près voisins de l'unité, puisqu'ils expriment la somme des deux termes correspondants de deux rapports, dont l'un est inférieur à l'unité et dont l'autre lui est au contraire légèrement supérieur. MM. Bonnier et Mangin ont d'ailleurs vérifié directement ce fait.

Si le rapport $\frac{O}{CO_2}$ est supérieur à l'unité, il faut en conclure que d'autres composés oxygénés sont réduits dans les feuilles en même temps que l'acide carbonique. On a admis que c'est l'eau. Schimper suppose au contraire, comme on le verra plus loin, que c'est l'oxygène des nitrates qui est mis en liberté en même temps que celui de l'acide carbonique.

*
* *

La décomposition de l'acide carbonique exige l'intervention d'une quantité d'énergie considérable. On sait que la combinaison du carbone et de l'oxygène constitue pour ainsi dire l'unique source de la chaleur que nous utilisons dans nos foyers; pour parler plus exactement, lorsque deux atomes d'oxygène s'unissent à un atome de carbone pour former de l'acide carbonique, il se produit un dégagement de chaleur de 94,3 calories, suivant l'équation :



Pour remettre en liberté les éléments de l'acide carbonique, il faut donc lui restituer 94,3 calories. Les chimistes ne peuvent provoquer cette dissociation qu'en faisant usage de températures très élevées. Comment les feuilles vertes parviennent-elles à effectuer le même travail? C'est là un exemple entre mille, qui montre que les procédés de laboratoire n'ont rien de commun avec les ressources surprenantes dont

disposent les cellules vivantes. Dans le cas actuel, les feuilles pourvues de chlorophylle exigent l'intervention de la lumière. Les végétaux incolores, comme les champignons, l'orobanche, la cuscute, ne peuvent pas, en général, emprunter leur carbone à l'acide carbonique de l'air ; ils ne peuvent vivre qu'aux dépens de matières organiques toutes formées ; ils sont parasites ou saprophytes.

La chlorophylle est localisée sur des corpuscules protoplasmiques qu'elle colore en vert. Ces corpuscules ou chloroleucites sont faciles à voir au microscope ; ils sont disséminés dans les cellules, où ils se disposent de préférence le long des parois, tout en obéissant dans une certaine mesure aux conditions d'éclairement.

Les leucites existent déjà dans les cellules de l'embryon ; ils se reproduisent comme elles et se colorent en vert dès que la plantule apparaît à la lumière.

Tout récemment, M. Belzung a remarqué què, dans les cotylédons de lupin blanc dépourvus d'amidon de réserve, les leucites se forment aux dépens de grains amylicés déposés dans les vacuoles du protoplasma et élaborés par le plasma cellulaire pendant la germination. Ces grains d'amidon se recouvrent à la lumière d'une pellicule verte, et présentent au bout de quelque temps l'aspect de chloroleucites à noyau amylicé colorable par l'iode ; ce noyau se résorbe à son tour, de sorte que chaque granule d'amidon donne ainsi naissance à un véritable chloroleucite.

De toutes façons, c'est la lumière qui préside à la formation de la chlorophylle ; les sources lumineuses artificielles, comme les becs de gaz, les lampes électriques, sont capables de provoquer sa formation dans les plantes étiolées. Les diverses radiations du spectre ne sont pas également efficaces. Les régions qui présentent le maximum d'éclairement sont les plus actives.

Pour étudier leurs actions, il suffit de placer des fragments de végétaux étiolés dans les diverses régions du spectre solaire. On a reconnu ainsi que l'apparition de la chlorophylle dépend non seulement des radiations et de leur intensité lumineuse, mais encore de la nature de la plante. Tous les végétaux verdissent lorsqu'ils sont exposés aux radiations lumineuses ; mais les fougères, les conifères et le gui élaborent leurs chlorophylles sous l'unique influence des rayons infrarouges.

Les mêmes résultats s'obtiennent par la méthode des écrans absorbants, formés de solutions de substances colorantes plus ou moins concentrées. Le sulfate de cuivre ammoniacal laisse passer seulement la partie la plus réfrangible du spectre ; une solution de bichromate de potassium laisse passer au contraire les régions les moins réfrangibles et absorbe le bleu et le violet ; une solution d'iode dans le sulfure de carbone intercepte toute la partie lumineuse et ne livre passage qu'aux radiations calorifiques.

Nous avons déjà dit que la présence de la chlorophylle dans les feuilles et leur exposition à la lumière sont les conditions nécessaires à l'absorption du carbone de l'acide carbonique par les végétaux, en supposant, bien entendu, que la température soit favorable aux manifestations de la vie végétale. Quel est le rôle que joue chacun de ces facteurs dans la décomposition de l'acide carbonique ?

La chlorophylle constitue l'écran absorbant qui transforme l'énergie des radiations solaires en énergie chimique. La lumière fournit donc la force, et la chlorophylle la rend utilisable.

C'est ce qui résulte clairement de l'étude du spectre d'absorption de la chlorophylle. Cette matière verte est soluble dans un grand nombre de dissolvants, en particulier dans l'alcool. Si l'on fait une solution alcoolique de chlorophylle aussi pure que possible, et si l'on reçoit sur un prisme un faisceau lumineux qui a traversé cette solution, on constate qu'un certain nombre de radiations manquent dans le spectre : à leur place on observe des bandes noires ; elles ont donc été absorbées par la solution de chlorophylle.

L'étude de ce spectre a fait l'objet d'un grand nombre de travaux ; parmi les plus importants, on peut citer ceux de Kraus, de Pringsheim, de Reinke et surtout de Timiriazeff. D'après les recherches de ces auteurs, le spectre d'absorption de la chlorophylle se compose de sept bandes obscures : quatre sont situées dans la partie la moins réfrangible ; la première, placée entre les raies B et C, est très sombre et nettement délimitée ; elle est également la plus large des quatre. Les trois suivantes sont estompées sur les bords, nébuleuses, de moins en moins larges et sombres ; elles sont situées respectivement dans l'orangé, le jaune et le vert.

Les trois autres sont très larges, moins obscures que la pre-

mière des précédentes, mais plus foncées que les trois dernières, et, comme elles, estompées sur les bords. Elles s'étendent de la raie F à l'extrémité du spectre, séparées seulement par des intervalles assez étroits.

Ce spectre, d'après Kraus, serait composé de la superposition de deux spectres : celui de la xanthophylle et celui de la chlorophylle, deux substances dissoutes en même temps dans l'alcool, qui constituent la matière verte des feuilles. Les trois dernières bandes du spectre seraient dues à la xanthophylle; les quatre premières caractériseraient la chlorophylle, qui donnerait en même temps les trois dernières, mais très étroites, très légères, fortement nébuleuses.

Une portion de feuille verte donne exactement les mêmes bandes. Les feuilles vertes, comme les solutions de chlorophylle, jouissent donc de la propriété d'absorber certaines radiations lumineuses et probablement calorifiques; elles peuvent dès lors employer l'énergie rendue ainsi disponible à la décomposition de l'acide carbonique.

Il y a en effet une relation directe entre l'absorption des radiations par la matière verte des feuilles et l'absorption du carbone de l'acide carbonique. Cette relation est démontrée d'abord par la marche du phénomène. Dès qu'une plante verte immergée est exposée à la lumière, les bulles d'oxygène apparaissent à la surface des feuilles; si on la place à l'obscurité, le dégagement cesse immédiatement.

On peut démontrer cette relation d'une façon plus probante en utilisant le spectre solaire. Si on place dans les diverses radiations de petites éprouvettes remplies d'eau, renversées, et contenant de petites feuilles de bambou d'égale surface, on devra observer un dégagement d'oxygène dans les régions qui correspondent aux bandes d'absorption, tandis que les éprouvettes exposées aux radiations qui ne sont pas interceptées par la chlorophylle ne renfermeront que très peu ou point de gaz : le volume d'oxygène recueilli devra être d'autant plus élevé que les bandes d'absorption correspondant aux éprouvettes seront plus foncées.

C'est Timiriazeff qui a réalisé cette remarquable expérience. Il a trouvé que le maximum de l'absorption du carbone correspond bien à la bande la plus foncée comprise entre les raies B et C. Si on trace la courbe de l'absorption suivant les volumes d'oxygène recueilli dans les diverses éprouvettes, et si on la

rapporte aux radiations correspondantes, on constate que cette courbe partant de zéro à l'ultra-rouge s'élève brusquement, passe par un maximum entre les raies B et C, puis s'infléchit assez rapidement, pour se confondre, à partir du jaune, avec une parallèle à la ligne des abscisses.

M. Engelmann est parvenu, par un procédé aussi élégant que rigoureux, à matérialiser la courbe représentative de l'assimilation chlorophyllienne sur le porte-objet d'un microscope. Il met au point un filament d'algue placé dans une goutte d'eau où il a introduit préalablement des bactéries très aérobies (*bacterium termo*). Puis il projette un spectre microscopique sur le filament d'algue. L'oxygène dégagé par suite de la décomposition de l'acide carbonique se dissout dans le liquide ambiant ; les bactéries privées du contact de l'air extérieur viennent se ranger autour du filament, où elles absorbent l'oxygène dégagé, et se groupent sur toute sa longueur. Leur nombre, suivant les régions du spectre, est à peu près proportionnel à l'intensité du dégagement d'oxygène ; de sorte que l'ensemble donne une courbe qui possède l'allure générale de celle qui a été obtenue par Timiriazeff. Engelmann a cependant observé la présence d'un second maximum dans le bleu, mais beaucoup moins accentué que le premier.

Le même procédé lui a permis de montrer que la décomposition de l'acide carbonique s'effectue dans le plasma des chloroleucites. Il place un filament de spirogyre sur le porte-objet d'un microscope et projette sur lui un faisceau lumineux : les bactéries se rangent sur toute la longueur du chloroleucite qui possède, on le sait, une forme en spirale. Il refait la même expérience avec des filaments de conerve dont les grains de chlorophylle, volumineux et sphériques, sont assez espacés : les bactéries se réunissent en groupes séparés autour des grains de chlorophylle.

Il faut donc en conclure que la matière protoplasmique des chloroleucites décompose l'acide carbonique en utilisant l'énergie des radiations absorbées par la matière verte.

Ceci explique, jusqu'à un certain point, pourquoi on n'observe pas de dégagement d'oxygène dans les solutions de chlorophylle exposées aux rayons solaires : la substance dissoute absorbe bien les radiations, mais il manque l'artisan capable de mettre en œuvre l'énergie disponible.

A côté de ces notions, que la physiologie et la physique nous

ont données sur la chlorophylle, la chimie en a apporté d'autres qui sont également très importantes.

Les chimistes se sont attachés surtout à établir la composition de cette substance ; mais les nombreux auteurs qui ont dirigé leurs recherches vers ce but ne sont pas parvenus à se mettre d'accord sur leurs résultats.

Frémy admet que la substance verte des feuilles est composée de deux pigments : l'un jaune, la phylloxanthine ; l'autre vert, la phyllocyanine. En agitant une solution alcoolique de chlorophylle avec de la benzine, les deux pigments se séparent : l'alcool retient la phylloxanthine, tandis que la benzine s'empare de la phyllocyanine.

Hoppe-Seyler a retiré de la matière verte des feuilles une substance cristallisée, d'une couleur verte, à laquelle il donne le nom de chlorophyllane.

Pringsheim obtient sous le microscope, en traitant les feuilles par des réactifs appropriés, des cristaux verts qu'il attribue à un corps dérivé de la chlorophylle ; il lui donne le nom d'hypochlorine. Tchirsch prétend que l'hypochlorine et la chlorophyllane sont identiques.

M. A. Gautier a obtenu des cristaux de chlorophylle pure. Après avoir préparé une solution de matière verte, en grande partie purifiée, dans l'alcool à 83° à froid, il la traite par le noir animal ; celui-ci s'empare des matières colorantes et laisse passer l'alcool avec les cires, les matières grasses et les résines qu'il tient encore en solution. Le noir cède une substance, la chrysophylle (probablement la phylloxanthine) à l'alcool à 65°, tandis que la chlorophylle s'obtient en épuisant par le pétrole ou l'éther.

L'évaporation de cette dernière solution laisse la chlorophylle qui cristallise dans le système du prisme rhomboïdal oblique. Ces cristaux s'oxydent rapidement à la lumière en donnant une masse amorphe.

Les chiffres obtenus par l'analyse de ces substances cristallisées sont différents, comme on peut le voir.

	Carbone.	Hydrogène.	Azote.	Oxygène.	Cendres.
Hoppe-Seyler.	73,4	9,7	5,62	9,57	1,71
Gautier . . .	73,97	9,8	4,15	10,33	1,75

Ce sont des composés azotés, mais complètement exempts

de fer ; les cendres sont constituées en grande partie par du phosphore et de la magnésie, d'après M. Gautier.

La question en était là, lorsque M. Etard a repris l'étude des substances chlorophylliennes.

L'isolement et la détermination des composés nombreux (alcools supérieurs, acides gras, carbures d'hydrogène, etc.) qui accompagnent la matière verte, lui ont montré que la plupart de ces corps présentent une grande affinité pour la chlorophylle.

Il a pu les faire cristalliser et recristalliser dans l'acide acétique, sans leur faire perdre leur couleur verte, ce qui pouvait laisser croire qu'on était en présence de cristaux de chlorophylle. Mais leurs solutions traitées par le noir lui ont toujours permis de les obtenir à l'état de poudre blanche.

Il a soumis alors les feuilles vertes à un traitement méthodique qui lui a permis d'obtenir des chlorophylles cristallisables et non cristallisables. L'une d'elles ne contenait que 0,88 p. 100 de cendres, chiffre inférieur à tous ceux qui ont été obtenus jusqu'alors.

De plus, il a montré que les chlorophylles ne diffèrent pas seulement suivant les espèces végétales, ainsi que les travaux de M. Gautier l'avaient établi : une même plante contient en réalité un mélange de chlorophylles. Il a pu isoler de la luzerne quatre chlorophylles distinctes ; il en a étudié deux en détail, et il a constaté qu'elles diffèrent par leurs propriétés et par leur composition chimique. L'une, qu'il appelle *médicagophylle* α , a la formule $C^{28} H^{45} Az O^4$; l'autre, la *médicagophylle* β , lui a donné comme formule $C^{42} H^{63} Az O^{14}$.

Toutes possèdent la propriété de réduire le nitrate d'argent en solution alcaline ; toutes renferment donc des groupements aldéhydiques qui sont précisément les plus aptes à produire des transformations chimiques.

La pluralité des chlorophylles dans une même espèce végétale rendrait compte, d'après M. Etard, des synthèses des diverses catégories de corps que l'on rencontre dans les feuilles.

« Certaines chlorophylles solubles dans le pentane sont, par leur dédoublement dans les cellules, les instruments de la production chimique des essences et des huiles. D'autres, insolubles dans les carbures, déjà miscibles à l'eau ; et très riches en oxygène, tendent en se dédoublant à produire les hydrates de carbone, les tanins et les extraits. »

Les arguments tirés de l'examen du spectre d'absorption composé de bandes nébuleuses mal délimitées, ne peuvent servir à identifier les substances chlorophylliennes ni à renseigner sur leur état de pureté : une portion de feuilles, des extraits colorés par la chlorophylle, une chlorophylle pure et cristallisée, donnent à peu près les mêmes spectres. Il y a même plus : si on traite la chlorophylle pure par l'acide sulfurique monohydraté ou par la potasse fondante, on obtient une substance brune dont la solution donne encore le spectre de la chlorophylle ; et cependant, au point de vue chimique, une pareille substance ne peut avoir que très peu de rapports avec elle. Mais il faut conclure de là que la chlorophylle possède un noyau très résistant aux réactifs chimiques les plus forts, auquel seraient dues les bandes spectrales ; et c'est ainsi que l'on retrouve partout le même spectre, à peu de chose près.

Cependant, si la matière verte des feuilles est constituée par un mélange de chlorophylles bien distinctes, l'examen spectral doit confirmer les résultats fournis par la chimie. M. Étard a montré qu'il en est bien ainsi, en opérant avec des solutions de chlorophylle pure à une concentration définie et sur une longueur constante : les spectres se ressemblent beaucoup, mais les axes des bandes d'absorption ne coïncident pas.

Il a en outre établi les moyens de fixer rigoureusement la position des axes en employant des solutions de plus en plus étendues : les bandes se rétrécissent, puis disparaissent ; la position des raies à l'extinction marque la place des axes. On constate également de cette façon que la bande principale située dans le rouge-orangé n'est pas simple : elle se résout en trois bandes étroites avec des solutions à $\frac{1}{50\ 000}$, de sorte que le nombre des bandes d'absorption est en réalité de neuf au lieu de sept.

On peut donc déterminer une chlorophylle bien pure en indiquant l'espèce végétale dont elle provient, sa composition chimique, la position des bandes dans le spectre observé avec une solution d'une épaisseur donnée et d'une concentration définie, le dissolvant étant choisi une fois pour toutes.

La décomposition de l'acide carbonique peut être réalisée par d'autres matières colorantes végétales, par exemple par les pigments d'un grand nombre d'algues que l'on a rapprochés pour cette raison de la chlorophylle. La bactério-purpu-

rine des bactéries semble aussi se ranger dans cette catégorie intéressante de corps ; c'est du moins ce qu'a supposé Engelmann.

Enfin, certaines bactéries incolores, telles que les ferments nitrifiants, peuvent assimiler le carbone de l'acide carbonique. Cette fonction a été découverte par Winogradsky et confirmée plus tard par Godlewsky. La réduction de l'acide carbonique, étant avant tout une question d'énergie, est susceptible d'être réalisée suivant un certain nombre de voies différentes ; il suffit que les organismes qui accomplissent ce travail puissent emprunter l'énergie nécessaire à une source placée à leur portée. Les ferments nitrifiants la trouvent dans la chaleur dégagée par la transformation de l'ammoniaque en acide nitreux et dans l'oxydation de l'acide nitreux en acide nitrique.

Élaboration des hydrates de carbone dans les feuilles.

Que devient le carbone absorbé sous l'influence des matières vertes des feuilles ? C'est Sachs qui, en 1864, a montré, le premier, la relation de cause à effet qui existe entre la décomposition de l'acide carbonique par les feuilles et l'apparition des grains d'amidon dans les corpuscules chlorophylliens.

Les plantes incolores qui ne décomposent pas l'acide carbonique ne se chargent pas d'amidon à la lumière. A l'obscurité, la fonction chlorophyllienne est supprimée ; les grains d'amidon formés à la lumière disparaissent peu à peu, dissous et utilisés pour le besoin de la plante.

Godlewsky et Pfeffer ont confirmé la découverte de Sachs en montrant que, dans une atmosphère confinée, débarrassée d'acide carbonique, il ne se forme pas d'amidon dans les chloroleucites. Ceci n'est cependant vrai que pour les plantes adultes ; les plantules qui vivent aux dépens des réserves de la graine peuvent donner naissance à un dépôt d'amidon dans les leucites verts (Böhm).

En 1884, Sachs a repris l'étude de la formation de l'amidon dans les feuilles ; pour déceler sa présence, il faisait usage d'une solution d'iode dans l'eau, procédé utilisé déjà par Böhm : la solution colore d'autant plus les feuilles qu'elles sont plus riches en amidon. Pour faciliter la comparaison, Sachs traitait d'abord la feuille par l'eau bouillante,

puis par l'alcool. Il a confirmé ainsi les résultats qu'il avait obtenus dans ses premières recherches.

Il a étudié ensuite les variations diurnes et nocturnes de l'amidon dans les feuilles, non pas en les traitant par l'acide, mais en évaluant l'augmentation ou la diminution en poids de la substance sèche.

Dans ce but, il découpe des pièces carrées ou rectangulaires symétriquement, par rapport à la nervure médiane ; il les soumet à l'action de la vapeur à 100° pendant quatre ou cinq minutes ; il les sèche et les pèse.

Si on détermine de cette façon le poids actuel d'une surface foliaire donnée, en ayant soin de prendre les pièces d'un seul côté de la nervure médiane, et si, quelques heures plus tard, on fait la même opération sur les parties symétriques restées sur la plante, la différence de poids donnera la variation de l'amidon pendant la durée de l'expérience.

Voici quelques-uns des chiffres publiés par Sachs, rapportés à un mètre carré de surface foliaire ; ils ont été obtenus avec des feuilles d'*helianthus annuus*.

Gain en dix heures de jour	9 gr. 14
Gain par heure de jour.	0,914
Perte en dix heures de nuit	9,64
Perte par heure de nuit	0,964

Les chiffres obtenus avec la courge et la rhubarbe sont plus faibles.

Si on détache les feuilles de la plante pour les exposer au soleil, les pétioles immergés dans l'eau, on obtient des résultats différents : les feuilles d'hélianthus, au lieu de gagner 0^{gr}, 914 de poids sec par mètre carré et par heure, en gagnent 1^{gr}, 648. Sachs fait observer que ce chiffre n'a rien d'anormal ; pendant que la plante accumule d'une part des réserves dans les cellules foliaires, elle consomme d'autre part une partie des matériaux absorbés en les utilisant pour l'entretien de ses tissus et pour les besoins de la respiration. Les produits accumulés ne constituent que l'excédent fourni par l'activité chlorophyllienne sur les influences contraires. Dans les feuilles détachées la consommation est beaucoup moins grande, parce que les tiges ne leur empruntent rien ; c'est pour cela que l'augmentation de poids est beaucoup plus sensible. Sachs a

obtenu la valeur de l'assimilation totale du carbone en évaluant la perte par heure de nuit et en l'ajoutant au gain par heure de jour.

Il a trouvé que l'hélianthus annuus assimile 1^{gr}, 8 de matière sèche par mètre carré et par heure et la courge 1^{gr}, 5, chiffres qui concordent bien avec ceux que fournissent les feuilles détachées et placées sur l'eau. Mais cette valeur n'est qu'approximative ; on ne peut pas identifier l'assimilation diurne et nocturne des produits de synthèse, ni affirmer l'égalité de la combustion respiratoire pendant le jour et la nuit.

Comme conclusion de toutes ces expériences, Sachs considère l'amidon comme étant le premier produit apparent résultant de l'absorption du carbone ; mais il suppose qu'il ne se forme pas de prime abord par l'union du carbone et des éléments de l'eau : les feuilles insolées dont le pétiole plonge dans des solutions de glucose, de lévulose, de saccharose, de maltose, etc., élaborent l'amidon en l'absence d'acide carbonique. Les grains amylicés pourraient donc provenir de la condensation d'hydrates de carbone plus simples, qui seraient les corps intermédiaires entre l'assimilation chlorophyllienne et la formation de l'amidon.

Ce dernier, à peine élaboré, se dissout et se disloque peu à peu pour donner du glucose ; c'est sous cet état que les hydrates de carbone circulent dans la plante pour servir aux besoins de la nutrition et de la croissance.

Ces résultats n'expliquent pas tout : on trouve du saccharose dans les feuilles vertes. C'est Péligot le premier qui en a démontré la présence dans les feuilles de betterave. Ce fait, contesté par quelques auteurs, a été confirmé par les recherches de Sotsmann. Kayser a constaté la présence simultanée de l'amidon, du saccharose et de sucres réducteurs dans les feuilles vertes. Pour lui, le saccharose provient de l'amidon et serait décomposé à son tour en produits plus simples.

Aimé Girard, dans un travail remarquable sur le développement de la betterave à sucre, constate la présence constante du saccharose dans les feuilles. Ce sucre s'accumule dans les organes aériens de la plante proportionnellement à l'intensité lumineuse et à la température diurne. Il diminue au contraire la nuit, pour se concentrer encore le jour suivant. La concentration du saccharose suit donc les mêmes lois de croissance et de décroissance établies par Sachs pour l'amidon.

Voici d'ailleurs quelques chiffres extraits des tableaux d'Aimé Girard, et qui viennent à l'appui de ses assertions.

VARIATION DIURNE ET NOCTURNE DE LA RICHESSE DES FEUILLES DE
BETTERAVE EN SACCHAROSE ET EN SUCRES RÉDUCTEURS

		Saccharose.	Sucres réducteurs.
18-19 août. . .	{ 4 heures soir	0,92	1,54
	{ 4 heures matin	0,35	1,14
29-30 août. . .	{ 4 heures soir	0,72	1,40
	{ 4 heures matin	0,48	1,55
1-2 septembre.	{ 4 heures soir	0,65	2,07
	{ 4 heures matin	0,23	1,84
3-4 septembre.	{ 4 heures soir	0,32	2,22
	{ 4 heures matin	0,27	2,04

D'après M. Aimé Girard, ce saccharose émigre en nature vers la racine où il s'accumule ; on le trouve en effet dans les nervures médianes et dans les pétioles, à la fin du jour et à la fin de la nuit, en plus grande quantité tantôt le soir, tantôt le matin. Voici quelques exemples de cette irrégularité.

PÉTIOLÉS AVEC NERVURES MÉDIANES

		Saccharose.	Sucres réducteurs.
20-21 août. . .	{ 4 heures soir	0,40	1,72
	{ 4 heures matin	0,19	1,50
22-23 août. . .	{ 4 heures soir	0,41	1,30
	{ 4 heures matin	0,14	1,47
29-30 août. . .	{ 4 heures soir	0,24	0,24
	{ 4 heures matin	0,39	1,37
1-2 septembre.	{ 4 heures soir	0,38	1,52
	{ 4 heures matin	0,58	1,50

En présence de ces faits, A. Girard s'exprime de la façon suivante. « Je ne saurais expliquer quant à présent d'une manière satisfaisante ces changements de sens du phénomène ; j'imaginerais volontiers cependant que le pétiole de chaque feuille, destiné à jouer le rôle de régulateur, emmagasine aux

époques sombres et pluvieuses une certaine quantité de saccharose qu'il retient au détriment de la souche, pour le renvoyer au limbe au cas où celui-ci n'aurait pu, en l'absence d'une lumière satisfaisante, former dans le jour la quantité de saccharose nécessaire à la végétation propre de la feuille. »

Si cette hypothèse est juste, on peut affirmer que le saccharose circule en nature jusqu'à la souche où il se concentre. Mais il ne semble pas que la feuille soit totalement dépourvue, dans les temps pluvieux, des hydrates de carbone nécessaires à sa végétation propre ; du moins Aimé Girard ne l'a pas démontré ; et si l'on considère la proportion de sucres réducteurs et de saccharose contenus dans les pétioles, on est obligé d'admettre que les premiers émigrent également vers la souche, et dans ces conditions, il se pourrait qu'ils dérivassent du saccharose, en sorte qu'ici encore les hydrates de carbone émigraient à l'état de sucres réducteurs, pour se retransformer ensuite en saccharose. Ce qui est certain, c'est que le saccharose de réserve doit être préalablement interverti pour émigrer à nouveau vers les organes aériens, au moment où la plante forme ses fleurs.

Ce qui demeure bien établi, c'est la relation étroite qui existe entre l'activité chlorophyllienne et la quantité de saccharose présente dans les feuilles de betterave ; mais M. Aimé Girard n'a pas envisagé les relations qui existent entre le saccharose et l'amidon, pas plus qu'il ne s'est étendu sur les rapports respectifs de ces deux composés avec les sucres réducteurs.

A. Meyer a tenté de résoudre ce problème compliqué. Parmi les liliacées, un certain nombre d'espèces ne forment pas d'amidon ; mais elles fabriquent certains sucres, sous l'influence des mêmes causes qui favorisent la formation des grains amylacés.

C'est ainsi que l'*allium cepa* renferme des sucres réducteurs et des sucres non réducteurs que A. Meyer a déterminés quantitativement par la réduction de la liqueur cupro-potassique, avant et après l'action des acides.

Les plantes qui élaborent de l'amidon contiennent également des sucres réducteurs et des sucres non réducteurs, mais en quantité beaucoup moindre que les végétaux non amylogènes : dans ceux-ci l'apparition et la disparition de ces composés se font dans les mêmes conditions que la concentration et la migration de l'amidon. Quant à leur nature, A. Meyer la laisse indé-

terminée ; il a retiré des feuilles de poireau une masse sucrée amorphe, dont le pouvoir rotatoire correspondant à la raie D est — 20°. Cette constante se rapproche de celle de sucre inverti ; son pouvoir réducteur est aussi à peu près celui du glucose ; mais il n'a pas réussi à y caractériser le glucose ni le lévulose.

Schimper émet l'idée que le glucose est le premier composé qui résulte de l'assimilation chlorophyllienne ; cette hypothèse est la conclusion de ses recherches sur la formation de l'amidon dans les feuilles détachées placées sur des solutions sucrées. L'amidon serait un produit de condensation du glucose, qui apparaîtrait seulement lorsque le taux de ce dernier atteint un maximum, variable avec les espèces végétales.

Les choses en sont restées là jusqu'en 1893, époque à laquelle MM. Brown et Morris ont publié leur remarquable mémoire sur la physiologie de la feuille.

Les recherches de Saposchnikoff ont apporté peu de faits nouveaux touchant la formation des hydrates de carbone ; il s'est attaché surtout à déterminer les rapports qui existent entre l'acide carbonique décomposé et les hydrates de carbone formés. Pour établir la quantité de carbone absorbé, il s'est servi de la méthode eudiométrique de Timiriazeff : en regard des chiffres obtenus, il place ceux que lui fournit la somme des sucres réducteurs évaluée par l'action successive de l'amylase et de l'acide chlorhydrique sur les feuilles. Il trouve ainsi que la quantité de carbone contenue dans les sucres et l'amidon réunis, est inférieure à la quantité de carbone absorbée ; il y aurait donc du carbone fixé directement sur des substances capables de se transformer immédiatement en matière albuminoïde.

Si l'on résume maintenant les faits acquis, on se trouve en présence de trois opinions différentes sur la nature du composé initial qui résulte de l'assimilation chlorophyllienne :

1° Celle de Sachs, qui considère, sous certaines réserves, l'amidon comme le premier composé issu de l'absorption du carbone.

2° Celle d'Aimé Girard, qui attribue la même origine au saccharose ; à côté de celle-ci il faut placer les idées de Meyer touchant les sucres réducteurs et non réducteurs qu'il a trouvés dans quelques alliées, mais dont il n'a pu déterminer la nature ; comme ces espèces végétales ne forment pas d'amidon, il est

clair que ces sucres représentent les premiers produits des synthèses opérées par les feuilles ;

3° Celle de Schimper, qui regarde l'amidon comme une forme de réserve du glucose condensé sur les lieux de formation.

Ceci posé, passons aux recherches de MM. Brown et Morris. L'objet de leur travail est multiple. Le dernier chapitre, qui nous intéresse pour le moment, porte sur la détermination des sucres des feuilles et sur les rapports qu'ils présentent les uns avec les autres.

En utilisant dans ce but les feuilles de *tropeolum majus*, MM. Brown et Morris ont obtenu les nombres suivants pour 100 grammes de feuilles pulvérisées et séchées :

Saccharose	4,94
Glucose	1,95
Lévulose	3,65
Maltose	1,21

En traitant une liqueur convenablement préparée, avec 20 ou 30 grammes de feuilles de capucine, par l'acétate de phénylhydrazine, on obtient un précipité abondant de glucosazone ; en séparant le précipité à chaud, on obtient par refroidissement de la liqueur filtrée un nouveau précipité qui n'est autre chose que de la maltosazone.

Ces deux précipités purifiés par recristallisations renferment :

	Azote p. 100	Chiffres théoriques.
Premier précipité . . .	15,75	15,64 glucosazone.
Deuxième précipité . .	11,21	10,77 maltosazone.

Ces résultats, comme on le voit, confirment les premiers. Mais ce n'est pas tout : la présence du maltose dans les feuilles a été établie encore en faisant agir de la maltase sur la liqueur primitive après inversion du saccharose par la sucrase.

La maltase hydrate le maltose et le dédouble en deux molécules de glucose, mais elle est sans action sur les autres composés hydrocarbonés ; de sorte qu'après l'inversion préalable du saccharose, la maltase fait augmenter le pouvoir réducteur de la liqueur si elle renferme du maltose.

Comme l'amidon, ces sucres sont plus ou moins abondants dans les feuilles, suivant le moment de la cueillette. Des feuilles

prises au commencement du jour ont donné les chiffres suivants, notablement inférieurs à ceux du tableau précédent :

Saccharose p. 100	1,655
Glucose	0,319
Lévulose	0,920
Maltose	0,813
TOTAL	<u>3,407</u>

La seconde partie du problème, c'est-à-dire la recherche de l'ordre dans lequel ces différents composés, y compris l'amidon, apparaissent dans la feuille, a été résolue également d'une façon très simple.

Une grande quantité de feuilles a été cueillie à 5 heures du matin ; on en a fait deux lots : *a* et *b*.

Le premier a été séché rapidement à la vapeur à 100° ; le lot *b* insolé pendant douze heures avec les pétioles placés dans l'eau. Au bout de ce temps, celui-ci était à peu près sec. Un troisième lot a été cueilli à 5 heures du soir, après avoir été insolé pendant douze heures sur les plantes ; il a été séché immédiatement et soumis à l'analyse.

Dans ces trois lots l'amidon a été dosé après saccharification à l'aide de l'amylase ; les autres sucres ont été déterminés suivant les procédés ordinaires.

Le tableau suivant contient les résultats obtenus rapportés à 100 grammes de feuilles sèches :

	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>
Amidon	1,23	3,91	4,59
Sucres :			
Saccharose	4,65	8,85	3,86
Glucose	0,97	1,20	0,00
Lévulose	2,99	6,44	0,39
Maltose	1,18	0,69	5,33
TOTAL DES SUCRES.	<u>9,69</u>	<u>17,18</u>	<u>9,58</u>

On voit que, contrairement à l'opinion de Sachs, l'amidon n'est pas le seul composé qui s'accumule dans les feuilles coupées, où la migration vers la tige n'existe plus ; l'amidon, au contraire, paraît se former en plus grande abondance dans les feuilles qui restent attachées à la plante.

Les sucres ont presque doublé ; l'augmentation est due surtout à l'accumulation du saccharose et du lévulose. Le glucose demeure à peu près constant, ce qui fait penser que ce sucre, malgré les hypothèses émises sur son origine, n'est pas non plus le premier composé qui résulte de l'assimilation chlorophyllienne, et qui, par voie de condensation, donne naissance à l'amidon. MM. Brown et Morris font remarquer qu'il est plus probable que le glucose provient de l'inversion du saccharose : s'il se rencontre en quantité moindre que le lévulose, c'est parce qu'il doit être consommé de préférence par la plante.

Pour appuyer cette hypothèse, les deux savants anglais ont étudié les transformations que subissent les hydrates de carbone dans les feuilles pendant leur séjour à l'obscurité ; dans ces conditions, les phénomènes de nutrition ne sont pas troublés par les produits qui s'accumulent sous l'influence de la lumière.

Des feuilles de *Tropeolum majus*, cueillies le soir, ont été divisées en deux lots : l'un *a* a servi à déterminer la richesse actuelle des feuilles en composés hydrocarbonés ; l'autre *b* a été placé à l'obscurité pendant vingt-quatre heures, avec les pétioles plongeant dans l'eau. Au bout de ce temps, on a dosé les produits restants ; les résultats sont consignés dans le tableau ci-dessous :

	<i>a</i>	<i>b</i>
Amidon	3,693	2,980
Sucres :		
Saccharose	9,98	3,49
Glucose	0,00	0,58
Lévulose	1,41	3,46
Maltose	2,25	1,86
TOTAL DES SUCRES . .	<hr/> 13,64	<hr/> 9,39

Parmi ces substances, il est évident que celles qui disparaissent à l'obscurité se transforment en d'autres plus simples ou contribuent à la nutrition des feuilles ; celles qui s'accumulent ne peuvent être que des dérivés des premières, que l'on peut considérer avec certitude comme provenant directement du carbone emmagasiné. Or, parmi celles-ci, se trouvent le saccharose et l'amidon. D'autre part, le lévulose se concentre, et l'on voit nettement que le glucose disparaît, car ces deux composés se forment en égale quantité par le dédoublement du saccha-

rose, ce qui montre que le glucose est consommé plus facilement que le lévulose, ainsi que MM. Brown et Morris l'avaient supposé.

L'amidon s'est transformé en maltose ; celui-ci a été également consommé en partie.

Voici, d'ailleurs, les chiffres de sucres consommés pendant l'expérience, pour 100 grammes de feuilles sèches :

Glucose	2,66
Lévulose.	1,19
Maltose	1,10

En résumé, le saccharose et l'amidon se concentrent dans les feuilles de capucine sous l'influence de la lumière ; les autres composés sont des produits de dédoublement de ceux-là. Ce dédoublement peut être considéré comme le premier pas vers l'assimilation complète, c'est-à-dire vers l'élaboration des sucres en substances protéiques, grasses ou cellulosiques, etc.

Pour ce qui concerne les relations du saccharose et de l'amidon, MM. Brown et Morris regardent le second comme un dérivé du premier : l'amidon serait une forme de réserve du saccharose ; il ne se formerait que lorsque la richesse du suc cellulaire atteint un certain taux variable avec les espèces. On comprend ainsi pourquoi les feuilles détachées et exposées aux radiations solaires peuvent former de l'amidon lorsqu'on les place sur des solutions de sucres d'une concentration convenable.

Les diastases des feuilles.

Le glucose, le lévulose, le maltose, produits dérivés du saccharose et de l'amidon, doivent leur origine à des phénomènes d'hydrolyse, accomplis par des diastases. La présence de celles-ci dans les feuilles confirme donc les résultats de MM. Brown et Morris concernant l'ordre dans lequel apparaissent les sucres et l'amidon dans ces organes ; c'est à ce titre que nous les passerons en revue.

Elles ont été étudiées pour la première fois vers 1877. Les premiers travaux qui s'y rapportent ne présentent pas beaucoup d'importance ; leurs auteurs ne se sont pas mis à l'abri de l'intervention des microorganismes, toujours possible et en

réalité toujours effective, lorsqu'on n'entrave pas leur développement par les antiseptiques.

En 1884, M. Brasse établit d'une manière indiscutable la présence de l'amylase dans les feuilles ; Schimper a confirmé ses résultats. En 1890, Wortmann, tout en ne niant pas d'une façon absolue les faits énoncés par ces deux savants, s'appuie sur le peu d'activité de l'amylase sur l'amidon, pour considérer son action comme négligeable, eu égard à la quantité d'amidon qui se liquéfie journellement dans les organes verts des plantes. Pour lui, ces transformations s'accomplissent par l'intervention directe du protoplasma cellulaire.

Krabbe, Vines et Prunet contredisent les résultats de Wortmann et se rangent à l'opinion de Brasse et Schimper.

MM. Brown et Morris ont montré, dans le mémoire que nous avons déjà mis à contribution, que les feuilles vertes renferment beaucoup d'amylase. Pour la mettre en évidence, ils font agir la poudre de feuilles séchées à 40-50° sur l'amidon soluble. Ce procédé est de beaucoup supérieur à celui qui consiste à préparer des macérations de feuilles, filtrées ou turbidées ou même décantées.

Un poids déterminé, 0^{gr},5 de poudre de feuilles, est mélangé à 50 centimètres cubes d'une solution à 2 p. 100 d'amidon soluble. L'activité diastasique est mesurée par la quantité de maltose formée à la fin de l'expérience ; celle-ci s'obtient par le poids de cuivre résultant de la réduction de l'oxydure précipité par la liqueur de Fehling. Les chiffres ainsi relevés sont consignés dans un tableau qui donne par conséquent la valeur comparée de l'activité diastasique des feuilles. Mais, comme la poudre renferme des sucres réducteurs, il est indispensable de réaliser des expériences témoins parallèlement aux précédentes, en prenant la précaution de faire bouillir la solution d'amidon immédiatement après l'introduction de la poudre des feuilles, de façon à détruire la diastase.

Ces expériences témoins fournissent le chiffre de correction destiné à rectifier les résultats des premières.

Voici quelques-uns de ceux qui ont été obtenus par Brown et Morris :

Espèces végétales.	Activité diastasique comparée.
Pois.	240,30
Haricot	110,49

Espèces végétales.	Activité diastasique comparée.
Trèfle des prés	89,66
Vesce cultivée	79,55
Lupin	3,51
Graminées et légumineuses (pâturages) . . .	27,92
Topinambour.	3,94
Oignon	3,76

Toutes les plantes examinées renferment de l'amylase, y compris celles qui ne renferment jamais d'amidon, comme l'oignon. Les légumineuses viennent en tête de liste. Le lupin cependant présente une activité beaucoup plus faible que les autres représentants de cette famille. MM. Brown et Morris attribuent ce fait à sa richesse en tanin ; cette substance paralyse en effet l'action diastasique.

L'amylase des feuilles est identique à celle de l'orge germée ; comme celle-ci, elle transforme l'amidon en dextrine et maltose.

L'activité diastasique est plus grande la nuit que le jour.

Cette différence serait due, suivant MM. Brown et Morris, aux exigences alimentaires des végétaux. Dans leurs recherches sur la germination de l'orge, ils ont constaté que l'embryon d'orge, muni de son scutellum, séparé de son albumen et placé sur des solutions sucrées artificielles, se nourrit et se développe sans sécréter d'amylase. Celle-ci apparaît au contraire lorsque le substratum offert à l'embryon ne renferme que de l'amidon. Les sécrétions diastases sont donc des phénomènes d'adaptation aux conditions de nutrition : elles apparaissent quand leur intervention est nécessaire. Pour la même raison, l'amylase n'apparaît pas dans les cellules vertes où l'assimilation chlorophyllienne est très active. Les hydrates de carbone solubles accumulés dans le parenchyme des feuilles sont plus que suffisants pour répondre aux besoins de la nutrition : l'excédent se dépose sous forme d'amidon ; cette réserve est entamée à son tour lorsque les premiers font défaut, c'est-à-dire pendant la nuit, où l'activité chlorophyllienne est supprimée. Pour dissoudre l'amidon il faut de l'amylase ; c'est donc à ce moment que sa sécrétion commence.

MM. Brown et Morris ont montré aussi que les feuilles renferment de la sucrase, mais pas de maltase. Il en résulte que le

glucose et le lévulose proviennent du saccharose, le maltose de l'amidon; cette conclusion est d'accord avec celles qui ont été établies par l'étude des sucres des feuilles.

Avant de terminer ce chapitre, nous devons consacrer quelques lignes à l'importante découverte de M. Hill, concernant les phénomènes diastasiques.

Nous avons vu qu'on peut suivre d'un bout à l'autre la transformation de l'amidon, par exemple, en maltose, dans les feuilles végétales, sous l'action des diastases hydrolysantes. Tous les dédoublements qui s'accomplissent dans la cellule vivante sont, en général, des phénomènes diastasiques. Dans ces dernières années, on a découvert des diastases hydrogénantes, oxydantes, et même des diastases capables de produire de véritables dislocations moléculaires comme la diastase alcoolique. Mais jusqu'ici on n'en connaissait pas qui fussent capables de produire le travail inverse; la science ne possédait pas d'exemple d'une déshydratation accomplie sous l'action d'une diastase connue.

Cependant ces phénomènes se réalisent dans les végétaux; ils dominent même les phénomènes de dédoublement, et c'est ce qui caractérise les végétaux à chlorophylle. Les substances qui président à ces transformations forment-elles une catégorie de corps bien distincts des diastases? M. Hill a résolu cette question par la négative et montré qu'une même diastase est capable de produire des phénomènes d'hydratation et de déshydratation. Son mode d'action dépend de la proportion des substances en présence.

Par exemple, si l'on fait agir la maltase sur une solution de maltose, la diastase dédouble le maltose en deux molécules de glucose; c'est la transformation connue, mais elle n'est pas complète: il reste en présence du glucose formé une certaine quantité de maltose, mais la proportion varie avec la concentration de la liqueur. Pour une concentration de 40 p. 100, l'équilibre est réalisé lorsqu'il y a en présence 84 parties de glucose pour 16 de maltose. Si donc on prépare une liqueur renfermant 40 p. 100 de sucres dans la proportion de 75 de glucose pour 25 de maltose, on constate que 9 parties de maltose se dédoublent en glucose sous l'action de la maltase.

Mais si l'on met en présence de cette diastase, toujours à la concentration de 40 p. 100, 95 parties de glucose pour 5 de maltose, ou bien 100 de glucose pour 0 de maltose, on observe

On voit qu'il y a ainsi deux atomes d'oxygène mis en liberté, ce qui est à peu près conforme aux résultats de l'expérience. De plus, on admet que les deux atomes d'oxygène dégagés proviennent, l'un de l'acide carbonique, l'autre de l'eau. On a tenté de donner une preuve expérimentale de ce mode de formation de l'aldéhyde formique ; mais les feuilles vertes sont sans action sur l'oxyde de carbone : il n'y a ni réduction de ce corps, ni assimilation en nature.

Crato fait observer que l'anhydride carbonique dissous dans le suc des feuilles s'hydrate pour donner naissance à l'acide orthocarbonique $C(OH)^4$, corps instable qui se dissocie en anhydride et en eau comme l'acide silicique $Si(OH)^4$. Ce composé serait capable, sous l'action de l'énergie solaire, de donner naissance à un phénol hexavalent, avec dégagement d'oxygène et élimination d'eau, suivant l'équation :

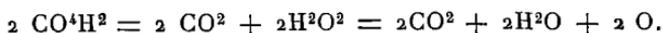


On retrouverait ainsi dans la première phase du phénomène les 12 atomes d'oxygène correspondant au volume d'anhydride carbonique engagé. Quant au phénol, il se transformerait en son isomère, le glucose. Crato admet que ce phénol se rapprocherait beaucoup de l'inosite, qui possède la même formule. Ce dernier corps, dont la véritable nature et les propriétés ont été déterminées par M. Maquenne, se rencontre assez souvent dans les organes végétaux.

Bach, partant de ce fait que les rayons solaires décomposent l'acide sulfureux en acide sulfurique, en soufre et en eau, émet l'idée que l'acide carbonique dissous CO^3H^2 se comporterait de même dans les organes verts de la plante. On aurait donc la réaction suivante :



Le carbone naissant et l'eau s'uniraient directement pour former de l'aldéhyde formique, lequel composé se polymériserait par les voies ordinaires, pour aboutir au saccharose. Quant à l'oxygène dégagé, il a son origine dans l'acide percarbonique qui se dissocie, au fur et à mesure de sa production, en anhydride et en eau oxygénée qui se décompose à son tour :



On a ainsi le volume d'oxygène qui correspond au volume d'anhydride carbonique dont le carbone a été incorporé dans la molécule d'aldéhyde formique.

Au point de vue expérimental, ces hypothèses n'ont pas été encore confirmées d'une façon satisfaisante. Les travaux de Fischer sur la synthèse des sucres leur donnent un appui solide. Ce savant a obtenu les hexoses en partant de l'aldéhyde formique. Il est bien évident que les procédés employés *in vitro* ne présentent aucune analogie avec ceux que la plante met en œuvre, ainsi que nous l'avons déjà fait observer; l'essentiel est que la synthèse ait été réalisée.

On n'a pas non plus caractérisé la présence constante de l'aldéhyde formique dans les parties vertes des végétaux. On obtient par distillation des corps volatils qui agissent sur la liqueur de Fehling, et parmi eux des traces d'aldéhyde formique; mais il se peut que ce corps se polymérise immédiatement, et qu'il n'en existe jamais que des traces dans les feuilles; on peut même affirmer que ceci est nécessaire, car l'aldéhyde formique est un toxique énergétique.

Bokorny a essayé d'alimenter des algues en ne leur fournissant d'autre composé carboné que l'aldéhyde formique; mais il n'a pas employé celle-ci en nature, précisément à cause de ses propriétés toxiques. Il s'est servi d'abord du méthylal, corps qui se dédouble facilement en alcool méthylique et en aldéhyde formique; il a vu dans ces conditions des grains d'amidon se déposer dans les chloroplastes des spirogyres; mais, comme l'amidon peut provenir aussi bien de l'alcool méthylique que de l'aldéhyde formique, il a recommencé l'expérience avec l'oxyméthylsulfite de sodium que l'eau dédouble, à une température peu élevée, en aldéhyde formique et en sulfite acide de sodium :



Le sulfite acide de sodium étant nuisible à la plante, il a additionné la solution de phosphate dipotassique qui se transforme en présence du sulfite en phosphate monopotassique.

Des algues ont été placées dans la solution ainsi préparée et dans un liquide témoin dépourvu d'oxyméthylsulfite; puis on les a exposées aux rayons solaires dans une atmosphère débarrassée d'acide carbonique.

Les premières se sont chargées de grains d'amidon, tandis que les témoins n'en contenaient pas.

C'est là le seul fait expérimental que l'on puisse invoquer jusqu'ici en faveur de l'hypothèse de Bayer et de toutes celles qui admettent l'aldéhyde formique comme point de départ de l'élaboration des sucres des végétaux supérieurs.

La théorie qui ramène l'amylogénèse à une sécrétion protoplasmique a été mise en avant en 1895 par M. Belzung. Elle repose sur un certain nombre d'observations parmi lesquelles : 1° la formation de grains d'amidon dans les vacuoles du protoplasme des cellules qui composent les cotylédons du lupin blanc, normalement dépourvus de réserves amyliacées (p. 13) ; 2° la transformation, par voie de résorption, de ces grains d'amidon en chloroleucites.

Si le protoplasme est capable d'élaborer de l'amidon, on doit regarder ce dernier corps comme un produit de réserve qui se forme sous l'influence de la nutrition cellulaire. Celui qui se dépose dans les chloroleucites se formerait de la même façon : toutes les substances alimentaires contribuent à son élaboration, au même degré que le carbone de l'air ; celui-ci ne s'unit pas aux éléments de l'eau pour former directement de l'aldéhyde formique, au sein de la cellule vivante ; il est incorporé à la substance même des chloroplastes, pour en sortir à l'état d'amidon.

L'amidon est nécessaire à la constitution des chloroleucites ; inversement, ceux-ci, sous l'influence de l'assimilation du carbone de l'air et d'une nutrition générale suffisante, peuvent sécréter de l'amidon.

MM. Brown et Morris ayant établi, comme nous l'avons vu, que le saccharose est le composé initial issu de l'assimilation chlorophyllienne, l'amylogénèse doit être regardée, au moins dans certains cas, comme un phénomène secondaire ; mais il est certain que la molécule d'amidon ne se détache pas en nature de la molécule de la substance protéique mère, pas plus qu'elle ne peut servir, sans être préalablement dédoublée, à la constitution de la matière albuminoïde qui forme les chloroleucites. Les déductions de M. Belzung n'en subsistent pas moins ; mais elles doivent se rapporter, non pas à l'amidon, mais bien au sucre qui lui donne naissance ou qui en provient par voie d'hydrolyse.

Cette manière de voir est corroborée par les recherches de

M. Etard sur les chlorophylles ; nous avons vu que cet auteur a été conduit à regarder celles-ci comme des glucosides susceptibles de donner par hydratation du glucose et un noyau azoté plus ou moins complexe (p. 18).

Assimilation du carbone organique du sol.

Nous avons abandonné dès le début l'absorption du carbone organique par les racines des plantes, pour nous attacher exclusivement à l'étude de l'assimilation du carbone de l'air, sacrifiant ainsi momentanément la théorie de l'humus à celle de la nutrition minérale. Cette dernière a été vérifiée par une quantité innombrable d'expériences et par les faits journaliers apportés par la pratique agricole. Rien n'est en effet plus facile que de faire pousser des plantes dans des solutions minérales de composition bien déterminée et de leur offrir ainsi comme unique source de carbone l'acide carbonique de l'air. Le plus souvent, aucune cause étrangère ne vient troubler la marche des expériences, et les résultats acquis offrent toujours toute la rigueur désirable. Mais, si on introduit du carbone organique dans un liquide nutritif, les conditions changent : le milieu devient rapidement le siège d'une fermentation active toujours accompagnée d'un dégagement plus ou moins abondant d'acide carbonique. On comprend donc qu'en exposant les plantes dans une atmosphère confinée préalablement débarrassée d'acide carbonique, on ne se met pas pour cela à l'abri du carbone de l'air, puisque l'acide carbonique se dégage incessamment, et en quantité sensible, en admettant même qu'on change le liquide toutes les douze ou vingt-quatre heures, comme cela se fait souvent. Il ne faut donc pas songer à essayer de résoudre la question de l'assimilation du carbone organique en utilisant les procédés ordinaires de culture.

M. Grandeau a nié que le carbone organique fût assimilable, en faisant observer que les matières humiques ne sont pas dialysables.

M. Petermann a montré au contraire que ces substances traversent lentement les membranes dialysantes ; elles peuvent donc pénétrer dans les racines et servir peut-être à la nutrition de la plante comme le carbone qui provient de l'air. Le tableau suivant résume les résultats obtenus par M. Petermann,

en soumettant à la dialyse 100 grammes de terre fine pendant cent jours.

NATURE DES TERRES.	Poids total de la matière dialysée.	Matière organique dialysée.
Sablonneuses	0 gr. 076	0 gr. 031
Sablo-schisteuses	0 — 041	0 — 012
Calcaro-schisteuses	0 — 165	0 — 066
Sablo-argileuses	0 — 263	0 — 181
Argilo-sablonneuses	0 — 051	0 — 025

M. Dehérain a montré l'influence immédiate des matières humiques sur le poids des récoltes, en cultivant de l'avoine et du chanvre dans des sols additionnés convenablement d'engrais chimiques ou de matières noires du fumier. Voici les résultats de ses expériences :

ÉTAT DES TERRES.	RENDEMENTS COMPARÉS	
	Avoine.	Chanvre.
Bonne terre	»	35,8
Terre épuisée sans addition d'engrais	19,7	35,8
— avec engrais chimiques	28,8	22,8
— avec matières noires du fumier	23,5	25,7
— avec matières noires du fumier		
Terre additionnée d'engrais chimiques	30,7	38,4

Avec l'avoine, l'addition de la matière noire aux engrais chimiques ne produit pas de grands changements; mais avec le chanvre on obtient un accroissement de rendement très accentué. Cette augmentation est-elle due à l'assimilation des matières noires, ou simplement à l'utilisation plus complète des éléments minéraux due à la présence de l'humus?

Si cette matière favorise l'absorption des engrais chimiques, elle doit agir également partout, de sorte que toutes les plantes doivent traduire son action de la même façon. C'est ce qui n'a pas lieu, comme on le voit par les expériences de M. Dehérain, et dès lors on est obligé d'admettre que la matière humique a été absorbée par les racines du chanvre. Mais ces conclusions sont toujours sujettes à caution, à cause de la complexité du rôle que l'humus remplit dans le sol. Pour démontrer l'absorption du carbone organique par les racines, il faut l'offrir à la plante sous une forme simple et bien déterminée au point

de vue chimique, s'arranger de manière à ce qu'il ne s'altère pas dans le cours de l'expérience, et enfin supprimer complètement l'intervention de l'acide carbonique. Aujourd'hui, la réalisation de ces conditions est possible. Depuis les travaux de Pasteur, on connaît les agents des fermentations et on sait les éviter ou les utiliser suivant les besoins. Dans le cas actuel, il s'agit de les éliminer. Il faudra donc stériliser les semences et les milieux, faire usage de récipients capables de maintenir les solutions nutritives pendant des mois à l'abri des germes de l'air, et les placer dans une atmosphère débarrassée d'acide carbonique.

Les sucres sont tout désignés pour être employés dans de pareilles expériences.

Depuis longtemps MM. Meyer, E. Laurent, etc., ont montré que des feuilles détachées fabriquent de l'amidon aux dépens d'un grand nombre de sucres; mais on ne peut pas généraliser ces résultats et en conclure qu'il en serait de même avec des plantes entières; il faut consulter l'expérience. C'est ce qu'a fait M. Acton. Ses recherches ont établi que des plantes entières, préalablement vidées d'amidon par un séjour convenable à l'obscurité, élaborent cette substance dans une atmosphère exempte d'acide carbonique; mais il a constaté ainsi que tous les sucres qui provoquent l'amylogenèse dans les feuilles détachées ne produisent par les mêmes résultats lorsqu'ils pénètrent par les racines.

Les expériences de Bokorny (voy. p. 35) démontrent également que le carbone organique offert à certaines algues sous une forme relativement très dégradée peut encore servir à la formation de l'amidon dans les chloroplastes.

Tous ces résultats reposent sur l'emploi d'une réaction colorante provoquée par l'action de l'iode sur l'amidon; c'est là une réaction qualitative sujette par conséquent à des interprétations variables.

M. Hansteen a apporté des faits basés sur une réaction quantitative: il a constaté que la lentille d'eau se développe et bourgeonne à l'obscurité sur des solutions de sucres et d'asparagine ou d'urée.

Plus récemment, M. J. Laurent a obtenu des résultats analogues avec des plantes de maïs cultivées à la lumière dans des solutions nutritives stériles additionnées de glucose.

En somme, tous ces résultats montrent que le carbone orga-

nique peut être assimilé par les plantes. On sait d'ailleurs que, pendant une certaine période de son existence, la plante n'en utilise pas d'autres. Une plantule qui consomme les réserves de la graine se nourrit exclusivement de carbone organique. M. Mazé a pensé qu'il serait peut-être possible de prolonger indéfiniment ce mode de nutrition en cultivant les plantes à l'obscurité et en leur offrant une solution nutritive additionnée de sucres et des composés minéraux nécessaires à la végétation.

Il a fait pousser des plantes dans des solutions nutritives stérilisées renfermant :

Eau ordinaire.	1000
Glucose	10 à 60
Phosphate de potassium	1
Azotate de sodium.	1
Carbonate de chaux	2
Sulfate de magnésium	} 0,2
Sulfate de fer	
Chlorure de manganèse	
Chlorure de zinc.	traces

Le tableau suivant résume les résultats obtenus :

	Durée de l'expérience en jours.	Glucose p. 100	Poids sec de la plante.	Poids sec de la graine.	Assimi- lation.
N° 1.	50	1	269 ^{mgr}	202,8	66 ^{mgr} ,2
N° 2.	39	2	276,7	—	73,9
N° 3.	92	4	838,2	—	635,4
N° 4.	92	6	710	—	507,2
N° 5 témoin.	53	0	161,6	—	41,2
N° 6 témoin sans azote	} 29	0	133,4	—	69,4

Les chiffres qui donnent l'assimilation sont légèrement trop forts : on aurait dû en soustraire le poids des substances minérales des solutions nutritives dissoutes dans un volume de liquide égal à celui de la sève des plantes ; mais cette correction ne changerait pas le sens du phénomène.

Les plantes étaient naturellement étiolées ; les feuilles, d'un jaune clair, restaient à l'état embryonnaire avec leurs folioles fermées ; les racines avaient un aspect tout à fait normal.

L'augmentation de poids sec permet de conclure en toute sécurité à l'absorption et à l'assimilation du glucose.

Formation des matières grasses.

Les matières grasses sont assez répandues dans les végétaux, où elles se rencontrent le plus généralement dans les organes verts. Les grains de chlorophylle en renferment toujours, mais elles peuvent aussi se concentrer sur certains points, de préférence dans les fruits, où elles servent de réserves au même titre que l'amidon ou le saccharose ; c'est ainsi qu'à côté des graines amyloacées, il y a des graines grasses. Celles-ci sont assez communes dans nos régions, où l'on trouve le colza, le pavot, le lin, l'olive, la noix, le ricin ; mais elles sont bien plus communes dans les contrées tropicales, où elles constituent une des principales sources de richesse pour l'agriculture.

Le mécanisme de la formation de la graisse dans les végétaux a été peu étudié ; les physiologistes se sont plus particulièrement attachés à élucider la question des hydrates de carbone, parce qu'elle domine l'économie de la plante. De plus, on a admis avec Sachs que tous les composés ternaires dérivent du saccharose et de l'amidon ou de leurs produits de transformation.

Parmi les premières observations qui tendent à justifier cette manière de voir, il faut citer celles de Luca. Ce savant a constaté que l'olive jeune est très riche en mannite et pauvre en huile : à mesure que la maturation avance, la mannite diminue pendant que l'huile augmente ; quand le fruit est mûr, celle-là a complètement disparu, et l'on n'y trouve que de l'huile. Il est donc tout à fait logique d'admettre que l'un de ces corps dérive de l'autre.

La mannite n'est pas un sucre, c'est un alcool hexatomique : il diffère du glucose par la présence de deux atomes d'hydrogène en plus ; étant donnée cette parenté, il est probable que les hydrates de carbone peuvent également se transformer en matières grasses.

M. Müntz a montré en effet qu'il en est bien ainsi. Dans le colza, le pavot, le lin, c'est le glucose, le saccharose et l'amidon qui jouent le même rôle que la mannite dans l'olive. Il est

vrai que ces composés ne se concentrent pas dans la graine avant de se transformer en huile, de sorte qu'il faut admettre la présence d'un afflux continu de glucose vers le lieu d'élaboration, ou se ranger à l'opinion que les matières grasses se forment dans les feuilles, pour se rendre ensuite dans les organes de réserve. Entre les deux hypothèses M. Müntz adopte la première. La silique du colza, par exemple, d'abord très riche en matières hydrocarbonées, les cède peu à peu à la graine qui les transforme en graisse; elle contient au contraire moins d'huile que la graine à toutes les époques de la maturation; ce n'est donc que dans celle-ci que l'élaboration des matières grasses s'effectue.

Tout récemment, M. Gerber s'est rangé à l'opinion de Müntz et de Luca, après avoir apporté d'autres preuves en sa faveur.

M. Gerber est parti de cette idée que, si la mannite peut se transformer en huile, dans le péricarpe de l'olive, elle doit perdre préalablement une grande partie de son oxygène; cet élément ne peut s'éliminer qu'à l'état d'acide carbonique ou d'eau; il en résulte que, dans les olives en voie de maturation, le quotient respiratoire $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}}$ doit être supérieur à l'unité. C'est ce qui se produit en réalité: une olive jeune, pesant 0^{sr},42, encore dépourvue d'huile, possède un quotient respiratoire égal à 0,79, tandis qu'une autre du poids de 3^{sr},30 a fourni le rapport:

$$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}} = 1,51.$$

Quand la mannite a complètement disparu, le quotient respiratoire redevient inférieur à l'unité. Les mêmes faits s'observent pendant la maturation de la graine de ricin.

M. Heckel a émis l'opinion que le mécanisme de la production des matières grasses dans les feuilles doit rappeler celui qui donne naissance aux sucres. Cette hypothèse, comme celle de M. Belzung sur les hydrates de carbone, trouve un appui solide dans les conclusions de M. Etard relatives au rôle de certaines chlorophylles. M. Heckel admet que les matières grasses sont transportées par la sève vers les organes de réserve, comme le glucose par exemple.

En résumé, la conclusion de tous ces travaux, c'est que l'origine des matières grasses semble être multiple: celles qui se

déposent dans un grand nombre de fruits proviennent des matières hydrocarbonées ou de la mannite ; celles qui se forment dans les feuilles peuvent être considérées comme des produits issus directement de l'assimilation chlorophyllienne, bien qu'on n'en ait pas de preuve convaincante.

S'il est à peu près démontré que les matières grasses proviennent de l'élaboration des matières hydrocarbonées, on a constaté aussi la transformation inverse, et celle-ci est une preuve de plus en plus grande en faveur de celle-là.

Depuis longtemps, on a observé que, dans certaines graines oléagineuses, les sucres réducteurs apparaissent en abondance pendant la germination, bien que ces graines ne renferment qu'une dose initiale assez restreinte de substances saccharifiables. Il y a quelques mois, M. Bouchard a de nouveau attiré l'attention sur cette transformation, à la suite des observations qu'il a faites sur certaines variations de poids que l'homme sain peut présenter. Placé sur le plateau d'une balance, celui-ci peut en effet, sans prendre aucun aliment, accuser des augmentations de poids de 10, 20 et même 40 grammes, si l'on supprime pendant toute la durée de l'expérience les causes de pertes autres que celles qu'entraînent les échanges gazeux à travers la surface pulmonaire et cutanée. Cette augmentation ne dure guère plus d'une heure ; mais elle est manifeste. Comment expliquer ce phénomène ? M. Bouchard l'attribue à la fixation de l'oxygène par les matières grasses capables de se transformer en glycogène sans donner naissance à un dégagement correspondant de gaz. M. Berthelot admet que, dans certaines conditions, l'oxydation des matières protéiques peut contribuer à cet accroissement de poids.

M. Maquenne a apporté des faits à l'appui de l'hypothèse de M. Bouchard ; il a montré que l'acide ricinoléique de la graine de ricin se transforme en glucose pendant la germination. Ainsi, une semence de cette espèce, qui renferme 3,46 p. 100 de son poids sec de matières saccharifiables, en contient 24,14 au bout de dix jours de germination, soit une augmentation de 20,68. L'huile au contraire subit une variation inverse : elle représente avant la germination 51,42 p. 100 du poids sec de la graine, après dix jours de germination 5,74. La cellulose et les principes insolubles tombent de 16,74 à 11,98. Donc, en admettant que ceux-ci se transforment complètement en matières saccharifiables à mesure qu'ils disparaissent, il reste

encore un chiffre de $20,68 - 4,76 = 16$ p. 100 de sucres dont il faut attribuer l'origine aux matières grasses ou aux matières albuminoïdes. Or la glycérine initiale de la graine ne peut en fournir que 5 p. 100 au maximum : il reste donc 11 p. 100 à l'actif des acides gras ou des corps azotés. L'azote n'a pas varié ; les matières protéiques ont pu être dégradées et donner naissance à du glucose ; mais les 11 p. 100 de sucre ne peuvent en provenir, puisque la graine ne renferme que 18 de matières albuminoïdes.

L'arachide ne donne pas lieu aux mêmes transformations. L'acide arachidique est un acide de la série ($C^{20}H^{40}O^2$), dont la formule est $C^{20}H^{40}O^2$; l'acide ricinoléique est un acide-alcool incomplet, qui présente un groupement allylique et dont la formule développée se compose par conséquent de deux parties linéaires réunies par une double liaison. Cette double liaison peut se réduire à une simple liaison par addition de deux groupes (OH) ; en même temps, les deux extrémités de la chaîne s'oxydent et disparaissent, de sorte que, d'après M. Maquenne, on obtiendrait finalement de la glycérine capable, on le sait, de se transformer en sucres plus élevés.

En dehors de l'intérêt que présentent ces résultats au point de vue chimique et physiologique, nous devons en outre en conclure que, si le glucose est la forme d'émigration de la graisse après sa dislocation, il doit constituer aussi sa forme d'immigration avant son élaboration dans la graine.

CHAPITRE II

ORIGINES DE L'AZOTE ORGANIQUE

Nutrition azotée des plantes.

Les idées des savants sur l'origine de l'azote organique ont suivi, cela se conçoit, une évolution parallèle à celles qui ont eu cours sur l'origine du carbone.

Au commencement du siècle, la matière noire du fumier est considérée exclusivement comme la matière fertilisante du sol, malgré quelques observations isolées sur l'influence favorable du salpêtre sur le développement des plantes.

Mais, avec Liebig, la théorie minérale se substitue encore à cette conception : pour lui, l'azote nitrique et ammoniacal constituent la source des composés azotés des végétaux et partant des animaux. Cette idée, développée et confirmée par ses élèves, a été le point de départ de l'emploi des engrais minéraux en agriculture. Au point de vue expérimental, elle a été appuyée par un nombre considérable de faits. Choisissons ceux qui ont été publiés par Boussingault. Il a cultivé des helianthus dans un sol stérile additionné de nitrates employés, soit isolément, soit avec d'autres engrais minéraux ; il a pesé les plantes desséchées à la fin de l'expérience. Voici les chiffres qu'il a obtenus, déduction faite du poids de la graine :

	MATIÈRES INTRODUITES DANS LE SOL.	Poids des plantes desséchées.
N ^o 1	sans nitrates	0 ^{gr} ,397
N ^o 2	0 gr. 02 de nitrates	0 ,720
N ^o 3	0 , 04 —	1 ,130
N ^o 4	0 , 16 —	3 ,280
N ^o 5	phosphates, cendres, nitrate de potasse	21 ,111
N ^o 6	phosphates, cendres, bicarbonate de potasse	0 ,291

On peut démontrer, par l'emploi des solutions minérales, que l'ammoniaque est également assimilée par les végétaux ; mais

ici la question se complique. On sait depuis longtemps que l'azote ammoniacal est oxydé rapidement dans la terre et transformé en nitrate, sous l'influence des ferments nitriques. MM. Schløsing et Müntz ont étudié les conditions de cette oxydation dans les eaux d'égout filtrées sur du sable et dans le sol arable. M. Winogradsky a complété cette étude par des recherches remarquables qui ont abouti à la connaissance physiologique et morphologique des ferments. Au cours de ses travaux, il a été conduit à faire cette observation essentielle, que les ferments nitriques ne peuvent pas se développer dans un milieu qui renferme des traces de matière organique.

Lorsqu'on offre aux plantes une solution minérale renfermant des sels ammoniacaux, on réalise à son insu les conditions favorables à la marche rapide de la nitrification. Si les plantes se nourrissent exclusivement de nitrates, elles les absorberont à mesure qu'ils apparaîtront, et on obtiendra ainsi une végétation vigoureuse, qui en réalité est due à la présence des nitrates.

Lorsqu'on emploie des sels ammoniacaux comme engrais, ils subissent les mêmes transformations dans le sol; de sorte qu'en définitive, l'azote ammoniacal est assimilé peut-être entièrement à l'état de nitrates. De plus, l'expérience a montré aux agronomes que l'emploi des engrais ammoniacaux n'est pas toujours suivi d'un accroissement de rendement.

En présence de ces faits, on a considéré peu à peu les nitrates comme étant le seul engrais minéral azoté qui soit directement assimilable par les plantes.

Mais, à côté de ces faits, il en est d'autres bien démontrés, qui établissent l'assimilabilité de l'ammoniaque en nature.

M. Schløsing a obtenu les résultats suivants avec des plants de tabac cultivés sous cloche dans une atmosphère renfermant des traces de vapeurs ammoniacales émises par une solution étendue de carbonate d'ammoniaque :

	AZOTE DANS 100 PARTIES DE MATIÈRES SÈCHES	
	n° 1 Atmosphère	n° 2 Sans ammoniacale, ammoniacque.
Feuilles écôtées	3,18	2,62
Tiges et côtes réunies . .	2,08	1,62
Racines	1,33	1,09
Total	<u>6,59</u>	<u>5,33</u>

L'azote en excès dans les plantes n° 1 ne se trouvait ni à l'état d'ammoniaque, ni de nitrates, ni sous forme de nicotine ; l'ammoniaque absorbée avait donc formé des matières protoplasmiques.

M. Müntz a démontré également que l'ammoniaque du sol est assimilée directement par les végétaux. Pour se mettre à l'abri de la nitrification, il a opéré de la façon suivante.

De la terre de champ a été privée par le lavage des nitrates qu'elle renfermait, puis additionnée de sulfate d'ammoniaque et placée dans de grands pots qu'on introduisait dans une étuve à 100°. Elle était donc exempte de nitrates et d'organismes nitrifiants.

Pour éviter l'accès des germes de l'air pendant la durée de la végétation, on a recouvert les pots de grandes cages dont plusieurs parois étaient vitrées, tandis que les autres étaient formées par des toiles métalliques enduites de glycérine, capables de laisser passer l'air, tout en interceptant les poussières atmosphériques.

Les graines avaient été stérilisées par une courte immersion dans l'eau bouillante ; l'arrosage se faisait avec de l'eau stérilisée.

Voici les résultats obtenus par M. Müntz avec différentes espèces végétales :

	Azote emprunté à l'ammoniaque. Milligrammes.
Fève	915
Féverole	89
Maïs	208
Orge	49,3
Chanvre	114,5

Les plantes se développaient normalement : les fèves et les maïs avaient 1 mètre de hauteur ; la terre ne renfermait pas de traces de nitrates à la fin de l'expérience. Parmi les vases témoins, sans végétations, stérilisés et placés sous cages, les uns avaient été ensemencés avec de la terre nitrifiante, les autres n'avaient pas reçu de ferments nitriques ; les premiers renfermaient des doses assez élevées de nitrates, tandis que les seconds ne renfermaient que de l'ammoniaque.

Tous ces résultats démontrent donc clairement que les végé-

taux cultivés par M. Müntz avaient emprunté leur azote à l'ammoniaque qui leur avait été offerte.

Les expériences de M. Müntz ont été répétées depuis sur du sable calciné additionné de solutions nutritives renfermant des doses variables d'ammoniaque ; elles ont conduit à des résultats à peu près identiques aux précédents.

Ces expériences ne sont pas cependant à l'abri de toute critique. Si l'on ne trouve pas de nitrates dans les vases de cultures à la fin de l'expérience, cela ne veut pas dire qu'il ne s'en est pas formé pendant le développement des plantes : celles-ci ont pu l'absorber à mesure qu'il s'est produit, surtout s'il est vrai qu'elles le préfèrent à l'ammoniaque. Pour donner toute leur valeur aux conclusions précédentes, il faut donc s'assurer que les ferments nitriques n'ont pas envahi les vases de culture à l'insu de l'opérateur. Cette précaution paraîtra tout à fait indispensable, si l'on se rappelle que M. Winogradsky a montré que la nitrification est d'autant plus rapide dans une solution ammoniacale, qu'elle est pauvre en matières organiques.

M. Mazé a repris les expériences précédentes, en employant des solutions nutritives stériles, additionnées de sulfate d'ammoniaque ou de nitrate de sodium, afin de comparer la marche d'une végétation entretenue avec l'un ou l'autre de ces aliments azotés.

Il a opéré avec du maïs ; les plantes étaient maintenues à l'abri des germes de l'air pendant toute la durée de l'expérience.

Voici les résultats obtenus :

AZOTE NITRIQUE

	Azotate de sodium p. 1000	Durée de l'expérience.	Poids sec des plantes.	Azote puisé aux nitrates (l'azote de la graine étant déduit).
N ^o 1	1	44 jours	8.900 mgr.	279 ^{mgr} ,8
N ^o 2	1	36 —	7.425 —	197 ,1
N ^o 3	1	45 —	8.910 —	261 ,0
N ^o 4	0,5	32 —	5.710 —	181 ,9

AZOTE AMMONIACAL

	Sulfate d'ammoniaque p. 1000.			A l'ammoniaque.
N ^o 5	1	44 jours	6.625 mgr.	232 ^{mgr} ,5
N ^o 6	1	33 —	5.135 —	189 ,3
N ^o 7	0,5	47 —	8.640 —	265 ,6

Les expériences terminées, les solutions nutritives ont été conservées pendant deux mois, afin de vérifier si elles n'étaient pas devenues le siège d'une nitrification à la suite d'une contamination fortuite ; on a constaté, au bout de ce temps, que les milieux ammoniacaux ne donnaient pas de trace de coloration à la diphénylamine, tandis que la réaction de Nessler était toujours aussi nette qu'au début.

Si l'on considère maintenant les résultats consignés dans les deux tableaux précédents, on voit que le rendement en poids sec est à peu près proportionnel à la quantité d'azote absorbé lorsque les plantes sont alimentées avec des nitrates. Il n'en est plus de même lorsqu'elles sont nourries avec des sels ammoniacaux : le sulfate d'ammoniaque, employé à la dose de 0,5 p. 1000, donne un poids sec, dans le même temps, bien plus élevé que lorsqu'il est employé à la dose de 1 p. 1000. A cette concentration, ce sel exerce sur le maïs une action nocive, qui se manifeste aussi bien dans l'aspect des racines que dans le résultat général. Les racines principales sont courtes, rigides, avec les ramifications étalées horizontalement dans la solution nutritive, au lieu d'être inclinées et de tomber, en vertu de leur propre poids.

Les plantes développées dans une solution de sulfate d'ammoniaque à 0,5 p. 1000 ne présentent pas ces caractères : leurs racines sont longues, abondantes, elles portent des ramifications tout à fait normales et en cela elles ressemblent complètement à celles qui végètent dans les solutions nitriques ; les nitrates employés à 1 p. 1000 ne produisent aucune influence fâcheuse sur le développement du maïs. Il reste donc acquis que les sels ammoniacaux peuvent être assimilés par le maïs au même titre que les nitrates ; mais ces végétaux ne supportent qu'une faible dose des premiers, ce qui laisse supposer que, pour eux tout au moins, les nitrates constituent un engrais supérieur au sulfate d'ammoniaque, lorsqu'on les emploie à forte dose.

Dans les mêmes conditions, les ammoniacs composés sont assimilés par les plantes ; mais, pour obtenir des résultats qui offrent la certitude nécessaire, il faut encore opérer dans des conditions d'asepsie rigoureuse : un grand nombre d'espèces microbiennes du sol détruisent les matières azotées en donnant de l'ammoniaque et quelquefois de l'azote gazeux. Comme on n'est jamais sûr de stériliser complètement les semences, on

les fait germer séparément dans des tubes à essai préalablement stérilisés. Au bout de huit à quinze jours, suivant les espèces et la température, on peut transposer les plantules dans les récipients également stérilisés où elles doivent terminer leur développement.

En résumé, l'azote combiné sous toutes ses formes, de même que le carbone organique, peut contribuer à la nutrition végétale, exception faite cependant de ceux qui sont toxiques pour la plante et de ceux aussi que leur insolubilité ou leur état colloïdal empêche de pénétrer dans les racines.

Intervention de l'azote libre.

A toutes les sources de l'azote organique que nous venons de passer en revue on doit ajouter encore l'azote libre de l'atmosphère.

La démonstration de l'intervention de l'azote gazeux dans la vie des êtres vivants est tout à fait récente. Mais c'est une idée qui n'est pas neuve dans la science. Boussingault a le premier remarqué, en suivant les pérégrinations de l'azote des engrais pendant toute une série d'assolements, que la somme de l'azote total des récoltes est supérieure à l'azote confié à la terre, et que le stock en réserve, loin de diminuer, augmente parfois dans des proportions considérables.

Voici d'ailleurs quelques chiffres rapportés par Boussingault, touchant l'excédent de l'azote des récoltes sur l'azote des fumures :

	AZOTE		Différence.
	Des récoltes.	Des fumures.	
I. Assolement de trois ans : deux blés avec jachère	87 ^{kg} ,2	82 ^{kg} ,8	4 ^{kg} ,6
II. Assolement de cinq ans : pomme de terre, froment, trèfle, froment et navets dérobés, avoine	266, 5	203, 2	63, 3
III. Assolement de quatre ans : pomme de terre ou betteraves, froment, trèfle, froments	338, 7	182, 1	156, 7
IV. Culture continue de la luzerne, cinq ans . . .	1.035,	«	1.035,

Il semble donc que le sol doive s'épuiser rapidement sous l'influence d'une culture continue, malgré les apports d'azote effectués annuellement sous forme d'engrais, surtout si l'on ajoute à cette cause d'appauvrissement les déperditions qui se produisent, soit à l'état de nitrates dans les eaux de drainage, soit à l'état d'azote gazeux, mis en liberté dans les fermentations de matières azotées qui ont lieu dans la terre arable. Il n'en est rien cependant : le stock d'azote combiné disponible va sans cesse en augmentant. Ce phénomène est surtout sensible dans les prairies des montagnes, où le pâturage est exploité durant toute la belle saison : le cultivateur ne se soucie pas de restituer à ces herbages les quantités énormes d'azote que les troupeaux leur enlèvent, et, malgré cela, le sol s'enrichit constamment en matières azotées. M. Truchot a trouvé dans les prairies des montagnes d'Auvergne 5,7 et même 9 grammes d'azote par kilogramme de terre, alors que les bonnes terres cultivées n'en contiennent pas plus de 1 gramme.

Si l'on considère les sols des forêts, on est conduit aux mêmes résultats.

Quelle est la source de cet azote qui s'accumule ainsi dans le sol ? Les chimistes et les agronomes lui ont attribué une origine multiple.

L'air renferme de petites quantités d'azote combiné, à l'état d'ammoniacque, de nitrates et même de nitrites ; l'ammoniacque se forme dans les combustions incomplètes ; les composés oxygénés de l'azote prennent naissance pendant les orages, sous l'influence des étincelles électriques ; ces corps sont entraînés peu à peu par les eaux pluviales et parviennent ainsi à la terre, où ils servent à la nutrition végétale.

M. Schlœsing, dans ses recherches sur la circulation de l'ammoniacque dans l'atmosphère et dans les eaux, a admis que les nitrates, entraînés par les eaux de drainage dans les fleuves et dans la mer, sont absorbés par les algues. Les débris de ces plantes accumulés au fond des mers se décomposent lentement en dégageant de l'ammoniacque. La surface de l'océan cède donc constamment de l'ammoniacque à l'atmosphère, et, de l'air, elle passe directement dans les végétaux et dans le sol.

Il faut en conclure que les nitrates entraînés à la mer ne sont pas perdus pour la végétation ; et l'on peut admettre aussi que les pertes d'azote à l'état de gaz sont compensées par

les gains occasionnés par la combinaison des éléments de l'air, sous l'influence de la foudre.

Il y aurait donc ainsi compensation entre la perte et les gains d'azote, et nous vivrions en définitive sur un stock d'azote combiné qui a dû rester à peu près constant dans la suite des temps. Partant de cette idée, M. Müntz a émis l'hypothèse que, durant le refroidissement terrestre, une partie des éléments de l'air s'est combinée pour donner des nitrates ; cette quantité initiale aurait entretenu la vie à la surface de notre planète depuis que les premières cellules vivantes y ont fait leur apparition.

Mais l'idée de la fixité des réserves d'azote combiné de la surface du globe ne résiste pas à un examen attentif. Si l'on met en regard les quantités d'azote nitrique entraînées par les eaux courantes vers la mer et les gains d'azote effectués par le sol, par suite de la fixation de l'ammoniaque et des composés nitriques de l'atmosphère, on constate que la déperdition surpasse de beaucoup le gain, et particulièrement dans les sols cultivés. De plus, dans le sol des prairies naturelles et des prairies artificielles l'augmentation de l'azote combiné est hors de proportion avec les quantités d'azote nitrique ou ammoniacal apportées par l'atmosphère ; ces faits ont été mis en évidence surtout par MM. Lawes et Gilbert en Angleterre et M. Dehérain en France¹.

Mais, avant qu'ils aient pris rang parmi les vérités scientifiques bien démontrées, M. Georges Ville avait mis en avant l'idée que certaines plantes, en particulier les légumineuses, peuvent absorber l'azote atmosphérique.

Il cultivait des pois sous des cages vitrées, dans du sable calciné et lavé, par conséquent débarrassé de toute matière organique et de combinaisons azotées ; il faisait circuler dans les cages un courant d'air préalablement purgé d'ammoniaque et de composés nitriques. Dans ces conditions, la plupart des plantes mouraient d'inanition après avoir longtemps languï ; mais un certain nombre reprenaient de la vigueur, fleurissaient, fructifiaient et renfermaient à la fin de l'expérience beaucoup plus d'azote que n'en contenaient les graines. Ces résultats ne

(1) Dans les terres nues la perte de nitrates par les eaux de drainage peut atteindre 100 kilogrammes par hectare et par an, tandis qu'elles ne reçoivent que 4 kilogrammes d'azote combiné atmosphérique.

pouvaient évidemment s'expliquer que par l'intervention de l'azote gazeux dans l'alimentation des plantes.

Les expériences de G. Ville ont été reprises par Boussingault, qui a obtenu des résultats négatifs.

Elles ont été répétées avec le même insuccès par M. Pugh, sous la direction de MM. Lawes et Gilbert.

Force a été d'abandonner l'idée si originale de M. G. Ville. Plus tard, M. Berthelot a montré que, sous l'influence des effluves électriques, l'azote atmosphérique se combine aux hydrates de carbone ; il est donc tout à fait logique d'admettre que les mêmes phénomènes se passent dans les tissus et en particulier dans les feuilles des plantes exposées durant tout leur développement aux effluves auxquels le sol et l'atmosphère donnent naissance. Les preuves expérimentales décisives manquent en faveur de cette hypothèse.

En continuant ses recherches sur la fixation de l'azote libre par le sol, M. Berthelot a réussi à découvrir les agents de cette fixation, qui ne sont autres que les microorganismes qui pullulent dans la terre.

Cependant, parmi les résultats qu'il a publiés, un certain nombre semblent devoir être rattachés aux influences électriques ; il a en effet constaté que du kaolin presque pur ramené à l'air s'enrichit peu à peu en azote combiné. Une pareille terre ne renferme pas les éléments nécessaires au développement des infiniment petits ; leur intervention ne paraît donc guère possible.

Il n'en est plus de même avec la terre arable. M. Berthelot a montré que quelques kilogrammes de terre placés dans des pots accusent, au bout de quelques mois, un enrichissement très sensible en azote ; mais, si on expose préalablement les pots à une température suffisante pour tuer tous les germes vivants, les gains d'azote combiné cessent de se manifester. Il faut donc en conclure que le phénomène est bien dû aux microbes qui peuplent la terre. Parmi eux, M. Berthelot a isolé quelques bactéries incolores et quelques moisissures qui se sont montrées très actives. Leur activité est augmentée par l'introduction de matières humiques dans le sol, au point que la quantité d'azote initial peut être doublée en quelques mois.

MM. Gautier et Drouin ont obtenu des résultats comparables à ceux de M. Berthelot.

Voici donc bien établie l'intervention de l'azote libre dans

l'entretien de la vie à la surface du globe, limitée toutefois aux végétaux inférieurs.

Les agronomes poursuivaient également leurs recherches dans le même ordre d'idées, en s'attachant surtout à l'étude des plantes supérieures. Les faits que G. Ville avait observés devaient enfin trouver, en 1888, une confirmation éclatante dans les résultats de MM. Hellriegel et Wilfarh.

G. Ville, privé des secours de la bactériologie, n'avait pu expliquer les irrégularités qu'il avait observées dans le développement des plantes placées en apparence dans des conditions identiques. Mais, de 1850 à 1888, la science pasteurienne avait marché à grands pas, de sorte que les deux savants allemands, en présence des faits énoncés par G. Ville, étaient mieux outillés pour surmonter les difficultés de l'expérimentation.

En étudiant l'alimentation azotée des légumineuses, ils ont observé, comme G. Ville, que des pois ensemencés dans du sable calciné additionné de sels minéraux, les composés azotés exceptés, se développaient vigoureusement après une période de souffrance plus ou moins longue : ils ne présentaient, à la fin de leur développement, aucune différence avec d'autres plants abondamment pourvus de tous les éléments nutritifs.

Cependant, cette marche de la végétation n'était pas générale chez toutes les plantes privées d'azote combiné ; quelques-unes périssaient, et l'on pouvait même voir dans un même pot des pieds très vigoureux à côté de pieds chétifs et mourants.

Comment interpréter ces résultats ? On ne pouvait pas les expliquer par l'intervention des composés azotés de l'atmosphère, puisque toutes les plantes placées dans un même pot n'en profitaient pas de la même façon.

En examinant leurs racines, MM. Hellriegel et Wilfarth firent cette remarque capitale, que les pieds chétifs étaient toujours privés de tubercules radicaux, tandis que ceux qui se développaient normalement en portaient régulièrement.

Ils attribuèrent les nodosités à un germe vivant qui existe probablement dans la terre. Et, pour démontrer cette hypothèse, ils ont établi les trois points suivants :

1° Dans les sols stérilisés et maintenus à l'abri des germes de l'air il ne se développe jamais de tubercules sur les racines des légumineuses ;

2° Si l'on arrose les sols stérilisés par une délayure de terre

prise dans un champ qui a porté des légumineuses, ou si on se contente simplement de répandre à la surface des vases quelques particules de cette terre, on voit apparaître des nodosités en très grand nombre ;

3° Lorsqu'on fait bouillir la délayure de terre pendant quelques minutes, elles ne se forment plus.

Ces résultats ne laissent place à aucun doute : les tubercules radicaux sont dus à des microbes du sol qui forment avec la plante une association particulière à laquelle MM. Hellriegel et Wilfarth ont donné le nom de symbiose ; et c'est à la faveur de cette symbiose que les légumineuses deviennent capables d'assimiler l'azote gazeux.

Les résultats remarquables auxquels ces deux savants sont parvenus ont été assez vigoureusement attaqués, malgré le nombre considérable d'observations et de faits qu'ils ont apportés à leur appui. Leurs cultures se faisaient à l'air libre, et par suite au contact des composés azotés de l'atmosphère. Certes ils pouvaient soutenir que les conditions étaient les mêmes pour toutes les plantes ; mais les différences individuelles sont quelquefois suffisantes pour arrêter la vie chez une plantule, là où une autre prospère ; et, dans le cas actuel, il suffit que les plantes soient inégalement aptes à capter les composés azotés de l'air pour faire naître les différences observées.

Les deux savants allemands ont tenté de répondre à ces objections en cultivant des pois dans une atmosphère confinée : leur expérience comportait beaucoup trop de corrections, à cause de la simplicité trop grande des appareils, et, en accumulant les corrections, on multiplie les chances d'erreur. Les résultats de celle que M. Hellriegel a effectuée dans ces conditions laissent encore place au doute dans l'esprit des savants.

MM. Schlœsing fils et Laurent ont repris cette expérience avec des mesures de précaution telles, que les résultats, ou positifs ou négatifs, devaient entraîner la conviction.

Ils ont cultivé des pois dans un sol stérilisé formé de sable calciné, disposé au fond d'une allonge cylindrique en verre fermée à la partie inférieure ; la partie supérieure communiquait avec des tubes à absorption, le tout constituant un ensemble hermétiquement clos, pouvant rester isolé de l'air ambiant pendant toute la durée de l'expérience. On faisait le vide dans l'appareil et on y introduisait un volume bien déter-

miné d'azote gazeux, puis de l'oxygène et de l'acide carbonique nécessaires à l'entretien de la végétation, en quantité telle que la pression demeurât toujours inférieure à la pression barométrique.

De temps à autre, on introduisait, suivant les variations de pression, de l'acide carbonique, et on enlevait une partie de l'oxygène accumulé, en faisant circuler les gaz sur du cuivre chauffé au rouge. Ces opérations s'effectuaient sans établir aucune communication entre l'atmosphère confinée et l'extérieur, de sorte qu'on ne perdait aucune trace d'azote.

Les pois ensemencés avaient été préalablement stérilisés, puis arrosés avec le contenu de quelques tubercules radicaux également lavés et stérilisés à la surface.

Quand les plantes avaient atteint un développement suffisant, on arrêtait l'expérience et on mesurait l'azote restant dans l'atmosphère confinée, en l'extrayant complètement par le vide. La différence entre le volume restant et le volume introduit donnait le volume de l'azote assimilé par les plantes. Les auteurs ont donné à cette méthode le nom de méthode directe ; ils appellent méthode indirecte celle qui consiste à doser l'azote de la graine et l'azote de la plante entière, à en faire la différence pour obtenir la quantité d'azote empruntée à l'atmosphère.

Le tableau suivant renferme les résultats obtenus par MM. Schlœsing et Laurent avec des cultures de pois :

EXPÉRIENCE I

Méthode directe.

Azote gazeux introduit	2.681 ^{cc} ,2
Azote gazeux extrait	2.652 ,14
Azote gazeux fixé en volume	29 ^{cc} ,06
Azote fixé en poids	36 ^{mgr} ,1

Méthode indirecte.

Azote du sol avant l'expérience	4 ^{mgr} ,3	} 32 ^{mgr} ,6
Azote des graines	28 ,3	
Azote du sol après l'expérience	15 ,1	
Azote des plantes entières	58 ,1	
Gain d'azote		73 ,2
		40 ^{mgr} ,6

EXPÉRIENCE II

Méthode directe.

Azote gazeux introduit	2.483 ^{cc} ,3
Azote extrait.	2.457 ,55
	<hr/>
Gain d'azote en volume	25 ^{cc} ,8
Gain d'azote en poids.	32 ^{mgr} ,4

Dans l'expérience II la méthode indirecte a fourni un gain d'azote de 34^{mgr},1.

A côté des expériences I et II, une troisième servant de témoin avait été faite, avec un sol identique, sur des pois non inoculés ; l'allonge qui renfermait les plantes communiquait librement avec l'atmosphère : l'analyse du sol et des végétaux, faite suivant la méthode indirecte, a montré qu'il n'y avait pas eu de fixation d'azote gazeux.

De plus, conformément aux résultats établis par MM. Hellriegel et Wilfarth, les plants arrosés avec de la pulpe de nodosités broyées présentaient de nombreux tubercules sur les racines ; les plants non inoculés en étaient complètement dépourvus.

Dans de nouvelles séries d'expériences, les auteurs ont étendu leurs recherches à des plantes appartenant à d'autres familles, comparativement avec des légumineuses, mais en opérant cette fois avec des sols naturels, abondamment pourvus de microorganismes.

Ils ont montré ainsi :

« 1° Que, parmi les végétaux supérieurs, les légumineuses seules peuvent prélever largement de l'azote libre sur l'atmosphère et faire passer cet azote dans leur propre substance à l'état de combinaison ;

« 2° Dans les conditions de leurs expériences, les sols nus, c'est-à-dire exempts de toute végétation apparente, n'ont point fixé d'azote libre en quantité mesurable ; l'avoine, la moutarde, le cresson, la spargule n'en ont pas fixé davantage, alors que, dans des conditions identiques, les pois en fixent abondamment ».

Les résultats de MM. Hellriegel et Wilfarth, en ce qui concerne les relations des légumineuses, pourvues ou non

de nodosités, avec l'azote atmosphérique, sont donc confirmés.

Mais nous ne savons que peu de choses sur la nature et l'origine de ces formations tuberculeuses. MM. Hellriegel et Wilfarth ont établi sans conteste qu'elles sont dues à un germe vivant ; mais ils ne nous apprennent rien de ce germe, rien non plus des bâtonnets ramifiés qui peuplent les nodosités.,

Ni celles-ci, ni leur contenu n'étaient ignorés des botanistes, mais on était loin de douter qu'elles étaient le siège d'un phénomène de la plus haute importance au point de vue de l'économie agricole. Les physiologistes admettaient, avec de Wries, que les bâtonnets ramifiés, les bactéroïdes comme on les appelait, étaient des corpuscules inertes, des matériaux de réserves que la plante utilisait quand le besoin s'en faisait sentir. C'est aux bactériologistes qu'il était réservé d'en donner la véritable interprétation.

Prazmowsky, Beyerinck, Laurent, Bréal ont montré que les corpuscules bactériiformes des nodosités sont bien des êtres vivants, susceptibles d'être cultivés sur des milieux artificiels. Introduits dans des solutions nutritives stériles où végètent des légumineuses, ils se fixent dans les racines, en provoquant la formation de tubercules. Ce mode d'inoculation réussit avec le contenu des nodosités ; il réussit aussi bien avec les germes développés sur des milieux artificiels.

Quant aux relations des bactéries avec la plante nourricière, elles sont faciles à saisir au microscope, si l'on n'envisage que les relations anatomiques. Les tubercules sont de forme variable, suivant les espèces de légumineuses : ils sont composés d'un tissu parenchymateux dense vers la périphérie, très lâche au contraire vers le centre où les cellules, énormes, sont complètement remplies de microbes ; des faisceaux vasculaires sillonnent les régions périphériques ; ils proviennent des faisceaux de la racine et se ramifient dans les nodosités en obéissant à leur mode de ditigation.

Au point de vue physiologique, on peut supposer qu'il y a des échanges actifs entre la plante et ses hôtes ; ce qui justifie cette manière de voir, c'est la présence de nombreux grains d'amidon dans les cellules des tubercules très jeunes. Il est donc probable que les bactéries reçoivent de la plante les substances hydrocarbonées dont elles sont avides et lui restituent en retour une substance azotée élaborée aux dépens de

l'azote gazeux. Cette idée avait déjà été émise par M. Duclaux en 1889, mais ce n'était qu'une hypothèse ; il est cependant facile de la soumettre au contrôle de l'expérience, puisque le microbe des nodosités peut être aisément cultivé en dehors de la plante.

Deux méthodes s'offrent aux expérimentateurs pour résoudre cette question. La première consiste à placer la bactérie dans des milieux privés d'azote combiné, mais pourvus de tous les autres éléments nécessaires à la vie, sans oublier les hydrates de carbone dont on avait reconnu dès le début l'influence bien-faisante ; si, au bout de quelque temps, on trouve des quantités mesurables d'azote combiné dans les milieux de culture, on en conclura que la bactérie est capable de s'alimenter aux dépens de l'azote gazeux.

La seconde méthode revient à la cultiver dans un milieu renfermant de l'azote combiné : pour savoir s'il y a gain d'azote, il suffit de déterminer la quantité fournie au début et la quantité retrouvée à la fin de l'expérience.

Dans tous les cas, il faut naturellement se servir de témoins ou bien mettre les cultures à l'abri des composés azotés de l'atmosphère.

Ces deux méthodes ont échoué, sinon complètement, du moins à peu de chose près, puisque Beyerinck, qui a obtenu avec la seconde méthode les résultats les plus favorables, n'a enregistré que des chiffres qui se confondent pour ainsi dire avec les erreurs d'analyse.

On a donc été contraint d'admettre que l'utilisation de l'azote atmosphérique par les légumineuses est la résultante de deux actions combinées qui semblent jusqu'ici indissolubles, et il reste acquis, jusqu'à preuve du contraire, que les légumineuses doivent jouer un certain rôle dans la fixation de l'azote gazeux, rôle qui ne semble pas se borner exclusivement à fournir de l'amidon à la bactérie.

Voici donc qu'aux deux extrêmes du monde végétal il se trouve des espèces capables de vivre aux dépens de l'azote libre : les légumineuses et quelques bactéries du sol.

MM. Schloësing fils et Laurent ont montré que les algues vertes possèdent la même propriété.

Au cours de leurs recherches sur la fixation de l'azote atmosphérique par les végétaux supérieurs, ils avaient disposé des expériences témoins, faites avec des sols naturels,

non ensemencés. Contrairement à leurs attentes, ils constatèrent que ces terres, maintenues humides, s'enrichirent dans une proportion sensible en azote combiné.

Dans tous les cas où ces faits se sont manifestés, le sol s'est recouvert d'une couche verte de consistance légèrement glaireuse. Dans ce magma de végétaux inférieurs on pouvait discerner au microscope des mousses, des algues, des bactéries et des champignons. En empêchant le développement de ces organismes, MM. Schlœsing et Laurent ont constaté que le sol ne s'enrichit plus en matières azotées.

L'intérêt théorique de ces résultats et l'importance pratique qui s'attache à cette question ont déterminé les auteurs à pousser plus avant leurs investigations. Ils ont disposé de nouvelles séries d'expériences de la même façon que celles qui ont été déjà rapportées ; ils ont déterminé les gains d'azote par les méthodes directe et indirecte, et ils ont confirmé ainsi les résultats de leurs premières observations ; ils ont montré en outre que l'azote gagné se retrouve exclusivement dans les couches superficielles, où il semble faire partie intégrante des végétaux qui l'ont fixé, comme il est facile de le voir à la lecture des tableaux ci-dessous. Les expériences ont été préparées de la façon suivante.

« Dans des allonges en verre ils placèrent 600 grammes de terre arable plus 2 grammes d'un mélange de cinq à six échantillons de terres riches de jardin et 100 centimètres cubes d'une solution nutritive renfermant des sulfates de potassium, de calcium et de fer, du sulfate monocalcique, mais point de nitrates. On verse goutte à goutte sur toute la surface de la terre préalablement introduite dans le récipient 5 centimètres cubes d'une solution de nitrate de potassium qui renferme exactement 10 milligrammes d'azote, 5 centimètres cubes d'eau de lavage et enfin 5 centimètres cubes, bien répartis sur toute la surface, de délayure de terre. On obtient cette délayure de terre en prenant 5 grammes de terre, du mélange de terres de jardin avec 25 centimètres cubes d'eau distillée, agitant, laissant déposer deux minutes, et aspirant 5 centimètres cubes de liquide clair. »

Dans ces conditions, la couche verte superficielle était formée principalement par du nostoc punctiforme, nostoc minutus, *Desmazières*, dont les enchevêtrements étaient peuplés de microbes.

Voici les chiffres obtenus dans deux expériences.

Méthode directe.

AZOTE GAZEUX			
	Initial.	Final.	Disparu.
I	98 ^{cc} ,9	931 ^{cc} ,2	51 ^{cc} ,7 = 65 ^{mgr}
II.	847 ,1	817 ,6	29 ,5 = 37 ,1

Méthode indirecte.

Azote initial de toutes provenances.		Azote final.		Azote gagné.	
I . . .	73 ^{mgr} ,5	{ Surface (épaisseur de 2 à 4 ^{mm}) Intérieur	78,3	} 136,1	62,6
			57,8		
II. . .	73 ,5	{ Surface Intérieur	57,1	} 114,8	41,3
			57,7		
		Azote des végétaux formant la couche glaireuse.	Matière organique formée.	Azote p. 100	
I		69,3	1.476 ^{mgr}	4,7	
II		47,7	1.148	4,2	

Les mousses microscopiques qui accompagnent les algues ne se sont pas montrées capables d'enrichir le sol en azote; MM. Schlœsing et Laurent ont pu les cultiver dans un état de pureté assez grande, en repiquant des colonies à peu près pures. Il en est de même de quelques espèces d'algues qui ont été cultivées également à part. Et, si l'on pouvait les cultiver à l'état de pureté absolue, le nombre de celles qui sont capables de faire la synthèse des composés azotés en partant de l'azote gazeux se réduirait peut-être encore. Les algues renferment à la fin de l'expérience la presque totalité de l'azote gagné, mais cela ne prouve pas qu'elles le font entrer directement dans la constitution de leur protoplasme. MM. Schlœsing et Laurent pensent que c'est l'énergie accumulée par la fonction chlorophyllienne qui est dépensée dans l'organisation de l'azote atmosphérique; mais, comme les bactéries sont toujours présentes dans les cultures, elles peuvent également y jouer un rôle. Il n'est pas invraisemblable qu'il y ait là aussi une symbiose entre

les algues et les bactéries ; le mécanisme de cette symbiose ne doit pas différer de celle que les légumineuses contractent avec les bactéries des nodosités. Dans les deux cas, c'est la fonction chlorophyllienne qui fournit l'énergie nécessaire pour faire entrer l'azote libre dans une combinaison organique ; cette énergie se trouve dans les composés endothermiques, les sucres et l'amidon dont elle fait la synthèse. En l'absence de chlorophylle, les lois de la thermochimie exigent que des êtres vivants qui construisent d'un côté désagrègent de l'autre, pour se procurer la chaleur employée aux travaux de construction. Ainsi, pendant qu'un certain nombre d'éléments gravissent les degrés de l'échelle de construction organique, d'autres descendent les marches de l'échelle de destruction ; c'est, on se le rappelle, l'hypothèse émise par M. Duclaux. M. Winogradsky et M. Kossowitch ont traduit cette hypothèse par des faits, le premier dans un remarquable travail sur la fixation de l'azote atmosphérique par les microbes du sol, le second dans ses recherches sur la symbiose des algues et des microbes.

M. Winogradsky est parti d'une idée aussi originale que simple : s'il y a, dit-il, dans le sol, des microorganismes capables d'incorporer l'azote libre à leur propre substance, ils doivent le faire dans des milieux privés d'azote combiné, si toutefois on leur fournit une substance capable de dégager de la chaleur en se décomposant, comme par exemple le glucose et le saccharose.

Il a donc préparé le milieu suivant avec de l'eau distillée et des substances purifiées et débarrassées de composés azotés dans la mesure où les procédés de purification le permettent :

Eau distillée	1000
Phosphate de potassium	1
Sulfate de magnésium	0,5
Chlorure de sodium	} 0,01 à 0,02
Sulfate de fer	
Sulfate de manganèse	

Bien peu d'espèces microbiennes se développent dans ce milieu lorsqu'on les ensemence avec une fine particule de terre : quelques-unes ne se peuplent pas ; d'autres exhalent une odeur d'acide butyrique et trahissent ainsi une fermentation légère. Dans celles-ci on distingue, à l'œil nu, quelques grumeaux en suspension dans la masse du liquide ; examinés

au microscope, ces grumeaux se montrent composés d'un enchevêtrement de plusieurs espèces microbiennes, dont l'une, à forme de clostridium, est facile à reconnaître. Si on essaye de les isoler, les colonies obtenues ne se développent plus en culture pure dans le même milieu ; si on transporte quelques grumeaux dans des tubes renfermant la solution stérile, souvent les cultures ne prospèrent pas. Pour assurer le succès des réensemencements, il faut avoir soin de transporter de gros grumeaux ; dans ces conditions, une fermentation active se déclare et on constate, à la fin de l'expérience, une fixation assez sensible d'azote gazeux.

Le clostridium, donnant des spores, résiste facilement, comme toutes les espèces sporogènes, à une température de 75° ; en chauffant les cultures à cette température, on obtient par réensemencement un mélange de trois espèces qui donnent les mêmes résultats que la terreensemencée directement.

Voici les résultats obtenus avec le mélange de ces trois espèces dans les cultures qui ont été le siège d'une fermentation active ; elles avaient été additionnées de carbonate de chaux pur, afin d'éviter l'influence fâcheuse d'une trop grande acidité.

		Durée.	Azote fixé.
N° 1	{ Glucose 3 gr. } { Solution minérale 50 cc . }	1 mois	7 ^{mgr} ,70
N° 2	{ Glucose 4 gr. } { Solution minérale 100 cc . }	54 jours	12 ,74
N° 3	{ Glucose 7 gr. } { Solution minérale 100 cc . }	75 jours	14 ,63

L'allure de ces cultures était intéressante à suivre ; l'insuccès d'un grand nombre de réensemencements cachait une influence curieuse, due à une cause qu'il fallait découvrir pour obtenir des résultats réguliers. L'addition de 2 milligrammes d'azote organique favorise les débuts de la fermentation ; mais, si on remplit les récipients, constitués par des vases coniques à étroite ouverture, l'action favorisante de l'azote combiné disparaît : toutes les cultures partent en même temps. Ceci fait prévoir que l'agent de la fermentation est anaérobie. En effet, M. Winogradsky, incapable de l'isoler par les procédés ordinaires, réussit à le cultiver à l'abri de l'air sur des tranches de carotte ; sur ce milieu, le clostridium se développe seul, en donnant des colonies qui grossissent rapidement. Elles

deviennent bientôt le siège d'une fermentation si active, que les bulles gazeuses produisent une véritable effervescence dans la masse microbienne. Ce clostridium, auquel M. Winogradsky a donné le nom de *clostridium pasteurianum*, est donc exclusivement anaérobie. Ainsi s'explique la marche des cultures faites au contact de l'air. Le clostridium, placé dans un liquide qui renferme de l'oxygène, ne peut pas se développer; mais, si une espèce aérobie absorbe ce gaz, il se multiplie à son tour et, pour mieux assurer sa prolifération, il s'enchevêtre avec elle, de façon à éviter tout contact avec l'oxygène. La présence d'une trace d'azote combiné favorise la mise en train de la fermentation, en permettant l'absorption rapide de l'oxygène par les espèces aérobies. Les débuts de la culture en milieu aéré sont toujours lents; mais, lorsque ce stade est franchi, la fermentation marche régulièrement, parce que l'acide carbonique dégagé empêche la pénétration de l'air.

Le même mécanisme rend difficile l'accès de l'azote gazeux, et comme c'est lui qui entretient la vie du clostridium dans les milieux dépourvus d'azote combiné, on accélère le développement des cultures en y faisant barboter un courant d'azote pur. Les quantités d'azote fixé atteignent ainsi des chiffres élevés, surtout si on introduit de grandes quantités de glucose dans les milieux de culture.

Le tableau suivant résume les résultats obtenus par M. Winogradsky avec des cultures pures de clostridium traversées par des courants d'azote pur; les vases, dont le fond avait 20 centimètres de diamètre, renfermaient chacun 500 centimètres cubes de la solution minérale.

	Glucose.	Azote fixé.	Sucre consommé.	AZOTE FIXÉ	
				Sucre consommé.	
I. . . .	20 gr.	28 ^{mgr} ,87	20 gr.	$\frac{28,87}{20.000} =$	$\frac{1,4}{1.000}$
II. . . .	20 —	24 ,68	20 —	$\frac{24,68}{20.000} =$	$\frac{1,2}{1.000}$

Si l'on considère les chiffres de glucose consommé, on voit nettement que c'est la désagrégation de ce composé qui fournit l'énergie nécessaire au travail d'organisation que le clostridium accomplit en partant de l'azote gazeux. Les résultats les plus favorables montrent qu'il faut 1000 parties de glucose pour fixer

1,5 partie d'azote dans le protoplasme du microbe, en cultures anaérobies ; 1,5 à 1,8 dans les cultures aérées. La disproportion de ces deux termes s'explique, si l'on veut bien considérer que la désagrégation de la molécule de sucre n'est que partielle : les résidus de la fermentation, parmi lesquels l'acide butyrique est le plus important, renferment encore une fraction assez grande de l'énergie du glucose.

Quoi qu'il en soit, après le passage du clostridium, le liquide de culture, primitivement impropre au développement de toutes les autres espèces microbiennes que l'on rencontre ordinairement dans le sol, se laisse peupler par des végétations abondantes, lorsqu'on l'expose librement à l'air. D'abord, ce sont des moisissures et des bactéries qui apparaissent, puis les algues se montrent à leur tour si on le place à la lumière. A partir de ce moment, la vie s'y développe de plus en plus activement, à la faveur de la fixation du carbone de l'air par les végétaux pourvus de chlorophylle.

On le voit, le travail de M. Winogradsky est riche en observations instructives. Pour le moment, nous ne devons retenir que cette conclusion : c'est que les microbes fixateurs d'azote gazeux consomment des quantités relativement considérables de composés endothermiques.

De son côté, M. Kossowitch mettait en relief les mêmes faits dans ses recherches sur la fixation de l'azote gazeux par les algues. MM. Schloësing fils et Laurent n'avaient pas fait la part des bactéries et des algues dans leurs résultats ; leurs chiffres englobent peut-être une série de transformations qui se résument dans les deux hypothèses qu'ils ont formulées. Si l'énergie mise en jeu par la fonction chlorophyllienne, disent-ils, est utilisée par les algues, celles-ci seront capables de fixer de l'azote atmosphérique même en culture pure ; si cette énergie est au contraire accaparée par les bactéries, ce sont celles-ci qui font la synthèse des matières azotées, lesquelles servent ensuite au développement des algues.

M. Kossowitch a examiné ces deux hypothèses. Mais il n'est pas facile d'obtenir de cultures pures d'algues microscopiques : ces végétaux vivent associés ; ils enchevêtrent leurs filaments ou mêlent intimement leurs cellules, de sorte que le travail de séparation est long et pénible. M. Kossowitch a réussi néanmoins à obtenir une espèce pure (*Chorella vulgaris*). Il a pu vérifier ainsi que les algues ne se déve-

loppent pas en l'absence des nitrates, même lorsqu'on leur donne du sucre.

Dans aucun cas les cultures n'ont fixé d'azote gazeux dans les milieux additionnés ou non de sucres, de sorte que ce sont bien les microbes qui interviennent encore ici, et c'est la deuxième hypothèse énoncée plus haut qui se vérifie..

Les cultures d'algues associées à des bactéries fixent de l'azote atmosphérique ; mais les gains d'azote sont bien plus élevés lorsqu'on additionne les milieux de sucre.

M. Kossowitch s'est servi dans ses expériences de vases coniques dont le fond plat était recouvert d'une couche de sable imbibé d'une solution nutritive renfermant par litre :

Phosphate bipotassique	0 ^{gr} ,25
— tripotassique	0 ,25
Sulfate de magnésium	0 ,37
Chlorure de sodium	0 ,2
Phosphate de fer	} traces
Sulfate de calcium	

Cette solution, additionnée de sucre et de nitrate, donne un développement abondant d'algues. Voici les résultats comparés obtenus avec des cultures additionnées ou non de sucre, dans lesquelles les algues sont associées aux bactéries.

<i>Espèces prédominantes.</i>	Sans sucre.	Avec sucre.
1. <i>Cystococcus phormidium</i> , bactéries du sol, mucédinées	7,1	9,5
2. <i>Cystococcus</i> et bactéries	3,1	8,1
3. <i>Stichococcus</i> et bactéries	2,3	2,7
4. <i>Nostoc scenedesmus</i> , bactéries du sol	?	19,1
5. <i>Nostoc</i> , bactéries	8,8	25,4

Si l'on met en regard les chiffres de ces deux colonnes, on voit que le sucre a favorisé dans une large mesure la fixation de l'azote gazeux sur les milieux de culture. Il est bien évident qu'il joue ici le même rôle que dans les expériences de Winogradsky, et si l'on veut interpréter le mécanisme de la fixation de l'azote dans les cultures non additionnées de sucre, on est conduit à admettre que les bactéries utilisent l'azote atmosphérique grâce aux sucres que les cellules mortes ou vivantes des algues laissent diffuser dans le milieu ambiant.

L'enrichissement des milieux de culture, proportionnellement au sucre consommé, est beaucoup plus grand dans les expériences de Kossowitch que dans celle de Winogradsky ; M. Kossowitch a constaté que les bactéries associées aux algues ont fixé 1 partie d'azote pour 200 de sucre consommé. La raison de cette différence se trouve dans le mode de désagrégation du sucre : pendant que le clostridium dégage beaucoup d'acide butyrique, les bactéries actives du sol doivent brûler le sucre et le transformer en acide carbonique et en eau, car M. Kossowitch ne parle pas de produits de fermentation. Pour une molécule consommée il y a donc plus d'énergie disponible ici que là, et partant plus d'azote fixé pour une même quantité de sucre décomposé.

Une autre conclusion de ce travail, c'est qu'il y a d'autres bactéries dans le sol, en dehors du clostridium Pasteurianum, capables de fixer l'azote atmosphérique sur leur propre substance. On ne peut pas admettre, en effet, que dans une mince couche de sable, bien aérée, traversée en partie par un courant d'oxygène lent résultant de la décomposition de l'acide carbonique par la chlorophylle des algues, le clostridium puisse prospérer ; ces résultats sont bien dus à des microbes aérobies, capables de se développer dans un milieu renfermant une certaine quantité d'azote initial et de l'enrichir en azote combiné si on leur fournit du sucre. Nous retrouvons là les conditions qui ont été réalisées à peu près par M. Berthelot dans un certain nombre de ses expériences.

Si on examine maintenant, à la lumière de ces résultats, la question de la symbiose des légumineuses avec les microbes des nodosités, on voit combien l'interprétation formulée a priori par M. Duclaux doit être exacte. Si l'on n'a pas jusqu'ici obtenu de fixation d'azote dans les milieux artificiels où on cultivait ce microbe, cela tient sans doute à ce qu'on a négligé une ou plusieurs des conditions qui sont réalisées dans la plante.

La bactérie des légumineuses trouve des matières hydrocarbonées dans les tubercules radicaux de l'amidon et autres ; elle y trouve aussi des matières azotées qu'elle consomme probablement, car, si elle avait été capable de proliférer dans un milieu dépourvu d'azote combiné, M. Winogradsky l'aurait rencontrée dans ses cultures. Cela n'étant pas, il est probable que, par ses exigences, ce microbe se rapproche de ceux qui se développaient en présence des algues dans les expériences de Kossowitch, des bacilles aérobies *g* et *h*, trouvés également par

Winogradsky, qui fixe de l'azote libre, à condition qu'on leur fournisse, au début, une petite quantité d'azote combiné et une grande quantité de glucose.

Enfin, dans les racines, les microbes des légumineuses sont abondamment pourvus d'oxygène; ce gaz leur vient de la sève et de l'atmosphère du sol, à travers les parois des nodosités, dont les formes striées, allongées, digitées, sont probablement en relation avec ce besoin d'oxygène.

Voilà donc un certain nombre de conditions importantes qu'il faudra réaliser si l'on veut mettre en évidence le pouvoir fixateur d'azote libre de ces microbes. Il reste maintenant à rechercher la nature des composés qu'on peut leur offrir; on ne peut savoir au juste quels sont ceux qu'ils consomment sur la plante, mais, comme matière hydrocarbonée, on peut se contenter de saccharose, et, comme matière azotée, on ne s'éloignera pas trop de celle que le microbe préfère en lui fournissant de la légumine.

M. Mazé, qui a élucidé cette question, a préparé ses milieux de culture de la façon suivante :

On porte à 100° un litre d'eau renfermant 150 grammes de haricots entiers; on maintient pendant quelque temps la température de 100°, en évitant d'aller jusqu'à la rupture des téguments des graines, de façon à obtenir une décoction tout à fait limpide. Le milieu ainsi obtenu renferme 0^{sr},0005 d'azote organique par litre; on l'additionne d'une quantité de saccharose qui ne doit pas être inférieure à 2 p. 100.

Un courant d'air débarrassé des composés azotés de l'atmosphère circule dans les récipients de culture pendant toute la durée de l'expérience, et, pour mieux assurer l'aération des milieux, on les a disposés en couche mince au fond de grands ballons plats.

Le tableau suivant résume les résultats obtenus dans plusieurs séries d'expériences, faites soit avec des milieux solides, soit avec des milieux liquides.

	Sucre initial.	Azote initial.	Sucre consommé.	Azote final.	Azote gagné.
1.	3.075 mgr.	62 ^{mgr} , 1	»	102 ^{mgr} , 9	40 ^{mgr} , 8
2.	3.504 ^{mgr} , 7	70, 7	»	118, 2	47, 5
3.	2.600 mgr.	22, 4	2.600 mgr.	48, 5	23, 4
4.	2.000 —	11, 6	1.209 —	23, 7	12, 1
5.	2.250 —	9, 8	1.196 —	22, 6	12, 8
6.	2.500 —	9, 8	1.379 ^{mgr} , 4	24, 8	15 »

Ces résultats, conformes aux prévisions, montrent que la symbiose des légumineuses se réduit en somme à un échange d'éléments nutritifs entre la plante et son hôte : la plante fournit les hydrates de carbone que la bactérie utilise pour ses propres besoins ; celle-ci lui restitue, en retour, une matière azotée directement assimilable. La bactérie se montre capable de faire entrer l'azote gazeux dans une combinaison organique, dans les milieux où on la cultive, à condition de lui fournir tout ce qui est nécessaire pour produire ce travail : une matière azotée, une matière hydrocarbonée et de l'oxygène.

Dans les conditions les plus favorables, les cultures ont fixé une partie d'azote libre pour 100 grammes de sucre consommé, et même un peu plus ; ces chiffres satisfont aux exigences de la nutrition azotée des légumineuses dans un sol pauvre en azote, lorsque les plantes portent des tubercules radicaux. On ne peut trouver dans les légumineuses un point de comparaison pour justifier cette supposition ; mais, si on prend l'exemple d'une betterave à sucre, on peut constater que l'analyse accuse une quantité de sucre de réserve 100 fois plus grande que la quantité d'azote total accumulée dans la plante aux dépens des engrais azotés du sol. Ceci signifie que la betterave pourrait élaborer ses principes azotés aux dépens de l'azote libre, si une cause quelconque utilisait dans ce but l'énergie emmagasinée sous forme de sucre, à raison de 100 parties de sucre pour 1 partie d'azote gazeux transformée en matière protéique. Puisque la fonction chlorophyllienne est si active dans une betterave à sucre, on peut admettre aussi que les légumineuses sont capables d'élaborer assez d'hydrates de carbone solubles pour subvenir aux besoins des bactéries qui lui rendraient 1 partie d'azote combiné comme rançon de 100 parties de sucre. De ces considérations on peut conclure que l'activité des microbes des légumineuses, au point de vue de la fixation de l'azote gazeux, s'est montrée aussi grande dans les cultures artificielles que sur les plantes.

En poursuivant l'étude des conditions de la fixation de l'azote atmosphérique dans les cultures artificielles, on a pu constater que la richesse en azote initial ne peut pas tomber au-dessous de 6 milligrammes pour 50 centimètres cubes de bouillon, ce qui fait à peu près 1 p. 10.000 d'azote combiné. Un excès d'azote est plutôt nuisible ; les gains sont déjà moins élevés à partir de 1 p. 5 d'azote initial pour 2.500 de solution nutritive.

Le saccharose ne peut tomber au-dessous de 2 p. 100 ni monter au-dessus de 5 à 6 p. 100.

L'étude des conditions extrêmes a permis de faire un rapprochement intéressant : lorsqu'il ne se produit pas de gain d'azote, le bouillon de culture demeure limpide ; les microbes forment une membrane assez consistante au fond des récipients de culture ; le liquide qui surnage est à peu près dépourvu de viscosité. Les cultures effectuées dans des milieux convenables donnent un développement si abondant de matière mucilagineuse, que le liquide en est complètement gélatinisé.

La masse visqueuse qui se forme ainsi ne s'écoule pas lorsqu'on incline les vases qui la renferment.

Cette remarque a été le point de départ d'une série d'observations qui ont établi que l'azote fixé contribue à l'élaboration de cette substance. Il y a plus : dans les milieux dépourvus d'azote combiné, le bacille des légumineuses ne se développe pas ; la substance dont il fait la synthèse en partant de l'azote libre est donc impropre à son développement. D'ailleurs l'existence d'une limite minimum d'azote combiné permettant au bacille de fixer l'azote gazeux est une autre preuve que cette substance ne constitue pas un aliment pour le microorganisme qui la fabrique.

On ne la rencontre jamais dans les nodosités, si ce n'est tout à fait au début de leur formation : à ce moment, elle apparaît sous la forme de traînées filamenteuses qui sillonnent les cellules parenchymateuses envahies par le bacille. Celui-ci y reste englobé pendant un certain temps ; il possède alors une forme bacillaire parfaite, tandis que l'on sait que sa forme caractéristique dans les tubercules est la forme renflée ou ramifiée ; celle-ci apparaît plus tard, lorsque les faisceaux vasculaires sont développés dans les jeunes nodosités. A ce moment, la matière mucilagineuse est dissoute et entraînée par la sève dans toutes les régions de la plante, pour être définitivement assimilée.

Si nous jetons maintenant un regard sur ce que nous avons exposé dans ce chapitre, nous pouvons le résumer en quelques mots. La fixation de l'azote libre dans le sol ou dans les plantes est pour ainsi dire exclusivement le résultat des actions microbiennes ; pour faciliter l'accomplissement de ce travail, les microorganismes se rendent parfois étroitement solidaires des végétaux supérieurs ; mais, qu'ils se multiplient en liberté dans le sol, qu'ils recherchent le voisinage des algues vertes ou

qu'ils se développent dans les tissus des racines, partout ils détruisent pour construire ; ils brûlent plus ou moins complètement les matières ternaires et utilisent l'énergie dégagée pour faire la synthèse des matières quaternaires.

De là on peut déduire que les espèces fixatrices d'azote gazeux qui se développent à l'état de liberté dans le sol agiront seulement dans les terres riches en carbone organique ; leur rôle semble être de maintenir un certain état d'équilibre entre la teneur en carbone et en azote organique. Si le taux du carbone est très élevé par rapport à celui de l'azote, les microbes brûlent le carbone et fixent de l'azote ; si c'est l'inverse qui a lieu, les ferments de la matière azotée prédominent ; celle-ci est désagrégée peu à peu, et l'azote se retrouve en partie à l'état de nitrate, qui est entraîné par les eaux de drainage ; une autre partie se dégage à l'état gazeux.

Le sol des forêts semble être le siège du premier de ces deux processus : les feuilles mortes, en s'accumulant au pied des arbres, forment une épaisse couche d'humus où le carbone se trouve à un taux très élevé, comparé à celui de l'azote. Tout récemment, M. Henry a étudié les variations de l'azote dans ce milieu ; il l'a dosé d'abord dans les feuilles mortes, puis il a abandonné celles-ci à l'air, pendant plusieurs mois, dans des caisses en zinc dont le fond était recouvert d'une couche de calcaire ou de grès bigarré. Au bout d'un an, il a constaté que leur richesse en azote avait augmenté dans une proportion très sensible, ainsi que l'indiquent les chiffres suivants :

	AZOTE P. 100	
	Au début.	Au bout d'un an.
Feuilles de chêne sur calcaire	1,108	1,923
Feuilles de charme sur grès bigarré	1,947	2,246

M. Henry n'a pas démontré jusqu'ici que cette augmentation est due à des actions microbiennes, mais il pense cependant qu'elle doit leur être attribuée. Qu'il s'accomplisse là un processus vital ou chimique, le résultat n'en explique pas moins la fertilité pour ainsi dire indéfinie des sols forestiers. L'on comprendra surtout que les coupes effectuées périodiquement donnent des rendements à peu près constants, si l'on admet avec Franck que les essences forestières sont capables d'absor-

ber les composés organiques qui se rencontrent dans l'humus. La nitrification est très lente ou même nulle dans le sol des forêts ; il n'est donc pas surprenant que l'azote organique puisse servir à entretenir la végétation des essences forestières. Toutes les racines ne sont pas susceptibles de l'absorber ; les racines normales en sont incapables ; mais celles-ci peuvent contracter avec les mycéliums des champignons une sorte d'association symbiotique : elles présentent alors un aspect charnu tout particulier, qui permet de les reconnaître facilement. Cette modification se présente surtout chez les racines qui sillonnent la couche humifère ; si on examine ces racines au microscope, on voit que les cellules corticales sont intimement enserrées par un feutrage mycélien qui entoure la racine comme un manchon ; aussi leur a-t-on donné le nom de mycorhizes. Le mycélium saprophyte absorbe la matière humique, l'élabore et cède ensuite une partie de son azote organique à la racine qui probablement lui donne quelque chose en retour. Voilà l'interprétation que Franck a donnée de ces associations, mais elle est tout hypothétique ; elle a cependant l'avantage d'expliquer le mécanisme de la nutrition azotée des essences forestières et de montrer comment la couche humifère, qui ne nitrifie pas, peut servir à l'alimentation des arbres et leur fournir même, d'après les expériences d'Henry, l'azote supplémentaire que les coupes enlèvent au sol.

*
* *

Le mécanisme de la fixation de l'azote gazeux était à peine connu, que l'on a pensé immédiatement à favoriser le travail des bonnes espèces microbiennes. L'azote est en effet l'un des éléments fertilisants dont l'emploi est indispensable pour l'agriculture, mais il a l'inconvénient très fâcheux d'être très cher, lorsqu'on l'achète dans le commerce : tandis que le kilogramme d'acide phosphorique se paye 30 centimes, le kilogramme d'azote coûte au moins cinq fois plus. Pour se le procurer dans de meilleures conditions, les agronomes se sont tournés vers les légumineuses. De tout temps, ces plantes ont été cultivées sur une grande échelle, non seulement à cause du rôle considérable qu'elles jouent dans l'alimentation des animaux domestiques, mais aussi parce qu'elles étaient regardées comme des plantes améliorantes. Les travaux d'Helliegal et

Wilfarth, tout en donnant l'explication de cette précieuse propriété, ont laissé entrevoir que l'intelligente intervention des cultivateurs pourrait peut-être la favoriser et la développer encore davantage. C'est M. Salfeld qui a tenté le premier ce genre d'essais. Dans une terre tourbeuse récemment desséchée il a cultivé des pois et un mélange de féveroles et de vesces, répartis sur trois parcelles préparées par des amendements préalables. La première a reçu en outre 4.000 kilogrammes à l'hectare d'une bonne terre favorable à la culture des légumineuses ; la deuxième une sorte de terreau très fertile provenant d'une digue ; la troisième n'a reçu aucun supplément.

Voici les excédents de récolte obtenus dans les deux premières parcelles, les rendements de la troisième étant pris comme terme de comparaison :

		Grains.		Paille.
Parcelle n° 1.	Pois . . .	67	p. 100	87,7 p. 100
Parcelle n° 2.	Féveroles (récolte a	90,3	—	117,0 —
		et vesces (récolte b	208	—

Ces résultats ne peuvent s'expliquer que par l'intervention de l'azote atmosphérique : la terre tourbeuse, cultivée pour la première fois, ne renfermait pas les organismes spécifiques qui envahissent les légumineuses ; les deux premières parcelles, qui avaient reçu la bonne terre et le terreau, en ont été abondamment pourvues, et c'est à leur présence que sont dus les résultats obtenus.

MM. Nobbe et Hiltner ont simplifié ce mode d'inoculation du sol : au lieu de répandre de la terre convenablement choisie sur les cultures de légumineuses, ils conseillent d'employer des cultures du microbe spécifique. Pour les utiliser pures, il suffit de les délayer dans de l'eau ; la délayure peut servir à enrober les graines ou à arroser de la terre bien divisée, que l'on répand ensuite sur les champs ensemencés. Ces cultures sont faites avec des microbes retirés des nodosités ; on les désigne sous le nom de « nitragine », et on ne doit les utiliser que pour les espèces de légumineuses sur lesquelles elles ont été prises.

Pour préconiser l'emploi de ces cultures, M. Nobbe s'est basé sur l'existence de races de bacilles : le microbe, en passant sur une légumineuse donnée, s'adapte à cette espèce et devient par là même incapable d'envahir les autres ou tout au moins de lui être utile lorsque par hasard il parvient à s'y implanter,

Il y a bien dans le sol une race neutre capable de se fixer indifféremment sur un grand nombre d'espèces végétales, mais celle-ci disparaît peu à peu dans les terres qui n'ont pas été cultivées depuis longtemps en légumineuses ; elle manque également dans celles qui n'en ont jamais porté. Il est donc indispensable d'employer la nitragine, si l'on veut tirer des cultures de légumineuses tous les avantages qu'elles comportent, en prenant la précaution de fournir à chaque espèce végétale la race qui lui convient.

Les idées de Nobbe, mises en pratique, n'ont pas donné les résultats qu'on en attendait ; à part les expériences de Salfeld, toutes celles qui ont été tentées ont donné des excédents de rendements négligeables ou nuls.

Il est permis alors de se demander si les hypothèses de Nobbe sont justifiées également en théorie. Tout d'abord, il est loin d'être démontré qu'une race microbienne sortie d'un pois, par exemple, produise un effet plutôt nuisible sur la luzerne ou le trèfle. L'expérience prouve au contraire que tous les microbes retirés des plantes calcicoles poussent très bien sur un même milieu artificiel, et fixent l'azote gazeux avec une égale activité ; mais, si on traite de la même façon les microbes isolés sur de l'ajonc, du lupin ou du genêt, plantes calcifuges au premier chef, on obtient des cultures très pauvres, qui se développent très péniblement sur les milieux dont j'ai donné le mode de préparation page 68. Par contre, ces derniers supportent facilement une légère acidité des milieux, tandis que les autres se refusent net à y pousser ; on ne parvient à les adapter aux milieux acides qu'en augmentant insensiblement les doses d'acidité et après une longue série de passages.

De plus, les cultures faites avec les microbes retirés du genêt et de l'ajonc, inoculées à des lupins, produisent des nodosités aussi facilement que celles qui ont été obtenues avec les microbes des lupins. Est-ce à dire qu'il y a une plus grande ressemblance physiologique entre le lupin et l'ajonc qu'entre le lupin et le pois ? Évidemment on ne peut pas l'affirmer : ce qu'il y a, c'est que les premiers poussent en terrains acides, le pois en terrain calcaire. Enfin, le lupin ensemencé dans des sols siliceux et argileux porte dès la première année de nombreuses nodosités radicales ; cela se voit annuellement dans certaines régions de la Bretagne, où le lupin bleu est cultivé à titre de curiosité sous le nom de « café des champs ».

Il semble donc que les microbes des légumineuses s'adaptent, non pas à une espèce végétale déterminée, mais à un sol de nature donnée. Ceux qui vivent dans un sol calcaire pénètrent dans les racines, malgré la réaction acide de leurs excréments, parce que les sels de chaux les neutralisent jusqu'à une certaine profondeur du tissu cortical ; mais, si on les transporte dans un milieu neutre ou légèrement acide, comme les sols siliceux, l'acidité des excréments n'étant plus neutralisée, les microbes ne peuvent pas parvenir à envahir les racines. Il faut donc employer des bactéries adaptées à une certaine dose d'acidité pour réussir à obtenir des tubercules sur des racines de lupin poussant en terrain neutre ou acide.

M. Mazé a réussi de cette façon à inoculer des lupins avec des microbes isolés dans un sol calcaire où le lupin ne peut pas prospérer. Voilà les faits qui militent contre les hypothèses de Nobbe, hypothèses qui ne reposent sur aucune donnée expérimentale bien démontrée.

D'une manière générale, on peut dire, d'ailleurs, autant que nos connaissances en bactériologie le permettent, que l'incorporation de cultures pures de microbes au sol arable ne constituera jamais une pratique avantageuse.

Les germes de toutes les espèces microbiennes sont si répandues, qu'aucune parcelle de la surface terrestre ne leur est inaccessible : le vent et les eaux les transportent partout ; si une espèce paraît absente, dans un terrain donné, c'est parce qu'elle ne peut pas s'y développer. Les ferments de la nitrification n'existent pas dans les sols tourbeux, parce que ce milieu est acide et dépourvu d'oxygène, et pourtant les eaux souterraines en charrient constamment les germes.

On pourrait introduire dans des terres semblables des quantités considérables de ferments nitriques, sans y provoquer la formation d'un atome d'acide nitrique.

Par contre, ils se développeraient bien dans un sol alcalin, bien aéré, riche en composés ammoniacaux ; mais, dans ces conditions, les germes du sol pullulent d'eux-mêmes : par leur puissance de prolifération, ils proportionnent pour ainsi dire l'effort au travail à produire, de sorte qu'on n'a jamais à intervenir pour assurer les transformations qu'ils sont capables de produire.

Ce qui est vrai pour les ferments nitrifiants s'applique à une espèce microbienne quelconque. La bactérie des légumineuses est présente dans toutes les terres cultivées : si on l'introduit

dans un sol quelconque, elle s'ajoute aux formes qui y existent déjà, mais on ne modifie pas pour cela la flore microbienne de la terre ; le nombre que l'on apporte ainsi, comparé à la quantité innombrable des germes préexistants, revient, pour employer une comparaison, à ajouter un tombereau de terre à un champ d'un hectare pour l'améliorer.

Si, au contraire, la bactérie des légumineuses est absente, les germes qu'on pourrait incorporer à la terre, en y répandant une délayure de cultures artificielles, subiraient le même sort que ceux qui sont apportés par le vent ; car si ceux-ci ne peuvent pas pulluler, c'est parce que les conditions physiques et chimiques du sol empêchent leur multiplication.

On ne peut pas les acclimater là où elles ne se reproduisent qu'en modifiant les propriétés et la composition de la terre. Les labours, les amendements, les drainages, les fumures permettent d'obtenir ce résultat. Salfeld avait assuré le succès des inoculations qu'il avait entreprises par les amendements, les fumures et les travaux d'assainissement qu'il avait préalablement effectués,

Les mêmes remarques s'appliquent au microbe de « l'alinite » que M. Caron a introduit dans le commerce, grâce à la propriété qu'il possède de rendre plus assimilables les matières azotées du sol. M. Caron, frappé de la fertilité des terres qui ont porté des légumineuses, a pensé que cette fertilité est due à la nature de la flore microbienne qui les peuple ; il a fait des recherches comparatives sur les flores de différents sols et il a été conduit à cette remarque intéressante, que les luzernières renferment en abondance un microbe spécial, qui a reçu le nom de « microbe d'Ellenbach ». Introduit dans un sol ensemencé en avoine, sans avoir reçu de fumure, il donne comme rendement un excédent de 40 p. 100 sur la récolte des parcelles témoins. M. Caron explique ce résultat par la propriété que possède ce microbe de désagréger rapidement les matières azotées du sol et de les rendre ainsi plus assimilables. M. Stoklasa en a fait une étude physiologique détaillée ; il a reconnu surtout qu'il est capable de fixer l'azote gazeux en consommant les hydrates de carbone du sol, en particulier les pentoses. Ce microbe doit donc être rangé avant tout parmi les microbes fixateurs d'azote.

Voilà les efforts qui ont été faits dans ces dernières années par les agronomes pour diriger et activer les processus biolo-

giques susceptibles d'enrichir la terre en azote combiné. Étant donnée l'importance de la question, les chimistes ne sont pas restés indifférents au mouvement. On sait en effet qu'un certain nombre de réactions permettent d'obtenir des composés azotés sous forme d'azotures ou de cyanures, mais ces procédés sont loin d'être pratiques; on ne peut pas adresser le même reproche au procédé qui consiste à unir les éléments de l'atmosphère sous l'influence de l'étincelle électrique. Tant qu'on ne disposera que de la vapeur comme force motrice, les nitrates obtenus par cette voie seront d'un prix inabordable pour l'agriculture. Mais les chutes d'eau constituent une source de force qui permettra peut-être de produire bientôt les nitrates à un prix aussi bas que ceux qui nous proviennent des nitrrières naturelles.

Formation des composés quaternaires dans les végétaux supérieurs.

Les matières azotées élaborées par les microbes fixateurs d'azote sont absorbées par les légumineuses sous une forme déjà complexe; mais celles qui s'accumulent dans la terre doivent être transformées préalablement en ammoniacque et en nitrates, avant de contribuer à l'alimentation des végétaux supérieurs. A part quelques rares exceptions, ceux-ci sont réduits à fabriquer leurs matières protéiques en partant de l'azote minéral. Quelles sont les phases successives par lesquelles passent l'ammoniacque et les nitrates, avant d'être transformés en matière albuminoïde? A cette question la science ne fait encore qu'une réponse très imparfaite, pour ne pas dire qu'elle ignore tout; on en est encore à discuter, non seulement sur le mode de formation du premier stade de ce processus, mais aussi sur la nature du corps qui le représente.

On sait cependant que les nitrates sont réduits dans les feuilles principalement et dans d'autres organes, même dans les racines, d'après Franck; on suppose qu'ils sont d'abord transformés en ammoniacque, mais au delà on ne sait rien des modifications qu'ils subissent. Schimper a émis l'hypothèse que l'oxygène des nitrates se dégage à l'état gazeux comme l'oxygène de l'acide carbonique réduit sous l'influence des radiations solaires; il y voit en outre la raison de l'inégalité des deux

termes du rapport $\frac{CO^2}{O}$, exprimant la résultante de la fonction chlorophyllienne.

L'ammoniaque est assimilée en nature : qu'elle parvienne à la plante par les racines, sous forme de sels ammoniacaux, ou par les feuilles, à l'état de gaz, elle n'est jamais oxydée et transformée en acide nitrique ; c'est l'opinion de Molisch, de Franck, de Schultze, de Kreisler. MM. Berthelot et André avaient conclu à l'oxydation de l'ammoniaque dans certaines espèces végétales, comme les amarantes, à cause des grandes réserves de nitrates qu'elles accumulent dans leurs tissus, pendant la période de végétation. Les conclusions de MM. Berthelot et André ont été appuyées par MM. Heckel, Lundström.

La réduction des nitrates dans les feuilles est favorisée par la lumière ; c'est M. Pagnoul, le premier, qui a fait cette observation. Il a constaté que les nitrates disparaissent au soleil dans les feuilles de betteraves, tandis qu'ils s'y accumulent au contraire à l'obscurité. Il en conclut que « la lumière paraît avoir à remplir dans la décomposition des nitrates et dans la formation des principes azotés et des corps organiques un rôle analogue à celui qu'elle joue dans la décomposition de l'acide carbonique pour la formation des corps hydrocarbonés ».

Il est certain que toutes les synthèses qui ont leur siège dans la plante sont sous la dépendance étroite de la fonction chlorophyllienne, puisque c'est elle qui procure à la plante presque tout son carbone organique ; mais il ne s'ensuit pas que la synthèse des matières albuminoïdes exige l'intervention des radiations solaires. L'ammoniaque ou les azotates additionnés d'aliments hydrocarbonés et de composés minéraux constituent des solutions nutritives favorables à la multiplication de la plupart des végétaux inférieurs dépourvus de chlorophylle ; il y a, dans ces conditions, élaboration de matières albuminoïdes sans intervention de la lumière.

M. Müntz a montré tout récemment que l'assimilation de l'ammoniaque dans les feuilles est également beaucoup plus rapide à la lumière qu'à l'obscurité, mais elle s'effectue cependant à l'abri de la lumière.

M. Müntz opère de la façon suivante : il expose des feuilles à une atmosphère ammoniacale pendant quelques heures ; puis

il en place un premier lot à la lumière, un deuxième à l'obscurité.

Le tableau suivant renferme quelques-uns des chiffres qu'il a obtenus.

I. — FEUILLES DE RUMEX ACETOSELLA

	Ammoniaque dans 100 gr. de feuilles.
Préexistant dans les feuilles.	32 ^{mgr} ,44
Après 16 heures dans l'atmosphère ammoniacale . .	144 ,06
Après 16 heures dans l'atmosphère ammoniacale, suivies de 8 heures de la lumière diffuse	92 ,11
Après 16 heures dans l'atmosphère ammoniacale, suivies de 8 heures à l'obscurité	108 ,82

II. — FEUILLES D'ÉRABLE SYCOMORE

	Ammoniaque dans 100 gr. de feuilles.
Préexistant dans les feuilles.	4 ^{mgr} ,96
Après 15 heures dans l'atmosphère ammoniacale .	41 ,46
Après 15 heures dans l'atmosphère ammoniacale, suivies de 8 heures à la lumière.	17 ,62
Après 15 heures dans l'atmosphère ammoniacale, suivies de 8 heures à l'obscurité	26 ,67

Il ressort clairement de ces chiffres « que l'ammoniaque absorbée par les feuilles disparaît rapidement à la lumière, surtout lorsque celle-ci est intense. Par les temps sombres, cette disparition est beaucoup plus lente. Dans l'obscurité elle se produit encore, mais avec une énergie bien moindre. Ce phénomène paraît donc lié dans une très faible mesure à la combustion respiratoire. Mais il est bien plus intimement lié à l'assimilation, puisque c'est à la lumière qu'il s'exerce avec le plus d'énergie. L'absorption de l'ammoniaque atmosphérique se produit à tous les instants de la vie de la plante et n'est point influencée par l'action des radiations solaires. Mais l'assimilation de l'ammoniaque ainsi absorbée s'exerce avec bien plus d'intensité le jour que la nuit ».

M. Muntz a montré en outre que l'ammoniaque retrouvée

après un séjour de huit heures à l'obscurité ne provient pas des matières protéiques décomposées dans la feuille.

Les recherches de Kinoshita sur des plantules d'orge et de maïs ont établi également que l'ammoniaque est assimilée à l'obscurité. Il cultive ces deux plantes à l'abri de la lumière, dans du sable humide, puis, quand les tiges d'orge ont atteint 20 centimètres, les tiges de maïs 40, il les arrose avec des solutions à 1 p. 1000 de chlorure d'ammonium ou de nitrate de sodium à 1 p. 1000 également; des témoins reçoivent seulement de l'eau pure. Huit jours après l'arrosage, on analyse les végétaux : les plantes qui ont reçu de l'ammoniaque sont très riches en asparagine, mais ne contiennent pas de composés ammoniacaux; les plantes alimentées de nitrates contiennent beaucoup moins d'asparagine, tout en étant aussi riches que les premières en azote total. Les témoins, plus pauvres en azote total, ne renferment que très peu d'asparagine, ainsi que le montrent les chiffres suivants :

	ORGE ARROSÉE AVEC		
	de l'eau pure	Solution de AzH^4Cl	Solution de AzO^3Na
Azote total p. 100	3,512	4,436	4,425
Azote des matières albuminoïdes.	2,704	2,126	2,066
Azote de l'asparagine.	0,656	2,027	0,977

Avec les plants de maïs les résultats sont loin d'être aussi nets. M. Kinoshita conclut de ces chiffres que l'ammoniaque est transformée en asparagine à l'obscurité et que les nitrates atteignent encore une organisation plus avancée.

M. Hansteen a montré aussi que la lentille d'eau est capable de proliférer à l'obscurité et par conséquent de former des matières albuminoïdes, lorsqu'on la cultive sur des solutions d'asparagine ou d'urée, et de sucres.

Les résultats obtenus récemment par MM. E. Laurent, Marchal et Carpiaux contredisent sur ce point ceux de Kinoshita et Hansteen. Le but que s'est proposé M. E. Laurent, c'est de préciser le rôle de la lumière sur l'assimilation des nitrates et de l'ammoniaque par les végétaux supérieurs, et d'indiquer en même temps quelles sont, dans le spectre solaire, les radiations les plus actives vis-à-vis de la marche de ce phénomène. M. Laurent s'est servi dans ses expériences de tiges de pommes de terre coupées, vertes ou étiolées, et de feuilles

détachées dont le pétiole plongeait dans des solutions nourricières.

Il détermine sur un échantillon l'azote total et ammoniacal avant l'expérience; puis il place un premier lot dans une solution à 2 p. 1000 de sulfate d'ammonium, un deuxième dans une solution à 2 p. 1000 de nitrate de potassium : l'une et l'autre solutions renfermaient, en outre, du sulfate de potassium, de magnésium et de calcium à 0,5 p. 1000, et enfin 4 p. 100 de saccharose; un troisième lot était placé dans l'eau. Ces lots sont exposés à la lumière ou placés à l'obscurité pendant quelques jours; à la fin de l'expérience, on détermine de nouveau l'azote total, l'azote ammoniacal, et, par différence, l'azote organique.

Parmi les résultats obtenus par MM. Laurent, Marchal et Carpiaux, quelques-uns seulement sont consignés dans les tableaux suivants.

I. *Tiges de pommes de terre.* — Des lots de 100 grammes de tiges fraîches, placés pendant huit jours et demi à l'obscurité dans les conditions énoncées, donnent :

	Matières sèches p. 100.	Azote organique et amm.	Azote ammo- niacal.	Azote organique.	Azote nitrique
1. Échantillon.	5,76	264 ^{mgr} ,5	13 ^{mgr} ,1	251 ^{mgr} ,4	10 ^{mgr} ,3
2. Tiges placées dans l'eau	5,73	261 ,9	10 ,1	251 ,8	»
3. Tiges solut. amm.	6,07	289 ,8	36 ,2	253 ,6	8 ,5
4. Tiges solut. nit. .	5,73	275 ,6	24 ,4	251 ,2	37

Il n'y a pas eu, comme on le voit, de transformation d'azote ammoniacal ou nitrique en azote organique : une petite quantité d'azote nitrique a passé à l'état d'azote ammoniacal dans la solution nitrique.

II. — Voici maintenant ce qui se passe à la lumière avec des tiges de pommes de terre développées à l'obscurité, mais préalablement verdies à la lumière :

	Matière sèche p. 100.	Azote org. et amm.	Azote amm.	Azote orga- nique.	Azote nitr.
1. Tiges verdies	5,7	292,4	30,2	262,2	1,6
2. Tiges placées dans l'eau .	6,5	292,4	8,8	283,6	1,8
3. Tiges solut. ammon . . .	7,5	422,8	68,5	354,3	»
4. Tiges solution nitrique . .	7;02	382,7	33,5	349,2	7,6

A la lumière, l'azote est donc assimilé à la fois à l'état d'azote nitrique et d'azote ammoniacal ; mais l'azote nitrique se transforme d'abord en azote ammoniacal dans les tissus de la plante.

Les expériences faites sur des tiges étiolées d'asperge, des feuilles d'orme panaché, des feuilles blanches et vertes d'*acer negundo* exposées à la lumière, ont conduit M. Laurent à formuler les conclusions suivantes.

A la lumière, les tiges d'asperge à peu près privées de chlorophylle assimilent l'azote nitrique et mieux encore l'azote ammoniacal. Les feuilles vertes assimilent l'azote nitrique mieux que l'azote ammoniacal, tandis que c'est le contraire qui a lieu pour les feuilles blanches.

A l'obscurité, les feuilles blanches d'*acer negundo* n'assimilent pas l'azote ammoniacal, et les feuilles vertes n'utilisent pas les nitrates pour élaborer des matières organiques azotées.

La nature des radiations qui interviennent dans l'assimilation de l'azote minéral a été déterminée par le procédé des écrans absorbants. Ceux-ci sont formés par des cloches à double paroi sous lesquelles on place des feuilles de betterave : le vide laissé entre les deux parois est rempli de solutions colorées, telles qu'une solution saturée de bichromate de potassium qui laisse passer la partie la moins réfrangible du spectre, une solution de sulfate de cuivre ammoniacale qui livre passage à la partie la plus réfrangible.

Des feuilles placées sous des écrans d'eau servent de témoins.

Trois lots de feuilles de betteraves, cueillies le matin à 8 heures, et renfermant par conséquent des nitrates, ont été abandonnés pendant sept jours :

N° 1. Sous un écran d'eau.

N° 2. Sous un écran d'eau formé par la solution de bichromate.

N° 3. Sous un écran d'eau formé par la solution de sulfate de cuivre à 2 p. 100.

Avant l'expérience, ces feuilles renfermaient 5,6 de nitrates pour 1000 de poids sec.

Après, pour 1000 de poids sec également :

N° 1	1,4
N° 2	4
N° 3	1,4

Les mêmes expériences, répétées avec des feuilles blanches et vertes d'acer negundo, dont les pétioles plongeaient dans l'eau ou dans une solution ammoniacale ou nitrique, ont donné des résultats analogues ; on avait ajouté un quatrième écran de sulfate de quinine, de façon à éliminer les rayons ultra-violet. Voici les conclusions que M. Laurent en tire.

« 1° Il n'y a pas d'assimilation de l'azote nitrique par les feuilles vertes de l'acer negundo sous les solutions de bichromate de potasse et de sulfate de quinine. Cette assimilation est très active sous la solution de sulfate de cuivre et sous l'eau. Ce sont donc les rayons ultra-violet qui interviennent dans cette assimilation.

« 2° Avec les feuilles blanches de la même espèce, il n'y a qu'une assimilation minime de l'azote ammoniacal, et peut-être elle est nulle sous les solutions de bichromate de potassium et de sulfate de quinine ; sous l'eau, elle est considérable. L'assimilation de l'ammoniaque est donc stimulée par les rayons ultra-violet. »

M. Godlewsky a poursuivi, en même temps que MM. Laurent, Marchal et Carpiaux, des recherches analogues ; mais, au lieu de faire usage d'organes détachés, il s'est servi de plantules de blé ; il s'est attaché à suivre les transformations des nitrates dans ces végétaux, en faisant usage de solutions additionnées ou non d'azotates. Il a de plus déterminé la teneur des plantes en substances protéiques, en matières azotées solubles et en nitrates.

Il a ainsi observé que les plantules de blé emmagasinent les nitrates dans leurs tissus, quelles que soient les conditions d'éclairement. Mais la transformation en matières protéiques ne peut se produire qu'à la lumière ; elle peut même s'effectuer dans une atmosphère privée d'acide carbonique, où, par conséquent, la fonction chlorophyllienne est supprimée.

L'élaboration des substances albuminoïdes et l'assimilation du carbone sont donc deux phénomènes tout à fait indépendants. C'est ce qui ressort également des expériences de M. Laurent, puisque l'assimilation des nitrates et de l'ammoniaque exige uniquement l'intervention des rayons ultra-violet ; c'est dire qu'elle s'effectue même lorsque toutes les autres radiations du spectre sont supprimées, y compris par conséquent celles qui sont efficaces dans l'assimilation chlorophyllienne.

On voit donc que les avis sont partagés sur les conditions dans lesquelles s'effectue l'assimilation de l'azote minéral. D'après MM. Müntz, Franck, Kinoskita, Hansteen, elle peut se faire à l'obscurité; mais ils admettent en même temps qu'elle est stimulée par l'action des radiations solaires qui, on le sait, exaltent toutes les fonctions de la plante.

M. Laurent et ses collaborateurs, M. Godlewsky n'ont jamais observé l'assimilation de l'azote minéral à l'obscurité; ils pensent avec M. Pagnoul que cette fonction se manifeste exclusivement à la lumière, sous l'influence des radiations ultra-violettes.

Cependant, M. Mazé a observé également à l'obscurité une assimilation assez sensible d'azote nitrique dans les expériences qui ont été rapportées page 40. Sous l'influence d'une nutrition hydrocarbonée copieuse, les cellules de la plante placées à l'obscurité sont capables d'élaborer leur substance protéique en partant de l'azote minéral, et en cela elles ressemblent à l'immense majorité des végétaux dépourvus de chlorophylle qui vivent dans les mêmes conditions. On pouvait même suivre très facilement, à l'aide des réactifs des nitrates, la disparition de ces composés dans les tiges étioilées, et on a constaté que leur assimilation se fait, non seulement dans les bourgeons embryonnaires qui se montrent à l'extrémité des tiges, mais encore dans toutes les régions où la croissance intercalaire n'est pas achevée, c'est-à-dire sur une longueur de 8 à 10 centimètres à partir du bourgeon terminal.

Ainsi, le mode de disparition de l'azote minéral dans les végétaux n'est pas encore élucidé d'une manière satisfaisante; et si l'on veut pénétrer plus avant dans le mécanisme de l'élaboration des matières azotées, on en est réduit tout à fait à des conjectures.

Nous avons vu que les nitrates sont transformés en ammoniaque avant de subir de modification plus avancée; mais, à partir de l'ammoniaque, on ignore quels sont les produits intermédiaires par lesquels passe l'azote minéral avant d'être incorporé à la molécule albuminoïde. On suppose cependant que l'asparagine constitue un des premiers termes de cette échelle de transformations. L'asparagine est connue depuis longtemps dans le monde végétal. Elle se rencontre surtout dans les graines en germination, où elle apparaît comme un

produit d'oxydation des albuminoïdes de réserve, correspondant à l'urée dans le règne animal ; mais dans la plante, l'asparagine disparaît bientôt, sous l'influence de la lumière, transformée de nouveau en matières protéiques. C'est là l'hypothèse de Boussingault.

Pfeffer et Borodin en ont émis une autre plus générale. L'asparagine est bien un produit de décomposition des matières albuminoïdes, mais elle se forme surtout lorsque les hydrates de carbone viennent à manquer. Elle peut donc apparaître à toutes les époques de la vie de la plante si, pour une cause quelconque, les hydrates de carbone deviennent rares. La plante est alors réduite à consommer ses albuminoïdes ; l'asparagine prend naissance sous l'influence de la combustion respiratoire. Ainsi, une plante placée pendant quelques jours à l'obscurité renferme toujours de l'asparagine.

Si les hydrates de carbone deviennent abondants, l'asparagine régénère les matières protéiques. Pendant la germination, l'asparagine se formerait aussi par suite du manque d'hydrates de carbone.

Schultze, se basant sur ce fait que la décomposition de la matière albuminoïde par le procédé de laboratoire employé par Rithausen donne plus de leucine ou de tyrosine que d'asparagine, a émis l'opinion que ces acides amidés peuvent servir, au même titre que l'asparagine, à la régénération des matières albuminoïdes. Si on les rencontre très rarement dans les graines en germination ou dans les bourgeons, c'est parce qu'ils sont plus facilement transformés que l'asparagine ; celle-ci s'accumule précisément à cause de sa résistance plus grande à ces modifications progressives.

Les métamorphoses des matières azotées pendant la germination ne semblent pas justifier cette manière de voir. Dans la germination du lupin, l'asparagine s'accumule dans des proportions telles, qu'elle atteint le quart du poids sec de la plantule, et c'est à ce moment précisément qu'il y a le moins de matière albuminoïde régénérée, ce qui n'aurait pas lieu si la leucine et la tyrosine, qui se forment d'après Schultze en plus grande quantité, étaient déjà transformées en matières protéiques.

Les chiffres suivants, dus à Schultze, montrent la progression de la décomposition des matières protéiques et de la for-

mation de l'asparagine dans des graines de lupin en germination.

Graines ayant germé pendant 4 jours.	Diminution des matières albuminoïdes calculée p. 100 de matières sèches des plantules.	Asparagine p. 100 de matières sèches des plantules.
— 7 —	9,09	3,3
— 10 —	23,14	11,2
— 12 —	»	17,3
— 15 —	37,93	22,3
— 16 —	42,02	25,7
— 16 —	»	25,7

Pour expliquer ces chiffres, M. Schultze admet qu'il se produit, en présence des hydrates de carbone de la graine, une régénération et une désagrégation continues de matières albuminoïdes, celle-ci donnant de l'asparagine comme produit d'oxydation, celle-là s'élaborant aux dépens des acides amidés. Ainsi se conçoit la concentration de l'asparagine; mais il est bien difficile de concilier toutes ces hypothèses avec les faits physiologiques établis par l'étude des actions diastasiques, et aussi avec les récentes conquêtes de la chimie des matières albuminoïdes. L'action d'une diastase sur une matière albuminoïde est toujours identique à elle-même, elle aboutit toujours aux mêmes produits, toutes conditions égales d'ailleurs, et ceux-ci apparaissent comme les résidus les plus stables de la molécule désagrégée.

Au point de vue chimique, si ces résidus s'organisent de nouveau pour refaire la molécule entière, ils devront donc se retrouver dans les mêmes proportions après une nouvelle désagrégation. M. Schultze admet alors que les matières azotées de réserve ne donnent pas toujours des quantités d'amide proportionnelles aux quantités d'azote mises en jeu, en vertu d'une qualité spécifique de la plante.

Cette conception trop artificielle du mécanisme de la formation de l'asparagine a été abandonnée, et l'on regarde l'asparagine comme le résidu le plus important de l'oxydation des matières albuminoïdes, suivant les doctrines de Boussingault et de Pfeffer. C'est l'état sous lequel circule l'azote de réserve pour s'organiser à nouveau, grâce à la présence des hydrates de carbone.

O. Müller a montré que des rameaux non détachés de la plante mère, placés à l'obscurité, donnent lieu à une formation d'asparagine, malgré l'apport d'hydrates de carbone solubles qui se fait dans ces organes, à la faveur de l'assimilation chlorophyllienne s'exerçant dans les régions éclairées. D'autre part, on peut constater facilement la présence simultanée d'asparagine et de sucre dans des graines en germination.

Pour écarter cette objection qui appuie la conception de Boussingault concernant le rôle de la lumière, Borodin admet que les glucoses naissants sont seuls capables de s'unir à l'asparagine pour régénérer les matières albuminoïdes.

Monteverde de son côté a fait l'expérience suivante. Il coupe des tiges vertes de pois et en fait deux lots : l'un est placé dans l'eau distillée, l'autre dans une solution de sucre ; on les expose à l'obscurité pendant dix jours, dans une atmosphère débarrassée d'acide carbonique. Examinées alors au microscope, on constate que les tiges placées dans l'eau distillée renferment beaucoup d'asparagine, mais pas d'amidon ; autrement dit, les tiges dépourvues d'hydrates de carbone consomment leurs albuminoïdes de réserves et produisent de l'asparagine ; celles qui plongeaient dans une solution de sucre ont fabriqué de l'amidon et n'ont point formé d'asparagine. Cette expérience confirme, comme on le voit, l'hypothèse de Pfeffer.

M. Prianischnikow n'admet pas l'interprétation de M. Monteverde touchant l'absence d'asparagine dans le deuxième lot de tiges : si en effet on ne trouve pas d'asparagine dans ce lot, ce n'est pas parce qu'elle a été régénérée par le sucre, c'est parce qu'il ne s'en est pas formé. L'explication de M. Monteverde ne peut se justifier qu'à la condition de provoquer la formation d'asparagine dans les deux lots de tiges, avant de les placer à l'abri de la lumière.

M. Prianischnikow place donc à l'obscurité un lot de tiges de fève dont la base plonge dans l'eau distillée ; puis, quand la destruction de la matière albuminoïde a commencé, il en analyse une partie et place l'autre dans une solution sucrée, toujours à l'obscurité. Dans ces conditions, l'asparagine formée n'a pas disparu. Ces résultats enlèvent donc toute valeur aux conclusions de Monteverde, mais ils ne prouvent pas, d'après l'auteur, que la régénération de l'asparagine soit toujours impossible à l'obscurité : il faut d'autres conditions pour provoquer sa transformation en matières albuminoïdes.

O. Lœw explique de la façon suivante la formation de l'asparagine dans les graines en voie de germination. Les matières albuminoïdes se décomposent sous l'action d'un ferment analogue à la trypsine, et laissent comme résidus de la tyrosine et de la leucine ; celles-ci se décomposent à leur tour, en donnant de l'aldéhyde formique et de l'ammoniaque qui s'unissent pour former l'asparagine. Ainsi, ce composé dérive d'une façon détournée des matières albuminoïdes, et en réalité rien ne prouve que dans la graine le processus soit plus direct, ainsi qu'on l'a supposé jusqu'ici. L'asparagine disparaît à son tour, transformée en matière albuminoïde en présence des hydrates de carbone.

Le même mode de formation s'observe en partant de l'azote minéral : l'azote nitrique se transforme préalablement en ammoniaque, laquelle se combine encore avec le groupement aldéhydique CHO fourni cette fois par les sucres résultant de l'assimilation chlorophyllienne ou mis à la disposition de la plante.

M. Kinoshita, on se le rappelle, a observé ce mode de formation (page 79). A part ce résultat, qui a été contesté par M. Laurent, les considérations de M. O. Lœw sont toutes théoriques ; elles ont le mérite de tenter de ramener au même mode de formation l'asparagine provenant des matières azotées de réserve et celle qui prend naissance dans les conditions de vie normales chez les végétaux adultes.

Beaucoup de savants admettent d'autre part que les nitrates ne se transforment pas en ammoniaque dans les organes verts. MM. V. Meyer et Schultze supposent que la réduction de l'acide azotique conduit à l'hydroxylamine, pour donner ensuite naissance, par union avec une molécule d'une substance aldéhydique, à des composés que V. Meyer, qui les a découverts, a appelés oximes. Ces corps constitueraient la base des matières protéiques végétales. M. Bach partage également cette opinion. Cependant, l'hydroxylamine offerte aux végétaux s'est montrée toxique pour eux. Cela ne veut pas dire que ces corps ne puissent se former d'une manière transitoire dans une catégorie spéciale de cellules ou de tissus.

Ainsi s'élaborerait, entre autres oximes, la formiamide $\text{CHO} - \text{AzH}^2$, capable de donner, par déshydratation, de l'acide cyanhydrique assez répandu dans certains végétaux, par hydratation du formiate d'ammoniaque $\text{HCO}^2 \text{AzH}^4$. Tous

ces produits se forment *in vitro* par l'action de l'aldéhyde formique sur l'acide azotique; mais, à part l'acide cyanhydrique et l'acide formique, on n'a pas réussi jusqu'ici à les retirer des végétaux.

M. A. Gautier considère l'acide cyanhydrique comme le noyau initial de la molécule albuminoïde. Ce composé se rencontre dans les amygdalées à l'état d'amygdaline que l'émulsion hydrolyse et dédouble en glucose, aldéhyde benzoïque et acide cyanhydrique. M. Guignard a montré que l'amygdaline et son ferment hydrolytique sont localisés dans des cellules différentes, si bien que, dans les conditions normales, l'acide cyanhydrique n'est jamais libre dans les amygdalées.

On le rencontre au contraire en abondance à l'état libre dans la sève de quelques espèces tropicales. M. Treub, qui a étudié les conditions de sa formation dans ces végétaux, a été conduit aux conclusions suivantes : l'acide cyanhydrique est le premier produit apparent de l'assimilation de l'azote minéral; il résulterait d'une synthèse consécutive à l'assimilation du carbone au moyen de sucres réducteurs produits par cette fonction et de sels inorganiques, probablement de nitrates, amenés par la sève ascendante. Cette synthèse n'exigerait pas le concours des radiations solaires.

Parmi tous les composés sur lesquels reposent les théories émises sur l'organisation de la matière protéique, l'asparagine et l'acide cyanhydrique semblent les plus importants, puisque l'analyse permet de les découvrir dans les tissus végétaux. Si le rôle qu'on leur attribue est conforme à la réalité, on ignore complètement quelles sont les transformations ultérieures qui leur permettent de s'élever dans l'échelle de l'organisation chimique. Les remarquables travaux de Schutzenberger sur les produits d'hydratation des substances albuminoïdes peuvent servir de base à des théories sur le mode de formation de la matière protéique, de même que sur sa constitution; mais elles sont toutes spéculatives et ne reposent sur aucune observation physiologique bien démontrée.

CHAPITRE III

DÉGRADATION DE LA MATIÈRE ORGANIQUE

Rôle des animaux.

Après avoir résumé brièvement l'état de nos connaissances sur l'organisation du carbone et de l'azote, nous devons jeter un coup d'œil sur la façon dont se dépense l'énergie chimique ainsi accumulée et sur les procédés suivant lesquels la matière organique est désagrégée et ramenée à l'état minéral, pour servir de nouveau à la nutrition végétale.

Si l'on considère les plantes supérieures, on remarque déjà qu'une certaine fraction des réserves subit dans leurs tissus le travail de gazéification qui tôt ou tard détruit toute matière organique.

Pendant la période de germination, les phénomènes de combustion ne sont contrebalancés par aucune autre action. La jeune plantule consomme les réserves de la graine pour élaborer ses propres tissus : si on pèse la graine avant, et toute la plantule après la germination, on constate qu'une fraction importante du poids de la graine a été brûlée pour fournir l'énergie nécessaire à l'organisation de la plantule. Boussingault admet qu'une plantule germée pèse un tiers environ moins que la graine qui lui a donné naissance ; mais la perte de poids peut atteindre la moitié ou les deux tiers du poids de la graine, si on provoque la germination à l'obscurité et si on laisse la plante épuiser complètement ses réserves.

Lorsque la chlorophylle apparaît, le végétal devient le siège de deux fonctions contraires : la respiration, fonction de combustion et de destruction, et l'assimilation chlorophyllienne, fonction de réduction, créatrice de substances organiques ; comme cette dernière est la plus active, la plante croît et emmagasine de l'énergie chimique jusqu'au jour de sa mort.

Les animaux consomment plus ou moins directement les composés alimentaires accumulés par les végétaux ; les herbivores sont les intermédiaires naturels entre le règne végétal et le reste du règne animal, de sorte que l'on a pu dire que celui-ci est tributaire de celui-là.

Cette relation intime s'établit d'autant plus facilement, que très probablement le protoplasma cellulaire ne varie pas de composition dans toute l'étendue du monde organisé. L'identité de composition du plasma vivant entraîne l'identité du mode de nutrition ; la cellule digère par l'intermédiaire des diastases qu'elle sécrète, puis assimile, c'est-à-dire incorpore à sa propre substance les matériaux qui ont subi ce travail préparatoire. Une substance alimentaire, l'amidon par exemple, est saccharifiée de la même façon par la diastase sécrétée par une bactérie, un mycélium de champignon, un embryon d'orge, une glande digestive d'un animal supérieur.

Les trois grands groupes de substances organiques, c'est-à-dire les matières azotées, les hydrates de carbone et les graisses, se retrouvent dans le règne animal comme dans le règne végétal. Ce qui caractérise les animaux, c'est qu'ils se meuvent et dépensent de la force en conséquence ; or, comme ils n'ont rien qui leur permette de l'emprunter directement à la chaleur solaire, ils la lui demandent indirectement en consommant l'énergie chimique accumulée dans leurs aliments. Là est l'origine de la désagrégation d'une partie des substances organiques qu'ils absorbent, l'autre partie étant réservée aux dépenses d'entretien.

Ces composés se dédoublent en effet facilement. Les produits de dédoublement s'oxydent au contact de l'oxygène du sang ; la molécule alimentaire, d'abord très volumineuse et très complexe, se disloque peu à peu et se simplifie, en cédant à l'organisme qui la détruit toute l'énergie qui avait été dépensée pour la construire ; cette énergie ainsi produite est employée à entretenir la température de l'animal, ou utilisée sous forme de travail musculaire.

Les diverses substances alimentaires sont-elles employées indifféremment à la production de la chaleur et de l'énergie mécanique, ou bien ce rôle est-il dévolu plutôt aux substances ternaires ? Pour résoudre cette question, on a d'abord établi que le muscle qui travaille absorbe plus d'oxygène et dégage plus d'acide carbonique que le muscle au repos ; mais, dans les

conditions normales d'alimentation, la sécrétion azotée reste constante dans le muscle, qu'il soit contracté ou relâché. Cependant si, dans la ration alimentaire d'un cheval qui fournit du travail, les substances hydrocarbonées sont insuffisantes, l'azote augmente dans les urines ; ce sont les matières protéiques qui fournissent le supplément d'énergie que l'on demande à l'animal sous forme de travail.

Chez un chien que l'on fait jeûner, ce sont les corps gras qui sont d'abord consommés ; la sécrétion azotée n'augmente que lorsque l'animal est totalement dégraissé.

Il en résulte que les hydrates de carbone et les graisses sont utilisés principalement pour la production du travail et pour l'entretien de la température animale. Cette distinction n'est pas absolue : les substances protéiques sont également des combinaisons endothermiques ; elles dégagent donc aussi de l'énergie en se décomposant, et dès lors on est obligé d'admettre que celle-ci est employée comme la première. Mais, en gros, dans le fonctionnement de la machine animale, les hydrates de carbone et les graisses représentent le combustible et les matières protéiques constituent les rouages. Par l'usage, les organes moteurs s'usent en même temps que le combustible ; c'est pour cela que l'animal élimine constamment le résidu des unes et des autres substances.

C'est la nature de ces résidus que nous devons maintenant examiner et autant que possible leur mode de formation.

Ceux que fournissent les graisses et les matières sucrées sont l'eau et l'acide carbonique. L'eau s'élimine par toutes les voies naturelles, l'acide carbonique par les poumons ; les éléments des aliments ternaires quittent l'organisme sous les formes les plus simples qu'ils affectent dans la nature ; les végétaux peuvent s'en emparer directement ; ainsi se ferme le circuit immédiat qui existe entre les végétaux et les animaux : les substances ternaires passent directement des premiers aux seconds, et de ceux-ci à ceux-là à l'état d'acide carbonique et d'eau. Lavoisier, Priestley avaient bien saisi et expliqué cette relation.

On connaît donc depuis longtemps les termes ultimes de la dégradation des graisses et des sucres ; mais on ignore absolument les degrés intermédiaires. Les muscles renferment de l'acide sarcolactique ; le glucose, qui dérive du glycogène, peut se dédoubler en deux molécules d'acide lactique ; il semble donc que celui que l'on trouve dans les muscles provienne du glu-

cose : l'expérience n'a pas pu lui assigner cette origine. Le calcul montre d'autre part que le dédoublement du glucose en acide lactique n'est pas une source d'énergie suffisante pour faire face au travail musculaire ; la combustion ne peut pas s'arrêter à ce terme ; de sorte que l'on peut aussi bien admettre jusqu'à présent que l'acide lactique provient des matières albuminoïdes.

On trouve dans la bile un certain nombre de substances ternaires, faisant partie intégrante des acides de la bile ; parmi ces substances, l'acide cholalique, formé par dédoublement de l'acide taurocholique dans l'intestin, est éliminé en partie par la voie intestinale. On n'est pas renseigné sur le sort ultérieur des autres ; on ne connaît pas non plus l'origine de l'acide cholalique.

Les résidus azotés des matières protéiques sont éliminés par les reins et les glandes sudoripares.

L'urée, l'acide urique, l'acide hippurique sont les composés les plus importants de l'urine, puis viennent la créatine, la créatinine ; on trouve également dans l'urine humaine de petites quantités de xanthine, des traces de sels ammoniacaux.

Tous ces composés sont des produits d'oxydation des matières protéiques : relativement pauvres en carbone, oxygène et hydrogène, ils sont au contraire très riches en azote. L'oxydation porte en effet sur les premiers éléments ; ils se détachent, soit à l'état de substances ternaires, soit plus généralement à l'état d'acide carbonique et d'eau ; les atomes d'azote, qui ne se dégagent jamais à l'état gazeux, se concentrent de plus en plus.

On connaît très peu de chose également sur les phases successives de cette désagrégation. Les résidus les plus simples peuvent seuls cristalliser et être obtenus à l'état de pureté ; ils sont donc susceptibles d'être déterminés au point de vue chimique ; mais, comme on ignore la composition et la constitution chimiques de l'édifice moléculaire dont ils proviennent, il est souvent impossible d'en connaître l'origine.

En injectant des substances appropriées dans les veines des animaux, on peut quelquefois établir la nature des produits qui donnent naissance aux résidus de désassimilation et faire ainsi un pas de plus vers la source. En extirpant les organes, comme le foie et les reins, que l'on suppose capables de les excréter ou de les élaborer, on détermine le lieu de leur élimination ou de leur formation. Malheureusement, les produits

injectés sont rejetés quelquefois tels quels ; ils ne peuvent pas toujours parvenir dans l'intimité des tissus, où ils pourraient rencontrer les substances visées ou les agents de transformation qui doivent intervenir. D'un autre côté, l'ablation du foie et des reins provoque dans l'organisme entier des perturbations si profondes, que l'on ne peut pas toujours rapporter les phénomènes observés à leurs véritables causes.

Néanmoins, on a pu établir ainsi que le carbonate d'ammoniaque se transforme en urée dans le foie ; que les acides amidés, tels que la leucine et la tyrosine, qui se produisent dans les digestions diastasiques des matières albuminoïdes, sont éliminés également à l'état d'urée ; il en est de même probablement de la créatine, composé très répandu dans le tissu musculaire, très peu abondant au contraire dans l'urine. Mais cette dernière démonstration a été faite d'une façon indirecte, car la créatine $C^4H^9Az^3O^2$, injectée dans le sang, est éliminée par les reins ou simplement transformée en créatinine $C^4H^7Az^3O$ par élimination d'une molécule d'eau. Mais, lorsqu'on la chauffe à l'ébullition avec l'eau de baryte, elle se dédouble en urée et en méthylglycocolle. La synthèse de la créatine justifie également ce dédoublement ; la chimie permet donc d'établir les rapports étroits qui existent entre l'urée et la créatine et démontre la probabilité d'une transformation de la créatine en urée dans le tissu musculaire.

L'acide urique se rencontre en petite quantité chez les mammifères ; mais c'est sous cette forme que l'azote de désassimilation se rencontre presque en totalité chez les oiseaux et les reptiles. Ceux-ci transforment les acides amidés, l'ammoniaque et même l'urée en acide urique.

L'acide urique a été l'objet d'un nombre considérable de recherches ; il présente une grande parenté avec deux bases quaternaires que l'on rencontre à l'état de combinaison, particulièrement dans les noyaux des cellules : la xanthine et l'hypoxanthine. Les formules brutes de ces trois corps ne diffèrent en effet que par leur teneur en oxygène :

Acide urique	$C^5H^4Az^4O^3$
Xanthine	$C^5H^4Az^4O^2$
Hypoxanthine	$C^5H^4Az^4O$

Kossel et ses élèves ont montré que les nucléines vraies qui constituent les noyaux cellulaires donnent, à l'ébullition avec les

bases ou les acides forts, un noyau azoté qui n'est autre chose que la xanthine ; étant donné la similitude de composition et de constitution probable de cette base avec l'acide urique, celui-ci doit être regardé comme résultant de la désassimilation des nucléines des noyaux cellulaires, non pas chez les oiseaux et les reptiles, mais chez les mammifères. Longtemps, les chimistes ont échoué dans les essais tentés pour obtenir l'un de ces corps en partant de l'autre ; ce n'est que récemment que M. E. Fischer, le célèbre chimiste allemand, a réussi à trancher la question et à montrer ainsi l'identité qui existe jusqu'à un certain point, dans les résultats, entre les procédés de désagrégation employés dans les laboratoires et les processus de destruction qui se poursuivent au sein des organismes vivants. Les nucléines donnent encore des résidus azotés de dédoublement, la guanine et l'adénine, qui sont aussi des produits capables de donner de l'urée et de l'acide urique.

L'*acide hippurique* est surtout abondant chez les herbivores : c'est un composé de glyco-colle et d'acide benzoïque avec élimination d'une molécule d'eau. L'acide benzoïque injecté dans le sang donne lieu à une formation d'acide hippurique qui est éliminé par le rein. Chez les herbivores, ce corps prend donc naissance sous l'influence des composés aromatiques des végétaux.

L'urine élimine encore quelques traces de matières azotées, en particulier une matière colorante, l'urobiline, que Maly a obtenue en faisant agir l'hydrogène naissant sur la bilirubine, substance colorante de la bile ; celle-ci subit la même transformation et se trouve donc aussi évacuée à l'état d'urobiline. On sait que ce sont là des produits de transformation de l'hématine, qui dérive elle-même de l'hémoglobine, par dédoublement en substances albuminoïdes et hématine.

On voit donc que quelques jalons, semblent, par-ci par-là, assez bien posés, dans ce dédale inextricable des produits dérivés de la nutrition animale. Partout où la chimie a pu porter ses recherches, la lumière s'est faite peu à peu ; mais les matières albuminoïdes résisteront peut-être longtemps encore à ses investigations, à cause des difficultés énormes qu'elle rencontre dans la séparation et la purification de ces corps. Malgré cela, un groupe de ces composés, les nucléines, caractérisées par leur richesse en phosphore, paraissent aujourd'hui assez bien connues, à la suite des recherches de Kossel et de ses

élèves. Les nucléines sont des substances formées par la combinaison de l'acide nucléique avec les albumines ; elles paraissent constituer les parties fondamentales de la matière vivante ; elles sont surtout abondantes dans les noyaux cellulaires. Traitées à l'ébullition en présence des acides ou des bases forts, elles se disloquent en une substance albuminoïde, en groupements hydrocarbonés qui réduisent la liqueur de Fœhling, en acide phosphorique et en un certain nombre de bases très riches en azote, parmi lesquelles on a trouvé les bases xanthiques, la guanine et l'adénine. Ces dislocations sont évidemment trop énergiques ; les procédés qui les provoquent ne sont pas identiques aux processus qui se développent dans l'organisme. Bien des phases de la dégradation sont abrégées et même supprimées, et ce qui le prouve, c'est qu'Altmann, en faisant agir de la potasse caustique à 3 p. 100 à froid, a obtenu l'acide nucléique, qui avait d'abord échappé à Kossel. Mais il ne faut pas oublier cependant que ce sont ces recherches qui ont permis à M. E. Fischer de démontrer l'origine d'une partie de l'acide urique des mammifères. Ces résultats, bien qu'encore limités, ne laissent pas que d'être encourageants. Au surplus, la chimie peut mettre en œuvre des procédés identiques à ceux de l'organisme. Nous avons insisté sur l'identité des processus de nutrition dans toute l'étendue du monde vivant. Une cellule microbienne agit sur ses aliments de la même façon que les mammifères, avec cette différence qu'elle ne pousse pas toujours les transformations aussi loin : elle s'empare de préférence, suivant ses besoins, d'un morceau de l'édifice moléculaire de la substance qu'elle attaque, et laisse le reste ; ce sont ces restes que l'on peut analyser et déterminer chimiquement. En outre, on peut prendre aux organismes inférieurs les diastases qu'ils mettent en œuvre et reproduire *in vitro*, à l'abri de tout ferment, les dislocations qu'elles provoquent. Mais, jusqu'à présent, les faits recueillis dans cette voie, en ce qui concerne les matières protéiques, sont trop peu nombreux pour nous arrêter.

Maintenant que nous avons passé en revue les produits d'oxydation des principaux aliments organiques éliminés par les animaux, nous devons faire remarquer que leur organisme n'est pas exclusivement le siège de phénomènes de combustion et de dégradation. Il se plie également, dans une mesure assez restreinte il est vrai, aux conditions d'alimentation, et se

montre capable de faire la synthèse des matières grasses en partant des hydrates de carbone ou des matières albuminoïdes, de même qu'il peut, par voie de dédoublement, détacher de la molécule albuminoïde des groupements hydrocarbonés qu'il utilise ensuite dans le même but que ceux qu'il absorbe en nature. Mais on comprend que ces métamorphoses n'ajoutent rien à l'énergie chimique des corps qui se transforment, et en définitive toutes les réactions qui se passent dans le corps des animaux se soldent toujours par une dépense de chaleur.

Dans le chapitre précédent, nous avons montré que le carbone absorbé par les animaux est restitué en partie à l'atmosphère à l'état d'acide carbonique ; une autre partie est éliminée, en même temps que l'azote, par les urines ; enfin, une fraction importante de la quantité totale ingérée est rejetée directement par le tube digestif comme résidu de la digestion. Parmi tous ces composés de l'azote et du carbone, un seul peut être absorbé directement par les plantes à chlorophylle : c'est l'acide carbonique. Le plus souvent, tous les autres sont pour elles, dans les conditions naturelles de leur développement, des substances inutilisables, au même titre d'ailleurs que tous les débris organiques dont elles recouvrent elles-mêmes la surface du sol.

Comme l'azote combiné est limité, et l'acide carbonique aussi, la vie serait bientôt impossible sur la *surface du sol*, si ces résidus de la vie n'étaient constamment désagrégés et brûlés, pour être rendus de nouveau capables de l'entretenir. Lavoisier et ses contemporains voyaient dans toutes ces transformations des fermentations et des putréfactions ; mais, dans leur esprit, ces deux mots ne correspondaient à aucune notion précise. La science pasteurienne a mis en lumière les secrets qu'ils recèlent ; ces modifications sont l'œuvre des infiniment petits.

Rôle des infiniment petits.

Les infiniment petits, dans lesquels nous devons ranger les bactéries et les champignons, sont des êtres le plus souvent monocellulaires, dépourvus de chlorophylle, et par conséquent généralement incapables de se nourrir aux dépens du carbone de l'acide carbonique. Leur développement est donc étroitement lié à la présence de la matière organique, capable de leur fournir les éléments constitutifs de leur corps et l'énergie

nécessaire pour les organiser. Comme la matière organique est répandue sur une certaine épaisseur du sol, c'est là qu'on trouvera, de préférence, les microbes capables de la transformer. Le sol arable n'est donc pas seulement, pour nous, le support nourricier des végétaux, c'est aussi l'usine où s'effectue le travail de minéralisation et de gazéification des résidus animaux et végétaux. Au point de vue physique, on peut l'envisager comme un amas de particules sableuses et terreuses, recouvertes d'une mince couche d'eau ; les interstices que ces particules laissent entre elles sont occupés par l'air atmosphérique qui circule plus ou moins facilement dans toute la masse. En apparence, il semble donc que le sol soit exclusivement le siège de fermentations produites par des microorganismes capables de se développer au contact de l'air ; et cependant, quand on y recherche des espèces anaérobies, on les trouve peut-être aussi nombreuses que les premières. Comment peuvent-elles vivre dans un milieu où l'air circule librement ?

Les recherches de M. Winogradsky sur le *Clostridium Pasteurianum* nous donnent l'explication de ces faits. Le *Clostridium*, nous l'avons vu page 63, est un microbe anaérobie ; il se développe cependant dans un milieu liquide où l'on fait barboter de l'air, à condition de l'associer à des microbes aérobies. Nous avons insisté assez longuement sur ces observations intéressantes ; nous pouvons maintenant les appliquer à la terre. Chaque particule terreuse est le siège d'associations du même genre que celle que contracte le *Clostridium* : les espèces anaérobies se développent au centre des particules, tandis que les espèces aérobies peuplent la surface ; celles-ci arrêtent au passage l'oxygène de l'air, de sorte que le centre est dépourvu de ce gaz. Tous les modes de vie sont donc possibles pour les microbes, au sein de la terre arable, et en réalité, les espèces aérobies et anaérobies y pullulent les unes à côté des autres, remplissant chacune une fonction bien déterminée. Pendant que les unes préfèrent les matières hydrocarbonées, les autres s'attaquent aux matières azotées ; mais rarement une espèce donnée est capable de transformer une substance en ses dérivés les plus simples. Il existe entre ces êtres une division du travail vraiment extraordinaire : par exemple, il y a des espèces qui dissolvent la membrane cellulosique d'une cellule de pomme de terre et laissent intacts les granules de fécule qu'elle renferme ; le glucose, soumis à l'action de la levure, se transforme

en alcool et acide carbonique ; l'alcool, repris par le mycoderma aceti, est oxydé et donne de l'acide acétique ; celui-ci peut être enfin brûlé de différentes façons, pour donner finalement de l'acide carbonique et de l'eau. Ainsi, l'action d'une espèce microbienne sur une substance alimentaire est limitée en général à une transformation assez réduite : elle disloque une molécule en ses dérivés plus simples ou bien lui enlève, par voie de réduction ou d'oxydation, l'élément dont elle a besoin ; mais elle ne pousse pas trop loin le travail de désagrégation, parce qu'une espèce voisine est plus apte à le continuer. Ces règles générales souffrent évidemment bien des exceptions. La levure consomme de la glycérine qu'elle avait éliminée comme produit de désassimilation, si on ne lui donne pas de nouvelle matière sucrée ; de même, le ferment acétique brûle entièrement l'acide qu'il produit, si on le laisse en contact avec lui, quand tout l'alcool a été transformé.

Mais il ne faut pas oublier que le travail de désagrégation est le corollaire obligé du travail d'organisation que les microbes accomplissent en même temps ; ainsi, pendant qu'une partie de la matière organique se simplifie dans sa composition ou se gazéifie, une autre remonte peu à peu l'échelle de l'organisation chimique. Chaque cellule microbienne est un laboratoire de synthèses, et, parmi celles-ci, il en est qui sont de la plus haute importance, par exemple la fixation de l'azote atmosphérique sous forme de matière organique.

Le poids de matière vivante créé aux dépens de la matière morte représente une dépense d'énergie qui a été prise aux transformations que cette dernière a subies. Le rapport du poids de la matière transformée au poids de la matière vivante représente ce qu'on appelle le pouvoir ferment des microorganismes. Ce pouvoir ferment est d'autant plus élevé, que la dislocation de la matière alimentaire fournit moins de chaleur ; il a une valeur beaucoup plus grande chez le mycoderma aceti qui transforme l'alcool en acide acétique, que chez l'aspergillus niger qui brûle complètement la molécule de glucose en donnant de l'acide carbonique et de l'eau.

D'une manière générale, il sera plus élevé chez les êtres anaérobies que chez les êtres aérobies. Les premiers ne produisent que des combustions limitées, des dislocations faites aux dépens de l'oxygène de la substance alimentaire, tandis que les derniers, qui font intervenir l'oxygène de l'air, poussent plus

loin la désagrégation. Dans l'exemple du *Clostridium Pasteurianum*, Winogradsky a trouvé que le rapport du sucre consommé à l'azote gazeux fixé est $\frac{1\ 000}{1,8}$; Kossowitch a trouvé dans ses expériences le rapport $\frac{200}{1}$; dans les miennes, il était de $\frac{100}{1}$. Ces nombres représentent les valeurs comparées du

pouvoir ferment de trois espèces microbiennes différentes : la première est anaérobie, les deux dernières sont aérobies. Il faut remarquer que, pour obtenir la valeur absolue du pouvoir ferment de ces trois espèces, il suffit de multiplier le dénominateur par 6,25 ; on a ainsi le poids approximatif de la matière organique élaborée. Le pouvoir ferment peut acquérir chez certaines espèces des valeurs beaucoup plus élevées ou beaucoup plus faibles que les précédentes. Ainsi, dans le cas de l'*Aspergillus niger* cultivé dans les conditions les plus favorables, déterminées par Raulin, le pouvoir ferment peut tomber à 2.

Ce qu'il faut retenir de toutes ces considérations, c'est qu'avec de telles exigences alimentaires, les microbes du sol suffisent largement à contre-balancer l'action des végétaux supérieurs. Un poids pour ainsi dire insignifiant de cellules microbiennes gazéifie des quantités énormes de débris végétaux ou animaux, et, chose remarquable, les microbes proportionnent l'effort au travail à produire, à cause de la rapidité extraordinaire avec laquelle ils se reproduisent. Les températures les plus élevées que le sol peut atteindre sont les plus favorables à leur action ; mais les températures les plus basses de l'hiver n'arrêtent pas complètement leur activité. Les espèces sont si nombreuses et adaptées à des températures si différentes, qu'on en rencontre qui sont capables de se multiplier à 0° centigrade, pendant que d'autres se trouvent dans des conditions tout à fait normales à 60, 70°.

Ceci posé, passons en revue quelques-uns des processus les plus connus de la dégradation de la matière organique.

Les hydrates de carbone solubles, comme les trioses, les tétroses, les pentoses, les hexoses, etc., peuvent servir d'aliments à un grand nombre de microorganismes.

D'autres, comme l'amidon, la cellulose, doivent subir une hydratation préalable qui les transforme en composés solubles et assimilables, le plus souvent en hexoses.

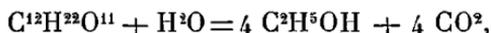
Les espèces qui s'en emparent varient surtout avec la réaction du milieu ; les levures et les champignons agissent de préférence en milieu acide et sont capables de brûler les acides organiques comme les acides citrique, tartrique, malique, lactique acétique, etc., les acides oxalique et formique à très petite dose.

Les bactéries recherchent les milieux neutres ou alcalins. Une très légère dose d'acidité arrête leur développement : pour les protéger contre l'action des acides, on additionne le milieu d'un excès de carbonate de chaux ; c'est ainsi qu'on favorise la fermentation lactique et la fermentation butyrique.

Le processus varie aussi suivant le mode de vie des microorganismes. Les fermentations alcoolique, butyrique, forménique s'accomplissent à l'abri de l'air ; ce sont des combustions incomplètes, toujours accompagnées de phénomènes de réduction. L'oxygène émigre d'une partie de la molécule sur l'autre, à la faveur des nombreuses ruptures qui s'y produisent.

La fermentation acétique, les combustions complètes s'effectuent en présence de l'air ; elles ne sont jamais accompagnées de phénomènes de réduction.

La fermentation alcoolique a été utilisée de temps immémorial pour les besoins de l'homme ; son équation chimique a été établie par Lavoisier et corrigée par Dumas et Boullay. Ceux-ci ont, en effet, montré que l'équation de la fermentation du saccharose n'est exacte qu'à la condition d'admettre que la molécule de sucre s'hydrate, avant de se disloquer en alcool et acide carbonique, suivant la réaction :



condition essentielle qui avait échappé à Lavoisier à cause de l'imperfection des procédés d'analyse.

C'est Pasteur qui l'a étudiée dans ses relations avec la levure ; il a montré que la production d'alcool est la conséquence de la nutrition et de la prolifération d'un être vivant, la cellule de levure. L'alcool est un produit de désassimilation, un résidu que la levure rejette comme une substance nocive.

L'alcool éthylique n'est pas le seul produit qui se forme aux dépens du sucre pendant la fermentation alcoolique ; on trouve encore de la glycérine, de l'acide succinique, des acides volatils. Tout récemment, M. Büchner a fait faire un pas de plus à la connaissance du mécanisme de la fermentation : il a retiré

de la levure, par pression à 600 atmosphères, après un broyage très complet avec de la poudre de verre ou de tripoli, une diastase capable de transformer le sucre en alcool et acide carbonique.

L'idée que la fermentation est un phénomène diastasique est due à Claude Bernard, mais il n'avait pas réussi à le mettre en évidence.

M. Büchner admet que ses résultats confirment les idées de Liebig sur la fermentation et par suite contredisent celles de Pasteur. On sait en effet que Liebig prétendait que les fermentations et les putréfactions se produisent sous l'influence de ferments, c'est-à-dire de matières organiques en putréfaction, qui portent sur d'autres corps organiques l'état de mouvement qui provoque leur décomposition. Pasteur, au contraire, démontre que la fermentation alcoolique est produite par un être vivant, la levure; la transformation du sucre en alcool et acide carbonique est donc un acte vital. Liebig, contraint d'admettre les faits apportés par Pasteur, essaie de pénétrer le mécanisme de cet acte vital, et il considère la cellule de levure comme étant la source du mouvement qu'il attribuait d'abord aux substances en putréfaction.

Pasteur, plus esclave des faits, n'essaie pas d'expliquer le phénomène vital. Plus tard, il a cherché la diastase alcoolique, mais sans succès. Ce faisant, il restait néanmoins fidèle à ses idées antérieures. Aujourd'hui que la diastase a été découverte, c'est la sécrétion qui demeure indissolublement liée à la vie de la cellule de levure ou de toute cellule capable de produire la fermentation alcoolique. La découverte de Büchner présente un intérêt considérable au point de vue physiologique; elle montre que toutes les réactions qui se produisent au sein de la cellule vivante sont des phénomènes diastasiques; elle fait espérer aussi qu'on pourra, dans un avenir plus ou moins éloigné, les réaliser *in vitro*.

L'alcool produit par les levures est un corps éminemment combustible; mais c'est aussi un antiseptique très puissant; peu de microorganismes sont capables de s'en nourrir. Néanmoins il peut être brûlé complètement par un schyzomycète proche parent des levures, le *mycoderma vini*; cette forme de levure se développe à la surface des vins, où elle produit ce qu'on appelle la fleur du vin; elle transforme l'alcool en acide carbonique et en eau.

Le ferment acétique est capable de produire le même travail, mais il procède par étapes. Il transforme d'abord l'alcool en acide acétique et ne pousse pas plus loin la combustion, tant qu'il reste de l'alcool à oxyder ; mais, si celui-ci fait défaut, il attaque l'acide acétique qui se résout alors en acide carbonique et en eau.

A côté de ce processus de dégradation des sucres, il en existe d'autres tout aussi connus. Ainsi, le ferment lactique, étudié aussi par Pasteur, transforme le lactose en acide lactique ; il en fait autant avec les hexoses, mais ce ferment n'agit pas sur ses produits de transformation.

L'acide lactique est attaqué par le ferment butyrique qui le transforme en alcool et acide butyrique. Ce ferment est très répandu dans le sol ; il existe même plusieurs espèces de ferments butyriques qui agissent tous à l'abri de l'oxygène : ils attaquent les sucres et même la cellulose. L'étude de la fermentation butyrique a été faite par Pasteur ; d'autres ferments ont été étudiés par MM. Perdrix, Fitz, Grimbert, par M. Winogradsky. Tous donnent aux dépens des sucres des quantités variables d'alcool butylique et d'acide butyrique, d'acide acétique, d'acide carbonique et d'hydrogène.

Leur présence dans la terre a été démontrée par MM. Dehérain et Maquenne, et l'on peut dire qu'une grande quantité de matières hydrocarbonées du sol est gazéifiée par les ferments butyriques.

Toutes ces transformations des hydrates de carbone sont aujourd'hui bien connues parce que, pour la plupart, elles sont exploitées dans l'industrie. Mais à côté d'elles on peut affirmer qu'il existe une infinie variété de dégradations provoquées par d'autres espèces dont le mode d'action est resté ignoré jusqu'ici. M. Müntz a montré que l'alcool existe toujours en très petite quantité dans le sol ; il figure en effet parmi les produits de désassimilation d'un grand nombre d'espèces bactériennes.

L'amidon est plus résistant à l'action des microbes et même des champignons : il doit subir une transformation préalable en maltose. Les mycéliums jeunes transforment l'amidon à l'état d'empois ; quand ils ont déjà acquis un certain développement, ils peuvent liquéfier l'amidon cru et gazéifier ses produits d'hydratation, tel est l'*aspergillus niger*.

L'*amylomyces Rouxii* extrait par M. le Dr Calmette de la levure chinoise est une mucédinée ; il est employé de temps immé-

morial par les Chinois dans la saccharification et la fermentation du riz. Ce champignon sécrète en effet une diastase extrêmement active et laisse beaucoup moins de résidus non fermentescibles que l'amylase du malt ; il donne également un rendement plus élevé que les procédés de saccharification à l'acide sulfurique employés dans l'industrie.

L'amylomyces est en même temps un ferment alcoolique : quand l'amidon est saccharifié, il transforme le maltose en alcool et acide carbonique.

L'amidon peut être dégradé suivant d'autres processus ; il peut subir, après liquéfaction préalable, la fermentation butyrique comme les sucres solubles.

Les matières pectiques, la cellulose, trouvent aussi dans le sol leurs agents destructeurs. Parmi les ferments les plus intéressants de la cellulose, il faut citer le ferment forménique que M. Gayon a étudié. Ce ferment agit à l'abri de l'oxygène ; il se développe surtout dans les fumiers où le formène a été découvert par Reiset ; c'est lui qui, probablement, donne aussi naissance au gaz qui se dégage en abondance de la vase en putréfaction. Le formène est accompagné d'hydrogène et d'acide carbonique ; ce dernier se rencontre dans la dégradation de toutes les substances hydrocarbonées, que le processus se déroule avec ou sans le concours de l'oxygène libre.

M. Van Tieghem a montré également que le bacillus amylobacter dissout et gazéifie la cellulose avec production d'acide carbonique et d'acide butyrique. C'est donc aussi un ferment butyrique différent de la plupart des autres par son action énergique sur la cellulose, nulle au contraire sur l'amidon. C'est lui qui intervient dans le rouissage du lin, dans la fabrication de l'amidon par le procédé de fermentation. M. Van Tieghem pense également qu'il a dû jouer un grand rôle dans la formation de la houille, en détruisant les matières gommeuses, les membranes cellulosiques des tissus libériens et parenchymateux. Son action sur les celluloses est en effet limitée : il ne touche pas aux parois cellulaires cuténisées, subérifiées ou lignifiées.

Parmi les agents destructeurs de la cellulose, il faut placer surtout les champignons. Les mycéliums de ces végétaux envahissent les arbres en pleine végétation : ils commencent par consommer les hydrates de carbone solubles ; puis, quand l'arbre est mort et que les composés sucrés viennent à manquer,

ils attaquent la cellulose. Ainsi disparaissent peu à peu les souches et les racines qui restent dans la terre.

A côté des produits ternaires que nous avons envisagés jusqu'à présent, il en est d'autres qui sont très résistants à l'action des infiniment petits. Parmi eux on peut citer les résidus des fermentations que nous avons passées en revue, comme l'acide succinique, la glycérine, l'acide acétique, l'acide butyrique ; les acides organiques très répandus dans le règne végétal, comme l'acide citrique, tartrique, malique, oxalique, etc. Tous ces corps sont brûlés par les moisissures, dont les plus répandues sont : les mucors, les aspergillus et les penicillums. Une tranche de fruit acide, comme l'orange ou le citron, exposée à l'air, est envahie en quelques jours par ces champignons : le plus souvent, la désagrégation semble être complète ; elle ne comporte pas de stades, ou tout au moins les produits intermédiaires sont brûlés à mesure qu'ils se forment.

M. Duclaux a pu constater que l'aspergillus transforme le sucre, la glycérine, l'alcool, l'acide acétique, l'acide tartrique, en acide oxalique ; on peut même trouver des doses assez sensibles de ce composé dans le cours de l'expérience, mais à la fin il a complètement disparu.

Les *matières grasses* offrent une grande résistance aux actions microbiennes. Comme leurs produits de dédoublement, la glycérine exceptée, présentent une réaction acide, on peut dire qu'ils ne peuvent être brûlés que par les moisissures ; les champignons, qui oxydent et disloquent tous les acides organiques, sont capables de transformer également les acides gras en eau et acide carbonique. La glycérine est un aliment pour un grand nombre d'espèces bactériennes.

Les processus de dégradation des *matières azotées* sont beaucoup moins connus que ceux des matières hydrocarbonées. Il faut arriver déjà aux produits de dédoublement les plus simples pour suivre les transformations qu'ils subissent sous l'influence des infiniment petits. Mais, si on remonte aux acides amidés, comme la leucine, la tyrosine, le glycocolle, on est obligé d'avouer qu'on ne sait encore rien du mécanisme suivant lequel ils se disloquent ; à plus forte raison ignore-t-on les transformations des albuminoïdes. L'étude de cette question est subordonnée à la connaissance de la constitution et de la composition chimiques des matières protéiques. Celles-ci n'étant pas connues, on ne peut même rien présumer sur

les phénomènes de dédoublement dont ces corps sont le siège.

On sait cependant que l'azote, au lieu de se concentrer peu à peu dans quelques produits de dédoublement, comme cela se passe dans les végétaux et dans les animaux, peut se dégager, à tous les stades de transformation, soit à l'état d'ammoniaque, soit même à l'état d'azote gazeux.

Cette différence dans le mode de dislocation des matières protéiques n'est-elle qu'apparente ou tient-elle au contraire à la mise en action de moyens radicalement distincts ? Jusqu'ici, on a constaté que les diastases hydrolysantes sont les mêmes chez les animaux et chez les infiniment petits.

Il semble que la première hypothèse soit la plus rationnelle, surtout si l'on se rappelle que l'ammoniaque est toxique pour les animaux, et que l'azote, incapable d'être absorbé par un composé quelconque de l'organisme, ne peut pas être mis en liberté dans le sein des tissus vivants, sans en troubler profondément l'économie.

La nature différente des résidus azotés chez les animaux est due à des réactions secondaires qui ont pour but de mettre l'organisme à l'abri des intoxications. Les infiniment petits, moins exposés, à ce point de vue, supportant mieux l'ammoniaque et les autres substances toxiques, font subir peu de mutations aux fragments de la molécule albuminoïde qui naissent sous leur action.

La production d'ammoniaque aux dépens de l'azote organique est une fonction très répandue dans le monde des bactéries ; elle paraît être indépendante de la présence ou de l'absence d'oxygène. M. Duclaux a constaté que tous les ferments de la caséine en produisent ; les espèces pathogènes, comme la bactériidie charbonneuse lui donnent naissance au même titre que les espèces banales du sol ou du fumier, auxquelles ce rôle est cependant plus particulièrement dévolu. M. Müntz a montré qu'un grand nombre de ces dernières produisent des quantités assez grandes d'ammoniaque aux dépens des matières albuminoïdes.

Le carbone des composés quaternaires se résout, en dernier résultat, en acide carbonique, après avoir passé en partie par les stades acide formique, acétique, butyrique, propionique, valérianique, etc. ; de sorte que, si l'on ne connaît pas le mécanisme de leur dislocation, on peut affirmer que les produits

ultimes auxquels ils donnent naissance sont l'acide carbonique, l'ammoniaque, l'eau et l'azote gazeux. Ce dernier est perdu pour les végétaux supérieurs ; les deux premiers ont repris l'état sous lequel ils peuvent servir de nouveau à leur entretien.

Néanmoins, l'ammoniaque absorbée par les plantes vertes ne représente qu'une petite fraction de l'azote total qui entre dans leurs tissus. Ce composé se rencontre en effet rarement dans un sol bien aéré : à mesure qu'il se forme, il est pris par les ferments de la nitrification et transformé d'abord en acide nitreux, lequel, oxydé à son tour, donne de l'acide nitrique.

Là s'arrête l'évolution de l'azote combiné dans la terre, au moins le plus souvent. La quantité d'azote qui se dégage dans l'atmosphère à l'état gazeux ne représente qu'une fraction assez faible de celle qui se retrouve à l'état de nitrate ; cette proportion n'a pas été déterminée par l'expérience, mais elle peut devenir assez importante, lorsque l'on donne à la terre une fumure azotée complémentaire, sous forme de sels ammoniacaux. Ceux-ci se transforment rapidement en nitrites et en nitrates, de sorte qu'au bout de quelques jours ou de quelques semaines, le sol renferme de l'azote ammoniacal et de l'azote oxygéné, lesquels, réagissant l'un sur l'autre, peuvent donner naissance à un dégagement d'azote gazeux.

M. Schlœsing a montré, dans ses recherches sur les ferments nitrifiants, que l'azote mis en liberté représente à peu près, dans certaines conditions, 8,7 p. 100 de l'azote total mis en jeu dans le phénomène de la nitrification. C'est là cependant une réaction secondaire qu'il ne faut pas confondre avec les réactions d'ordre physiologique auxquelles nous avons rapporté plus haut la déperdition de l'azote gazeux.

Certaines conditions physiques, lorsqu'elles sont réalisées par la terre, favorisent d'ailleurs la décomposition des nitrates : il suffit, par exemple, que le sol soit le siège des fermentations anaérobies, pour que les nitrates soient réduits plus ou moins complètement par les résidus de ces fermentations.

M. Schlœsing a montré que les nitrates se transforment en acide nitreux, bioxyde d'azote, protoxyde d'azote dans les milieux organiques abandonnés à la putréfaction ; la réduction peut être totale et l'azote se dégage à l'état gazeux.

MM. Dehérain et Maquenne ont obtenu des résultats à peu près analogues avec de la terre additionnée de sucre.

On peut supposer que la plupart de ces réductions sont dues

à des phénomènes secondaires et non à l'intervention directe des microbes. Cependant, il existe dans le sol des ferments dénitrifiants qui transportent l'oxygène des nitrates sur la matière organique pour l'oxyder. Ceux-ci ont fait l'objet des belles recherches de M. Gayon.

M. Gayon a isolé deux ferments dénitrifiants. Tous deux sont très avides d'oxygène : cultivés en large contact avec l'air, ils réduisent peu les nitrates ; mais, lorsqu'on les place dans des récipients profonds, où l'aération est pénible, ils produisent une dénitrification très active. M. Gayon a obtenu la réduction totale de 0^{sr},80 de nitrate par jour dans un milieu additionné de 4 p. 100 de nitrate de potassium. Ils se développent encore dans des solutions à 2 p. 100 de nitrate ; mais ils n'y poussent pas la réduction jusqu'au bout.

La présence de la matière organique est nécessaire pour obtenir la dénitrification des azotates : les hydrates de carbone solubles la favorisent le plus ; l'amidon, bien que liquéfié, ne s'oxyde pas sous l'influence des ferments ; les matières azotées sont brûlées très énergiquement, et une partie de leur azote se dégage à l'état gazeux.

On voit donc que l'azote organique peut reprendre entièrement l'état gazeux sous l'influence des microbes. Dans les sols bien aérés, la dégradation s'arrête aux nitrates qui sont précisément l'aliment azoté préféré des végétaux supérieurs, et dans les terrains marécageux la dislocation des matières azotées s'arrête au terme ammoniacque : les pertes d'azote provoquées par les microbes dénitrifiants sont donc assez légères. Il faut ajouter cependant qu'une fumure trop copieuse en engrais organiques peut produire une dénitrification assez active dans les terres en apparence les mieux aérées.

L'introduction d'une grande quantité d'hydrates de carbone fermentescibles dans le sol est accompagnée d'un dégagement abondant d'acide carbonique ; la terre réunit alors les conditions les plus favorables à l'action des ferments dénitrifiants, et en réalité on peut obtenir par ce moyen la destruction totale des nitrates du sol en quelques jours. .

*
* *

Si nous voulons résumer maintenant l'ensemble des notions que nous avons exposées, ou mieux si nous voulons les pré-

senter sous une forme schématique, nous pouvons dire que le règne végétal, considéré dans toute son étendue, se divise en deux parties nettement tranchées : d'un côté les végétaux à chlorophylle, capables de créer de la matière organique aux dépens d'un petit nombre d'éléments minéraux ; de l'autre les végétaux sans chlorophylle, dont le rôle consiste à détruire les substances élaborées par les premiers.

Examinées en gros, ces deux actions contraires semblent se faire équilibre, de sorte que le stock de matières organiques doit rester à peu près constant à la surface du sol. On a donc été amené à émettre l'opinion que la vie à la surface du globe est alimentée, depuis son origine jusqu'à nos jours, par une réserve d'azote combiné qui a dû se constituer, à l'époque du refroidissement de la terre, aux dépens des éléments de l'atmosphère : l'azote, l'oxygène et l'eau. Les premiers végétaux qui se sont développés se sont emparés de l'ammoniaque et des nitrates ainsi formés, pour les engager dans un cycle fermé dont ils ne devaient plus sortir.

Cette conception n'a pas résisté à l'examen approfondi des faits que les agronomes ont peu à peu accumulés. Boussingault, Lawes et Gilbert, Dehérain ont montré que les pertes d'azote ne sont pas compensées par les apports d'ammoniaque et de composés nitriques réalisés par l'atmosphère. D'autres causes agissent continuellement, et leur influence est tellement puissante, qu'elles suffisent à maintenir l'équilibre et au delà, puisqu'en réalité la réserve d'azote combiné s'accroît régulièrement.

Ces causes ont été mises en évidence, d'une part par M. Berthelot qui a montré l'influence des infiniment petits ; de l'autre, par MM. Hellriegel et Wilfarth, qui ont résolu la question si controversée de la fixation de l'azote libre par les légumineuses.

De nouvelles recherches ont établi que l'augmentation progressive du stock d'azote combiné est l'œuvre des infiniment petits. Ils ne sont pas seulement indispensables au maintien de la vie à la surface du sol par le travail de désagrégation qu'ils produisent dans son sein ; ils sont encore les auxiliaires indispensables de son extension, puisqu'ils permettent aux végétaux et aux animaux de puiser indirectement à cette source inépuisable d'azote que constitue l'atmosphère.

Si l'on se reporte à l'origine de la vie à la surface du globe, on peut admettre, à la faveur de ces résultats, qu'elle ne disposait, au moment de son apparition, que d'une faible quantité

d'azote combiné, qui s'est augmentée rapidement sous l'influence des infiniment petits, secondés peu à peu par les végétaux à chlorophylle.

Les animaux sont restés étrangers à l'élaboration de la matière organique. Ils ont fait leur apparition lorsque le terrain a été préparé par les végétaux ; leur rôle s'est toujours borné à vivre aux dépens des substances créées par les plantes.

Si nous comprenons mieux dans le passé l'histoire de la matière organique, on peut se demander si les résultats acquis permettent d'étendre les conclusions à l'avenir et de dire que la vie ira toujours en se développant et en se généralisant à la surface de la terre. Il semble que nous soyons fondés à avancer cette affirmation, en supposant que les conditions climatiques restent les mêmes, puisque l'azote atmosphérique peut concourir à son entretien. Mais il faut regarder plus loin : l'organisation de l'azote gazeux est étroitement liée à la fonction chlorophyllienne, puisque c'est elle qui fabrique les composés endothermiques nécessaires à cette synthèse. L'augmentation de la réserve d'azote combiné est donc subordonnée à la présence de l'acide carbonique dans l'air. Le stock d'acide carbonique gazeux est-il inépuisable ? Les observations manquent pour répondre ; elles sont réparties sur un laps de temps trop court ; mais on sait bien que l'atmosphère a été beaucoup plus riche en acide carbonique qu'elle ne l'est de nos jours. Les immenses sédiments de calcaire qui se sont déposés au fond des mers anciennes lui doivent en grande partie leur formation. Le travail de sédimentation se poursuit tous les jours sous nos yeux. Chaque molécule de feldspath qui se désagrège immobilise une molécule d'acide carbonique à l'état de carbonate alcalin ou alcalino-terreux ; le carbone est perdu pour la végétation. On peut admettre que cette perte est compensée par celui qui nous vient de la combustion de la houille ; mais cet état de choses ne durera pas longtemps, et, dans un avenir qui n'est pas très éloigné peut-être, on constatera que l'acide carbonique de l'air va en diminuant graduellement. Le jour qui fixera l'époque où il sera insuffisant pour répondre aux exigences de la végétation marquera le déclin de la vie à la surface du globe

LEÇONS
SUR
LA CELLULE

MORPHOLOGIE ET REPRODUCTION

PAR

L. FÉLIX HENNEGUY

Chargé du Cours d'embryogénie comparée

Recueillies par **FABRE-DOMERGUE**, Docteur ès Sciences

ET REVUES PAR LE PROFESSEUR

1 vol. in-8° jésus, de 574 pages, avec 362 fig. noires et en couleurs

Relié : 25 francs

L'étude de la cellule, qui se rattache si intimement à celle de toutes les autres sciences biologiques, et à laquelle se trouvent subordonnées tant de questions d'intérêt général, a fait dans ces dix dernières années des progrès considérables. Chaque jour la cytologie voit s'étendre les limites de son domaine, chaque jour de nouveaux faits viennent s'ajouter aux faits déjà recueillis et rendent plus difficile la connaissance complète du sujet, indispensable cependant à ceux qui voudraient aborder de nouvelles recherches,

Par la nature même de ses travaux, M. le professeur Henneguy était mieux placé qu'aucun autre pour sentir la nécessité de grouper tous ces faits en les résumant, et d'éviter ainsi à chacun la perte de temps qu'occasionne la lecture des mémoires originaux. C'est à la classification et à l'examen critique des documents cytologiques qu'il a employé plusieurs années de labeur et c'est à leur exposé méthodique qu'il a consacré un semestre de son cours du Collège de France que nous offrons aujourd'hui au public savant sous la forme d'un traité de Cytologie.

En entreprenant et en menant à bien une tâche aussi ardue, M. Henneguy vient de combler une regrettable lacune de la littérature scientifique, car nulle part encore n'existait un traité analogue sur la morphologie de la cellule.

L'auteur a pensé avec raison qu'à côté de la tentative inachevée de Carnoy, de l'ouvrage remarquable de Hertwig, il y avait place pour un livre classique, moins exclusivement physiologique que le dernier, plus complet et plus éclectique que le premier. Il a estimé fort justement que, dans une science où l'observation prime tout, la parole devait être donnée aux faits, et que la théorie ne devait en être que le corollaire et l'accessoire. Aussi, ses leçons sur la cellule sont-elles une mine inépuisable de documents rationnellement exposés et scrupuleusement critiqués. La théorie y tient une place fort petite, qui se trouve plus utilement remplie par des développements sur ses propres recherches et sur celles des auteurs les plus estimés.

LES
CANCERS ÉPITHÉLIAUX

HISTOLOGIE — HISTOGÉNÈSE

ÉTIOLOGIE — APPLICATIONS THÉRAPEUTIQUES

Par **FABRE-DOMERGUE**

Docteur ès sciences, chef de laboratoire à la Faculté de médecine de Paris.

1 volume grand in-8° raisin, de 462 pages, avec 142 figures, dont 76 en couleurs, et 6 planches chromolithographiques hors texte, cartonné à l'anglaise. — Prix : 30 francs.

Les Cancers épithélias constituent par leur nombre et leur fréquence la majeure partie des affections que l'on a l'habitude de grouper sous le terme générique et un peu vague de cancer. Les Sarcomes, au contraire, ou cancers conjonctifs, sont plus rares et doivent — de par leurs caractères cliniques aussi bien qu'histologiques — être l'objet d'une étude spéciale. C'est à la première catégorie de tumeurs que l'ouvrage de M. Fabre-Domergue est entièrement consacré.

L'auteur s'est attaché avant tout à donner dans son livre une idée très générale et très nette de l'origine histogénétique des cancers épithélias. Au lieu de chercher à en multiplier les types de description sans les réunir par des liens communs, il a voulu démontrer que, du tissu normal au tissu néoplastique le plus aberrant, il existe tous les termes de transition, et que chaque tissu de l'organisme peut de la sorte présenter le même tableau histogénétique, avec des plans rigoureusement parallèles et comparables les uns aux autres.

Mais la démonstration de l'unité histogénétique des tumeurs épithélias, bien que de nature à jeter un certain jour sur les observations cliniques relatives à ces affections, ne constituait qu'une solution approchée de la question de leur origine. M. Fabre-Domergue a poussé plus avant dans cette voie, en montrant que la cause mécanique de la formation de toute tumeur épithélias n'était que le résultat de la désorientation des plans de division de ses cellules constitutives. A une désorientation peu accentuée correspondent les Papillomes et les Adénomes que l'auteur réunit sous le terme commun d'Enthéliomes. Plus tard surviennent les Epithéliomes, et enfin, comme manifestation ultime et maxima de la désorientation, nous trouvons l'importante classe des Carcinomes dermiques aussi bien que glandulaires.

On peut donc dire que l'idée fondamentale qui a guidé M. Fabre-Domergue dans l'exposé de ses travaux, c'est l'idée de la désorientation

cellulaire. Grâce à ce principe, il a pu expliquer non seulement la graduation insensible des divers types de tumeurs épithéliales, mais encore donner une explication rationnelle de certaines de leurs propriétés essentielles dont la nature était jusqu'ici problématique. La cachexie, l'ulcération ne sont que le fait de la désorientation et se conçoivent aisément si on les envisage à ce point de vue.

Une autre partie, suite et conséquence de la première, comprend la discussion approfondie de l'origine étiologique des tumeurs épithéliales. Les faits relatifs à la théorie coccidienne y sont discutés et combattus avec l'autorité que donnent à l'auteur de longues années de travail dans le laboratoire de Clinique chirurgicale de l'hôpital Necker. M. Fabre-Domergue, sans nier d'une façon absolue la possibilité d'une étiologie parasitaire, refuse le titre de parasites à toutes les formes que l'on avait voulu jusqu'ici envisager comme telles, et qui ne sont, d'après lui, que des altérations cellulaires.

Dans un dernier chapitre, enfin, l'auteur, se basant d'une part sur ses observations relatives à la désorientation, d'autre part sur les faits de rytotropisme cellulaire constatés avant lui, montre que, loin de désarmer en présence d'une hypothèse purement térato-cellulaire des cancers, la thérapeutique est en droit, au contraire, d'y trouver une voie de recherche rationnelle et peut-être aussi féconde que celle où s'engagent sans grand fondement les partisans de l'origine parasitaire.

INTRODUCTION

A

L'ÉTUDE DE LA MÉDECINE

PAR

G.-H. ROGER

PROFESSEUR AGRÉGÉ A LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

MEMBRE DE LA SOCIÉTÉ DE BIOLOGIE

MÉDECIN DE L'HÔPITAL DE LA PORTE D'AUBERVILLIERS



1 vol. petit in-8°, de 954 pages, cartonné à l'anglaise.

PRIX : 7 francs.

TRAITÉ D'ANATOMIE COMPARÉE ET DE ZOOLOGIE

Par **ARNOLD LANG**

PROFESSEUR DE ZOOLOGIE ET D'ANATOMIE COMPARÉE
A L'UNIVERSITÉ DE ZURICH

Ouvrage traduit de l'allemand par **G. CURTEL**

Professeur agrégé de l'Université.

Deux forts volumes in-8° raisin d'ensemble 1212 pages, avec 854 figures,
cartonné à l'anglaise. Prix : 40 fr.

Tome premier : PROTOZOAIRES, ZOOPHYTES, VERS, ARTHROPODES

Un fort volume in-8° raisin de 635 pages, avec 384 figures,
cartonné à l'anglaise. Prix : 22 fr.

Tome deuxième : MOLLUSQUES, ÉCHINODERMES

Un fort volume in-8° raisin de 577 pages, avec 470 figures,
cartonné à l'anglaise. Prix : 22 fr.

L'apparition du second volume du *Traité d'Anatomie comparée et de Zoologie* termine l'important ouvrage de Lang.

On a dit avec raison que l'écueil n'était nulle part plus à redouter que dans cette science, tentée par son caractère même à se faire purement descriptive. A premier examen il n'apparaît pas aisé d'embrasser dans un ensemble didactique la multitude des divisions de tout un Règne et de toucher, le cas échéant, à la phylogénie parfois spéculative qui rattache et soude les uns aux autres les innombrables individus des groupes zoologiques. Avec le traité de Lang, les étudiants posséderont désormais un exposé systématique conforme aux exigences des programmes et un ensemble méthodique de l'anatomie comparée, basé sur l'étude d'un animal type pris dans chaque groupe et considéré au point de vue ontogénique, morphologique et anatomique.

Le règne animal est divisé en neuf embranchements que l'auteur étudie en particulier et pour chacun desquels il entreprend la classification rationnelle en même temps qu'une étude comparative de leur organisation. A l'étude de chaque embranchement s'ajoute un chapitre consacré à la solution des questions générales.

L'importance du *Traité d'Anatomie comparée et de Zoologie* de Lang réside dans ce fait qu'il est vraiment un livre d'étude. Le grand principe de la division du travail en oriente tout l'exposé. L'étudiant peut embras-

ser sans effort le tableau des classifications et se frapper à la définition primordiale de l'individu type sur lequel viennent secondairement se greffer la description des individus du même groupe. Une bibliographie termine chaque chapitre, se prêtant ainsi aux travaux d'érudition. Toutefois le texte d'un tel ouvrage deviendrait facilement diffus si, pour son intelligence, des figures ne venaient apporter le complément de leur enseignement. L'ouvrage de Lang en contient 854 entièrement inédites ou empruntées aux travaux les plus autorisés. C'est la partie descriptive du Traité. La table des matières en fera comprendre l'ampleur.

TABLE DES MATIÈRES

TOME PREMIER

Protozoaires, Zoophytes, Vers, Arthropodes

CHAPITRE PREMIER. — La Cellule. — *Protozoaires*. — Premier embranchement du règne animal.

CHAPITRE II. — *Zoophytes ou Cœlentérés*.

CHAPITRE III. — *Platodes*. — *Platodes*. — Troisième embranchement du règne animal.

CHAPITRE IV. — Organisation et développement des vers. — *Vers*. — Quatrième embranchement du règne animal.

CHAPITRE V. — *Arthropodes*. — Première partie. — *Branchianta*. — Premier sous-embranchement.

CHAPITRE VI. — *Arthropodes*. — Deuxième partie. — *Tracheata*. — Deuxième sous-embranchement.

De l'organisation et du développement des Trachéates.

TOME DEUXIÈME

Mollusques, Échinodermes

CHAPITRE VII. — *Mollusques*. — Sixième embranchement du règne animal.

CHAPITRE VIII. — *Échinodermes*. — Septième embranchement.

CHAPITRE IX. — Les Entéroépneustes.

APPENDICE. — *Cephalodiscus et Rhabdopleura*.

LEÇONS

DE

Physiologie générale et comparée

FAITES A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE LYON

PAR RAPHAEL DUBOIS

PROFESSEUR A L'UNIVERSITÉ DE LYON

- I. — Phénomènes de la vie communs aux animaux et aux végétaux.
- II. — Biophotogénèse ou production de la lumière par les êtres vivants.

Un volume in-8° raisin de XII-534 pages, avec 221 figures dans le texte et 2 planches hors texte. Prix : 48 fr.

L'ouvrage de M. Raphaël Dubois comprend deux parties.

La première traite des *phénomènes de la vie communs aux animaux et aux végétaux*. La composition chimique des êtres vivants, les milieux physiologiques, les *zymases* ou ferments solubles, l'organisation physique de la substance vivante, les fonctions de nutrition, de reproduction et de relation sont successivement passés en revue, au cours d'un exposé où abondent, parfois un peu semées au hasard, les vues personnelles. Notons-en quelques-unes au passage. M. Dubois considère les *zymases* comme des particules infinitésimales de matière vivante, de bioprotéon; le fossé qui séparait les ferments figurés des ferments solubles se trouve comblé; et cette manière de voir, encore un peu hypothétique, est défendue par des arguments tout au moins très impressionnants. La nutrition nous apparaît sous un jour nouveau; l'origine de certaines substances, comme le glycogène et le sucre, se trouve expliquée d'une façon originale en même temps que le jeu des actions réciproques des corps dans les profondeurs de l'organisme est élucidé d'une manière plus satisfaisante que dans les théories actuellement en vigueur. En ce qui concerne les fonctions de relation, M. Dubois a conçu et soutient, avec une grande force d'argumentation, une théorie nouvelle du mécanisme des sensations et des fonctions psychiques, une théorie nouvelle sur les anesthésiques, sur le sommeil, sur la mort. Pour ce qui est de l'eau, enfin, le rôle incomparable de ce liquide dans l'organisme est mis nettement en lumière et la vie se montre à nos yeux beaucoup moins comme une oxydation que comme une hydratation continue et progressive. Cette première partie se termine par une comparaison, de haute portée philosophique, entre les phénomènes physico-chimiques et les phénomènes physiologiques; M. Dubois y montre très bien qu'en l'état

actuel de la science, les lois purement physiques ou chimiques ne suffisent pas à expliquer la vie. Il faut regretter seulement que l'auteur n'insiste pas assez sur le caractère *peut-être transitoire* de ce dualisme des causes naturelles.

La seconde partie de l'ouvrage commence par la photogénèse, l'étude de l'énergie rayonnée par les êtres vivants. En abordant la photogénèse, M. Dubois prenait pied sur son domaine propre : l'étude de la production de la lumière par les animaux et les végétaux est son œuvre personnelle et en quelque manière sa création. Tous les physiologistes connaissent ses beaux travaux sur la pholade dactyle et le pyrophore noctiluke. Ils en trouveront ici un résumé et une synthèse et ils reliront avec intérêt l'explication, qu'après une longue série d'expériences délicates, il a donnée de la fonction photogénique.

Telle est la matière du premier volume des *Leçons de Physiologie*. L'exposé que nous en avons fait suffit à montrer le grand mérite du travail de M. Dubois et la haute valeur d'une œuvre qui s'annonce comme magistrale.

Dixième année.

REVUE GÉNÉRALE DES SCIENCES

PURES ET APPLIQUÉES

Paraissant le 15 et le 30 de chaque mois

PAR LIVRAISONS GRAND IN-8° COLOMBIER RICHEMENT ILLUSTRÉES

ABONNEMENT ANNUEL :

Paris, 20 fr. ; Départements, 22 fr. ; Union postale, 25 fr.

Prix du numéro : 1 fr. 25

Chaque livraison comprend cinq parties :

- 1° *Une chronique ;*
- 2° *Plusieurs articles de fond ;*
- 3° *L'analyse critique des ouvrages récents ;*
- 4° *Les comptes rendus des travaux soumis aux Sociétés savantes de la France et de l'Étranger ;*
- 5° *Le relevé des articles récemment publiés par les principaux journaux scientifiques d'Europe et d'Amérique.*

- BOSC (F.)**, professeur agrégé à la Faculté de médecine de Montpellier. — **Le Cancer** (Epithéliome, Carcinome, Sarcome), maladie infectieuse à sporozoaires (formes microbiennes et cycliques). 1 vol. in-8° raisin de 266 pages, avec 34 figures dans le texte et 11 planches chromolithographiques 20 fr.
- BUNGE (G.)**, professeur à l'Université de Bâle. — **Cours de chimie biologique et pathologique**, traduit de l'allemand par le D^r Jacquet, 1 vol. in-8° raisin, de VIII-396 pages 12 fr.
- DUBOIS (Raphaël)**, professeur à l'Université de Lyon. — **Anesthésie physiologique et ses applications**. 1 vol. in-8° écu, de VIII-200 pages, avec 20 figures. 4 fr.
- ETERNOD (A.-C.-F.)**. — **Guide technique du laboratoire d'histologie normale et éléments d'anatomie et de physiologie générales**. 2^e édit. 1 vol. in-8° raisin de 354 pages, avec 141 figures. 10 fr.
- FLATAU (Edward)**. — **Atlas du cerveau humain et du trajet des fibres nerveuses**. 1 vol. grand in-4° comprenant 8 planches en héliogravure et 2 planches en chromolithographie 22 fr.
- GUÉRIN (G.)**, professeur agrégé à la Faculté de médecine de Nancy. — **Traité pratique d'analyse chimique et de recherches toxicologiques**. 1 vol. in-8° raisin de VI-494 pages, avec 75 figures dans le texte et 5 planches en chromolithographie 15 fr.
- HERTWIG (Oscar)**, directeur de l'Institut d'anatomie biologique de l'Université de Berlin. — **La Cellule et les Tissus**. Éléments d'anatomie et de physiologie générales. Ouvrage traduit de l'allemand par Ch. Julin. 1 vol. in-8° raisin de XVI-350 pages, avec 168 figures. 12 fr.
- JOLLY (L.)**. — **Les Phosphates ; leurs fonctions chez les êtres vivants, végétaux et animaux**. 1 fort vol. grand in-8° jésus de 584 p. 20 fr.
- LABBÉ (A.)**, docteur ès sciences. — **La Cytologie expérimentale**. Essai de Cytomécanique. 1 vol. in-8° carré de 188 pages, avec 52 figures, cartonné à l'anglaise. 5 fr.
- LUKJANOW (S. M.)**. — **Éléments de pathologie cellulaire générale**. Leçons faites à l'Université impériale de Varsovie, traduites par MM. Fabre-Domergue et A. Pettit. 1 vol. in-8° raisin de VIII-324 p. 9 fr.
- MIQUEL (P.)**, chef du service micrographique à l'Observatoire de Montsouris. — **Étude sur la fermentation ammoniacale et sur les ferments de l'urée**. 1 vol. in-8° raisin de 320 pages, avec figures. 30 fr.
- OBERSTEINER (H.)**, professeur à l'Université de Vienne. — **Anatomie des centres nerveux**. Guide pour l'étude de leur structure à l'état normal et pathologique. Ouvrage traduit de l'allemand par le D^r J.-X. Coroenne. 1 vol. in-8° raisin de XX-512 pages, avec 184 figures. 18 fr.
- SLOSSE (A.)**. — **Technique de chimie physiologique et pathologique**. 1 vol. in-8° raisin de 260 pages. Cartonné à l'anglaise 6 fr.
- TSCHERNING**, directeur-adjoint du laboratoire d'ophtalmologie de la Sorbonne. — **Optique physiologique**. Dioptrique oculaire. Fonctions de la rétine. Les mouvements oculaires et la vision binoculaire. 1 vol. grand in-8° jésus de 338 pages, avec 201 figures. 12 fr.
- Van GEUCHTEN (A.)**, professeur à la Faculté de médecine de Louvain. — **Anatomie du système nerveux de l'homme**. 2^e édition. 1 vol. in-8° raisin de 950 pages, avec 619 figures noires et en couleurs . . . 30 fr.